زیست‌شناسی جانوری، سال پانزدهم، شماره اول، پاییز ۱۴۰۱، صفحات ۶۲- ۵۱

مقاله پژوهشی

بررسی میزان باروری و سطح پلاسمایی هورمون‌های تخمدانی در میش‌های نژاد ماکویی درمان شده با سیدر و PMSG

قادر نجفی[1*]، جعفر پیش جنگ آقاجری[2]

۱- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

۲- گروه علوم دامی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران

*مسئول مکاتبات: zm.najafi@yahoo.com

DOI: 10.22034/ascij.2022.1943328.1326

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۳

چکیده

هدف این مطالعه بررسی میزان باروری و تعیین سطح پلاسمایی هورمون‌های تخمدانی در میش‌های نژاد ماکویی تحت تاثیر قرار گرفته با سیدر و گنادوتروپین سرم مادیان آبستن بود. برای مطالعه‌ی میزان باروری، تعداد ۸۰ رأس میش سالم به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند. میش‌های گروه اول، دوم و سوم با تعداد مساوی ۲۰ راس، در زمان سیدربرداری تک دوز هورمون PMSG **(به ترتیب ۳۰۰، ۴۰۰ و۵۰۰** واحد بین المللی) و میش‌های گروه چهارم با عنوان شاهد (۲۰ راس) یک میلی لیتر نرمال سالین را به صورت عضلانی دریافت کردند. برای مطالعه‌ی هورمون‌های تخمدانی به طور تصادفی از نمونه‌های خونی ده میش در هر گروه استفاده شد. جهت تعیین سطح استرادیول و پروژسترون در گروه‌های آزمایشی، نمونه‌های خونی در روزهای قرارگیری و برداشت سیدر، روزفحلی پس از تزریق PMSG **و** سی امین روز آبستنی، از ورید گردنی تهیه گردید. برای پاسخ‌های فحلی تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ($p > ۰/۰۵$). نرخ آبستنی مابین گروه‌های آزمایشی و شاهد معنی دار بود ($p < ۰/۰۵$). سطح پلاسمایی استرادیول در روز سیدرگذاری و روز فحلی مابین گروه‌های آزمایشی و شاهد معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$). سطح پلاسمایی پروژسترون در روز فحلی و روز ۳۰ آبستنی مابین گروه‌های آزمایشی و شاهد معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$). با توجه به میزان باروری و سطح پلاسمایی هورمون-های تخمدانی در گروه‌های آزمایشی، پروتکل سیدرگذاری و تزریق PMSG در میش نژاد ماکویی موثر بوده است.

کلمات کلیدی : استرادیول (E_2)، پروژسترون (P_4)، میزان باروری، میش نژاد ماکویی، PMSG.

مقدمه

معمولا به کارگیری هورمون‌های با منشاء خارجی جهت افزایش عملکرد تولیدمثلی در میش‌های اهلی با تمرکز بر هم‌زمان‌سازی فحلی می‌باشد. هم‌زمانی فحلی یا القای فحلی یک ابزار مدیریتی ارزشمند برای افزایش میزان باروری و آبستنی در میش است. هم‌زمان‌سازی فحلی در بزها و گوسفندان با کنترل مرحله لوتئال چرخه‌ی فحلی یا با کاربرد پروژسترون با منشاء خارجی و یا با القای زودرس لوتئولیز امکان‌پذیر است. بنابراین هم‌زمان‌سازی فحلی در میش‌ها با تمرکز بر روی دستکاری چرخه‌ی فحلی محقق می‌شود (۲۸). پروژستوژن‌ها یکی از انواع

هورمون‌های استفاده شده برای هم‌زمان‌سازی فحلی در میش‌ها می‌باشد که از طریق تجویز خوراکی، زیرجلدی و یا داخل واژنی مورد استفاده قرار می‌گیرند. سطح پروژسترون خون بر حسب روش استفاده در عرض یک تا چهار ساعت افزایش پیدا می‌کند. بطور سنتی اسفنج به پروژسترون یا آنالوگ‌های آن آغشته شده و برای مدت مشخصی در داخل واژن قرار داده می‌شود. سپس گنادوتروپین سرم مادیان آبستن (PMSG) ۴۸ الی ۵۴ ساعت پس از سیدربرداری تزریق می‌گردد. جهت دستیابی به باروری و بازده تولیدمثلی بیشتر، پیشنهاد شده است از فرضیه‌های نوین تولیدمثلی مانند کنترل و هم‌زمان‌سازی فحلی و نیز بهره‌گیری از PMSG همراه با بکارگیری تلقیح مصنوعی جهت افزایش مزایای کاربردی و اقتصادی استفاده شود. پروژسترون یا آنالوگ‌های آن به طور کلی برای همگام‌سازی استروس در فصل تولید مثل و غیر تولید مثل استفاده می‌شود (۲۸). سیدر (CIDR) می‌تواند سطوح محدود شده پروژسترون را برای مدت زمانی طولانی‌تر از زمان توصیه شده برای هم‌زمان‌سازی فحلی آزاد کند (۹). گنادوتروپین سرم مادیان آبستن که برای القای اوولاسیون و فحلی بکار می‌رود و بطور موثری برای هم‌زمان‌سازی فحلی در طول فصل تولید مثل استفاده می‌شود. علاوه بر این مشخص شده است که گنادوتروپین سرم مادیان آبستن با توجه به میزان دوز مورد استفاده، نرخ اوولاسیون و دوقلوزایی را افزایش می‌دهد. مابین همه روش‌های اندوکرینی جهت افزایش عملکرد تولیدمثلی ، تجویز گنادوتروپین سرم مادیان آبستن نسبت به بقیه‌ی روش‌ها معمول‌تر می‌باشد. تزریق گنادوتروپین سرم مادیان آبستن در پایان درمان پروژسترونی موجب همگام‌سازی دقیق فحلی در نشخوارکنندگان کوچک می‌شود (۱۱). بر طبق گزارش محققین همبستگی بالایی مابین توسعه فولیکول‌های تخمدانی و غلظت‌های سرمی پروژسترون (P_4) و استرادیول (E_2) وجود دارد (۲۵). در مطالعات پیشین گزارش شده است که غلظت پروژسترون ممکن است اندازه‌ی فولیکول‌ها را تحت تاثیر قرار دهد. همچنین گزارش گردیده است که همبستگی مثبتی مابین غلظت استرادیول و تعداد فولیکول‌های بزرگ در طول مدت سیکل استروس وجود دارد (۲۵). گوسفند ماکویی یک نژاد ایرانی با وزن بالا می‌باشد که در ناحیه شمال غرب ایران و در استان‌های آذربایجان شرقی و غربی پرورش داده می‌شود. این نژاد از توانایی خوبی برای تحمل شرایط آب و هوایی سرد برخوردار است و قابلیت خوبی برای چرا و راه رفتن دارد. محصول گوشت گوسفند نژاد ماکویی منبع اصلی در آمد برای کشاورزان است. این نژاد با تعداد تقریبی دو میلیون و هفتصد هزار راس در شمال غرب ایران پرورش داده می‌شود. این نژاد بومی و دنبه‌دار بوده و جثه‌ی بزرگی دارد که وزن یک سالگی در ماده‌ها ۳۲/۵۴ کیلوگرم و در نرها ۳۷/۶۳ کیلوگرم می‌باشد. نژاد ماکویی به‌خوبی با شرایط کوهستانی و سرد (۲۲/۸ °C- الی ۳۸/۳ °C) سازگاری یافته است (۷ ، ۲۱).

