

## [D-Ser(tBu)<sup>6</sup>,Pro<sup>9</sup>-NET]-LHRHa ve Metoklopramidin Farklı Kombinasyonlarda Kullanımı ile Sazan (*Cyprinus carpio*) Anaçlarında Yumurtlamanın Uyarılması

Muhammed ARABACI

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü, Kampüs, Van - TURKEY

Haşmet ÇAĞIRGAN

Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Bornava, İzmir - TURKEY

Mustafa SARI

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü, Kampüs, Van - TURKEY

Reyhan GELMEZ

DSİ, Ürkmez Balık Üretim İstasyonu, Ürkmez, İzmir - TURKEY

Geliş Tarihi: 19.08.2002

**Özet:** Bu çalışmada sazan anaçlarında yumurtlamayı uyararak amacıyla, olgun anaçlara [D-Ser(tBu)<sup>6</sup>,Pro<sup>9</sup>-NET]-LHRHa (LHRH-a) yüksek dozda tek başına (50 µg/kg) ve sabit dozda (20 µg/kg), bir dopamin reseptör antagonisti olan Metoklopramid'in (MET) farklı dozları ile birlikte (5, 10, 20, 40 mg/kg) tek enjeksiyonda uygulanarak, lokal şartlar altında etkileri belirlenmiş ve 24 °C su sıcaklığında klasik hipofiz ekstraktı uygulaması (çift enjeksiyon) ile karşılaştırılmıştır. Kontrol grubuna ise sadece fizyolojik tuzlu su (% 0,7 NaCl) verilmiştir. Kontrol grubunda ve LHRH-a'nın MET'in düşük dozları (5, 10 mg/kg) ile birlikte verildiği gruplarda yumurtlama gözlenmezken, LHRH-a'nın yüksek dozda tek başına verildiği grupta (50 µg/kg) yumurtlama oranı (YO) düşük gerçekleşmiştir. LHRH-a'nın MET'in yüksek dozları (20, 40 mg/kg) ile birlikte verildiği gruplarda ve hipofiz enjektinde edilen gruplarda YO yüksek olarak gerçekleşmiştir. LHRH-a+MET verilen gruplarda enjeksiyondan sonra yumurtlama süresi (YS), hipofiz ekstraktı verilen gruba göre yaklaşık 2 kat daha kısalmıştır (sırasıyla 14-16 saat, 24-26 saat). Yumurtlayan gruplar arasında anaçların yumurtlama indeksi (YI) ve yumurtaların döllenme ve açılma oranları (DO, AO) açısından farklılık gözlenmemiştir.

Sonuç olarak, 20 µg/kg LHRH-a+20 mg/kg MET uygulaması ile sazan anaçlarında yumurtlama, tek enjeksiyonda ve hipofiz enjeksiyonuna kıyasla daha kısa bir süre içinde ve yumurta kalitesinde düşmeye neden olmaksızın başarılı bir şekilde uyarılabilmektedir. Bu kombinasyonun uygulanması, sazan yetiştiriciliğinde daha etkin bir anaç ve kuluçkahane yönetimi açısından önemli faydalar sağlayabilir.

**Anahtar Sözcükler:** Yumurtlamanın uyarılması, LHRH-a, metoklopramid, *Cyprinus carpio*.

### Spawning Induction in the Common Carp (*Cyprinus carpio*) Using Different Combinations of [D-Ser(tBu)<sup>6</sup>,Pro<sup>9</sup>-Net]-LHRHa and Metoclopramide

