

LHRHa ([D-Ser(But)⁶,Pro⁹-NET-LHRHa) ve Domperidonun Farklı Kombinasyonlarda Kullanımı ile Ot Sazanı (*Ctenopharyngodon idellus* Valenciennes, 1844) Anaçlarında Yumurtlamanın Uyarılması Üzerine Bir Çalışma

Muhammed ARABACI * 

* Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü, Kampüs - VAN

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2009-234

Özet

Bu çalışmada ot sazanı anaçlarında yumurtlamayı uyararak amacıyla, olgun anaçlara [D-Ser(But)⁶, Pro⁹-NET]-LHRHa yüksek dozda tek başına (50 µg kg⁻¹) ve değişen dozlarda (10, 20 µg kg⁻¹) bir dopamin reseptör antagonisti olan Domperidonun (DOM) sabit dozu ile birlikte (10 mg kg⁻¹) tek enjeksiyonda uygulanarak, lokal kuluçkahane şartları altında etkileri belirlendi. Elde edilen sonuçlar klasik hipofiz ekstraktı uygulaması (çift enjeksiyon) ile karşılaştırıldı (25°C su sıcaklığında). Kontrol grubuna sadece fizyolojik tuzlu su verildi (%0.7 NaCl). Kontrol grubunda yumurtlama olmazken, LHRHa'nın yüksek dozda tek başına verildiği grupta (50 µg kg⁻¹) ve LHRHa'nın 10 µg kg⁻¹ dozda 10 mg kg⁻¹ DOM ile birlikte verildiği grupta anaçlarda yumurtlama oranı düşük gerçekleşti. LHRHa'nın 20 µg kg⁻¹ dozda 10 mg kg⁻¹ DOM ile birlikte verildiği grupta ve hipofiz verilen grupta yumurtlama oranı yüksek olarak gerçekleşti. LHRHa+DOM verilen gruplarda enjeksiyondan sonra yumurta verme süresi, hipofiz ekstraktı verilen gruba göre yaklaşık 2 kat daha kısaldı (sırasıyla 9-10 saat, 17 saat). Yumurta veren tüm gruplar arasında anaçların yumurtlama indeksi ve yumurtaların döllenme oranları açısından farklılık gözlenmedi (P>0.05). Sonuç olarak, 20 µg kg⁻¹ [D-Ser(But)⁶,Pro⁹-NET]-LHRHa+10 mg kg⁻¹ DOM uygulaması ile ot sazanı anaçlarında yumurtlama, tek enjeksiyonda ve hipofize kıyasla daha kısa bir süre içinde ve yumurta kalitesinde düşmeye neden olmaksızın başarılı bir şekilde uyarıldı. Bu kombinasyonun uygulanması, ot sazanı yetiştiriciliğinde sağlıklı bir anaç ve kuluçkahane yönetimi açısından önemli faydalar sağlayabilir.

Anahtar sözcükler: Yumurtlamanın uyarılması, LHRHa, Domperidon, *Ctenopharyngodon idellus*

A Study on Spawning Induction in Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus* Valenciennes, 1844) by Using Different Combinations of LHRHa ([D-Ser(But)⁶,Pro⁹-Net-LHRHa) and Domperidon

Summary

In this study, the effects of single administration of [D-Ser(But)⁶,Pro⁹-NET]-LHRHa at high dose alone (50 µg kg⁻¹), and at different doses (10, 20 µg kg⁻¹) combined with constant dose of the dopamine receptor antagonist, Domperidon (10 mg kg⁻¹), for induction of spawning in the grass carp broodstocks were determined under local hatchery conditions, and compared with classic Carp Pituitary Extract (CPE, double injection) application (Water temperature; 25°C). Physiological salina (0.7 % NaCl) injected fish were used as control group. No spawning was observed in the control group. Spawning ratio was low in LHRHa at high dose alone treatment group (50 µg kg⁻¹), and in 10 µg kg⁻¹ dose of LHRHa at combined with 10 mg kg⁻¹ dose of DOM treatment group. Spawning ratio was high in 20 µg kg⁻¹ dose of LHRHa combined with 10 mg kg⁻¹ dose of DOM treatment group, and in CPE treatment group. Latency period was shorter approximately two times in LHRHa+DOM treatment groups than CPE treatment groups (9-10 h, 17 h respectively). There was no differences between all spawning groups in respect of spawning index of broodstocks, and fertilisation rates of eggs (P>0.05). As a result, spawning was induced successfully in grass carp broodstocks by 20 µg kg⁻¹ [D-Ser(But)⁶,Pro⁹-NET]-LHRHa+10 mg kg⁻¹ DOM treatment, in a single injection, in a shorter latency period and without decreasing in egg quality, comparing to CPE treatment. Application of this combination can be useful for healthy broodstock and hatchery management in grass carp culture.

