



مقالات

فیزیولوژی دام و طیور



اثر رادیکال های اکسیژنی واکنش دهنده و آنتی اکسیدانت ها بر اسپرم

محمد جواد ضمیری

استاد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

mjzamiri@yahoo.com

چکیده

تنش اکسیداتیو یکی از علت های کاهش توان باروری اسپرم در شرایط برون تنی و درون تنی نامیده شده است. کاربرد آنتی اکسیدانت ها در مرد های کم بارور، تا اندازه ای موجب بهبود باروری شده است. از سویی، افزودن آنتی اکسیدانت ها به منی در شرایط برون تنی، بهبود کیفیت اسپرم را در پی داشته است. این مقاله، یافته های پژوهشی در انسان، دام ها و پرندگان اهلی را مرور می کند. با توجه به این که تولید کمینه ای از رادیکال های اکسیژنی واکنش دهنده (ROS) برای فیزیولوژی نرمال اسپرم ضروری است، کاربرد هر نوع آنتی اکسیدانت، باید با دقت انجام شود زیرا حذف کامل تولید ROS موجب می شود که اسپرم کاپاسیته نشود که فرآیند لقاح اووسیت را نابهنجار خواهد کرد.

واژه های کلیدی: تنش اکسیداتیو، آنتی اکسیدانت، رادیکال اکسیژن؛ اسپرم، باروری

تنش اکسیداتیو و تأثیر رادیکال های اکسیژنی واکنش دهنده

اسپرم گونه های مختلف، انواع رادیکال های اکسیژنی واکنش دهنده (ROS) را تولید می کنند که از آن ها می توان آنیون سوپراکساید، هیدروژن پراکساید و نیتریک اکساید را نام برد. تولید مقادیر اندک و کنترل شده ROS برای انجام فرآیندهایی مانند کاپاسیته شدن اسپرم، واکنش آکروزوم و پیوند اسپرم به زونا پلوسیدا در پستانداران، اهمیت دارد اما اگر تولید ROS، بیشتر از توان آنتی اکسیدانی اسپرم برای خنثی کردن اثر آن ها باشد، اسپرم دچار نوعی تنش اکسیداتیو می شود که از ویژگی های آن، آسیب پراکسیدی به غشای اسپرم و آسیب فیزیکی به DNA است (۶، ۱۳ و ۲۳).

علاقه مندی به یافتن علتی برای پایین بودن اسپرم های تازه انزال شده در انسان، و نیز کاهش باروری اسپرم در فرآیندهایی مانند تلقیح مصنوعی، لقاح برون تنی، یخ زدن اسپرم، و نگهداری اسپرم در دمای پایین در گونه های مختلف (انسان، دام ها، پرندگان اهلی، جانوران آزمایشگاهی)، توجه دانشمندان را به تولید ROS در اسپرم جلب کرد. تولید ROS در اسپرم به احتمال زیاد به شیوه ظریفی به وسیله آنتی اکسیدانت های سلولی مانند سوپراکساید دیسموتاز (SOD) کنترل می شود، اما اگر اسپرم در برابر غلظت های بالای ROS قرار گیرد، آنگاه آسیب های سلولی افزایش می یابد. شرایطی مانند افزایش تولید ROS در مایع منی، در دستگاه تولید مثل هنگام تشکیل اسپرم، کاهش تولید آنتی اکسیدانت های درون زادی، و شرایط نامناسب نگهداری اسپرم می تواند موجب آسیب های سلولی شود.

میتوکندری ها، جایگاه اصلی تولید ROS درون سلولی هستند که موجب ناهنجاری در انتقال الکترون، می شود. احتمال می رود که هیدروژن پراکساید بیشترین آسیب های سلولی و کنشی را به اسپرم وارد می کند زیرا تراوایی غشا کاملاً زیاد است و سیتوپلاسم و میتوکندری های اسپرم پستانداران نیز مقادیر زیادی سوپراکساید دیسموتاز دارند. بجز ایجاد اشکال در تولید انرژی، تولید رادیکال های هیدروکسیل از هیدروژن پراکساید، و وجود هیدروپراکسید های لیپیدی نیز به پراکسیداسیون لیپید های اسپرم کمک می کنند.



تعیین نقش دقیق سوپراکساید و هیدروژن پراکساید در ایجاد آسیب به اسپرم، دشوار بوده است که علت آن می‌تواند کم بودن حساسیت روش‌های اندازه‌گیری باشد (برای نمونه، اندازه‌گیری مالون دای آلدهاید). از سویی، اندازه‌گیری سوپراکساید، هیدروژن پراکساید و مالون دای آلدهاید با روش‌های رایج، این عیب را دارد که مشخص نمی‌کند چه درصدی (یا نسبتی) از اسپرم‌های زنده، ROS تولید کرده‌اند و یا دچار پراکسیداسیون لیپیدی شده‌اند. بنابراین، شاید تولید ROS و به دنبال آن پراکسیداسیون لیپیدی تنها در درصد کوچکی از اسپرم‌های زنده و یا عمدتاً در اسپرم‌های غیرزنده، اتفاق افتاده باشد. اگرچه این تمایز، ممکن است در آزمایش‌های کوتاه مدت اهمیت نداشته باشد اما زمانی که اسپرم یخ زده می‌شود و یا در دمای پایین و برای مدتی نگهداری می‌شود، آنگاه مقدار ROS تولید شده به وسیله اسپرم‌های زنده یا مرده اهمیت پیدا می‌کند (۲۸).

پژوهش‌های انجام شده با اسپرم انسان نشان دادند که اندازه‌گیری ROS، پراکسیداسیون لیپیدی، و پارگی DNA در بخش اسپرم‌های زنده، می‌تواند برای تعیین تعداد و یا نسبت اسپرم‌های آسیب‌دیده در کل جمعیت اسپرم مورد مطالعه، و نیز تشخیص نوع آسیب‌های اسپرم در نمونه‌های منی دارای کیفیت پایین، ارزشمند باشد (۷). از سویی، ساختار DNA اسپرم گاویش تحت تأثیر فرایندهای یخ‌زدن و یخ‌گشایی قرار نگرفت اما آسیب‌های DNA، با افزایش زمان نگهداری در دمای چهار درجه سانتی‌گراد، به طور خطی افزایش یافت (۲۱). به نظر می‌رسد اندازه‌گیری تولید ROS و پراکسیداسیون لیپیدی با روش Flow cytometry می‌تواند سطوح پایه ROS در اسپرم‌های زنده را تعیین کند و از این رو، میزان تأثیر تنش اکسیداتیو بر اسپرم را در آزمایش‌های مختلف، امکان‌پذیر می‌سازد (۱۹ و ۲۴).

منی و اسپرم دارای آنتی‌اکسیدانت‌های گوناگونی هستند مانند آنزیم‌ها (سوپراکساید دیسموتاز، کاتالاز، گلووتاتیون پراکسیداز)، آنتی‌اکسیدانت‌های دارای وزن مولکولی پایین (آلفا-توکوفرول، بتا-کاروتن، اسکوربات)، ترانسفرین، لاکتوفرین و سرولوپلاسمین (۲۸). شرایطی که تولید مقدار زیادی ROS را در پی داشته باشند موجب کم شدن توان آنتی‌اکسیدانتی و پراکسیداسیون لیپیدی می‌شوند. در شرایط درون‌تنی، تولید مقادیر زیاد ROS موجب بروز ناهنجاری در فرآیند اسپرمیوزس می‌شود و اسپرم‌ها مقادیر غیرعادی سیتوپلاسم دارا خواهند بود. سیتوپلاسم زیادی دارای آنزیم‌هایی است که تولید ROS را افزایش خواهند داد (۷ و ۱۹).

تأثیر آنتی‌اکسیدانت خوراکی در درمان کم باروری مردها

پژوهش‌های فراوانی درباره تأثیر تغذیه آنتی‌اکسیدانت‌های گوناگون بر درمان کم باروری مردها انجام شده است. راس و همکاران (۲۶) در یک بررسی گذشته‌نگر، یافته‌های ۱۷ پژوهش کنترل شده تصادفی را بررسی کردند. در ۷۵ درصد بررسی‌ها، مکمل‌های آنتی‌اکسیدانتی دست کم یکی از فراسنجه‌های اسپرم را بهبود بخشیدند. در ۶۳ درصد بررسی‌ها، جنبایی اسپرم و تنها در ۳۳ درصد بررسی‌ها، غلظت اسپرم افزایش یافت. نرخ آبستنی نیز ۱۹ درصد افزایش یافت. بهبود باروری در این بررسی‌ها، احتمالاً ناشی از افزایش جنبایی، افزایش شمار کل اسپرم در منی، و یا بهبود سلامت DNA بوده است. نویسندگان چنین نتیجه‌گیری کردند که توصیه استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانتی برای درمان کم‌باروری‌های مردها نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

کاربرد آنتی‌اکسیدانت‌ها در بهبود کیفیت اسپرم در شرایط برون‌تنی

افزودن بیوتیلاید هایدروکسی تولیوین (BHT) به اسپرم قوچ، پیش از قرار دادن اسپرم در دمای پایین، موجب کاهش آسیب‌های آکروزومی و افزایش درصد اسپرم‌های جنبا شد (۳۱). در خوک، BHT آسیب‌های ناشی از شوک سرمایی را کاهش داد (۱۰) و درصد اسپرم‌های زنده پس از یخ‌گشایی را افزایش (۲۵) داد. اما در اسب، BHT تأثیر مثبتی بر جنبایی



اسپریم در دمای ۵ درجه سانتی گراد نداشت (۹). افزودن BHT به اسپریم گاو، تا اندازه‌ای آسیب‌های ناشی از یخ‌زدن اسپریم روی گاز کربنیک جامد و تنش سرمایی را کاهش (۲۰) و درصد اسپریم جنبه را پس یخ‌گشایی، افزایش داد (۲۲). شعاع و ضمیری (۲۹) اثر BHT در رقیق‌کننده زرده- سیترات را بررسی و نشان دادند که غلظت‌های ۰/۵-۱/۰ mM موجب بهبود جنبایی پیشرونده اسپریم گاو هنگام یخ‌گشایی شد.

نگهداری برون تنی اسپریم پرندگان از کارایی بالایی برخوردار نیست (۱۵) و از این رو، تأثیر افزودن آنتی‌اکسیدانت‌ها به منی پرندگان مورد توجه قرار گرفته است. توان باروری برون‌تنی خروس در دمای ۵ درجه سانتی گراد با افزودن ویتامین E به رقیق‌کننده افزایش یافت اما درصد اسپریم زنده و جنبایی تغییر معنی‌داری نیافت (۳ و ۱۱). در بوقلمون، جنبایی نمونه‌های دارای ویتامین E با افزایش زمان نگهداری، کاهش کمتری یافت (۱۶). افزودن ویتامین C به رقیق‌کننده، جنبایی اسپریم خروس را افزایش اما درصد اسپریم‌های زنده را پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۵ درجه سانتی گراد کاهش داد (۱)؛ در این آزمایش، افزودن ویتامین E و ویتامین C به رقیق‌کننده باروری تخم‌مرغ‌های حاصل از تلقیح مصنوعی با این نمونه‌های اسپریم را افزایش داد. پس از ۵ ساعت نگهداری در شرایط برون‌تنی، باروری تخم‌مرغ‌ها با باروری تخم‌مرغ‌های گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری نشان نداد.

افزودن سدیم پیرووات و BHT به منی خروس نیز موجب بهبود جنبایی و درصد اسپریم زنده در شرایط برون‌تنی شد (۵). اگرچه ویتامین C تأثیر مثبتی بر اسپریم بوقلمون نداشت (۱۴) اما موجب بهبود سلامت غشای اسپریم اسب در شرایط برون‌تنی (تا ۴۸ ساعت در دمای ۵ درجه سانتی گراد) شد (۸). همانند اسپریم پستانداران، BHT ویژگی‌های اسپریم بوقلمون را بهبود بخشید (۱۴). پیرووات یک آنتی‌اکسیدانت موثر برای اسپریم گاو، گوسفند و اسب نیز بود (۱۲ و ۳۰).

تأثیر مکمل‌های آنتی‌اکسیدانتی خوراکی بر اسپریم

تغذیه مکمل خوراکی سلنیوم آلی به خروس در دمای محیطی بالا موجب بهبود کیفیت منی (افزایش شمار اسپریم، کاهش درصد اسپریم‌های مرده) و بهبود توان آنتی‌اکسیدانتی مایع منی شد (۱۷). ترکمان (۴) تأثیر مکمل سلنیوم آلی و ویتامین E را بر ویژگی درون‌تنی و برون‌تنی اسپریم خروس بررسی کرد. سلنومتایونین به خوراک و ویتامین E به نمونه‌های منی خروس‌ها افزوده شد. تغذیه سلنومتایونین موجب افزایش جنبایی و درصد اسپریم‌های زنده شده اما غلظت مالون دای آلدهاید را در نمونه‌های منی، کاهش داد. نرخ کاهش جنبایی و درصد اسپریم زنده برای خروس‌های تغذیه شده با سلنومتایونین با گذشت زمان (تا ۲۴ ساعت و در دمای ۵ درجه سانتی گراد) کمتر بود. افزودن ویتامین E به رقیق‌کننده جنبایی و درصد اسپریم زنده را در شرایط برون‌تنی افزایش و غلظت مالون دای آلدهاید را در منی کاهش داد.

امتی و همکاران (۲) تأثیر خوراندن عصاره گیاه مریم گل به خروس را بر ویژگی‌های منی بررسی کردند. خوراندن ۰/۴ گرم عصاره به ازای هر کیلوگرم وزن زنده، بهترین کیفیت منی را موجب شد. افزودن پودر تفاله گوجه‌فرنگی به جیره و یا خوراندن عصاره خشک مریم گلی به خروس، درصد اسپریم‌های نابهنجار و غلظت MDA منی را کاهش اما درصد اسپریم‌های زنده را افزایش داد (۲۷).

نتیجه‌گیری

اگر تنش اکسیداتیو، از علت‌های مهم کم باروری باشد. احتمال می‌رود کاربرد آنتی‌اکسیدانت‌ها بتواند به درمان کم- باروری کمک کند. اگرچه بیشتر پژوهش‌ها در انسان انجام شده‌اند، یافته‌هایی نیز در مورد دام‌ها و پرندگان اهلی انتشار یافته‌اند. برای نمونه، سال‌هاست که کاتالاز به مایع رقیق‌کننده برای یخ زدن اسپریم گاو افزوده می‌شود. پژوهش‌های دیگر نیز نشان داده‌اند که افزودن اسکوربات، کارنیتین، سیستین (Cysteine)، اینوزیتول، منگنز یا ویتامین B₁₂ جنبایی اسپریم یخ زده



گاو را بهبود بخشیده است. ترکیباتی مانند متایونین، کارنیتین، و اینوزیتول نیز موجب حفظ یکپارچگی DNA شده‌اند (۷). با این وجود، هر نوع کاربرد آنتی‌اکسیدانت‌ها در این زمینه، باید با دقت انجام شود زیرا مهار کامل تولید ROS موجب می‌شود که اسپرم کاپاسیته نشود و از این رو، لقاح اووسیت (چه برون‌تنی و چه درون‌تنی) انجام نخواهد شد.

منابع

۱. احمدی، حمیدرضا و محمد جواد ضمیری. ۱۳۸۶. اثر ویتامین‌های E و C بر توان زنده مانی و باروری اسپرم رقیق شده‌ی خروس‌های بومی فارس در دمای ۴ تا ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد. دومین کنگره علوم دامی و آبزیان کشور. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، ۲۶ و ۲۷ اردیبهشت ۱۳۸۶، ص ۱۴۷۷ تا ۱۴۷۹.
۲. امتی، محمد مهدی، محمد جواد ضمیری، امیر اخلاقی، فاطمه صائمی. ۱۳۹۰. اثر عصاره گیاه مریم گلی بر برخی فرآیندهای منی خروس‌های بومی فارس. نخستین سمینار ملی مدیریت پرورش دام و طیور در مناطق گرمسیر. ۱۶ شهریور ماه ۱۳۹۰، دانشگاه شهید باهنر کرمان.
۳. بوستانی، علیداد و محمد جواد ضمیری. ۱۳۸۵. اثر افزودن ویتامین E بر ویژگی‌ها و باروری منی خروس‌های بومی فارس پس از ۶ یا ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۵-۴ یا ۲۴-۱۹ درجه‌ی سانتی‌گراد. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد ۳۷، ص ۳۳۳ تا ۳۴۰.
۴. ترکمان، فاطمه. ۱۳۸۶. اثر سلنیوم آلی خوراکی و آلفا-توکوفرول افزودنی به مایع رقیق کننده بر ویژگی‌های اسپرم خروس‌های بومی فارس در دمای ۴ تا ۵ درجه سانتی‌گراد. پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه شیراز.
۵. نورانی، بهشید محمد جواد ضمیری و ابراهیم روغنی. ۱۳۸۶. اثر هیدروکسی تولوئن بوتیله شده (BHT) و سدیم پیرووات بر اسپرم رقیق شده‌ی خروس‌های بومی فارس در دمای ۵-۴ درجه‌ی سانتی‌گراد. دومین کنگره علوم دامی و آبزیان کشور. موسسه‌ی تحقیقات علوم دامی کشور، ۲۶ و ۲۷ اردیبهشت ۱۳۸۶، ص ۱۵۳۹ تا ۱۵۴۲.

6. Aitken, R.J., de Iuliis, G.N., Finnie, J.M., Hedges, A., McLachlan, R.I. 2010. Analysis of the relationships between oxidative stress, DNA damage and sperm vitality in a patient population: development of diagnostic criteria. Human Reproduction 25: 2415-2426.
7. Aitken, R.J., de Iuliis, G.N., Gibb, Z., Bake, M.A. 2012. New horizons on an old landscape- Oxidative stress DNA damage and apoptosis in the male germ line. Reproduction in Domestic Animals 47:7-14.
8. Aurich, J.E., U. Schonherr, H. Hoppe and C. Aurich (1977). Effects of antioxidants on motility and membrane integrity of chilled stored stallion semen. Theriogenology 48:185-192.
9. Ball, B.A., V. Medina, C.G. Gravance, and J. Bumber. 2001. Effect of antioxidants on preservation of motility, viability and acrosomal integrity of equine spermatozoa during storage at 5° C. Theriogenology 56:577-589.



10. Bamba, K., Cran, D.G., 1992. Effect of treatment with butylated hydroxytoluene on the susceptibility of boar spermatozoa to cold stress and dilution. *Journal of Reproduction and Fertility* 95, 69-77.
11. Blesbois, E., I. Grasseau and J.C. Blum. 1993. Effects of vitamin-E on fowl semen storage at 4°C. *Theriogenology* 39:771-779.
12. Bruemmer, J.E., R.C. Coy, E.L. Squires and J.K. Graham. 2002. Effect of pyruvate on the function of stallion spermatozoa stored for up to 48 hours. *Journal of Animal Science* 80:12-18.
13. De Lamirande, E., Jiang, H., Zini, A., Komada, H., Ganong, C. 1997. Reactive oxygen species and sperm physiology. *Reviews of Reproduction* 2: 48-54.
14. Donoghue, A.M. and D.J. Donoghue. 1997. Effect of water- and lipid-soluble antioxidants on turkey sperm viability, membrane integrity and motility during liquid storage. *Poultry Science* 76:1440-1445.
15. Donoghue, A.M., Wishart, G.J. 2000. Storage of poultry semen. *Animal Reproduction Science* 62: 213-232.
16. Douard, V., E. Blesbois, M. Magistrini, C. Labbe and D. Hermier. 2000. Vitamin E and exogenous substrates do not change the phospholipid loss in turkey semen stored in vitro. *Poultry & Avian Biology Reviews* 11:293-294.
17. Ebeid, T. 2009. Organic selenium enhances the antioxidative status and quality of cockerel semen under high ambient temperature. *British Poultry Science* 50: 641 – 647.
18. Feridovich, I. 1997. Superoxide anion radical, superoxide dismutase, and related matters. *Journal of Biological Chemistry* 272: 18515-18517.
19. Guthrie, H.D., Welch, G.R. 2012. Effect of reactive oxygen species on sperm function. *Theriogenology* (doi.org/10.1016/j.theriogenology. 2012.05.002)- accepted online manuscript.
20. Hammerstedt, R.H., R.P. Amann, T. Rucinsky, P.D. Morsel II, J. Lepock, W. Spines, and A.D. Keith. 1976. Use of spin labels and electron spin resonance spectroscopy to characterize membrane of bovine sperm: The effect of butylated hydroxytoluene and cold shock. *Biology of Reproduction* 14:381-397.
21. Kadirvel, G., Kumar, S., Kumaresan, A., 2009. Lipid peroxidation, mitochondrial membrane potential and DNA integrity of spermatozoa in relation to intracellular reactive

- oxygen species in liquid and frozen-thawed buffalo semen. *Animal Reproduction Science* 114: 125-134.
22. Killian, G., T. Honadel, T. McNutt, M. Henault, C. Wegner, and D. Dunlap. 1989. Evaluation of butylated hydroxytoluene as a cryopreservative added to whole or skim milk diluent for bull semen. *Journal of Dairy Science* 72:1291-1295.
23. Partyka, A., Lukaszewicz, E., Nizanski, W. 2012. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in avian semen. *Animal Reproduction Science* (doi:10.1016/j.anireprosci. 2012.007.07.007)- accepted online manuscript.
24. Partyka, A., Nizanski, W., Lukaszewicz, E. 2010. Evaluation of fresh and frozen fowl semen by flow cytometry. *Theriogenology* 74: 1019-1027.
25. Roca, J., M.A. Gilt, M. Henandez, I. Parrilia, J.M. Vazquez, and E.M. Martinez. 2004. Survival and fertility of boar spermatozoa after freeze-thawing in extender supplemented with butylated hydroxytoluene. *Journal of Andrology* 25:397-405.
26. Ross, C., Morriss, A., Khairy, M., Khalaf, Y., Braude, P., Coomarasamy, A., El-Touky, T. 2010. A systematic review of the effect of oral antioxidants on fertility. *Reproductive Biomedicine Online* 20: 711-723.
27. Saemi, F., Zamiri, M.J., Akhlaghi, A., Niakousari, M., Dadpasand, M., Ommati, M.M. (2012). Dietary inclusion of dried tomato pomace improves the seminal characteristics in Iranian native roosters. *Poultry Science* (Accepted).
28. Sanocka, D., Kurpisz, M. 2004. Reactive oxygen species and sperm cells. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2: 12.
29. Shoaie, A. and M. J. Zamiri (2008). Effect of butylated hydroxytoluene on bull spermatozoa frozen in egg yolk-citrate extender. *Animal Reproduction Science* 104, 414-418.
30. Upreti, G.C., K. Jensen, R. Munday, D.M. Duganzich, R. Vishwanath and J.F. Smith. 1998. Studies on aromatic amino oxidase activity in ram spermatozoa: role of pyruvate as an antioxidant. *Animal Reproduction Science* 51:275-287.
31. Watson, P.F., Anderson, W.J., 1983. Influence of butylated hydroxytoluene (BHT) on the viability of ram spermatozoa undergoing cold-shock. *Journal of Reproduction and Fertility* 69, 229–235.

Effects of reactive oxygen species and antioxidants on sperm

M.J. Zamiri

Professor of Physiology
Department of Animal Science
College of Agriculture
Shiraz University
Shiraz, Iran

mjzamiri@yahoo.com

Abstract

Oxidative stress is regarded as an important cause of reduced fertility in men, and of the sperm used in assisted reproductive technologies. Oral application of antioxidants to some infertile men has resulted in improved pregnancy rate. Supplementation of the semen diluents with several antioxidants has also enhanced the sperm quality. In this review, research performed in men, and domestic animals and birds are reviewed. A minimum level of the reactive oxygen species (ROS) is necessary for normal sperm physiology; therefore, the use of antioxidants must be considered carefully, because complete suppression of ROS production is likely to prevent sperm capacitation and thus fertilization.

Key words: Oxidative stress, Antioxidant, Reactive oxygen species, Sperm, Fertility



تأثیر جیره فلاشینگ حاوی مکمل‌های مختلف پروتئینی بر غلظت هورمون‌های مرتبط با تولیدمثل و عملکرد تولیدمثلی

گوسفند قزل

آصف احمدفاضل^۱، حسین دقیق کیا^۲، علی حسین خانی^۲، غلامعلی مقدم^۲، صادق علیجانی^۲

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام گروه علوم دامی دانشگاه تبریز؛

^۲اعضای هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

*نویسنده مسئول: daghighkia@tabrizu.ac.ir

چکیده

هدف از انجام این آزمایش ارزیابی تأثیر استفاده از مکمل‌های مختلف پروتئینی با تجزیه پذیری متفاوت در جیره فلاشینگ بر هورمون‌ها و عملکرد تولیدمثلی گوسفند قزل می‌باشد. بدین منظور ۴۸ راس گوسفند قزل در ۴ تیمار به مدت ۴۲ روز در قالب طرح کامل تصادفی مورد استفاده قرار گرفت. گروه‌های آزمایشی مشتمل بر: (۱) اوره (۲) کنجاله گلوتن ذرت (۳) کنجاله سویا (۴) دانه جو به عنوان شاهد بودند. تمام جیره‌ها از نظر انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام وضعیت مشابهی داشتند. برای همزمان سازی، گوسفندان به مدت ۱۴ روز سیدرگذاری شدند حیوانات ۴۸ ساعت پس از سیدر برداری تلقیح شدند. غلظت هورمون انسولین ۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری در تیمارهای مکمل پروتئینی نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی داری داشت ($P < 0.05$) اما در مراحل دیگر تفاوت معنی داری مشاهده نشد. مقدار پروژسترون در گروه‌های تیمار پروتئین نسبت به شاهد بیشتر بود اما تفاوت معنی داری وجود نداشت. غلظت استروژن سرم در بین تیمارها تفاوت معنی داری نداشت. وزن تولد بره زایی، نرخ بره زایی و تعداد نتاج در تیمار کنجاله گلوتن ذرت نسبت به تیمارهای دیگرافزایش یافت ($P < 0.05$). واژه‌های کلیدی: عملکرد تولیدمثلی - گوسفند قزل - مکمل پروتئینی - هورمون‌های تولیدمثلی.

مقدمه

بازده تولیدمثلی نقش مهمی در تعیین میزان سود سیستم تولیدی حیوانات دارد. گوسفند قزل به منظور تولید پشم، شیر و بخصوص گوشت پرورش داده می‌شود. تغذیه بطور مستقیم و از طریق تامین مواد مغذی خاص فرآوردهایی نظیر توسعه اووسیت‌ها، تخمک گذاری، بقای جنین واستقرار آبستنی، بطور غیرمستقیم و از طریق تأثیر روی هورمون‌ها و متابولیت‌های خونی روی باروری اثر می‌گذارد (۷). افزایش سطح تغذیه محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گنادی راتحت تأثیر قرار داده و در نتیجه ترشح گنادوتروپین‌ها، پروژسترون، استروژن، انسولین و هورمون رشد و نیز نرخ تخمک گذاری و کیفیت تخمک را متأثر می‌سازد (۸). افزایش پروتئین و انرژی جیره قبل و بعد از جفت‌گیری باعث افزایش نرخ تخمک‌گذاری و بهبود باروری می‌شود (۹). کروکر و همکاران (۱۹۷۹) و کایم و همکاران (۱۹۸۳)، گزارش کردند که استفاده از پروتئین با کیفیت متفاوت بوسیله راههای مختلف باروری و تخمک‌گذاری را متأثر می‌سازد. تحقیقات دیگری نشان داد که استفاده از پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه نه تنها وزن بدن بلکه نرخ تخمک‌ریزی را نیز بهبود می‌بخشد (۴). الحبوبی و همکاران (۱۹۹۹) با تحقیق روی گوسفند آوایی نشان دادند که گوسفندان تغذیه شده با کنجاله پنبه دانه و بلوکهای حاوی اوره، نرخ باروری، آبستنی، بره زایی و دوقلو زایی بالایی داشتند. نوع، سطح و زمان تامین پروتئین می‌تواند تأثیر مهمی بر بازده تولیدمثل داشته باشد زیرا مواد مغذی لازم برای اپتیمم کردن رشد فولیکول ممکن است با مواد لازم برای توسعه جنین کاملاً متفاوت باشد (۶). در این آزمایش منابع مختلف پروتئینی با تجزیه پذیری متفاوت، در جیره فلاشینگ به کار بردیم.

مواد و روش‌ها



تحقیق حاضر در فاصله زمانی مرداد تا مهر ماه ۱۳۹۰ در ایستگاه تحقیقاتی و اصلاح نژاد گوسفند قزل واقع در شهرستان میاندوآب انجام شد. در این تحقیق ۴۸ راس گوسفند ماده ۳/۵ ساله تک قلو با سابقه دو شکم زایش با وزن 50 ± 3 کیلوگرم، وضعیت نمره بدنی تقریباً ۳ با شرایط محیطی یکسان، در ۴ گروه ۱۲ راسی مورد استفاده قرار گرفتند. گوسفندان هر گروه در یک باکس جداگانه نگهداری شده و روزانه ۳ بار جیره کاملاً مخلوط (TMR) و به میزان ۱/۶۵ کیلوگرم ماده خشک به ازای هر حیوان دریافت کردند. دامهای تیمارهای فلاشینگ روزانه علاوه بر جیره پایه، مقداری جیره اضافی در حد احتیاجات فلاشینگ با انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام تقریباً مساوی دریافت کردند. تفاوت عمده جیره تکمیلی در نوع ماده خوراکی پروتئینی بود. جیره‌ها بر اساس پیشنهادات جدول NRC (۱۹۸۵) فرموله شدند که مشتمل بر: گروه A: اوره (معادل پروتئین ۴۰۰ گرم دانه جو)، گروه B: کنجاله گلوتهن ذرت (معادل پروتئین ۴۰۰ گرم دانه جو)، گروه C: کنجاله سویا (معادل پروتئین ۴۰۰ گرم دانه جو) و گروه D: گروه شاهد (فاقد مکمل پروتئینی) بودند. ۱۶ روز قبل از تلقیح، گوسفندها با سیدر (CIDR) همزمان‌سازی فحلی شده و ۴۸ ساعت پس از سیدربرداری، قوچ اندازی در گله صورت گرفت. خون‌گیری از ورید وداج در ۴ مرحله شروع آزمایش، ۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری، ۴۸ ساعت پس از سیدربرداری و ۱۰ روز پس از تلقیح انجام گرفت. سرم نمونه‌های خون با استفاده دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه جدا شده و تا زمان آزمایش در میکروتیوب‌ها، در فریزر و در دمای -20°C نگهداری شدند. اجزاء تشکیل دهنده و آنالیز شیمیایی جیره‌ها در جدول ۱ آورده شده است. میزان هورمون‌های انسولین، پروژسترون و استروژن سرم خون با کیت‌های مربوطه و به روش الایزا اندازه‌گیری شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS و رویه Freq, MIXED و GLM استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی - کرامر انجام گرفت.

نتایج و بحث

استفاده از منابع مختلف پروتئین در جیره گوسفندان قزل منجر به بهبود وضعیت تولیدمثلی شد. کنجاله گلوتهن ذرت در بین تیمارها بهترین عملکرد را داشت. بیش از ۸۵٪ حیوانات گروه‌ها با اولین تلقیح آبستن شدند. در مدت ۲ هفته قبل از تلقیح که حیوانات با جیره‌های فلاشینگ تغذیه شدند نمره بدنی آنها از ۲/۵ به حدود ۳ رسید که متناسب با این امر تخمک‌ریزی و نرخ باروری نیز افزایش یافت. مقایسه میانگین وزن تولد بره‌ها نشان داد که استفاده از منابع پروتئینی با تجزیه پذیری پایین در جیره، در مقایسه با گروه‌های دریافت کننده منبع پروتئینی تجزیه پذیر و شاهد، وزن تولد بیشتری داشتند. تعداد بره‌های متولد شده و جنس آنها بر وزن تولد اثر معنی داری داشت. بره‌های دوقلو نسبت به تک قلو و همچنین بره‌های ماده نسبت به نر وزن تولد کمتری داشتند ($P < 0.05$). استفاده از منابع مختلف پروتئینی در جیره‌های فلاشینگ سطوح برخی هورمون‌های سرمی مرتبط با تولیدمثل را متاثر ساخت (جدول ۲). استفاده از مکمل‌های پروتئینی، غلظت انسولین را ۲۴ ساعت قبل سیدربرداری بطور قابل توجهی افزایش داد ($P < 0.05$). مقدار استروژن نیز بین تیمارها تفاوت معنی داری نداشت (جدول ۲). تیمارهای مختلف پروتئینی با اینکه میزان پروژسترون را در ۱۰ روز پس از تلقیح افزایش دادند اما این افزایش معنی دار نبود.

جدول ۱ ترکیب و آنالیز شیمیایی جیره‌های آزمایشی

گروه D	گروه C	گروه B	گروه A		
۴۱	۲۸	۲۸	۲۸	یونجه خشک (CP ۱۴٪)	مواد خوراکی (%DM)
۲۷	۱۳	۱۳	۱۴	دانه جو	
۲۹	۴۹	۵۰	۵۱	کاه گندم	
۲	۴	۴	۵	ملاس	
-	-	-	۰/۹	اوره	
-	-	۳/۹	-	کنجاله گلوتن ذرت	
-	۵/۹	-	-	کنجاله سویا	
۲/۶۰	۲/۵۵	۲/۵۵	۲/۵۱	انرژی قابل هضم (Mcal/kg)	ترکیبات شیمیایی
۲/۱۹	۲/۱۲	۲/۱۱	۲/۰۸	انرژی قابل متابولیسم (Mcal/kg)	
۹/۳	۹/۳	۹/۳	۹/۴	پروتئین خام (%)	
۱۵۳	۱۵۳	۱۵۳	۱۵۵	پروتئین خام (g/day)	
۵/۵	۵/۳	۵/۴	۵/۳	کلسیم (g/day)	
۲/۶۹	۲/۶۶	۲/۶۷	۲/۶۸	فسفر (g/day)	

A جیره حاوی اوره؛ B جیره حاوی کنجاله گلوتن ذرت؛ C جیره حاوی کنجاله سویا؛ D جیره شاهد

جدول ۲ تاثیر استفاده از مکمل‌های پروتئینی بر هورمون‌های مرتبط با تولیدمثل

D	C	B	A	هورمون‌ها	
۲۵/۶۶±۹/۶	۲۱/۳۳±۹/۶	۱۷/۵±۹/۶	۲۳/۳۷±۹/۶	انسولین (IU/ml)	شروع آزمایش
۱۹/۲۵±۹/۶ ^b	۴۳/۳±۹/۶ ^a	۲۶/۵±۹/۶ ^{ab}	۴۴/۶±۹/۶ ^a		۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری
۳۹/۲۵±۹/۶ ^b	۳۷/۸۷±۹/۶ ^b	۳۴/۷۵±۹/۶ ^b	۳۱/۵±۹/۶ ^b		۴۸ ساعت پس از سیدربرداری
۳۴/۵±۹/۶ ^b	۲۹/۱۲±۹/۶ ^b	۲۳/۷۵±۹/۶ ^b	۲۴/۵±۹/۶ ^b		۱۰ روز پس از تلقیح
۹/۹۷±۰/۶	۱۱/۵۹±۰/۶	۵/۹۲±۰/۶	۷/۷±۰/۶	پروژسترون (ng/ml)	شروع آزمایش
۱۳/۹۵±۰/۶	۴/۴۲±۰/۶	۲/۴۷±۰/۶	۱۷/۱±۰/۶		۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری
۱/۷۳±۰/۶	۰/۷±۰/۶	۰/۴۲±۰/۶	۱۰/۰۶±۰/۶		۴۸ ساعت پس از سیدربرداری
۲۲/۱±۰/۶	۲۷/۱۷±۰/۶	۲۶/۴۹±۰/۶	۲۴/۱۵±۰/۶		۱۰ روز پس از تلقیح
۴۳±۴/۸	۵۲±۴/۸	۴۲/۲۵±۴/۸	۵۶±۴/۸	استروژن (pg/ml)	شروع آزمایش
۴۴±۴/۸	۳۹/۴۵±۴/۸	۳۷±۴/۸	۳۳/۲۵±۴/۸		۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری
۶۳±۴/۸	۶۷/۷۵±۴/۸	۵۶/۷۵±۴/۸	۶۰/۲۵±۴/۸		۴۸ ساعت پس از سیدربرداری
۴۱/۲۵±۴/۸	۳۵±۴/۸	۴۱/۷۵±۴/۸	۳۵/۲۵±۴/۸		۱۰ روز پس از تلقیح

A جیره حاوی اوره؛ B جیره حاوی کنجاله گلوتن ذرت؛ C جیره حاوی کنجاله سویا؛ D جیره

حروف لاتین غیر مشابه بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ($P < 0.05$) می باشد.

منابع

1. Al-Haboby, AH, AD Salman, TA Abdul Kareem. 1999. Influence of protein supplementation on reproductive traits of Awassi sheep grazing cereal stubble. *Small Ruminant Research* 34:33-40.
2. Croker, KP, RJ Lightfoot and T Marshall 1979. The fertility of Merino ewes grazed on standing unharvested sweet lupins prior to and during joining. *Studies in the agricultural and food sciences*. In: Tomes GL, Robertson DE and Lightfoot RJ (Eds.), *Sheep Breeding*, 2nd ed., Butterworth, London, pp. 363-366.
3. Daghigh Kia H, W Mohamadi Chapdareh, A Hossein Khani, G Moghaddam, A Rashidi, H Sadri and S Alijani. 2011. Effects of flushing and hormonal treatment on reproductive performance of Iranian Markhoz goats *J. Animal Physiology and Animal Nutrition* (in press).
4. Hamra AH, SA Hassan, RAM Al Jassim. 1992. Effect of undegradable protein on ovulation rate of Awassi sheep. 12th Int. Cong. Reprod. Artif. Insem. 23±27 August, Netherlands.
5. Kaim M, Y Folman, H Neumark. 1983. The effect of protein intake and lactation number on postpartum body weight loss and reproductive performance of dairy cows. *Anim Prod* 37: 229.
6. O'Callaghan D and MP Boland. 1999. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. *J Anim Sci* 68: 299-314.
7. Robinson JJ, CJ Ashworth and JA Rooke. 2006. Nutrition and fertility in ruminant livestock. *Animal Feed Science and Technology Review*. 126: 259-276.
8. Scaramuzzi R J, B K Campbell, JA Downing, NR Kendall, M Khalid, M Munoz-Gutierrez and A Somchit. 2006. A review on the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentration of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Journal of Reproduction Nutrition*. 46:339-354.
9. Waghorn GC, JF Smith and MJ Ulyatt. 1990. Effect of protein and energy intake on digestion and nitrogen metabolism in weathers and on ovulation rate in ewes. *Anim Prod* 51: 291-300.

Effects of different protein supplements in flushing diets on reproductive related hormones and reproductive performance of Ghezel sheep

A. Ahmad Fazel, H. Daghigh kia*, A. Hossein Khani and S. Alijani

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

*Corresponding author: daghighkia@tabrizu.ac.ir

Abstract

The aim of this experiment was evaluation the effect of different protein supplements with different degradation rate in flushing diets on reproductive hormones and performance in Ghezel sheep. For this purpose 48 Ghezel sheep was used in 4 treatment groups for 42 days in a completely randomized design. Experimental groups included: 1) Urea 2) Corn gluten meal 3) soybean meal as 4) Control group receiving only barley grain. All diets had the similar metabolizable energy and crude protein. CIDR was applied for estrus synchronization for 14 days and 48 hours after CIDR removal all the ewes were inseminated. In 24 hours before CIDR

removal, the insulin hormone concentrations in protein supplemented groups were significantly different than the control group ($P < 0.05$) but in the other stages no significant differences were observed. The progesterone level was higher in the protein treated than control groups but the difference was not significant. Estrogen levels were not affected by protein supplemented treatments. Birth weight of lambs, lambing rate and number of offspring were increased in the urea treatments than corn gluten, soybean meal and control treatments ($P < 0.05$). Results of this study showed that the use of corn gluten meal increased reproductive related hormones and consequently increased follicular growth and ovulation, which finally increased the number of offspring.

Key words: Reproductive performance, Ghezel sheep, Protein supplement, Reproductive hormones.

تأثیر مکمل‌های تغذیه‌ای بر روی رفتارهای جنسی و صفات تولیدمثلی در گوسفند قزل

آصف احمدفاضل^۱، حسین دقیق کیا^{۲*}، علی حسین خانی^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

^۲ اعضای هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

*نویسنده مسئول: daghighkia@tabrizu.ac.ir

چکیده

هدف این تحقیق بررسی اثر استفاده از مکمل‌های مواد مغذی حاوی ویتامین‌ها، مواد معدنی، اسیدهای آمینه و سوربیتول روی رفتارهای جنسی و عملکرد تولیدمثلی در گوسفند قزل می‌باشد. تعداد ۲۸ راس میش ۳/۵ ساله با وزن (3 ± 50) کیلوگرم (باسابقه دو شکم زایش و چهار راس قوچ سه ساله با وزن $(3/5 \pm 90)$ کیلوگرم) مورد استفاده قرار گرفتند. میش‌ها در دو گروه ۱۴ راسی (گروه A دریافت کننده مکمل، و گروه B کنترل) قرار گرفتند. میش‌های گروه دریافت کننده مکمل، ۷ روز قبل و ۷ روز بعد از جفت‌گیری، روزانه ۳۰ گرم از مکمل مواد مغذی دریافت کردند. میش‌های دریافت کننده مکمل‌های مواد مغذی نسبت به گروه کنترل، زودتر رفتار فحلی نشان داده و طول رفتار فحلی نیز در گروه تیمار کمتر از گروه شاهد بود؛ همچنین نرخ بره زایی در گروه تیمار بیشتر از گروه کنترل بود ($P < 0/05$). قدرت پذیرندگی (تعداد اجازه پرش موفقیت آمیز) و وزن تولد بره‌ها تفاوت معنی‌داری نداشتند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که دادن مکمل‌های مواد مغذی باعث بهبود سلامت دام و رفتار جنسی شده و همچنین روی نرخ بره زایی اثر مثبت دارد.

کلمات کلیدی: مکمل مواد مغذی- رفتار جنسی - عملکرد تولید مثلی - گوسفند قزل

مقدمه

تولیدمثل و باروری یکی از صفات بسیار مهم اقتصادی در دامپروری بوده و مهمترین عامل تعیین کننده بازده پرورش دام، بقای گونه‌ها و پیشرفت ژنتیکی است. مطالعه در رفتارهای جنسی حیوانات اهلی بیشتر بر روی گاو، بز و عمدتاً گوسفند انجام شده است. رفتار جنسی عمدتاً مربوط به قدرت جذب کنندگی و پذیرندگی حیوان ماده می‌باشد (۱) که فاکتورهای محیطی و فیزیولوژیکی می‌تواند آن را در هر دو جنس نر و ماده متأثر سازد (۷). جذب کنندگی حیوان ماده مربوط به قدرت جذب و تحریک کردن حیوان نر بوسیله حیوان ماده می‌باشد و پذیرندگی حیوان ماده نیز مربوط به اجازه دادن حیوان ماده به حیوان نر برای پرش و انزال به داخل واژن می‌باشد (۱۱). هورمونهای تولیدمثلی هر دو جنس باعث تحریک رفتارهای جنسی شده و در نتیجه باعث می‌شود هر دو جنس در کنار یکدیگر قرار گرفته و عمل جفت‌گیری را انجام دهند (۸). در بیشتر پستانداران رفتار جنسی جنس ماده در یک زمان محدود و در نزدیکی زمان تخم‌ریزی رخ می‌دهد که از دوره غیر فعال جنسی کاملاً مجزا می‌باشد (۲ و ۱۰). در رفتار جنسی جذابیت و پذیرندگی دو فاکتور مهم برای یک جفت‌گیری موفقیت‌آمیز می‌باشند. تحقیقات زیادی نشان می‌دهند که مواد مغذی زیادی در عملکرد تولیدمثلی نقش دارند (۴، ۹ و ۱۱). بسیاری از مواد مغذی از قبیل کبالت، سلنیوم، منگنز، روی و بتا-کاروتن با متاثر ساختن سنتز استروئیدهای تخمدانی نقش بزرگی روی رفتار جنسی بازی می‌کنند (۳، ۵، ۶).