**Abstract:** The effects of a single administration of [D-Ser(tBu)<sup>6</sup>,Pro<sup>9</sup>-NET]-LHRHa at high dose alone (50 µg/kg), and at constant dose (20 µg/kg) combined with different doses of the dopamine receptor antagonist Metoclopramide (5, 10, 20, 40 mg/kg) for the induction of spawning in common carp broodstocks were determined under local hatchery conditions and compared with classic carp pituitary extract (CPE, double injection) application (water temperature 24 °C). Fish injected with physiological saline (0.7% NaCl) were used as a control group. No spawning was observed in the control group or in the groups given LHRH-a combined with low (5, 10 mg/kg) doses of MET. The spawning ratio was low in the group given a high dose of LHRH-a alone (50 µg/kg), while it was high in the groups given LHRH-a combined with high (20, 40 mg/kg) doses of MET, and in the group injected with CPE. Latency period in the LHRH-a+MET groups was approximately half of that in the CPE group (14-16 and 24-26 h, respectively). There were no differences between spawned groups with respect to the spawning index of broodstocks, or the fertilization/hatching rate of eggs. It was concluded that spawning can be induced successfully in common carp broodstocks with 20 µg/kg LHRH-a+20 mg/kg MET, in a single injection, in a shorter latency period and without a negative effect on egg quality, compared to CPE treatment. This combination may be useful for more effective broodstock and hatchery management in common carp culture.

**Key Words:** Induced spawning, LHRHa, metoclopramide, *Cyprinus carpio*

## Giriş

Yılın herhangi bir zamanında sazanlardan alınan hipofizlerin, üreme zamanında anaç balıklara enjeksiyonla verilmesi ile sazanğillerde yumurtlama uyarılabilmektedir. Hipofizler, anaçlara iki ardıl enjeksiyonla uygulanmaktadır. Yumurtlamanın sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesi için verilen hipofizdeki Gonadotropin (GtH) miktarı ile, anaçların ihtiyaç duyduğu Gonadotropin miktarının uyumlu olması gerekmektedir. Bu amaçla hipofiz ekstraktları, içerdikleri Gonadotropin miktarı açısından standart hale getirilmiştir (1). Bu ekstraktların yumurtlamanın uyarılmasında başarı ile kullanımı, alternatif yaklaşımların sazan yetiştiriciliğinde kullanılmasını kısıtlamıştır.

Diğer yandan sazan yetiştiriciliğinin hızla artması, Gonadotropin içeriği ayarlanmış hipofiz ekstraktlarının ticari olarak arzında güçlüklerle yol açmış ve sazanlarda yumurtlamanın uyarılmasında alternatif arayışların başlamasına sebep olmuştur (2). Bu yaklaşımların esası, balığın endojen GtH salınımını artırmak amacıyla LHRH analogları (LHRH-a) ve dopamin reseptör antagonistlerinin (DA) beraber kullanılmasıdır (2-5). In vivo ve in vitro yapılan denemelerde Dopamin'in LHRH-a ile uyarılan GtH sekresyonu üzerinde direkt olarak baskılayıcı etkisinin olduğu belirlenmiştir (6-9). Dopamin sentezini bloke eden, katekolaminleri baskılayan veya D-2 tipi dopamin reseptörlerini bloke eden kimyasallar, dopaminin GtH sekresyonu üzerindeki baskılayıcı etkisini düşürürken, LHRH'ın GtH sekresyonu üzerindeki etkisini de arttırmaktadırlar (4,6,7,9).

LHRH analoglarının DA'lı veya DA'sız kullanımı ve çevre şartları, yumurtlamanın uyarılma süresi ve standardizasyonun sağlanması açısından sazan anaçlarında farklı tepkilere yol açmaktadır (10). Kullanılan kombinasyonların etkin dozları ve yumurta alım süreleri üzerine etkileri, türlere göre farklılık göstermektedir (11-13). Bu bağlamda çalışmaların boyutu, bu kombinasyonların üreticilerce doğru kullanımını sağlamak amacıyla farklı LHRH-a ve DA kombinasyonlarının, lokal şartlar altında uygun dozlarda kullanımı ile yumurta alım süresine etkisinin doğru bir şekilde belirlenmesine doğru kaymıştır (14).

