مجلة البصرة للعلوم الزراعية، المجلد 29 (1)، 8- 26 ،2016

تأثير نوع ومقدار الجرعة الهرمونية على تطور الخلايا البيضية لاناث اسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* خلال عمليات التكثير الاصطناعي

فالح موسى الزيدي[1] و ساجد سعد النور[2] و باسم محمد جاسم[2]

1قسم الفقريات البحرية، مركز علوم البحار، جامعة البصرة، البصرة العراق

2قسم الاسماك والثروة البحرية، كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق

المستخلص: استخدمت ثلاثة انواع من الهرمونات وهي هرمون LHRH-A2 بمقادير جرع (10، 20 ،30) مكغم. كغم $^{-1}$ و خليط من هرمون LHRH-A2 بمقادير جرع (10، 20 ،30 ،40 ،50) مكغم. كغم $^{-1}$ مع الدمبريدون(Domperidone (Dom 5 ملغم. كغم $^{-1}$ ومستخلص الغدة النخامية لاسماك الكارب (CPE) بمقدار جرعة 4 ملغم . كغم $^{-1}$ لدراسة تاثير نوع الهرمون ومقدار الجرعة المستخدمة في نمط تطور الخلايا البيضية Oocytes لاناث اسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* خلال عمليات التكثير الاصطناعي وقد وجد أنَّ نسب الخلايا البيضية الناضجة المهيئة للأنطلاق قد ظهرت في بعض المقاطع النسجية لمبايض الأناث المعاملة بهرمون LHRH-A2 وحده او الخليط من هرمون DOM + LHRH-A2 إلا أن مقدار هذه النسب كان متفاوت(20.20 - 40.77 %) بتأثير نوع الهرمون ومستوى الجرعة. أظهرت المقاطع النسجية تواجداً للخلايا البيضية في مراحل النمو الأولي Primary growth phase وأخرى في مرحلة النمو الثانوي Secondary growth phase والتي تؤشر عدم مساهمتها في الخصوبة العملية . كما بينت نتائج الدراسة النسيجية عدم وصول البيض الى مرحلة النضج النهائي إلا في عدد قليل جدا منها ومن ثم لم تحصل الاباضة في الاسماك التي عوملت بهرمون LHRH-A2 وحده او الخليط من هرمون DOM + LHRH-A2 وهذا يؤكد عدم قدرته على تحفيز النضج النهائي للبيض والاباضة . وفي المقابل فان الاسماك التي عوملت بمستخلص الغدة النخامية وصل البيض في كل الاسماك الى مرحلة النضج النهائي والاباضة.

المقدمة

إنَّ استعمال تقنية المعاملة الهرمونية لمعالجةِ الاضطراباتِ التكاثرية في الاسماكِ المُرباة اتاح التكاثر للعديد من انواع الاسماكِ التي لا تتكاثر بصورة تلقائية في ظروف التربية ،علما أن المعاملة الهورمونية تعمل على إحداث التكاثر وتحسينِ الأداءِ التكاثري لقطيع الامهات وإنجاح التطوير التقني لصناعة تربية الاسماك إقتصادياً للعديد من انواع الاسماكِ [5,12,18] اختبر هرمون LHRH-A2 في دراسة [9] Koohilai *et al.* مع مضادات الدوبامين ميتوكلوبراميد والكلوربرومازين على اسماك *Abramis brama* في ايران من أجل تحديد الجرعات المثلى التي كانت (1، 2، 3، 4) مكغم. كغم $^{-1}$ من هرمون LHRH-A2 و (5 ، 10، 15، 20) ملغم. كلغم $^{-1}$ لميتوكلوبراميد و (2، 5،

10، 12) ملغم. كغم $^{-1}$ كلوربرومازين. كما بحث Ahmadnezhad [1] تأثير هرمونLHRH-A2 مع اثنين من مضادات الدوبامين Pimozide وChlorpromazine في تطور المبيض ومستويات هرمونات المناسل testosterone (T) وestradiol (E2) في اناث اسماك *Rutilus frisii kutum* واستخدم Kahkesh *et al.* [7] مجموعة من الهرمونات منها Ovaprim و Ovatide وLHRH-A2 وخليط من LHRHA2+CPE و HCG في التكثير الاصطناعي لاسماك البنبي *Barbus sharpeyi* في ايران وكانت افضل النتائج التي استحصلت باستخدام خليط الهرمونات LHRHA2 + CPE (10 مكغم . كغم $^{-1}$ + 2 ملغم. كغم $^{-1}$) .اجريت هذه الدراسة لغرض إظهار تأثير نوع الهرمون ومقدار الجرعة في نمط تطور الخلايا البيضية Oocytes في أسماك الكارب الشائع.

المواد و طرق العمل

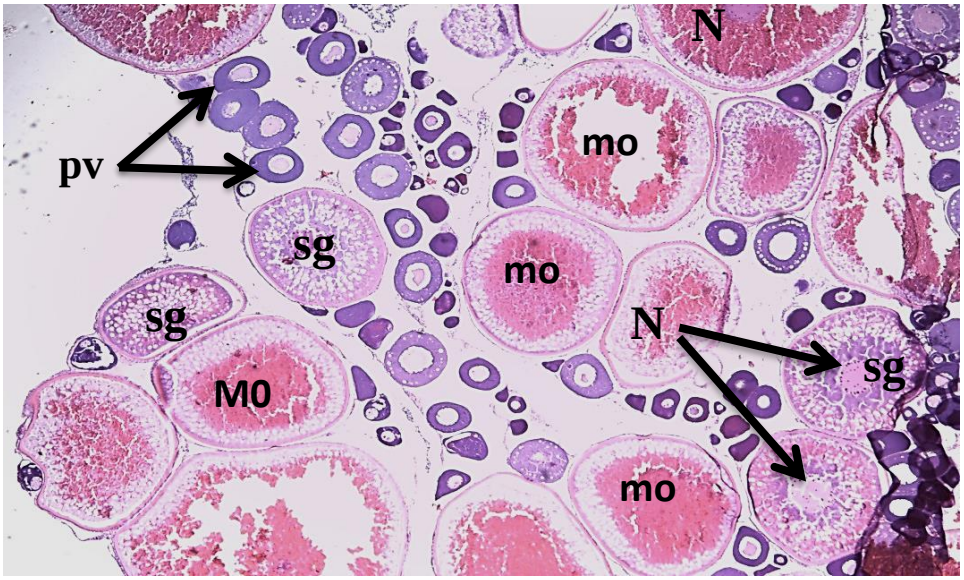
جلبت أُمهات الاسماك التي تراوحت اطوالها بين 30 و 54 سم بمعدل (40.32 ±5.3) سم. واوزانها بين 600 الى 2500 غم بمعدل (1233± 486) غم، من الاحواض الطينية الخاصة بمركز علوم البحار ونقلت الى المفقس وضعت في احواض حضانة الأمهات . أجري فحص أولي لغرض تمييز الجنس وتحديد الحالة النضجية للأسماك وسلامة الأسماك من الجروح . استعملت المادة المخدرة MS-222 بتركيز 0.1 غم. لتر$^{-1}$ قبل اجراء عملية الحقن الهرموني لغرض تسهيل عملية الحقن ولتجنب تعرضها للاجهاد بسبب كثرة التداول حسب [2] استخدمت ثلاثة انواع من الهرمونات وهي مستخلص الغدة النخامية P G بجرعة (4) ملغم. كغم $^{-1}$ وعلى شكل حقنتين، الأولى تمثل 10% من الجرعة الكلية المطلوبة أما الثانية فكانت بعد (10-12) ساعة من وقت إعطاء الحقنة الأولى ومثلت 90% من الجرعة الكلية، وهرمون LHRH-A2 (10،20،30) مكغم. كغم$^{-1}$ والخليط من هرمون LHRH-A2 + (Dom) بمقدار جرع (10، 20 ،30) مكغم. كغم $^{-1}$ +5 ملغم. كغم $^{-1}$ من Dom على شكل حقنة واحدة. يكون هرمون LHRH-A2 على شكل مسحوق معبأ في امبولات، كل امبولة فيها 100 مكغم. كغم $^{-1}$ من الهرمون يذاب المسحوق في 10 مل من المحلول الفسيولوجي. اما بالنسبة لمضاد الدوبامين (Dom) فكان على شكل اقراص مضغوطة ومقدار الجرعة في القرص 5 ملغم يتم سحقها جيدا في الجفنة الخزفية وتضاف لمحلول الهرمون ليصبح 1 مل من الخليط فيه 10 مكغم. كغم $^{-1}$ LHRH-A2 + ملغم 5 من ال(Dom) تعطى للاسماك حسب الوزن والجرعة المستخدمة اذ تمت عملية الحقن في المنطقة تحت الزعنفة الظهرية وفوق الخط الجانبي. جرى تشريح بعض الاناث قبل وبعد اجراء عمليات الحقن بالهرمونات. وأخذت مقاطع من مقدمة المبيض ومنتصفه ونهايته لتهيئتها لعمليات التقطيع النسيجي . ثبتت المقاطع في محلول بوين solution Bouin's على وفق طريقة [4] وصبغت فيما بعد بأستخدام صبغتي الهيماتوكسين Haematocylin والايوسين المائي Eosin ثم