مواد و روشها

تحقیق حاضر در فاصله زمانی مرداد تا مهر ماه ۱۳۹۰ در ایستگاه تحقیقاتی و اصلاح نژاد گوسفند قزل واقع در شهرستان میاندوآب انجام شد. برای این مطالعه ۲۸ راس گوسفند ماده ۳/۵ ساله با سابقه دو شکم زایش، وزن 3 ± 50 کیلوگرم، وضعیت نمره بدنی

تقریباً ۳ با شرایط محیطی یکسان و در ۲ گروه ۱۴ راسی مورد استفاده قرار گرفتند. گوسفندان هر گروه روزانه ۴ مرتبه و به میزان ۱/۳ کیلوگرم ماده خشک به ازای هر حیوان؛ جیره کاملاً مخلوط (TMR) دریافت می‌کردند. میش‌های گروه A روزانه ۳۰ گرم از مکمل مواد مغذی با ترکیبات عنوان شده در جدول-۱ همراه با جیره پایه دریافت می‌کردند در حالیکه میش‌های گروه B (شاهد) فقط جیره پایه را دریافت می‌کردند. جیره‌ها بر اساس پیشنهادات جدول NRC (۱۹۸۵) فرموله شده بودند. گوسفندان به مدت ۱۴ روز با سیدر (CIDR) همزمان سازی فحلی شده و ۴۸ ساعت پس از سیدربرداری، قوچ اندازی در گله صورت گرفت. آزمایش در محدوده یک هفته قبل از تلقیح و تا یک هفته بعد از تلقیح انجام شد. زمان مشاهده بروز اولین رفتار فحلی در اولین حیوان تا زمانی که آخرین رفتار فحلی نشان داده شد و بازه زمانی بین این دو در دو گروه به دقت ثبت گردید. همچنین در صد بره زایی و وزن تولد در زمان زایش نیز اندازه گیری شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS و رویه Freq و GLM استفاده شده و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش نشان می‌دهد که استفاده از ترکیب مواد مغذی در زمان قبل از فحلی می‌تواند باعث بهبود بروز رفتار فحلی گردد. چنانچه نتایج این تحقیق نشان می‌دهد استفاده از این مکمل‌ها باعث شد که حیوانات دریافت کننده نسبت به گروه کنترل زودتر رفتار فحلی را نشان دهند ($P < 0.05$) که می‌تواند احتمالاً ناشی از رشد و توسعه سریع فولیکولی و همچنین افزایش بموقع سطح هورمونهای مرتبط بخصوص استروژن باشد؛ زیرا هورمونهای استروئیدی نقش مهمی در کنترل رفتارهای جنسی دارد (۱۰). افزایش غلظت استرادیول باعث بروز رفتار فحلی در مدت ۱ الی ۲ روز می‌شود (۱). از آنجائیکه ویتامین‌ها و مواد معدنی روی سنتز استروئید اثر می‌گذارند فرض ما بر این است که این مکمل‌ها از طریق اثر روی سنتز استروئیدها می‌توانند روی رفتار جنسی موثر باشند. همچنین مدت زمان فحلی در گروه A نسبت به کنترل کمتر بود ($P < 0.05$) که این هم به نوبه خود می‌تواند باعث افزایش شانس لقاح و در نتیجه بالا رفتن نرخ آبستنی گردد (جدول-۲). نتایج دیگر تحقیق نشان می‌دهد تغذیه با ترکیب مواد مغذی می‌تواند باعث افزایش نرخ بره زایی شود ($P < 0.01$)؛ این میتواند ناشی از افزایش تعداد فولیکولهای رشد و تخمک ریزی کرده باشد. با این حال نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تغذیه مکمل مواد مغذی در این دوره روی قدرت پذیرندگی میش‌ها و وزن تولد تاثیر معنی داری ندارد که در راستای این تحقیق چاغدش کارا و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که دادن ترکیب مواد مغذی ۵ روز قبل از جفت گیری و ۵ روز در ماه آخر آبستنی باعث افزایش وزن تولد بره‌ها می‌شود.

جدول ۱- ترکیبات مکمل مواد مغذی مورد استفاده (بر حسب as fed)

۹۴/۰۲	ماده خشک. %
۲۰۰۰	نیاسین (mg/kg)
۳۰	بتا-کاروتن (mg/kg)
۲۰۰۰	بتائین (mg/kg)
۷۰۰۰	کولین کلراید (mg/kg)
۵۵۰۰۰	متیونین (mg/kg)

۴۴۰۰	لازین (mg/kg)
۶۵۰۰۰	سوربیتول (mg/kg)
۸۰۰۰۰ ۰۰	ویتامین A (IU/kg)
۲۰۰۰۰ ۰	ویتامین D ₃ (IU/kg)
۸۵۰۰	ویتامین E (mg/kg)
۱۵۰	ویتامین C (mg/kg)
۷۵۰	ویتامین B ₁ (mg/kg)
۳۰۰	مس (سولفات) (mg/kg)
۱۵۰۰	آهن (سولفات) (mg/kg)
۴۰۰۰	منگنز (اکسید) (mg/kg)
۶۵۰۰	روی (اکسید) (mg/kg)
۹۰	ید (یدات) (mg/kg)
۲۵	کبالت (کربنات) (mg/kg)
۴۰	سلنیوم (سلنیت) (mg/kg)
۲/۵	فسفر محلول %
۳	منیزیم %
۳	سدیم %
۳	کلسیم %

جدول ۲- تاثیر مکمل مواد مغذی روی رفتار و عملکرد تولید مثلی

وزن تولد بره (kg)	تعداد نتاج	زمان شروع فحلی *	طول دوره فحلی (ساعت)	
۴/۴±۰/۱ ^a	۱۵ ^b	۳۳/۰۹ ^a	۳۷/۶۹ ^a	گروه شاهد
۴/۵±۰/۱ ^a	۱۸ ^a	۳۱/۷۹ ^b	۳۶/۲۶ ^b	گروه تیمار

*تعداد ساعت بعد از سیدربرداری، حروف لاتین غیر مشابه در هر سطر بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ($P < 0.05$) می باشد.

منابع

1. Çağdaş K, A Orman, E Topal and E Çarkungöz. 2010. Effects of Supplementary Nutrition in Awassi Ewes on Sexual Behaviors and Reproductive Traits. J Biol Enviro Sci, 4(10): 15-21.
2. Carter CS 1992. Neuroendocrinology of sexual behavior in the female. In: Behavioral Endocrinology, (Eds.: J.B. Becker, S.M. Breedlove and D. Crews). MIT Press, Cambridge, pp. 71-96.
3. Harrison JH, DD Hancock and HR Conrad. 1984. Vitamin E and selenium for reproduction of the Dairy cow. J Dairy Sci, 67: 123-132.
4. Hidirolou M 1979a. Trace element deficiencies and fertility in ruminants: a review. J Dairy Sci, 62: 1195-1206.
5. Hidirolou M 1979b. Manganese in ruminant nutrition. Can J Anim Sci, 59: 217-236.
6. Hurley WL, and RM Doane. 1989. Recent development in the role of vitamins and minerals in reproduction. J Dairy Sci, 72: 784-804.
7. Katz LS and TJ McDonald. 1992. Sexual behavior of farm animals. Theriogenology, 38: 239-253.
8. Margaret M, MMC Carthy, B Jill and R Becker. 2002. Neuroendocrinology of sexual behavior in the females. Pp 117-140.
9. Pfaff DW. 1999. Hormone-Controlled Drives. In: Drive: Neurobiological and Molecular Mechanisms of Sexual Motivation, (Ed.: D.W. Pfaff). MIT Press, Cambridge, pp. 48-51.
10. Smith OB and OO Akinbamijo. 2000. Micronutrients and reproduction in farm animals. Anim Rep Sci, 60-61: 549-560.
11. Tilbrook AJ, PH Hemsworth, JS Topp and AWN Cameron. 1990. Parallel changes in the proceptive and receptive behaviour of the ewe. Appl Anim Beh Sci, 27: 73-92.
12. Whaley SL, VS Hedgpeth and JH Britt. 1997. Evidence that injection of vitamin A before mating may improve embryo survival in gilts fed normal or high energy diets. J Anim Sci, 75: 1071-1077.

Effect of nutritional supplements on sexual behavior and reproductive traits in Ghezel sheep

A. Ahmad Fazel, H. Daghighkia* and A. Hossein Khani

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

*Corresponding author: daghighkia@tabrizu.ac.ir

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of nutrient supplements containing vitamins, minerals, amino acids and sorbitol on sexual behavior and reproductive performance in Ghezel sheep. 28 ewes having 3.5 years old, weight (50 ± 3 kg), experience twice birth along with 4 rams having three-year and body weight (90 ± 3.5 kg) were used. Ewes allocated in two groups having 14 animals in each group (group A, received supplement nutrient and group B as a control group). Ewes in group A received 30 g of nutrient supplements daily 7 days before and



after mating. Ewes in group A showed earlier estrus behavior than the control group also estrus duration was shorter in Group A compare to control group; furthermore the lambing rate was higher in group A than the control group ($P < 0.05$). Receptivity to the ram (the number allowed successful jump) and lamb birth weight were not significantly different. The survey results show that nutrient supplementation can lead to improve animal health and sexual behavior also has a positive effect on lambing rate.

Keywords: Nutrient supplements-Sexual behavior-Reproductive performance-Ghezel sheep

اثر تغذیه مکمل اسیدهای چرب امگا ۶ بر دینامیک فولیکولی تخمدان گوسفند

نیلوفر مجیدی^{۱*}، احمد ریاسی^۱، حمید کهرام^۲، رحمان جهانیان^۱

۱- دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی ۲- دانشگاه تهران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم

دامی

* نویسنده مسئول: نیلوفر مجیدی، آدرس اینترنتی: nilynilou@yahoo.com

چکیده

اسیدهای چرب غیراشباع با چندین پیوند دوگانه می‌توانند در روندهای تولید مثلی مختلف از طریق سازوکارهای متنوعی تاثیر بگذارند. در این مطالعه تاثیرات مکمل اسیدهای چرب امگا ۶ بر ویژگی‌های تکامل فولیکولی تخمدان بررسی شد. ۲۰ میش ۴-۲ ساله غیرشیرده به ۲ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند و هر گروه به مدت ۵۰ روز بطور تصادفی با یکی از دو جیره شاهد یا امگا ۶ تغذیه شدند. با استفاده از سیدر پروژسترون اقدام به همزمان‌سازی چرخه فحلی گوسفندان شد. با شروع فحلی تعداد فولیکول‌های تخمدانی روزانه با استفاده از اولتراسونوگرافی طی چرخه فحلی همزمان شده ثبت گردید. مصرف مکمل اسید چرب امگا ۶ سبب افزایش تعداد فولیکول‌های اندازه متوسط (۳-۲ میلی‌متر) و همچنین بزرگ (۴ میلی‌متر) در گوسفندان شد. تعداد امواج فولیکولی درگوسفندان گروه امگا ۶ یک تمایلی به افزایش نسبت به گروه کنترل داشت ($P < 0.014$). مکمل امگا ۶ تاثیر معنی‌داری بر قطر بزرگترین فولیکول موج آخر نداشت. نتیجه گرفته شد که مصرف اسیدهای چرب امگا ۶ می‌تواند سبب افزایش اندازه فولیکول‌های تخمدانی شود و در نتیجه در بهبود روند تولید مثلی گوسفند موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: گوسفند- اسیدهای چرب- تکامل فولیکولی- چرخه فحلی

مقدمه

چربی‌های جیره، ویژگی‌های تولید مثلی را در نشخوارکنندگان بهبود می‌بخشند. تغذیه چربی می‌تواند با تغییر اندازه فولیکول غالب و میزان فولیکول‌زایی بر عملکرد تولید مثلی تاثیر بگذارد. بعضی از این تاثیرات با تغییر نوع اسیدهای چرب تغذیه خواهند کرد. به نظر می‌رسد اسیدهای چرب بلند زنجیره با چندین پیوند دوگانه PUFA^۱ که از خانواده‌های امگا ۳ و امگا ۶ هستند، تاثیرات قابل توجه‌تری روی پاسخ‌های تولید مثلی نشخوارکنندگان دارند. تغذیه‌ی میش‌ها با PUFA (نمک کلسیمی اسیدهای چرب روغن ماهی) تعداد فولیکول‌ها را در تخمدان این میش‌ها افزایش داد و همچنین سبب افزایش تعداد اووسیت‌های با کیفیت بالا گشت (زرون و همکاران، ۲۰۰۲). رابینسون و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند، در مقایسه بین مکمل‌سازی جیره با دو منبع چربی امگا ۳ و امگا ۶، گاوهای تغذیه شده با هر دو جیره دارای نسبت بیشتری فولیکول‌های اندازه متوسط (۱۰-۵ میلی‌متر) در مقایسه با گاوهای گروه شاهد بودند. اما نکته‌ای که قابل توجه بود این بود که قطر اولین فولیکول غالب به شکل قابل توجهی در گاوهایی که تیمار حاوی امگا ۶ را دریافت کردند، نسبت به گاوهای گروه شاهد بالاتر بود و گاوهای تیمار امگا ۳ هم دارای مقادیر میانه‌ای بودند. تغذیه‌ی گاوها با مکمل چربی حاوی سطوح بالای لینولئیک اسید نیز سبب افزایش قطر فولیکول‌های پیش از تخمک‌ریزی شد ولی تاثیری بر تعداد فولیکول‌ها نداشت (معلم و همکاران، ۲۰۰۸). هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر تغذیه مکمل چربی دارای اسیدهای چرب غیر اشباع امگا ۶ بر شمار و اندازه فولیکول‌های تخمدانی گوسفند حاضر بررسی تاثیر تغذیه مکمل چربی دارای اسیدهای چرب غیر اشباع امگا ۶ بر شمار و اندازه فولیکول‌های تخمدانی گوسفند طی یک چرخه فحلی بود.

¹ Poly Unsaturated Fatty Acid

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مزرعه‌ی آموزشی- پژوهشی لورک، وابسته به دانشگاه صنعتی اصفهان از تاریخ ۸ شهریور تا ۱۸ آبان انجام گرفت. ۲۰ راس میش نژاد نائینی بالغ غیرشیرده با سن ۲-۴ سال و متوسط وزن 3 ± 47 کیلوگرم به طور تصادفی به دو گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند و هر گروه به مدت ۵۰ روز بطور تصادفی با یکی از دو جیره شاهد یا امگا ۶ تغذیه شدند. تغذیه جیره به صورت TMR^2 انجام شد و قسمت علوفه‌ای جیره حاوی یونجه و کاه خرد شده بود (جدول ۱). دو کنسانتره مختلف برای دو گروه آزمایشی تنظیم شد: گروه شاهد فاقد مکمل اسید چرب و گروه امگا ۶ حاوی ۲/۵٪ (براساس ماده خشک) مکمل چربی تجاری شکوه (حاوی ۳۳/۶۲٪ لینولئیک اسید (C18:2)، ۲/۵۶٪ لینولینیک اسید (C18:3)، ۵/۲۰٪ ایکوزائوئیک اسید (C20:1)، ۱/۱۳٪ دکوزائوئیک اسید (C22:1) و ۴۶/۴۳٪ بقیه اسیدهای چرب (C14:0-C18:1)) بود. میزان خوراک تغذیه شده به هر گوسفند، با در نظر گرفتن متوسط وزن 3 ± 47 کیلوگرم، ۱/۴ کیلوگرم (براساس ماده خشک) در هر روز بود. گوسفندان دسترسی آزاد به آب داشتند و روزانه دو نوبت، در ساعت ۹ صبح و ۴ بعدازظهر، و هر نوبت با نیمی از جیره روزانه تغذیه شدند.

جدول ۱- ترکیب مواد خوراکی و مغذی جیره‌های آزمایشی

جیره‌های آزمایشی		
مواد خوراکی	کنترل	امگا ۶
یونجه	۴۵/۰۰	۴۵/۰۰
کاه	۷/۶۱	۱۱/۶۴
جو	۳۶/۹۰	۲۷/۰۶
کنجاله سویا	۳/۸۷	۴/۹۴
سبوس گندم	۶/۲۵	۸/۴۸
نمک	۰/۳۷	۰/۳۸
پودر چربی امگا	-	-
پودر چربی امگا	-	۲/۵
DE	۳	۳
CP (%)	۱۵	۱۵
Ca (%)	۰/۷۲	۰/۷۴
P (%)	۰/۳۸	۰/۳۸
Na (%)	۰/۲۱	۰/۲۱
NDF (%)	۳۶/۸۴	۳۸/۶۷

برای آگاهی از زمان شروع چرخه فحلی به منظور بررسی هم‌زمان رشد فولیکولی با روش اولتراسونوگرافی، با استفاده از سیدر پروژسترون اقدام به هم‌زمان‌سازی گوسفندان شد. پس از برداشتن سیدرها و با شروع فحلی فعالیت فولیکول‌های تخمدانی هر گوسفند به وسیله اولتراسونوگرافی، روزانه (به مدت ۱۳ روز) بررسی شد. اولتراسونوگرافی با استفاده از پروب خطی با فرکانس ۸ مگاهرتز و از طریق مقعد انجام گرفت. شمار، ضخامت و موقعیت نسبی فولیکول‌های موجود روی تخمدان که قطر ≥ 2 میلی‌متر داشتند هر روز ثبت می‌شد. تجزیه و تحلیل تغییرات اندازه فولیکول‌ها براساس طرح اندازه‌گیری‌های تکرار شده و با استفاده از

² Total Mixed Diets

رویه MIXED نرم افزار SAS انجام گرفت تا اثر تیمار، زمان (روز اندازه گیری قطر فولیکول ها) بر روی هر کدام از عوامل مشخص شود.

نتایج و بحث

اثر جیره های آزمایشی بر ویژگی های تکامل فولیکولی تخمدان گوسفندان، در جدول ۲ خلاصه شده است. نتایج نشان داد که گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی مکمل امگا ۶، تمایلی داشتند ($P < 0.014$) که تعداد امواج فولیکولی طی چرخه همزمان شده را در مقایسه با گوسفندان گروه شاهد افزایش دهند. گروه امگا ۶ دارای تعداد بیشتری فولیکول های ≥ 4 میلی متری در طول چرخه فحلی همزمان شده در مقایسه با گروه شاهد بود (0.080 ± 16.25 عدد فولیکول در مقابل 0.080 ± 14.25)، هرچند این اختلاف معنی دار نبود. مکمل امگا ۶ تاثیر معنی داری بر قطر بزرگترین فولیکول موج آخر نداشت.

جدول ۲. مقایسه ویژگی های تکامل فولیکولی تخمدان گوسفندان

(براساس میانگین حداقل مربعات تیمارها) در چرخه فحلی همزمان شده

فاکتور	شاهد	امگا ۶	SE	(P-Values)
تعداد امواج	۴	۴/۷۵	۰/۲۷	۰/۱۴
تعداد فولیکول های ≥ 4 میلی متر	۱۴/۲۵	۱۶/۲۵	۰/۸	۰/۲۳
قطر بزرگترین فولیکول موج آخر	۵/۵	۵/۵	۰/۲۱	۱/۰۰
تعداد فولیکول های ≥ 4 میلی متری در هر موج	۳/۰۰	۳/۲۸	۰/۲۸	۰/۷۶

فولیکول ها بر اساس قطر در سه کلاس دسته بندی شدند: کلاس یک (۲-۳ میلی متری)، کلاس دو (≥ 4 میلی متری) و کلاس سه (≥ 2 میلی متری). تعداد متوسط فولیکول ها در هر کلاس طی روزهای چرخه فحلی همزمان شده بررسی شد. نتایج این بررسی ها نشان داد که میانگین تعداد فولیکول ها در هر سه کلاس قطری یک، دو و سه در گوسفندان گروه امگا ۶ بطور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود ($P < 0.02$) (جدول ۳).

جدول ۳. مقایسه تاثیر جیره های آزمایشی مختلف بر تعداد فولیکول هادر کلاس های ۲-۳ میلی متری، ≥ 4 میلی متری و ≥ 2 میلی متری

(میانگین $\pm$ حداقل مربعات) در کلیه روزهای چرخه فحلی همزمان شده

کلاس فولیکولی	شاهد	امگا ۶	SE	(P-Values)
۲-۳ میلی متری	۷/۰۸	۸/۹۹	۰/۵۷	۰/۰۲
≥ 4 میلی متری	۲/۸۱	۳/۶۹	۰/۳۰	۰/۰۴
≥ 2 میلی متری	۹/۹۱	۱۲/۶۹	۰/۶۷	۰/۰۰۴

یافته های مطالعه حاضر با برخی از گزارش های قبلی مطابقت دارد. رابینسون و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که مصرف مکمل اسید چرب امگا ۶ در گاو سبب افزایش تعداد فولیکول های با اندازه متوسط (۱۰-۵ میلی متری) طی موج اول و دوم چرخه فحلی شد. برخلاف نتایج آزمایش حاضر که مصرف مکمل اسیدهای چرب، تاثیری بر قطر فولیکول غالب در هر موج نداشتند، محققین

اخیر گزارش کردند که اسید چرب امگا ۶ سبب افزایش قطر فولیکول غالب اولین موج نسبت به گروه شاهد شد و البته تاثیر معنی داری بر قطر فولیکول‌های پیش از تخمک‌ریزی مشاهده نشد (رابینسون و همکاران، ۲۰۰۲). تغذیه گاوها با روغن سویا که حاوی ۵۳/۵٪ لینولئیک اسید بود، سبب افزایش تعداد فولیکول‌های اندازه متوسط، طی روزهای ۵-۹ چرخه فحلی شد (توماس و همکاران، ۱۹۹۷). معلم و همکاران (۲۰۰۸) نیز مشاهده کردند که مصرف مکمل مگالاک (دارای سطوح بالای اسیدهای اولئیک و لینولئیک) در جیره گاوهای شیری، سبب افزایش قطر فولیکول‌های پیش از تخمک‌ریزی نسبت گاوهای گروه شاهد شد، و البته استفاده از این مکمل، تاثیری بر تعداد فولیکول‌ها نداشت.

بررسی تاثیر اسیدهای چرب امگا ۶ بر عملکرد تخمدانی میش نشان داد که مصرف مکمل اسیدهای چرب امگا ۶ با افزایش تعداد امواج فولیکولی، تعداد فولیکول‌ها در کلاس‌های قطری مختلف و تعداد کل فولیکول‌های بزرگ (≥ 4 میلی‌متری) در تخمدان‌های گوسفندان تاثیر مثبتی بر دینامیک فولیکولی تخمدان داشت که در نهایت می‌تواند منجر به بهبود عملکرد تولیدمثلی دام شود.

منابع

1. Robinson, R. S., P. G. A. Pushpakumara, Z. Cheng, A. R. Peters, D. R. E. Abayasekara and D. C. Wathes. 2002. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows. *Reproduction* 124: 119-131.
2. Thomas, M. G., B. Bao and G. L. Williams. 1997. Dietary Fats Varying in Their Fatty Acid Composition Differentially Influence Follicular Growth in Cows Fed Isoenergetic Diets. *J. Anim. Sci.* 75: 2512-2519.
3. Zachut, M., A. Arieli, H. Lehrer, N. Argove and U. Moallem. 2008. Dietary unsaturated fatty acids influence Preovulatory follicle characteristics in dairy cows. *Reproduction* 135: 683-692.
4. Zeron, Y., D. Sklan and A. Arav. 2002. Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on biophysical parameters and chilling sensitivity of ewe oocytes. *J. Mol. Reprod. Dev.* 61: 271-278.

Influence of dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids on follicular development in sheep

¹Niloufar Majidi, ¹A. Riasi, ²H. Kohram and ¹R. Jahanian

¹Department of Animal Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. ²Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

*Corresponding author. E-mail: nilynilou@yahoo.com

Abstract:

Dietary fats with different fatty acid composition may influence reproductive processes of animals. This study examined the effects of supplementation of rumen bypass fats n-6 polyunsaturated fatty acids (PUFAs), on ovarian follicle development. Twenty 2-4 years old ewes were divided into two groups and were fed randomly a control diet (n=10) or n-6 PUFAs (n=10) over a 7-week period. Oestrus cycles were synchronized using progesterone releasing implant (controlled internal drug releasing (CIDR) device). Ewes were checked for estrus with a vasectomized ram. Beginning at estrus, ovarian follicular population was monitored daily via transrectal ultrasonography for 13 days, during this period the number of ≥ 2 mm follicles quantified. Feeding n-6 PUFA increased ($P<0.04$) the number of medium-size (2-3 mm) and large (≥ 4 mm) follicles through days of synchronized cycle. There was a tendency ($P<0.14$) for a higher number of follicular waves in n-6 PUFA group compared with control group. Diameter



of preovulatory follicle did not differ among diets. In conclusion, n-6 PUFAs increased the number of follicles which may be beneficial to consequent ovarian function.

Key words: sheep, poly unsaturated fatty acids, follicular development, oestrus cycles

تأثیر افزودن سطوح مختلف منبع اسیدهای چرب امگا-۳ و ویتامین E در محیط رقیق کننده بر قابلیت انجماد اسپرم قوچ زندی

امیر حسین نصیری*^۱، آرمین توحیدی^۱، روزبه اردبیلی^۱ و مرتضی میرزایی^۲

^۱-گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

^۲-دانشجوی کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

نویسنده مسئول: مهندس امیر حسین نصیری: کرج-خیابان دانشکده-پردیس کشاورزی و منابع طبیعی-گروه علوم دامی

پست الکترونیک: ah.nasiri@yahoo.com

چکیده:

هدف از تحقیق حاضر، مطالعه اثر اضافه کردن اسید چرب امگا-۳ (منبع DHA) در چهار سطح صفر، ۰/۱، ۱ و ۱۰ نانو گرم در میلی لیتر و ویتامین E در سه سطح صفر، ۰/۱ و ۰/۲ میلی مولار به صورت جداگانه در محیط رقیق کننده بایوکسل بر قابلیت انجماد و ترکیب اسیدهای چرب اسپرم قوچ زندی بود. در این آزمایش اسپرم گیری از ده رأس قوچ بالغ نژاد زندی ایرانی با استفاده از مهبل مصنوعی در دو مرحله انجام گرفت. خصوصیات کیفی اسپرم شامل درصد جنبائی، تحرک پیشرونده، زنده مانی، اسپرم های زنده و مرده و میزان بازیافت سلول اسپرم بعد از انجماد در ۱۰ پایت (تکرار) در دماهای ۳۷ درجه سانتی گراد و پس از ذوب تعیین شد. گروه دریافت کننده ۰/۱ نانو گرم در میلی لیتر اسید چرب امگا-۳ بعد از انجماد پائین ترین میانگین را از نظر درصد تحرک پیشرونده ($51/02 \pm 0/11$) در برابر $51/95 \pm 0/11$ ، $51/89 \pm 0/11$ و $52/01 \pm 0/11$ به ترتیب برای ۰، ۰/۱ و ۱۰ نانو گرم در میلی لیتر) و درصد اسپرم های زنده و مرده رونده ($3/31 \pm 0/11$) در برابر $3/54 \pm 0/11$ ، $3/41 \pm 0/11$ و $3/6 \pm 0/11$ به ترتیب برای ۰، ۰/۱ و ۱۰ نانو گرم در میلی لیتر) در مقایسه با سایر گروهها داشت ($P \leq 0/05$). ولی میانگین جنبائی، زنده مانی و میزان بازیافت سلول اسپرم بعد از انجماد در بین چهار سطح تفاوت معنی داری نداشت. گروه دریافت کننده صفر میلی مولار ویتامین E بعد از انجماد بالاترین میانگین را از نظر درصد جنبائی ($50/02 \pm 0/13$)، تحرک پیش رونده ($44/3 \pm 0/13$)، زنده مانی ($59/80 \pm 0/13$) در مقایسه با سایر گروهها داشت ($P \leq 0/01$). نتایج نشان داد که تغییر در سطح اسید چرب مصرفی در محیط رقیق کننده در قوچ زندی تأثیری در بهبود خصوصیات کمی و کیفی سلول اسپرم بعد از انجماد ندارد و نمیتواند باعث بهبود قابلیت انجماد شود. همچنین اضافه کردن ویتامین E به تنهایی در محیط رقیق کننده در قوچ زندی باعث کاهش خصوصیات کمی و کیفی سلول اسپرم بعد از انجماد می شود و نمیتواند باعث بهبود قابلیت انجماد شود.

کلمات کلیدی: اسید چرب امگا، ۳- ویتامین E- رقیق کننده بایوکسل- قابلیت انجماد اسپرم- قوچ زندی

مقدمه:

یکی از فناوری های مهم جهت حفظ و نگهداری ذخایر ژنتیکی، انجماد اسپرم است. اسپرم های منجمد شده جهت تلقیح مصنوعی بایستی از کیفیت لازم جهت تلقیح مصنوعی برخوردار باشند. بنابراین فرایند انجماد اسپرم فناوری دقیق و ماهرانه ای است که طی چند دهه اخیر برای بهبود آن فعالیت های عمده ای صورت گرفته است، اما کماکان میزان بازیافت اسپرم پس از انجماد رضایت بخش نبوده و بایستی بهبود یابد. دامنه انجمادپذیری در بین گونه های مختلف حیوانی و حتی بین حیوانات داخل یک گونه نیز متفاوت می باشد. مهمترین مزیت فرایند انجماد جلوگیری از کاهش توان زنده مانی اسپرم ها در طی یک دوره زمانی طولانی مدت باشد. اهمیت فرایند انجماد اسپرم به عنوان فرایندی که مانع از آسیب رساندن به سلول اسپرم و همچنین کاهش تنش های ناشی از



تغییرات سلولی می‌باشد، واضح است. اسپرم در منی رقیق نشده، برای زمان کوتاهی زنده می‌ماند و سرد کردن آهسته منی تا دمای ۵ درجه سانتیگراد سبب مرگ بسیاری از اسپرم‌ها می‌شود. بنابراین، مایع رقیق کننده، فزون بر این که باید برای رقیق کردن مناسب باشد، لازم است که اسپرم‌ها را در خلال سرد شدن حفظ کند و دوره زنده‌مانی آن‌ها را افزایش دهد. در بیشتر گونه‌های پستانداران از جمله نشخوارکنندگان بخش اعظم اسیدهای چرب غشای اسپرم، اسیدهای چرب بلند زنجیر غیراشباع است که بیشتر شامل سری‌های n-۳ است. اسید دوکوزاهگزانوئیک (C22:6 n-3, DHA)، اسید چرب غالب فسفولیپیدهای غشای اسپرم است، به طوری که بالغ بر ۶۰ درصد از کل اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه را تشکیل می‌دهد (۲). به طور کلی در ترکیب اسیدهای چرب پرندگان اهلی، وجود مقدار زیادی اسیدهای چرب n-6 به اثبات رسیده است، در حالی که در پستانداران اهلی مقدار زیادی اسیدهای چرب غیر اشباع n-3 وجود دارد. شواهد نشان دهنده این مطلب است که کاهش در مقدار اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه (PUFA) باعث کاهش در تعداد، تحرک و قابلیت انجماد اسپرم‌ها در بسیاری از گونه‌های اهلی پستانداران می‌شود (۳). پرزی^۳ و همکاران ۲۰۰۱ و زرون^۴ و همکاران ۲۰۰۲ گزارش کردند که وجود مقادیر کافی اسید لینوئیک در جیره، مانع از پدیده شوک سرمایی شده و قابلیت زنده ماندن اسپرماتوزوئید را بالا می‌برد. بهبود سیالیت غشاء باعث پاسخ‌دهی بهتر اسپرم به گوناوت‌روپین‌ها می‌شود (۵، ۷). در مطالعه‌ای که توسط بدر^۵ و همکاران در سال ۲۰۰۴ انجام گرفت، افزودن اسیدهای چرب و اضافه کردن کلسترول بر محیط رقیق کننده انجمادپذیری و قدرت باروری اسپرم قوچ در شرایط برون تنی را بهبود بخشید (۱). اضافه کردن ویتامین E به عنوان یک آنتی اکسیدان باعث حفاظت از غشای سلول اسپرم در برابر اکسیداسیون می‌شود. با توجه به آن که در طی رقیق سازی منی برای انجماد، غلظت ویتامین E به عنوان مهمترین آنتی اکسیدان حیاتی سلول به شدت کاسته می‌شود، بنابراین اضافه کردن آنتی اکسیدان‌ها از جمله ویتامین E برای محافظت از غشای سلول‌های اسپرم و جلوگیری از تشکیل پراکسیدهای اکسیژن ضروری به نظر می‌رسد (۴، ۶). با توجه به مطالب بیان شده، هدف از این پژوهش، مطالعه اثر افزودن سطوح مختلف منبع اسیدهای چرب n-3 به رقیق کننده تجاری بایوکسل بر قابلیت انجماد اسپرم قوچ زندی بود.

مواد و روش‌ها:

رقیق کننده مورد استفاده در این آزمایش بایوکسل^۶ (inv, France) یک نوع رقیق کننده تجاری عاری از زرده تخم مرغ بود. کپسول‌های ژلاتینی خوراکی روغن ماهی حاوی ۱۰۰۰ میلی گرم روغن ماهی (امگا-۳) مخصوص مصارف انسانی به عنوان منبع اسیدهای چرب n-۳ مورد استفاده قرار گرفتند. ویتامین E مورد استفاده در این آزمایش، آلفاتوکوفرول کاملاً خالص (C₂₉H₅₀O₂)، حاوی تقریباً ۶۰۰ واحد بین‌المللی (IU) در هر گرم و ساخت شرکت سیگما (Sigma, USA) بود. در این آزمایش از ۱۰ رأس قوچ نژاد زندی ایرانی با میانگین سن ۳ سال استفاده شد. اسپرم‌گیری از حیوانات به طور معمول هر هفته طی دو روز و در دو نوبت انجام می‌شد. نمونه‌ها به سرعت به داخل حمام بن ماری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و درصد تحرک اسپرم در منی خام تعیین گردید. نمونه‌های دارای درصد تحرک بیش از ۶۵ درصد برای مراحل بعدی آزمایش استفاده و

³ Prez-pe

⁴ Zeron

⁵ Badr

⁶ Bioxcell

با هم مخلوط شدند (۱۰ قوچ در دو انزال = ۲۰ نمونه). سپس ۰/۵ میلی لیتر از نمونه منی به هر کدام از لوله های آزمایشی حاوی ۰/۵ میلی لیتر از گروه تیمارهای مورد نظر (۰، ۰/۱، ۱ و ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر اسید چرب) و ویتامین E اختصاص داده شدند (نسبت ۱:۱) و خصوصیات کیفی اسپرم از قبیل درصد اسپرم های جنبا، درصد اسپرم های با تحرک پیشرونده، درصد اسپرم های مرده و زنده، درصد زنده مانی و میزان بازیافت سلول اسپرم پس از انجماد در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، تعیین شد. از هر کدام از نمونه های آزمایشی حدود ۲۰ پایت تهیه شده (پایت های ۰/۵ میلی لیتر) و نمونه های هر تیمار به مدت ۳ تا ۴ ساعت در یخچال با دمای ۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. فرایند انجماد سازی با استفاده از دستگاه های نیمه خودکار IMV انجام شد. پایت ها به مدت ۱۰ دقیقه به فاصله ۵/۵ سانتی متر بر روی بخار ازت قرار داده شدند و سپس به داخل ازت مایع با دمای ۱۹۶- درجه سانتی گراد وارد شدند. ۲۴ ساعت پس از انجماد، پایت های منجمد در آب ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ تا ۶۰ ثانیه قرار گرفته و محتوای آن ها روی لام تخلیه شد. خصوصیات کیفی اسپرم مطابق با مرحله پیش از انجماد تعیین شد (درصد اسپرم های جنبا، درصد اسپرم های با تحرک پیشرونده، درصد اسپرم های مرده و زنده درصد زنده مانی و درصد میزان بازیافت سلول اسپرم پس از انجماد). داده های حاصل به کمک رویه GLM نرم افزار SAS مورد تحلیل آماری قرار گرفت و میانگین ها در سطح ۰/۰۵ معنی دار تشخیص داده شدند.

نتایج و بحث:

بین سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا-۳، گروه دریافت کننده ۰/۱ نانوگرم در میلی لیتر دارای تفاوت معنی دار ($P < 0/05$) و پایین ترین میانگین را از نظر درصد تحرک پیشرونده ($51/02 \pm 0/11$) در برابر $51/95 \pm 0/11$ ، $51/89 \pm 0/11$ و $51/02 \pm 0/11$ به ترتیب برای ۰، ۰/۱، ۱ و ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر) و درصد اسپرم های زنده و مرده رونده $3,31 \pm 0,11$ در برابر $3,54 \pm 0,11$ ، $3,60 \pm 0,11$ و $3,60 \pm 0,11$ به ترتیب برای ۰، ۰/۱، ۱ و ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر) در مقایسه با سایر گروه ها داشت. ولی میانگین جنبائی، زنده مانی و میزان بازیافت سلول اسپرم بعد از انجماد در بین چهار سطح تفاوت معنی داری نداشت. جدول (۱). بین سطوح مختلف ویتامین E، سطح صفر mM، دارای تفاوت معنی دار (جنبائی: $50/02 \pm 0/13$ ، تحرک پیش رونده: $44/30 \pm 0/45$ ، زنده مانی: $59/80 \pm 0/45$) ($P < 0/05$) و بالاترین میانگین را از لحاظ خصوصیات کیفی منی پس از انجماد در مقایسه با سطوح $0/1 \text{ mM}$ (جنبائی: $40/00 \pm 0/13$ ، تحرک پیش رونده: $35/02 \pm 0/13$ ، زنده مانی: $48/90 \pm 0/45$) و $0/2 \text{ mM}$ (جنبائی: $42/50 \pm 0/13$ ، تحرک پیش رونده: $37/30 \pm 0/13$ ، زنده مانی: $51/50 \pm 0/13$) دارا بود. این آزمایش نشان داد که بین سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا-۳ از لحاظ توانائی حفظ کیفیت اسپرم در طی مراحل انجماد در بعضی از پارامترهای کیفی اسپرم اختلاف معنی داری وجود دارد. با توجه به نتایج این آزمایش و سایر پژوهش های انجام گرفته در این زمینه، می توان چنین نتیجه گرفت که استفاده از اسیدهای چرب در محیط رقیق کننده نمی تواند به تنهایی انجماد پذیری اسپرم را بهبود بخشیده و سطوح پایین تر آن، توانائی کمتری در این رابطه دارد (به خصوص برای درصد تحرک پیش رونده و درصد اسپرم های زنده و مرده). این آزمایش نشان داد که بین سطوح مختلف ویتامین E از لحاظ توانائی حفظ کیفیت اسپرم در طی مراحل انجماد اختلاف وجود دارد و اضافه کردن ویتامین E به تنهایی در محیط رقیق کننده باعث کاهش خصوصیات کیفی منی پس از انجماد می شود. علت احتمالی این امر آن است که رقیق کننده تجاری بایوکسل به احتمال قوی حاوی مقادیر کافی از آنتی اکسیدان های لازم است. در ضمن این امکان وجود دارد که افزودن ویتامین E در مقادیر مورد استفاده در آزمایش حاضر برای رقیق کننده بایوکسل مناسب

نبوده و در نتیجه تعادل بین عوامل اکسیدان و آنتی اکسیدان که برای کنش های طبیعی اسپرم ضروری می باشد، به هم خورده است.

جدول ۱: میانگین درصد فراسنجه های کیفی منی در سطوح مختلف اسید چرب پس از انجماد.

0/35 ^a ±60/92	0/56 ^a ±48/55	0/11 ^a ±3/6	0/28 ^a ±52/01	25 ^a /0±40/61	ng/ml\۰
0/35 ^a ±60/92	0/56 ^a ±48/71	0/11 ^a ±3/41	0/28 ^a ±51/89	0/25 ^a ±61/93	ng/ml\۱
0/35 ^a ±60/92	0/56 ^a ±49/21	0/11 ^b ±3/31	0/28 ^b ±51/02	0/25 ^a ±61/12	ng/ml۰/۱
0/35 ^a ±60/92	0/56 ^a ±48/86	0/11 ^a ±3/54	0/28 ^a ±51/95	0/25 ^a ±61/59	ng/ml۰

abc: در هر ستون، میانگین هایی که حروف مشترک انگلیسی ندارند، اختلاف معنی دار ($P<0.05$) دارند.

منابع:

1. Badr, M. R., Abdel-Malak, M. G., Shaker, M. H. 2004. Influence of some fatty acids and cholesterol addition to semen extender on freezability and in vitro fertilizing potential of ram spermatozoa. Assiut Veterinary Medical Journal, 50: 304-318.
2. Castellini, S., P. Lattaioli, A. Dal Bosco, A. Minelli, C. Mugnai. 2002. Oxidative status and semen characteristics of rabbit buck as affected by dietary vitamin E, C and n-3 fatty acid. Reprod. Nutr.Dev. 43. 91-103.
3. Kelso, K. A., S. Cerolini, R. C. Noble, N. H. C. Sparks, and B. K. Speake. 1996. Lipid and antioxidant changes in semen of broiler fowl from 25 to 60 weeks of age. J. Repro. Fertil.106:201-206.
4. O'Flaherty, C., E. d. Lamirande and C. Gagnon. 1997. Reactive oxygen species modulate independent protein phosphorylation pathways during human sperm capacitation Free Radical Biology & Medicine. 40 :1045 – 1055.
5. Perez-Pe, R., Cebrian-Perez, J.A. and Muino-Blanco, T. (2001) Semen plasma proteins prevent cold shock membrane damage to ram spermatozoa Theriogenology, 56:425-434.
6. Wishwanath, J.R. 1997. The testis, In: Feliy P., J. D. Banterand L. Frohman, A(Eds). Endocrinology and metabolism, 3th end. Mc graw-hill. New york. P: 1258.
7. Zeron, Y., D. Sklan, and A. arav. 2002. Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on biophysical parameters and chilling sentivit of ewe oocytes. Mol. Reprod. Dev. 61:27.

The Effect of adding n-3 fatty acid and vit E to extender on freezing ability of Zandi rams semen
Nasiri, A.H.1*, Towhidi, A.1, Ardebili, R., Mirzaei, M2.

1Department of Animal science, Faculty of Agronomy and Animal Science, College of Agriculture and Natural resources University of Tehran, P.O.Box 4111, Karaj, Iran

2 Department of Animal science, University of Shahrekord, Iran
Corresponding E-mail address: ah.nasiri@yahoo.com

Abstract:

The aim of this study was to investigate the effect of adding n-3 fatty acids source and vit E to semen extender on freezing ability (motility, progressive motility and viability percentage before



and after freezing) in Zandi rams. Semen was collected from ten mature Zandi rams by using artificial vagina. Then, the entire samples were allocated to 4 levels of n-3 FA (0, 0.1, 1, 10 ng ml⁻¹) and 0, 0.1 and 0.2 vitamin E. Sperm characteristics such as Motility, Progressive motility, Viability, Abnormality and Recovery rate in ten replicates at 37 °C and 5 °C and after thawing were determined. The 0.1 ng ml⁻¹ n-3 had lower mean progressive motility and abnormality between the levels of FA (abnormality: 3.31±0.11 vs. 3.54±0.11, 3.41±0.11 and 3.6±0.11 for 0.1, 0, 1 and 10 ng/ml FA levels, respectively) (progressive motility: 51.02±0.28 vs. 51.95±0.28, 51.89±0.28 and 52.01±0.28 for 0.1, 0, 1 and 10 ng/ml FA levels, respectively) ($P \leq 0.05$). But mean motility, viability and recovery rate was not significant between the levels of FA. The highest mean motility (50.02±0.13), progressive motility (44.3±0.13), viability (59.80±0.13) was observed in the treatment 0 mM vitamin E ($P \leq 0.05$). . Results suggested adding n-3 FA and vit E to extender can not improve semen freezing ability in Zandi ram.