Sazanlarda yumurtlamayı uyararak amacıyla herhangi bir DA ile birlikte yaygın olarak kullanılan LHRH analogları, [D-Ala<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup>-NET]-LHRHa ve [D-Arg<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup>-NET]-salmon LHRHa'dır (2,4,13,14). Çalışmada kullanılan

[D-Ser(tBu)<sup>6</sup>,Pro<sup>9</sup>-NET]-LHRHa *Pseudopleuronectes americanus*'ta spesifik LHRH-a reseptörlerinin belirlenmesinde (15), *Onchorhynchus mykiss*, *Salmo salar* ve *Pseudopleuronectes americanus*'ta biyolojik aktivitesinin belirlenmesinde (16), *Carassius auratus*'ta hipofizde biyolojik aktivitesi ve reseptöre bağlanma gücü arasındaki fonksiyonel ilişkinin belirlenmesinde (17), *Gasterosteus aculeatus*'ta spesifik LHRH-a reseptörlerinin belirlenmesinde (18) kullanılmıştır. Afrika yayın balığında (*Clarias gariepinus*) da in vitro olarak salmon LHRH analogu ile benzer aktivite gösterdiği bildirilmiştir (19). Bu LHRH analogu, balıklarda yumurtlamanın uyarılmasında kullanımı yaygın olmayan bir analog olmakla birlikte, uzun salınımlı hale getirilerek enjeksiyonu ile çipura (*Sparus aurata*), levrek (*Dicentrarchus labrax*) anaçlarında (20) ve bir Dopamin antagonisti olan Haloperidol ile birlikte kullanıldığında sazan anaçlarında yumurtlamanın başarılı bir şekilde uyarılmasını (21) sağlamıştır. Arabacı ve ark. (21), sazan anaçlarında yumurtlamayı uyararak için [D-Ser(tBu)<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup>-NET]-LHRHa'nın bir DA ile birlikte kullanıldığında optimum etkin dozun 20 µg/kg olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, sazan anaçlarında yumurtlamayı uyararak amacıyla, olgun anaçlara [D-Ser(tBu)<sup>6</sup>,Pro<sup>9</sup>-NET]-LHRHa'nın yüksek dozda tek başına ve sabit dozda bir dopamin reseptör antagonisti olan Metoklopramid'in (MET) farklı dozları ile birlikte tek enjeksiyonda verilmesinin, lokal şartlar altındaki etkilerinin belirlenmesi ve klasik hipofiz ekstraktı uygulaması (çift enjeksiyon) ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Bu LHRH-a+DA(MET) kombinasyonunun yumurtlama üzerine etkilerini belirlemek için anaçlarda enjeksiyondan sonra yumurta verme süresi, yumurtlama indeksi ve alınan yumurtalarda dölllenme ve çıkış oranları belirlenmiştir.

## Materyal ve Metot

### Sazan anaçları ve bakımları

Denemeler, GölMarmara'da "AKSAN Sazan ve Tropikal Akvaryum Balıkları Üretim Tesisleri" kuluçkahanesinde (Akhisar-Manisa) damızlık olarak kullanılan sazan anaçları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada ortalama ağırlıkları 1,5-2,5 kg arasında olan ve yaşları 3-5 arasında değişen anaçlar kullanıldı. Anaçlar, cinsiyetlerine göre ayrılıp ayrı toprak havuzlarda stoklandı. Yumuşak ve gergin karınlı olgun anaçlar,

abdominal palpasyonla belirlendikten sonra ovaryumlarından biyopsi yapıldı. Alınan biyopsideki oositler, gelişimlerine göre 5 aşamada (1. Germinal Vesikül merkezi konumlu, 2. Germinal Vesikülün kenara doğru göçü, 3. Germinal Vesikül periferik konumlu, 4. Germinal Vesikülün parçalanması, 5. Oositlerin ovaryum lümeninde serbest halde bulunması) değerlendirildi. Oositlerinin % 60'ından fazlası 2. aşamayı geçen anaçlar deneme için ayrıldı (14).