فحصت تحت المجهر لتحديد مستوى تطور الخلايا البيضية المتواجدة في المقاطع النسيجية قبل وبعد الحقن بالهرمونات المختلفة. حددت نسب الخلايا البيضية بمراحلها النضجية المختلفة لغرض متابعة الحالة النضجية للبيض ومدى تأثرها بنوع الهرمون ومقدار الجرعة المستخدمة.

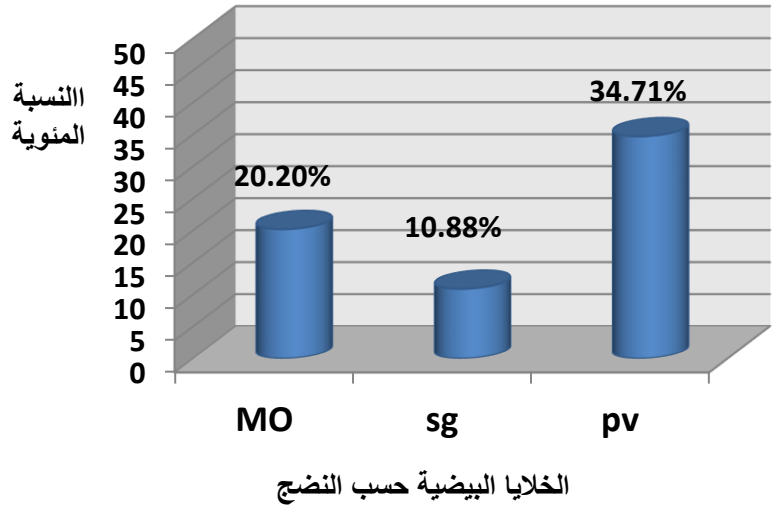
النتائج

اظهرت المقاطع النسيجية لمبايض اسماك الكارب الشائع توجدا للخلايا البيضية في مراحل نضجية مختلفة منها خلايا في مرحلة ما قبل المحية Previtellogenic (pv) وخلايا في طور النمو الثانوي Secondary growth phase (sg) وخلايا بيضية ناضجة Mature ovum .كما بينت نتائج الدراسة الى عدم وصول البيض الى مرحلة النضج النهائي و الاباضة في الاناث التي عوملت بهرمون LHRH-A2 وحده او الخليط من هرمون DOM + LHRH-A2 ولكل الجرع المستخدمة. كما وجد أنَّ نسبة الخلايا البيضية الناضجة المهيئة للطرح قد ظهرت في المقاطع النسجية لمبايض الأناث المعاملة بمستخلص الغدة النخامية ولم تظهر في المقاطع النسجية لمبايض الأناث المعاملة بهرمون LHRH-A2 وحده او الخليط وهذا يتوافق مع التفاوت في مقدار أستجابة الأناث للهرمونات المستخدمة . وتوضح الصور (2 - 12) مقاطع نسيجية لمبايض الاسماك المعاملة بانواع مختلفة من الهرمونات وبمقادير جرع مختلفة. وتوضح الاشكال من(1- 12) النسب المئوية للخلايا البيضية وحسب مراحل النضج. علما انه لم تلاحظ فروق في المقاطع الماخوذة من مقدمة المبيض ومنتصفه ونهايته. توضح الصورة (1) وهي لمبيض النثى قبل الحقن بالهرمونات تواجد الخلايا البيضية في مراحل نضجية مختلفة اذ تظهر الخلايا قبل محية pv بنسبة عالية بلغت 34.71 % والخلايا في المرحلة الثانية من النضج sg والسايتوبلازم فيها يميل الى القاعدية وكانت نسبتها 10.88% كما تلاحظ بعض البويضات الناضجة Mo ذات سايتوبلازم حبيبي شكلت نسبة 20.20% شكل (1). كما وظهرت الخلايا البيضية (pv وsg و M o) في جميع المقاطع النسيجية لمبايض الاناث المعاملة بهرمون LHRH-A2 وحده او الخليط من هرمون LHRH-A2 + DOM ومستخلص الغدة النخامية إلا أن مقدار هذه النسبة كان متفاوت بتأثير نوع الهرمون ومستوى الجرعة المستخدمة بالنسبة للخلايا البيضية pv فقد اختلفت نسبها قليلا في المقاطع النسيجية لمبايض الاناث المعاملة بهرمون LHRH-A2 وحده او الخليط وتراوحت نسبها ما بين 22.02 الى 32.52% الاشكال (2-8) انخفضت هذه النسبة الى 17.25% في المقاطع النسيجية لمبايض الاناث المعاملة بمستخلص الغدة النخامية شكل (9). اما بالنسبة للخلايا البيضية sg لم تختلف نسبها كثيرا في المقاطع النسيجية لمبايض الاناث المعاملة بهرمون LHRH-A2 وحده او الخليط ولكل الجرع اذ تراوحت ما بين 11.38 و16.23 % عدا الجرعة 20 مكغم. كغم $^{-1}$ فقد كانت 33% في حين انخفضت بشكل كبير في المقاطع النسيجية لمبايض الاناث المعاملة بمستخلص الغدة النخامية لتصل الى 4.67 % شكل (9). اما بالنسبة للخلايا البيضية Mo فقد كانت نسبها متقاربة المقاطع النسيجية

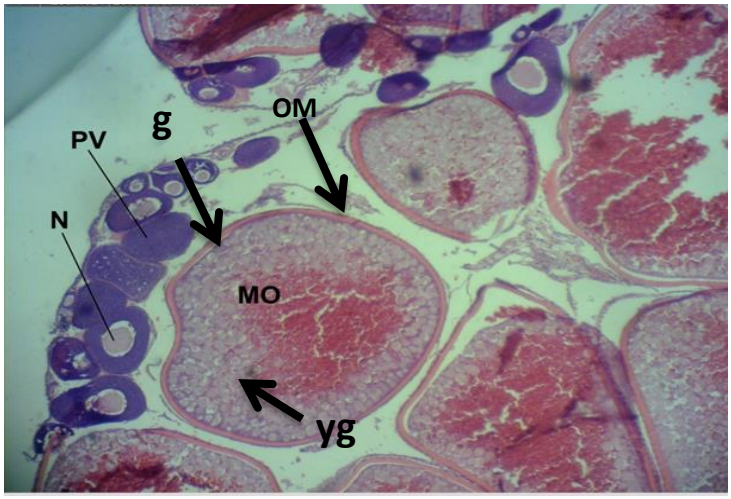
لمبايض الاناث المعاملة بهرمون LHRH-A2 وحده او الخليط لكل الجرع اذ تراوحت مابين (36.89-40.77 %) الاشكال (2،3،4،5،6،8)عد الجرعة 40 مكغم. كغم $^{-1}$ فقد كانت 29.19 % اما في المقاطع النسيجية لمبايض الاناث المعاملة بمستخلص الغدة النخامية فقد ارتفعت نسبتها بشكل كبير لتصل الى 71.02 % (شكل 9).