Keywords: Induction of spawning, LHRHa, Domperidon, *Ctenopharyngodon idellus*



İletişim (Correspondence)



+90 432 2251703



muhammet@yyu.edu.tr

GİRİŞ

Sazan hipofiz ekstraktı, sazanlarda ve birçok sazanlı balıklarda yumurtlamanın uyarılması amacıyla başarıyla kullanılmaktadır. Hipofiz ekstraktı, anaçlara iki ayrı aşamada enjeksiyonla uygulanmaktadır. Ancak, yumurtlamanın sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesi için anaçlara verilen hipofizdeki Gonadotropin (GtH) miktarı ile anaçların ihtiyaç duyduğu Gonadotropin miktarının uyumlu olması gerekmektedir. Bu amaçla hipofiz ekstraktları, içerdikleri Gonadotropin miktarı açısından standart hale getirilmiş ve ticari olarak satılmaktadır¹. Bu ekstraktların yumurtlamanın uyarılmasında başarı ile kullanımı, alternatif yaklaşımların gelişimini ve sazanlı balıkların kültüründe kullanılmasını kısıtlamıştır.

Diğer yandan sazan kültürünün dünyada hızla artması, Gonadotropin içeriği ayarlanmış hipofiz ekstraktlarının ticari olarak arzında güçlükler yol açmış ve sazanlarda yumurtlamanın uyarılmasında alternatif arayışların başlamasına sebep olmuştur². Bu yaklaşımların temeli, balığın endojen GtH salınımını artırmak amacıyla LHRH analogları (LHRHa) ve dopamin reseptör antagonistlerinin (DA) beraber kullanılmasıdır^{3,4}. LHRH analogları büyükbaş ve küçükbaş hayvanlarda östrus senkronizasyonunda, tohumlama sonrası fertilitenin yükseltilmesinde, embriyo naklinde, tohumlama sırasında kullanılmakta ve veteriner-beşeri jinekolojide çok geniş bir uygulama olanağına sahip bulunmaktadır^{5,6}. Balıklarda *in vivo* ve *in vitro* yapılan denemelerde Dopamin'in LHRHa ile uyarılan GtH sekresyonu üzerinde direkt olarak baskılayıcı etkisinin olduğu belirlenmiştir⁷⁻¹⁰. Dopamin sentezini bloke eden, kateşolaminleri baskılayan veya D-2 tipi dopamin reseptörlerini bloke eden ilaçlar, dopaminin GtH sekresyonu üzerindeki baskılayıcı etkisini düşürürken, LHRH'nın GtH sekresyonu üzerindeki etkisini de arttırmaktadırlar^{7,10}. Domperidon da (DOM) oldukça spesifik ve potent bir D-2 reseptör antagonisti olup havuz sazanlarında (*Carassius auratus*) ve muhtemelen de diğer teleostlarda kan-beyin bariyerini geçmediği bildirilmektedir⁷. Bu yüzden domperidon, kullanımı tercih edilen bir dopamin antagonistidir.