Seçilen anaçlar, genital açıklıkları dikildikten sonra, iyi havalandırılmış olan 24 °C sıcaklığındaki ve 750 litre hacimdeki tanklara transfer edildi.

#### Kullanılan hormon ve kimyasallar

LHRH analogu olarak [D-Ser(tBu)<sup>6</sup>,Pro<sup>9</sup>-NET]-LHRHa (LHRH-a) kullanılırken, Dopamin reseptör antagonisti olarak kullanılan Metoklopramit (MET, Sigma), Drori ve ark. (14)'nın bildirdiği yöntemle hazırlandı. Hipofiz ekstraktı (Argent) ise Atay (22)'a göre uygulandı.

#### Deneme düzeneği

LHRHa ile birlikte kullanılacak MET'in dozunu belirlemek için 68 adet sazan anacı kullanılarak 7 deneme grubu oluşturuldu.

Sadece fizyolojik tuzlu su (FTS) verilen grup negatif kontrol grubu olarak (1. grup), sadece hipofiz ekstraktı verilen grup ise pozitif kontrol grubu olarak (7. grup) değerlendirildi (Tablo). FTS'de çözülen Hipofiz ekstraktı, dişi anaçlara ilk enjeksiyonda 0,3 mg/kg, ikinci enjeksiyonda 2,7 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal yolla 14 saat ara ile enjekte edildi. Erkek anaçlara sadece ikinci enjeksiyon 2 mg/kg dozda ve aynı yolla verildi. Hipofiz ekstraktları, son hacim 1 ml/kg olacak şekilde ve intraperitoneal yolla enjekte edildi (22).

2. Grupta LHRH-a yüksek dozda ve tek başına uygulanarak, Metoklopramit olmaksızın yumurtlama üzerine etkisi belirlenmeye çalışıldı.

3., 4., 5. ve 6. gruplarda LHRH-a, etkinliğinin optimum olduğu bildirilen (21) 20 µg/kg sabit dozda, Metoklopramitin değişen dozları ile (sırasıyla 5, 10, 20 ve 40 mg/kg) birlikte tek enjeksiyonda uygulandı (Tablo). Bu şekilde Metoklopramitin LHRH-a ile birlikte hangi dozda kullanılması gerektiği belirlenmeye çalışıldı. Erkek anaçlara, dişi anaçlara uygulanan dozların yarısı uygulandı. LHRH-a+MET kombinasyonları, son hacim 0,5 ml/kg olacak şekilde ve intraperitoneal yolla enjekte edildi.

Döllenme ve inkubasyon, Rothbard (23)'a göre gerçekleştirildi. Hormon verilen anaçlarda uygulamalara tepki gösteren 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)) belirlendi (24). 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 100 yumurtanın mikroskopta (Nikon, x10) muayanesi ile döllenme oranları belirlendi. İnkubatörlerden yapılan aynı sayıda örneklemelemlerle de açılma oranları belirlendi. Açılma oranları, döllenme oranının yüzdesi olarak ifade edildi (23).

#### İstatistiksel analizler

Çalışmada ortalama değerler standart sapmaları ile birlikte verildi. Elde edilen sonuçlar, tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldı (% 95 güven aralığında). Yüzde ile ifade edilen verilere Arc-sinus transformasyonu uygulandıktan sonra varyans analizi yapıldı. Gruplar arası yumurtlama oranı farklılığının analizinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulandı. İstatistiksel hesaplamalar, COSTAT ve EXCEL programları kullanılarak yapıldı.

#### Bulgular

[D-Ser(tBu)<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup>-NET]-LHRHa'nın tek başına ve artan dozlarda, Metoklopramit ile birlikte kullanılmasının yumurtlama ve yumurta kalitesi üzerine etkileri Tablo'da sunulmuştur.