مواد و روش‌ها

این پژوهش در منطقه‌ی یکانات مرند و در طول مدت فصل تولیدمثلی (شهریور) انجام گرفت. منطقه‌ی مورد نظر از نظر مختصات جغرافیایی در عرض شمالی ۳۸ درجه و ۲۷ دقیقه و در ۴۵ درجه و ۴۳ دقیقه طول شرقی قرار گرفته است و ارتفاع آن از سطح دریاهای آزاد به‌طور میانگین حدود ۱۲۰۰ متر می‌باشد و میزان بارش سالیانه آن کمی بیش از ۲۵۰ میلی‌متر است. به

منظور مطالعه‌ی خاصیت باروری ۸۰ راس میش نژاد ماکویی دو تا چهار ساله و با محدوده‌ی وزنی ٤٥ الی ٥٥ کیلوگرم در نظر گرفته شد. میش‌ها به‌طور تصادفی به گروه‌های آزمایشی ۱، ۲ و ۳ با ۲۰ راس و گروه ٤ با ۲۰ راس به عنوان گروه شاهد تقسیم شدند. جهت هم-زمان‌سازی فحلی، روش سیدرگذاری داخل واژنی به مدت ١٤ روز مورد استفاده قرار گرفت. در روز سیدربرداری برای گروه‌های آزمایشی ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۳۰۰ ، ٤۰۰ و ۵۰۰ واحد بین المللی تک دوز گنادوتروپین سرم مادیان آبستن به صورت عضلانی تزریق گردید. برای میش‌های گروه شاهد نیز یک میلی-لیتر نرمال سالین به صورت عضلانی تزریق شد. جهت جفتگیری از روش قوچ‌اندازی استفاده شد. در هر گروه آزمایشی از پنج راس قوچ نژاد ماکویی بارور به منظور جفت‌گیری استفاده شد (جمعاً ۱۲ راس قوچ). قوچ‌ها هر گروه روزانه دو بار (ساعات ۰۸:۰۰-۱۱:۰۰ و ۱۷:۰۰- ۲۰:۰۰) در معرض میش‌های همان گروه قرار داده شدند که شروع معرفی قوچ‌ها جهت تشخیص فحلی و جفت‌گیری طبیعی، ٢٤ ساعت بعد از سیدربرداری بود. در طول مدت معرفی قوچ‌ها در گروه-های آزمایشی، میش‌های هر گروه جهت ثبت فحلی و جفتگیری تحت نظر قرار داشتند. یک ماه پس از قوچ-اندازی و جفت‌گیری طبیعی، نرخ آبستنی میش‌ها در هر گروه توسط دستگاه اولتراسونوگرافی (100 Falco, Pie Medical Application Manual, Equipment B.V., Maastricht, Netherland) و به شیوه سونوگرافی شکمی مشخص و ثبت گردید. جهت محاسبه درصد میش‌های فحل از رابطه‌ی (تعداد کل میش‌ها در گروه/ تعداد میش‌های فحل ×۱۰۰) و به منظور تعیین نرخ آبستنی از رابطه‌ی (تعداد میش‌های جفتگیری کرده در گروه/تعداد میش‌های آبستن ×۱۰۰) استفاده گردید.