Key words: n3 fatty acid- vitamin E- Bioxcell extender- Semen freezing ability- Zandi rams

تأثیر سطوح مختلف گیاه چویر (*Ferulago angulata*) در جیره بر برخی از فراسنجه‌های خونی در بلدرچین ژاپنی

عبدالحسین پورخنجر^{۱*}، فیروز صمدی^۲، فرزانه گنجی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۲- دانشیار گروه علوم دامی،

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه گلستان

* pourkhanjar222@yahoo.com

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف گیاه چویر در جیره بر برخی فراسنجه‌های خونی بلدرچین‌های ژاپنی انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با تعداد ۳۲۰ قطعه جوجه یک روزه بلدرچین ژاپنی در ۴ تیمار شامل (۱) جیره شاهد فاقد گیاه چویر (بر اساس توصیه انجمن ملی تحقیقات، NRC) (۲) جیره مکمل شده با ۱/۵ درصد چویر (۳) جیره مکمل شده با ۳ درصد چویر (۴) جیره مکمل شده با ویتامین E به میزان ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم با ۴ تکرار در هر تیمار به مدت ۶ هفته انجام شد. در پایان ۴۲ روزگی از هر تکرار ۲ قطعه بلدرچین ژاپنی انتخاب گردید، و از ورید بال آنها خونگیری شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم‌های جدا شده در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا انجام مراحل آزمایشگاهی ذخیره شدند و سپس با استفاده از کیت‌های تشخیصی شرکت پارس آزمون و به روش فتومتری و دستگاه اسپکتروفتومتر غلظت گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، LDL، HDL، سرم تعیین شد. نتایج نشان داد که استفاده از گیاه چویر بر غلظت فراسنجه‌های گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، LDL و HDL خون تأثیر معنی‌داری نداشت ($P>0/05$).
واژه‌های کلیدی: بلدرچین ژاپنی - چویر (*Ferulago angulata*) - فراسنجه‌های خونی - گیاهان دارویی.

مقدمه

تأمین نیاز غذایی مردم با توجه به روند روز افزون رشد جمعیت و تشدید فقر غذایی بویژه در کشورهای جهان سوم از ضروری ترین برنامه‌هایی است که باید به آن پرداخته شود. در غیر این صورت جهان با چالش جدیدی به نام بحران مواد غذایی روبرو خواهد شد. مواد غذایی پروتئین دار در تغذیه انسان از اهمیت زیادی برخوردار می باشد و در این میان صنعت پرورش طیور به عنوان تهیه کننده مواد غذایی پروتئین دار از شرایط و جایگاه ممتازی برخوردار است. پرورش طیور بویژه بلدرچین از یک سو مقرون به صرفه می باشد از سوی دیگر به هزینه قابل توجهی نیاز ندارد (۲). گیاهان دارویی از سال‌های دور برای درمان بیماریهای انسان مورد استفاده قرار گرفته و حتی امروزه نیز علی رغم پیشرفتهای علمی و صنعتی، منشاء بسیاری از داروها، گیاهان میباشند (۱۱). از جمله مزایای استفاده از گیاهان دارویی می‌توان به ساده بودن کاربرد و نداشتن اثرات جانبی سوء در اکثر آنها بر عملکرد حیوانات و نیز باقی نماندن بقایای مضر در فرآورده‌های تولیدی اشاره نمود. با استفاده از فرآورده‌های گیاهان دارویی، می‌توان از مزایای مختلف آنها از جمله خواص درمانی آنها در مصرف کنندگان سود برد. گیاه چویر با نام علمی *Ferulago angulata* از خانواده *Apeacea* و جنس *Ferula*، گیاهی علفی است که ساقه‌های آن به ارتفاع ۶۰ تا ۱۵۰ سانتی متر می باشد. چویر از چتریان نسبتاً فراوان در مراتع ییلاقی است و به شدت به سرما و یخبندان مقاوم است، این گیاه از گیاهان علوفه ای، دارویی صنعتی در بسیاری از مراتع ییلاقی بویژه زاگرس است و مناطق کوهستانی با دامنه ارتفاعی ۱۲۵۰ تا ۳۳۰۰ متر عرصه رویش این گیاه است (۳). چویر به طور سنتی به محصولات مختلف مانند فرآورده های لبنی و روغن یاکره آب کرده جهت جلوگیری از فاسد شدن آن ها افزوده می شود ضمن اینکه مزه خوشایندی به آنها می بخشید (۱۲). چویر از جمله گیاهانی است که مطالعات

کمی پیرامون خواص آن صورت گرفته است. این گیاه طبق بررسی های صورت گرفته دارای ترکیبات مؤثر یا روغن های گیاهی ضروری (Essential oils) می باشد که عمده ترکیب روغن های ضروری این گیاه را ترکیباتی مانند آلفا پینن، بناپینن، پی سمین، بورنیل استات، بتا، فلاندرن، آلفاندرن، دلتا-۳-کارن، سیس اوسیمین و دی-گرمانکرون تشکیل می دهند (۴، ۱۳، ۱۲، ۷، ۹). خواص آنتی اکسیدانی عصاره این گیاه توسط خان احمدی و جانفشان (۲۰۰۶) تأیید شده است، تعداد و نوع ترکیبات شناسایی شده در اسانس این گیاه در قبل و بعد از گلدهی متفاوت بوده است (۵). این گیاه همچنین دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچ نیز می باشد (۱۳). تاکنون مطالعه ای بر روی متابولیت های خونی بلدرچین با استفاده از گیاه چویر صورت نگرفته است لذا هدف از این تحقیق بررسی تأثیر سطوح مختلف گیاه چویر در جیره بر برخی از متابولیت های خونی بلدرچین ژاپنی می باشد.

مواد و روشها

این بررسی تجربی در سالن تحقیقاتی بلدرچین دانشکده علوم دامی (مزرعه شماره ۱) دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. به همین منظور تعداد ۳۲۰ قطعه جوجه بلدرچین ژاپنی یک روزه از جنس *Coturnix japonica* و گونه *Coturnix* بر اساس طرح آزمایشی کاملاً تصادفی به ۴ تیمار تقسیم شدند، که هر تیمار شامل ۴ تکرار و ۲ مشاهده در هر تکرار از سن ۱ تا ۴۲ روزگی انجام شد. جوجه ها در شرایط بستر پرورش یافتند. تیمارها عبارت بودند از ۱) جیره شاهد فاقد گیاه چویر (بر اساس توصیه مرکز انجمن ملی تحقیقات، NRC) ۲) جیره مکمل شده با گیاه چویر به میزان ۱/۵ درصد (۳) جیره مکمل شده با گیاه چویر به میزان ۳ درصد (۴) جیره مکمل شده با ویتامین E به میزان ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم. جیره و آب آشامیدنی هر تیمار به صورت روزانه تهیه و در اختیار جوجه ها قرار گرفت. جوجه های اختصاص یافته به تیمارها از سن ۱-۴۲ روزگی به صورت آزاد به آب و خوراک دسترسی داشتند و برنامه ی نوری بصورت مداوم اعمال شد. در روز ۴۲ به طور تصادفی از تعداد دو قطعه پرنده در هر تکرار خونگیری به عمل آمد و با استفاده از سانتریفیوژ در دور ۲۰۰۰g و به مدت ۱۵ دقیقه سرم نمونه های گرفته شده جدا گردید و برای انجام آزمایشات در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره شد. تعیین غلظت فراسنجه های خونی با استفاده از کیت های تشخیصی شرکت پارس آزمون و به روش فتومتریک و دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۶ نانومتر صورت گرفت. مدل آماری استفاده شده به صورت معادله ی زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$$

μ = میانگین جامعه

α_i = اثر تیمار (اثر گیاه چویر)

e_{ij} = خطای آزمایشی

برای تجزیه و تحلیل داده های بدست آمده از نرم افزار آماری SAS و رویه ی GLM استفاده شد و میانگین های بدست آمده توسط آزمون چند دامنه ای دانکن با سطح ۰/۵ مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

با توجه به نتایج جدول شماره ۲ استفاده از گیاه چویر تأثیر معنی داری بر غلظت فراسنجه های گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، HDL و LDL خون نداشت ($P > 0/05$) اما استفاده از سطوح ۱/۵ و ۳ درصد گیاه چویر سبب کاهش غلظت کلسترول خون نسبت به گروه شاهد شد ولی این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نبود. بطوریکه حداقل غلظت کلسترول خون در تیمار شماره

۳) ۱۰۱/۱۶ میلی گرم بردسی لیتر) و حداکثر غلظت آن در تیمار شماره ۴ (۱۱/۱۵۲ میلی گرم بردسی لیتر) بود. این نتایج با نتایج آموزمهر و همکاران با استفاده از سیر و آویشن در جوجه های گوشتی (۱۳۸۸) نشان دادند که عصاره های گیاهی آویشن و سیر تأثیر معنی داری بر غلظت فراسنجه های خونی ندارد، آواسی و همکاران در بلدرچین ژاپنی (۲۰۰۷) و گلدانی (۱۳۹۱) با استفاده از سیاه دانه در بلدرچین های ژاپنی مطابقت دارد.

منابع

۱. آموزمهر، ا. و دستار، ب. ۱۳۸۸. تأثیر عصاره الکلی دو گیاه دارویی سیر و آویشن بر عملکرد و غلظت لیپیدهای خون جوجه های گوشتی. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
۲. پوررضا، ج. و صادقی، ق. ۱۳۸۷. مدیریت پرورش طیور. انتشارات ارکان دانش. ۴۲۰ ص.
۳. جوری، م. و مهدوی، م. ۱۳۸۹. شناسایی کاربردی گیاهان مرتعی. نشر آبیژن. ۴۵۶ ص.
۴. رضازاده، ش.، یزدانی، د. و شهنازی، س. ۱۳۸۲. شناسایی اجزای روغن فرار سرشاخه های هوایی گیاه *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss جمع آوری شده از غرب ایران. فصلنامه گیاهان دارویی ۷: ۵۲-۴۹
۵. قلیوند، م.، دستان فر، د. و خسروی، ل. ۱۳۸۸. استخراج و شناسایی مواد مؤثره موجود در اسانس گیاه *Ferulago angulata* قبل و بعد از زمان گل دهی (کوه دالاهو- کرمانشاه). ششمین کنگره علوم باغبانی ایران.
۶. گلدانی، ه. ۱۳۹۱. تأثیر سیاه دانه در جیره های حاوی سطوح مختلف پروتئین بر عملکرد و صفات تولیدی مرغ تخمگذار تجاری و بلدرچین تخمگذار ژاپنی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
7. Akhlaghi, H. 2008. The essential oils from flowers, stems and leaves of *Ferulago angulata* from Iran. *Chemist. Natu. Compou.* 3: 396-397.
8. Avci, m., Denek, N. and Kaplan, O. (2007). Effects of Humic Acid at different levels on Growth performance, carcass yields and some Biochemical parameters of Quails. Sanliurfa, Turkey. *J. Anim. sci.* 6(1): 1-4.7
9. Ghasempour, H., Shirinpour, E. and Heidari, H. 2007. The constituent of essential oils of *Ferulago angulata* (schlecht.) Boiss at two different habitats, Nevakoh and Shahoo, Zagross mountain, western Iran. *Iranian. J. Sci. Technol. Transaction A.* A3: 309-312.
10. Khanahmadi, M. and Janfeshan, K. 2006. Study on antioxidant property of *ferulago angulata* plant. *Asian. J. Plant. Sci.* 5(3): 5210-526.
11. Ponte, P., and C. Rosado. 2008. Pasture intake improve the performance and meat sensory attributes of free- range in broilers. *Poultry Science.* 87: 71- 79.
12. Sodeifian, G. and Ansari, K. 2011. Optimization of *Ferulago Angulata* Oil Extraction with Supercritical Carbon Dioxide. *J. Supercritical Fluids.*
13. Taran, M., Ghasempour, H. and Shirinpour, E. 2010. Antimicrobial activity of essential oils of *Ferulago angulata* subsp *carduchorum*. *Iran. Jondishapour. J. Microbiol.* 3(1): 10-14.

Effect of different levels of Chavir (*Ferulago angulata*) in diet on some blood parameter in Japanese quail

A Pourkhanjar^{1*}, F Samadi², F Ganji³

1- MSc. Student, Faculty of Animal Science, Gorgan University of agricultural Science and natural resource

2- Associate Professor of Animal Science, Faculty of Animal Science, Gorgan University of agricultural Science and natural resource

3- Associate Professor of biology, Golestan University

Abstract

This study was performed to evaluate effect of Chavir plant in diet on some blood parameter in Japanese quail. 320 1-day-old quails were randomly allotted to 4 groups with 4 replicate in a randomized complete design. These groups including: 1) control diet according to NRC recommendation. 2) control diet + 1.5 percent of Chavir. 3) control diet + 3 percent of Chavir. 4) control diet + 200 mg/kg vitamin E. In 42th day from each replicate two birds were selected randomly and blood samples were collected from wing vein. Blood samples were centrifuged (at 2000 rpm for 15 min) and serums were saved in -20 degree of centigrade for next experiments. Serums were assayed for measuring blood parameters (cholesterol, HDL, LDL, triglyceride and glucose) using appropriate laboratory kits (Pars Azmoon Co, Iran). The results indicates that treatments has not significant effect on concentration of blood parameters (cholesterol, HDL, LDL, triglyceride and glucose) ($P>0.05$).

Keywords: Japanese quail- Chavir(*Ferulago angulata*)- Blood parameters- Medicinal plants.

جدول ۱- ترکیب جیره پایه مورداستفاده در آزمایش براساس توصیه NRC

اجزای جیره	جیره با پروتئین متعادل (بر حسب درصد)
ذرت (CP = ۷/۸۹٪)	۴۸/۹۴
کنجاله سویا (CP = ۴۳/۶۸٪)	۴۵/۱۲
روغن سویا	۲/۸۹
دی کلسیم فسفات	۰/۷۵
کربنات کلسیم	۱/۳
نمک	۰/۳۵
مکمل ویتامینی	۰/۲۵
مکمل معدنی	۰/۲۵
DL- متیونین	۰/۱۵
ترکیب مواد مغذی	
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم)	۲۹۰۰
پروتئین خام (٪)	۲۴



جدول شماره ۲- نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میزان فراسنجه های خونی در بلدرچین ژاپنی در روز ۴۲

تیمار				فراسنجه
ویتامین E	۳ درصد گیاه چویر	۱/۵ درصد گیاه چویر	شاهد	
۵۲/۲۹± ۸/۴۳	۵۸/۶۹± ۷/۲۳	۶۳/۶۸± ۳/۳۸	۱۴/۶۷ ۹۰/۴۹±	(mg/dl)HDL
۲۰/۲۸ ۱۵۲/۱۱±	۱۲/۳۳ ۱۰۱/۱۶±	۱۳/۷۶ ۱۱۹/۵۸±	۲۱/۹۴ ۱۴۴/۸۴±	(mg/dl)کلسترول
۷/۷۴ ۱۰۱/۳۲±	۱۲/۴۸ ۱۱۱/۵۰±	۱۲/۵۰ ۹۹/۱۳±	۹/۹۲ ۹۸/۹۹±	(mg/dl)تریگلیسرید
۲۵/۲۶ ۷۳/۸۰±	۷/۲۸ ۲۶/۵۵±	۹/۵۸ ۳۱/۳۸±	۱۱/۸۱ ۳۲/۸۰±	(mg/dl)LDL
۸/۰۰ ۱۳۳/۳۴±	۱۶/۲۷ ۱۶۵/۳۲±	۱۳/۲۸ ۱۶۳/۴۵±	۴/۱۶ ۱۵۸/۰۰±	(mg/dl)گلوکز

داده های نشان داده شده در جدول شامل میانگین هر فراسنجه به همراه خطای استاندارد آن فراسنجه در سطح احتمال ۰/۰۵ است

بهبود میزان لقاح آزمایشگاهی پس از مصرف روغن ماهی در جیره قوچ ایرانی

عادلہ متینی^۱، بی تا ابراهیمی^{۲*}، علیرضا علیزاده^۱، وحید اسماعیلی^۲، اعظم دالمن^۲

۱- گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه، ایران ۲- پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست شناسی و علوم

پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، گروه جنین شناسی، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: b.ebrahimi@royaninstitute.org

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات مصرف روغن ماهی در جیره قوچ ایرانی بر پارامترهای کمی و کیفی اسپرم و همچنین میزان لقاح آزمایشگاهی است. برای انجام این تحقیق از هشت راس قوچ زندی با سن ۳-۲ سال و میانگین وزنی 10 ± 65 کیلوگرم استفاده شد. قوچ ها به طور تصادفی به دو گروه: کنترل ($n=4$) و روغن ماهی ($n=4$) (۳۵ گرم/روز/قوچ) تقسیم شدند. در هر دو گروه میزان مکمل ویتامین E، انرژی و پروتئین یکسان بود. پس از طی دوره عادت پذیری به روغن ماهی (سه هفته)، تغذیه به مدت یک هفته با منبع امگا-۳ انجام شد (کل طول دوره تغذیه دو ماه و در فصل تولید مثلی بود)، پس از پایان دوره عادت پذیری، سیمن با استفاده از واژن مصنوعی از قوچ های آموزش دیده جمع آوری و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد. ابتدا پارامترهای کلاسیک اسپرم توسط دستگاه CASA بررسی گردید و سپس لقاح آزمایشگاهی با استفاده از اسپرم Swim up شده انجام شد. نتایج نشان داد که تعداد اسپرم، حجم منی و میزان حرکت پیشرونده در گروه روغن ماهی در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی دار یافته بود ($P \leq 0/05$). همچنین مقایسه میانگین های جنین های دو سلولی حاصل از لقاح آزمایشگاهی (IVF) در دو گروه نشان داد که نرخ لقاح در گروه روغن ماهی به طور معنی داری ($P \leq 0/05$) بالاتر از گروه کنترل بود. این مطالعه در کل نشان داد که افزودن روغن ماهی به جیره غذایی قوچ ها میتواند علاوه بر بهبود کیفیت اسپرم، تعداد جنین های آزمایشگاهی حاصل از IVF را نیز افزایش بخشد، بنابراین می توان از امگا-۳ بعنوان مکمل موثر در جیره غذایی جهت بهبود نرخ باروری استفاده کرد.

واژگان کلیدی: اسپرم- قوچ- لقاح آزمایشگاهی- روغن ماهی

مقدمه

رژیم غذایی مناسب از جمله مسایل مهمی است که ابعاد مختلف سلامتی از جمله تولید مثل و باروری را تحت الشعاع خود قرار می دهد. در میان مواد مغذی مختلف، اسیدهای چرب خصوصا اسیدهای چرب غیر اشباع بلندزنجیر با چند باند دوگانه (PUFA) تاثیر شگفت انگیزی بر بهبود عملکرد تولید مثلی در هر دو جنس نر و ماده دارند (۲). با توجه به نقش موثر PUFA به خصوص نوع امگا-۳ بر باروری و با توجه به عدم کفایت بررسی صرف تحرک اسپرم با تست های مرسوم آنالیز مایع منی جهت تخمین نرخ باروری در آزمایشگاه و مزرعه و همچنین با توجه به این که تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر بررسی اثر تغذیه با منابع امگا-۳ بر میزان لقاح وجود نداشته، لذا پژوهش حاضر به منظور بررسی نتایج حاصل از افزودن مکمل های امگا-۳ به رژیم غذایی قوچ بر پارامترهای کلاسیک اسپرم و همچنین بر میزان لقاح آزمایشگاهی طراحی شد.

مواد و روشها

این آزمایش از ۱۵ شهریورماه تا ۱۵ آذر ماه سال ۱۳۹۰ به مدت ۴ ماه در پژوهشگاه رویان تهران و با همکاری ایستگاه اصلاح نژاد دام سبک جهاد کشاورزی استان تهران به منظور بررسی اثرات (n-3 PUFA) بر پارامترهای های باروری اسپرم قوچ زندی به روش لقاح خارج از رحمی اجرا گردید. در این آزمایش از ۸ رأس قوچ نژاد زندی با سن ۳-۲ سال و میانگین وزنی 75 ± 10 کیلوگرم استفاده گردید. قوچ ها به طور تصادفی به دو گروه کنترل (n=4) و روغن ماهی (35) (n=4) گرم/روز/قوچ) تقسیم شدند، در هر دو گروه میزان مکمل ویتامین E، انرژی و پروتئین یکسان بود. بعد از سه هفته عادت پذیری و یک هفته تغذیه با منبع امگا-۳، نمونه های منی با استفاده از واژن مصنوعی در ابتدا و انتهای دوره جمع آوری شدند. نمونه ها با رقیق کننده تجاری INRA96 به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق شد و جهت بررسی پارامترهای اسپرم و میزان باروری درکنار یخ و پس از ۴ ساعت به آزمایشگاه منتقل شدند. ارزیابی پارامترهای اسپرم با استفاده از دستگاه CASA و برنامه SCA بر طبق استاندارد WHO5 انجام شد. پارامترهای کلاسیک اسپرم شامل حجم منی، تعداد کل اسپرم، میزان حرکت پیشرونده و غیر پیشرونده موردآنالیز قرار گرفت. جهت انجام لقاح آزمایشگاهی به تخمک های بالغ نیاز بود، به این منظور توده های COC از نمونه های تخمدان کشتارگاهی آسپیره شدند. کمپلکس هاس تخمک-کومولوس سالم با قطر متوسط که دارای تخمک سالم با سیتوپلاسم یکنواخت و ۲ تا ۳ لایه متراکم از سلولهای کومولوس اطراف بودند، جهت بلوغ آزمایشگاهی به محیط TCM199 حاوی ۱۰٪ سرم میش فحل، $1 \mu\text{g/ml}$ بتاسترادیول، $2, 10 \text{ mM}$ سدیم پیروات، $1 \mu\text{M}$ سیستمین، 0.02 IU/ml LH و $1 \mu\text{g/ml}$ آنتوسیانین و $150 \mu\text{g/ml}$ سولفات روی (۹ و ۱۰) منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط $5\% \text{ CO}_2$ ، دمای 37.5°C درجه سانتیگراد، ۹۵٪ رطوبت قرار گرفتند. کمپلکس های سالم و دارای مورفولوژی طبیعی و اتساع خوب بعد از شستشو به محیط کشت لقاح (- SOF Fertilization) منتقل و به مدت ۲۰ ساعت در مجاورت اسپرم های swim-up شده، انکوبه (شبهه شرایط انکوباسیون فوق الذکر) شدند. سپس سلولهای کومولوس و اسپرم های متصل به تخمک ها با استفاده از عمل پیپت کردن از اطراف تخمک ها جدا شدند و زیگوت های احتمالی از نظر تشکیل پیش هسته های نر و ماده (PN) ارزیابی شده و تخمک هایی که PN۲ بودند به محیط کشت تکوین (SOF - Development) انتقال یافتند. ۲۴ ساعت بعد، جنین های ۲ سلولی حاصله شمارش شدند. تجزیه آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و رویه ANOVA تجزیه و تحلیل شد و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی داری ($P \leq 0.05$) انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصله نشان داد که تعداد اسپرم، حجم منی و میزان حرکت پیشرونده در گروه روغن ماهی در مقایسه با گروه کنترل بصورت معنی دار بالاتر بود ($P \leq 0.05$) (جدول ۱)، در حالیکه در میزان حرکت غیر پیشرونده گروه روغن ماهی با کنترل اختلاف معنی داری مشاهده نشد. همچنین به منظور بررسی توانایی لقاح آزمایشگاهی اسپرم، تخمک های سالم پس از بلوغ آزمایشگاهی در مجاورت اسپرمهای swim up شده قرار گرفتند و ۴۸ ساعت پس از لقاح (روز لقاح معادل روز صفر در نظر گرفته شد)، تعداد جنین های دوسلولی به عنوان پارامتر ارزیابی توانایی لقاح آزمایشگاهی اسپرم در نظر گرفته شد. نتایج مربوط به مقایسه رویان های دوسلولی آزمایشگاهی پس از لقاح نشان داد که نرخ لقاح در گروه روغن ماهی نسبت به گروه کنترل بطور معنی داری ($p < 0.05$) بالاتر بود (جدول ۲). همچنین تعداد جنین های دو سلولی حاصله در پایان دوره نسبت به ابتدای دوره در گروه روغن ماهی به صورت معناداری ($p < 0.05$) بیشتر از گروه کنترل بود (جدول ۳). این مطالعه نیز همانند پژوهش های پیشین (۸، ۷، ۴)



اثبات کرد که مصرف روغن ماهی سبب افزایش حجم انزال، تعداد اسپرم و حرکت پیشرونده اسپرم می گردد. لیپید ها علاوه بر فعالیت در متابولیسم انرژی، در تمامی رویدادهایی که منجر به باروری میشوند نقش مهمی ایفا می کنند (۳). تجزیه اسید چرب قسمت سر و دم اسپرماتوزوئید میمون نشان داده شد که دوکوزا هگزانوئیک اسید (DHA) به ترتیب ۱/۱ و ۱۹/۱ درصد مجموع اسیدهای چرب سر و دم اسپرماتوزوئید را تشکیل می دهد. تراکم انتخابی DHA در دم اسپرم، برای افزایش سیالیت غشاء ضروری است (۵) و از آنجا که نسبت های متفاوت از اسید های چرب غیر اشباع موجود در غشاهای سلولی انعکاسی از مقادیر مصرف آن در جیره غذایی است، با تغییر در میزان آنها میتوان در ساختار قسمتهای مختلف و عملکرد آنها تغییر ایجاد کرد (۶). علاوه بر آن، ساختار غشای سر اسپرم در فرآیند لقاح بسیار موثر است زیرا هم در واکنش آکروزومی و هم در اتصال غشاهای تخمک و اسپرم تاثیر گذار است (۱). افزایش نرخ لقاح مشاهده شده در این تحقیق پس از تغذیه با اسیدهای چرب امگا-۳ به احتمال قوی میتواند بدلیل تاثیر مستقیم اسید های چرب موجود در سر و دم اسپرم بر قابلیت هایی مانند واکنش آکروزومی، سیالیت و حرکت پیشرونده اسپرم باشد. نهایتا به نظر میرسد بتوان از امگا-۳ بعنوان مکمل موثر در جیره غذایی جهت بهبود کیفیت و حجم اسپرم و همچنین نرخ باروری استفاده کرد.

جدول (۱) پارامترهای کلاسیک اسپرم قوچ

گروه ها		پارامترهای اسپرم
روغن ماهی	کنترل	
$1/48^b \pm 0/5$	$1/2^a \pm 0/5$	حجم منی
$3/64^b \pm 0/1$	$2/7^a \pm 0/1$	غلظت اسپرم ($\times 10^9$)
$59/22^b \pm 2/15$	$48/82^a \pm 2/15$	حرکت پیشرونده (%)
$31/87^a \pm 1/3$	$31/54^a \pm 1/3$	حرکت غیر پیشرونده (%)

در هر ردیف حروف نامشابه (a در مقابل b) نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار است ($P \leq 0/05$).

داده ها بصورت $SEM \pm Mean Percentage$ بیان شده است

جدول (۲) نرخ لقاح اووسیت های گوسفندی با اسپرم های گروه کنترل و روغن ماهی

گروه ها	تخمک (تعداد)	لقاح*	حد بالا	حد پایین
گروه کنترل	۱۳۰	$43/25^b \pm 2/23$	48/99	37/51
گروه روغن ماهی	۱49	$51/59^a \pm 2/23$	57/33	45/85

در هر ستون حروف متفاوت (a در مقابل b) دارای اختلاف آماری معنی دار است ($P \leq 0.05$)
* داده ها بصورت $SEM \pm MeanPercentage$ بیان شده است

جدول (۳) نرخ لقاح در ابتدا و انتهای دوره تغذیه در دو گروه کنترل و روغن ماهی

گروه	زمان	توده های COC سالم	جنین های لقاح	جنین های لقاح	لقاح**
	نمونه گیری	پس از بلوغ آزمایشگاهی	نیافته	یافته	
	تکرار	(تعداد)	(تعداد)	دو سلولی	
				(تعداد)	
گروه CO*	ابتدای دوره	۶۳	۳۸	۲۵	$38/03^a \pm 3/7$
	انتهای دوره	۶۷	۲۳	۳۴	$49/22^b \pm 6/5$
گروه FO*	ابتدای دوره	۶۷	۳۷	۳۰	$45/42^c \pm 5/5$
	انتهای دوره	۸۲	۳۷	۴۵	$55/64^d \pm 5/2$

در هر ستون حروف متفاوت (a در مقابل b,c) و (d در مقابل b,c) دارای اختلاف آماری معنی دار است ($P \leq 0.05$)

*گروه کنترل (Control Group: CO)، گروه تیمار (Fish Oil Group: FO)

**داده ها بصورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده است

منابع

1. Abayasekara, D. R. E., and D. C. Wathes1999. Effects of altering dietary fatty acid composition on prostaglandin synthesis and fertility. Prostaglandins, leukotienes and essential fatty acids. J. Reprod. 61: 275-287.
2. Aksoy, Y., H. Aksoy, K. Altinkaynak, H. R. Aydin, A. Ozkan2006. Sperm fatty acid composition in subfertile men. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty acids. Biology of reproduction: 75-79.
3. Alvarez JG, Storey BT1995. Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. Mol Reprod Dev; 42:334-336.
4. Castellini, S., P. Lattaioli, A. Dal Bosco, A. Minelli, C. Mugnai2003. Oxidative status and semen characteristics of rabbit buck as affected by dietary vitamin E, C and n-3 fatty acid. Reprod. Nutr.Dev. 43. 91-103.

5. Connor WE, Lin DS, Wolf DP, Alexander M1998. Uneven distribution of desmosterol and docosahexaenoic acid in the heads and tails of monkey sperm. *J Lipid Res.*39: 1404-1411.
6. Mattos, R., Staples, C.R., Thatcher, W.W.2000. Effect of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *J. Reprod. Fertil.* 5: 38-45.
7. Rooke, J. A., C-C. Shao and B. K. Speake 2001. Effects of feeding tuna oil on the lipid composition of pig spermatozoa and in vitro characteristics of semen. *Reproduction.* 121, 315–322.
8. Strzezek, J., and Co-authors2004. Effect of dietary supplementation polyunsaturated fatty acids and antioxidants on biochemical characteristics of boar semen. *Reproductive Biology.*; 4: 271-287.
9. Totey, S.M., Singh, G., Taneja, M, Pawshe, C.H. and Talwar, G.P.1992In vitro maturation, Fertilization and development of follicular oocytes from buffalo (*Bubalus bubalus*). *J. Reprod. Fertil.*, 95: 595- 607.
10. Picco S.J., J.M. Anchordoquy,D.G. de Matos2010. Effect of increasing zinc sulphate concentration during in vitro maturation of bovine oocytes. *Theriogenology* ;25:591–600

In Vito Fertilization Rate Improvement following Fish Oil Consumption in Iranian Ram Diet

Matini A. ¹, Ebrahimi B^{2*}, Alizadeh A. R. ¹, Esmaeili V. ², Dalman .A².

1. Department of Animal Science, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

2. Department of Embryology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute

* Corresponding Author: b.ebrahimi@royaninstitute.org

Abstract

For this research eight Zandi rams in the age of 2-3 years and with a live weight of 65 ± 10 kg were randomly assigned to two experimental groups: control which receive maintenance diet (CTR; n=4) and fish oil (FO; n=4) which receive maintenance diet in associated with 35 g/d/ram fish oil. A week (Diets were fed to the rams for 70 days during the physiologic breeding season) after an adaptation period (21 d), semen was collected from each ram by artificial vagina, sperm samples were rapidly transferred to the laboratory and classical parameters of sperm were determined by the Computer assisted sperm analyzer system (CASA). Then semen was prepared for in vitro fertilization (IVF) process by swim-up technique. Results show that adding fish oil to diet significantly improved volume, concentration and total sperm output as well as sperm progressive motility in comparison with the control group. Also comparison of two cell stage embryos following IVF in two experimental groups showed that the fertilization rate was

significantly higher in the fish oil group as compared to the control group. Overall, this study indicated that adding fish oil to rams diets not only could improve the quality of sperm, but also increases the IVF results. Thus omega-3 could be an appropriate additive in the ram diet in order to improve fertilization rate.

Keywords : sperm - ram - in vitro Fertilization - fish oil

بررسی همبستگی بین پروفایل چربی سرم و هورمون‌های تیروئیدی در اواخر آبستنی شترهای تک‌کوهانه

ژیلا ساجدی*^۱، آرش امید^۲، محمد باقر منتظر تربتی^۳، حسین انصاری نیک^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد مدیریت و پرورش طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

* نویسنده مسئول: ژیلای ساجدی، دانشگاه بیرجند، دانشکده کشاورزی، sajedizhila@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق از ۱۰ نفر شتر تک‌کوهانه در سه ماه آخر آبستنی در شهرستان زابل استفاده شد. با استفاده از رویه همبستگی پیرسون در نرم افزار SPSS، همبستگی بین هورمون‌های تیروئیدی شامل تیروکسین (T4)، تری‌یدوتایرونین (T3)، تیروکسین آزاد (FT4I)، تری‌یدوتایرونین آزاد (FT3I)، هورمون محرک تیروئید (TSH) و همچنین همبستگی این هورمون‌ها با پروفایل چربی‌های سرم مورد ارزیابی قرار گرفت. در این بررسی همبستگی معنی‌دار قوی بین T4 و FT4 ($r=0.799; P<0.01$) و بین T3 و FT3 ($r=0.69; P<0.05$) مشاهده شد. همچنین همبستگی منفی TSH با FT3، T3 و FT4 نیز مشاهده شد. در مورد ارتباط بین هورمون‌های تیروئیدی با میزان پروفایل چربی سرم، با LDL و HDL کلسترول نیز همبستگی مثبت مشاهده گردید که بین T4 و کلسترول تام این همبستگی قابل ملاحظه بود ($r=0.50$). همچنین تری‌گلیسرید همبستگی مثبت قابل ملاحظه‌ای با FT3 و FT4 و نیز همبستگی منفی با TSH، T4 و T3 نشان داد. همبستگی منفی TSH با FT3، T3 و FT4 نمایانگر اثر بازخوراند منفی هورمون‌های تیروئیدی بر میزان ترشح TSH از هیپوفیز است.

واژه‌های کلیدی: هورمون‌های تیروئیدی- پروفایل چربی- شتر تک‌کوهانه

مقدمه

تولید مواد غذایی (گیاهی و دامی) خصوصاً در نواحی گرم و خشک ایران امری دشوار است. لذا در این شرایط راه فائق آمدن بر این مشکلات و رسیدن به خودکفایی غذایی، استفاده بهینه از امکانات خدادادی موجود می‌باشد (۱). از آنجا که بخش اعظم کشور ایران در اکوسیستم خشک قرار گرفته و از بین دام‌ها، شتر تک‌کوهانه به چنین شرایط سخت محیطی برتری داشته و حتی قادر است در شرایط تغذیه دستی نیز با دام‌های پرتولید هم وزن (مانند گاو) رقابت کرده و افزایش وزن روزانه بالایی داشته باشد (۲). بر همین اساس بررسی عوامل مؤثر بر آبستنی این حیوان انجام مطالعات محققین می‌باشد. در حال حاضر پیشرفت‌های جدید در فیزیولوژی غده تیروئید و فراسنجه‌های تأثیرگذار مرتبط با این غده، محققین را به مطالعات و پژوهش در زمینه عملکردهای غده تیروئید در گونه‌های مختلف حیوانات تشویق کرده است. در میان حیوانات اهلی ارتباط لیپیدهای سرم با عملکرد هورمون‌های تیروئیدی و همچنین رابطه آنها با تغییرات فیزیولوژیکی بدن حین آبستنی در دام‌های اهلی به ویژه شتر کمترشناخته شده است. با این وجود عملکردهای مناسب غده تیروئید و فعالیت‌های هورمونی آن برای حفظ راندمان تولیدمثلی در دام‌ها حیاتی گزارش شده است (۱۲). از این رو هدف از این بررسی، ارزیابی میزان همبستگی هورمون‌های تیروئیدی با چربی‌های مهم سرم مانند کلسترول و تری‌گلیسرید در طی دوره آبستنی در شترهای تک‌کوهانه بود.

مواد و روش‌ها



در این تحقیق از ۱۰ نفر شتر تک‌کوهانه ۴ الی ۵ ساله، سه ماه آخر آبستنی، در ایستگاه پرورش شتر شهرستان زابلخون گیری شد. پس از مقید کردن شترها خونگیری از ورید و داج آنها انجام شد و خون‌های اخذ شده به میزان ۱۰ میلی‌لیتر در داخل لوله‌های بدون ماده ضد انعقاد ریخته‌شده و سریعاً به آزمایشگاه ارسال گردید. پس از لخته شدن، سرم نمونه‌ها با سانتریفوژ در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه جدا شد. غلظت هورمون‌های تیروئیدی به روش رادیوایمونواسی (RIA) و با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و دستگاه گاما کانتر تعیین شد. غلظت کلسترول و لیپوپروتئین‌ها به روش آنزیمی و ترکیبی از روش رسوبی و اولتراسانتریفوژ اندازه‌گیری شدند. نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر با استفاده از روش همبستگی پیرسون در نرم افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفت. فاکتورهای تیروئیدی مورد بررسی شامل: تیروکسین (T4) - تری‌یدوتایرونین (T3) - تیروکسین آزاد (fT4) - تری‌یدوتایرونین آزاد (fT3) و هورمون محرک تیروئید (TSH) بودند که وجود همبستگی بین این هورمون‌ها و همچنین بین کلسترول، تری‌گلیسرید و لیپوپروتئین‌های (LDL, HDL, VLDL) سرم خون مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

غلظت کلسترول سرم خون معمولاً تحت تأثیر هورمون‌های تیروئیدی می‌باشد. این هورمون‌ها باعث افزایش کاتابولیسم کلسترول می‌شوند، بنابراین سطح کلسترول سرم خون کاهش می‌یابد؛ در صورتی که کم کاری تیروئید باعث افزایش سطح کلسترول سرم می‌شود (۱۰). در اسب‌های نژاد ترکمن بین هورمون‌های تیروئیدی کلسترول، تری‌گلیسرید، HDL و لیپید تام سرم همبستگی مشاهده نشده است (۸). کلسترول سرم همبستگی منفی پیوسته با سطح T4 و T3 در چندین گونه دارد (۹). گزارش شده که در شترهای با شرایط طبیعی، غلظت هورمون‌های تیروئیدی با سطوح کلسترول خون همبستگی ندارند (۱۳). در تحقیق حاضر وضعیت آبستنی شترها بین هورمون‌های تیروئیدی با میزان کلسترول، LDL و HDL کلسترول همبستگی مثبت ایجاد کرد؛ که بین T4 و کلسترول این همبستگی قابل ملاحظه تر بود ($r=0/50$). همچنین تری‌گلیسرید همبستگی مثبت قابل ملاحظه‌ای با fT3 و fT4 و نیز همبستگی منفی با T4، TSH و T3 نشان داد. در مطالعه روی بزها، آبستنی اثر معنی‌داری بر روی غلظت‌های کلسترول تام، LDL و تری‌گلیسرید داشت ولی در رابطه با غلظت لیپید تام و HDL اثر معنی‌داری مشاهده نشد (۱۰). همچنین ممکن است در خون بز نیز در اواخر آبستنی و اوایل شیردهی، میزان هورمون‌های تیروئیدی کاهش یابند و اثر آنها بر کاتابولیسم کلسترول برداشته شده و میزان کلسترول سرم خون افزایش یابد (۱۰). در گاوهای شیری غلظت کلسترول سرم همبستگی منفی مداوم با سطوح T4 و T3 نشان داده است (۵). طی مطالعات متفاوتی تأثیرات آبستنی روی هورمون‌های تیروئیدی حیوانات مختلف بررسی شده است؛ مثلاً تحقیق روی میش‌های نژاد عربی نشان داد؛ میش‌هایی که دوران آبستنی خود را در ماه‌های گرم سال گذرانده بودند ضایعات تیروئیدی آنها به مراتب بیشتر از میش‌هایی بود که آبستنی خود را در ماه‌های سرد سال گذرانده بودند و تغییر هورمونی در جنین آنها هم مشاهده شد (۱۱). در این تحقیق به دلیل اینکه هورمون‌های تیروئیدی تحت تأثیر فصل و دما تغییر می‌کنند و شترها سه ماه بارداری خود را در فصل زمستان گذرانده‌اند، همبستگی‌های شدیدتری مشاهده نشد. طی انجام مطالعاتی روی گاوهای آبستن مشاهده شد که در اواخر آبستنی، زمان زایمان و اوایل شیردهی میزان هورمون‌های تیروئیدی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابند و بیان گردید که این کاهش می‌تواند در ارتباط با برون‌ده قلبی و به دنبال آن افزایش حجم خون برای تامین نیازهای متابولیکی در این زمان‌های خاص (اواخر آبستنی، زایمان، اوایل شیردهی) باشد (۴). در شترهای تک‌کوهانه با افزایش سن غلظت‌های کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپید تام، HDL و VLDL افزایش یافته و برعکس میزان LDL کاهش می‌یابد (۷). این میزان در اسب‌های نژاد ترکمن با افزایش سن در غلظت کلسترول و لیپوپروتئین‌های سرم افزایش قابل توجهی نشان داد. با این حال تفاوت جنسی در غلظت این پارامترها اختلاف معنی‌داری نشان نداد (۸). همچنین گزارش شده است که غلظت هورمون‌های

تیروئیدی با افزایش سن ارتباط معنی داری ندارد (۱۳). از سوی دیگر محققان نشان داده اند که به علت افزایش فعالیت متابولیکی، میزان بازجذب هورمون های تیروئیدی در بافت های بدن افزایش یافته، از این رو میزان آنها در خون کاهش می یابد (۳). میانگین غلظت سرمی T_3 و T_4 در شتر ماده به ترتیب در طول دوره آبستنی و پس از زایمان مقایسه شد، که بر این اساس تغییرات در وضعیت فیزیولوژیکی حیوان می تواند به تفاوت در میانگین سرمی T_3 و T_4 مرتبط باشد (۱۲). در بررسی حاضر همبستگی معنی دار قوی بین T_4 و fT_4 ($r=0.799$; $P<0.01$) و بین T_3 و fT_3 ($r=0.769$; $P<0.05$) مشاهده شد. در این بررسی چون شترها از نظر سنی یکسان انتخاب شده بودند لذا می توان اثر سن را حذف کرد و نتیجه گرفت که آبستنی احتمالاً دلیل ایجاد همبستگی بین این هورمون ها بوده است. همچنین TSH همبستگی منفی با fT_3 ، T_3 و fT_4 را نشان داد. این مورد نشان دهنده اثر بازخوراند منفی هورمون های تیروئیدی بر میزان ترشح TSH از هیپوفیز است.