LHRH-a'nın MET'in düşük dozları ile birlikte kullanıldığı 3. ve 4. gruplarda yapılan uygulamalar, artan metoklopramit dozu ile bağlantılı olarak oositlerin gelişimini ilerletmesine rağmen (3. grup: oositlerin % 10'u 3. aşama ve % 90'ı 4. aşamada; 4. grup: oositlerin % 100'ü 4. aşamada) anaçların hiçbirinde yumurtlama gerçekleşmemiştir (Tablo). Sadece FTS verilen 1. grup ile 3. ve 4. gruplar arasında yumurtlama oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

LHRH-a'nın MET'in yüksek dozları ile birlikte kullanıldığı 5. ve 6. gruplarda yumurtlama oranı yüksek olarak gerçekleşmiştir. 5. ve 6. gruplar 1., 3., ve 4. gruplara göre yumurtlama oranı açısından istatistiksel olarak önemli bir farklılık gösterirken (P < 0,05), hipofiz uygulanan grupla benzerlik göstermektedir.

Tablo. Sazanlarda yumurtlamayı uyarmak amacıyla LHRH-a([D-Ser(tBu)<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup>-NET]-LHRHa)'nın MET'in farklı dozları ile birlikte ve tek başına yüksek dozda kullanımı ve klasik hipofiz ekstraktı enjeksiyonunun yumurtlama ve yumurta kalitesi üzerine etkileri. YO; Yumurtlama Oranı, YS; Enjeksiyondan Sonra Yumurtlama Süresi, Yİ; Yumurtlama İndeksi, DO; Döllenme Oranı, AO; Açılma Oranı, SS; Standart sapma

Gruplar	YO*	YS	DO ± SS	AO ± SS	Yİ ± SS
1. FTS	0/10 <sup>c</sup>	-	-	-	-
2. LHRH-a (50 µg)	4/10 <sup>b</sup>	28-30	89 ± 2,3	81 ± 5	13 ± 3,2
3. LHRH-a (20 µg) + MET (5 mg)	0/9 <sup>1,c</sup>	-	-	-	-
4. LHRH-a (20 µg) + MET (10 mg)	0/10 <sup>2,c</sup>	-	-	-	-
5. LHRH-a (20 µg) + MET (20 mg)	9/9 <sup>a</sup>	14-16	90,5 ± 2,1	82 ± 4	14 ± 7,3
6. LHRH-a (20 µg) + MET (40 mg)	9/10 <sup>a</sup>	14-16	92 ± 2,3	83 ± 5	14,2 ± 5,8
7. Hipofiz, I. enjeksiyon;	9/10 <sup>a</sup>	14			
II. enjeksiyon;		10-12	88,7 ± 4,7	80 ± 6	11 ± 7,2

Su sıcaklığı: 24 °C, Aynı harfler (a, b, c), istatistiksel olarak farklılığın olmadığını göstermektedir.

(1): Oositlerin % 10'u 3. ve % 90'ı 4. aşama,

(2): Oositlerin % 100'ü 4. aşama.

(\*): Yumurtlayan anaç sayısı/gruptaki anaç sayısı

LHRH-a'nın tek başına ve yüksek dozda (50 µg/kg) uygulandığı 2. grupta ise yumurtlama oranı düşük olup diğer gruplarla arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir (P < 0,05).

Yumurtlamanın gerçekleştiği gruplar arasında yumurtlama indeksi, döllenme oranı ve açılma oranı bakımından anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

## Tartışma

Çalışmada LHRH-a'nın tek başına ve yüksek dozda uygulanması (2. grup) ile yumurtlama oranı düşük olarak gerçekleşmiş ve 10 anaçtan ancak 4'ünden yumurta alınabilmiştir. Sazan anaçlarında salmon ve memeli LHRH analoglarının tek başına uygulanması yüksek dozda uygulansa bile yumurtlamanın uyarılmasında yetersiz kalmaktadır. Çünkü dopaminerjik inhibisyon, sazan anaçlarında yumurtlamanın uyarılmasını önlemektedir. Bu baskılama, sazanlarda diğer türlere göre daha fazladır. Bu yüzden kullanılan LHRH analoglarının ve DA'nın titizlikle seçilmesi, GtH sekresyonunun arttırılması ve yumurtlamanın uyarılması açısından oldukça önemlidir (4).