LHRH analoglarının DA'lı veya DA'sız kullanımı ve çevre şartları, yumurtlamanın uyarılma süresi ve standardizasyonun sağlanması açısından sazanlı balıklarda farklı tepkilere yol açmaktadır¹¹. Kullanılan kombinasyonların etkin dozları ve yumurta alım süreleri üzerine etkileri, türlere göre farklılık göstermektedir¹²⁻¹⁴. Bu bağlamda çalışmaların boyutu, bu kombinasyonların üreticilerce doğru kullanımını sağlamak amacıyla

farklı LHRHa ve DA kombinasyonlarının, lokal şartlar altında uygun dozlarda kullanımı ile yumurta alım süresine etkisinin doğru bir şekilde belirlenmesine doğru kaymıştır¹⁵.

Bu çalışmada, ot sazanı anaçlarında yumurtlamayı uyarmak amacıyla, olgun anaçlara [D-Ser(But)⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa'nın yüksek dozda tek başına ve sabit dozda bir dopamin reseptör antagonisti olan Domperidon ile birlikte değişen dozlarda tek enjeksiyonda verilmesinin, lokal kuluçkahane şartları altındaki etkilerinin belirlenmesi ve klasik hipofiz ekstraktı uygulaması (çift enjeksiyon) ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Uygulamaların etkilerini belirlemek için anaçlarda enjeksiyondan sonra yumurta verme süresi, yumurtlama indeksi ve alınan yumurtalarda döllenme oranları belirlenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Denemeler, Gölarmara'da "AKSAN Sazan ve Tropikal Akvaryum Balıkları Üretim Tesisleri" kuluçkahanesinde (Akhisar-Manisa) damızlık olarak kullanılan ot sazanı anaçları üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmada ortalama ağırlıkları, 3-6 kg arasında olan anaçlar kullanıldı. Damızlık olarak kullanılan anaçlar, cinsiyetlerine göre ayrılıp ayrı toprak havuzlarda stoklandı. Yumuşak ve gergin karınlı olgun anaçlar, abdominal palpasyonla belirlendi. Seçilen anaçlar, oviduktları dikildikten sonra, iyi havalandırılmış olan 25°C sıcaklığındaki ve 750 litre hacimdeki tanklara transfer edildi.

Çalışmada LHRH analogu olarak [D-Ser(But)⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa kullanılırken, Dopamin reseptör antagonisti olarak kullanılan Domperidon (Sigma), Lin ve ark.'nın bildirdiği yöntemle hazırlandı¹⁶. Hipofiz ekstraktı (Argent) ise Atay'a göre uygulandı¹⁷.

Etkin LHRHa+DOM kombinasyon dozunu belirlemek için 38 adet ot sazanı anacı kullanılarak 5 deneme grubu oluşturuldu. Sadece FTS verilen grup negatif kontrol grubu olarak (1. Grup), sadece hipofiz ekstraktı verilen grup ise pozitif kontrol grubu olarak (5. Grup) değerlendirildi (Tablo 1). FTS'de çözülen Hipofiz ekstraktı, dişi anaçlara ilk enjeksiyonda 0.3 mg/kg, ikinci enjeksiyonda 2.7 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal yolla 10 saat ara ile verildi¹⁴. Erkek anaçlara sadece ikinci enjeksiyon 2 mg kg⁻¹ dozda ve aynı yolla verildi. Hipofiz ekstraktları, son hacim 1 ml kg⁻¹ olacak şekilde enjekte edildi¹⁷.

İkinci grupta LHRHa yüksek dozda ve tek başına

uygulanarak, Domperidon olmaksızın yumurtlama üzerine etkisi belirlenmeye çalışıldı. Üç ve 4. gruplarda, Domperidon daha önce sazangillerle yapılan çalışmalarda etkili olduğu bildirilen 10 mg kg⁻¹ sabit dozda, LHRHa'nın değişen dozları ile (sırasıyla 10, 20 µg kg⁻¹) birlikte tek enjeksiyonda uygulandı (Tablo 1)^{2,16}. Bu şekilde [D-Ser(But)⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa'nın Domperidon ile birlikte ot sazani anaçlarında hangi dozda kullanılması gerektiği belirlenmeye çalışıldı. Erkek anaçlara, dişi anaçlara uygulanan dozların yarısı uygulandı. LHRHa+DOM kombinasyonları, son hacim 0.5 ml kg⁻¹ olacak şekilde ve intraperitoneal yolla enjekte edildi.