همچنین پاره ای دیگر از ویژگی‌های باروری و تولیدمثلی شامل نرخ زایش، دوقلوزایی، مدت آبستنی و وزن تولد در هر گروه محاسبه و ارزیابی شدند. به منظور بررسی سطح پلاسمایی هورمون‌های پروژسترون و استرادیول در میش‌های گروه‌های آزمایشی از هر گروه ده راس میش به‌طور تصادفی در نظر گرفته شد. بعد از سیدرگذاری (روز صفر آزمایشی) نمونه‌های خونی از ناحیه ورید گردنی میش‌ها و با استفاده از لوله‌های حاوی ماده‌ی ضد انعقاد اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) در روزهای سیدرگذاری، سیدربرداری (بعد از تزریق گنادوتروپین)، روز فحلی و نیز روز ۳۰ آبستنی تهیه گردید و بلافاصله با استفاده از دستگاه سانتریفوژ ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. پلاسمای نمونه‌های خونی تا زمان سنجش هورمونی در دمای منفی ^{o}C ۲۰ ذخیره گردید. غلظت پروژسترونی نمونه‌ها (P_4) با تکنیک الایزا (Monobind®; USA) و با دقت ۰/۱ ng/ml تعیین گردید. غلظت استرادیول پلاسما (E_2) در نمونه‌های مورد مطالعه با کیت الایزا (DRG International, GmbH, USA) و با حساسیت ۰/٦۲۵ pg/ml تعیین شد.

داده‌های مربوط به پاسخ‌های فحلی و نرخ آبستنی توسط آزمون کای اسکور در قالب طرح کاملا تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. آنالیز آماری داده‌های مربوط به غلظت‌های پروژسترون و استرادیول نیز با استفاده از ورژن ۲۰ نرم افزار آماری SPSS انجام گردید و اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج این پژوهش در مورد صفات باروری، سطح پلاسمایی هورمون استرادیول (E_2) و سطح پلاسمایی هورمون پروژسترون (P_4) در جداول ۱، ۲ و ۳ قابل

مشاهده است. چنانچه در جدول ۱ نشان داده شده است، درصد فحلی در گروه‌های آزمایشی درمان شده با سیدر و گنادوتروپین سرم مادیان آبستن در گروه‌های ۱، ۲ و ۳ و گروه شاهد به ترتیب ۹۵، ۹۰، ۹۵ و ۸۰ درصد مشخص گردید. از نظر درصد فحلی تفاوت آماری معنی‌داری مابین گروه‌ها مشاهده نگردید ($P > ۰/۰۵$). نرخ آبستنی به ترتیب ۸۵، ۸۵، ۹۵ و ۶۵ درصد برای گروه‌های آزمایشی ۱، ۲، ۳ و گروه ٤ (شاهد) محاسبه شد. نرخ آبستنی مابین گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۵$). مقادیر متوسط سطح استرادیول پلاسمایی برحسب پیکوگرم بر میلی لیتر مربوط به روزهای سیدرگذاری، برداشت سیدر و روز فحلی در جدول ۲ نشان داده شده است. سطح پلاسمایی استرادیول در روز سیدرگذاری و روز فحلی مابین گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد تفاوت معنی داری نشان داد ($P < ۰/۰۵$). متوسط غلظت پروژسترون بر حسب نانوگرم بر میلی لیتر در روز سیدرگذاری، روز سیدر برداری، روز فحلی و در روز ۳۰ آبستنی در جدول ۳ قابل مشاهده است. متوسط غلظت پروژسترون در روز فحلی و نیز در روز ۳۰ آبستنی مابین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی داری را نشان داد ($P < ۰/۰۵$).

جدول ۱- میانگین داده های مربوط به صفات باروری در گروه های آزمایشی

پارامترها *	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه ٤
درصد فحلی	۹۵ [a]	۹۰ [a]	۹۵ [a]	۸۰ [a]
درصد آبستنی	۸۵ [a]	۸۵ [a]	۹۰ [a]	٦٥ [b]
نرخ زایش (درصد)	٦٥	۷۰	۸۵	٦٥
دوقلویی	۱/۱٥	۱/۲۸	۱/۲۹	۱/۱٥
مدت آبستنی(روز)	۱٥۳/۲٤ [b]	۱٤۷/۲٦ [c]	۱٤۷/۱٥ [c]	۱٥۷/۲٥ [a]
میانگین وزن تولد	۸/۱۳ ± ٤/۰ [a]	٤/۰ ± ۰/۱۱ [b]	٤/۰ ± ۱/۱۳ [b]	۸/۱۲ ± ٤/۰ [a]

حروف بالانویس متفاوت (a، b، c و d) در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p < ۰/۰۵$). * داده‌های مربوط به پارامترها در هر گروه مربوط به میانگین ۲۰ میش است.

جدول ۲ - میانگین داده های مربوط به سطح پلاسمایی استرادیول در گروه های آزمایشی

پارامترها *	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه ٤
سطح پلاسمایی E_2 در روز سیدرگذاری	۲/۱ ± ۰/٥٦ [a]	۱/۲ ± ۰/۳۸ [b]	۱/٤ ± ۰/۳٥ [b]	۱/۳ ± ۰/۲٦ [b]
سطح پلاسمایی E_2 در روز برداشت سیدر	۰/۲ ± ۹٤/٦ [a]	۲/۸ ± ۰/۸۳ [a]	۰/۳۳ ± ۱/٤۹ [a]	۳/۰ ± ۱/٤٥ [a]
سطح پلاسمایی E_2 در روز فحلی	۱۳/۰ ± ۲/۰۷ [b]	۱٦/۹ ± ۱/٤٤ [a]	۱۷/٦ ± ۲/٤۹ [a]	۱۰/۹ ± ۱/۳۱ [a]

حروف بالانویس متفاوت (a، b، c و d) در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p < ۰/۰۵$). * داده‌های مربوط به پارامترها در هر گروه مربوط به میانگین ۱۰ میش است.