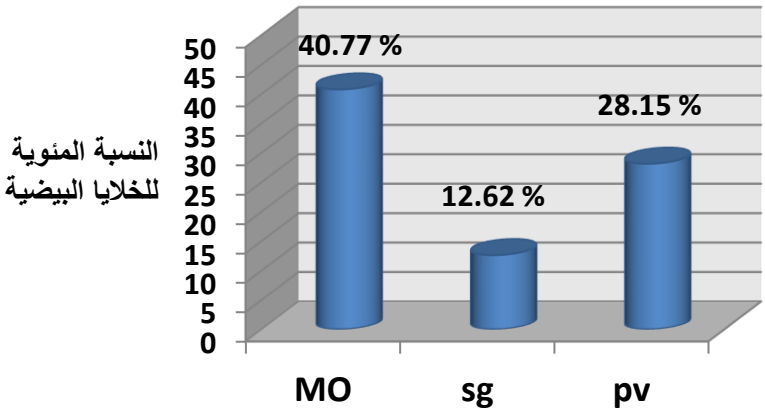
صورة (1): مقطع عرضي في مبيض أنثى اسماك الكارب غير معاملة بالهرمونات يوضح الخلايا البيضية في مراحل مختلفة من النضج ، (pv) ، (sg) و (MO) ذات نوى مركزية (N) (100 x) (H&E).



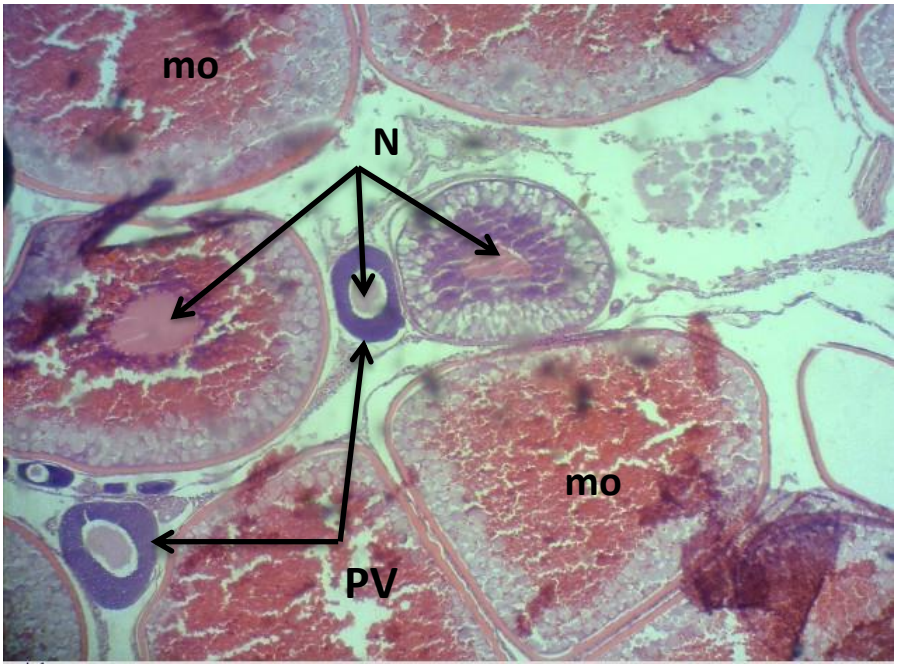
شكل (1): النسب المئوية لتواجد الخلايا البيضية حسب مراحل النضج في مبيض أنثى اسماك الكارب غير معاملة بالهرمونات (قبل الحقن).



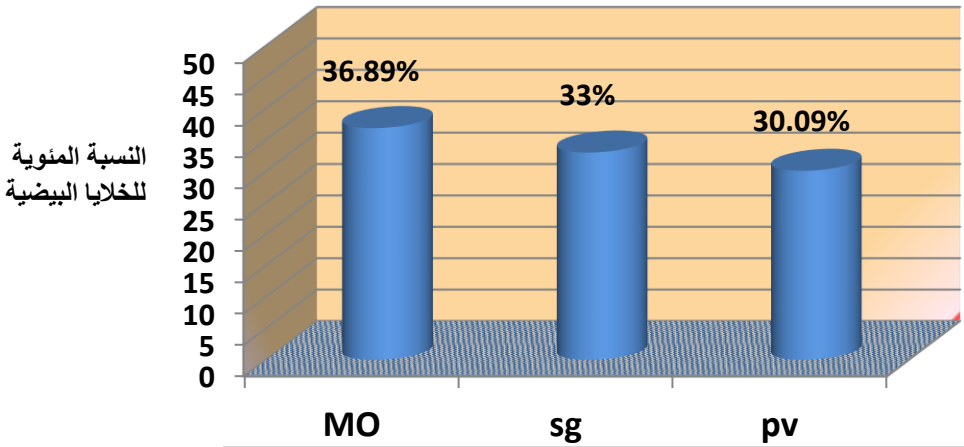
صورة (2): مقطع عرضي في مبيض أنثى اسماك الكارب معاملة بهرمون LHRH-A2 جرعة 10مكغم. كغم $^{-1}$ ، يظهر فيه خلايا (PV) وحاوية على نواة(N) وخلايا (MO) وهي تحوي حبيبات محية Yolk granules (yg) الذي تعلوه طبقة خلايا طلائية حرشفية zona grandulosa (g) ومحاط بغشاء البويضة Ova membran (OM) (100X) (H&E).



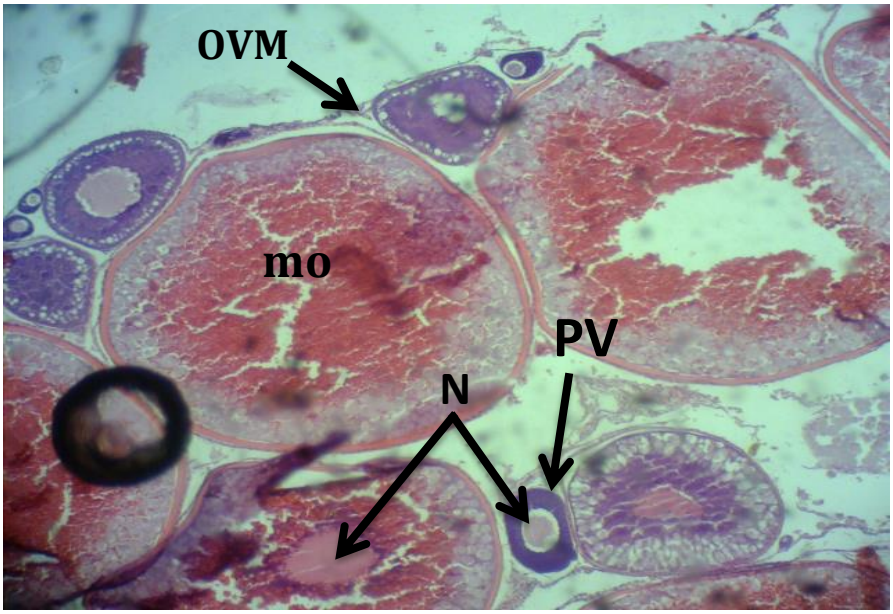
شكل (2): النسب المئوية للخلايا البيضية وحسب مراحل النضج لمبيض أنثى اسماك الكارب معاملة بمقدار جرعة 10مكغم . كغم $^{-1}$ من هرمون LHRH-A2.