Döllenme ve inkubasyon, Rothbard'a göre yapıldı¹⁸. Hormon verilen anaçlarda uygulamalara cevap veren anaç sayısı ve enjeksiyondan sonra ne kadar sürede yumurta verdikleri belirlendi. Uygulamaların yumurtlama üzerine etkisini belirleyebilmek için yumurtlama indeksleri [= (Alınan yumurta (g) x 100) / Anaç ağırlığı (g)] belirlendi¹⁹. Yumurta kalitesi üzerine olan etkileri belirlemek için ise her anaçtan alınan yumurtalar farklı kaplarda döllenerek ayrı inkubatörlere alındı. Döllenmeden sonra en erken 45 dakika içinde yapılan 5 örneklemede 10 yumurtanın mikroskopta (Nikon, x10) muayanesi ile döllenme oranları belirlendi¹⁹.

Çalışmada ortalama değerler standart sapmaları ile birlikte verildi. Yumurtlama oranları, Fisher'in ihtimal testi ile karşılaştırıldı (%95 güven aralığında). Gruplar arası yumurtlama oranı ve yumurtlama indeksi açısından farklılığının analizinde ise non-parametrik Mann Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel hesaplamalar, COSTAT ve EXCEL programları kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

[D-Ser(tBu)⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa'nın tek başına ve artan dozlarda, Domperidon ile birlikte kullanılmasının yumurtlama ve yumurta kalitesi üzerine etkileri Tablo 1'de görülmektedir.

LHRHa'nın tek başına yüksek dozda (50 µg kg⁻¹) uygulandığı 2. Grupta ve 10 µg kg⁻¹ dozda 10 mg kg⁻¹ DOM ile birlikte kullanıldığı 3. Grupta kısmi yumurtlama gerçekleşmiş olup kendi aralarında yumurtlama oranı açısından istatistiksel olarak bir farklılık gözlemlenmemiştir. İkinci ve 3. grup ile yumurtlamanın hiç gerçekleşmediği kontrol grubu arasında yumurtlama oranı açısından görülen farklılık istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Tablo 1. LHRHa ([D-Ser(But)⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa), LHRHa + Domperidon uygulaması (tek enjeksiyon) ile hipofiz ekstraktı uygulamasının (çift enjeksiyon) ot sazani anaçlarında yumurtlama ve yumurta kalitesi üzerine etkileri (Su sıcaklığı: 25°C). **YO**; Yumurtlama Oranı, **YVS**; Enjeksiyondan Sonra Yumurta Verme Süresi, **Yİ**; Yumurtlama İndeksi, **DO**; Döllenme Oranı, **SS**; standart sapma

Table 1. The effects of LHRHa ([D-Ser(But)⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa), LHRHa + Domperidon applications (single injection) and Carp Pituitary Extract (double injection) application on spawning and egg quality in grass carp broodstocks (Water temperature; 25°C). **YO**; Spawning rate, **YVS**; Latency time, **Yİ**; Spawning indeks, **DO**; Fertilisation rate, **SS**; standart deviation

Gruplar	YO	YVS (Saat)	DO±SS (%)	Yİ±SS
1. FTS	0/8 ^b	-	-	-
2. LHRHa (50 µg)	1/8 ^b	10	66±6	10
3. LHRHa (10 µg)+ DOM (10 mg)	1/8 ^b	10	63±8	12
4. LHRHa (20 µg)+ DOM (10 mg)	5/7 ^a	9-10	70±8	13±2
5. Hipofiz, I. enjeksiyon;	4/7 ^a	10	65±7	11±3
II. enjeksiyon;		7		

Aynı harfler, istatistiksel olarak farklılığın olmadığını göstermektedir (P>0.05)

Same letters show that there is no istatistically difference (P>0.05)