Yumurtlamayı uyarmak amacıyla farklı balık türlerinde farklı LHRH analogları ile birlikte farklı DA'lar farklı dozlarda kullanılmaktadır. Bu çalışmada bir DA olan Metoklopramid, suda direkt çözünebilir olması, anaçlarda

enjeksiyon bölgesinde tahribata neden olmaması ve yüksek dozlarda uygulanabilmesi gibi avantajlarından dolayı tercih edilmiştir (14). MET'in, düşük dozlarda (5, 10 mg/kg) LHRHa ile birlikte kullanılması 3. ve 4. gruplarda yumurta gelişim safhalarını ilerletmesine rağmen yumurtlamayı tam olarak gerçekleştirilememiştir. Bunun nedeni, MET'in bu dozlarda dopamini bloke etmek için yeterli gelmediği ve dolayısı ile GtH salgı oranının yeterli düzeye çıkamaması olabilir. Nitekim MET, yüksek dozlarda (20, 40 mg/kg) LHRHa ile birlikte kullanıldığında 5 ve 6. gruplarda tam veya yüksek oranda yumurtlama olduğu gözlenmiştir. Drori ve ark. (14) MET'i salmon LHRH analogu (sLHRH-a) ile birlikte kullanmışlar ve aynı doz metoklopramidin (20 mg/kg) 10 µg/kg sLHRH-a ile birlikte sazanlarda yumurtlamayı uyarmak için yeterli GtH sekresyonunu sağladığını bildirmişlerdir. Çalışmada kullanılan LHRH-a'nın sLHRH-a'ya kıyasla daha yüksek dozda etkili olmasının (14,21) LHRH analoglarının yapı-aktivite etkileşimlerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Peter ve Yu (13) da dekapeptit yapıdaki LHRH'nın 6. pozisyonundaki aminoasit modifikasyonlarının ve 10. aminoasitin etilamitle değiştirilerek C-terminalinin stabilizasyonunun sağlanmasının, elde edilen analoglarda aktiviteyi etkilediğini bildirmişlerdir.

LHRH-a+MET uygulanan gruplarda yumurtlama, enjeksiyondan 14-16 saat sonra gerçekleşmiştir (24 °C su

sıcaklığında). Bu süre, diğer araştırmacılar tarafından uygulanan farklı LHRH-a+DA kombinasyonlarından elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir. (2,4,14,21). Hipofiz uygulanan grupta ise ilk enjeksiyondan itibaren yumurta alım süresi 24-26 saat olarak gerçekleşmiştir. LHRH-a+MET kombinasyonunun tek enjeksiyonda ve yaklaşık 2 kat daha kısa sürede etkili olması (14-16 saat), anaçların daha az strese girmesine, işçilik ve işçilik maliyetinin düşmesini sağlayacağı için işletme yönetimi açısından avantaj sağlamaktadır.

Yumurtlama oranının yüksek olduğu LHRH-a+MET verilen 5. ve 6. gruplar yumurtlama indeksi, yumurtaların döllenme ve çıkış oranları açısından hipofiz ekstraktı verilen grupla karşılaştırıldığında daha yüksek değerler gözlenmesine rağmen aralarında istatistiksel anlamda bir farklılığın olmadığı görülmektedir (Tablo). Peter ve ark. (25), LHRH-a+DA kombinasyonları ile yumurtlama uyarıldığında hipofiz ekstraktı uygulamasına karşın, sözü edilen kriterler açısından daha avantajlı bir sonuç elde edildiğini bildirmektedir. Ancak bazı araştırmacılar (26,27) bu durumun her zaman istatistiksel anlamda farklılığa yol açmadığını bildirmektedirler.