جدول ۳ - میانگین داده های مربوط به سطح پلاسمایی پروژسترون در گروه های آزمایشی

پارامترها *	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه ٤

سطح پلاسمایی P_4 در روز سیدرگذاری	۲/۵ ± ۰/۹۳ [a]	۲/۸ ± ۱/۱۲ [a]	۲/۷ ± ۱/۳۱ [a]	۲/۵ ± ۱/۴۲ [a]
سطح پلاسمایی P_4 در روز برداشت سیدر	۰/۷۳ ± ۰/۱۵ [a]	۰/۸۱ ± ۰/۱۷ [a]	۰/۷۹ ± ۰/۱۵ [a]	۰/۸۷ ± ۰/۲۰ [a]
سطح پلاسمایی P_4 در روز فحلی	۰/۳۸ ± ۰/۰۵ [ab]	۰/۴۱ ± ۰/۱۰ [ab]	۰/۴۶ ± ۰/۰۸ [a]	۰/۳۹ ± ۰/۰۵ [b]
سطح پلاسمایی P_4 در روز ۳۰ آبستنی	۰/۹۵ ± ۰/۲۳ [ab]	۱/۱۲ ± ۰/۱۷ [ab]	۱/۲۶ ± ۰/۱۴ [a]	۰/۸۰ ± ۰/۲۵ [c]

حروف بالانویس متفاوت (a، b، c و d) در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($p < ۰/۰۵$). * داده‌های مربوط به پارامترها در هر گروه مربوط به میانگین ۱۰ میش است.

بحث

در پژوهش حاضر میش‌های نژاد ماکویی پس از پایان دوره‌ی ۱۳ روزه سیدرگذاری دوزهای مختلف گنادوتروپین سرم مادیان آبستن را دریافت کردند. پروستاگن‌ها و پروستاگلاندین ها ($PGF_2\alpha$) یا آنالوگ-های آن‌ها به‌منظور هم‌زمان‌سازی زایمان و فحلی در میش‌ها در طول فصل تولیدمثلی مورد استفاده قرار می-گیرند. هورمون‌هایی مانند GnRH ، PMSG ، FSH و LH ممکن است به‌منظور افزایش نرخ آبستنی مورد استفاده قرار گیرند (۱۷).

در مطالعات پیشین تزریق ۵۰۰ واحد بین المللی گنادوتروپین مادیان آبستن در میش‌های درمان شده با ۳۰ الی ۴۰ میلی‌گرم فلوئوروجستون استات (FGA) به فرم اسفنج واژنی منجر به فحلی ۹۰ درصدی و نرخ آبستنی ۸۵ درصدی شده است (۱۶). در مطالعه حاضر نرخ آبستنی در میش‌های گروه ۳ که تک دوز ۵۰۰ واحد بین المللی گنادوتروپین سرم مادیان آبستن را دریافت کرده بودند ۹۰ درصد به‌دست آمد که با گزارشات پیشین هم‌خوانی دارد (۱۶). همچنین برخی از محققین گزارش کرده‌اند که پاسخ به دوزهای مختلف گنادوتروپین سرم مادیان آبستن در بین نژادهای مختلف گوسفند متفاوت و متغیر می‌باشد (۱۲).

تفاوت در فراسنجه‌های تولیدمثلی گزارش شده در میش‌ها ممکن است با تفاوت‌های نژادی، سن و وضعیت بدنی و همچنین فاکتورهای تغذیه‌ای، نوع تلقیح (طبیعی یا مصنوعی) و یا سیستم مدیریتی در ارتباط باشد. نتایج نرخ فحلی و نرخ آبستنی به‌دست آمده برای گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد در این پژوهش با گزارشات سایر محققین هم‌خوانی داشت (۶). لیکن با وجود بیشتر بودن درصد فحلی و نرخ آبستنی در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه شاهد، صرفاً نرخ آبستنی مابین گروه‌های آزمایشی و گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P <۰/۰۵$). در گزارشات پیشین برای میش‌هایی که با دوزهای۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ واحد بین المللی گنادوتروپین سرم مادیان آبستن درمان شده بودند برای نرخ آبستنی تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید (۱۹). همچنین در پژوهش‌های قبلی نرخ آبستنی ۷۵ درصدی برای میش‌هایی گزارش شده است که تک دوز ۳۰۰ واحد بین المللی گنادوتروپین سرم مادیان آبستن را دریافت کرده بودند (۲۷). در مطالعه‌ی حاضر بیشترین نرخ آبستنی برای گروه آزمایشی ۳ با ۹۰ درصد و کمترین نرخ آبستنی برای گروه شاهد با ۶۵ درصد به-دست آمد که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P < ۰/۰۵$) و با گزارشات سایر محققین نیز هم‌خوانی داشت (۲۶).

نرخ زایش میش‌ها در این مطالعه تحت تاثیر دوز PMSG قرار گرفت (جدول ۱). نرخ زایش در گروه های ۱، ۲، ۳ و گروه شاهد به ترتیب ۶۵، ۷۰، ۸۵ و ۶۵ درصد به‌دست آمد. تفاوت معنی‌داری مابین گروه-های آزمایشی در نرخ زایش مشاهده نگردید و این نتایج با کار دیگر محققین که روی گوسفند آواسی انجام داده بودند (۲۸)، سازگاری داشت. هچنین در مطالعه‌ای دیگر که بر روی میش‌های آواسی سوریه با استفاده از اسفنج پروژسترونی به همراه ۴۰۰ واحد بین المللی PMSG انجام گرفته بود، نرخ زایش ۷۸ درصد گزارش شده است (۲).

در گزارش دیگر استفاده از دوزهای بالاتر PMSG (IU700) منجر به افزایش در نرخ چندقلوزایی و زایش می‌شود (۱۳). تصور بر این است که پارامترهای باروری می‌توانند تحت تاثیر فصول مختلف درمانی مانند آن استروس، فصل تولید مثل و فصل انتقال قرار گیرند. تنوع و تغییر مشاهده شده در پارامترهای تولید مثلی تحت تاثیر فاکتورهای متعددی مانند نژاد، سن، زمان و دوز تجویزی PMSG می‌باشد (۵).