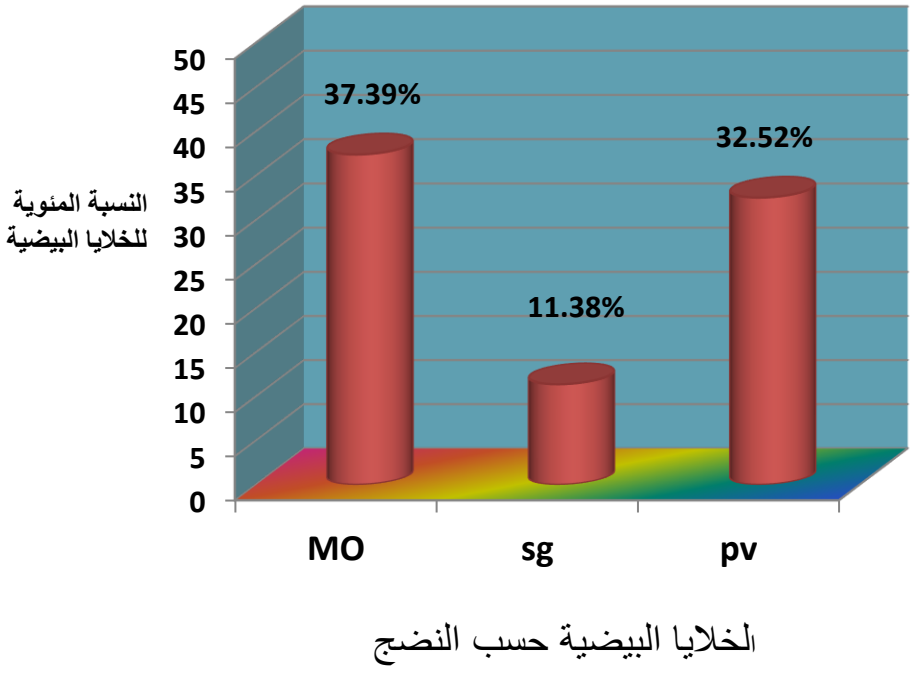
صورة (3): مقطع عرضي في مبيض أنثى معاملة بهرمون LHRH-A2 (20 مكغم . كغم $^{-1}$). يظهر فيه الخلايا البيضية Pv فيها نواة N، كما تظهر خلايا ناضجة MO (100X) (H&E).



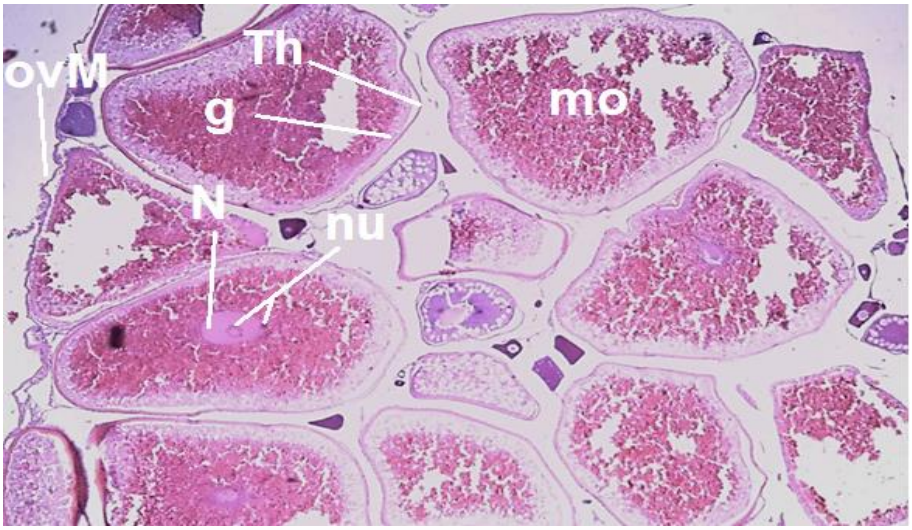
شكل (3): النسب المئوية للخلايا البيضية وحسب مراحل النضج لمبيض أنثى اسماك الكارب معاملة معاملة بهرمون LHRH-A2 بمقدار جرعة 20 مكغم . كغم $^{-1}$.



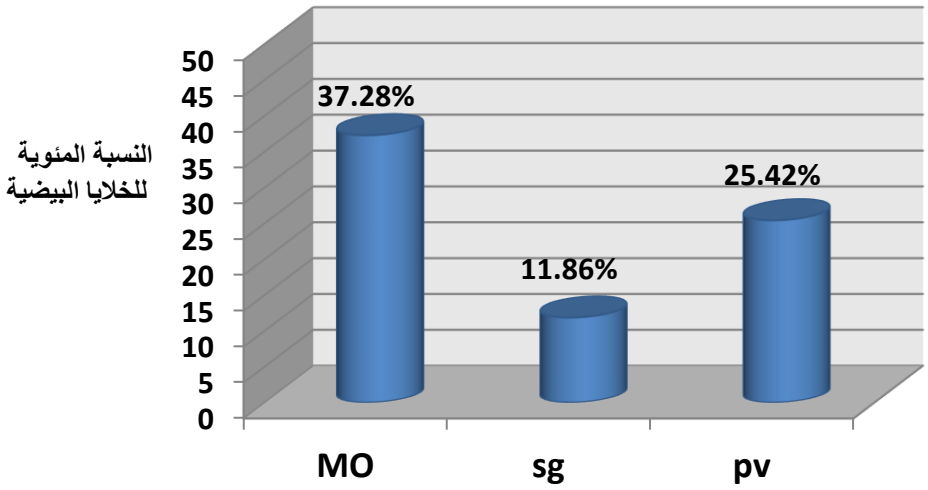
صورة (4): مقطع عرضي في مبيض أنثى معاملة بهرمون LHRH-A2 (30مكغم . كغم $^{-1}$). يظهر فيه الخلايا البيضية Pv تحوي نواة N. و خلايا ناضجة(MO) والبيض ما يزال ملتصقاً بغشاء المبيض Ovary Membrane(OVM). ويلاحظ تميز لون الصبغة والخلايا الاكثر نضجا اكثر صبغة خاصة في مركز الخلية (100X) (H&E).



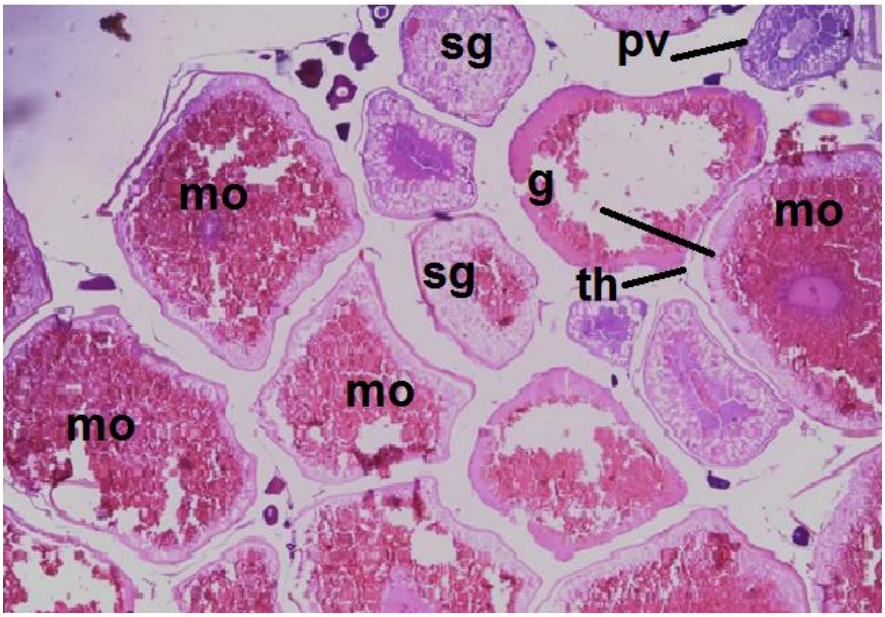
شكل (4): النسب المئوية للخلايا البيضية وحسب مراحل النضج لمبيض أنثى اسماك الكارب معاملة معاملة بهرمون LHRH-A2 بمقدار جرعة 20 مكغم . كغم $^{-1}$.