## Kaynaklar

1. Yaron, Z., Bogomolnaya, A., Levavi, B.: A Calibrated Carp Pituitary Extract as a Spawning-Inducing Agent. In: H. Rosenthal, S. Sang (Editors), Research on Aquaculture, Eur. Maricult. Soc. Spec. No.8, Bredene, Belgium, 1984; 151-167.
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, 1988; 74: 1-10.
3. Zohar, Y.: Gonadotropin Releasing Hormone in Spawning Induction in Teleosts: Basic and Applied Considerations. In: Y. Zohar, H. Breton (Editors), Reproduction in Fish, Basic and Applied Aspects in Endocrinology and Genetics, INRA, Paris, France, 1986; 47-61.
4. Lin, H.R., Van Der Kraak, G., Zhou, X.J., Liang, J.Y., Peter, R.E., Rivier, J.E., Vale, W.W.: Effects of [D-Arg<sup>6</sup>,Trp<sup>7</sup>,Leu<sup>8</sup>,Pro<sup>9</sup>-NEt]-Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (sGnRH-A) and [D-Ala<sup>6</sup>,Pro<sup>9</sup>-NEt]-Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LHRH-A), in Combination with Pimozide or Domperidone, on Gonadotropin Release and Ovulation in the Chinese Bach and Common Carp. Gen. Comp. Endocrinol., 1988; 69: 31-40.
5. Peter, R.E., Lin, H.R., Van Der Kraak, G., Little, M.: Releasing Hormones, Dopamine Antagonists and Induced Spawning. In: J.F. Muir, R.J. Roberts (Eds.), Recent Advances in Aquaculture, Vol. IV, Blackwell, Oxford, 1993; 25-30.
6. Peter, R.E., Chang, J.P., Nahorniak, C.S., Omeljaniuk, R.J., Sokolowska, M., Shih, S.H., Billard R.: Interactions of Catecholamines and GnRH Regulation of Gonadotropin Secretion in Teleost Fish. Recent Prog. Horm. Res., 1986; 42: 513-548.
7. Omeljaniuk, R.J., Shih, S.H., Peter, R.E.: In-vivo Evaluation of Dopamine Receptor Mediated Inhibition of Gonadotropin Secretion from the Pituitary Gland of the Goldfish, *Carassius auratus*. J. Endocrinol., 1987; 114: 449-458.
8. Omeljaniuk, R.J., Habibi R. H., Peter, R.E.: Alterations in Pituitary GnRH Dopamine Receptors Associated with the Seasonal Variation and Regulation of Gonadotropin Release in the Goldfish, *Carassius auratus*. Gen. Comp. Endocrinol., 1989; 74: 392-399.
9. Asselt, L.A.C.V., Goos, H.J. Th., Smit-van Dijk, W., Speetjens, P.A.M., Oordt, P.G.W.J. V.: Evidence for the Involvement of D2 Receptors in the Dopaminergic Inhibition of Gonadotropin Release in African Catfish, *Clarias gariepinus*. Aquaculture, 1988; 72: 369-378.
10. Glubokov, A.I., Motloch, N.N., Sedova, M.A.: Effect of Synthetic LHRH Analogue and Dopamine Antagonists on the Maturation of Bream, *Abramis brama*. Aquaculture, 1991; 95: 373-377.
11. Lin, H.R., Kraak, G.V.D., Liang, J.Y., Peng, C., Li, G.Y., Lu, L.Z., Zhou, X.J., Chang, M.L., Peter, R.E.: The Effects of LHRH Analogue and Drugs Which Block the Effects of Dopamine on Gonadotropin Secretion and Ovulation in Fish Cultured in China. In Aquaculture of Cyprinids, (Eds R. Billard and J. Marcel), INRA, Paris. 1986; 139-150.