منابع

۱. خدایی، س.ع.، ۱۳۸۶. اصول پرورش شتر، انتشارات پرتو واقعه، تهران. صفحات ۱۴-۱۵.
۲. ناظر عدل، ک.، ۱۳۶۵. پرورش شتر، انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه تبریز، چاپ اول، صفحات ۲۶-۲۴.
3. Dalvi, S.H., Deshmukh, B.T., Mantri, A., and Talverkar, B., 1995. Concentration of blood serum Thyroid hormones during late pregnancy parturition and early lactation of crossbred cow. *Indian Journal of Animal science*. 65: 15-19.
4. Grammar, R.R., 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in peri parturient dairy cow. *Journal of dairy science*. 76: 3882-3896.
5. Gueorguieva, T.M., Gueorguieva, I.P., 1997. Serum cholesterol concentration around parturition and in early lactation in dairy cows. *RevuedeMedicine Veterinary*. 148: 241-244.
6. Nazifi, S., Gheisari, H.R., Abbasali-Poorkabir, M., Saadatfar, S., 2000. Serum lipids and lipoproteins in clinically healthy male camels (*Camelus dromedarius*). *Veterinary ResearchCommune*. 24: 524-531.
7. Nazifi, S., Saeb, M., Ghavami, S.M., 2002. Serum lipid profile in Iranian fat-tailed sheep in late pregnancy, at parturition and during the post-parturition period. *Journal of Veterinary Medicine*. 49: 9-12.
8. Nazifi, S., Saeb, M., Abedi, M., 2003. Serum lipid profiles and their correlation with thyroid hormones in clinically healthy Turkoman horses. *Comparative Clinical Pathology*. 12: 49-52.
9. Nazifi, S., Saeb, M., and Asadzadeh, S., 2003. Serum concentrations of lipid, lipoproteins and B-hydroxy butyrate in Iranian native goats in late pregnancy, at parturition and during the post-parturition period. *Journal Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran*. 3: 211-215.
10. Nouri, M., Mohammadian, B., and Pourjamshid, R., 2010. An abattoir study of thyroid histopathology in ewes and their fetus in Ahvaz City of Iran. *Veterinary Research Forum*. 1(1): 50-53.
11. Pande, A.M., Agarwal, S.P., Rai, A.K., and Khanna, N.D., 1997. Studies on circulating levels of thyroid hormones in peri parturient female camel *Camelus dromedaries*. *Indian Journal of Animal Reproduction*. 18: 118-120.

12. Todini, L., 2007. Thyroid hormones in small ruminants: effects of endogenous environment and nutritional factors. *Journal of Animal science*. 1 (7):997-1008.
13. Wasfi, I.A., Hafez, A.M., Tayeb, F.M.A., Taher, A.Y., El-Tayeb, F.M.A., El-Taher, A.Y., 1987. Thyroid hormones, cholesterol and triglyceride levels in the camel. *Research Veterinary Science*. 42: 418.

Evaluation of the correlation between serum lipid profile and thyroid hormones in the late pregnancy of dromedary camels

Sajedi zhila*¹, Omidi arash², Montazer torbati mohammad bagher², Ansari nik hossein³

1, 3- Graduate Student, Department of Animal Science, University of Agriculture, Birjand

2- Assistant Professor Department of Animal Science, University of Agriculture, Birjand

*Corresponding E-mail address: Sajedizhila@yahoo.com

Abstract

In this study, ten dromedary camels in the last three months of pregnancy were used. Correlation between the thyroid hormones includes thyroxin (T4), triiodothyronine (T3), free thyroxin (fT4), free triiodothyronine (fT3), thyroid stimulating hormone (TSH) and serum lipid profiles were evaluated with Pearson correlation using the SPSS software. This study found a strong correlation between T4 and fT4 ($P < 0.01$; $r = 0.799$) and between T3 and fT3 ($P < 0.05$; $r = 0.69$). The negative correlation between TSH and T3, fT3 and fT4 were also observed. A positive correlation was observed between LDL and HDL cholesterol with thyroid hormones. Correlation between T4 and total cholesterol was significant ($r = 0.50$). Triglyceride also was indicated positively correlated with fT3 and fT4 and significantly negatively correlated with TSH, T4 and T3. Negative correlation between TSH and T3, fT4 represents a negative feedback effect of thyroid hormones on TSH secretion from the pituitary.

Key words: Thyroid hormones, lipid profile, Pregnancy, Dromedary camel

ارزیابی محور هیپوفیز-هیپوتالاموس و عملکرد تیروئید در شترهای تک کوهانه آبستن و غیرآبستن

ژیلا ساجدی*^۱، آرش امیدی^۲، محمد باقر منتظر تربتی^۳، حسین انصاری نیک^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد مدیریت و پرورش طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

* نویسنده مسئول: ژیل ساجدی، دانشگاه بیرجند، دانشکده کشاورزی، sajedizhila@yahoo.com

چکیده

به منظور ارزیابی محور هیپوفیز-هیپوتالاموس و عملکرد غده تیروئید طی آبستنی سنگین در شترهای تک کوهانه، از نمونه‌های خونی ۲۰ نفر شتر تک کوهانه که ۱۰ نفر در سه ماه آخر آبستنی و ۱۰ نفر غیر آبستن یا خشک بودند استفاده شد. در سرم شترهای مورد مطالعه، غلظت سرمی تری‌یدوتایرونین (T3)، تیروکسین (T4)، تری‌یدوتایرونین آزاد (fT3)، تیروکسین آزاد (fT4) و هورمون محرک تیروئید (TSH) مورد سنجش قرار گرفت. در این بررسی مقایسه دو گروه (آبستن و غیرآبستن) به روش t-test در برنامه نرم افزاری SPSS نسخه ۱۶ انجام شد و نتایج به دست آمده نشان داد که میزان T3, T4, fT4 و TSH سرم در شترهای غیر آبستن بیشتر از شترهای آبستن و میزان fT3 در شترهای آبستن بیشتر از شترهای غیرآبستن است با این حال اختلاف معنی داری مشاهده نشد. بر این اساس میتوان گفت به علت افزایش فعالیت متابولیکی در نزدیکی زایمان میزان هورمون های fT4, T3, T4، کاهش یافته است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که شتر از مقاومت ذاتی بالایی برخوردار است که حتی در اواخر آبستنی هم فعالیت‌های متابولیکی آن افزایش چندانی نمی‌یابد و نسبت به شتر غیرآبستن تغییرات قابل توجهی نداشته است. واژه‌های کلیدی: آبستنی- تیروئید -محور هیپوفیز- هیپوتالاموس- شتر تک کوهانه

مقدمه

کشور ایران از نظر جغرافیایی و اکولوژیکی جزء مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می‌شود. طبق گزارشات بین المللی و تجربیات کارشناسی کشور، یکی از مهمترین دام‌هایی که می‌تواند در این اقلیم و اکوسیستم تطابق یافته و تولید مثل و بازده اقتصادی داشته باشد و با توجه به عادات چرای خود باعث حفظ و احیای مراتع این اکوسیستم گردد شتر است (۱). زیرا شتر قادر است از انواع خاصی از گیاهان مرتعی استفاده نماید که سایر دامها قادر به استفاده از آن نمی‌باشند (۱). بر همین اساس امروزه بررسی عوامل تأثیرگذار بر تولیدمثل و ازدیاد نسل این حیوان انجام مطالعات محققین جهان می‌باشد. در حال حاضر پیشرفت‌های جدید در فیزیولوژی غده تیروئید و بررسی عملکرد این غده با سایر پارامترهای تأثیرگذار، محققین را به تحقیق در زمینه ارتباط غده تیروئید با محورهای کنترل کننده آن در گونه‌های مختلف حیوانات تشویق کرده است (۳). هورمون هیپوتالاموسی TRH باعث رهایی TSH از هیپوفیز می‌شود. سپس TSH با اثر بر غده تیروئید بر ترشح T3 و T4 از این غده می‌افزاید. در حالت عادی وقتی میزان T3 و T4 در خون افزایش می‌یابد این هورمون‌ها با اثر روی هیپوفیز و هیپوتالاموس از میزان ترشح TSH و TRH از غده‌های مربوط، می‌کاهند و به طور غیرمستقیم مانع افزایش بیش از اندازه‌ی خود می‌شوند (۲). محور هیپوتالاموس-هیپوفیز در تنظیم و کنترل اکثر غده‌های اندوکرین، به خصوص غده تیروئید نقش کاملاً تأثیرگذار دارد (۲). با توجه به نقش کلیدی غده تیروئید در فعالیت‌های حیاتی بدن و ارتباط مستقیم غده تیروئید با محور هیپوتالاموس-هیپوفیز، در این مطالعه به بررسی اثر

آبستنی سنگین بر میزان ترشحات تیروئیدی پرداخته شده است تا شاید بتوان از این نتایج برای تقویت بازده زاد و ولد در گونه شترهای تک کوهانه استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های خونی ۲۰ نفر شتر تک‌کوهانه در سنین تقریباً یکسان (۴ الی ۵ سال) که ۱۰ نفر در سه ماه آخر آبستنی و ۱۰ نفر شتر غیر آبستن و متعلق به ایستگاه پرورش شتر در شهرستان زابل بودند، از نظر هورمون‌های تیروئیدی و میزان ترشح این هورمون‌ها با محور هیپوفیز-هیپوتالاموس مورد سنجش قرار گرفتند. پس از مقید کردن شترها خونگیری از ورید و داج آنها انجام شد و خون‌های اخذ شده به میزان ۱۰ میلی‌لیتر در داخل لوله‌های بدون ماده ضد انعقاد ریخته شده و سریعاً به آزمایشگاه ارسال گردید. پس از ایجاد لخته، سرم نمونه‌ها با سانتریفوژ در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی شد. غلظت هورمون‌های تیروئیدی به روش رادیوایمونواسی (RIA) و با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و دستگاه گاما کانترا اندازه‌گیری گردید. برای آنالیز آماری نتایج بدست، مقایسه میانگین دو متغیر به روش t -test ناپارامتری در نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ مورد انجام شد. به ترتیبی که تأثیر عامل مورد بررسی (آبستنی) بر روی محور هیپوفیز-هیپوتالاموس و میزان ترشح هورمون‌های تیروئیدی شترها مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج بدست آمده از بررسی اثر آبستنی بر غلظت سرمی T_3 , T_4 , fT_3 , fT_4 و TSH سرم خون شترهای تک کوهانه در جدول ۱ ارائه شده است. طی نتایج بدست آمده از این پژوهش میزان هورمون‌های T_3 , T_4 , fT_3 و fT_4 سرم خون شترهای غیر آبستن بیشتر از شترهای آبستن و میزان fT_3 در شترهای آبستن بیشتر از غیر آبستن‌ها بود.

جدول ۱ - میزان T_3 , fT_3 , T_4 , fT_4 و TSH سرم خون شترهای تک کوهانه بر حسب وضعیت آبستنی ($n=20$)

TSH	fT_3	fT_4	T_3	T_4	تعداد (نفر)	وضعیت آبستنی
($\mu\text{g/ml}$)	($\mu\text{g/dl}$)	($\mu\text{g/dl}$)	($\mu\text{g/dl}$)	($\mu\text{g/dl}$)		
0.54 ± 0.10	3.75 ± 0.39	1.37 ± 0.35	2.75 ± 0.13	11.98 ± 0.35	۱۰	غیر آبستن
0.47 ± 0.07	4.48 ± 0.27	0.96 ± 0.07	2.57 ± 0.19	11.50 ± 0.29	۱۰	آبستن

میانگین غلظت سرمی T_3 و T_4 در شتر ماده به ترتیب در طول دوره آبستنی و پس از زایمان مقایسه شد، که بر این اساس تغییرات در وضعیت فیزیولوژیکی حیوان می‌تواند به تفاوت در میانگین سرمی T_3 و T_4 مرتبط باشد (۱۰). طی تحقیق روی گاو-های آبستن (اواخر آبستنی، زمان زایمان و اوایل شیردهی) در میزان هورمون‌های تیروئیدی کاهش معنی‌داری مشاهده شد که این کاهش را در ارتباط با برون‌ده قلبی و به دنبال آن افزایش حجم خون برای تأمین نیازهای متابولیکی دانستند (۶). کورتیزول مترشح و آدرنوکورتیکوئیدهای نزدیک زایمان باعث عدم ترشح TSH و کاهش T_3 و T_4 می‌شود (۵). کاهش T_3 و T_4 در نزدیکی زایمان با افزایش جبرانی TSH همراه نیست و این کاهش نتیجه مصرف محیطی T_3 و T_4 می‌باشد (۷). به علت افزایش فعالیت متابولیکی، میزان بازجذب هورمون‌های تیروئیدی در بافت‌های بدن افزایش یافته، از این رو میزان آنها در خون کاهش می‌یابد (۵). جذب هورمون‌های تیروئیدی در زمان غیر آبستنی در گاو‌ها نسبت به آبستنی بیشتر است که علت آن می‌تواند کاهش تبدیل و مصرف آنها در خلال آبستنی و یا انتقال هورمون‌های تیروئیدی جنین به مادر باشد (۴). غلظت سرمی fT_4 در جنین چهار ماهه

بز، بیش از هر زمان دیگر و حتی بیش از سرم خون مادر است که می تواند نتیجه سرعت عمل بیشتر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز جنین نسبت به مادر در محدوده زایمانی باشد (۸). طی تحقیقی روی شترهای ماده عنوان شد که میزان هورمون های تیروئیدی سرم تحت تاثیر آبستنی قرار نمی گیرد (۹). در این بررسی میتوان عنوان کرد کهبه علت افزایش فعالیت متابولیکی در نزدیکی زایمان میزان هورمون های T_3 , T_4 , fT_4 کاهش یافته است، که یکی از دلایل معنی دار نبودن را می توان کم بودن تعداد دفعات نمونه گیری دانست؛ همچنین می توان گفت چون شتر از مقاومت ذاتی بالایی برخوردار است، بنابراین حتی در اواخر آبستنی هم فعالیت های متابولیکی آن افزایش چندانی نمی یابد و نسبت به شتر غیر آبستن تغییرات قابل توجهی نداشته است.

منابع

۱. ناظر عدل، ک.، ۱۳۶۵. پرورش شتر، انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه تبریز، چاپ اول، صفحات ۲۶-۲۴.
۲. نیاورانی، ا.ر.، ۱۳۸۹. فیزیولوژی پزشکی گائتون، انتشارات سمات، تهران، چاپ اول، جلد دوم، صفحات ۱۱۱۷-۱۱۰۲.
3. Abdel-Wahab, M.F., Abdo, M.S., Megahed, Y.M., and El-Mougy, S.A., 1974. Thyroxin content in the thyroid gland of domestic animals. Part VII. Endocrinology. 63: 116-121.
4. Brito, R., torrella, E., and Verdura, T., 1972. Thyroid metabolism in cattle. II. During pregnancy. Revistacubana de ciencias Veterinarians. 3: 71-74.
5. Dalvi, S.H., Deshmukh, B.T., Mantri, A., and Talverkar, B., 1995. Concentration of blood serum Thyroid hormones during late pregnancy parturition and early lactation of crossbred cow. Indian Journal of Animal science. 65: 15-19.
6. Grammar, R.R., 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cow. Journal of dairy science. 76: 3882-3896.
7. Kaneko, J.J., 1989. Clinical Biochemistry of Domestic Animal. 4th ed. Academic Press Inc New York. PP: 835-865.
8. McDonald, B.J., Stocks, D.C., Comell, J.W., and Hoey, W.A. 1988. Thyroxin concentration in maternal and plasma during pregnancy in Australian Feral goats. Journal of Agriculture Science. 110: 25-30.
9. Pande, A.M., Agarwal, S.P., Rai, A.K., and Khanna, N.D., 1997. Studies on circulating levels of thyroid hormones in peri parturient female camel Camelus dromedaries. Indian Journal of Animal Reproduction. 18: 118-120.
10. Todini, L., 2007. Thyroid hormones in small ruminants: effects of endogenous environment and nutritional factors. Journal of Animal Science. 1 (7):997-1008.

Evaluation of the Hypothalamus-Pituitary axis and thyroid function in pregnant and non-pregnant camelus dromedaries

Sajedizhila^{*1}, Omid arash², Montazertorbatimohammad bagher², Ansari nik hossein³

1, 3-Graduate Student, Department of Animal Science, University of Agriculture, Birjand

2- Assistant Professor Department of Animal Science, University of Agriculture, Birjand

*Corresponding E-mail address: Sajedizhila@yahoo.com

Abstract

In order to investigate pituitary-Hypothalamus axis and thyroid function during heavy pregnancy in the camelus dromedaries, blood samples were collected from 20 camels (10 non pregnant and 10 at the last three months of pregnancy). Serum triiodothyronin (T_3), thyroxin (T_4),



free triiodothyronin (fT3), free thyroxin (fT4) and thyroid stimulating hormone (TSH) were measured. An independent sample t-test is used for comparing differences between two groups using SPSS 16 software. Results showed that serum fT4, T3, T4 and TSH were higher in non-pregnant camels rather than pregnant camels; and fT3 levels were higher in pregnant camels than for camels non-pregnant. It is probably due to higher metabolic activity in near of parturition for decreasing of T3, T4 and fT4. As a global conclusion we can say camel has high intrinsic resistance to environmental changes even at the late pregnancy because its metabolic activity shows no significant changes in comparison to non pregnant camel.

Key words: Pituitary-Hypothalamus axis- Thyroid – pregnancy – camelus dromedaries

تأثیر سطوح مختلف صمغ آنگوزه بر میزان پایداری آنتی بادی مادری علیه برونشیت در جوجه‌های گوشتی

حسین تقوی^۱ - خلیل میرزاده^۲ - مسعود قربان پور^۳ - صالح طباطبائی^۲

دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین-اهواز^۱

استادیار دانشکده علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین-اهواز^۲

استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه چمران- اهواز^۳

h.taghavi89@gmail.com

چکیده

این مطالعه جهت بررسی میزان پایداری تیترا آنتی بادی مادری علیه برونشیت در جوجه‌های گوشتی تیمار شده توسط سطوح مختلف صمغ آنگوزه به مدت ۶ هفته با استفاده از ۱۶۰ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ در ۴ تیمار و ۴ تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار در ایستگاه آموزشی تحقیقاتی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان در سال ۱۳۹۰ انجام گرفت. تیمارها شامل ۴ سطح شاهد، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد صمغ آنگوزه بود که به صورت سرک به جیره اضافه شدند. جوجه‌ها هیچ گونه واکسن برونشیتی در کل دوره پرورش دریافت نکردند. در روزهای ۲۸ و ۴۲ روزگی از جوجه‌ها خون گیری به عمل آمد و پس از جدا سازی سرم جهت تیتراسیون آنتی بادی مادری علیه برونشیت به آزمایشگاه فرستاده شد. آنالیز آماری این طرح، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت. در ۲۸ روزگی تیمار دریافت کننده ۰/۳ درصد آنگوزه بطور معنی‌داری میزان تیترا آنتی بادی مادری بالاتری نسبت به تیمار شاهد (۲۲۰۳) در برابر (۱۷۰۹/۵) داشت ($p < 0/05$). همچنین در ۴۲ روزگی نیز تیمار دریافت کننده ۰/۳ درصد آنگوزه نسبت به تیمار شاهد، بطور معنی‌داری تیترا بالاتری (۱۷۷۸) در برابر (۱۳۸۴/۵) را نشان داد ($p < 0/05$).

واژه‌های کلیدی: صمغ آنگوزه- برونشیت- آنتی بادی مادری- جوجه گوشتی.

مقدمه

امروزه انتقال، نگهداری و مصرف نادرست واکسن‌ها و همچنین آنتی‌بیوتیک‌ها موجب خسارت‌های جبران ناپذیری به مرغداران شده است (۷). با توجه به اثرات سوء آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی بدن و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در طیور و با ممنوع شدن استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در سال ۲۰۰۶ و همچنین با توجه به ترویج اخیر وزارت جهاد کشاورزی مبنی بر پرورش مرغ بدون آنتی‌بیوتیک و نیز تمایل مردم به استفاده از گیاهان دارویی به جای داروهای شیمیایی، استفاده از این دسته از افزودنی‌ها که ضمن حفظ ویژگی‌های مطلوب، فاقد تبعات سوء بهداشتی و زیست محیطی می‌باشند، سال‌هاست مورد توجه همه‌ی پژوهش‌گران قرار گرفته است (۱ و ۵). با توجه به درگیری سیستم تنفسی در بیماری برونشیت و سایر بیماری‌های تنفسی، استفاده از موادی با قابلیت رفع‌کنندگی بیماری‌های تنفسی و تقویت‌کننده‌ی سیستم ایمنی در جیره، لازم به نظر می‌رسد. بررسی‌های انجام شده بر روی گیاهان دارویی، نشان دهنده‌ی این است که پلی‌ساکاریدهای موجود در این گیاهان، محرک سیستم ایمنی در طیور می‌باشند، به طوری که باعث افزایش آنتی‌بادی می‌گردند (۲ و ۵). گیاه آنگوزه از تیره‌ی چتریان (Umelliflorae) و جنس Ferula می‌باشد که تیره‌ی چتریان گیاهانی اکثراً علفی دوساله یا چند ساله، با ساقه‌های میان‌تهی، برگ‌های متناوب و دارای تقسیمات زیاد و غلاف پهن، گل‌آذین چتری، گل‌ها دوجنسی و میوه دو فندق می‌باشند (۳).

مواد و روش‌ها

این مطالعه جهت بررسی میزان پایداری تیترا آنتی بادی مادری علیه برونشیت توسط سطوح مختلف صمغ آنقوزه در جوجه‌های گوشتی به مدت ۶ هفته با استفاده از ۱۶۰ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ در ۴ تیمار و ۴ تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار در ایستگاه آموزشی تحقیقاتی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین در سال ۱۳۹۰ انجام گرفت. تیمارها شامل ۴ سطح شاهد، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد صمغ آنقوزه بود که به صورت سرک به جیره اضافه شدند. در روزهای ۲۸ و ۴۲ روزگی از جوجه‌ها خون گیری به عمل آمد و پس از جدا سازی سرم جهت تعیین تیترا آنتی بادی به آزمایشگاه فرستاده شد. آنالیز آماری این طرح با نرم‌افزار آماری SAS و در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت (۹).

نتایج و بحث

با توجه به جدول شماره ۱، در ۲۸ روزگی تیمار دریافت کننده ۰/۳ درصد آنقوزه بطور معنی‌داری میزان تیترا آنتی بادی مادری بالاتری (۲۲۰۳) نسبت به تیمار شاهد (۱۷۰۹/۵۰) داشت ($p < 0/05$). همچنین بین تیمار ۰/۲ (۱۹۵۱/۲۵) و ۰/۳ نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. همچنین در ۴۲ روزگی بین سطح شاهد (۱۳۸۴/۵۰) و سطح ۰/۱ (۱۵۲۲/۷۵) با سطح ۰/۳ (۱۷۷۸) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$). با توجه به جدول ۱ سطح ۰/۳ درصد صمغ آنقوزه در ۲۸ و ۴۲ روزگی دارای بیشترین تیترا بود. به نظر می‌رسد اسید فرولیک موجود در صمغ آنقوزه باعث پایداری بیشتر تیترا مادری جوجه‌ها شده است. در بررسی انجام شده در خصوص اثر صمغ و واکسن برونشیت در جوجه‌های گوشتی، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (۸). در بررسی دیگری که تاثیر آنتی‌بیوتیک بر روی تیترا آنتی‌بادی، جیره دریافت کننده تیمار کنترل دارای تیترا بالاتری نسبت به بقیه بود که مخالف با تحقیق ما بود (۶).

جدول ۱- تیترا آنتی‌بادی مادری متعاقب استفاده از صمغ آنقوزه

درصد آنقوزه	۲۸ روزگی	۴۲ روزگی
شاهد	۱۷۰۹/۵۰ ^c	۱۳۸۴/۵۰ ^b
۰/۱	۱۸۹۷/۷۵ ^{bc}	۱۵۲۲/۷۵ ^b
۰/۲	۱۹۵۱/۲۵ ^b	۱۵۷۶/۲۵ ^{ab}
۰/۳	۲۲۰۳ ^a	۱۷۷۸ ^a
SEM	۶۶/۵۹	۶۶/۵۹

SEM خطای استاندارد میانگین

حروف غیر مشابه نشان دهنده معنی دار بودن می باشد.

منابع

۱. آنقوزه. قابل بازیابی در: <http://WWW.Wikipedia.org>

۲. تیموری زاده، ز.، ش. رحیمی، و م.ا. کریمی ترشیزی. ۱۳۸۷. مقایسه‌ی اثر افزودن سه عصاره‌ی گیاهی و آنتی بیوتیک ویرجینامایسن بر سیستم ایمنی جوجه های گوشتی نر سویه راس. مجموعه مقالات سومین کنگره‌ی علوم دامی کشور. دانشگاه فردوسی مشهد.

۳. عیدی، ا. ۱۳۸۵. گیاهان داروئی ایران، دانشگاه آزاد اسلامی - واحد علوم و تحقیقات. صص ۱۲۷-۱۱۴.

4. Dong, X.F., W.W. Gao, J.M. Tong, H.Q. Lia, R.N. Sa and Q. Zhang 2007. Effect of polysavone (Alfa Alfa Extract) on abdominal fat deposition and immunity in broiler chickens. Poultry Science. 4: 1955-1959.
5. Fatehi, M.F., Z. Farifteh and J. Fatehi- Hassanabad 2004. Antispasmodic and hypotensive effects of Ferula asafoetida gum extract. [J. Ethnopharmacol](#), 3: 321-324.
6. Ghareeb, K., W.A. Awad and J. Bohm. 2012. Ameliorative effect of a microbial feed additive on infectious bronchitis virus antibody titer and stress index in broiler chicks fed deoxynivalenol. Poultry Science. 7:800-807.
7. Liu, X.Y. 1999. Stress and Immunity in poultry. 22: 230-252.
8. Osadci, W. 2011. The immunological efficiency of vaccine Ma5+clon30 administrated by spray method separate and in combination with the hydro alcoholic solution of propolis. Bulletin UASVM, Veterinary Medicine 68(2).
9. SAS, 2004. SAS /SATA. User Guide for Personal Computer releas 618 SAS institute, Inc carry, NC., USA.

Effect of different levels of F.assa foetida gum on stability of maternal antibody titration against bronchitis in broiler chickens

Taghavi¹. H., Mirzadeh². Kh., Ghorban Pour³. M., Tabatabaei².S

1-M.S.C Student, Department of animal since, Ramin agriculture and natural recoses university, Ahvaz, Iran

2-Assistant professors, Department of animal since, Ramin agriculture and natural recoses university, Ahvaz, Iran

3-Professors, Department of animal since, Ramin agriculture and natural recoses university, Ahvaz, Iran

Taghavi. H h.taghavi89@gmail.com

Absract

This study was done for evaluation the stability of maternal antibody titration against bronchitis in broiler chickens. 160 day-old of broiler chickens ross strain 308 in 4 treatments, 4 replicates and 10 birds in each replicate was treated by different level of F.assa foetida gum for 6 weeks with in educational- research station's of Khouzestan Ramin agriculture and natural resources university in the year of 1390. The treatments were include 4 levels of control, 0.1, 0.2 and 0.3 percentage of F assa foetida gum that top dress were added to diet. The chickens don't receive any bronchitis vaccine during total breeding period. The bloods were taken from chicken at 28 and 42 days of age and the serum separated for evaluation of antibody titer. Statistical



analysis was performed with sas statistical software, and in a completely randomized design and comparison averages with the Duncan multiple ranges is done. In 28 days of age, the %0.3 F.assa foetida treatment was rather than control treatment (2203 vs 1709.5) and showed significant different ($P<0.05$). in 42 days of age too, receiving treatment 0.3 F.assa foetida showed significant differences other than (1778 vs 1384.5) control treatment ($P<0.05$).

Key words: F.assa foetida gum- Bronchitis- Maternal antibody - Broiler chickens.

تأثیر سطوح مختلف صمغ آنقوزه بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون در جوجه های گوشتی

حسین تقوی^۱ - خلیل میرزاده^۲ - مسعود قربان پور^۳ - صالح طباطبائی^۲

دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین-اهواز^۱

استادیار دانشکده علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین-اهواز^۲

استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه چمران- اهواز^۳

h.taghavi89@gmail.com

چکیده

این مطالعه جهت بررسی تأثیر سطوح مختلف صمغ آنقوزه بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون (گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، LDL و HDL) در جوجه های گوشتی به مدت ۶ هفته با استفاده از ۱۶۰ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ در ۴ تیمار و ۴ تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل ۴ سطح شاهد، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد صمغ آنقوزه بود که به صورت سرک به جیره اضافه شدند. در پایان دوره آزمایش از هر واحد آزمایشی ۲ جوجه به طور تصادفی انتخاب و خون گیری به عمل آمد. نمونه های خون پس از جداسازی سرم به آزمایشگاه انتقال داده شد. آنالیز آماری این طرح، با استفاده از نرم افزار آماری SAS و در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن انجام گرفت. در این مطالعه در بین فاکتورهای گلوکز، LDL و HDL تیمارهای مختلف، تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$)، اما بین تیمار شاهد و سطح ۰/۳ درصد در فاکتورهای کلسترول و تری گلیسرید اختلاف معنی داری مشاهده شد. ($p < 0.05$).

واژه های کلیدی: صمغ آنقوزه- گلوکز- کلسترول- تری گلیسرید- جوجه گوشتی.

مقدمه

با توجه به اثرات سوء آنتی بیوتیک ها بر روی بدن و مقاومت آنتی بیوتیکی در طیور و یا ممنوع شدن استفاده از آنتی بیوتیک های محرک رشد در سال ۲۰۰۶ و همچنین با توجه به ترویج اخیر وزارت جهاد کشاورزی مبنی بر پرورش مرغ بدون آنتی بیوتیک و نیز تمایل مردم به استفاده از گیاهان دارویی به جای داروهای شیمیایی، استفاده از این دسته از افزودنی ها که ضمن حفظ ویژگی های مطلوب، فاقد تبعات سوء بهداشتی و زیست محیطی می باشند، سال هاست مورد توجه همه ی پژوهشگران قرار گرفته است (آنغوزه، ویکیدیا و فاتحی و همکاران، ۲۰۰۴). یکی از این دسته افزودنی ها، گیاهان دارویی با خاصیت تقویت سیستم ایمنی، خاصیت آنتی اکسیدانی و خاصیت آنتی بیوتیکی است که باید بیشتر مورد بررسی قرار گیرند. گیاه آنغوزه از تیره ی چتریان (Umelliflorae) و جنس Ferula می باشد که تیره ی چتریان گیاهانی اکثراً علفی دوساله یا چند ساله، با ساقه های میان تهی، برگ های متناوب و دارای تقسیمات زیاد و غلاف پهن، گل آذین چتری، گل ها دوجنسی و میوه دو فندق می باشند (عیدی، ۱۳۸۵). پراکنش آن در ایران در خراسان، بلوچستان (دامنه های تفتان)، کرمان و جنوب فارس است (آنغوزه، ویکیدیا و عیدی، ۱۳۸۵). شیرهای شیری رنگ با بوی بسیار قوی که از ریشه ی گیاه بر اثر تیغ زدن به دست می آید، اولئوگم رزین بسیار با ارزشی است که مصارف دارویی و صنعتی فراوانی دارد. نوع اشکی (مرغوب) این گیاه حاوی فرولیک اسید و اسانس فرار است.

طعم گس و بوی شبیه سیر آنغوزه به علت وجود اسانس های سولفور ه است که در اثر اکسیداسیون تبدیل به سزکوئی ترین می شود که بوئی همانند بوی اسطوخودوس دارد. ترکیبات گوگرد دار موجود در اسانس گیاه، از تولید چربی در بیماران با چربی خون بالا ممانعت می کند. آنغوزه ی شیرین، بیشتر مصرف خوراکی و آنغوزه ی تلخ بیشتر مصرف صنعتی دارد. برداشت آنغوزه در مناطقی که دارای ۲۰ بوته در هکتار باشند، مجاز می باشد و در اواسط فصل بهار آغاز می گردد. طول دوره ی بهره برداری از آنغوزه ۸۰ روز است (آنغوزه، ویکیپدیا و عیدی، ۱۳۸۵). به طور کلی خواص دارویی این گیاه عبارتند از:

ضد اسپاسم، ضد کم خونی، معطر، ضد نفخ، هضم کننده، خلط آور، ملین، مسکن، آرام بخش، بی حس کننده، ضد کرم روده، تقویت کننده ی غریزه ی جنسی، ضد عفونی کننده و خاصیت آنتی اکسیدانی (خون ویک و همکاران، ۱۳۸۷ و عیدی، ۱۳۸۵).

مواد و روش ها

این مطالعه جهت بررسی تاثیر سطوح مختلف صمغ آنغوزه بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون (گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، LDL و HDL) در جوجه های گوشتی به مدت ۶ هفته با استفاده از ۱۶۰ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ در ۴ تیمار و ۴ تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار در ایستگاه آموزشی تحقیقاتی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین (خوزستان) در سال ۱۳۹۰ انجام گرفت. تیمارها شامل ۴ سطح شاهد، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد صمغ آنغوزه بود که به صورت سرک به جیره اضافه شدند. در پایان دوره آزمایش (۴۲ روزگی)، از هر واحد آزمایشی ۲ جوجه به طور تصادفی انتخاب و جهت بررسی فاکتورهای فوق، خون گیری از ورید بال انجام و پس از سانتریفیوژ کردن، سرم جدا سازی و به آزمایشگاه فرستاده شد. آنالیز آماری این طرح با نرم افزار آماری SAS و در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

به منظور تعیین بهترین سطح آنغوزه برای استفاده در طیور با توجه به جدول شماره ۱ در بین فاکتورهای گلوکز، LDL و HDL بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری مشاهده نشد. فاکتور گلوکز در تیمار ۰/۳ درصد دارای بیشترین مقدار و در تیمار شاهد دارای کمترین مقدار می باشد. دو فاکتور HDL و LDL در تیمار دریافت کننده ۰/۱ درصد صمغ، دارای بیشترین مقدار و در تیمار دریافت کننده ۰/۲ درصد صمغ، دارای کمترین مقدار می باشد ($p > 0.5$). تری گلیسرید و کلسترول در تیمار دریافت کننده ۰/۳ درصد صمغ دارای کمترین مقدار و تفاوت معنی داری با تیمار شاهد را نشان داد ($p < 0.5$). در بررسی های مشابه که بر روی خواص شیمیایی گیاهان انجام گرفت، نشان داده شد گیاهان دارای خواص کاهش کلسترول خون می باشند. به نظر می رسد که این کاهش در سطح کلسترول به علت وجود ترکیبات سولفور ه موجود در صمغ آنغوزه باشد که باعث کاهش برخی از هورمون هائی که در سنتز یا اکسیداسیون اسید چرب نقش دارند را می شود (در بررسی اثر گشنیز از خانواده آنغوزه بر روی عملکرد و کلسترول خون، تیمار دریافت کننده ۱٪ گشنیز دارای کمترین سطح و اختلاف معنی داری با تیمار شاهد بود اما سطح بالاتر (۱/۵٪)، اختلاف معنی داری را با تیمار شاهد نشان نداد). در بررسی تاثیر کومارین بر روی ترکیب شیمیایی برخی بافت ها در جوجه های گوشتی، تیمار دریافت کننده بیشترین مقدار کومارین دارای تفاوت معنی داری در تری گلیسرید و کلسترول در مغز و کبد بود اما در مورد گلوکز تنها در کلیه تفاوت مشاهده شد.

جدول ۱- اثر تیمارهای مختلف غذایی بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون (میلی گرم در دسی لیتر)

HDL	LDL	تری گلیسرید	کلسترول	گلوکز	درصد آنقوزه
۹۶/۰۰	۱۳/۱۰	۱۰۵/۲۵ ^a	۱۲۸/۵۰ ^a	۱۹۶/۱۳	شاهد
۱۰۹/۸۸	۲۲/۸۳	۹۷/۸۸ ^a	۱۰۶/۶۳ ^{ab}	۲۲۰/۶۳	۰/۱
۹۱/۲۵	۸/۴۸	۶۶/۸۸ ^{ab}	۸۹/۶۳ ^{ab}	۲۱۲/۷۵	۰/۲
۹۳/۷۵	۱۳/۸۸	۳۹/۵۰ ^b	۵۴/۷۵ ^b	۲۳۷/۶۳	۰/۳
۱۲/۱	۹/۱	۱۲/۱	۱۶/۸	۱۹/۱	SEM

SEM میانگین خطای استاندارد

حروف غیر مشابه نشان دهنده معنی دار بودن می باشد.

منابع

۱. آنقوزه. قابل بازیابی در: <http://WWW.Wikipedia.org>
۲. عیدی، ا. ۱۳۸۵. گیاهان داروئی ایران، دانشگاه آزاد اسلامی - واحد علوم و تحقیقات. صص ۱۱۴-۱۲۷.
۳. خونویک، ب. و وینگ، م. ۱۳۸۷. بهترین گیاهان داروئی جهان، صفایی خرم، م.، جعفرنیا، س. و خسروشاهی، س. انتشارات مجتمع آموزش کشاورزی سبز ایران. صص ۹۶-۹۷
4. Fatehi, M.F., Z. Farifteh and J. Fatehi- Hassanabad 2004. Antispasmodic and hypotensive effects of Ferula asafoetida gum extract. *J. Ethnopharmacol*, 3: 321-324.
5. Shadia, A. radwan 2005. Evoked alteration in some biochemical parameters and protein electrophoretic pattern of some tissue of broiler chicken treated with coumarin. *J. hospital medicine*, 21:176 – 190.
6. Galib, A.M. Al-Kassi 2010. Effect of feeding cumin (cuminum cyminum) on the performance and some blood traits of broiler chicks. *J. nutrition of Pakistan*, 3: 72 - 75.
7. SAS, 2004. SAS /SATA. User Guide for Personal Computer releas 618 SAS institute, Inc carry, NC., USA.

The effect of F. Assa foetida gum different levels on some of biochemical factors in broiler chickens

Taghavi¹. H., Mirzadeh². Kh., Ghorban Pour³. M., Tabatabaei².S

1-M.S.C Student, Department of animal since, Ramin agriculture and natural recoses university, Ahvaz, Iran

2-Assistant professors, Department of animal since, Ramin agriculture and natural recoses university, Ahvaz, Iran

3-Professors, Department of animal science, Ramin agriculture and natural resources university, Ahvaz, Iran
Taghavi. H h.taghavi89@gmail.com

Abstract

The aim of the present study was to examine the effects of *F. Assa foetida* gum different levels on some of biochemical factors (glucose, cholesterol, triglyceride, LDL and HDL) in broiler chickens by A total of 160 Ross chicks were distributed into 16 groups of 10 in each, comprising 4 replicates per treatment in 6 weeks. Treatments were include 4 levels of control, 0.1, 0.2 and 0.3 percentage of *F. Assa foetida* gum that they are added to diet add dress form. 2 chicks are selected from each experimental unit randomly and blood sample were taken. After separation of blood serum, samples were transferred to the laboratory. Statistical analysis of this plan performed with SAS statistical software and a completely randomized design in Comparison with the Duncan test. In this study, Differences between glucose, LDL and HDL factors of different treatments, didn't significant ($p>0.05$), but in the cholesterol and triglyceride factors between control and level of 0.3 percentage treatment, was significant ($p<0.05$).

Key words: *F. Assa foetida* gum- Glucose - Cholesterol- Triglyceride- Chicken broilers.



بررسی اثر حجامت بر سطح فاکتورهای هماتولوژی در گوسفند

زهرا آئینی^{۱*}، امین افصحی^۲، مرتضی یآوری^۳ و حسین رضوان^۴

۱- دانشجوی کارشناسی علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا همدان، ۲- دانشجوی کارشناسی بهداشت مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا همدان، ۳- استادیار، گروه دامپزشکی، دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا همدان، ۴- استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا همدان

*نویسنده مسئول: زهرا آئینی، ایمیل: Zahra.aeini213@yahoo.com

چکیده

حجامت یک روش درمانی آزموده شده است که به صورت ایجاد مکش در مواضع خاصی از بدن و خونگیری از آن مواضع انجام می شود. علیرغم تاثیر گذار بودن حجامت در پیشگیری و درمان بیماری های انسانی از گذشته تا به حال، مکانیسم حقیقی و نحوه تاثیر گذاری آن، کاملاً شناخته شده نیست. در این مطالعه برای اولین بار تاثیر حجامت بر برخی فاکتورهای هماتولوژیک مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق ۱۶ راس میش نژاد مهربان با محدوده سنی ۲-۴ سال به صورت تصادفی به ۲ گروه ۸ تایی شاهد و آزمایش تقسیم شدند. در گروه آزمایش، ابتدا پشم ناحیه ساکرال گوسفند اصلاح شده و حجامت در ناحیه ساکرال انجام شد. قبل از شروع آزمایش و در روزهای ۳، ۷ و ۱۸ پس از انجام حجامت از دو گروه شاهد و آزمایش نمونه گیری از ورید و داج صورت پذیرفت و فاکتورهای RBC، هموگلوبین، MCV، MCH، MCHC و پلاکت مورد سنجش قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری نتایج بدست آمده اختلاف معنی داری را بین فاکتورهای بررسی شده در بین دو گروه شاهد و آزمایش نشان نداد. کلمات کلیدی: حجامت- گوسفند- هماتولوژی- مدل حیوانی

مقدمه

حجامت یک روش درمانی آزموده شده است که بر اساس قدیمی ترین سند موجود، از ۳۳۰۰ سال قبل از میلاد مسیح در مقدونیه انجام می شده است (۴). این عمل به صورت ایجاد مکش در مواضع خاصی از بدن و خونگیری از آن مواضع انجام می شود. زمانی که بادکش به تنهایی ایجاد شود حجامت گرم و خشک (Dry Cupping) نامیده می شود و در صورتی که پس از بادکش بوسیله ایجاد خراش سطحی روی پوست در سطح اپی درم و بادکش مجدد، از بدن خون گرفته شود حجامت تر (Wet Cupping) نامیده می شود (۱،۳). علیرغم تاثیر گذار بودن حجامت در پیشگیری و درمان بیماری های انسانی از گذشته تا به حال، مکانیسم حقیقی و نحوه تاثیر گذاری آن، کاملاً شناخته شده نیست و فرضیات و هیپوتزهای متعددی پیرامون آن مطرح است (۱). شاید یکی از دلایل این مطلب، محدودیت های پیش رو در نمونه گیری و جلب رضایت افراد داوطلب و عدم وجود مدل آزمایشگاهی حجامت برای اثبات نحوه تاثیر گذار بودن این روش در سیستم ها و ارگان های فیزیولوژیک، بیومکانیک، بیوفیزیک، بیوشیمی، ایمنولوژی، هماتولوژی، هورمونی، سایکولوژی و نورولوژی باشد. مطالعه حاضر برای اولین بار به منظور بررسی تاثیر حجامت بر روی برخی فاکتورهای هماتولوژی گوسفند، هم به عنوان یک مدل حیوانی حجامت درمانی جهت مطالعات انسانی و هم به عنوان یک روش پیشگیری و درمانی ارزان و بدون عوارض جانبی در درمان بیماری های دام طراحی و اجرا گردید. مواد و روش ها:

این مطالعه بر روی ۱۶ راس میش نژاد مهربان با محدوده سنی ۲-۴ سال در ایستگاه تحقیقاتی عباس آباد دانشگاه بوعلی سینا اجرا شد. میش ها در طی آزمایش با جیره استاندارد و یکسان تغذیه شدند. سپس گوسفندان بر اساس شماره گوش به صورت تصادفی به ۲



گروه ۸ تایی شاهد و آزمایش تقسیم شدند. در گروه آزمایش، ابتدا پشم ناحیه ساکرال گوسفند به وسیله پشم چین اصلاح گردید. سپس گوسفند را به پهلو خوابانده و پس از ۵ دقیقه بادکش گذاری در ناحیه ساکرال، با استفاده از تیغ بیستوری استریل شماره ۱۵ حدود ۴۰ خراش به عمق حداکثر ۳/۵ میلیمتر و طول ۰/۵ سانتیمتر در ناحیه مذکور ایجاد شد. پس از ایجاد خراش نیز یک مرحله بادکش به مدت ۳ دقیقه انجام و خون خارج شده پاک گردید. در پایان کار محل حجامت پانسمان گردید. در روزهای ۷، ۳، ۰ و ۱۸ آزمایش از گوسفندان نمونه خون از ورید و داج گرفته شده و به لوله حاوی ماده ضد انعقاد اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) برای سنجش RBC، هموگلوبین، MCV، MCH، MCHC و پلاکت انتقال یافت. اندازه گیری RBC، هموگلوبین، MCV، MCH، MCHC و پلاکت همه نمونه ها با استفاده از دستگاه سل کانتر Diatron انجام پذیرفت. داده های بدست آمده به وسیله نرم افزار SPSS و آزمون تی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

نتایج بدست آمده در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. در تجزیه و تحلیل آماری اختلاف معنی داری از نظر افزایش در RBC، هموگلوبین، MCV، MCH، MCHC و پلاکت در نمونه قبل از آزمایش و روزهای ۷، ۳ و ۱۸ پس از حجامت بین دو گروه شاهد و آزمایش مشاهده نگردید.