En yüksek yumurtlama oranı, DOM'un [D-Ser(But)⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa'nın 20 µg kg⁻¹ dozu ile birlikte kullanıldığı 4. Grupta gerçekleşmiştir. Dördüncü grupta 1, 2 ve 3. gruplar arasında yumurtlama oranı açısından istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlenirken (P<0.05), yumurtlama oranının yüksek olduğu hipofiz uygulanan grupla benzerlik gözlenmiştir (P>0.05). Yumurtlamanın gerçekleştiği gruplar arasında yumurtlama indeksi ve döllenme oranı bakımından anlamlı bir farklılık görülmemiştir (P>0.05).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Sazanlarda ve sazangillerde üremeyi uyarmak amacıyla herhangi bir DA ile birlikte yaygın olarak kullanılan LHRH analogları, [D-Ala⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa ve [D-Arg⁶, Pro⁹-NEt]-salmon LHRHa'dır^{4,14-16}. Bu çalışmada kullanılan [D-Ser(But)⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa ise balıklarda yumurtlamanın uyarılmasında kullanımı yaygın olmayan bir analog olmakla birlikte, uzun salınımlı hale getirilerek enjeksiyonu ile Çipura (*Sparus aurata*) ve Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) anaçlarında ve Dopamin antagonistleri olan Haloperidol ve Metoklopramit ile birlikte kullanıldığında sazan anaçlarında yumurtlamanın başarılı bir şekilde uyarılmasını sağlamıştır²⁰⁻²³. Aynı LHRH analogu, *Pseudopleuronectes americanus*'ta spesifik LHRHa reseptörlerinin belirlenmesinde, gökkuşağı alabalığı, *Salmo salar* ve *Pseudopleuronectes americanus*'ta biyolojik aktivitesinin belirlenmesinde,

Carassius auratus'ta hipofizdeki biyolojik aktivitesi ve reseptöre bağlanma gücü arasındaki fonksiyonel ilişkinin belirlenmesinde, *Gasterosteus aculeatus*'ta spesifik LHRHa reseptörlerinin belirlenmesinde kullanılmıştır²⁴⁻²⁷. Afrika yayın balığında da (*Clarias gariepinus*) *in vitro* olarak salmon LHRH analogu ile benzer aktivite gösterdiği bildirilmiştir²⁸.

LHRHa'nın tek başına ve yüksek dozda (2. grup) uygulaması ile kısmi yumurtlama gerçekleşmiş ve 8 anaçtan ancak 1'inden yumurta alınabilmektedir. Sazan-gillerde salmon ve memeli LHRH analoglarının tek başına uygulanması yüksek dozda uygulansa da yumurtlamanın uyarılmasında yetersiz kalmaktadır. Çünkü dopaminerjik inhibisyon, sazan ve sazan-gillerde yumurtlamanın uyarılmasını baskılamaktadır¹⁶. Bu yüzden kullanılan LHRH analoglarının ve DA'nın titizlikle seçilmesi, GtH sekresyonunu arttırmak ve yumurtlamayı uyarmak açısından oldukça önemlidir^{3,16}.

Yumurtlamayı uyarmak amacıyla farklı balık türlerinde farklı LHRH analogları ile birlikte farklı DA'lar farklı dozlarda kullanılmaktadır. Bu çalışmada bir DA olan Domperidon sazan-gil anaçlarında kullanımı yaygın olduğu için tercih edilmiştir^{2,8,16}.

LHRHa'nın düşük dozda (10 µg kg⁻¹) DOM ile birlikte kullanılması ile yumurtlamanın düşük oranda gerçekleştiği gözlenmiştir. Bu durumda LHRHa'nın bu dozda yumurtlama için yeterli GtH sekresyonunu sağlayamadığı anlaşılmaktadır. Nitekim LHRHa, daha yüksek dozda (20 µg kg⁻¹) DOM ile birlikte kullanıldığında 4. grupta yüksek oranda yumurtlama olduğu gözlenmiştir.