با استناد به گزارش دیگری، نژادهای مختلف گوسفند بایستی به عنوان منبع مهم تغییر در پاسخ‌های سوپراوولاسیونی در نظر گرفته شوند (۲۲).

جدول ۲ متوسط غلظت پلاسمایی استرادیول (E_2) را در روزهای سیدرگذاری، سیدربرداری و فحلی پس از درمان با گنادوتروپین سرم مادیان آبستن نشان می‌دهد. سطوح استرادیول در روزهای سیدرگذاری و فحلی مابین گروه‌ها، تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p <$ ۰/۰۵). متوسط سطوح استرادیول (E_2) در روز سیدرگذاری در گروه‌های آزمایشی ۱، ۲، ۳ و گروه ٤ (شاهد) به‌ترتیب ۰/۵۶ ± ۲/۱ ، ۰/۳۸ ۲ ± ۱/۱ ، ۰/۳۵ ± ۱/٤ و ۰/۲۶ ± ۱/۳ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود. تفاوت بین گروه‌ها از نظر غلظت استرادیول در روز سیدرگذاری ممکن است به متفاوت بودن سیکل استروس در بین میش‌های مورد استفاده در این آزمایش مربوط شود. تفاوت‌ها در سطح غلظت پلاسمایی استرادیول در روز سیدربرداری مابین گروه‌های آزمایشی معنی‌دار نبود ($p >$ ۰/۰۵). متوسط غلظت استرادیول در روز سیدربرداری ۲/۹۲ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود که با گزارش سایر محققین مشابهت داشت (۲۳). احتمالاً سیدر تولید و ترشح استرادیول تخمدانی را به‌واسطه وجود پروژسترون در سرم مهار می‌کند (۱۸).

سیدر (CIDR)، پروژسترون داخل واژنی است که در صنعت پرورش گوسفند، بز، گاو شیری و گاو پرواری استفاده می‌شود. پس از قرارگیری سیدر در واژن ،پروژسترون در یک نسبت کنترل شده به داخل جریان خون آزاد می‌شود. در همه‌ی گونه‌ها سیدر جهت هم-زمان‌سازی فحلی استفاده می‌شود. در این مطالعه همه‌ی گروه‌های آزمایشی بعد از سیدرگذاری سطحی کاهشی در پروژسترون نشان دادند، محققین گزارش کرده‌اند که این پدیده موجب هماهنگی محور هیپوتالاموسی- هیپوفیزی- تخمدانی در جهت حذف فولیکول‌های مقاوم و رشد فولیکول‌های سالم جدید خواهد شد (۱۰). استرادیول (E_2) به‌عنوان یک مارکر خوب کیفیت فولیکولی محسوب می‌شود. مابین تعداد فولیکول‌های بزرگ و غلظت استرادیول همبستگی مثبتی در طول سیکل استروس وجود دارد (۱۰). متوسط سطوح استرادیول در روز فحلی (۴۸ ساعت پس از تزریق گنادوتروپین سرم مادیان آبستن) مابین گروه‌های آزمایشی ۱، ۲، ۳ و گروه ٤ (شاهد) به‌ترتیب ۲/۰۷ ± ۱۳، ۱/٤٤ ± ۱۶،٤۹/۹ ۲± ۱۷/٦ و ۱/۳۱± ۱۰/۹

پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود. این نتایج را می‌توان به افزایش دو قلوزایی در ارتباط با افزایش در دوز گنادوتروپین سرم مادیان آبستن نسبت داد. لیکن متوسط سطح استرادیول در گروه‌های ۲ و ۳ بالاتر از گروه‌های ۱ و ٤ (شاهد) بود و افزایشی وابسته به دوز گنادوتروپین سرم مادیان آبستن از خود نشان داد. این نتایج با گزارشات سایر محققین هم‌خوانی دارد (۸، ١٤، ١٩) و بیانگر اثرات گنادوتروپین سرم مادیان آبستن بر روی سطوح استرادیول می‌باشد. در این مطالعه میش‌های نژاد ماکویی دوزهای مختلف گنادوتروپین سرم مادیان آبستن را در پایان درمان ۱۳ روزه با سیدر دریافت کردند. گنادوتروپین سرم مادیان آبستن می‌تواند جایگزینی برای هورمون مولد جسم زرد (LH) و هورمون محرک فولیکول (FSH) هیپوفیز قدامی شود که توسعه فولیکول‌های تخمدانی را بر عهده دارند. تزریق گنادو تروپین سرم مادیان آبستن ممکن است موجب افزایش تعداد تخمک‌گذاری‌ها شود و در نتیجه عاملی برای افزایش سطح پلاسمایی استرادیول (E_2) در میش‌های هم‌زمان‌سازی شده خواهد شد (۱۸).