در این مطالعه برای اولین بار اثر حجامت (wet cupping) بر شاخص های خونی مانند RBC، هموگلوبین، MCV، MCH، MCHC و پلاکت گوسفند مورد بررسی قرار گرفت. با وجود قدمت حجامت در طب سنتی، تحقیقات اندکی در خصوص مکانیزم های درگیر در تاثیر این عمل بر بدن انجام گرفته است که این تحقیقات نیز فقط در نمونه های انسانی صورت پذیرفته است. در این مطالعه برای اولین بار، اثر حجامت بر برخی فاکتورهای هماتولوژی گوسفند مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق تغییرات معنی داری در شاخص های هماتولوژی بررسی شده در گوسفندان حجامت شده و گروه شاهد در مدت ۱۸ روز پس از حجامت نشان نداد. عدم تاثیر منفی حجامت بر میزان RBC، هموگلوبین، MCV، MCH، MCHC و پلاکت در گوسفند، راه را برای تحقیقات بعدی در مورد این روش درمانی در دامپزشکی و پزشکی با استفاده از حیوانات هموار ساخته است.

جدول شماره ۱- مقایسه سطح ^1MCH ، ^2MCV ، ^3HCT ، ^4HGB ، ^5RBC و ^6MCHC در روزهای ۷، ۳، ۰ و ۱۸ در دو گروه

شاهد و آزمایش

شاخص های اندازه گیری شده						گروه	روز
MCHC	MCH	MCV	HCT	HGB	RBC		
18 ± 0.32 ۳۰	8.3 ± 0.24	11 ± 0.65 ۲۷	7 ± 0.91 ۴۰	5 ± 0.36 ۱۲	11 ± 0.41 ۱۵	آزمایش	۰
18 ± 0.31 ۳۰	8.3 ± 0.13	8 ± 0.63 ۲۷	40.6 ± 1.1	3 ± 0.29 ۱۲	6 ± 0.51 ۱۴	شاهد	
31.7 ± 0.4	8.7 ± 0.17	3 ± 0.59 ۲۷	9 ± 0.93 ۴۰	13 ± 0.35	9 ± 0.49 ۱۴	آزمایش	۳

شاهد	۱۴±۰/۳۵	۴±۰/۲۱	۳±۰/۴۵	۱±۰/۴۸	۸/۸±۰/۱۶	۳±۰/۲۷
آزمایش	±۰/۳۴	۹±۰/۳۷	۳۷/۷±۱/۲	۷±۰/۶۲	۸/۷±۰/۱۷	۳۱/۵±۰/۳
شاهد	±۰/۴۱	±۰/۲۵	±۰/۸	±۰/۴۴	±۰/۱۲	±۰/۲۹
آزمایش	±۰/۴۴	±۰/۴۷	۳۹/۶±۱/۳	۲۷/۱±۰/۴	۸/۵±۰/۱۵	۶±۰/۱۴
شاهد	±۰/۳۶	۱۲±۰/۲۴	±۰/۶۴	±۰/۲۷	±۰/۱۴	±۰/۳۳
	۱۳/۹		۳۸/۷	۲۷/۷	۸/۶	۳۰/۹

۱: هموگلوبین متوسط گویچه ای

۴: هموگلوبین

۲: حجم متوسط گویچه ای

۵: گلبول قرمز خون

۳: هماتوکریت (درصدی از حجم کلی خون)

۶: غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز

منابع

- ۱- ظریف کارا، امیرغفران، ز. حبیبی، ح. منصوری، ر. (۱۳۸۹). "بررسی اثر حجامت بر سطح سرمی آنتی بادی های علیه آنتی ژن HBS بعد از تزریق واکسن هپاتیت B". طب سنتی اسلام و ایران. ۱(۳): ۲۵۹-۲۶۳
- ۲- واعظ مهدوی، م. دانیالی، ف. غضنفری، ط. ناصری، م. (۱۳۸۸). "مقایسه خون وریدی و خون حاصل از حجامت از نظر فاکتورهای بیوشیمیایی و هماتولوژی و پاسخ های ایمنولوژیک". فیزیولوژی و فارماکولوژی. ۱۳(۱): ۷۸-۸۷

- 3-Ahmed, SM. Madbouly, NH. Maklad, SS. Abu-Shady, EA.(2005). "Immunomodulatory effects of blood lettingcuppingtherapy in patients with rheumatoid arthritis". Egypt J Immunol.12(2):39-51.
- 4-Niasari,N.Kosari,F.Ahmadi,A.(2007)" The Effect of Wet Cupping on Serum Lipid Concentrations of Clinically Healthy Young Men: A Randomized Controlled Trial". ALTERNATIVE AND COMPLEMENTARY MEDICINE.1:79-82
- 5-Zhang CQ. Liang TJ. Zhang W(2006)."Effects of drug cuppingtherapy on immune function in chronic asthmatic bronchitis patients during protracted period".ZhongguoZhong Xi Yi Jie He ZaZhi.26(11):984-7.

Effect of wet cupping on hematological parameters in sheep
Zahra Aeini^{1*}, Amin Afsahi², Morteza Yavari³, Hossein Rezvan⁴

1. Student Laboratory Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Bu Ali Sina University in Hamedan. 2. Student of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Bu Ali Sina University in Hamedan. 3. Assistant Professor, Department of veterinary, School of Veterinary Medicine, Bu-Ali Sina University in Hamedan 4- Assistant Professor, Department of Laboratory Medicine, School of Veterinary Medicine, Bu-Ali Sina University in Hamedan
* Corresponding E-mail address : Zahra.aeini213@yahoo.com

Abstract

Cupping is a tested way that is done by suction and bloodletting on certain position on the body. In despite of its influence in prevention and treatment of human-sick from many years ago its mechanism and effects hasn't been known until now. As we know, this study was performed for the first time to show the effects of the wet cupping on some hematological parameters in animal models. In this study, 16 Mehraban ewes aged 2-4 years old were randomly divided into 2 groups (n=8). In the experimental group, the wool of sacral region was modified firstly, and then cupping has been done. At the start day of the experiment and in 3th, 7th and 18th days after cupping, the blood samples were taken from the jugular vein of both groups and hematological factors such as RBC, hemoglobin, MCV, MCH, MCHC, and platelets were measured. Statistical analysis of given results did not show any significant differences in analyses factors between the two studied groups.

Keywords: wet cupping - sheep-Hematology- Animal Model

اثر عصاره هیدرو الکلی گلبرگ زعفران (*Crocus sativus* L.) بر سلامت کبد و کلیه گوسفند بلوچی

صدیقه راهداری^{۱*}، آرش امید^۱، محمد حسن پور فرد^۲

۱- دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، ۲- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

* s.rahdari143@gmail.com

چکیده

هدف از مطالعه حاضر اثر عصاره هیدروالکلی گلبرگ زعفران (*Crocus sativus* L.) بر کلیه و کبد گوسفند بلوچی بود. در این مطالعه تعداد ۱۴ گوسفند نژاد بلوچی نر سالم، در سن حدود ۴ تا ۵ ماهه مورد استفاده قرار گرفتند. آزمایش به مدت ۱۵ روز با ۳ تیمار و ۴ تکرار انجام شد. عصاره گلبرگ زعفران در دوزهای ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در گوسفندان به صورت خوراکی و در دو نوبت تجویز شد. نمونه خون در دو نوبت در روز ششم و چهاردهم از ورید وادج گرفته شد. نتایج نشان داد که عصاره گلبرگ زعفران اثر معنی داری بر آنزیم های کبدی BUN, AST, ALT, ALP, GGT، اوره و کراتینین (شاخص های عملکرد کلیه) در هر سه گروه مورد مطالعه (۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) نداشته است. نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی گلبرگ زعفران با دوزهای داده شده تأثیری بر کبد و کلیه نداشته است.

واژه های کلیدی: کبد- کلیه- گلبرگ زعفران- گوسفند بلوچی

مقدمه

کبد یک اندام پیچیده و بزرگ است که نقش اصلی آن طراحی و مدیریت متابولیسم کربوهیدرات، پروتئین و چربی است. حفظ ثبات سطح گلوکز خون توسط برداشت و ذخیره سازی گلوکز به صورت گلیکوژن (گلیکوژنولیز)، شکستن گلیکوژن در مواقع نیاز به گلوکز (گلیکوژنولیز) و تشکیل گلوکز از منابع غیرکربوهیدراتی نظیر اسیدهای آمینه (گلوکونئوز) از وظایف کبد به شمار میرود (۷). کلیه ها هم اندام تنظیمی و هم اندام دفعی به شمار می روند. کلیه ها به واسطه دفع آب و مواد محلول، بدن را از آب زیادی و فرآورده های زاید خلاص می کنند. کلیه ها چند عملکرد اصلی دارند که شامل: تنظیم اسمولالیت و حجم های مایعات بدن، تنظیم تعادل الکترولیت ها، تنظیم تعادل اسید و باز، دفع فرآورده های متابولیک و مواد خارجی و تولید و ترشح صفرا (۱). طب سنتی از گیاهان متنوعی برای درمان طیف وسیعی از بیماریها نظیر بیماریهای التهابی، دیابت ملیتوس و بسیاری از اختلالات کبدی و کلیوی استفاده میکند. استفاده از گیاهان، نقش مهمی در درمان بیماریها داشته و تقریباً در همه ی کشورهای دنیا مرسوم بوده است. گیاهان دارویی از زمان باستان در آسیا، آفریقا، اروپا و آمریکا برای درمان بیماریها مورد استفاده بوده اند. (۴). زعفران (*Crocus sativus* L.) گیاهی است چندساله، پایا و گلدار از تیره زنبق که فراورده تجارتي آن شامل کلاله و ناحیه انتهایی خامه گل گیاه میباشد. کلاله زعفران سرشار از ریوفلاوین است. رنگ قرمز مایل به نارنجی کلاله مربوط به کروسین است. پیکروکروسین و سافرانال از دیگر ترکیبات کلاله هستند که به ترتیب باعث طعم تلخ و بوی خاص آن می شود. از مواد شیمیایی موجود در گلبرگ نیز میتوان به کوئرستین و دلفینیدین اشاره نمود. در طب سنتی اثراتی مانند افزایش دهنده قوای جنسی، ضد درد و تب، رفع جوش و خارش، مسکن سرفه و قاعده آور را به آن نسبت می دهند. در مطالعات فارماکولوژیک اثر ضد

توموری، گیرنده رادیكالهای آزاد، کاهش دهنده مقدار چربی خون و افزایش حافظه و یادگیری از آن دیده شده است. (۲). نتایج تحقیق مهاجری و همکاران نقش محافظتی عصاره الکلی کلاله زعفران برسمیت کبدی ریفامپین را تصدیق می کند، به طوریکه اثرات محافظتی فوق با اثرات داروی استاندارد سیلیمارین در این زمینه برابری نموده و قابل قیاس می باشد. (۶). مهاجری و همکاران همچنین نشان دادند که موشهای تیمار شده با عصاره تام زعفران افزایش معنی دار آنزیمهای شاخص آلانین ترانس آمیناز (ALT) و آسپارات ترانس آمیناز (AST) را نشان دادند که حاکی از بروز آسیب در بافت کبد می باشد و همچنین عصاره تام زعفران افزایش معنی داری را در سطوح سرمی اوره، اسیداوریک و کراتینین نیز نشان دادند که نشانگر آسیب و اختلال عملکرد کلیه ها می باشد (۵). با توجه به اینکه گلبرگهای زعفران که غنی از آنتوسیانین و فلاونوئید هستند و هر ساله به مقدار زیادی در ریخته می شوند در صورت استفاده درمانی می تواند سود اقتصادی عمده ای را به دنبال داشته باشد.

مواد و روش ها

تعداد ۱۴ گوسفند نژاد بلوچی نر سالم، در سن حدود ۴ تا ۵ ماهه با رنگ سفید در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. میانگین وزن بره ها در شروع آزمایش 38.4 ± 1.04 کیلوگرم بود. از بدو ورود بره ها و قبل از شروع دوره عادت پذیری، از قرص های ضد انگل آلبندازول و فلوکسامید یک عدد به ازای هر ۲۵ کیلوگرم وزن و دایورمکتین به صورت تزریقی استفاده شد. برای عصاره گیری از روش خیساندن استفاده شد. زعفران از مزارع تربت حیدریه تهیه شد. ابتدا گلبرگ از کلاله و پرچم ها جدا شده، و در سایه خشک شدند. در مرحله بعدی گلبرگ ها آسیاب شدند. ۵۰ گرم گلبرگ پودر شده توزین شد و در ۱۰۰۰ سی سی آب و الکل ۸۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت محلول با کاغذ صافی، شماره ۱ صاف شد. برای حذف حلال، نمونه های صاف شده در درون پلیت های شیشه ای ریخته شد و به مدت ۱ تا ۲ روز در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد بعد از تبخیر شدن حلال نمونه ها تراشیده و تا زمان استفاده در یخچال و در دمای ۴°C نگهداری شد. آزمایش به مدت ۱۵ روز با ۳ تیمار و ۴ تکرار انجام شد. گروه تیمار ۱، با دوز ۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن، گروه تیمار ۲ با دوز ۱۰۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن، گروه تیمار ۳ با دوز ۱۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن و در گروه شاهد هم حجم عصاره ی مصرفی از آب مقطر استریل استفاده شد. عصاره ها به دقت توزین شدند و در آب مقطر حل شدند (به نسبت ۱ به ۵). و به وسیله شربت خوران به گوسفندان خوراندن شدند عصاره ها در روز یک و سه به گوسفندان داده شد.

نمونه خون در دو نوبت در روز ششم و چهاردهم از ورید و داج گرفته شد. در هر مرحله خونگیری مقدار ده سی سی خون از ورید و داج گرفته و در لوله آزمایش ریخته شد و برای جداسازی سرم و تعیین فاکتورهای خونی، در ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و سرم منظور بوسیله سمپلر به میکروتیوپ منتقل و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد فریز شد. و نمونه ها برای تعیین فاکتورهای خونی مورد نظر به آزمایشگاه منتقل گردید. برای آنالیز داده ها از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. برای بررسی متغیرهای پژوهش و مقایسه آن ها در طی دوره های مختلف از آنالیز واریانس یکطرفه استفاده گردید، همچنین برای رسم نمودارها از نرم افزار آماری Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان می‌دهد که عصاره گلبرگ زعفران اثر معنی داری بر آنزیم های کبدی و همچنین شاخص های عملکرد کلیه در هر سه گروه مورد مطالعه (۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) نداشته است. نتایج حاصل از این تحقیق در جدول زیر آمده است. (* $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$; NS= $P > 0.05$)

پارامتر	دوره	واحد	گروه شاهد (آب مقطر) (ml/kg)	گروه ۱ عصاره ۵۰۰ mg/kg ()	گروه ۲ عصاره ۱۰۰۰ mg/kg (mg/kg)	گروه ۳ عصاره ۱۵۰۰ mg/kg (mg/kg)
آلانین ترانس آمیناز	۱	u/l	۱۲/۵۰±۰/۵۰ ^{ns}	۲۳/۷۵±۴/۸۰ ^{ns}	۴۵/۰۰±۱۴/۲۹ ^{ns}	۳۱/۲۵±۳/۵۷ ^{ns}
	۲		۲۷/۵۰±۴/۲۶ ^{ns}	۲۱/۵۰±۵/۷۸ ^{ns}	۲۴/۷۵±۵/۴۰ ^{ns}	۲۵/۰۰±۴/۷۰ ^{ns}
آسپاراتات ترانس آمیناز	۱	u/l	۱۰۲/۰۰±۲۰/۰۰ ^{ns}	۱۱۵/۷۵±۸/۷۵ ^{ns}	۱۷۸/۵۰±۴۳/۵۷ ^{ns}	۱۰۹/۷۵±۸/۷۰ ^{ns}
	۲		۹۰/۰۰±۶/۰۰ ^{ns}	۱۰۷/۷۵±۱۵/۱۷ ^{ns}	۱۲۷/۷۵±۴/۵۰ ^{ns}	۹۵/۰۰±۱۷/۷۱ ^{ns}
گاما گلوبولین ترانسفراز	۱	u/l	۵۷/۹۰±۲/۶۰ ^{ns}	۸۵/۳۰±۱۲/۳۶ ^{ns}	۷۲/۴۳±۵/۱۲ ^{ns}	۷۴/۵۰±۷/۰۸ ^{ns}
	۲		۴۹/۲۰±۱۸/۷۰ ^{ns}	۷۷/۹۲±۱۱/۷۱ ^{ns}	۵۷/۴۰±۶/۱۸ ^{ns}	۶۷/۴۵±۴/۸۲ ^{ns}
آلکالین فسفاتاز	۱	u/l	۸۹۹/۰۰±۴۰۸/۰۰ ^{ns}	۷۲۴/۰۰±۴۱/۶۷ ^{ns}	۷۲۷/۰۰±۳۶/۹۲ ^{ns}	۷۲۳/۷۵±۱۳۲/۶۵ ^{ns}
	۲		۸۶۳/۵۰±۴۲۸/۵۰ ^{ns}	۶۴۴/۵۰±۵۷/۱۲ ^{ns}	۵۲۶/۷۵±۵۳/۲۸ ^{ns}	۶۵۹/۷۵±۱۱۴/۳۳ ^{ns}
اوره	۱		۱۸/۰۰±۸/۰۰ ^{ns}	۲۳/۷۵±۳/۹۹ ^{ns}	۲۸/۰۰±۴/۰۲ ^{ns}	۲۴/۰۰±۳/۷۲ ^{ns}
	۲	mg/dl	۱۴/۵۰±۴/۵۰ ^{ns}	۲۴/۰۰±۲/۶۸ ^{ns}	۱۶/۷۵±۲/۶۵ ^{ns}	۲۱/۷۵±۱/۸۰ ^{ns}
کراتینین	۱	mg/dl	۱/۱۰±۰/۲۰ ^{ns}	۰/۹۳±۰/۲۱ ^{ns}	۰/۸۵±۰/۱۳ ^{ns}	۰/۹۰±۰/۱۱ ^{ns}
	۲		۱/۰۵±۰/۲۵ ^{ns}	۰/۸۲±۰/۱۳ ^{ns}	۰/۹۰±۰/۲۰ ^{ns}	۰/۸۲±۰/۰۴ ^{ns}
BUN	۱	mg/dl	۷/۵۰±۳/۳۳ ^{ns}	۱۱/۱۱±۱/۶۰ ^{ns}	۱۱/۶۶±۱/۶۷ ^{ns}	۱۰/۰۰±۵/۰۶ ^{ns}
	۲		۶/۰۴±۱/۸۷ ^{ns}	۱۰/۹۷±۰/۷۷ ^{ns}	۶/۹۷±۱/۱۰ ^{ns}	۹/۰۶±۰/۷۴ ^{ns}

جدول شماره ۱- میانگین±انحراف معیاربرخی پارامترهای خونی گوسفندان بلوچی مورد آزمایش

ns = عدم معنی داری

بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق عصاره هیدروالکلی گلبرگ زعفران اثر معنی داری بر روی آنزیم های کبدی نداشته است. مطابق نتایج به دست آمده در این مطالعه، در مطالعه ای که کریمی و همکاران (۱۳۸۳) بر روی موش های صحرایی برای بررسی سمیت تحت حاد کلانه و گلبرگ زعفران انجام دادند، تغییر معنی داری در میزان آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز مشاهده نشد در صورتی که در موش های تیمار شده با عصاره آبی گلبرگ به ویژه در دوزهای بالا میزان آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینو ترانسفراز افزایش یافت ولی میزان آلکالین فسفاتاز مطابق نتایج ما تغییر معنی داری

پیدا نکرد. در ارزیابی آسیب کبد سنجش سطوح آنزیمهای نظیر ALP، AST و ALT، به طور وسیع مورد استفاده قرار می گیرد. وقوع نکروز یا آسیب غشاء سلول باعث رها شدن این آنزیمها به گردش خون می شود. افزایش سطح AST در سرم، آسیب کبد ناشی از هپاتیت های ویروسی، انفارکتوس قلبی و صدمات عضلانی را نشان می دهد. ALT که تبدیل آلانین به پیرووات و گلوتامات را کاتالیز میکند، برای کبد اختصاصی تر بوده و پارامتر مناسبتری برای تشخیص آسیب کبد می باشد. از سوی دیگر، سطح سرمی ALP، بیلی روبین، آلبومین و پروتئین تام با عملکرد سلولهای کبدی، در ارتباط میباشد. (۶) همچنین نتایج این تحقیق اثر معنی داری بر روی شاخص های عملکرد کلیه نداشت. در مطالعه ای که مهاجری و همکاران (۲۰۰۹) برای بررسی سمیت زعفران بر روی بافت کبد و کلیه موش ها انجام دادند موش های تیمار شده با عصاره تام زعفران افزایش معنی داری را در سطوح سرمی اوره، اسید اوریک و کراتینین نشان دادند که نشانگر آسیب و اختلال عملکرد کلیه ها می باشد. میزان BUN و مخصوصاً کراتینین سرم از رایجترین نشانه های آزمایشگاهی عملکرد کلیه می باشد ارتباط نزدیکی با فیلتراسیون گلومرولار دارند. (۵) بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده گلبرگ زعفران با دوزهای مورد مطالعه سمیتی بر روی کبد و کلیه گوسفند نداشته است.

منابع

- ۱ - برن ولوی ۲۰۰۴. فیزیولوژی برن ولوی. ترجمه حمیدرضا بیگی. مؤسسه فرهنگی انتشارات تیمورزاده. نشر طبیب ویرایش پنجم سال ۱۳۸۳.
- ۲ - کریمی، غ.، طیبی، ن.، حسین زاده، ح.، شیرزاد، ف. (۱۳۸۳). بررسی سمیت تحت حاد عصاره آبی کلالة و گلبرگ زعفران (*Crocus sativus* L.) در موش صحرایی. فصل نامه گیاهان دارویی. ۳(۱۲): ۳۹-۳۲.

- 3- Joushaghani H.R., Jalali M., Lotfi A.S., Javadi E., Bandegi A.R. (2002-2003). Comparison of the ornithine carbamyltransferase with aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in patient with liver diseases. Journal of Gorgan University of Medical Sciences. 4(10):25-29.
- 4- Masjedi F., Gol, A., Dabiri Sh., Javadi, A. Preventive Effect of Garlic on Histopathology of Liver and Markers of Hepatic Injury in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Iranian Journal of Endocrinology & Metabolism. 4(11):433-441.
- 5- Mohajeri D., Mesgari Abbasi M., Delazar A., Doustar Y., Mousavi, Gh., Amouoghli Tabrizi B. (2009) Histopathological study of subacute toxicity of Crocus sativus L. (Saffron) stigma total extract on liver and kidney tissues in the rat. Pharmaceutical Sciences. 15(2):115-124.

- 6- Mohajeri,D., Doustar,Y., Rezaei,A., Mesgari-Abbasi,M.(2010). Hepatoprotective effect of ethanolic extract of crocus sativus l. (saffron) stigma in comparison with silymarin against rifampin induced hepatotoxicity in rats. Journal of Zahedan University Medical Sciences.5(12):53-59.
- 7- Worobetz, L., Hilsden, R., Shaffer, E., Simon,J., Pare, P., Scully,L. (1994) The liver. inthomsonbr, shafferea,editors. first principles of gastroenterology. 2nd ed. University of Toronto press: Toronto; 1994.

Effects of hydro-alcoholic extract of saffron petals(*Crocus sativus* L.) on the health of liver and kidney in Baluchi sheep

Sedighe rahdari ^{1*}, Arash Omid ¹, Mohammad Hassan Pour³

1- Faculty of Agriculture, Birjand University, 2- Faculty of Medicine, Medical Sciences University

* s.rahdari143@gmail.com

Abstract

The present study was effects of hydro-alcoholic extract of saffron petals(*Crocus sativus* L.) on liver and kidney in Baluchi sheep. In this study, 14 healthy male Baluchi sheep, about 4 to 5 months of age were used. Animals tested for 15 days with 3 treatments and 4 replications. The extract of saffron petals in doses of 500, 1000, 1500 mg/kg body weight were administered orally in two distinct doses. Blood samples were taken from the jugular vein twice in the sixth and fourteenth day of experiment. The statistical analysis was performed by SPSS software (version 16); using one way ANOVA to test for significance of data of different samples and groups. Results showed that the effect of saffron petals extract is not significant on liver and kidney enzymes include: AST, ALT, ALP, GGT, BUN, creatinin and urea in all three groups (500, 1000, 1500 mg per kilogram body weight). The results of this study indicated that saffron petals extract in given doses not effects on liver and kidney .

Key Words: Liver-kidney- saffron petals- Baluchi sheep

تاثیر برنامه های نوری مختلف بر تیترا آنتی بادی NDV و SRBC در جوجه های گوشتی

حمید حسینی فهرجی^{۱*}، رامین نجفی^۲، گلپسند محمدی^۱

۱-دانشجوی اسبق کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه ۲-عضو هیات علمی گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه

*نویسنده مسئول: حمید حسینی فهرجی، دانشجوی دکتری تغذیه طیور دانشگاه صنعتی اصفهان

hamid2005hf@gmail.com

چکیده:

این طرح به منظور بررسی تاثیر برنامه های نوری مختلف بر پادتن ترشح شده علیه آنتی ژن ویروس نیوکاسل (NDV) و گلبول قرمز گوسفند (SRBC) جهت ارزیابی سیستم ایمنی در جوجه های گوشتی انجام شد. بدین منظور ۲۸۸ قطعه جوجه نر یک روزه راس ۳۰۸ به طور تصادفی به سه گروه ۹۶ تایی با هشت تکرار تقسیم شدند و جوجه های هر گروه در سالی مجزا در پن های ۱۲ تایی قرار گرفتند. تا روز هفتم برنامه نوری هر سه سالن مشابه بود، از روز هشتم تا پایان دوره سالن یک ۲۳ ساعت روشنایی ۱ ساعت خاموشی (CL)، سالن دو ۱۸ ساعت روشنایی و ۶ ساعت خاموشی مداوم (EL)، سالن سه ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت خاموشی مداوم (FL) پرورش داده شدند. در هر سه سالن به جز برنامه نوری تمام شرایط مدیریتی یکسان بود و در هر سه سالن از دان آماده به شکل پلت استفاده گردید تیترا آنتی بادی علیه آنتی ژن SRBC (دوجوجه از هر تکرار) و NDV (دوجوجه از هر تکرار) با روش HI محاسبه شد. نتایج حاصله با استفاده از نرم افزار SAS به روش ANOVA مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و میانگین ها با تست Tukey مقایسه شدند. آنتی بادی علیه SRBC در تیمار CL کمترین و در تیمار FL بیشترین سطح را به خود اختصاص داد ($p \leq 0.05$)، ولی در آنتی بادی علیه NDV اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: جوجه گوشتی - برنامه نوری - ایمنی شناسی - پادتن نیوکاسل - پادتن SRBC

مقدمه:

پاسخ ایمنی یک پارامتر مهم برای سلامتی طیور محسوب می شود به ویژه در دوره پرورش، به هر حال تمایل برای افزایش تولید نسبی باعث تشویق فعالیت های تولیدی طیور در بهینه سازی سیستم ایمنی می شود. جوجه های گوشتی در حالت عادی به صورت متراکم نگهداری می شوند که این خود یک عامل شیوع بیماری می باشد (۵). بعلاوه انتخاب ژنتیکی در جهت دستیابی به رشد سریع باعث کاهش پتانسیل ایمنی طیور شده است که در دوره پرورش بر ماندگاری طیور تاثیر بسیاری خواهد گذاشت. ضمناً سرعت رشد بالا خود یک عامل محرک برای شیوع بیماری محسوب می شود (هاونستین و همکاران ۲۰۰۳؛ بوایس و همکاران ۱۹۹۸؛ گارنر و همکاران ۲۰۰۲؛ اسکات ۲۰۰۲) و مطالعات نشان داده اند که این انتخاب ها باعث کاهش ایمنی یا تغییر در پاسخ ایمنی می شوند (لای و همکاران ۲۰۰۱؛ فتحی و همکاران ۲۰۰۳؛ هاف و همکاران ۲۰۰۵). انتخاب ژنتیکی که به منظور بهبود عملکرد در طیور صورت گرفته باعث کاهش پاسخ ایمنی هومورال و افزایش سلولهای واسطه پاسخ التهابی می شوند (۴). یکی از کلیدی ترین فاکتورهای محیطی برای بهبود ایمنی نور است. رژیم نور دهی مصنوعی یک نقطه حساس مدیریتی در پرورش به حساب می آید (دی زای و همکاران ۲۰۰۹). اگرچه تحقیقات بسیار زیادی روی تاثیر نور بر روی عملکرد طیور صورت گرفته ولی به سلامت و آسایش پرنده توجه کمی شده است (آر بلچ فورد ۲۰۰۹). پینه ال یک غده حساس به نور می باشد و ملاتونین در پرندگان اغلب در ساعات تاریکی ترشح می شود (پانگ ۱۹۹۶). در سالهای اخیر ارتباط بین ملاتونین پینه آل و پاسخ ایمنی در پستانداران و پرندگان اثبات شده است (۲ و ۳). از این رو متخصصین علی رغم روشن نبودن مسیر های دقیق

تاثیر نور بر ایمنی آن را یکی از عوامل محیطی موثر بر ایمنی می دانند. لذا بر آن شدیم تاثیر برنامه های نوری مختلف بر تیتراکتی بادی علیه آنتی ژن های مختلف را با سویه و شرایط معمول مورد استفاده در کشور مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش کار:

۲۸۸ قطعه جوجه نر یک روزه راس ۳۰۸ به طور تصادفی به سه گروه ۹۶ تایی تقسیم شدند و جوجه های هر گروه در یک سالن مجزا قرار گرفتند در هر سالن ۸ پن و در هر پن ۱۲ قطعه پرندۀ قرار داده شد. تا روز هفتم برنامه نوری هر سه سالن مشابه بود (۲۳ ساعت روشنایی ۱ ساعت تاریکی)، از روز هشتم تا ۳۵ روزگی سالن ۱ با همان برنامه نوری یعنی ۲۳ ساعت روشنایی ۱ ساعت خاموشی (CL) پرورش داده شد. سالن ۲ با ۱۸ ساعت روشنایی و ۶ ساعت خاموشی مداوم (EL)، سالن سه با ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت خاموشی مداوم (FL) پرورش داده شدند. در هر سه سالن به جز برنامه نوری تمام شرایط مدیریتی یکسان بود و در هر سه سالن از دان آماده به شکل پلت استفاده گردید. واکسن نیوکاسل روزهای ۱۰ و ۲۱ اسپری شد در روزهای ۱۴ و ۳۵ به دو پرندۀ از هر واحد آزمایشی مقدار ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند ۵ درصد در PBS، به عضله سینه تزریق شد. سپس ۷ روز پس از هر بار تزریق گلبول قرمز (روزهای ۲۱ و ۴۲)، از همان پرندۀها از طریق ورید بال خونگیری شد. برای تعیین عیار پادتن تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفند از روش هم‌آگلوتیناسیون میکروتیترا استفاده شد به این منظور نمونه های سرم جهت خنثی شدن سیستم کمپلمان و عدم تداخل آن با پادتن ضد گلبول قرمز گوسفند به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شد. تیتراکتی بادی علیه آنتی ژن SRBC و NDV با روش HI محاسبه شد. نتایج حاصله با استفاده از نرم افزار SAS به روش ANOVA در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و در صورت معنی دار بودن میانگین ها با تست Tukey مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث:

با توجه به جدول ۱، برنامه های نوری که در آن ها از ساعات خاموشی (۱۰ ساعت خاموشی) بیشتر استفاده می شود باعث بهبود سطح ایمنی جوجه ها از نظر مقایسه سطوح آنتی بادی علیه آنتی ژن SRBC و NDV شده است. تنها غده متاثر از نور به صورت اولیه پینه آل و تنها هورمون متاثر از نور به صورت اولیه ملاتونین می باشد، پس تنها مسیر تقویت ایمنی بوسیله نور از ملاتونین خواهد گذشت که در ساعات تاریکی ترشح می شود. احتمالاً این تاثیر از طریق تغییر در موازنه انرژی در ساعات روشنایی و تاریکی از طریق افزایش ملاتونین در ساعات خاموشی حاصل شده (۱) که انرژی در دسترس تاثیر بسزایی بر سیستم ایمنی دارد. معمولاً مطالعات صورت گرفته بر روی نور به دستگاه تولید مثل پرداخته اند و مطالعاتی که مولفه های سیستم ایمنی را مورد بررسی قرار داده اند از طریق خود نور نبوده و با تزریق ملاتونین بوده است. توصیه می شود تحقیقات بیشتری در زمینه نور به عنوان یک عامل فیزیولوژیک موثر بر بسیاری از مکانیسم های مختلف در طیور صورت گیرد که باعث تغییرات چشمگیری در سود و هزینه های تولید کنندگان می شود. نتایج ذکر شده در زمینه نور و ایمنی در یک راستا نبوده و تحقیقات نتایج ضد و نقیضی را بدست می دهند که می تواند به خاطر دیگر مولفه های موثر باشد. لازم به ذکر است کاهش زمان نور دهی در مناطق گرمسیری باعث کاهش استرس گرمایی و بهبود عملکرد نیز خواهد شد.

Table 1: Comparison between antibody titrations against ND vaccine virus by HI method on 42 day age of broilers

	CL	EL	FL	P Value	SEM
Newcastle (log2 HI)	4.58	4.74	4.95	0.84	0.17
SRBC (log2 HI)	4.31 ^b	4.9 ^{ab}	5.3 ^a	0.04	0.15

منابع:

- 1- E. J. Apeldoorn, J. W. Schrama,, M. M. Mashaly, and H. K. Parmentier. 1999. Effect of Melatonin and Lighting Schedule on Energy Metabolism in Broiler Chickens. Poultry Science 78:223–229
- 2- Moore, C. B., and T. D. Siopes. 2000. Effects of lighting conditions and melatonin supplementation on the cellular and humoral immune responses in Japanese quail. Gen. Comp. Endocrinol. 119:95–104.
- 3- Maestroni, G. J. 2001. The immunotherapeutic potential of melatonin. Expert Opin. Investig. Drugs 10:467–476.
- 4- Makram, A., A. Galal, M. M. Fathi and A.H. El-Attar. 2010. Carcass Characteristics and immunocompetence Parametrs of Four Cammercial Broiler Strain Chickens under Summer Season of Egype. International Journal of Poultry Science 9(2): 171-176, 2010
- 5- liger, C. A., A. E. Gehad, R. M. Hulet, W. B. Roush, H. S. Lillehoj, and M. M. Mashaly, 2000. Effects of photoperiod and melatonin on lymphocyte activities in male broiler chickens. Poultry Sci. 79:18–25.

Effect of lighting programs on titer of NDV and SRBC anti-body's in Broiler
Department of Animal Science, Urmia University of Agricultural Sciences, Urmia, Iran

* PhD student of Poultry science, Isfahan University of Technology, Iran

Corresponding E-mail address: hamid2005hf@gmail.com

Abstract:

The aim of this study was to examine the main effects of 3 lighting programs on the broiler titer of NDV and SRBC anti-body's. A total of 288 day-old male broilers chick (Ross-308) were randomly distributed between 3 treatments. Each group was housed in the separated room with 8 pen and 12-birds per pen. The management conditions were similar for all treatments until the end of the first week of experiment. From the beginning of the second week to 42 day old, the following programs were provided: the first room 23L: 1D (CL), the second room 18L: 6D (EL) and the third room 14L: 10D (FL). All chick vaccinated to live Newcastle disease vaccine was performed via spray in 10 and 22 days. Chicks were injected into breast muscle with SRBC (%5 suspension in PBS, 0.1ml/chick) followed by a booster injection at 28 day respectively. Blood samples were drawn at 14 days after the injection of the same birds. The immune response were assessed by hemagglutination inhibition (HI) test. All the data were analyzed using the ANOVA



procedure of SAS software based on a completely randomized design and significant means were analyzed by Tukey test ($p \leq 0.05$). Results showed that there weren't any differences in titer of NDV between all treatments. There was significant difference between CL and FL treatments for SRBC.

Key words: Broiler - lighting program- Immunity- NDV - SRBC

بررسی سطوح مختلف گیاه چویر (*Ferulago angulata*) بر نرخ هتروفیل به لنفوسیت و میانگین تعداد گلبولهای سفید خون در

بلدرچین ژاپنی

عاطفه آزادگان^{۱*}، مسیب امیری^۱، فیروز صمدی^۲، سید رضا هاشمی^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- عضو هیئت علمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

* عاطفه آزادگان، atefe.azadegan@yahoo.com

مقدمه:

رادیکال‌های آزاد به عنوان یکی از اصلی‌ترین عوامل بروز شرایط پاتولوژیکی در بسیاری از بیماری‌های طیور شناخته شده‌اند، از این رو افزایش قدرت سیستم ایمنی برای مقابله با آن‌ها بسیار حائز اهمیت است. این رادیکال‌ها از منابع داخل (اندوجنوس) و خارج بدن (اگزوجنوس) ایجاد می‌شوند. رادیکال‌های حاصل از فرآیند‌های داخل بدن در نتیجه تنفس هوازی نرمال و متابولیسم، و التهاب تشکیل می‌شوند. رادیکال‌های آزاد اگزوجنوس نیز از فاکتورهای محیطی مانند آلودگی ناشی می‌شوند (۷). در سراسر جهان بیماری‌های عفونی به خاطر تلفات زیاد در حیوانات اهلی و ماکیان باعث نگرانی شده‌اند، از این رو، یکی از راه‌حل‌های بهبود ایمنی طیور و کاهش ابتلا به بیماری‌های عفونی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان محرک‌های سیستم ایمنی می‌باشد. این ترکیبات جذب و یا دسترسی به مواد ضروری برای رشد را در بدن حیوان تسهیل میکنند و عفونت‌های مخفی و پنهان موجود را نیز از بین می‌برند. در حالی که تعداد زیادی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی جهت درمان یا پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با رادیکال‌های آزاد معرفی شده‌اند، با اثبات اثرات سوء و نامطلوب برخی از آنها بر بدن دام و طیور، گرایش روز افزونی نسبت به جایگزینی نوع طبیعی آن‌ها به وجود آمده است. از این رو محققین ترکیبات گیاهی مختلفی را به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در مواد تولیدی حیوانی مورد مطالعه قرار داده‌اند که باعث بهبود سیستم ایمنی شده و نهایتاً سبب افزایش در عملکرد تولیدی آن‌ها نیز می‌شود (۱). گیاهان دارویی و فرآورده‌های آن‌ها از جمله‌ای این افزودنی‌های طبیعی هستند که می‌توان از آنها به عنوان آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی استفاده کرد (۳). گیاه چویر با نام متداول *Ferulago angulata* در زبان انگلیسی یکی از این گیاهان می‌باشد که دارای خاصیت ضد آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بوده و در صورت استفاده از آن در جیره‌ی غذایی طیور می‌توان از خاصیت محافظت-کنندگی و ارزش‌های درمانی آن بهره‌گرفت (۶). بیشترین ترکیب‌های این گیاه را مونوترپن‌ها و سس‌کویی‌ترین‌ها می‌باشند و از میان مونوترپن‌ها آلفا-پینن، بورنیل استات و سیس-اسمین را به عنوان بیشترین ترکیب‌ها معرفی شده‌اند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. مکانیسم عمل این ترکیبات صدمه وارد کردن به دیواره‌ی لیپوپروتئینی سلول باکتری هاست که منجر به نشت و کاهش ترکیبات سیتوپلاسمی میگردد (۹ و ۱۰). از سوی دیگر این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، با افزودن برخی از اجزایشان به رادیکال‌های آزاد، این ترکیبات سمی را تثبیت می‌کنند (۷).

مواد و روشها:

تحقیق حاضر در سالن مرغداری دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. در این تحقیق از ۲۴۰ قطعه بلدرچین ژاپنی استفاده شد که به طور تصادفی به دسته‌های ۱۵ تایی تقسیم شده و در پن‌های ۱/۵ × ۱ متری روی بستر قرار گرفتند. تیمارهای غذایی شامل شاهد (بدون چویر)، جیره‌ی حاوی ۱/۵ درصد چویر، جیره‌ی حاوی ۳ درصد چویر و جیره‌ی حاوی ویتامین E بودند. مصرف آب و غذا در طول دوره به صورت آزاد و برنامه‌نوری مداوم اعمال شد. برای ارزیابی پاسخ ایمنی جوجه‌ها، در سن ۳۵ و ۴۲ روزگی دوره‌ی پرورش از سیاهرگ بال دو پرنده از هر تکرار خون‌گیری انجام گرفت.

سپس جهت ارزیابی پاسخ خون گیری و مقایسه ی نرخ هتروفیل به لنفوسیت و در صد سایر گلبولهای سفید نظیر مونوسیت، ائوزینوفیل و بازوفیل از نمونه های خونی گستره تهیه شد. گستره ها با متانول تثبیت شده و با محلول گیمسا و آب با نسبت ۱ به ۱۰ به مدت نیم ساعت رنگ آمیزی شده و سپس گلبولهای سفید آن ها بصورت درصد (تعداد شمارش شده در ۱۰۰ گلبول) محاسبه شدند (۱۰). تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام گردید و از آزمون چند دامنه ای دانکن برای مقایسه ی میانگین گروه های آزمایشی در سطح معنی داری ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج و بحث:

نتایج اثرات مربوط به تیمارهای آزمایشی بر میانگین گلبولهای سفید خون پرند ها در جدول ۱ و ۲ آمده است. در بررسی تأثیر تیمارهای آزمایشی ویتامین E و چویر، بر روی درصد گلبولهای سفید خون در روز ۳۵ دوره ی پرورش تفاوت معنی داری بین گروه های آزمایشی در میانگین تعداد هتروفیل، لنفوسیت، ائوزینوفیل و نرخ هتروفیل به لنفوسیت مشاهده نشد ($P > 0/05$). در حالیکه در نمونه های همین روز، تفاوت معنی داری بین تیمار ویتامین E با سایر تیمارهای آزمایشی در شمار مونوسیت ها و بین تیمارهای ویتامین E و چویر ۳ درصد با سایر تیمارها در شمار بازوفیل ها مشاهده شد ($P < 0/05$). از سوی دیگر هیچ گونه تفاوت معنی داری بین تیمارهای آزمایشی در شمار گلبولهای سفید نمونه های روز ۴۲ دوره ی پرورش مشاهده نشد ($P > 0/05$). نرخ هتروفیل به لنفوسیت در خون پرندگان به عنوان یک شاخص مطمئن جهت مشخص شدن وجود عوامل میکروبی و بیماری زا در بدن میباشد از این رو هرچه این سطح بالاتر باشد به همان میزان احتمال مقاومت در مقابل عوامل بیماری زا بهبود می یابد. مطابق جدول شماره ی ۱ تفاوت معنی داری در نرخ هتروفیل به لنفوسیت نمونه های خون روز ۳۵ و ۴۲ مشاهده نشد اما در این روزها تیمارهایی که گیاه چویر ۳٪ و ویتامین E را دریافت کرده بودند نرخ بالاتری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند. این نتایج با نتایج حاصل از گزارشات سایر محققان در رابطه با گیاهان دارویی تطابق دارد (۸ و ۱۰). از این رو می توان با افزایش سطوح چویر و ویتامین E در جیره سطوح ایمنی بالاتری را در طیور انتظار داشت.