Peter ve ark.², ot sazanı anaçlarında yumurtlamayı uyarmak amacıyla [D-Ala⁶, Pro⁹-NEt]-LHRH analogunu 10 ve 50 µg kg⁻¹ dozlarda, 5 mg kg⁻¹ DOM ile birlikte kullanmışlar ve 10 µg kg⁻¹ dozda yüksek ovulasyon oranı sağlarken 50 µg kg⁻¹ dozda tam yumurtlama elde ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan [D-Ser(But)⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa 10 µg kg⁻¹ dozda ve 10 mg kg⁻¹ DOM ile kullanıldığında ot sazanlarında yumurtlama oranı düşük (1/8) gerçekleşmiştir. Yüksek yumurtlama oranı ise ancak LHRHa'nın 20 µg kg⁻¹ dozda kullanıldığı 4. grupta elde edilmiştir. Bu farklılığın nedeni kullanılan LHRH analoglarının yapı-aktivite ilişkilerinden kaynaklanabilir. Nitekim Peter ve Yu¹⁴, dekapeptit yapıdaki LHRH'nın 6. pozisyonundaki aminoasit modifikasyonlarının ve 10. aminoasitin etilamitle değiştirilerek C-terminalinin stabilizasyonunun sağlanmasının, elde edilen analoglarda aktiviteyi yumurtlamanın uyarılması açısından farklı etki-

lediğini bildirmişlerdir.

[D-Ser(But)⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa+DOM uygulanan gruplarda yumurtlama, enjeksiyondan 9-10 saat sonra gerçekleşmiştir (25°C su sıcaklığında). Bu süre, diğer araştırmacılar tarafından uygulanan farklı LHRHa+DA kombinasyonlarından elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir^{2,16}. Hipofiz uygulanan grupta ise ilk enjeksiyondan itibaren yumurta alım süresi 17 saat olarak gerçekleşmiştir. [D-Ser(But)⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa + DOM kombinasyonunun tek enjeksiyonda ve yaklaşık 2 kat daha kısa sürede etkili olması (9-10 saat), çok hassas olan ot sazanı anaçlarının daha az strese girmesine, işçilik ve işçilik maliyetinin düşmesine sebep olacağı için işletme yönetimi açısından avantaj sağlamaktadır. Ayrıca Ser(But)⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa + DOM verilen 3. ve 4. gruplar yumurtlama indeksi ve yumurtaların döllenme oranları açısından Hipofiz ekstraktı verilen grupla karşılaştırıldıklarında aralarında istatistiksel anlamda bir farklılığın olmadığı görülmektedir (*Tablo 1*). Brzuska da başka bir DA olan Pimozit ile LHRHa'yı ot sazanı anaçlarında yumurtlamayı uyarmak amacıyla kullandıklarında, bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde yumurtlama oranının hipofize kıyasla daha yüksek olduğunu ve yumurtlama indeksi, döllenme ve yaşama oranı açısından farklılığın gözlenmediğini bildirmişti²⁹.

Sonuç olarak, 20 µg kg⁻¹ [D-Ser(But)⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa ve 10 mg kg⁻¹ Domperidonun birlikte kullanımı ile ot sazanı anaçlarında yumurtlama, yumurtalarda döllenme oranlarında negatif bir etkiye neden olmaksızın başarılı bir şekilde uyarılabilir. Bu yöntemin tek enjeksiyonda uygulanması, anaçlarda daha az strese neden olması, daha kısa sürede yumurta alımı sağlanması, etken maddeleri beşeri tıpta ve veteriner hekimlikte sıklıkla kullanıldığı için erişimin kolay olması, hipofiz ekstraktına göre yedi kat daha ucuz maliyetli olması, işçiliği ve işletme maliyetini düşürmesi gibi avantajları, klasik hipofiz ekstraktı uygulaması yerine rahatlıkla kullanılabilmesini göstermektedir. Bu kombinasyonun uygulanması ile ot sazanı yetiştiriciliğinde sağlıklı bir anaç ve kuluçkahane yönetimi açısından oldukça önemli faydalar sağlanabilir.