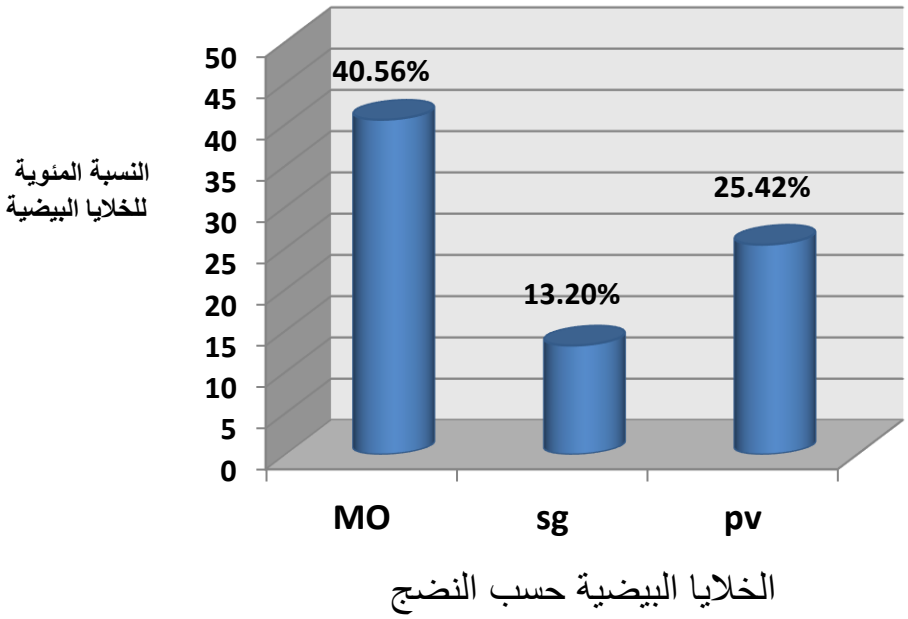
صورة (5): مقطع عرضي في مبيض أنثى معاملة بالخليط الهرموني LHRH-A2 + DOM 10 مكغم. كغم$^{-1}$. يظهر فيه بعض الخلايا البيضية الناضجة(MO) محملة بالمادة المحية كما تظهر الطبقة الحبيبية (g) وطبقة الغمد Theca (Th). وعدد من البيض فيها نواة مركزية N اضافة الى وجود النوية nu داخل النواة. كما يلاحظ ان البيض لم يتحرر من غشاء المبيضOVM (100X) (H&E).



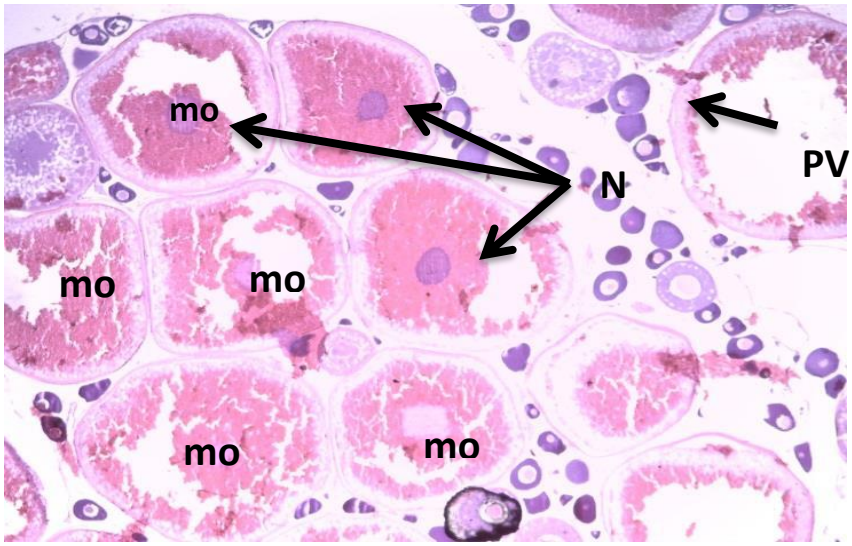
شكل (5): النسب المئوية للخلايا البيضية وحسب مراحل النضج لمبيض أنثى اسماك الكارب معاملة معاملة بالخليط الهرموني LHRH-A2 + DOM (10مكغم . كغم $^{-1}$) .



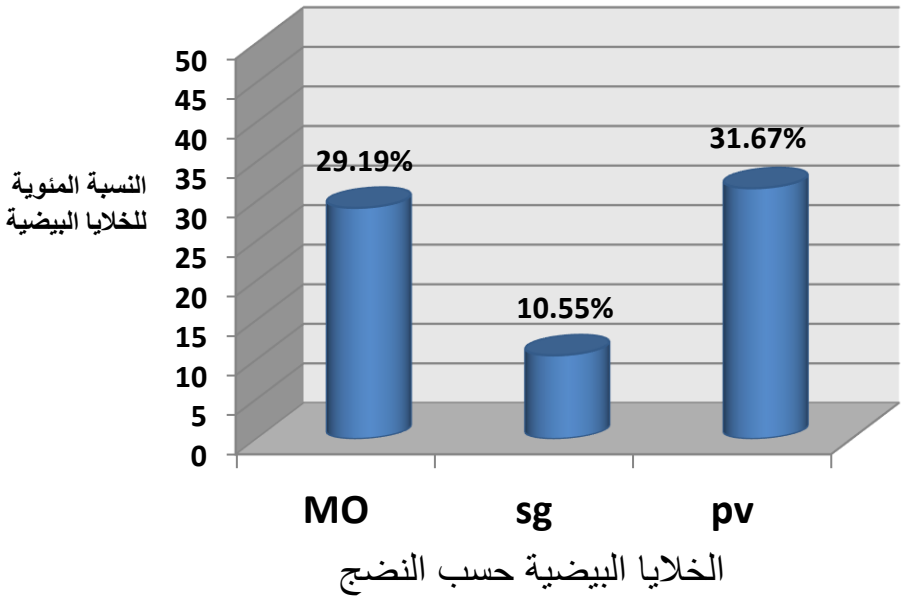
صورة (6) : مقطع في مبيض أنثى معاملة بالجرعة 20 مكغم . كغم $^{-1}$ من هرمون LHRH-A2 + DOM. يظهر فيها خلايا ناضجة (mo) تحيط بها الطبقة الحبيبية(g) والغمد (th) كما تظهر خلايا بيضية قبل محية (Pv) حاوية على نواة كما تلاحظ خلايا في طور النمو الثانوي (sg). (100X) (H&E).



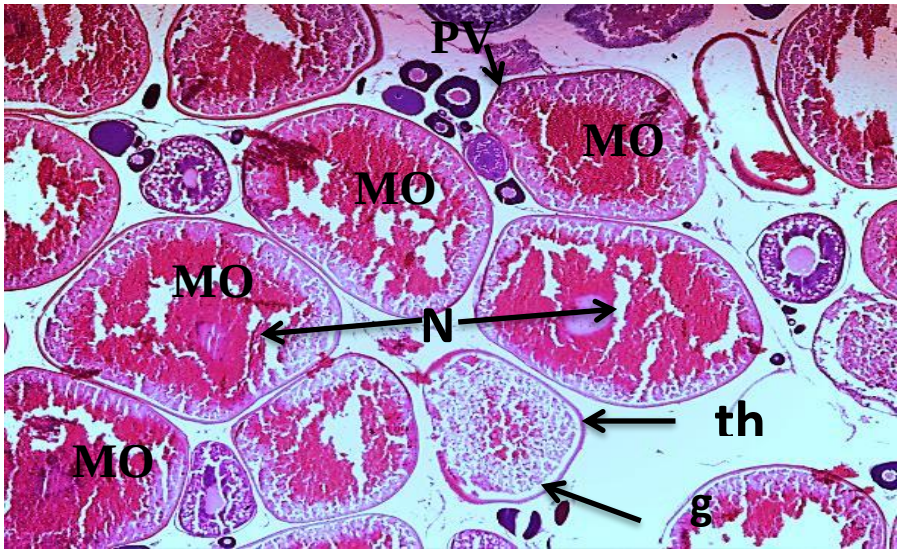
شكل (6): النسب المئوية لتواجد الخلايا البيضية حسب مراحل النضج لمبيض أنثى معاملة بالجرعة 20 مكغم . كغم $^{-1}$ من الخليط الهرموني LHRH-A2 + DOM.