جدول ۱: میانگین تعداد گلبولهای سفید خون در روز ۳۵ دوره ی پرورش

تیمار	هتروفیل	لنفوسیت	مونوسیت	ائوزینوفیل	بازوفیل	هتروفیل به لنفوسیت
شاهد	۵۰/۹۷۵ ±	۲/۷۱۴ ± ۸۲/۷۱۴	۵/۱۴۳ ± ۱/۲۶۱ ^a	۵/۵۷۱ ± ۱/۴۱۱	۱/۵۷۱ ± ۰/۲۹۷ ^a	۰/۰۶۲ ± ۰/۰۱۴
چویر ۱/۵٪	۶/۲۸۶ ± ۱/۲۶۷	۷۷/۱۴۳ ± ۴/۴۱۵	۵/۱۴۳ ± ۱/۸۱۸ ^a	۹/۲۸۶ ± ۲/۳۰۶	۲/۱۴۲ ± ۰/۴۰۴ ^a	۰/۰۸۷ ± ۰/۰۲۰
چویر ۳٪	۸/۱۲۵ ± ۲/۱۲۵	۷۹/۸۷۵ ± ۳/۹۴۳	۵/۲۵۰ ± ۱/۰۶۴ ^a	۶/۱۲۵ ± ۱/۲۸	۶/۱۲۵ ± ۰/۱۸۲ ^b	۰/۱۱۲ ± ۰/۰۳۳
ویتامین E	۷/۱۲۵ ± ۱/۴۳۲	۸۶/۲۵۰ ± ۳/۱۹۴	۱/۲۵۰ ± ۰/۵۹۰ ^b	۴/۷۵۰ ± ۱/۴۷۲	۴/۷۵۰ ± ۱/۴۷۲ ^b	۰/۰۸۷ ± ۰/۰۲۱

-در هرستون میانگین های با حروف نامشابه دارای اختلاف معنی دار هستند.

-داده ها در سطح معنی داری $P < 0/05$ نمایش داده شده است.

جدول ۲: میانگین تعداد گلبولهای سفید خون در روز ۴۲ دوره ی پرورش

تیمار	هتروفیل	لنفوسیت	مونوسیت	ائوزینوفیل	بازوفیل	هتروفیل به لنفوسیت



شاهد	۶/۳۳۳±۱/۵۴۲	۹۰/۵۰۰±۲/۲۹۱	۱/۳۳۳±۰/۳۳۳	۲/۵۰۰±۰/۸۶۴	۰	۰/۰۷۵±۰/۰۲۰
چویر ۱/۵٪	۶/۰۰۰±۱/۳۰۹	۹۰/۴۲۹±۱/۵۸۶	۱/۵۰۰±۰/۲۸۸	۲/۷۱۴±۰/۴۲۰	۰	۰/۰۶۷±۰/۰۱۵
چویر ۳٪	۱۰/۰۰۰±۱/۷۰۲	۸۶/۶۰۰±۲/۱۳۵	۱/۰۰۰	۳/۲۰۰±۰/۸۶۰	۰	۰/۱۱۷±۰/۰۲۱
ویتامین E	۷/۱۴۳±۱/۱۰۰	۸۸/۰۰۰±۲/۰۳۵	۲/۶۶۷±۱/۲۰۱	۳/۵۷۲±۰/۸۱۲	۱/۰۰۰	۰/۰۸۲±۰/۰۱۳

- داده ها در سطح معنی داری $P < 0/05$ نمایش داده شده است.

منابع:

۱. اعمی ازغدی، م. پبله‌ور، م. آرشامی، ج. محمد خانی، ع. ۱۳۸۹. تأثیر سطوح مختلف عصاره‌ی آویشن (Thymus vulgaris) و زیره‌ی سبز (Cuminum cyminum) بر پاسخ ایمنی هومورال در مرغ‌های تخم‌گذار، چهارمین کنگره علوم دامی ایران، دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی پردیس شهرپور ۸۹.
۲. اکبری، م. ۱۳۸۷. اثر ویتامین‌های A و E و عنصر روی و پروبیوتیک‌ها در تغذیه و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی. رساله‌ی دکتری تخصصی تغذیه‌ی طیور. دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.
۳. تاران، م. قاسم پور، ح. شیرین پور، ا. ۱۳۸۹. اثرات ضد قارچی و ضد باکتریایی اسانس بدست آمده از بخش‌های هوایی و بذر گیاه چویر (Ferulago angulata)، مجله‌ی میکروبیولوژی ۲۰۱۰، ص ۱۰-۱۴.
۴. جلیلیان، ن. میرزا، م. ۱۳۸۷. بررسی ترکیب‌های اسانس گونه Ferulago angulata، مقالات گیاهان دارویی.
۵. حسینی و اشان، س. گلیان، ا. یعقوب فر، ا. افضلی، ن. فرهنگ فر، پ. ۱۳۸۶. ارزیابی سیستم ایمنی و ترکیب لاشه جوجه‌های گوشتی (broilers) آراین تغذیه شده با تفاله گوجه‌فرنگی (Tomato Pomace) و پودر زردچوبه (Turmeric Powder) چهارمین کنگره علوم دامی ایران، دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی پردیس شهرپور ۸۹.
۶. رضازاده، ش. یزدانی، د. و شهنازی، س. ۱۳۸۲. شناسایی اجزای روغن فرار سر شاخه‌های هوایی گیاه چویر جمع آوری شده از غرب ایران، فصلنامه گیاهان دارویی، ۵۲-۴۹.
۷. شیمی مواد غذایی، جان، ام دمکز، مترجم، بابک قنبرزاده، صفحات ۲۷۴، ۲۹۲، ۲۹۶۰.
۸. هاشمی، م. آرشامی، ج. اسماعیل زاده، ح. مجید زاده، ر. ۱۳۸۹. بررسی تأثیر سیر (Allium sativum) بر عملکرد و پاسخ ایمنی هومورال در جوجه‌های گوشتی نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران، جلد ۲، شماره ۱، ص ۴۳-۵۱.
9. Dorman, H.J.D. and Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology. 83: 308-316.
10. Hosseini, Mansob, N. and Mohammad Nezhady, M. 2011. The effect of using Thyme, Garlic and Nettle on performance, carcass quality and blood parameters. Annale of Biological Reseach. 4: 315-320

تاثیر تغذیه دانه سویای حرارت داده شده در دوره آماده به زایش بر روی عملکرد تخمدانی گاوهای چند بار زایش و یک بار

زایش هلشتاین

صادق هاشمی^{۱*}، مهدی گنج خانلو^۲، مهدی دهقان بنادکی^۳، ابوالفضل زالی^۲، حسین ایمانی^۳

^۱ دانش آموخته ی دانشگاه تهران ^۲ عضویت علمی دانشگاه تهران ^۳ دانش آموخته ی دانشگاه زنجان

*نویسنده مسول: صادق هاشمی، دانشگاه تهران، sadeghashemi@ut.ac.ir

چکیده

هدف از انجام این آزمایش مقایسه تاثیر تغذیه دانه سویای حرارت داده شده در دوره آماده به زایش بر سنجش جمعیت و اندازه فولیکول های تخمدان و فراسنجه های خونی در پس از زایش در گاوهای یک بار زایش و چند بار زایش هلشتاین بود. بدین منظور ۱۸ راس گاو آبستن بترتیب ۱۰ راس چند بار زایش و ۸ راس یک بار زایش هلشتاین که حدود ۳۰ روز به زایش آنها باقی مانده بود انتخاب و وارد آزمایش شدند. گاوها در دو گروه ۹ راسی به صورت تصادفی توزیع گشتند و با ۲ جیره ی غذایی که از لحاظ مقدار پروتئین یکسان بودند ولی از لحاظ منبع انرژی متفاوت بودند تغذیه شدند این منبع در جیره ی اول، منبع کربوهیدراتی و در جیره ی دوم همراه با دانه ی سویای حرارت داده شده (محتوی اسیدهای چرب غیر اشباع) بود. برای بررسی وضعیت متابولیکی گاوها در دوره انتقال، نمونه خون از همه گاوها در یک هفته قبل و بعد از زایش گرفته شد همچنین ماده خشک مصرفی و نمره بدنی دامها نیز اندازه گیری گردید. گاوها در یک دوره ۱۰ روزه بعد از زایش مورد اولتراسونوگرافی تخمدان قرار گرفتند. از لحاظ ماده خشک مصرفی، نمره بدنی و فراسنجه های خونی تفاوتی در دو گروه از دامها دیده نشد. با توجه به عملکرد تخمدانی، فعالیت تولید مثلی گاوهای تغذیه کننده با منبع دانه ی سویای حرارت داده شده نسبت به گروه دیگر در گاوهای یک بار زایش به طور معنی داری بالاتر بود. اما در گاوهای چند بار زایش تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: التوسونوگرافی، دانه سویای حرارت داده شده، عملکرد تخمدانی، دوره انتقال

مقدمه

بطور کلی دوره گذار، دوره ای است که از ۳ هفته قبل زایش تا ۳ هفته بعد از زایش، را شامل می شود (۴) و اکثر گاوها در این مرحله توازن منفی انرژی را تجربه می کنند. توازن منفی انرژی در دوره شیردهی یک موضوع مهم در تغذیه می باشد که باعث کاهش باروری در دوره شیردهی (لاکتاسیون) گاوهای شیرده می شود. توازن منفی انرژی، بهبود وبازیابی عملکرد دستگاه تولید مثلی را به تاخیر می اندازد و این تاخیر، کاهش باروری را در طول دوره شیردهی پس از زایش بدنبال دارد. افزودن مکمل چربی به جیره می تواند باعث افزایش انرژی مصرفی گردد که انتظار می رود عملکرد تولیدمثلی حیوان را بهبود بخشد. استفاده از چربی در جیره گاوهای شیری باعث بهبود راندمان تولیدمثلی می گردد. (۱۰) هنگام استفاده از چربی در اوایل شیردهی گاوهای شیری به ندرت وضعیت انرژی حیوان تغییر می یابد و بهبود نرخ آبستنی می تواند در نتیجه فراهمی اسیدهای چرب بلند زنجیر باشد. (۱۰) تغذیه چربی می تواند باروری را در گاوهای شیری بهبود بخشد، تاثیرگذاری بر رشد فولیکولی و تخمک گذاری می باشد. تغذیه چربی نرخ آبستنی و توسعه فولیکولی گاوهای شیری را بهبود داده است. (۶) در چندین مطالعه مشاهده شده که

قطر فولیکول غالب در گاوهای تغذیه شده با جیره‌های افزوده شده با اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دو گانه^۷ در مقایسه با اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دو گانه^۸ افزایش یافته است، که نشان دهنده تأثیرات متفاوت اسیدهای چرب گوناگون بر رشد فولیکولی می‌باشد. (۲) به نظر می‌رسد که تغذیه چربی، به خصوص نوع چربی، باعث تحریک رشد فولیکولی در گاوها می‌گردد. گزارش شده که گاوهایی که تخمک گذاری بعد زایش زودتری نشان داده‌اند، فولیکول بزرگتری داشته‌اند. (۱) در نتیجه ممکن است که با افزایش تعداد و اندازه فولیکول‌های بزرگ در حالت استفاده از چربی‌ها، بتوان فاصله بین زایش تا تخمک گذاری بعد زایش را در گاوهای شیری کاهش داد. (۷، ۶، ۵) هدف از انجام این آزمایش بررسی تأثیر تغذیه در دوره آماده به زایش با دانه سویای حرارت داده شده بر سنجش جمعیت و اندازه فولیکول‌های تخمدان و اندازه گیری غلظت فراسنجه های خونی در پس از زایش در گاوهای هلشتاین بود.

مواد و روش ها

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی، به مدت ۹۰ روز (۳۰ روز پیش از زایش تا ۷۰ روز پس از زایش) در ایستگاه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران اجرا گردید. بدین منظور ۱۰ و ۸ راس گاو آبستن چند بار زایش و یک بار زایش هلشتاین که حدود ۳۰ روز به زایش آنها باقی مانده بود انتخاب و وارد آزمایش شدند. گاوها در دو گروه ۹ راسی به صورت تصادفی توزیع گشتند و با ۲ جیره‌ی غذایی که از لحاظ مقدار پروتئین یکسان بودند ولی از لحاظ منبع انرژی متفاوت بودند در دوره آماده به زایش به صورت انفرادی تغذیه شدند این منبع در جیره‌ی اول، منبع کربوهیدراتی و در جیره‌ی دوم همراه با دانه‌ی سویای حرارت داده شده (محتوی اسیدهای چرب غیر اشباع) بود. جیره دام‌ها با نرم افزار Amino cow و بر اساس NRC (۲۰۰۱) تنظیم شده و به صورت کاملاً مخلوط در اختیار دام‌ها قرار گرفت. مقدار خوراک مصرفی و باقی مانده در هر روز از ۳۰ روز مانده به زایش اندازه گیری شد. هم‌چنین، برای بررسی اثرات تیمارهای خوراکی بر روی عملکرد تولیدمثلی در یک دوره تخمدان‌های گاوها با دستگاه اولتراسونوگرافی مدل (B mode; Piemedical, Falco 100) شدند. گاوها تا شصتمین روز شیر دهی از لحاظ چرخه‌ی فعلی با استفاده از پروتکل آوسینک^۹ همزمان سازی شدند. (۷) و سپس از روز شصتم شیردهی تا روز هفتاد شیردهی تخمدان گاوها بوسیله‌ی دستگاه اولترا سونوگرافی ارزیابی شد. تمامی فیلم‌های گرفته شده از تخمدانها مورد ارزیابی قرار گرفته و قطر فولیکول‌ها و تعداد فولیکول با استفاده از شمارش فولیکولها از فیلم های گرفته شده که توسط یک نفر انجام گرفت، در ۴ کلاس (۱- تعداد کل فولیکول‌ها با قطر ۲ میلی‌متر به بالا ۲- تعداد فولیکول‌های کوچک با قطر ۴ تا ۶ میلی ۳- تعداد فولیکول‌های متوسط با قطر ۷ تا ۹ میلی‌متر ۴- تعداد فولیکول‌های بزرگ با قطر ۱۰ میلی‌متر به بالا) (اندازه گیری گردید. برای بررسی وضعیت متابولیسم گاوها در دوره گذار، نمونه خون از همه گاو ها در یک هفته قبل و بعد از زایش در ساعت ۰۷:۳۰ (پیش از خوراکدهی صبح) از راه رگهای دمی خون‌گیری به عمل آمد و فراسنجه های پلاسمایی، بتا هیدروکسی بوتیرات، گلوکز، اسیدهای چرب غیر استریفه شده به آزمایشگاه دامپزشکی فرستاده شد. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS و رویه Mixed مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

⁷ Fatty acid polyunsaturated

⁸ Monounsaturated Fatty Acids

⁹ Ovsynch

تفاوت معنی داری در دو گروه گاوها از لحاظ میزان مصرف ماده خشک، غلظت گلوکز پلاسما، بتاهیدروکسی بوتیریک اسید ($BHBA^{10}$) و اسیدهای چرب غیر استریفیه شده پلاسما ($NEFA^{11}$)، در بین دو گروه تیماری در دوره قبل زایش و پس از زایش مشاهده معنی دار نبوده است. چربی جیره می تواند باعث کاهش اکسیده شدن گلوکز برای سنتز چربی گردد. چرا که چربی ها می توانند باعث سنتز دنوایی اسید چرب در بافت پستان، بافت آدیپوز و سایر بافت ها گردند. با این حال با تغذیه دانه سویای کاملاً حرارت داده شده در قبل از زایش بر روی عملکرد تخمدان دام های یک بار زایش تاثیری مثبت داشته و تفاوت معنی داری بین دو گروه تیماری مشاهده گردید (جدول ۱) در حالی که بین دام های چند بار زایش تفاوت معنی داری مشاهده نگردید. در همین رابطه استفاده از مکمل چربی حاوی اسیدهای چرب غیراشباع (n-3 و n-6) در جیره

جدول ۱- مجموع میانگین حداقل مربعات ماده خشک مصرفی و تعداد فولیکول های* گاوهای تغذیه شده با منابع مختلف چربی (از شصتیم روز زایش تا هفتاد و یک روز زایش)

عنوان	کنترل	دانه سویا	SEM	تیمار P-Value
ماده خشک مصرفی L_1 ^۱	۹/۶	۱۰/۱۴	۰/۳۶	NS
(کیلوگرم در روز) L_2 ^۲	۱۱/۳	۱۱/۶	۰/۳۱	NS
فولیکول های کوچک**				
L_1	۳/۳۳	۵/۶	۰/۸۹	
L_2	۲/۴۴	۱/۷۹	۰/۸۲	NS
فولیکول های متوسط***				
L_1	۰/۵۶	۱/۲۵	۰/۳۶	NS
L_2	۰/۸۲	۱/۶	۰/۳۲	NS
فولیکول های بزرگ****				
L_1	۱/۵۹	۱/۰۴	۰/۲۹	NS
L_2	۱/۳۶	۱/۲	۰/۲۶	NS
کل فولیکول ها*****				
L_1	۷/۲۸	۱۰/۵۸	۱/۳۵	NS
L_2	۵/۰۷	۵/۱۳	۱/۲۴	NS

¹⁰ B-hydroxybutyric acid

¹¹ Nonesterified fatty acid



* میانگین تعداد در کل ۱۰ روز سونوگرافی **تعداد کل فولیکول‌ها با اندازه قطر ۲ میلی‌متری به بالا *** فولیکول‌های کوچک با اندازه قطر ۴ تا ۶ میلی‌متری **** فولیکول‌های متوسط با اندازه قطر ۷ تا ۹ میلی‌متری ***** فولیکول‌های بزرگ با اندازه قطر ۱۰ میلی‌متری به بالا، ۱-گاوه‌های یک بار زایش ۲-گاوه‌های چند بار زایش

گاو تغییراتی در جنبه‌های مختلف فولیکولوژنز، از جمله افزایش تعداد فولیکول‌ها و اندازه فولیکول غالب به وجود آورد. (۶،۳،۲،۱) در صورتی که پتیت^{۱۲} و همکاران (۸،۹) تأثیرات کم یا هیچ گونه تأثیر جیره حاوی کتان، روغن ماهی، بزرک و دانه آفتابگردان را بر دینامیک فولیکولی مشاهده نکردند. توازن منفی انرژی با نشان دادن کاهش غلظت گلوکز خون که همواره سبب افزایش اسیدهای چرب استریفه نشده پلاسما و بتا هیدروکسی بوتیرات می شود همراه بوده که سرانجام منجر به تاخیر در افزایش گنادو تروپین ها که برای تحریک فولیکول های تخمدانی ضروری هستند می شود. به نظر می رسد تغذیه چربی (با توجه به نوع پروفایل آن) در دوره پیش از زایش سبب افزایش جریان بالای NEFA شده و منجر به افزایش جذب اسیدهای چرب و نهایتاً سازگاری کبد به متابولیسم اسیدهای چرب شاخه بلند را در پی خواهد داشته و از طرفی بتا اکسیداسیون این اسیدهای چرب افزایش یافته که منجر به کاهش BHBA خواهد شد و این کاهش در بعد زایش نیز ادامه خواهد یافت که این کاهش در این آزمایش مشاهده گردیده است. نتیجه کلی که می توان گرفت این است که تغذیه منابع چربی برای بهبود دادن عمل کرد و فعالیت تولیدمثلی، چه برای گاوه‌های چند بار زایش و چه برای گاوه‌های یکبار زایش، همچنان که گفته شد از طریق افزایش تعداد فولیکول‌های متوسط و کوچک موثر می‌باشد. اما به نظر می رسد که با توجه به معنی دار بودن این تفاوت در گاوه‌های یک بار زایش نسبت به چند بار زایش بدلیل تولید پایین شیر در این گاوها نسبت به گاوه‌های چند بار زایش و همچنین بالا بودن عملکرد تخمدانی در این گاوها نسبت به گاوه‌های چند بار زایش می باشد. با توجه به نتایجی که در این آزمایش مشاهده شده و همچنین مروری که استاپل و تایچر^{۱۳} داشته اند به نظر می‌رسد که تغذیه دانه سویای حرارت داده شده (منبع اسیدهای چرب غیر اشباع) باتوجه به نقش‌های ویژه‌ای که در اندام‌های تولید مثلی دارند برای بهبود دادن عمل کرد تخمدان مزیت بیشتری دارند.

جدول ۲- مجموع میانگین حداقل مربعات غلظت فراسنجه‌های خونی گاوه‌های تغذیه شده با منابع مختلف چربی

شاخص	کنترل	دانه سویا	SEM	p-value
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)				
L1 قبل زایش	۷۰/۰۳	۷۷/۹۳	۴/۸۱	NS
L2 بعد زایش	۸۰/۳۷	۶۷/۶	۴/۸۱	NS
L1 قبل زایش	۷۱/۱	۶۷/۳۹	۴/۹۵	NS
L2 بعد زایش	۷۲/۷۷	۷۰/۳۹	۴/۹۵	NS
بتا هیدروکسی بوتیرات (میلی مول بر لیتر)				
	۰/۷۵	۰/۵۶	۰/۳۴	NS
+۷ زایش	۰/۵۴	۰/۳۲	۰/۳۴	NS
+۱۴ زایش	۰/۷۸	۰/۵۴	۰/۳۳	NS

¹² Petit

¹³ Staples , Thatcher

NS	۰/۳۳	۰/۵۷	۰/۵۱	۷+ زایش
				۱۴+ زایش
اسیدهای چرب غیر استریفه شده				
(میلی مول بر لیتر)				
NS	۴/۸۱	۷۷/۹۳	۰/۴۱	L1 قبل زایش
NS	۴/۸۱	۶۷/۶	۰/۴۴	L2 بعد زایش
NS	۴/۹۵	۶۷/۳۹	۰/۴۹	L1 قبل زایش
NS	۴/۹۵	۷۰/۳۹	۰/۷۳	L2 بعد زایش

*تفاوت بین تیمارها معنی دار نیست. ۱- گاوهایی یک بار زایش ۲- گاوهایی چند بار زایش

منابع

1. Beam SW, WR B.1997. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation in dairy cows receiving three levels of dietary fat. Biol Reprod;56: 133-142.1
2. Bilby TR, Block J, do Amaral BC, Sa Filho O, Silvestre FT, Hansen PJ, Staples CR, WW T. 2006. Effects of dietary unsaturated fatty acids on oocyte quality and follicular development in lactating dairy cows in summer. J Dairy Sci;89: 3891-3903.2
3. Bilby TR, Sozzi A, Lopez MM, Silvestre FT, Ealy AD, Staples CR, WW T. 2006. Pregnancy, bovine somatotropin, and dietary n-3 fatty acids in lactating dairy cows: 1. Ovarian, conceptus, and growth hormone-insulin-like growth factor system responses. J Dairy Sci;89: 3360-3374.
4. Drackley JK. ADSA Foundation Scholar Award. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? J Dairy Sci;82: 2259-2273.
5. Lammoglia MA, Willard ST, Hallford DM, Randel RD. 1997. Effects of dietary fat on follicular development and circulating concentrations of lipids, insulin, progesterone, estradiol-17 beta, 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F(2 alpha), and growth hormone in estrous cyclic Brahman cows. J Anim Sci;75: 1591-1600.
6. Lucy MC, De la Sota RL, Staples CR, WW T. 1993. Ovarian follicular populations in lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin (Sometribove) or saline and fed diets differing in fat content and energy. J Dairy Sci;76: 1014-1027.
7. McNamara S, Butler T, Ryan DP, Mee JF, Dillon P, O'Mara FP, Butler ST, Anglesey D, Rath M, Murphy JJ. 2003. Effect of offering rumen-protected fat supplements on fertility and performance in spring-calving Holstein-Friesian cows. Anim Reprod Sci;79: 45-56.
8. Petit HV, Dewhurst RJ, Scollan ND, Proulx JG, Khalid M, Haresign W, Twagiramungu H, GE M. 2002. Milk production and composition, ovarian function and prostaglandin secretion of dairy cows fed omega-3 fatty acids. J Dairy Sci;85: 889-899.

9. Petit HV, Germiquet C, D L. 2004. Effect of feeding whole, unprocessed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows. *J Dairy Sci*; 87: 3889–3898.
10. Staples CR, Burke JM, Thatcher WW. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J Dairy Sci*; 81: 856-871.

Effective of Roasted Soybean in close up on reproductive activity in primiparous and multiparous Holstein cows

Sadegh hashemi¹, Mehdi ganjkhanelou², Mehdi dehghan banadaki², Abolfazl zali², Hosein imani³

¹ University of Tehran Graduated², Department of Animal Science University of Tehran,

³University of Zanjan Graduated

* Corresponding E-mail address: Hosein imani, eimani.hosein@gmail.com

Abstract

The objective of this study was to determine the effect of different fatty acids in close – up period on blood parameters and reproductive performance of lactating dairy cows. In this study 18 Holstein cows, 8 primiparous and 10 multiparous dairy cows were selected by expected date of parturition (around 30 days before calving) and assigned them randomly within treatments diets. The diets were formulated to be isonitrogenous. Cows were fed 1) control (carbohydrate source), 2) Roasted Soybean (RS) (unsaturated fatty acids). Blood sample was collected in One week before and after of calving. Also dry matter intake and body condition score cows were recorded. Ovarian activity was monitored by daily transrectal ultrasound scanning from 30 to 40 and 61 to 70 DIM. Differences in dry matter intake, body condition score and blood parameters in in two groups of cows were not significant. According to the ovarian function, Reproductive activity of cows fed with RS than other groups in primiparous cows were significantly higher. But these differences were no significant in multiparous cows.

Key words: ultrasound, Roasted Soybean, Ovarian activity, close – up period

اثرات گیاه سرخارگل بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی

ندا نصیرزاده^۱، جواد آرشامی^{۱*}، حسن نصیری مقدم^۱ و محمد رضا باسامی^۲

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۲- گروه آموزشی علوم درمانگاهی - بهداشت و پیشگیری

بیماریهای دامی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

* نویسنده مسئول: جواد آرشامی، دانشیار گروه علوم دامی.

مشهد، پردیس دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، کدپستی ۹۱۷۷۹-۴۸۹۷۸

arshjavad@um.ac.ir

چکیده

مطالعه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی، با استفاده از ۲۸۰ قطعه جوجه‌ی یک روزه (نژاد راس) جهت تعیین اثرات پودر بخش‌های هوایی گیاه سرخارگل به صورت افزودنی خوراکی با سطوح ۰/۰، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۲، ۱/۶، ۲/۰ و ۲/۴ درصد بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی (سلولی و هومورال)، اندام‌های ایمنی شامل بورس فابریسیوس و طحال انجام شد. پاسخ حساسیت پرده‌ی پا به فیتوهماگلوآنتین و تیترا آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفند به ترتیب به عنوان شاخص‌هایی از ایمنی سلولی و هومورال بررسی شد. بدین منظور، در روز ۱۴ دوره‌ی پرورش، ۸ قطعه پرنده از هر تیمار (۲ قطعه از هر پن) بطور تصادفی انتخاب شده و با رنگ‌های مختلف علامت گذاری گردیدند. ضخامت پرده‌ی انگشت سوم راست هر پرنده قبل از تزریق اندازه‌گیری و بعد ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول فیتوهماگلوآنتین به پای چپ و محلول نرمال سالین هم بصورت زیر جلدی به پای راست تزریق شد. بیست و چهار ساعت بعد از تزریق، ضخامت پرده پا اندازه‌گیری گردید. تزریق سوسپانسیون ۱۰٪ گلبول قرمز گوسفند، به میزان ۱ میلی‌لیتر به عضله‌ی سینه‌ی پرندگان، در روزهای ۲۸ و ۳۵ انجام شد و یک هفته بعد از هر تزریق، خونگیری به عمل آمد. ارزیابی اندام‌های لنفاوی نیز در ۴۲ روزگی با کشتار یک قطعه پرنده از هر پن میسر شد. نتایج نشان دادند که استفاده از گیاه سرخارگل بر حساسیت پرده‌ی پا هیچ گونه تاثیر معنی داری ندارد. تیمارها تفاوت معنی داری را در تیترا آنتی بادی علیه گلبول قرمز نشان دادند بدین گونه که IgG و ایمونوگلوبولین کل گروه‌های آزمایشی در هر دو نوبت تفاوت معنی دار داشتند ($P < 0.05$)؛ ولی این پاسخ وابسته به دوز نبود. در حالی که در مورد IgM تفاوت معنی دار بین تیمارها مشاهده نشد. میانگین وزن بورس فابریسیوس و طحال نیز تفاوت معنی داری را نشان ندادند.

واژگان کلیدی: سرخارگل - سیستم ایمنی - آنتی بادی - تست حساسیت پرده‌ی پا - گلبول قرمز گوسفند - جوجه‌های گوشتی - افزودنی خوراکی.

مقدمه

سرخارگل (coneflower) گیاهی چند ساله با نام علمی *Echinacea purpurea* و بومی آمریکای جنوبی می‌باشد (۵). تجزیه‌ی شیمیایی این گیاه نشان دهنده‌ی وجود ترکیبات مهم دارویی از قبیل: پلی‌ساکاریدها، فلاونوئیدها، مشتقات کافیک اسید، عصاره‌های روغنی، پلی‌استیلن‌ها و آلکامیدها است. از این میان پلی‌ساکاریدها از اجزای اولیه‌ی مهم در ایجاد اثرات تنظیم ایمنی

در نظر گرفته می شود (۹). استفاده از گیاه سرخارگل منجر به افزایش انواع سایتوکاین ها، لنفوسیت ها و فعالیت ماکروفاژ ها می شود (۸). البته اثر پلی ساکاریدها در افزایش فعالیت ماکروفاژها و چندین عملکرد دیگر مربوط به تولید سایتوکاین می باشد (۳). بر این اساس، هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات سطوح مختلف بخش های هوایی خشک شده گیاه سرخارگل (مخلوط ساقه و برگ) به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک ها بر روی عملکرد سیستم ایمنی در جوجه های گوشتی بوده است.

مواد و روش ها

در این آزمایش ۲۸۰ قطعه جوجه ی یک روزه نژاد راس مورد استفاده قرار گرفت؛ که بطور تصادفی به ۲۸ واحد آزمایشی (پن) مشتمل بر ۷ تیمار با ۴ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی تقسیم شدند. سطوح مصرف گیاه ۰/۰ (شاهد)، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۲، ۱/۶، ۲/۰، ۲/۴ درصد بود که از یک روزگی به جیره افزوده شد. به منظور ارزیابی سیستم ایمنی و تعیین برخی از فراسنجه های ایمنی، در روزهای ۳۵ و ۴۲ دوره ی پرورش از جوجه ها خونگیری به عمل آمد. بدین منظور یک قطعه پرندۀ از هر پن (۴ پرندۀ از هر تیمار) به طور تصادفی انتخاب و از ورید زیر بال خونگیری انجام شد. در روزهای ۲۸ و ۳۵ دوره ی پرورش، میزان ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون ۱۰٪ گلبول قرمز گوسفند به عضله ی سینه ی پرندگان تزریق شد. هفت روز بعد از هر نوبت تزریق، خونگیری از ورید زیر بال انجام گردید. پس از آن میزان IgG، IgM و ایمونوگلوبولین به روش کوریشی و هاونستون (۱۹۹۴) تعیین شد (۶). در روز ۱۴ دوره ی پرورش، به پرندۀ انتخاب شده از هر پن ۰/۱ میلی لیتر از محلول فیتوهمگلوتنین به پای چپ و محلول سالین هم بصورت زیر جلدی به پای راست تزریق شد. بیست و چهار ساعت بعد از تزریق، ضخامت پرده پا اندازه گیری گردید (۴). در سن ۴۲ روزگی بورس و طحال از بدن یک نمونه پرندۀ از هر پن جدا و توزین شد. یافته های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری SAS و با استفاده از مدل خطی عمومی^{۱۴} (GLM) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. میانگین داده ها به کمک آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۰/۰۵ با هم مقایسه شدند.

نتایج و بحث

گروه های آزمایشی اثرات معنی داری را در مورد وزن نسبی طحال و بورس در سن ۴۲ روزگی نشان ندادند که با یافته های دیگر (۶) در توافق است. همچنین در ارتباط با تیتراژ آنتی بادی، IgG و Ig کل در هر دو نوبت تزریق تفاوت معنی داری ($P < 0/05$) را دارا بود در حالی که در ارتباط با IgM هیچ گونه تفاوت معنی داری مشاهده نشد؛ تیموری زاده و همکاران (۱) و خالقی میران و همکاران (۲) نتایج مشابهی را گزارش نمودند. تست حساسیت پرده پا هم همچون مطالعه رحیمی و همکاران (۷) در تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری را نشان نداد.

جدول ۱- اثرات سطوح مختلف گیاه سرخارگل بر وزن نسبی اندام های لنفاوی

تیمار	وزن نسبی طحال	وزن نسبی بورس
	(گرم در ۱۰۰ گرم وزن بدن)	(گرم در ۱۰۰ گرم وزن بدن)
شاهد	^{ab} ۰/۱۷۲	^{ab} ۰/۱۵۳

¹⁴ Generalized Linear Model (GLM)

a./۱۹۱	b./۱۵۷	% گیاه سرخارگل
a./۱۶۲	ab./۱۸۲	% گیاه سرخارگل
b./۱۴۵	ab./۲۰۰	% گیاه سرخارگل
b./۱۳۷	ab./۱۷۵	% گیاه سرخارگل
ab./۱۴۶	ab./۱۹۷	% گیاه سرخارگل
b./۱۴۳	a./۲۲۲	% گیاه سرخارگل
۰/۰۰۷۶۴	۰/۰۰۷۶۴	خطای معیار میانگین

a, b و ... : در هر ستون، میانگین‌هایی که واژ یا واژه‌های ناهمسان دارند، تفاوت آماری معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

جدول ۲- اثرات سطوح مختلف گیاه سرخارگل بر تیترا آنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز

ایمونوگلوبولین کل		ایمونوگلوبولین M		ایمونوگلوبولین G		تیمار
۴۲ روزگی	۳۵ روزگی	۴۲ روزگی	۳۵ روزگی	۴۲ روزگی	۳۵ روزگی	
abc _{۳/۰۰}	ab _{۴/۲۵}	۱/۰۰	۱/۰۰	ab _{۲/۰۰}	a _{۳/۲۵}	شاهد
abc _{۳/۲۵}	ab _{۴/۰۰}	۱/۲۵	۱/۰۰	ab _{۲/۰۰}	ab _{۳/۰۰}	% گیاه سرخارگل
c _{۲/۵۰}	b _{۳/۷۵}	۱/۲۵	۱/۲۵	b _{۱/۲۵}	b _{۲/۵۰}	% گیاه سرخارگل
a _{۳/۷۵}	ab _{۴/۲۵}	۱/۲۵	۱/۲۵	a _{۲/۵۰}	ab _{۳/۰۰}	% گیاه سرخارگل
ab _{۳/۵۰}	a _{۵/۰۰}	۱/۲۵	۱/۰۰	a _{۲/۲۵}	a _{۴/۰۰}	% گیاه سرخارگل
abc _{۳/۲۵}	b _{۳/۷۵}	۱/۲۵	۱/۰۰	ab _{۲/۰۰}	b _{۲/۷۵}	% گیاه سرخارگل
bc _{۲/۷۵}	a _{۵/۰۰}	۱/۰۰	۱/۰۰	ab _{۱/۷۵}	a _{۴/۰۰}	% گیاه سرخارگل
۰/۳۲۳۷	۰/۳۹۳۴	۰/۲۱۱۳	۰/۱۳۳۶	۰/۲۹۳۸	۰/۴۱۵۴	خطای معیار میانگین

a, b و ... : در هر ستون، میانگین‌هایی که واژ یا واژه‌های ناهمسان دارند، تفاوت آماری معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

منابع

۱. تیموری‌زاده ز. ۱۳۸۷. اثر سه عصاره تجاری گیاهی بر عملکرد رشد، سیستم ایمنی، فاکتورهای خونی و جمعیت باکتریایی انتخاب شده روده کوچک جوجه‌های گوشتی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.
۲. خالقی میران ن. ۱۳۸۸. مقایسه تأثیر برخی از محرک‌های ایمنی در جوجه‌های گوشتی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. گروه پرورش و تولید طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.

3. Bauer, R., H. Wagner. 1991. Echinacea species as potential immunostimulatory drugs, in Wagner, H., N. Farnsworth. (eds), Economic and medical plant Research, 5th ed., London: Academic press, pp: 253-321.
4. Corrier, D.E., J.R. Deloach. 1990. Evaluation of cell mediated cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens by interdigital skin test. Poultry Science, 69:403-408.

5. McGregor, R. L. 1968. The Taxonomy of the Genus Echinacea (compositae). The University of Kansas science Bulletin, 48:113-123.
6. Qureshi, M.A., G.B. Havenstein. 1994. A comparison of the immune performance of a 1991 commercial broiler with a 1957 randombred strain when fed "typical" 1957 and 1991 broiler diets. Poultry Science, 73:1805-1812.
7. Rahimi, S., Z. Teymori Zadeh, M.A. Karimi Torshizi, R. Omidbaigi, H. Rokni. 2011. Effect of the three herbal extracts on growth performance, immune system, blood factors and intestinal selected bacterial population in broiler chickens. Journal of Agriculture and Technology, 13:527-539.
8. Sasagawa, M., N.B. Cech, D.E. Gray, W.G. Elmar, A.W. Cynthia. 2006. Echinacea alcylamides inhibit interleukin-2 production by Jurkat T cells. International Immunopharmacology. 6:1214-1221.
9. Wagner., H., H. Stuppner, W. Schafer, M. Zenk. 1988. Immunologically active polysaccharides of Echinacea purpurea cell cultures. Phytochemistry, 27:119-123.

Effects of different levels of Echinacea purpurea on immune system in broiler chicks

Neda Nasirzadeh¹, Javad Arshami^{1*}, Hassan Nasiri-Moghaddam¹, Mohammad-Reza Basami²

1 Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

2 Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary medicine, Ferdowsi University of Mashhad

* Corresponding E-mail address: arshjavad@um.ac.ir

Abstract:

This study was conducted to examine the effects of aerial parts (stems and leaves) of coneflower (Echinacea purpurea) as feed additive on humoral and cellular immunity, immune organs such as Bursa and Spleen of broiler chickens. A total number of 280 one-year-old (Ross 308) broiler chicks were divided into seven groups and assigned to the basal diet (Control), basal diet supplemented with different levels of the plant including 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2, and 2.4 %. Relative weight of immune organs such as Bursa Fabricius and Spleen, antibodies (IgG, IgM and total Ig) titers, cutaneous basophiles and hypersensitivity response were assessed. At 42 d of age relative weights of immune organs (spleen and bursa of Fabricius) as two immune indexes were determined. Cutaneous basophiles hypersensitivity response was assessed 24 h after subcutaneously injection of 0.1 ml phytohemagglutinin to toe web at 14 d of age. At 28 and 35 d SRBC suspension (10% in sterile PBS) was injected in breast muscle of 1 bird per treatment and antibodies responses were determined. Relative weight of bursa Fabricius in treatment group showed no significant increase as compared with control group, while the relative weight of spleen was affected, but the difference was not significant. Cutaneous basophiles hypersensitivity response was affected by treatments, but it was not significant ($P < 0.05$).



Antibody response to Sheep Red Blood Cells (SRBC) was higher in treatment groups (IgG) ($P < 0.05$) but was not dose-dependent.

Keywords: Echinacea purpurea- Immune system- antibody-broiler- feed additive-Sheep red blood cell-Toe web hyper sensitivity.

اثر تزریق داخل شیردانی منابع گلوکوکورتیک و لیپوژنیک بر تست تحمل گلوکز گوسفندان

عطیه بهلولی قائن^{۱*}، عباسعلی ناصریان^۱ و رضا ولی زاده^۲

دانشجوی دکتری^{*} و استاد^۲ دانشگاه فردوسی مشهد

*at_bohluli@yahoo.com

چکیده

اثر تزریق شیردانی نشاسته ذرت (CS) و دکستروز (DEX) بعنوان منبع گلوکوکورتیک، پیه (TAL) و روغن ماهی (FO) بعنوان منبع لیپوژنیک بر پاسخ انسولین، گلوکز و اثرات آنتی لیپولیتیکی انسولین گوسفندان بررسی شدند. به پنج گوسفند نر بلوچی در قالب طرح مربع لاتین ۵×۵ بمدت ۱۴/۵ روز (دوبار در ساعات ۱۴ و ۱۸ قبل از مصرف خوراک) از طریق شیردان، آب (WTR)، نشاسته ذرت (۱۲۰g/d)، دکستروز (۱۲۰g/d)، پیه (۵۸g/d) و روغن ماهی (۵۸g/d) تزریق شد. تست تحمل گلوکز وریدی (۰/۲۵gDEX/kg BW) در روز ۱۵ هر دوره پس از ۶۶ ساعت محدودیت غذایی انجام شد. محدودیت غذایی به منظور افزایش غلظت پلاسمایی اسیدهای چرب غیراستریفیه (NEFA) انجام گرفت. نمونه گیری از خون در زمانهای ۵-، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۷۵، ۱۰۵، ۱۳۵ و ۱۶۵ دقیقه پس از تزریق گلوکز انجام گرفت. داده ها با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS آنالیز شدند. در این آزمایش تیمارهای CS و DEX غلظت اولیه کمتر NEFA و بالاتر گلوکز سرم را در مقایسه با سایر تیمارها نشان دادند ($P < 0.05$). از طرفی افزایش سطح زیر منحنی انسولین پس از ۱۶۵ دقیقه (AUC_{165}) در تیمار DEX، و عدم تفاوت معنی دار گلوکز بین تیمارها میتواند بیانگر این باشد که تیمار DEX در این آزمایش اثرات مقاومت انسولینی داشته است. داده های این آزمایش نشان دادند غلظت NEFA سرم در تیمارهای CS و DEX در مدت انجام آزمایش کمتر از سایر تیمارها بودند ($P < 0.01$)؛ که بنظر می رسد تیمارهای گلوکوکورتیک در این آزمایش اثرات آنتی لیپولیتیکی انسولین را افزایش داده اند. واژه های کلیدی: انسولین - اسیدهای چرب غیر استریفیه - تحمل گلوکز.

مقدمه

انسولین و گلوکز نقش مهمترین میانجی های هموستاتیک را در نشخوارکنندگان شیرده ایفا می کنند. انسولین موجب تحریک فرایندهای آنابولیک (لیپوژن و گلیکوژن) شده و از مسیرهای کاتابولیک (لیپولیز، گلوکونئوژن، کتوژن و پروتئولیز) ممانعت می کند، بنابراین موجب ذخیره سوبستراها برای سنتز شیر در آینده می شود (۴). در گاوهای دوره انتقال و شیرده، افزایش احتیاج به گلوکز ممکن است با تغذیه جیره های متراکم و یا افزایش نشاسته عبوری از شکمبه تامین شود. این در حالی است که افزایش گلوکز پس از شکمبه موجب افزایش گلاسمیا و انسولینمیا شده و می تواند منجر به کاهش پاسخ به انسولین یا مقاومت انسولینی در بافتهای سطحی شود (۴). از طرفی در دوره انتقال، با افزایش بسیج ذخائر چربی و غلظت اسیدهای چرب غیراستریفیه شده (NEFA) در پلاسما مواجه هستیم که نقش مهمی در پایه گذاری مقاومت انسولینی و بیماریهای متابولیکی مرتبط با انرژی دارند (۳). تا کنون مطالعات مختلفی درباره اثر منابع انرژی خوراک بر حساسیت انسولینی انسان و حیوانات انجام شده که نتایجی گاه متفاوت در بر داشته اند (۱). مصرف چربی بالا به ویژه چربی های اشباع به نظر می رسد که با مقاومت انسولینی در حیوانات (۱۱) و انسان (۶) همراه باشد و موجب گسترش دیابت نوع ۲ شود (۵). در حالی که مصرف چربیهای غیر اشباع n-3 نظیر روغن ماهی موجب بهبود عملکرد انسولین و افزایش دریافت گلوکز و اسیدهای آمینه توسط ماهیچه اسکلتی در گاوها (۷) شده و از توسعه دیابت جلوگیری کرده است (۲). هدف از این آزمایش بررسی اثر منابع مختلف گلوکوکورتیک و لیپوژنیک بر روند تغییرات غلظت های سرمی انسولین،

گلوکز و NEFA پس از تزریق وریدی گلوکز در شرایط محدودیت غذایی بود که در آن از گوسفندان با کانولای شیردانی، به عنوان مدل حیوانی استفاده شد.