جدول ۳ همچنین نشان دهنده‌ی غلظت پروژسترون بر حسب نانوگرم بر میلی‌لیتر در روزهای سیدرگذاری، فحلی (بعد از تزریق گنادوتروپین سرم مادیان آبستن) و سی امین روز آبستنی است. متوسط غلظت پروژسترون میش‌ها در گروه‌های ۱، ۲، ۳ و گروه ٤ (شاهد) در روز سیدرگذاری به‌ترتیب ۰/۹۳±۲/۵، ۱/۱۲± ۲/۸، ۱/۳۱± ۲/۷ و ۱/٤۲ ± ۲/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. تفاوت معنی‌داری برای غلظت پروژسترون در روز سیدرگذاری مابین گروه‌ها مشاهده نگردید ($p > ۰/۰۵$). متوسط سطح پلاسمایی پروژسترون در روز سیدربرداری به‌ترتیب ۰/۱۵ ± ۰/۷۳، ۰/۱۷ ± ۰/۸۱، ۰/۱۵ ± ۰/۷۹ و ۰/۲۰ ± ۰/۸۷ نانوگرم بر میلی‌لیتر برای گروه‌های آزمایشی ۱، ۲، ۳ و گروه ٤ (شاهد) به‌دست آمد که از نظر آماری تفاوت‌ها معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$). نتایج غلظت پروژسترون در روزهای سیدرگذاری و سیدربرداری دراین تحقیق با گزارشات سایر محققین هم‌خوانی داشت (۳، ٤، ۹، ١٤، ٢٣). با استفاده از مدروکسی پروژسترون استات (MPA) و ایمپلنت پروژسترونی و با بهره‌گیری از ۵۰۰ واحد بین المللی گنادوتروپین سرم مادیان آبستن بر روی دو گروه از میش‌های نژاد کیوس (Chios) مطالعه‌ای انجام گردیده بود که سطوح پروژسترون پلاسمایی به‌ترتیب ۰/۱۲ ± ۱/۰۲ و ۰/١٦ ± ۱/٤۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر برای گروه-های مدروکسی پروژسترون استات و ایمپلنت پروژسترونی به‌دست آمده بود. در حالیکه در روز برداشت پروژسترون، سطوح پروژسترونی در هر دو گروه به ۰/۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافته بود (۱۵). در مطالعه‌ی دیگری به‌کارگیری سیدر منجر به افزایش سطح پروژسترون به حالت پیک ۲/۱ نانوگرم بر میلی-لیتری در مدت ٢٤ ساعت پس از به‌کارگیری سیدر شده بود و سطح پروژسترونی در خلال روزهای یک تا سیزدهم پژوهش در سطح نسبتا ثابت ۱/۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر قرار داشت (٢٤).

غلظت‌های پروژسترونی در خون محیطی نمایانگر فیزیولوژی تولیدمثلی و ویژگی سیکل جنسی حیوان است. پروژستاگن‌ها و پروستاگلاندین ($PGF_2\alpha$) یا آنالوگ‌های آن‌ها به‌منظور هم‌زمان‌سازی زایمان و فحلی در طول فصل تولیدمثلی در میش‌ها به‌کار می‌روند. در نشخوارکنندگان کوچک هم‌زمان‌سازی فحلی از طریق گسترش چرخه با پروژسترون با منشاء خارجی یا آنالوگ پروژستاگنی آن‌ها و یا از طریق کاهش دادن طول

فاز لوتئال سیکل استروس به کمک پروستاگلاندین ($F_2\alpha$) محقق می‌شود (۹).

روش‌های هم‌زمان‌سازی عموماً از نوع ایمپلنت و یا اسفنج‌های داخل واژنی هستند. به‌کارگیری این روش‌ها با تاثیر فیدبک منفی بر ترشح هورمون مولد جسم زرد (LH)، وقایع اندوکرینی را مهار کرده و منجر به بلوغ فولیکول‌های پیش تخمک‌گذاری و نتیجتاً تخمک‌گذاری می‌شود (۱۱).

دستگاه‌های داخل واژنی حاوی پروژسترون یا پروژستاگن‌ها معمول‌ترین روش‌هایی هستند که استفاده می‌شوند که در صورت ترکیب با هورمون‌های گنادوتروپینی راندومان تخمک‌گذاری و نرخ تخمک-گذاری را افزایش می‌دهند. مطالعه‌ی حاضر غلظت‌های بالاتر و قابل توجه پروژسترون (P_4) و استرادیول (E_2) را در تجویز گنادوتروپین سرم مادیان آبستن در زمان سیدربرداری نشان داد. متوسط غلظت پروژسترون در روز فحلی به‌ترتیب ۰/۰۵ ± ۰/۳۸، ۰/۱۰ ± ۰/۴۱، ۰/۰۸ ± ۰/۴۶ و ۰/۰۵ ± ۰/۳۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر برای گروه‌های آزمایشی ۱، ۲، ۳ و گروه ٤ (شاهد) به‌دست آمد که با نتایج گزارشات پیشین مطابقت داشت (٤). در گزارشات پیشین مطالعه‌ای بر روی میش‌های نژاد چویوت (Cheviot) جهت تعیین سطوح پروژسترون در مدت سیکل استروس انجام گرفته است. در این مطالعه سطوح پروژسترون پلاسما به‌طور تدریجی از ۱۵ الی ۹ روز مانده به فحلی به سطح متوسط ۲/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر افزایش یافت و به مدت چند روز در این سطح باقی ماند (٤). تا دو روز قبل از فحلی، متوسط غلظت پروژسترون پلاسما به ۱/٤۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافت، در روز بعد غلظت پروژسترون به کمتر از ۰/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافت و تا روز دوم سیکل در این سطح کم باقی ماند و مجدداً به‌طور صعودی افزایش یافت. الگوی تغییر در غلظت پروژسترون در مدت سیکل استروس گوسفند مشابه یافته‌های سایر محققین در مورد پلاسمای محیطی بوده و انعکاسی از فعالیت جسم زرد محسوب می‌شود (٤).