TEŞEKKÜR

Çalışmaların gerçekleşmesinde yardımlarını esirgemeyen, "AKSAN Sazan ve Tropikal Akvaryum Balıkları Üretim Tesisleri" (Akhisar-Manisa) yöneticileri, Erdoğan Ak ve Mehmet Akif Ak'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. **Yaron Z, Bogomolnaya A, Lcvavi B:** A Calibrated Carp Pituitary Extract as A Spawning-Inducing Agent. **In**, Rosenthal H, Sang S (Eds): Research on Aquaculture, Eur. Maricult. Soc. Spec. No. 8, Bredene, Belgium, pp 151-167, 1984.
2. **Peter R E, Lin H R, Van Der Kraak G:** Induced ovulation and spawning of cultured freshwater fish in China: Advances in application of GnRH analogues and dopamine antagonists. *Aquaculture*, 74, 1-10, 1988.
3. **Zohar Y, Mylonas CC:** Endocrine manipulation of spawning in cultured fish: From hormones to genes. *Aquaculture*, 197, 99-136, 2001.
4. **Peter R E, Lin H R, Van Der Kraak G, Little M:** Releasing Hormones, Dopamine Antagonists and Induced Spawning. **In**, Muir JF, Roberts RJ (Eds): Recent Advances in Aquaculture. Vol. IV, Blackwell, Oxford, pp 25-30, 1993.
5. **Mehdikhani A, Salmanoğlu MR:** Postpartum problemsiz ineklerde prostaglandin F2 alfa ve gonadotrophin releasing hormone kullanımının reprödüktif performans üzerine etkisi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 4 (1-2): 75-82, 1998.
6. **Kaçar C, Kamiloğlu NN, Uçar Ö, Arı UÇ, Pancarcı ŞM, Güngör Ö:** İneklerde β-karoten + E Vitamini uygulamasıyla kombine edilen ovsynch ve cosynch senkronizasyon programlarının gebelik oranı üzerine etkisi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 14 (1), 45-50, 2008.
7. **Omeljaniuk RJ, Shih SH, Peter RE:** *In-vivo* evaluation of dopamine receptor mediated inhibition of gonadotropin secretion from the pituitary gland of the goldfish, *Carassius auratus*. *J Endocrinol*, 114, 449-458, 1987.
8. **Omeljaniuk RJ, Habibi RH, Peter RE:** Alterations in pituitary GnRH and dopamine receptors associated with the seasonal variation and regulation of gonadotropin release in the goldfish, *Carassius auratus*. *Gen Comp Endocrinol*, 74, 392-399, 1989.
9. **Asselt L A CV, Goos HJ Th, Smit-van Dijk W, Speetjens P AM, Oordt PGWJV:** Evidence for the involvement of D2 receptors in the dopaminergic inhibition of gonadotropin release in the African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*, 72, 369-78, 1988.
10. **Glubokov AI, Motloch NN, Sedova MA:** Effect of synthetic LHRH analogue and dopamine antagonists on the maturation of bream, *Abramis brama L.* *Aquaculture*, 95, 373-377, 1991.
11. **Lin HR, Peng C, Van Der Kraak G, Peter RE, Breton B:** Effects of [D-Ala⁶Pro⁹-NEt]-LHRH and catecholaminergic drugs on gonadotropin secretion and ovulation in the Chinese loach *Paramisgurnus dabryanus*. *Gen Comp Endocrinol*, 64, 389-395, 1986.
12. **Leeuw RD, Goos HJ Th, Richter CJJ, Eding EH:** Pimozide-LHRHa induced breeding of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). *Aquaculture*, 44, 295-302, 1985.
13. **Lin HR, Peng C, Van Der Kraak G, Peter RE, Breton B:** Effects of [D-Ala⁶Pro⁹-NEt]-LHRH and catecholaminergic drugs on gonadotropin secretion and ovulation in the Chinese loach *Paramisgurnus dabryanus*. *Gen Comp Endocrinol*, 64, 389-395, 1986.
14. **Peter RE, Yu KL:** Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: Basic and applied aspects. *Rev Fish Biol Fish*, 7, 173-197, 1997.
15. **Drori S, Ofir M, Sivan B L, Yaron Z:** Spawning induction in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract or GnRH superactive analogue combined with metoclopramide: Analysis of hormone profile, progress of oocyte maturation and dependence on temperature. *Aquaculture*, 119, 393-407, 1994.