مواد و روشها

در این آزمایش از ۵ گوسفند نر بالغ بلوچی ($45 \pm 1/2 \text{ kg}$) با کانولای شیردانی در قالب طرح مربع لاتین 5×5 در دوره های ۲۱ روزه (۶ روز بدون تیمار و ۱۵ روز تزریق شیردانی) استفاده شد. حیوانات بر اساس احتیاجات نگهداری روزانه (200 g کاه، 300 g یونجه و 350 g کنسانتره) تغذیه شدند و تیمارها به صورت تزریق شیردانی آب (گروه شاهد)، نشاسته ذرت (120 g/d) و دکستروز (120 g/d)، به عنوان منابع گلوکوزینیک، پیه (58 g/d)، و روغن ماهی (58 g/d)، به عنوان منابع لیپوژنیک، اعمال شدند. تزریق ها دوبار در روز در ساعات ۸ و ۱۴ قبل از مصرف خوراک داخل بن ماری 37°C با آب به حجم ۶۰ میلی لیتر رسیده و با استفاده از سرنگ ۶۰ mL متصل به کتتر به آهستگی به داخل شیردان تزریق می شدند. در روز ۱۹ و ۲۰ محدودیت غذایی با مصرف 200 g/d کاه اعمال شد. نمونه گیری از خون در روزهای ۱۹ و ۲۱ قبل از مصرف خوراک (ساعت ۷) انجام شدند. تست تحمل گلوکز وریدی (IVGTT) در روز ۲۱، یک ساعت پس از آخرین تزریق شیردانی (ساعت ۸) انجام شد. محلول دکستروز ۵۰٪ ($0/25 \text{ g/kg BW}$) از طریق کتتر وداجی به آهستگی ($2 \pm 0/6 \text{ min}$) تزریق شد و در زمانهای -۵، -۱۵، -۳۰، -۴۵، -۷۵، -۱۳۵، و -۱۶۵ دقیقه پس از تزریق گلوکز، نمونه گیری از خون از طریق کتتر انجام گرفت. نمونه ها سپس سانتریفیوژ و سرم آنها جدا شدند. سرم ها در فریزر -70°C قرار داده شدند تا جهت اندازه گیری غلظت گلوکز، انسولین (RIA kit) و NEFA (RANDOX, Cat No. FA 115) آنالیز شوند. آنالیز آماری داده ها با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS انجام شد.

نتایج

پس از اعمال محدودیت غذایی در گوسفندان، غلظت سرمی NEFA در تیمارهای مختلف افزایش یافت، در حالیکه گلوکز و انسولین کاهش یافتند ($P < 0.01$). اخیراً مطالعاتی نقش تغییرات غلظت پلاسمایی NEFA در شکل گیری مقاومت انسولینی گاوهای هلشتاین را نشان داده اند (۹). به نظر می رسد NEFA با گلوکز در مسیر اکسیداسیون رقابت می کند و با افزایش محصولات جانبی که در نهایت منجر به افزایش غلظت گلوکز ۶ فسفات و مهار هگزوکیناز می شود، انتقال فعال گلوکز را کاهش می دهد (۱۰). داده ها نشان دادند غلظت گلوکز سرم تیمار دکستروز پس از محدودیت غذایی مقدار پایین تری از نشاسته ذرت داشته، اما پس از تزریق شیردانی تیمارها، بالاتر از نشاسته ($P = 0.07$) و سایر تیمارها بود ($P < 0.05$).

با توجه به جدول ۱ غلظت گلوکز و انسولین سرم قبل از تزریق در تیمارهای نشاسته و دکستروز بالاتر از سایر تیمارها بودند، در حالیکه NEFA سرم در آنها کمتر از سایر تیمارها بودند ($P < 0.01$). اما نسبت انسولین:گلوکز در این دو تیمار مشابه تیمار روغن پیه بوده و از روغن ماهی بالاتر بودند ($P < 0.05$). مقادیر AUC_{165} انسولین، گلوکز و نسبت انسولین:گلوکز نشان داد که تزریق شیردانی دکستروز علیرغم افزایش معنی دار گردش انسولین خون، نتوانسته است گلوکز سرم را نسبت به سایر تیمارها کاهش دهند و به نظر می رسد تزریق دکستروز در این مدت اثر کاهش دهنده حساسیت انسولینی همچون روغن پیه ایجاد کرده است. در آزمایش پاکلیاسوتی و همکاران (۱۹۹۵) مصرف طولانی مدت قندهایی چون سوکروز و فروکتوز موجب گسترش مقاومت انسولینی در رت ها شد (۷). پایرز و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که تزریق وریدی امولسیون چربی پیه در گاوهای هلشتاین افزایش غلظت NEFA و گسترش مقاومت انسولینی را به دنبال داشته است (۹).

جدول ۱. مقادیر سرمی گلوکز، انسولین و NEFA قبل و پس از محدودیت غذایی و تست تحمل گلوکز.

P _{value}		SEM	روز ۱۹، قبل از محدودیت غذایی (قبل از تزریق شیردانی)					روز ۲۱، پس از محدودیت غذایی (قبل از تزریق شیردانی)
روز	روز* تیمار		روغن ماهی	پیا روغن	دکستروز	نشاسته ذرت	آب	
۰/۴۴	<۰/۰۱	۱/۹۸	۵۵/۶	۶۷/۳	۵۷/۶	۶۱/۴	۶۴/۲	گلوکز (mg/dL)
۰/۶۵	<۰/۰۱	۱/۱۸	۱۲/۲ ^b	۱۶/۶	۱۸/۱	۲۰/۹ ^a	۱۲/۶ ^b	انسولین (μIU/mL)
۰/۱۰	<۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۲۲ ^b	۰/۴۲ ^a	۰/۳۴	۰/۳۲	۰/۳۶	NEFA (mmol/dL)
زمان		زمان	روز ۲۱، پس از محدودیت غذایی (قبل از تزریق شیردانی)					
<۰/۰۱	<۰/۰۱	۱/۱۵	۴۶/۸ ^b	۴۷/۸	۴۵/۸ ^b	۵۴/۸ ^a	۵۱/۶	گلوکز (mg/dL)
۰/۲۳	<۰/۰۱	۰/۷۵	۶/۲۹ ^b	۸/۱۹	۱۲/۴ ^a	۱۱/۲۵ ^a	۹/۸۵	انسولین (μIU/mL)
۰/۰۵	۰/۱۲	۰/۰۲	۰/۸۴ ^b	۱/۲۲ ^a	۰/۹۹ ^{ab}	۰/۶۶ ^c	۱/۱۹ ^a	NEFA (mmol/dL)
			روز ۲۱، قبل از تزریق وریدی گلوکز (۱ ساعت پس از تزریق شیردانی)					
			۲/۰۶	۵۵/۶ ^b	۴۸/۹ ^b	۸۷/۹ ^a	۷۴/۸ ^a	گلوکز (mg/dL)
			۰/۹۸	۷/۵ ^b	۱۲/۰ ^b	۲۱/۱ ^a	۱۹/۳ ^a	انسولین (μIU/mL)
			۰/۰۱	۰/۱۳ ^b	۰/۲۴ ^a	۰/۲۵ ^a	۰/۲۵ ^a	انسولین: گلوکز
			۰/۰۳	۱/۱۴ ^a	۱/۱۳ ^a	۰/۵۴ ^b	۰/۶۳ ^b	NEFA (mmol/dL)
			AUC ₄₅ (سطح زیر منحنی ۴۵ دقیقه پس از تزریق وریدی گلوکز)					
			۱۶۵/۲	۷۲۲۷	۶۴۷۳ ^c	۷۷۸۱ ^{ab}	۸۰۲۸ ^a	گلوکز (mg/dL)
			۱۴۴/۱	۳۳۹۹	۴۰۶۶ ^a	۳۲۱۲	۲۸۵۴ ^b	انسولین (μIU/mL)
			۱/۴۷	۲۱/۳ ^b	۳۲/۴ ^a	۲۰/۵ ^b	۱۵/۸ ^b	انسولین: گلوکز
			۰/۶۵	۲۵/۸ ^a	۲۵/۸ ^a	۱۸/۱ ^b	۲۰/۱ ^b	NEFA (mmol/dL)
			AUC ₁₆₅ (سطح زیر منحنی ۱۶۵ دقیقه پس از تزریق وریدی گلوکز)					
			۴۶۵	۲۱۰۱۰	۱۹۹۸۷	۲۲۵۷۱	۲۲۷۷۸	گلوکز (mg/dL)
			۲۸۴/۱	۸۸۱۳ ^b	۹۴۴۱	۱۱۱۸۸ ^a	۹۳۷۵	انسولین (μIU/mL)
			۲/۳۹	۶۷/۶ ^b	۸۱/۳	۸۸/۰ ^a	۶۸/۱ ^b	انسولین: گلوکز
			۱/۲۳	۶۵/۸ ^a	۶۹/۹ ^a	۴۶/۶ ^b	۵۳/۵ ^b	NEFA (mmol/dL)

اختلاف حروف a,b,c بیانگر تفاوت معنی دار می باشند (P<0.05).

مقدار اولیه و تغییرات غلظت NEFA پس از ۴۵ و ۱۶۵ دقیقه تزریق گلوکز نشان می دهد که در تیمارهای گلوکوژنیک غلظت NEFA با سرعت بیشتری کاهش یافته که ممکن است به علت افزایش اثرات آنتی لیپولیتیکی انسولین و کاهش تجزیه پذیری گلیسیریدها در کبد باشد (۸ و ۹). به طور کلی به نظر می رسد توجه به نوع منبع مورد استفاده از نظر مکان جذب، محصولات حاصل از هضم و جذب آنها و اثری که بر متابولیسم بافتها می گذارند در بررسی حساسیت بافت ها به انسولین مهمتر از صرفاً گلوکوژنیک یا لیپوژنیک بودن آنهاست.

- 1) Bessesen D.H. 2001. The role of carbohydrates in insulin resistance. Symposium: Carbohydrates—Friend or Foe. Am Socie for Nutr Sci. Supl. 2782-86.
- 2) Delarue J, LeFoll C, Corporeau C, Lucas D. 2004. N-3 long chain polyunsaturated fatty acids: A nutritional tool to prevent insulin resistance associated to type 2 diabetes and obesity. *Reprod. Nutr. Dev.* 44:289-299
- 3) Grummer RR. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1993;76:3882-3896
- 4) Lemosquet S, Debras E, Balage M, Hocquette JF, Rulquin H, Grizard J. 2002. Short-term mild hyperglycemia enhances insulin-stimulated glucose disposal in lactating goats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 282(2):464-74.
- 5) Marshall, J. A., Hoag, S., Shetterly, S. & Hamman, R. F. 1994. Dietary fat predicts conversion from impaired glucose tolerance to NIDDM. *Diabetes Care* 17: 50-56.
- 6) Marshall, J. A., Bessesen, D. H. & Hamman R. F. 1997. High saturated fat and low starch and fiber are associated with hyperinsulinemia in a nondiabetic population: the San Luis Valley Diabetes Study. *Diabetologia.* 40: 430-438.
- 7) Pagliassotti, M. J. & Prach, P. A. (1995) Quantity of sucrose alters the tissue pattern and time course of insulin resistance in young rats. *Am. J. Physiol.* 269: R641-R646.
- 8) Pires J.A.A., J.B. Pescara, A.E. Brickner, N. Silva del Rio, A.P. Cunha, R.R. Grummer. 2008. Effects of Abomasal Infusion of Linseed Oil on Responses to Glucose and Insulin in Holstein Cows. *J. Dairy Sci.* 91: 1378-90.
- 9) Pires JA, Souza AH, Grummer RR. 2007. Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. *J Dairy Sci.* 90(6):2735-44.
- 10) Randle, P.J. 1998. Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. *Diabetes Metab. Rev.* 14(4):263-283.
- 11) Storlien, L. H., Baur, L. A., Kriketos, A. D., Pan, D. A., Cooney, G. J., Jenkins, A. B., Calvert, G. D. & Campbell, L.V. 1996. Dietary fats and insulin action. *Diabetologia* 39: 621-631.

Effects of abomasal infusion of corn starch, dextrose, tallow and fish oil on sheep glucose tolerance test

Atiyeh Bohlul Ghaen^{*1}, Abasali Naserian², Reza Valizade²
¹Ph.D. student and ²professor, Ferdowsi University. Mashhad
^{*}at_bohluli@yahoo.com

Abstract

The objective was to study the effects of abomasal infusion of corn starch (CS) and dextrose (DEX) as glucogenic, tallow (TAL) and fish oil (FO) as lipogenic sources on insulin, glucose and insulin antilipolytic response of sheep. Five adult Baloochi rams were assigned to a 5×5 Latin square design, infused abomasally with either water(WTR), CS(120g/d), DEX(120g/d), TAL(58g/d), and FO(58g/d), for 14.5d. Treatments were infused twice daily at 0800 and 1400 before feeding. Intravenous glucose tolerance test (IVGTT; 0.25g DEX/kg BW) was performed on d15 of each period after 66h feed restriction. Feed restriction was used to simulate body



reserve mobilization and increase plasma nonesterified fatty acid (NEFA) concentration. Blood samples were collected at -5, 15, 30, 45, 75, 105, 135, and 165 min relative to administration of glucose. Data were analyzed using the GLM procedure of SAS. In this experiment plasma basal NEFA were decreased and glucose increased in both CS and DEX than others ($P<0.05$). So, the greater insulin area under curve after 165 min of IVGTT (AUC_{165}) in DEX, and same glucose AUC_{165} between treatments, may show DEX treatment had insulin resistance effects. Data showed NEFA concentration of CS and DEX were ever lower than others ($P<0.01$); it suggest that glucogenic treatments enhanced antilipolytic effects of insulin.

Keywords: Insulin, nonesterified fatty acid, glucose tolerance.

اثر تزریق داخل صفاقی آگونیست اختصاصی گیرنده کانابینوئیدی (CB2) بر میزان اخذ غذا در جوجه گوشتی نوزاد

راضیه عسکری وزیری^{۱*}، لادن عمادی^۲، حسین جنیدی^۳

^{۱*} دانش آموخته دکترای حرفه ای دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان

^۲ استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان

^۳ دانشیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان

*نویسنده مسئول: راضیه عسکری وزیری، dr.askarivaziri@yahoo.com

چکیده

هدف مطالعه حاضر تعیین اثر تزریق داخل صفاقی آگونیست گیرنده های CB2 بر کنترل اخذ غذا در جوجه های نوزاد بود. گیرنده های کانابینوئیدی (CB1 و CB2)، اندوکانبینوئیدها و لیگاند های اندوژن که شامل آنانداماید (آراشیدونیل اتانول آمین) و 2AG (۲-آراشیدونیل گلیسرول) می باشند و مکانیسم های در ارتباط با متابولیسم و سنتز آنها، سیستم اندوکانبینوئید را تشکیل می دهد. گیرنده های CB1 و اندوکانبینوئیدها در ساختارهای مغزی کنترل کننده تعادل انرژی و سلولهای محیطی (هیپوتوسیتها، آدیپوسیتها، سلولهای جزایر لانگرهانس) تنظیم کننده هموستاز بدن حضور دارند. گیرنده های CB2 بیشتر در لنفوسیت و ماکروفاژها حضور دارند و در واکنش های ایمنی و التهابی دخیل هستند. نتایج مطالعه حاضر نشان میدهد که میزان $125(\mu\text{g}/500\mu\text{l})$ و کمتر آگونیست گیرنده های CB2 (CB65) در زمانهای مختلف آزمایش تاثیر قابل توجهی بر میزان اخذ غذا نداشته است و بررسی تزریق داخل صفاقی سایر دوزهای آگونیست گیرنده CB2 (CB65) ضروری می باشد. واژگان کلیدی: سیستم اندوکانبینوئیدی- گیرنده اندوکانبینوئیدی نوع دوم- تزریق داخل صفاقی- اخذ غذا- جوجه گوشتی

مقدمه

اندوکانبینوئیدها و گیرنده های کانابینوئیدی و پروتئینهای کاتالیز کننده بیوسنتز و غیر فعال سازی اندوکانبینوئیدها، سیستم اندوکانبینوئید را تشکیل می دهند (۱۰). اندوکانبینوئیدها مشتق از چربی می باشند که گیرنده های کانابینوئیدی را فعال می سازند. دو اندوکانبینوئید به نامهای آراشیدونوئیل اتانول آمین یا آنانداماید و ۲-آراشیدونوئیل گلیسرول یا 2-AG در پستانداران شناخته شده است که گیرنده های آنها شامل CB1 و CB2 می باشند (۸). این سیستم در تنظیم اخذ غذا، وزن بدن و تعادل انرژی در پستانداران نقش دارد. در گذشته جهت بهبودی اشتهای بیماران از گیاه ماری جوانا استفاده می شد که در واقع ماده مؤثره این گیاه به عنوان یک کانابینوئید اگزوژن می باشد. در مطالعات صورت گرفته در پستانداران، وجود گیرنده های کانابینوئیدی و لیگاند های آن دوژن آنها در بخشهای مختلف مغز به اثبات رسیده است و اخیرا وجود این گیرنده ها در مغز مرغ نیز گزارش شده است. وجود اندوکانبینوئیدها و گیرنده های آنها در بافتهای محیطی کنترل کننده هموستاز انرژی از جمله روده ها، کبد، سلولهای چربی، پانکراس و عضله اسکلتی ثابت شده است. قابل ذکر می باشد که تا کنون گزارشی در ارتباط با اثر محیطی آگونیست اختصاصی گیرنده CB2 (CB65) بر میزان اخذ غذا در پرندگان وجود ندارد. با توجه به اهمیت میزان مصرف غذا در افزایش رشد و وزن مرغان گوشتی و همچنین نقش سیستم اندوکانبینوئیدی در تنظیم اخذ غذا و افزایش اشتهای، تصمیم گرفته شد که نقش

محیطی آگونبست اختصاصی گیرنده CB2 (CB65) بر میزان اخذ غذا در جوجه گوشتی نوزاد مورد بررسی و پژوهش قرار گیرد.

مواد و روشها

ابتدا ۴۰ جوجه یک روزه گوشتی نژاد راس تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. جوجه ها بصورت گروهی در قفسهای مخصوص با قابلیت تنظیم درجه حرارت و رطوبت با شرایط دمای 1 ± 30 درجه سانتیگراد و رطوبت ۵۰-۴۵ درصد نگهداری شدند. نور هم در تمام طول ۲۴ ساعت شبانه روز برقرار بود و به آب و غذا آزادانه دسترسی داشتند. بعد از گذشت ۴۸ ساعت جوجه ها بطور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم و به قفسهای انفرادی منتقل شدند. در روز ۵ (روز انجام آزمایش) به مدت ۳ ساعت گرسنگی داده شد اما آب آزادانه در اختیار آنها قرار گرفت. سپس جوجه ها توزین شده و بعد از تزریق داخل صفاقی دارو، جوجه ها بلافاصله به قفس برگردانده و دانخوری در اختیار آنها قرار داده شد و در فواصل ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق میزان اخذ غذا اندازه گیری شد.

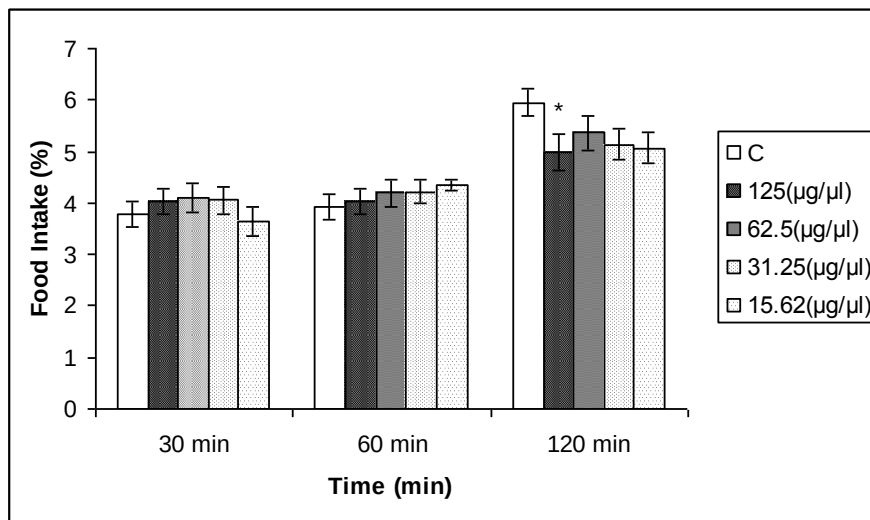
۵ گروه مورد مطالعه به ترتیب شامل: گروه اول کنترل (DMSO)، گروه دوم آگونبست CB65 به میزان $(125 \mu\text{g}/500\mu\text{l})$ ، گروه سوم آگونبست CB65 به میزان $(62/5 \mu\text{g}/500\mu\text{l})$ ، گروه چهارم آگونبست CB65 به میزان $(31/25 \mu\text{g}/500\mu\text{l})$ و گروه پنجم آگونبست CB65 به میزان $(15/62 \mu\text{g}/500\mu\text{l})$ تزریق درون صفاقی (۵۰۰ میکرولیتر) انجام شد.

داده های حاصل از این مطالعه به صورت درصد میزان اخذ غذا به نسبت وزن بدن محاسبه گردید. سپس با استفاده از نرم افزار SPSS، آزمون آنالیز واریانس یکطرفه میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین هر گروه محاسبه و درصد اخذ غذا به نسبت وزن بدن بین گروهها در زمانهای ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه مقایسه گردید. سطح معنی داری نیز $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

پس از آنالیز آماری دادهها، نتایج بدست آمده نشان داد که درصد اخذ غذا در گروههای $(125 \mu\text{g}/500\mu\text{l})$ ، $62/5$ و $31/25$ در زمانهای ۳۰ و ۶۰ دقیقه افزایش ناچیزی نسبت به گروه کنترل داشته اند. در حالیکه این اثر ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق دارو بصورت کاهش معنا دار درصد اخذ غذا در گروه $(125 \mu\text{g}/500\mu\text{l})$ نسبت به گروه کنترل ۱۲۵ مشاهده می گردد (نمودار ۱).

نمودار ۱: میزان اخذ غذای تجمعی ($\text{g}/100\text{gBw}$) بدنبال تزریق داخل صفاقی مقادیر ۱۵/۶۲، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵ و ۱۲۵ میکروگرم CB65 در زمانهای ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه در جوجه های گوشتی نوزاد (* معنی داری با گروه کنترل)



جدول ۱- میزان اخذ غذای تجمعی (g/100gBw) بدنبال تزریق درون صفاقی مقادیر ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶۲ و ۱۲۵ میکروگرم CB65 در زمانهای ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه در جوجه های گوشتی نوزاد (* معنی داری با گروه کنترل)

	30 min	60 min	120 min
Control	3.79±0.25	3.92±0.26	5.95±0.26
125(µg/500µl)	4.04±0.25	4.04±0.25	4.98*±0.36
62.5(µg/500µl)	4.11±0.28	4.19±0.28	5.36±0.34
31.25(µg/500µl)	4.05±0.27	4.22±0.24	5.13±0.3
15.62(µg/500µl)	3.63±0.28	4.34±0.11	5.07±0.3

از آنجا که هر دو اندوکانونینوئید اصلی یعنی آناندماید و 2-AG در پلاسمای خون، مغز، قلب، کبد، پانکراس، عضلات، بافت چربی، کلیه، بیضه، پوست، طحال، رحم و استخوان یافت می شوند. این گستردگی منجر به طرح این مسئله می شود که آنها دامنه وسیعی از اثراتشان را از طریق فعال کردن گیرنده های کانابینوئیدی موجود در این بافت ها القاء می کنند. سطح اندوکانونینوئیدها بستگی به ماهیت و محل بافتی آنها دارد (۳ و ۸). سیستم اندوکانونینوئیدی یک سیستم تنظیم کننده است که اخیرا پژوهشگران به این نتیجه رسیده اند که بر روی رفتار تغذیه ای و تعادل انرژی از طریق مکانیسم مرکزی (در هیپوتالاموس و مزولیمبیک) و

محیطی (در آدیپوسیت ها، کبد، بافت عضلانی-اسکلتی و جزایر لانگرهانس) موثر می باشد و موجب فعال شدن شمار زیادی از مسیرهای افزایش دهنده و کاهش دهنده اشتها می شود(۵). نتایج مطالعه حاضر می تواند بدنبال فعالیت گیرنده CB2 از طریق سلول های ایمنی باشد که بطور غیر مستقیم از طریق تغییر فعالیت سیستم گوارش اشتها را تغییر داده است (۹).

عمادی و همکاران(۲۰۱۱) اثر تزریق درون بطن مغزی سی بی ۶۵ و آنتاگونیست این گیرنده یعنی ای ام ۶۳۰ را روی تنظیم اخذ غذا در جوجه های گوشتی نوزاد بررسی کردند. آن ها با تجویز درون بطن مغزی دوزهای مختلف سی بی ۶۵ مشاهده کردند که دوز ۱/۲۵ میکروگرم به عنوان بهترین دوز به طور معنی داری اخذ غذا را در مقایسه با گروه کنترل افزایش می دهد؛ همچنین تزریق همزمان با ای ام ۶۳۰ اثر افزایش دهندگی سی بی ۶۵ را بر اخذ غذا تخفیف می دهد(۶). جنیدی و همکاران(۲۰۱۱) نشان دادند که تجویز درون بطن مغزی مت آناندماید، آگونیست انتخابی CB1 اثری بر اخذ غذا در جوجه های گوشتی نوزاد ندارد در حالی که تزریق زیر جلدی این آگونیست با دوز ۵۰ میکروگرم مصرف غذا را در زمان های ۳۰ تا ۲۴۰ دقیقه پس از تزریق در مقایسه با گروه کنترل کاهش می دهد. آن ها به این نتیجه رسیدند که مت آناندماید در دوزهای کم دارای تأثیر محیطی بر اخذ غذای جوجه ها است(۱). جنیدی و همکاران(۲۰۱۲) اثر تعامل گیرنده های CB2 و گابا را در جوجه های نوزاد بررسی کردند آنها مشاهده کردند که تزریق درون بطن مغزی سی بی ۶۵، آگونیست انتخابی CB2، بطور معنی داری مصرف غذا را در ۳۰ دقیقه پس از تزریق افزایش داد. و همچنین تجویز همزمان سی بی ۶۵ با پیکروتوکسین و سی جی پی ۵۴۶۲۶ (به ترتیب آنتاگونیست های گابا آ و گابا ب) اما نه تی اچ آی پی (آگونیست گابا آ) افزایش اشتها القا شده توسط سی بی ۶۵ را تخفیف داد. بنابراین چنین نتیجه گیری کردند که گیرنده های CB2 می توانند در مغز جوجه های نوزاد در جهت افزایش مصرف غذا عمل کنند و گیرنده های گابا ممکن است در این اثر دخیل باشند(۲). با توجه به نتایج حاصل از مطالعات گذشته و مطالعه حاضر، جهت نتیجه گیری بهتر، تجویز داخل صفاقی سایر مقادیر آگونیست گیرنده CB2 (CB65)، همچنین بکارگیری روشهای تزریق دیگر ضروری می باشد.

منابع

۱. امینی ن. ۱۳۹۰. بررسی نقش مرکزی و محیطی گیرنده های CB1 سیستم اندوکannabinوئیدی بر میزان اخذ غذا در جوجه های نوزاد. پایان نامه شماره ۳۱۲ دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان.
۲. کمالی ی. ۱۳۹۰. واکنش متقابل اسید گاما آمینوبوتیریک (گابا) و سیستم اندوکannabinوئیدی بر میزان مصرف غذا در جوجه های نوزاد. پایان نامه شماره ۳۴۷ دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان.
3. Aviello G, Matias I, Capasso R, Petrosino S, Borrelli F, Orlando P, et al. 2008. Inhibitory effect of the anorexic compound oleoylethanolamide on gastric emptying in control and overweight mice. *J Mol Med*; 86:413–422.
4. Benito C, Nunez E, Tolon RM, Carrier EJ, Rabano A, Hillard CJ, et al. 2003. Cannabinoid CB2 receptors and fatty acid amide hydrolase are selectively overexpressed in neuritic plaque-associated glia in Alzheimer's disease brains. *J Neurosci*; 23: 11136–11141.
5. Chen Li, Peter M. Jones, Shanta J. Persaud. 2011. Role of the endocannabinoid system in food intake, energy homeostasis and regulation of the endocrine pancreas. *Pharmacology & Therapeutics* 129 :307–320.
6. Emadi L, Jonaidi H, Hosseini Amir Abad E. 2011. The role of central CB2 cannabinoid receptors on food intake in neonatal chicks. *J Comp Physiol A* 197:1143–114.

7. Ignatowska-Jankowska B, Jankowski MM, Swiergiel AH. 2011. Cannabidiol decreases body weight gain in rats: Involvement of CB2 receptors. *Neurosci Lett*; 490: 82–84.
8. Klein T.W. Cannabinoid-based drugs as anti-inflammatory therapeutics. *Nat. Rev. Immunol* 2005; 5, 400–411.
9. Onaivi ES, Carpio O, Ishiguro H, Schanz N, Uhl GR, Benno R. 2008. Behavioral effects of CB2 cannabinoid receptor activation and its influence on food and alcohol consumption. *Ann N Y Acad Sci* 1139:426–433
10. Salzet M. 2000. Invertebrate molecular neuroimmune processes. *Brain Res Rev*; 34:69–79.

The effect of intraperitoneal injection of selective agonist of cannabinoid receptor (CB2) on food intake in neonatal chicks

Razieh Askari Vaziri¹, Ladan Emadi², Hossein Jonaidi³

1* Graduated Student of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman

2 Assistant professor of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman

3 Associated professor of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman

Abstract

The goal of present study was to determine the effect of intraperitoneal administration of CB2 receptor agonist (CB65) on food intake regulation in neonatal chicks. The endocannabinoid system consists of the cannabinoid (CB) receptors, CB1 and CB2, the endogenous ligands anandamide (AEA, arachidonylethanolamide) and 2-arachidonoylglycerol (2-AG) and their synthetic and metabolic machinery. CB1 receptor and endocannabinoids are present in brain structures controlling energy intake and in peripheral cells (hepatocytes, adipocytes, pancreatic islet cells) regulating energy homeostasis. CB2 receptors are more abundant in lymphocytes and macrophages, and participate in immune and inflammatory reactions.

The result of present study indicated that doses of 125 (µg/500µl) CB65 and lower at any time of experiment have not considerable effect on food intake. It is necessary to evaluate intraperitoneal administration of the other doses of CB2 receptor agonist (CB65) on food intake in neonatal chicks.

Key words: endocannabinoid system, CB2 receptors, intraperitoneal injection, food intake, broiler chicks

بررسی اثرات اسانس گیاهان نعناع و آنیس به همراه اسیدآلی بر هیستومورفولوژی روده جوجه های گوشتی در سن ۱ تا ۲۱

روزگی

فاطمه کریمی^۱، اسعد وزیری^۲، قربانعلی صادقی^۲

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام و طیور گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان

^۲عضو هیأت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان

Email : f.karimi_2012@yahoo.com

چکیده

این تحقیق جهت ارزیابی اثر اسانس گیاهان دارویی آنیس و نعناع به همراه اسیدآلی بر هیستومورفولوژی روده جوجه های گوشتی انجام گردید. تعداد ۵۱۲ قطعه جوجه یکروزه سویه راس ۳۰۸ به طور تصادفی به هشت تیمار اختصاص یافتند. جیره های آزمایشی شامل: جیره پایه ذرت و سویا به عنوان شاهد، جیره حاوی اسیدآلی (۳ کیلوگرم در تن)، جیره حاوی ۱۵۰ قسمت در میلیون اسانس آنیس، جیره حاوی ۱۵۰ قسمت در میلیون اسانس نعناع، جیره حاوی آنیس و نعناع (هر کدام ۱۵۰ قسمت در میلیون)، جیره حاوی آنیس به همراه اسیدآلی، جیره حاوی نعناع به همراه اسیدآلی و جیره حاوی اسانس آنیس و نعناع به همراه اسیدآلی. افزودن ترکیب اسانس های آنیس و نعناع با اسیدآلی به جیره موجب افزایش معنی دار ارتفاع پرز ژئوژنوم نسبت به گروه شاهد شد ($p < 0.05$). افزودن ترکیب اسانس آنیس و نعناع با اسیدآلی سبب افزایش معنی دار نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ژئوژنوم نسبت به گروه شاهد و سایر گروه ها شد ($p < 0.05$). افزودن اسیدآلی، اسانس آنیس و نعناع و ترکیب آنها با اسیدآلی به جیره تأثیر معنی داری بر ارتفاع پرز در ایلئوم نسبت به گروه شاهد نداشت ($p > 0.05$)، اما نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در پرندگانی که اسانس آنیس دریافت کرده بودند افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد را نشان داد ($p < 0.05$). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از ترکیب اسانس های گیاهی به همراه اسیدآلی موجب افزایش ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ژئوژنوم شد.

واژه های کلیدی: گیاهان دارویی - اسیدآلی - هیستومورفولوژی روده - جوجه گوشتی

مقدمه

حذف آنتی بیوتیک از جیره طیور باعث افزایش مرگ و میر، ابتلا به بیماری ها بخصوص بیماری تورم نکروتیک روده، و کاهش عملکرد شده است [۲]. از اینرو محققین به دنبال جایگزین هایی برای آنتی بیوتیک می باشند که بتوانند عملکردی مشابه و یا حتی بهتر از آنتی بیوتیک ها در پرندگان ایجاد کنند [۱].

پروبیوتیک ها، آنزیم ها، پری بیوتیک، اسانس های روغنی گیاهان دارویی و اسیدهای آلی جایگزین هایی بودند که به تدریج توسط محققین توصیه شده اند [۱]. گیاهان دارویی به دلیل داشتن ترکیبات مختلف می توانند همزمان برای اهداف متعددی بکار برده شوند. ضمناً مقاومت به این ترکیبات گزارش نشده است. از دیگر مزایای این ترکیبات می توان به بهبود سیستم ایمنی خصوصاً در بیماری های تضعیف کننده سیستم ایمنی، اثرات ضد میکروبی، تحریک فرآیند هضم، کاهش غلظت چربی و کلسترول خون، خاصیت آنتی اکسیدانی و در نهایت محرک رشد اشاره کرد [۳]. تغذیه اسیدهای آلی نیز یک روش مناسب برای کنترل تعادل میکروبی روده می باشد [۵]. اسیدهای آلی همچون فوماریک، پروپیونیک، لاکتیک و سوربیک از طریق ساز و کارهای ویژه

ای باعث کاهش تکثیر عوامل بیماریزای موجود در دستگاه گوارش و نیز مرگ آنها می شوند. همچنین اسیدهای آلی باعث افزایش جذب مواد معدنی و افزایش قابلیت هضم و جذب پروتئین ها می شوند [۶]. در نتیجه می توان در اثر تغذیه اسیدهای آلی بهبود ضریب تبدیل غذایی و کاهش خوراک مصرف شده برای تولید مقدار معینی محصول را انتظار داشت [۵]. مطالعات زیادی در زمینه استفاده از اسیدهای آلی و عصاره گیاهان دارویی به عنوان جایگزین های بسیار سودمند برای آنتی بیوتیک ها انجام شده است. بر اساس مطالعات انجام شده، معمولاً اسیدهای آلی pH قسمت های ابتدایی دستگاه گوارش و اسانس های روغنی گیاهان دارویی، pH قسمت های انتهایی دستگاه گوارش را تعدیل می نمایند و لذا انتظار می رود که ترکیب این دو با تعدیل pH کل دستگاه گوارش بتواند اثرات سودمندتری را داشته باشد. با توجه به اینکه در مورد اثر ترکیبی این اسید آلی و اسانس روغنی گیاهان دارویی نعنای و آنیس تحقیقاتی صورت نگرفته است و انتظار می رود استفاده از این اسید آلی و اسانس روغنی گیاهان دارویی نعنای و آنیس تاثیرات مثبتی بر هیستومورفولوژی روده داشته باشد.

مواد و روش ها

این آزمایش بر روی ۵۱۲ قطعه جوجه سویه راس ۳۰۸ (بصورت مخلوط مرغ و خروس) انجام گرفت. در این آزمایش از ۸ تیمار استفاده شد که هر تیمار شامل ۴ تکرار بود و به هر تکرار ۱۶ قطعه جوجه اختصاص یافت. در سن ۲۱ روزگی ۲ قطعه پرنده از هر تکرار آزمایشی انتخاب و پس از کشتار، از قسمت های ژئوژنوم و ایلئوم روده نمونه هایی به طول ۱/۵ سانتی متر جدا و پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک، با استفاده از محلول فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردیدند. سپس پاساژ بافت شامل سه مرحله آبگیری، شفاف سازی و آغشته گیری انجام شد. آبگیری توسط درجات صعودی الکل، شفاف سازی توسط گزلیل و آغشته گیری به وسیله پارافین مذاب انجام گرفت. پس از قالب گیری، برش هایی از بافت های مورد نظر تهیه گردید و برای رنگ آمیزی از روش هماتوکسیلین و اتوزین استفاده شد. در نهایت طول پرز و عمق کریپت با استفاده از میکروسکوپ Olympus مدل CHS اندازه گیری شد. تجزیه آماری داده ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS انجام شد و مقایسات میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن و در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج و بحث

افزودن ترکیب اسانس های آنیس و نعنای به همراه اسیدآلی به جیره موجب افزایش معنی دار ارتفاع پرز ژئوژنوم نسبت به گروه شاهد شد ($p < 0/05$). کمترین ارتفاع پرز در این دوره علاوه بر تیمار شاهد مربوط به پرندگانی بود که در جیره خود اسانس نعنای و ترکیب اسانس آنیس با اسیدآلی دریافت کرده بودند که اختلاف آن ها با تیمار ترکیب اسانس ها با اسیدآلی معنی دار بود ($p < 0/05$). افزودن ترکیب اسانس آنیس و نعنای با اسیدآلی سبب افزایش معنی دار نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ژئوژنوم نسبت به سایر گروه ها شد ($p < 0/05$). نتایج مقایسات مستقل نشان داد که بکارگیری ترکیب گیاهان دارویی با اسیدآلی در مقابل شاهد موجب افزایش معنی دار ($p < 0/05$) نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ژئوژنوم شد.

افزودن اسیدآلی، اسانس آنیس و نعنای و ترکیب اسانس ها با اسیدآلی به جیره تأثیر معنی داری بر ارتفاع پرز در ایلئوم نسبت به گروه شاهد نداشت ($p > 0/05$)، اما ترکیب اسانس نعنای با اسیدآلی موجب کاهش معنی دار ارتفاع پرز در ایلئوم نسبت به گروه اسیدآلی، اسانس آنیس، ترکیب اسانس آنیس و نعنای و ترکیب اسانس ها با اسیدآلی گردید ($p < 0/05$). نتایج مقایسات مستقل نشان داد که بکارگیری ترکیب گیاهان دارویی و اسیدآلی در مقابل اسیدآلی سبب کاهش معنی دار ($p < 0/05$) ارتفاع پرز در ایلئوم شد. افزودن اسیدآلی، اسانس آنیس و نعنای و ترکیب این اسانس ها با اسیدآلی به جیره تأثیر معنی داری بر عمق کریپت در ایلئوم نداشت ($p > 0/05$). نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در پرندگانی که در جیره خود اسانس آنیس دریافت کرده بودند افزایش

معنی داری نسبت به گروه شاهد را نشان داد ($p < 0.05$). این تیمار همچنین اختلاف معنی داری با تیمارهای حاوی اسانس نعناع، ترکیب اسانس آنیس با اسیدآلی و ترکیب اسانس نعناع با اسیدآلی داشت ($p < 0.05$) که کمترین نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ایلئوم مربوط به پرندگان بود که در جیره خود ترکیب اسانس آنیس با اسیدآلی دریافت کرده بودند. مواد مغذی و افزودنی های ترکیبی از عوامل موثر بر مورفولوژی روده طیور می باشند. افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت بیانگر افزایش ارتفاع پرز و همچنین کاهش عمق کریپت می باشد. این نسبت نشان دهنده ظرفیت هضمی روده کوچک می باشد و افزایش در این نسبت موجب بهبود در هضم و جذب می گردد [۷].

ویرا و همکاران (۲۰۰۸) با مکمل کردن جیره با اسیدهای آلی (مخلوط اسید لاکتیک، استیک، فسفریک و بوتیریک) در سطوح ۲، ۴، ۶ و ۸ کیلوگرم در تن جیره بر عملکرد جوجه های گوشتی طی یک دوره ۴۲ روزه گزارش کردند که افزودن اسیدهای آلی به جیره تأثیر معنی داری بر ارتفاع پرز و عمق کریپت در روده نداشت که با نتایج این آزمایش همخوانی نداشت [۶]. این عدم تطابق ممکن است به دلیل اختلاف در تعداد مصرف و نوع اسیدآلی مصرفی باشد. در توافق با نتایج مطالعه حاضر گارسیا و همکاران (۲۰۰۷) اثر افزودن عصاره گیاهان دارویی و اسید فرمیک را بر عملکرد و مورفولوژی روده جوجه های گوشتی طی یک دوره ۴۹ روزه بررسی نموده و گزارش کردند که افزودن اسید فرمیک به جیره باعث افزایش در ارتفاع پرز و عمق کریپت در ژئوژنوم گردیده است [۴]. در آزمایش گارسیا و همکاران (۲۰۰۷) تغذیه اسید فرمیک سبب افزایش طول پرز، عمق کریپت و مساحت سطح پرز ژئوژنوم در مقایسه با سایر گروه های آزمایشی شد. ترکیبات محرک رشد ضمن کاهش میکروب های دستگاه گوارش باعث کاهش تولیدات سمی آنها می شوند. اسیدهای چرب کوتاه زنجیره سبب تحریک تکثیر سلول کریپت ها، بهبود سلامت، نرخ نوشدگی و نگهداری روده می شوند [۴].