12. Peter, R.E., Lin, H.R., Van Der Kraak, G.: Drug/Hormone Induced Breeding of Chinese Teleosts. In: DR. Idler, LW. Crim, J.M. Walsh (Editors), Proceedings of the Third International Symposium on the Reproductive Phys. of Fish, St. John's, Newfoundland, Canada, 2-7 August 1987, Memorial University of Newfoundland, Canada, 1987; 120-123.
13. Peter, R.E., Yu K.L.: Neuroendocrine Regulation of Ovulation in Fishes: Basic and Applied Aspects. Rev. Fish Biol. Fisher. 1997; 7: 173-197.
14. 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, 1994; 119: 393-407.
15. Crim, L., W., Arnaud, R., St., Lavoie, M., Labrie, F.: A Study of LHRH Receptors in the Pituitary Gland of the Winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*, Walbaum), Gen. Comp. Endocrinol., 1988; 69: 372-377.
16. Crim, LW., Nestor, J.J., Wilson, C.E.: Studies of the Biological Activity of LHRH Analogs in the Rainbow Trout, Landlocked Salmon, and the Winter Flounder. Gen. Comp. Endocrinol., 1988; 71: 372-382.
17. Habibi R.H., Marchant, T.A., Carol, S., Nahorniak, C. S., Loo H.V.D., Peter, R.E., Rivier J.E., Vale, W.W.: 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., 1989; 40: 1152-1161
18. Anderson E., Borg, B., Leeuw R.D.: Characterisation of Gonadotropin Releasing Hormone Binding Sites in the Pituitary of the Three Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*), Gen. Comp. Endocrinol., 1989; 76: 41-45.
19. Leeuw, R., De, Veer, C., Van't, Smit-van Dijk, W., Goos, H.J. Th., Oordt, P.G.W.J. Van.: Binding Affinity and Biological Activity of Gonadotropin Releasing Analogues in the African Catfish, *Clarias gariepinus*. Aquaculture, 1988; 71: 119-131
20. Arabacı, M.: Çipura (*Sparus aurata*) ve Levrek (*Dicentrarchus labrax*) Anaçlarında Depo Hormon Kullanarak Üremenin Uyarılması, Senkronizasyonu ve Yumurta Kalitesinin Arttırılması Üzerine Bir Çalışma. Ege Univ. Fen Bilimleri Enst., Doktora tezi (PhD. Thesis), yayınlanmamış, 2000; 87 s., İzmir, Türkiye.
21. Arabacı, M., Çağırğan, H., Sarı, M.: Induction of Spawning in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Using LHRHa ([D-Ser(tBu)<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup>-Net]-LHRH) Combined with Haloperidol: Effects of Different Treatment Time and Determination of Latency Period Dependence on Temperature. Turk. J. Fisher. Aqua. Sci., 2001; 1: 1-5.
22. Atay, D.: İçsu Balıkları ve Üretim Tekniği. Ankara Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Yayınları No: 1035, Ders Kitabı No; 300. 1987, Ankara.
23. Rothbard, S.: Induced Reproduction in Cultivated Cyprinids the Carp and the Group of Chinese Carps. I. The Technique of Induction, Spawning and Hatching. Israeli J. Aquacult. Bamidgheh, 1981; 33: 103-121.
24. Horvath, L.: Egg Development (Oogenesis) in the Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). In: J.F. Muir, R.J. Roberts (Editors), Recent Advances in Aquaculture, Vol. 2. Croom Helm, London, 1985; 32-77.
25. Peter, R.E., Trudeau, V.L., Sloley, B.D.: Brain Regulation of Reproduction in Teleosts. Bull. Inst. Zool., Acad. Sin., Monogr., 1991; 16: 89-118.
26. Kulikovskiy, Z., Marttin, F.J.B., Yaron, Z.: A Comparison of Two Spawning Inducing Agents for Common Carp. Israeli J. Aquacult. Bamidgheh, 1996; 48: 108-111.
27. 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). Aquacult. Res., 1999; 30: 849-856.