16. **Lin HR, Van Der Kraak G, Zhou XJ, Liang JY, Peter RE, Rivier JE, Vale WW:** Effects of [D-Arg⁶,Trp⁷,Leu⁹,Pro⁹-NEt]-luteinizing hormone-releasing hormone (sGnRH-A) and [D-Ala⁶Pro⁹-NEt]-luteinizing hormone-releasing hormone (LHRHA), in combination with pimozide or domperidone, on gonadotropin release and ovulation in the Chinese bich and common carp. *Gen Comp Endocrinol*, 69, 31-40, 1988.
17. **Atay D:** Fresh Water Fishes and Culture Techniques. Ankara University (in Turkish). Agriculture Faculty Pub, No: 300, Ankara, 1987.
18. **Rothbard S:** Induced reproduction in cultivated cyprinids-the common carp and the group of Chinese carps. I. The technique of induction, spawning and hatching. *Bamidgeh*, 33, 103-121, 1981.
19. **Horvath L:** Egg Development (oogenesis) in the Common Carp (*Cyprinus carpio L.*). **In**, Muir JF, Roberts R J (Eds): Recent Advances in Aquaculture. Vol. 2. Croom Helm, London, pp 32-77, 1985.
20. **Arabacı M:** Induction and synchronisation of reproduction in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*) broodstocks by using long-acting LHRHa preparation. *PhD Thesis* (in Turkish). Ege Univ Fen Bilimleri Enst, 87 pp, Izmir, Turkey, 2000.
21. **Arabacı M, Diler I, Sarı M:** Induction and synchronisation of ovulation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by administration of emulsified GnRH-a and its effects on egg quality. *Aquaculture*, 237, 475-484, 2004.
22. **Arabacı M, Çağırğan H, Sarı M:** Induction of spawning in Common Carp (*Cyprinus carpio*) using LHRHa ([D-Ser(tBu)⁶, Pro⁹-Net]-LHRH) combined with Haloperidol: Effects of different treatment time and Determination of latency period dependence on temperature. *Turk J Fish Aquatic Sci*, 1, 1-5, 2001.
23. **Arabacı M, Çağırğan H, Sarı M, Gelmez R:** [D-Ser(But)⁶, Pro⁹-NEt]-LHRHa ve metoklopramidin farklı kombinasyonlarda kullanımını ile sazan (*Cyprinus carpio*) anaçlarında yumurtlamanın uyarılması. *Turk J Vet Anim Sci*, 28, 1051-1056, 2004.
24. **Crim LW, Arnaud R St, Lavoie M, Labrie F:** A study of LHRH receptors in the pituitary gland of the Winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus Walbaum*). *Gen and Comp Endocrinology*, 69, 372-377, 1988.
25. **Crim LW, Nestor JJ, Wilson C E:** Studies of the biological activity of LHRH analogs in the rainbow trout, landlocked salmon, and the winter flounder. *Gen Comp Endocrinol*, 71, 372-382, 1988.
26. **Habibi RH, Marchant TA, Carol S, Nahorniak CS, Loo H VD, Peter RE, Rivier JE, Vale WW:** Functional relationship between receptor binding and biological activity for analogues of mammalian and salmon gonadotropin-releasing hormones in the pituitary of goldfish (*Carassius auratus*). *Biol Reprod*, 40, 1152-1161, 1989.
27. **Anderson E, Borg B, Leeuw RD:** Characterisation of gonadotropin-releasing hormone binding sites in the pituitary

of the three stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Gen Comp End*, 76, 41-45, 1989.

28. Leeuw R De, Veer C, Van't Smit-van Dijk W, Goos HJ Th, Oordt PGWJ Van: Binding affinity and biological activity of gonadotropin-releasing analogues in the African catfish,

Clarius gariepinus. *Aquaculture*, 71, 119-131, 1988.

29. Brzuska E: Artificial spawning of herbivorous fish: Use of an LHRH-a to induce ovulation in grass carp *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes) and silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes). *Aquaculture Res*, 30, 849-856, 1999.