داده‌های فوق الذکر تایید کننده‌ی این مطلب است که در میش سایکلیک مقادیر پروژسترونی پلاسما در روز ماقبل فحلی به سطح خیلی پایینی تنزل پیدا می‌کند و زمانی‌که گنادوتروپین سرم مادیان آبستن بلافاصله پس از سیدربرداری تزریق شود، نرخ اوولاسیون را افزایش می‌دهد که نتیجه‌ی آن افزایش چندقلو و دوقلوزایی خواهد بود (۱). متوسط غلظت پروژسترون در روز ۳۰ آبستنی در گروه‌های ۱، ۲، ۳ و گروه ٤ (شاهد) به‌ترتیب ۰/۲۳ ± ۰/۹۵، ۰/۱۷ ± ۱/۱۲، ۰/۱٤ ± ۱/۲٦ و ۰/۲۵ ± ۰/۸۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. متوسط غلظت پروژسترون در میش‌های گروه ۳ که دوز ۵۰۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین سرم مادیان آبستن را دریافت کرده بودند برابر ۰/۱٤ ± ۱/۲٦ نانوگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد که بیشترین مقدار مابین همه گروه‌های آزمایشی بود ($p < ۰/۰۵$). این مقادیر در گروه ۲ (۰/۱۷ ± ۱/۱۲) و گروه ۱ (۰/۲۳ ± ۰/۹۵) بالاتر از مقادیر گروه ٤ (۰/۲۵ ± ۰/۸۰) بود ($p < ۰/۰۵$).

برخی از محققین گزارش کرده‌اند تجویز مقادیر ۳۰۰ واحد بین المللی یا کمتر گنادو تروپین سرم مادیان آبستن برای توسعه‌ی بیشتر فولیکول‌های تخمدانی کافی نبوده و در برخی از نژادها پاسخ ضعیفی در پی خواهد داشت (۸، ۱۹، ۲۰). در این مطالعه یک افزایش سطح پروژسترونی وابسته به دوز گنادوتروپین سرم مادیان آبستن مابین گروه‌ها مشاهده شد. این نتایج مشابه یافته-های سایر محققین بود (۲۰).

در مطالعه‌ای که با استفاده از میش‌های نژاد یانکاسا (Yankasa) به‌منظور تعیین اثرات دوز گنادوتروپین سرم مادیان آبستن بر روی پارامترهای فحلی، نرخ تخمک-گذاری و غلظت‌های پروژسترونی انجام یافت، نرخ تخمک‌گذاری (بر اساس تعداد جسم زرد) به‌طور متوسط ۰/۰ ± ۱/۰، ۰/۳ ± ۱/۳، ۰/۰ ± ۲/۰، ۰/۵ ± ۵/۵ و ۱/۲ ± ۷/۰ به‌ترتیب برای میش‌های درمان شده با صفر، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین سرم مادیان آبستن حاصل شد. نتایج نشان داد امکان افزایش نرخ تخمک‌گذاری در میش‌های درمان شده با گنادوتروپین سرم مادیان آبستن وجود دارد و نیز ارتباط مستقیمی بین دوز مصرفی گنادوتروپین سرم مادیان آبستن، نرخ تخمک‌گذاری و غلظت پروژسترون پلاسمایی متصور است (۲۰).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد افزایش قدرت باروری و نتیجتاً رهنمون شدن به حصول بره بیشتر به ازای هر میش در گله‌های گوسفند نژاد ماکویی از طریق به-کارگیری پروتکل‌های هم‌زمان‌سازی فحلی و گنادوتروپین سرم مادیان آبستن به‌صورت توام حائز بهره‌ی اقتصادی در گله‌های پرورشی خواهد بود.

تشکر و قدردانی

از کلیه‌ی همکارانی که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند به ویژه مهندس رامین علیوردی نسب و مهندس سیامک چراغیان صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

1. Akoz M., Bulbul M., Ataman B., Dere S. 2006. Induction of multiple births in Akkaraman cross - breed synchronized with short duration and different doses of progesterone treatment combined with PMSG outside the breeding season. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 50: 97-100.

2. Al-Merestani M.R., Zarkawi M., Wardeh M. 1999. Early breeding and pregnancy diagnosis in Syrian Awassi sheep yearlings. *Reproduction in Domestic Animals*, 34: 413-416.

3. Altınçekiç Ş.Ö., Koyuncu M., Tuncel E., Kaymakçı M. 2011. Kıvırcık Koyunlarında üremenin mevsime bağlılığıve östrus boyunca östradiol-17β ve progesteron hormonu düzeylerinin değişimi. *Hayvansal Üretim*, 52(2): 10-19.

4. Cunningham M.F., Symons A.M., Soba M. 1975. Levels of progesterone, LH and FSH in the plasma of sheep during the estrus cycle. *Journal of Reproduction and Infertility*, 45: 177-180.

5. Dogan I., Nur Z. 2006. Different estrous induction methods during the non-breeding season in Kivircik ewes. *Veterinary medicine journal – Czech*, 51: 133-138.

6. Domingues Fdez-Tejerina J.C., Miro-Roig J., Carbajo Rudea M. 1991. Induction and synchronization of estrus during seasonal anestrus in improved Ripollesa ewes by means of FGA-impregnated vaginal sponges and PMSG injections. *Animal Breeding Abstracts*, 59: 1797.

7. Ezatpour M. 2004. Sheep and goat breeding in Iran. M. Ezatpour. Tehran, pp. 39-40.

8. Fallah Rad A.H., Farzaneh N. 2007. Effect of CIDR and different dose of PMSG on pregnancy and lambing rate out of breeding season in Baluchi ewes. *Journal of Animal and Veterinary Advance*, 6: 1167-1171.

9. Güngör Ö., Özyurtlu N., Pancarcı Ş.M. 2009. Estrous Synchronization with used CIDR-G devices in ewes during non-breeding season. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15 (5): 779-783.

P. (Ed), İntervet International. B.V. Holland, pp: 125-145.

18. Noor Hashida H., Syafnir, Meriksa S. 2013. Time of PMSG administration: effect on progesterone and estradiol concentration in synchronized ewes. *Biomedical Research*, 24(1): 7-12.