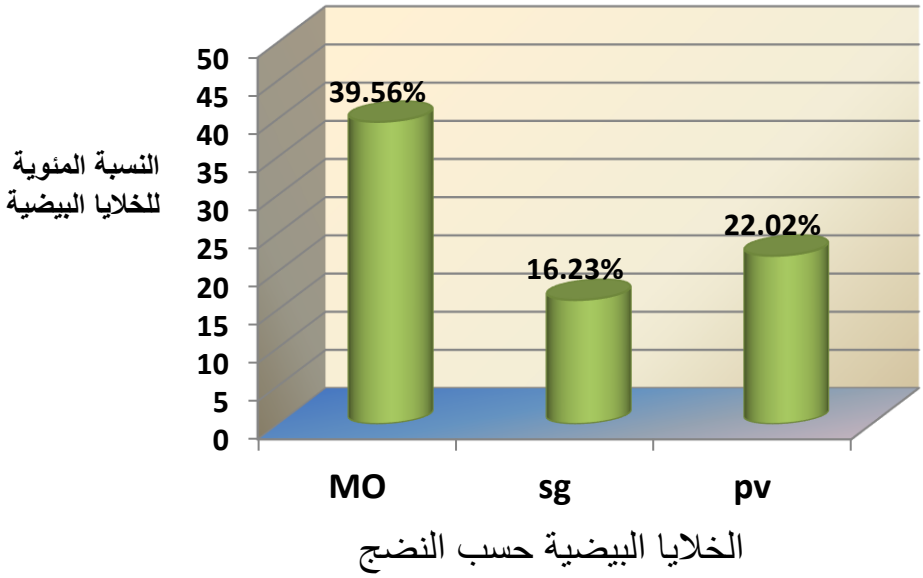
صورة (7): مقطع عرضي في مبيض أنثى معاملة بالجرعة 40 مكغم . كغم $^{-1}$ من الخليط الهرموني DOM + LHRH-A2. يظهر فيه مجموعة من الخلايا الناضجة (mo) اغلب الانوية (N) فيها لاتزال مركزية مع وجود مجموعة من الخلايا قبل المحيةPV وباحجام مختلفة (100X) (H&E).



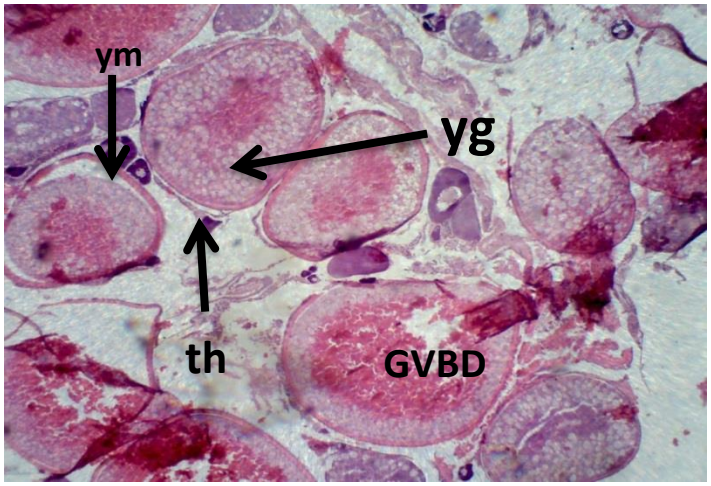
شكل (7): النسب المئوية للخلايا البيضية وحسب مراحل النضج في مبيض أنثى معاملة بالجرعة 40 مكغم . كغم $^{-1}$ من الخليط الهرموني DOM + LHRH-A2.



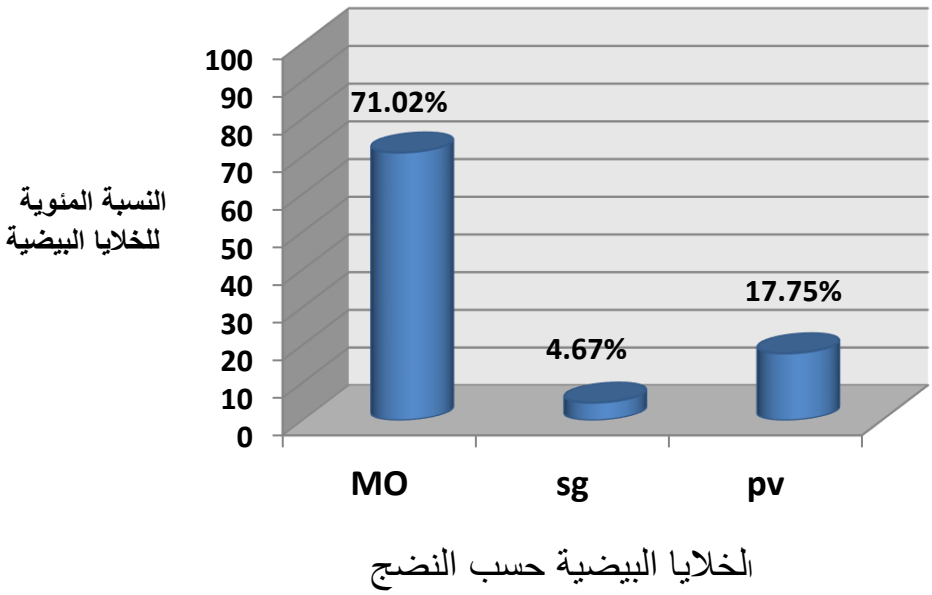
صورة (8): مقطع عرضي في مبيض أنثى معاملة بالجرعة 50 مكغم . كغم $^{-1}$ من الخليط الهرموني DOM + LHRH-A2.يظهر فيها خلايا Pv بأحجام مختلفة وخلايا بيضية ناضجة Mo محاطة بالطبقة الحبيبيةg و الغمدية th وتظهر النواة متحركة باتجاه الطرف. (100X) (H&E).



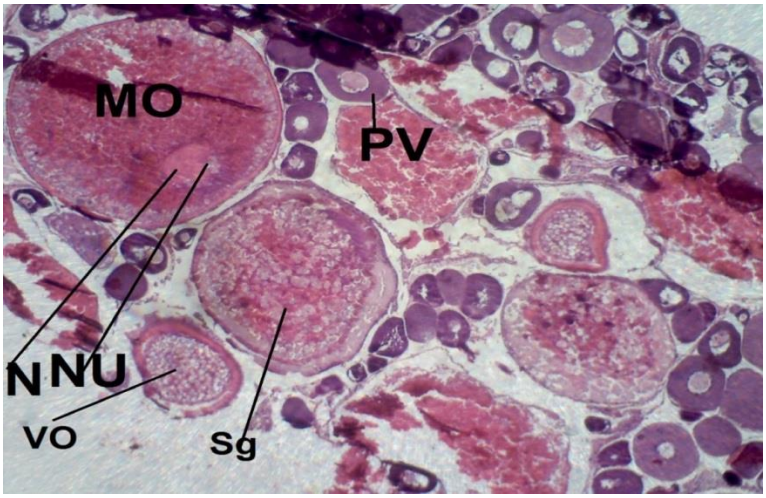
شكل (8): النسب المئوية للخلايا البيضية حسب مراحل النضج لمبيض أنثى معاملة بالجرعة 50 مكغم . كغم$^{-1}$ من الخليط الهرموني DOM + LHRH-A2 .