19. Nosrati M., Tahmorespoor M., Vatandoost M., Behgar M. 2011. Effects of PMSG doses on reproductive rerformance of Kurdi ewes artificially inseminated during breeding season. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 1(2): 125-129.

20. Oyedipe E., Pathiraja N., Gyang E. 1989. Effect of dose of pregnant mare serum gonadotropin on estrus parameters, ovulation rate and peripheral progesterone concentrations in Yankasa ewes. *Animal Reproduction Science*, 20(4): 255-264.

21. Saadat-Noori M., Siah-Mansoor S. 2002. Sheep husbandry and management. Ashrafi, Tehran, p. 101.

22. Salehi R., Kohram H., Towhidi A., Kermani M.H., Honarvar M. 2010. Follicular development and ovulation rate following different superovulatory treatments in Chall ewes. *Small Ruminant Research,* 93: 213-217.

23. Van Cleeff J., Karsch F.J., Padmanabhan V. 1998. Characterization of endocrine events during the periestrous period in sheep after estrous synchronization with controlled internal drug release (CIDR) device. *Domestic Animal Endocrinology,* 15(1): 23-34.

24. Viñoles C., Fosberg M., Banchero G., Rubianes E. 2001. Effect of long-term and short-term progestogen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, 55: 993-1004.

25. Yu Y.S., Luo M.J., Han Z.B., Li W., Sui H.S., Tan J.H. 2005. Serum and follicular

10. Hussein M.Q., Ababneh M. M. 2008. A new strategy for superior reproductive performance of ewes bred out of season utilizing progestagen supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries. *Theriogenology,* 69: 376-383.

11. Jabbour H.N., Evans G. 1991. Ovarian and endocrine responses of Merino ewes to treatment with PMSG and/or FSH-P. *Animal Reproduction Science*, 26: 93-106.

12. Karagiannidis A., Varsakeli S., Karatzas G., Brozos C. 2001. Effect of time of artificial insemination on fertility of progestagen and PMSG treated indigenous Greek ewes, during non-breeding season. *Small Ruminant Research,* 39: 67-71.

13. Koyuncu M., Uzun S.K., andSengül L. 2001. Kıvırcık koyunlarında progesterone ve farklı dozda PMSG Kullanımının kızgınlık denetimi ve dölverimini arttırma olanakları. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25: 971-974.

14. Lamrani F., Benyounes A., Sulon J., Khaldi G., Rekik R., Bouraoui B., Beckers J.F., Tahar A. 2008. Effects of repeated use of PMSG on reproductive performances of the Ouled Djellal ewes. *Journal of Animal and Veterinary Advance,* 2: 22-30.

15. Menegatos J., Chadio S., Kalogiannis T., Kouskoura T., Kouimtzis S. 2003. Endocrine events during the periestrous period and the subsequent estrous cycle in ewes after estrus synchronization. *Theriogenology*, 59: 1533-1543.

16. Miljkovic V., Petrujkic T., Vujosevic J., Mrvos P., Mihajlovksi P., Predojevic M., Naumov N., Tanev D., Stanojevic T., Jovanovic V. 1989. Contemporary aspects of physiology of reproduction and artificial insemination in small ruminants. *Veterinarski glasnik*, 43: 875-882.

17. Monika P. 2001. Ovine reproduction. In: Compendium of animal reproduction. Monika

fluid steroid levels as related to follicular development and granulose cell apoptosis during the estrus cycle of goats. *Small Ruminant Research*, 57: 57-65.

26. Zarkawi M. 2001. Estrous synchronization and twinning rate of Syrian Awassi ewes treated with progestagen and PMSG during the breeding season. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 44: 159-163

27. Zeleke, M., Greyling J.P.C., Schwallbach L.M.J., Muller T., Erasmus J.A. 2005. Effect of progestogen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in Dorper ewes during the transiti on period. *Small Ruminant Research*, 56: 47-53.

28. Zonturlu A.K., Ozyurtlu N., Kaçar C. 2011. Effect of different doses PMSG on estrus synchronization and fertility in Awassi ewes synchronized with progesterone during the transition period. *The Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas*, 17 (1): 125-129.

Investigation of Fertility Rate and Plasma Level of Ovarian Hormones in Makuii Breed Ewes Treated by CIDR and PMSG

Ghader Najafi[1*], Jafar Pish Jang Aghajeri[2]

1- Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.

2- Department of Animal Science, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran.

Abstract

The objective of this study is to investigate fertility rate and determine plasma levels of ovarian hormones in the Makuii breed ewe treated by CIDR and PMSG. This investigation conducted in 80 fat-tailed Makuii breed ewes during the breeding season. All animals were divided randomly into four groups then a single intramuscular (IM) injection of PMSG (group 1, 300 IU; group 2, 400 IU; group 3, 500 IU, group 4) was made apart from 1 ml normal saline solution which was used as control group at the time of CIDR removal. Blood samples collected from the jugular vein at the days of CIDR insert removal, Estrus after PMSG treatment and the day 30 of pregnancy for the determination of plasma E2 and P4 concentrations. Estrus responses were similar in all groups. Pregnancy rates were 85%, 90%, 95% and 64.7% in groups 1, 2, 3 and the control group, respectively. Pregnancy rates were higher in groups 1, 2 and 3 than in control group ($P<0.05$). There were significant differences ($P<0.05$) between the treatment groups and the control group regarding the plasma E2 levels at days of CIDR insert and estrus. Differences between the treated and the control animals in the Plasma P4 levels at day estrus and the day 30 of pregnancy were significant ($P<0.05$). The result of current research showed that an injection of PMSG after CIDR removal can be more effective on the fertility response of Makuii breed ewes during breeding season.

Key words: Estradiol-17β (E2), Fertility rate, Makuii breed ewe, PMSG, Progesterone (P4).