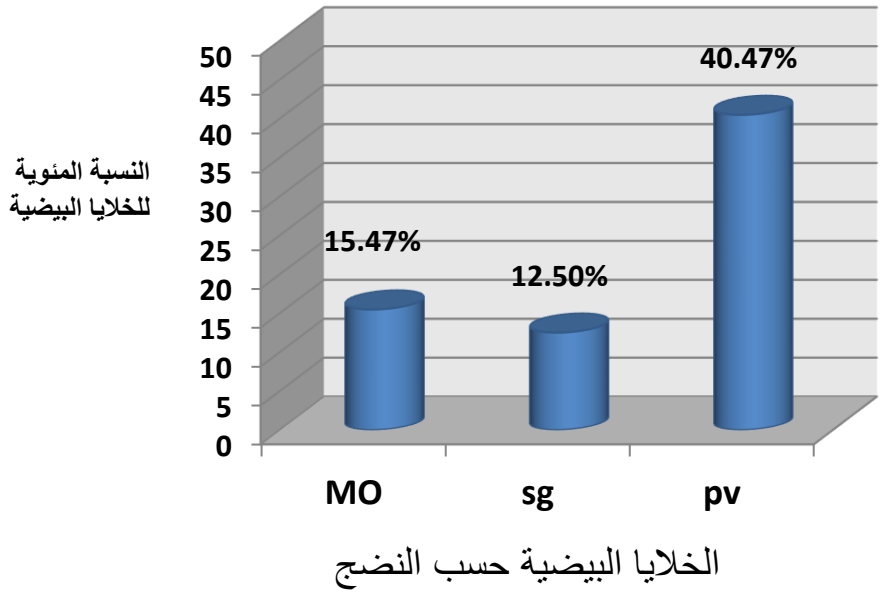
صورة (9): مقطع عرضي في مبيض أنثى اسماك الكارب معاملة بمستخلص الغدة النخامية (PG E) 4 ملغم . كغم $^{-1}$ بعد مرور ساعتين على الحقنة الثانية. يلاحظ فيه ان الخلايا الناضجة والخلايا قبل المحية(pv) ويلاحظ ايضا بعض الخلايا في مرحلة الانحلالGerminal vesicle break down (GVBD) كما يلاحظ في الخلايا الناضجة حبيبات المح المضغوطة (yg) والغشاء الذي يحيط بالمح yolk membrane (ym) والطبقة الغمدية (th). (100X) (H&E).



شكل (9): النسب المئوية للخلايا البيضية وحسب مراحل النضج لمبيض أنثى اسماك الكارب معاملة بمستخلص الغدة النخامية (P.G) 4 ملغم . كغم $^{-1}$ بعد مرور ساعتين على الحقنة الثانية.



صورة (10): مقطع عرضي في مبيض أنثى معاملة بمستخلص الغدة النخامية P.G 4ملغم . كغم $^{-1}$ بعد 8 ساعات بعد الحقن (بعد اخذ البيض). تبدو البيوض الناضجة مهيئة للطرح (MO) ذات نواة (N) مهاجرة نحو الغلاف وفيها عدد من النويات (NU) كما تلاحظ خلايا في طور النمو الثانوي (sg) مع عدد من الخلايا قبل محية (PV) (100X) (H&E).



شكل (10): النسب المئوية للخلايا البيضية وحسب مراحل النضج في مبيض أنثى معاملة بمستخلص الغدة النخامية P.G 4 ملغم . كغم $^{-1}$ بعد 8 ساعات بعد الحقن (بعد اخذ البيض).

المناقشة

بينت الدراسة النسجية أن الهرمونات المستخدمة في التكثير الاصطناعي لها تأثيرا محدوداً على تطور

نضج الخلايا البيضية، لأن الاناث المستقدمة للمعاملة الهرمونية كانت في مراحل نضج متقدمة ومتقاربة والتي لوحظت من خلال وجود جميع الخلايا البيضية بمراحلها النضجية المختلفة، إلا أن نسب تواجد هذه الخلايا كان متفاوتا بحسب نوع المعاملة الهرمونية. كما بينت الدراسة ارتفاع نسب الخلايا الاولية pv والثانوية sg في الاناث المعاملة بهرمون LHRH-A2 وحده او الخليط والتي لا تساهم في الخصوبة العملية وانخفاض نسبة الخلايا الناضجة وهذا يؤكد عدم قدرة الهرمون LHRH-A2 وحده او الخليط على تحفيز مبايض الاناث المعاملة في الوصول لمرحلة النضج النهائي والاباضة وبالتالي لا يصلح لعمليات التكثير الاصطناعي لاسماك الكارب الشائع. وهذه النتائج مشابهة لما حصل عليها Ahmadnezhad [1] في دراسته أَنَّ نتائج المقاطع النسيجية تشير الى ان المبيض تطور بشكل كامل واجتاز ست مراحل للنضج وصولا الى طرح البيض في الاسماك التي نجحت في الاباضة وعلى النقيض من ذلك فإنَّ الاسماك التي لم تطرح البيض لم يتطور المبيض بشكل كامل وانما اجتاز اربع مراحل نضجية فقط. وأشار إلى أَنَّ التفسير المحتمل لهذا هو ان هرمون LHRH -A2 الصناعي لم يستطع ان يحفز فراز هرمونات لاحداث الاباضة ، كما ان العوامل البيئية مثل درجة الحرارة والفترة الضوئية توفر اشارات ضرورية تكون محسوسة من قبل النظام العصبي المركزي لبدء التحفيز الهرموني من قبل الغدة تحت المهاد التي تفرز هرمون GnRH وهذا بدوره يحفز الغدة النخامية على اطلاق هرمونات GHTs (FSH و LH) لبدء عمليات تطور الخلايا البيضية. ذكر Schulz & Miura [16] ان هناك ارتفاعاً في مستوى بعض هرمونات المناسل (T , E2) خلال موسم التكاثر والتي تعزى الى هرمونات الغدة النخامية GHTs وبالخصوص هرمون LH.

اشار كـــــل من Nagahama [13] و Pham *et al.* [15] إلى أَنَّ هرمون FSH يشترك في عمليات تكوين المح بينما يشترك هرمون LH في عمليات النضج النهائي للبيض والاباضة. في الاسماكِ التنسيق بين المحفّزاتِ البيئيةِ و هرمون GnRH يُحفّزانِ إفرازَ FSH وLH اللذين يُنظّمانِ الاستجابات الهورمونيةَ المهمة لنجاح التكاثر وهما مهمان بسبب تاثيرهما المباشر او غير المباشر عن طريق اعضاء الحس على الغدد التي تفرز الهرمونات ومن ثم تنتج استجابات فسلجية او سلوكية مناسبة في النهاية تتحكم في وقت الاباضة في الاسماك لذلك فان فهم العمليات لحصول التكاثر هو جانب تكاملي في ادارة الثروة السمكية المستدامة. وهذه الهرمونات الانفة الذكر مهمة في التقييم الدقيق لتاثير المعاملات المختلفة على النضج الجنسي في مزارع الاسماك [1]. أما تاثير الهرمون الصناعي على انتاج سترويدات المناسل فيكون بتناسق مع هرمونات الجونادوتروبين التي ربما تنظم عدة جوانب من التطور المبيضي وتعمل عن طريق عدد من الهرمونات التابعة وغير التابعة للمناسل [15,14]. وبصدد التفاوت في الأستجابة الهرمونية للأسماك فان أستجابة الاسماك للحقن الهرموني لا تعتمد فقط على نوع الهرمون المستخدم بل على الحالة النضجية للخلايا البيضية للأسماك المعاملة فقد أوضح Marte [11] أن ألاختلافات في استجابة اناث milk fish يعود الى التفاوت في توزيعات أقطار

بيوضها إذ إن الإناث التي تتراوح أقطار بيوضها بين 0.63– 0.69 سم تظهر أستجابة ضعيفة، لأنها لا تستطيع أكمال عملية تكوين المح وأتمام النضج في فترة قصيرة . كما أشار Garcia [6] الى أن اناث أسماك *Mugil cephalus* التي تحتوي خلاياها البيضية1–3 قطرة دهنية في المركز تكون استجابتها إيجابية للحقن الهرموني، بينما أستجابتها سلبية عندما تكون الخلايا البيضة تحتوي العديد من القطرات الدهنية المنتشرة. كما بين Lee [10] بأن عملية التبييض والوضع في أسماك *M. cephalus* و *M. saliens* تتم عندما تحتوي الخلايا البيضية للأناث أقل من 5 أو 6 قطرات دهنية ، في حين ذكر Alvarez *et al*. [3] بأن هذه النتائج لا تتفق مع ما لوحظ في أسماك الخشني *Liza abu* إذ إن الخلايا البيضية لاتظهر قطرات دهنية قبل عملية الحقن الهرموني. بين Shehadeh [17] أن تحديد تـطور الخلايا البيضية يعـــتمد على قطرها أشـار Garcia [6] الى أن قطر الخلايا البيضية هو ليس كافيا لتقدير الحالة النضجية بل يجب ملاحظة عرض الجدار وحجم وتوزيع القطرات الدهنية ووجود المح وموقع النواة. اما Kuo [8] فأشار الى أن استخدام هرمون Gonadotropin كجرعة محفزة كاف لتطور الخلايا البيضية من مرحلة Tertiary yolk globule stage الى مرحلة Sub–peripheral germinal vesicle.

المصادر

1-Ahmadnezhad, M.; Oryan, S.; Sahafi, H. H and Khara, H. (2013). Effect of Synthetic Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LHRH-A2) Plus Pimozide and Chlorpromazine on Ovarian Development and Levels of Gonad Steroid Hormones in Female Kutum *Rutilus frisii* Kutum. Turk. J. Fish. Aquat. Sci., 13: 95-100.

2-Akcay, E.; Bozkurt, S. and Tekun, N. (2004). Cryopreservation of mirror carp semen. Turk. J. Vet. Anim Sci., 28: 837-843.

3-Alvarez-Lajonchere, L.; berdayes Arritola, J.; Laiz Averhoff, O. and Diaz Bellido, S. (1988). Positive results of induced spawning and larval rearing experiments with *Mugil liza* Val., a grey mullet from Cuban waters. Aquaculture, 73: 349-355.

4-Bancroft, J. D. and Stevens, A (1982). Theory and practice of histology techniques. 2nd. Churchill. Livingston, London, 662 pp.

5-Donaldson, E. M. (1996). Manipulation of reproduction in farmed fish. Anim. Reprod. Sci., 42: 381-392.

6-Garcia, A. and Bustamante, G. (1981). Resultados preliminaries del Desove inducido de lisa (*Mugil cureme* Valenciennes) en Cube. Inf. Cient.-Tec. Inst. Oceanol., 158: 17-26.

7-Kahkesh, F.B.; Feshalami, M. Y.; Amiri, F. and Nickpey, M. (2010). Effect of Ovaprim, Ovatide, HCG, LHRH-A2, LHRHA2+CPE and carp pituitary in Benni *Barbus sharpeyi* artificial breeding. Global Veterinaria, 5 (4): 209-214.

8-Kuo, C.M. (1982). Induced breeding of grey mullet, *Mugil cephalus* L.:181-184. *In:* C.J.J. Richter and M.J. Th. Goos, compilers. Proc. mt. Symp. Reprod. Physiol. Fish, Wageningen, The Netherlands. PUDOC, Wageningen.

9-Koohilai, S. Oryan, Sh. and Hosseinzadeh Sahafi, H. (2010). The study of LHRHa2, Metoclopramide and Chlorpromazine's optimum dose, by measurment of GTH II plasma in female bream *Abramis brama* orientalis (Berg, 1905). Journal of Fisheries (Iranian Journal of Natural Resources) 63(1): 37-29.

10-Lee, C. S.; Tamaru, C. S. and Kelley, C. D. (1988). The cost and effectiveess of CPH,HCG and LHRH-a on the induced spawning of grey mullet, *Mugil cephalus*. Aquaculture, 73: 341-347.

11-Marte, C. L. (1989). Hormone-induced spawning of cultured tropical finfishes. Adv. Trop. Aquacult., 9: 519-539.

12-Mylonas, C. C. and Zohar, Y. (2001). Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish, Rev. Fish. Biol. Fish., 10: 463-491.

13-Nagahama, Y. (1994). Endocrine regulation of gametogenesisin fish. Int. J. Develop. Biol., 38: 217-229 .

14-Planas, J.V.; Athos, J and Swanson, P. (2000). Regulation of ovarian steroidogenesis in vitro by FSH and LH during sexual maturation in salmonid fish. Biol. Reprod., 62: 1262-1269 .

15-Pham, H.Q.; Nguyen, A. T.; Nguyen, M. D. and Arukwe, A. (2010). Sex steroid levels, oocyte maturation and spawning performance in Waigieu sea perch *Psammoperca waigiensis* exposed to thyroxin, human chorionic gonadotropin, luteinizing hormone releasing hormone and carp pituitary extract. Comp. Bioch. Physiol., 155: 223-230.

16-Schulz, R.W. and Miura, T. (2002). Spermatogenesis and its endocrine regulation. Fish Physiology and Biochemistry, 26: 43-56.

17-Shehadeh, Z.H.; Kuo, C.M. and Milisen, K.K. (1973). Induced spawning of Grey mullet Mمكغم il cephalus L. with fractionated salmon pituitary Extract. J. Fish Biol., 5: 471-478.

18-Zohar, Y. and Mylonas, C.C. (2001). Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from Hormones to genes. Aquaculture, 197: 99-136.

Effect of Hormones Type and Dose on Oocyte Development in *Cyprinus carpio* Prepared to the Artificial Spawning

Faleh M. Al Zaidy1, Sajed S. Al-Noor2 and Basim M. Jasim2

1Department of Aquaculture and Marine Fisheries, Marine Science Centre, Basrah University, Iraq; 2Department of Fisheries and Marin resources, College of Agriculture, Basrah University, Iraq

Abstract: Three types of hormones were used in this study, i.e. LHRH-A2 with dosages of (10, 20 or 30) µg . kg^{-1}, a mixture of LHRH-A2 with dosages of (10, 20, 30, 40 and 50) µg . kg^{-1} with Domperidone (DOM) at 5 mg . kg^{-1} and carp pituitary gland extract (CPE) at 4 mg .kg^{-1} , in order to study the effect of hormone type and dosage on the oocytes development of common carp *Cyprinus carpio* L. females during the artificial fertilization. It has been found that the mature egg cells ratio prepared for realizing has appeared in some histological sections of the ovaries for females treated with the hormone LHRH-A2 alone or a mixture of the hormone LHRH-A2 + DOM except that the amount of this ratio was uneven impact of the type of hormone dose level, histological sections showed the presence ovale cells in the initial stages of growth Primary growth phase and the other in the secondary stage of growth Secondary growth phase which indicate lack of contribution to the fertility process Working fecundity. The histological sections showed there were little number of eggs arrived to the final stage of maturity, and so did not get ovulation in fish treated with hormone LHRH-A2 unit or the mixture of the hormone LHRH-A2 + DOM and this shows a lack of ability to stimulate the final maturity of the eggs and then ovulation. In contrast, the fish that were treated with extract of the pituitary gland, eggs arrived at the final stage of maturation and ovulation.