جدول ۱- اثر تیمارهای آزمایشی بر ارتفاع پرز و عمق کریپت ژئوژنوم و ایلئوم

تیمار	ارتفاع پرز (μm)	عمق کریپت (μm)	ژئوژنوم	ارتفاع پرز به عمق کریپت	ارتفاع پرز (μm)	عمق کریپت (μm)	ایلئوم
شاهد	۷۸۴/۸۸ ^b	۱۷۶/۷۹	۴/۴۰ ^b	۷۳۵/۹۷ ^{abc}	۱۷۳/۳۳	۴/۳۳ ^{bc}	
اسید آلی	۹۰۹/۲۷ ^{ab}	۱۷۸/۵۷	۵/۱۳ ^b	۸۰۳/۸۷ ^{ab}	۱۶۶/۶۷	۴/۸۴ ^{abc}	
آنیس	۸۳۵/۴۶ ^{ab}	۱۸۸/۵۴	۴/۴۸ ^b	۷۸۴/۲۰ ^{ab}	۱۴۰/۳۶	۵/۸۴ ^a	
نعناع	۷۹۴/۳۷ ^b	۱۷۵/۰۰	۴/۵۸ ^b	۷۴۶/۹۴ ^{abc}	۱۷۱/۸۸	۴/۳۶ ^{bc}	
آنیس و نعناع	۸۳۲/۲۶ ^{ab}	۱۷۱/۸۸	۴/۹۲ ^b	۸۳۲/۳۱ ^a	۱۷۲/۶۲	۴/۸۶ ^{abc}	
آنیس + اسید آلی	۷۶۷/۷۹ ^b	۱۵۳/۵۷	۵/۰۱ ^b	۶۸۴/۷۲ ^{bc}	۱۷۱/۶۷	۴/۰۷ ^c	
نعناع + اسید آلی	۸۷۲/۰۰ ^{ab}	۱۷۵/۰۰	۵/۰۹ ^b	۶۵۳/۲۳ ^c	۱۵۱/۲۵	۴/۳۳ ^{bc}	
آنیس و نعناع + اسید آلی	۹۷۳/۰۰ ^a	۱۵۳/۵۷	۶/۳۶ ^a	۷۷۸/۹۰ ^{ab}	۱۵۵/۰۰	۵/۴۴ ^{ab}	
SEM	۱۸/۱۲	۳/۵۶	۰/۱۲	۱۵/۰۷	۴/۰۶	۰/۱۴	
P value ($p < \dots$)							

تیما	NS	NS	NS	NS	NS	تیما
اسیدآلی در مقابل شاهد	NS	NS	NS	NS	NS	اسیدآلی در مقابل شاهد
گیاهان داروئی در مقابل شاهد	NS	NS	NS	NS	NS	گیاهان داروئی در مقابل شاهد
ترکیب گیاهان داروئی و اسیدآلی در مقابل شاهد	NS	NS	NS	NS	NS	ترکیب گیاهان داروئی و اسیدآلی در مقابل شاهد
ترکیب گیاهان داروئی و اسیدآلی در مقابل اسیدآلی	NS	NS	NS	NS	NS	ترکیب گیاهان داروئی و اسیدآلی در مقابل اسیدآلی

منابع

- [۱] افشار مازندرانی، ن.، رجب، ا. ۱۳۸۱. پروبیوتیک ها و کاربرد آنها در تغذیه دام و طیور. چاپ دوم. انتشارات نوربخش، تهران.
- [2] Apajalahati, J. 2003. Assessment of the relationship between nutrition and gut flora. 14th European Symposium on Poultry Nutrition. August (2003). Lillehammer, Norway. Pp.145-150.
- [3] Dunne, C., L. Murphy, S. Flynn, L. O'Mahony, O'Halloran, M. Feeny, D. Morrissey, G. Thornton, G. Fitzgerald, C. Daly, B. Kiely, E.M.M. Quigley, G.C. O'Sullivan, F. Shanahan, and J.K. Collins. 1999. Probiotics: from myth to reality.
- [4] García, V., P. C. Gregori, F. Hernández, M. D. Megías, and J. Madrid. 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. J. Appl. Poult. Res. 16: 555-562.
- [5] Schneitz, C., T. Kiiskinen, V. Toivonen, and M. Näsi. 1998. Effect of BROILACT® on the physicochemical conditions and nutrient digestibility in the gastrointestinal tract of broilers. Poult. Sci. 77:426-432.
- [6] Vieira, S. L., O. A. Oyarzabal, and D. M. Freitas. 2008. Performance of broilers fed diets supplemented with alkaloids and organic acid. Poult. Sci. Association, Inc.128-133.
- [7] Xu, Z. R., C. H. Hu, M. S. Xia, X. A. Zhan, and M. Q. Wang. 2003. Effects of Dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. Poult. Sci. 82:1030-1036.

The Effects of Mint (*Mentha piperita*) and Anise (*Illicium verum*) Essential Oils with and without Organic Acid on Gut Histomorphology in Broiler Chickens at 1-21 Days of age.

Fatemah Karimi, Assad Vaziry, Ghorbanali Sadeghi

Abstract

To evaluate the effect of essential oils (EO) of Mint and Anise with organic acid on gut histomorphology, a total of 512 as hatched broiler chicks were randomly allocated to 8

treatments , with four replicates per each. The experimental treatments were included a corn-soybean based diet as control, Mint EO (150 ppm), Anise EO (150ppm), a commercial organic acid (Orgacids®, 3 g/kg), a combination EO's of Mint (150ppm) and Anise (150ppm), a combination of orgacids (3g/kg) and EO's of Mint (150ppm), a combination of orgacids (3g/kg) and EO's of Anise (150ppm) and a combination of orgacids (3g/kg) and EO's of Mint (150ppm) and Anise (150ppm). The results showed that addition of organic acid and essential oils of Mint and Anise significantly ($p<0.05$) increased the villi height and villi height / crypt depth ratio of jejunum. Essential oils of Mint and Anise significantly ($p<0.05$) increased the villi height in comparison to combination of orgacids and EO's of Mint and combination of orgacids and EO's of Anise. EO's of Anise significantly ($p<0.05$) increased the villi height / crypt depth ratio of ileum.

Key words: Anise, Broiler, Histomorphology, Mint, Organic acid.

بررسی خصوصیات فحلی و روند رشد فولیکولی در سه روش همزمانی فحلی خارج از فصل تولیدمثلی به وسیله پروژستازنها در گوسفند نژاد مهربان

جعفر کاویانی دلشاد^۱، مرتضی یآوری^{۲*}، علی قاضی خانی شاد^۳، جمال قره خانی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم دامی دانشگاه آزاد واحد ساوه ۲- عضو هیئت علمی دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی

سینا همدان ۳- عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد واحد ساوه ۴- کارشناس آزمایشگاه اداره دامپزشکی استان همدان

* نویسنده مسئول: مرتضی یآوری، همدان، میدان فلسطین، دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا، کدپستی ۶۵۱۷۵-۴۱۶۱

Morteza.yavari@gmail.com

چکیده:

هدف از این مطالعه مقایسه خصوصیات فحلی و روند رشد فولیکولی تخمدان در سه روش همزمانسازی فحلی با استفاده از پروژستازنها (سیدر، اسفنج و پروژسترون تزریقی) در میش نژاد مهربان (خارج از فصل تولیدمثلی) بود. میشها (n=60) به صورت تصادفی در سه گروه درمانی قرار گرفتند: ۱- گروه تیمار اسفنج داخل واژنی، ۲- گروه تیمار سیدر داخل واژنی، ۳- گروه تیمار با تزریق یک روز درمیان ۲۰ میلی گرم پروژسترون. در تمام گروه ها طول دوره درمانی ۱۲ روز در نظر گرفته شد و در روز دوازدهم ۵۰۰ واحد بین المللی eCG به صورت عضلانی تزریق شد. تعیین فحلی ها از طریق مشاهده مستقیم جفتگیری میش ها با قوچ های دارای پیش بند انجام شد. اندازه گیری پروژسترون و استروژن سرم خون میش ها در چهار نوبت (روز ۰، ۱۳، ۱۲ و ۱۴) با روش الیزا انجام گرفت و همچنین از هر گروه پنج راس میش تصادفی انتخاب و تعداد فولیکول های تخمدان در روزهای دوازدهم (پایان تیمار)، سیزدهم و چهاردهم مورد بررسی سونوگرافی قرار گرفتند. میزان هورمون پروژسترون گروه سیدر در نوبت چهارم خون گیری (روز چهاردهم) به طور معنی داری ($P < 0.05$) نسبت به دو گروه دیگر بالاتر بود و میزان هورمون استروژن در نوبت دوم خون گیری (روز دوازدهم) در گروه سیدر دارای اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) نسبت به دو گروه دیگر بود. همچنین در آنالیز آماری همبستگی مشخص شد، بین میانگین تعداد فولیکولهای بزرگ در روز فحلی با میانگین تعداد فولیکول های کوچک در روز شروع تیمار در گروه های آزمایشی ارتباط مثبت و معنی داری وجود نداشت. به طور خلاصه، در این مطالعه شاخص های تولیدمثلی در همزمانی فحلی با منابع مختلف پروژستازنها تفاوتی نداشته و با توجه به هزینه کمتر پروژسترون تزریقی می تواند در برنامه تولیدمثلی گوسفند بکار رود.

کلید واژه: اولتراسونوگرافی - پروژسترون - فولیکول - eCG - میش.

مقدمه

قابلیت تولید مثلی نقش بسزائی در ارزیابی تولید و سوددهی یک گله دارد. یکی از ابزارهای مهم بالا بردن مدیریت تولید مثل گوسفند، القا و همزمانی فحلی در فصل غیرتولیدمثلی برای افزایش میزان بره زائی به شمار می رود (۱). مبنای همزمانی فحلی بر اساس تحلیل بردن زود هنگام جسم زرد با پروستاگلندین و یا جلوگیری از بروز فحلی و تخمک گذاری با تقلید از فعالیت جسم زرد با استفاده از پروژستازنها می باشد. در گوسفند مانند سایر حیوانات اهلی به دلیل طولانی بودن فاز لوتئال، فرصت بیشتری برای دخالت در چرخه تولید مثل دام در این مرحله وجود دارد. از آنجا که در فصل غیرتولیدمثلی تخمدانها در گوسفند فعال نیست و جسم زرد وجود ندارد بنابراین استفاده از پروستاگلندین تاثیری ندارد. پروژستازنها در اشکال مختلف دارویی کاشتنی زیر

جلدی، داخل واژنی، خوراکی و تزریقی در گوسفند در هر مرحله ای استفاده می شود. در گوسفند داری های کشور از اشکال داخل واژنی سیدر و اسفنج در قالب طرح های ملی استفاده می شود. لیکن به دلیل وارداتی بودن این داروها و هزینه بالای آنها، نیاز به امکان استفاده از روش های موثر و ارزاتری مثل روش تزریقی احساس می شود. روش تزریقی با وجود ارزان بودن بدلیل نیاز به تزریق روزانه استفاده از آن را دشوار می سازد. بنابراین، هدف از این مطالعه مقایسه سه روش همزمانی فحلی خارج از فصل تولیدمثلی به وسیله سیدر، اسفنج و پروژسترون تزریقی به صورت یک روز در میان بود.

مواد و روش ها

۶۰ راس میش صورت تصادفی درسه گروه درمانی قرار گرفتند: ۱- گروه تیمار اسفنج داخل واژنی (n=20)، ۲- گروه تیمار سیدرداخل واژنی (n=20)، ۳- گروه تیمار با تزریق یک روزدرمیان ۲۰ میلی گرم پروژسترون (n=20)، در تمام گروه ها در روز دوازدهم ۵۰۰ واحد بین المللی eCG به صورت تزریق عضلانی انجام گرفت. تعیین فحلی از طریق مشاهده مستقیم جفتگیری میش ها با قوچ های تیزر و نیز مشاهده رنگ روی کپل میش ها انجام شد. اندازه گیری پروژسترون و استروژن سرم خون میش ها در چهار نوبت (روز صفر، ۱۴، ۱۲، ۱۳) با روش الیزا انجام گرفت و همچنین ازهرگروه پنج راس میش به تصادف انتخاب و تعداد فولیکول های کوچک، متوسط و بزرگ تخمدان به ترتیب در روزهای دوازدهم (پایان تیمار)، سیزدهم و چهاردهم (فحلی) مورد بررسی سونوگرافی قرار گرفتند. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و رویه GLM (مدلهای خطی عمومی) و آزمون مقایسه چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج و بحث

میانگین سطوح پروژسترون (بر حسب نانوگرم در میلی لیتر) تیمارهای آزمایشی در جدول ۱ و میانگین سطوح استروژن (بر حسب پیکوگرم در میلی لیتر) در جدول ۲ گزارش شده است. بر طبق این نتایج میزان هورمون پروژسترون گروه سیدر در نوبت چهارم خونگیری (روز چهاردهم) به طور معنی داری ($P<0/05$) نسبت به دو گروه دیگر بالاتر بود و میزان هورمون استروژن در نوبت دوم خون گیری (روز دوازدهم) همچنان در گروه سیدر دارای اختلاف معنی دار ($P<0/05$) نسبت به دو گروه دیگر بود. همچنین در آنالیز آماری همبستگی مشخص شد، بین میانگین تعداد فولیکولهای بزرگ در روز فحلی با میانگین تعداد فولیکول های کوچک در روز شروع تیمار در گروه های آزمایشی ارتباط مثبت و معنی داری وجود نداشت.

روش های همزمانی با هورمون بر اساس اصول فیزیولوژیکی به ۲ نوع تقسیم می شوند. نوع اول بر اساس مصرف پروژسترون مصنوعی در تحریک جسم زرد طبیعی و نوع دوم بر اساس مصرف پروستاگلاندین جهت کوتاه کردن عمر جسم زرد می باشد (۳و۴). از آنجایی که نوع دوم وابسته به جسم زرد می باشد، بنابراین فقط در فصل جفتگیری کاربرد دارد ولی نوع اول در هر زمان از سال استفاده می شود. در فصل غیر تولیدمثل به همراه استفاده از اسفنج پروژستازن، سیدر و دیگر منابع پروژسترونی برای تحریک فحلی، یک دوز اولیه گنادوتروپین با منشا خارجی در روز برداشت منابع پروژسترونی نیاز می باشد تا جریانات هورمونی بعدی را تحریک نماید (۲). رشد فولیکولها و رسیدن آنها به مرحله پیش از تخمک گذاری توسط هورمون FSH صورت میگیرد. هنگامی که یک فولیکول به مرحله بلوغ میرسد، مقدار زیادی اینهیپین و استرادیول ترشح میکند که باعث سرکوب ترشح هورمون FSH میشود. هورمون eCG به عنوان جایگزین FSH عمل کرده و باعث افزایش تعداد تخمک گذاری در نشخوارکنندگان میشود. هدف اصلی تزریق هورمون eCG هنگام قطع منبع پروژسترونی بهبود میزان همزمان سازی است (۶و۵). با توجه به نتایج حاصله از این تحقیق به نظر میرسد شاخص های تولیدمثلی در همزمانی فحلی میش نژاد مهربان با استفاده از پروژسترون تزریقی

به صورت یک روز در میان در خارج از فصل تولیدمثلی در مقایسه با اشکال داخل واژنی پروژستارنها تفاوتی نداشته و با توجه به هزینه کمتر پروژسترون تزریقی می تواند در برنامه تولیدمثلی گوسفند بکار رود.

جدول ۱- میانگین انحراف معیار تغییرات پروژسترون در سه گروه تیماری (بر حسب نانوگرم در میلی لیتر)

روز ۱۴	روز ۱۳	روز ۱۲	روز صفر	تعداد دام	تیمار
۰/۸۳±۰/۵۳	۰/۷۳±۰/۳۶	۴/۶۶±۳/۱۷	۰/۷۷±۰/۶۱	۲۰	اسفنج
۳/۸۳ ±۱/۸۷	۰/۹۳±۰/۴۸	۴/۱۷±۳	۱/۱۵±۱/۳۴	۲۰	سیدر
۱/۴۲±۰/۶۸	۱/۰۷±۰/۵۷	۳/۷۴±۱/۵۶	۱/۰۶±۰/۷۲	۲۰	پروژسترون

در هر ستون * نشانه اختلاف آماری معنی دار است ($P<0/05$).

جدول ۲- میانگین انحراف معیار تغییرات استروژن در سه گروه تیماری (بر حسب پیکوگرم در میلی لیتر)

روز ۱۴	روز ۱۳	روز ۱۲	روز صفر	تعداد دام	تیمار
۴/۷۱±۲/۴۵	۵/۱۸±۲/۷۷	۲/۱۶±۱/۶۷	۱۴/۲۰±۲/۸	۲۰	اسفنج
۴/۲۹ ±۲/۱	۳/۹۸±۱/۴۶	۴/۴۳±۱/۸۱	۱۴/۴۸ ±۳	۲۰	سیدر
۳/۸۷±۱/۶۹	۴/۸۵±۵/۷۲	۰/۹۳*±۰/۶۴	۱۴/۵۵±۳/۷	۲۰	پروژسترون

در هر ستون * نشانه اختلاف آماری معنی دار است ($P<0/05$).

منابع

۱. مموئی، م. ۱۳۷۸. تلقیح مصنوعی گوسفند و بز. چاپ اول، انتشارات دانشگاه اهواز.
2. Ataman. M. B, M. Akoz and O. Akman. 2006. Induction of synchronized oestrus in akkaraman cross-bred ewes during breeding and anestrus seasons: the use of short-term and long-term progesterone treatments. *Revue Med. Vet.*, 157, 5, 257-260.
3. Carlson, K. M., Pohl, H, A., Marcek, J. M., Muser, R. K. and Wheaton, J. E., .1989; Evaluation of progesterone controlled internal drug dispensers for synchronization of estrus in sheep *Animal Reproduction Science*. 18: 205-218.
4. Ishwar, A. K. and Memon, M. A., 1996. Embryo transfer in sheep and goats a review. *Small Ruminant Research*. 19: 35-43.
5. Yildiz, s., M. Uzun., M. Kaya., O. Ucar., M. Genesiz., 2004. Effects of rams and luteal or follicular phase ewes on preovulatory LH surge characteristics in ewes. *Turk. J. Vet. Anim Sci*, 28:669-673.
6. Zarkawi-M; AL- Merestani, Mr; Wardeh. M., 1999. Induction of synchronized oestrous & early pregnancy diagnosis in syrean awassi ewes, outside the breeding season. *Small Ruminant Research*, 33: 1, 99-102.

Evaluation of estrus characteristics and ovarian follicular growth in three different estrous synchronization in out of reproductive season by progestagens in Mehraban ewes
Jaafar Kavani¹, Morteza Yavari^{2*}, Ali Ghazikhani Shad¹, Jamal Gharekhani³

1-Department of animal sciences, Azad Islamic University, Saveh Branch, Saveh 2-Department of Veterinary Medicine, Faculty of Paraveterinary Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran, 3- Veterinary organization, Hamadan, Iran
*Corresponding E-mail address: Morteza.yavari@gmail.com

Abstract

The objective of this study was to compare three estrus synchronization protocols using progestagens (CIDR, sponge and injectable progesterone) and the growth of follicles using ultrasound in Mehraban ewes. Sixty ewes were randomly divided randomly into three groups including: Sponge (n=20), CIDR (n=20); and progesterone (in oil) (n=20). All progestagen treatments were considered for 12 days. At the termination of treatments, ewes were given an intramuscular injection of 500 IU eCG At the time of progestagen removal. Blood serum was collected from 60 ewes on d 0, 12, 13, and 14 for the analysis of progesterone and estrone by ELISA method. Five ewes in each group were randomly selected and Ultrasonography was performed once daily at days 12, 13 and 14 for observation of growth trend of ovarian follicles. Follicles were categorized as small (1 to 2 mm), medium (3 to 4 mm) and large (≥ 5 mm). The amount of progesterone In CIDR groups on day 14 of experiment was significantly higher than other groups and Estrogen on the second time the bloodletting in CIDR group also had significant differences compared to the other two groups. There was no positive significant correlation between the average number of large follicles at day of estrus with average number of small follicles at day started treatment in the experimental groups. In summary it seems that reproductive indices were not different in estrus synchronization using different types of progestagens and therefore, injectable progesterone, in spite of lower cost, can be used in reproductive programs of ewes.

Keywords: Ultrasonography- progestagens- Follicles- eCG- Mehraban ewe.

بررسی ارتباط بین غلظت پلاسمایی لپتین با سن، وزن بدن، محیط و ارتفاع بیضه در مراحل قبل و بعد از بلوغ جنسی گوساله های نر نجدی

الهام منصوری بنی^{۱*}، مریم درخشانی^۱، مرتضی ممویی^۲، آرمین توحیدی^۳، صالح طباطبایی^۲

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی علوم دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ۲-اعضای هیئت علمی دانشکده علوم دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان ۳-عضو هیئت علمی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی پردیس کرج

* نویسنده مسئول: الهام منصوری بنی و پست الکترونیکی: mansuri_elham@yahoo.com

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی ارتباط بین غلظت هورمون لپتین پلاسمای خون با سن، وزن بدن و محیط و ارتفاع بیضه در مراحل قبل و بعد بلوغ جنسی می باشد. برای این منظور از ۸ رأس گوساله نر نجدی ایستگاه اصلاح نژاد و پشتیبانی گاو نجدی شوشتر، با میانگین سنی ۷ ماه استفاده گردید. به طور ماهیانه سه مرحله قبل و سه بار بعد از بلوغ خونگیری از ورید وداجی انجام شد و غلظت پلاسمایی لپتین تعیین شد. گوساله ها هر ماه توزین و ارتفاع و قطر بیضه اندازه گیری شد تفاوت غلظت هورمون لپتین و وزن بدن و ابعاد بیضه در مراحل قبل و بعد بلوغ جنسی به روش آنالیز واریانس اندازه گیری های مکرر و همبستگی بین غلظت لپتین و سایر فراسنجه ها از طریق آزمون همبستگی پیرسون و با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که محدوده سن بلوغ در نژاد نجدی، ۱۵-۱۳ ماهگی و میانگین وزنی 120 ± 37 کیلو- گرم می باشد. بین غلظت پلاسمایی هورمون لپتین و سن و وزن بدن به ترتیب همبستگی منفی معنی داری ($r = -0.77$ و $P < 0.01$) و همبستگی منفی معنی داری ($r = -0.39$ و $P < 0.01$) مشاهده شد. هم چنین بین غلظت پلاسمایی هورمون لپتین و محیط بیضه نیز همبستگی منفی معنی داری ($r = -0.62$ و $P < 0.01$) و نیز بین غلظت پلاسمایی هورمون لپتین و ارتفاع بیضه همبستگی منفی معنی داری ($r = -0.72$ و $P < 0.01$) مشاهده شد. به طور کلی می توان نتیجه گرفت که با نزدیک شدن پیوبرتی و فعال شدن محورهای تولیدمثلی، ابعاد بیضه یزرگتر می شود که ناشی از افزایش واحدهای استروئیدساز است که در نتیجه آن تستوسترون تولید می شود. با وجود افزایش وزن دام در این مرحله، تستوسترون تولیدی مانع از ترشح لپتین از توده بافت چربی می شود.

واژه های کلیدی: بلوغ- لپتین- ابعاد بیضه- گوساله نر نجدی

مقدمه

تمایل به بهبود خصوصیات رشد گاوها، منجر به انتخاب و استفاده از گاوهای نر جوان تر به منظور کوتاه کردن فاصله های نسلی شده است. درک تغییرات حین بلوغ و عواملی که بر روی آن اثر می گذارند. برای استفاده بهینه از گاوهای نر یک ساله در اهداف تولیدمثلی ضروری است (۶). بلوغ زود رس جنسی مزیت های اقتصادی متعددی از جمله افزایش طول عمر تولیدمثلی دام را دارد. هرچه اسپرم گیری از این گاوهای نر در سنین پایین تری انجام گیرد، پدران برتر سریع تر شناسایی می شوند و از همین رو زودتر می توان از آن ها به عنوان پدران نسل های بعدی استفاده کرد. در نهایت، اثر ژنتیکی یک پدر برتر وابسته به میزان اسپرم تولیدی آن است که خود تابع مستقیم اندازه بیضه ها است (۱). لپتین هورمونی با ۱۴۶ اسید آمینه و ۱۶ کیلو دالتون جرم مولکولی

است که توسط بافت چربی سفید تولید می‌شود. وزن بدن بیشترین تنوع را در زمان شروع بلوغ دارد و به شدت با لپتین خون همبستگی دارد (۱۱). آزمایش‌های مختلف بیان نمودند که لپتین در انتقال جوندگان به دوره بلوغ نقش دارد (۹، ۲) اصلی‌ترین عامل تغییرات میزان لپتین در خون گوساله‌ها، تغییرات وزن بدن به بیان دیگر به تغییرات منشا تولیدکننده لپتین یعنی سلول‌های بافت چربی سفید است (۱۰). همچنین میزان لپتین ترشح شده از بافت چربی به حجم و تعداد سلول‌های بافت چربی بستگی دارد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۸ رأس گوساله نر نجدی با سن تقریبی ۷ ماه استفاده شد. تمام این گوساله‌ها از فرزندان گاوهای شیری موجود در گله گاوهای ایستگاه تحقیقاتی گاو نجدی استان خوزستان انتخاب شدند. گوساله‌ها در طول دوره آزمایش در جایگاه جداگانه از بقیه دام‌ها نگهداری شدند و روزانه دو نوبت با جیره تهیه شده براساس احتیاجات غذایی مندرج در 1996 NRC خوراک‌دهی می‌شدند و از شرایط تغذیه یکسانی برخوردار بودند. از این گوساله‌ها به طور ماهیانه ۳ دوره خونگیری قبل (۷، ۹ و ۱۲ ماهگی) و ۳ دوره خونگیری بعد از ورود به مرحله بلوغ جنسی (۱۳، ۱۴ و ۱۵ ماهگی) به منظور تعیین غلظت پلاسمایی هورمون لپتین از سیاهرگ و داج انجام شد. لازم به ذکر است که خونگیری ساعت ۸ صبح پیش از خوراک دهی انجام می‌شد. نمونه‌های خون در لوله‌های خلا حاوی ماده ضد انعقادی (هپارین) جمع آوری شد. این نمونه‌ها، بلافاصله با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسمای حاصله جدا و در لوله‌های پلاستیکی در دمای 20°C - نگهداری شدند. غلظت پلاسمایی هورمون لپتین به روش رادیوایمنواسی با استفاده از کیت تجاری ساخت شرکت میلی پور آمریکا (Milli Pore Leptin-RIA-kit) تعیین شد. لازم به ذکر است که این دام‌ها هر ماه توزین می‌شدند. همچنین در همین زمان ارتفاع و قطر بیضه توسط کولیس اندازه‌گیری می‌شد. همبستگی بین غلظت لپتین و سایر فراسنجه‌ها از طریق آزمون همبستگی پیرسون و با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار ارائه شده است.

نتایج

با توجه به نتایج به دست آمده، میانگین غلظت هورمون لپتین در مرحله پیش از بلوغ $46 \pm 2/6$ نانوگرم بر میلی‌لیتر) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از میانگین غلظت این هورمون در مرحله پس از بلوغ $35/5 \pm 4$ نانوگرم بر میلی‌لیتر) بود ($P < 0/01$). میانگین وزنی در مرحله پیش از بلوغ (۷-۱۲ ماهگی) $83/25 \pm 78/85$ کیلوگرم و پس از بلوغ (۱۳-۱۵ ماهگی) 37 ± 12 کیلوگرم بود. با توجه به داده‌های به دست آمده، بین غلظت پلاسمایی هورمون لپتین و سن همبستگی منفی معنی‌داری ($r = -0/77$ و $P < 0/01$) و نیز بین غلظت پلاسمایی هورمون لپتین و وزن بدن همبستگی منفی معنی‌داری ($r = -0/39$ و $P < 0/01$) مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱- همبستگی بین غلظت پلاسمایی لپتین، وزن بدن و سن

سن (ماه)	وزن بدن (کیلوگرم)
$-0/77^{**}$	$-0/39^{**}$
غلظت پلاسمایی لپتین (ng/ml)	

** علامت دو ستاره همبستگی را در سطح ۰/۰۱ نشان می‌دهد.

اعداد داخل جدول ضریب همبستگی (r) می‌باشد.

با افزایش سن و وزن دام غلظت لپتین سرم کاهش می‌یابد. میزان تولید mRNA لپتین در بافت چربی و میزان لپتین سرم در حین بلوغ به طور خطی افزایش می‌یابد. ارتباط بین این اندازه‌گیری با وزن بدن و چاقی و نسبت لپتین باند شده به لپتین آزاد و میزان IGF-1 در سرم نشان داده است که وزن بدن برای افزایش فاکتورهای موثر در شروع بلوغ اهمیت دارد و وابستگی بالایی با میزان لپتین در پلاسما دارد همچنین مشخص شد که میزان لپتین و IGF-1 سرم و بیان ژن لپتین در نزدیکی بلوغ افزایش می‌یابد (۱۱). سلول‌های چربی به‌طور اختصاصی به آندروژن‌ها متصل شده و گیرنده‌های آندروژن را حمل می‌کنند. تزریق تستوسترون لیپولیز و شمار بتا آدرنورسپتورها را افزایش می‌دهد (۱۵). دی هیدروتستوسترون، قادر به سرکوب لپتین و mRNA ریبونوکلئیک اسید در بافت چربی انسان است (۱۴). بنابراین با توجه به تحقیقات صورت گرفته در تلیسه‌ها (۷، ۱۱)، گوساله‌های نر (۱۲) و با توجه به تحقیق حاضر که بر روی گوساله‌های نر نجدی در حال رشد صورت گرفت، به نظر می‌رسد که لپتین عامل زمینه‌ساز بلوغ در گاو‌ها باشد که کاهش لپتین در مرحله بعد بلوغ در جنس نر می‌تواند به دلیل اثر منفی تستوسترون بر تولید لپتین در بدن باشد. میانگین محیط بیضه در مرحله پس از بلوغ ($21/61 \pm 3/9$ سانتی‌متر)، به‌طور معنی‌داری بیشتر از میانگین آن مرحله پیش از بلوغ ($14/33 \pm 3/3$ سانتی‌متر) می‌باشد ($P < 0/01$). میانگین ارتفاع بیضه در مرحله پس از بلوغ ($9/9 \pm 1/4$ سانتی‌متر) به طور معنی‌داری بیش‌تر از میانگین آن در مرحله پیش از بلوغ ($5/82 \pm 1/7$ سانتی‌متر) مشاهده شد ($P < 0/01$). همبستگی بالایی بین سن، ابعاد بیضه (محیط و ارتفاع بیضه) و تولید اسپرم وجود دارد (جدول ۲).

جدول ۲- همبستگی بین غلظت پلاسمایی لپتین، محیط و ارتفاع بیضه

محیط بیضه (cm)	ارتفاع بیضه (cm)
$-0/72^{**}$	$-0/62^{**}$
غلظت پلاسمایی لپتین (ng/ml)	

** علامت دو ستاره همبستگی را در سطح ۰/۰۱ نشان می‌دهد.

اعداد داخل جدول ضریب همبستگی (r) می‌باشد.

سلول‌های سرتولی در پاسخ به افزایش تستوسترون داخل بیضه‌ای تمایز می‌یابند و تعداد آن‌ها تا پنج برابر می‌رسد (۱۳، ۵، ۴). سن بیشترین اثر را بر توسعه بیضه از سن ۶ تا ۳۶ ماهگی دارد. یک رشد سریع بیضه در گاوهای نر جوان از ۱۶-۶ ماهگی صورت می‌گیرد. بنابراین نمودار رشد بیضه به‌صورت یک نمودار خطی است. اندازه بیضه یا مقدار بافت تولیدکننده اسپرم با استفاده از اندازه محیط بیضه تخمین زده می‌شود. تحقیق بر توسعه بلوغ در گاو میش نر نژاد نیلی راوی در شرایط تغذیه‌ای و مدیریتی یکسان (۳) نشان داد رشد بدن و اندازه بیضه از تولد تا بلوغ افزایش می‌یابد که با نتایج ما مطابقت دارد. همبستگی منفی معنی‌داری ($r = -0/62$ و $P < 0/01$) بین غلظت پلاسمایی هورمون لپتین و محیط بیضه و نیز بین غلظت پلاسمایی هورمون لپتین و ارتفاع بیضه همبستگی منفی معنی‌داری ($r = -0/72$ و $P < 0/01$) مشاهده شد که نتایج این تحقیق حاضر با سایر گزارشات مطابقت داشت (۱۲، ۸). به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که با نزدیک شدن پیوبرتی و فعال شدن محورهای تولیدمثلی، ابعاد بیضه یزرگتر

می شود که ناشی از افزایش واحدهای استروئیدساز است که در نتیجه آن تستوسترون تولید می شود. با وجود افزایش وزن دام در این مرحله، تستوسترون تولیدی مانع ترشح لپتین از توده بافت چربی می شود.

منابع

۱. حافظ، ای. اس. ای. ۱۳۸۰. تولید مثل در حیوانات مزرعه ای. برگردان: علیرضا محمودزاده. انتشارات دانشگاه آزاد

اسلامی واحد رشت.

2. Ahima, R. S., Dushay, J., Flier, S. N., Prabakaran, D. and Flier, J. S. 1997. Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice. *J. Clin. Invest.* 99: 391-395.
3. Ahmad, N., M. Shahab, S. Khurshid and M. Arslan. 1989. Pubertal development in the male buffalo longitudinal analysis of body growth, testicular size and serum profiles of testosterone and oestradiol.
4. Amann, R. P. and O. J. Walker. 1983. Changes in the pituitary-gonadal axis associated with puberty in Holstein bulls. *J. Anim. Sci.* 57: 433-42.
5. Amann, R. P., M. E. Wise, J. D. Glass and T. M. Nett. 1986. Prepubertal changes in the hypothalamic-pituitary axis of Holstein bulls. *Biol. Reprod.* 34:71-80.
6. Barth, A. and L. F. C. Brito. 2004. Pubertal development of Bos taurus bulls. *large animal veterinary rounds.* 4: 4.
7. Behlke, E. J. 2003. Effects of GnRH agonist treatment and genetic selection on the pubertal process in beef bulls. Master Thesis. Animal Science Department. The Ohio State University, Columbus.
8. Blache, D., R. L. Tellam, L. M. Chagas, M. A. Blackberry, P. E. Verc0 and G. B. Martin. 2000. Level of nutrition affects leptin concentration in plasma and cerebrospinal fluid in sheep. *Journal of Endocrinology.* 165: 625-637.
9. Chehab, F. F., Mounzih, K., Lu, R and Lim, M. E. 1997. Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. *Science* 275: 88-90.
10. Delavaud, C., F. Bocquier, Y. Chilliard., D. H. Keisler., A. Gerler and G. Kann. 2000. Plasma leptin determination in ruminants: Effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. *J. Endocrinol.* 165: 519-526.
11. Garcia, M. R., M. Amestalden, S. W. Williams, R. L. Stanko, C. D. Morrison and D. H. Keisler. 2002. Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. *J. Anim. Sci.* 80: 2158-2167.
12. Gholami, H., A. Towhidi, A. Zare Shahneh and E. Dirandeh, 2009. The relationship of plasma leptin concentration and puberty in Holstein bull calves (Bos taurus). *J Anim Physio and Anim Nutr.* 94(6): 797-802.
13. McCarthy, M. S., E. M. Convey and H. D. Hafs. 1979a. Serum hormonal changes and testicular response to LH during puberty in bulls. *Biol. Reprod.* 20: 1221
14. Wabitsch M., W. F. Blum and R. Muehe. 1997 Contribution of androgens to the gender difference in leptin production in obese children and adolescents. *J Clin Invest.* 100:808-813.
15. Xu, X., De Pergola, G. and Bjorntorp, P. 1991. Testosterone increases lipolysis and the number of β -adrenoceptors in male rat adipocytes. *Endocrinology.* 128:379-382.

The relationship between blood plasma leptin concentrations with age, body weight and testis dimension in pre and post puberty in Najdi male calves

Elham Mansouri beni^{1*}, Maryam Derakhshani¹, Morteza Mamoei², Khalil Mirzadeh², Armin Towhidi³, Saleh Tabatabaei²

1-Master science of domestic animal physiology Ramin Agriculture and Natural Resources University of khozestan 2-member board of professor of Department of Animal Science of Agriculture and Natural Resources University of Khozestan 3-member board of perofessor of Pardis Agriculture and Natural Resources University of Karaj

* Corresponding E-mail address: mansuri_elham@yahoo.com

Abstract

The purpose of this study was to investigate the relationship between leptin concentrations in blood plasma with age, body weight, testicular environment and height before and after puberty. 8 Najdi male calves of Shushtar city breeding station of Najdi cattle with a mean age of 7 months were used. Multiple sampling before and after puberty were performed. In each paired of samplings, one blood sample for determination the leptin were collected. The calves were weighted every monthes and testicular environment and height were measured. Because of information about the onset of puberty Najdi cattle were not available by starting sexual behavior and successful semen collection the age of puberty was determined. The results of this study showed that in male Najdi calves, 13 -15 months and with weighted average 120 ± 37 kg was determined as the age of puberty. The correlation between serum leptin and other parameters were taken through the Pearson correlation test by using SPSS software version 16 cases analyzed. A significant negative correlation between plasma leptin and age ($P < 0.01$, $r = -0.77$) as well as body weight ($P < 0.01$, $r = -0.39$) were determined. Also, the negative correlation between plasma leptin and testicular environment, ($P < 0.01$, $r = -0.62$) and testicular height ($P < 0.01$, $r = -0.72$) were revealed. Overall concluded is that activation approached puberty and reproductive axes, the scale becomes larger due to increased testicular steroidogenic units that testosterone is produced thereby. Despite the increase in animal weight at this stage, the production of testosterone inhibits leptin secretion of adipose tissue.

Key words: puberty- leptin- testis dimension- Najdi bull calf

تاثیر برخی مکمل های معدنی - ویتامینی بر هورمون های تیروئیدی و متابولیت های خون گاوهای پرتولید هلشتاین در فصل تابستان

سیمین خورسندی، احمد ریاسی*، محمد خوروش، سعید انصاری، حمیدرضا رحمانی و فرهاد محمدپناه

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

*نویسنده مسئول: احمد ریاسی، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ariasi@cc.iut.ac.ir

چکیده

تاثیر مصرف برخی مکمل های معدنی - ویتامینی بر متابولیت های خون و هورمون های تیروئیدی در گاوهای دوره انتقال بررسی شد. برای این منظور از ۱۰۰ راس گاو هلشتاین چند شکم زایش در چهار گروه آزمایشی استفاده شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱- گروه کنترل، ۲- گروه دریافت کننده مکمل تزریقی، ۳- گروه دریافت کننده بلوس خوراکی و ۴- گروه دریافت کننده مکمل تزریقی به همراه بلوس خوراکی. مکمل تزریقی حاوی سلنیوم - ویتامین E و بلوس خوراکی حاوی عناصر مس، کبالت، سلنیوم، منگنز، ید، روی و ویتامین های A، D₃ و E بود. نتایج نشان داد که مصرف مکمل های تزریقی و یا بلوس خوراکی بر غلظت هورمون T₃ و T₄ تاثیر معنی داری نداشت. میزان کل پروتئین خون در گروه های دریافت کننده بلوس خوراکی به طور معنی داری در زمان زایش افزایش یافت ($P < 0.05$). مصرف مکمل تزریقی به همراه بلوس خوراکی غلظت تری گلیسیرید خون را در یک ماه پس زایش به طور معنی داری ($P < 0.05$) افزایش داد. غلظت نیترژن اوره ای خون گاوهای دریافت کننده تیمارهای مختلف در هیچ یک از زمان های نمونه گیری تفاوت معنی داری نداشت. نتیجه گرفته شد که مصرف بلوس های خوراکی برخی متابولیت های خون را به طور مثبت تحت تاثیر قرار می دهد.

واژه های کلیدی: مکمل های معدنی و ویتامینی - گاو شیری - متابولیت های خون - هورمون های تیروئیدی

مقدمه

امروزه تنظیم احتیاجات معدنی - ویتامینی گاوهای شیری بر مبنای توصیه های NRC (۲۰۰۱) در اغلب موارد جوابگوی نیاز دام های پرتولید نیست. امروزه در بیشتر واحدهای گاوداری مصرف مکمل های تزریقی سلنیوم - ویتامین E یا انواع بلوس های خوراکی در اواخر دوره خشکی رایج شده است (۳). نتایج آزمایش های قبلی در مورد مصرف مکمل های معدنی - ویتامینی و تاثیر آن بر متابولیت های خون متفاوت بوده است. به همین دلیل هدف از اجرای این آزمایش بررسی اثر بلوس های کند رهش حاوی مخلوطی از ویتامین ها و عناصر معدنی کم نیاز به همراه یا بدون مکمل تزریقی سلنیوم - ویتامین E بر متابولیسم گاوهای شیری تازه زا در فصل تابستان بود.

مواد و روش ها

این آزمایش در طول فصل تابستان در یکی از گاوداری های صنعتی استان اصفهان انجام شد. برای این منظور ۱۰۰ راس گاو آبستن هلشتاین چند شکم زایش، از حدود ۳ هفته قبل از تاریخ احتمالی زایش بطور تصادفی به ۴ گروه آزمایشی تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱- گروه کنترل، ۲- گروه دریافت کننده مکمل تزریقی، ۳- گروه دریافت کننده بلوس خوراکی و ۴- گروه دریافت کننده مکمل تزریقی به همراه بلوس خوراکی. مکمل تزریقی حاوی سلنیوم - ویتامین E و بلوس

خوراکی حاوی عناصر مس، کبالت، سلنیوم، منگنز، ید، روی و ویتامین های A، D₃ و E بود. برای تغذیه ی گاوها از جیره های پایه تنظیم شده بر مبنای توصیه های NRC (۲۰۰۱) استفاده شد. اولین خونگیری در زمان ورود گاوها به طرح انجام شد. نوبت های بعدی نمونه گیری در زمان زایش، یک ماه پس از زایش و دو ماه پس از زایش انجام شد. در نمونه های خون غلظت ترکیبات مختلف شامل هورمون های تری یدوتیرونین، تترا یدوتیرونین، کل پروتئین خون، تری گلیسرید و نیتروژن اوره ای خون اندازه گیری شد. داده های به دست آمده در قالب یک طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شد و سطح معنی داری ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه ی دانکن در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

الف) هورمون های تیروئیدی

داده های مربوط به غلظت هورمون تری یدوتیرونین (T₃) و تترا یدوتیرونین (T₄) در جدول ۱ نشان داده شده است. مصرف مکمل های تزریقی و یا بلوس خوراکی بر غلظت هورمون T₃ و T₄ تاثیر معنی داری نداشت. اگرچه غلظت آنها در زمان زایش در گروه های مصرف کننده بلوس خوراکی از نظر عددی بیشتر بود. هورمون T₄ توسط آنزیم تری آیدوتیرونیناز به فرم فعال T₃ تبدیل می شود که در ساختار این آنزیم عنصر سلنیوم حضور دارد (۳ و ۴). بنابراین احتمالاً با استفاده از مکمل بلوس خوراکی و تامین میزان کافی سلنیوم در زمان زایش تبدیل هورمون T₄ به T₃ افزایش یافته است که با نتایج به دست آمده از مطالعات قبلی (۱ و ۲) موافقت دارد. علاوه براین به علت نقش ید در سنتز هورمون های تیروئیدی و حضور این عنصر در مکمل بلوس خوراکی نتایج مشاهده شده در این آزمایش قابل توجهی می باشد. مصرف مکمل های تزریقی و یا بلوس خوراکی بر نسبت هورمون T₃ به T₄ تاثیر نداشت. اگرچه نسبت های مشاهده شده در این مطالعه نسبت به دیگر مطالعات بالاتر بود (۲).

ب) کل پروتئین خون، تری گلیسرید و نیتروژن اوره ای خون

داده های مربوط به متابولیت های خون در جدول ۲ نشان داده شده است. میزان کل پروتئین خون در گروه های دریافت کننده بلوس خوراکی به طور معنی داری در زمان زایش افزایش یافت ($P < 0.05$). در سایر زمان های نمونه گیری تفاوت معنی داری بین گروه ها مشاهده نشد. این موضوع نشان می دهد که گاوهای گروه های دریافت کننده بلوس خوراکی در زمان زایش از بالانس نیتروژن بهتری در بدن برخوردار بوده اند و شرایط مناسب تری برای تولید شیر با پروتئین بیشتر در پستان ها داشته اند. از سوی دیگر احتمالاً تامین میزان کافی منگنز در مکمل بلوس خوراکی موجب هضم بهتر پروتئین خوراک و افزایش سطح پروتئین خون شده است. زیرا منگنز فعال کننده سیستم آنزیمی دخیل در متابولیسم کربوهیدرات، چربی، پروتئین و نوکلئیک اسید می باشد و در شکل گیری اوره و سنتز اسیدچرب و هضم پروتئین ایفای نقش می کند (۳ و ۴).

مصرف مکمل تزریقی به همراه بلوس خوراکی غلظت تری گلیسرید خون را در یک ماه پس از زایش به طور معنی داری ($P < 0.05$) افزایش داد ولی در سایر زمان های نمونه گیری تفاوت معنی داری مشاهده نشد. یک ماه پس از زایش دروه است که معمولاً گاوهای پرتولید دچار بالانس منفی انرژی می شوند و حضور تری گلیسریدهای کافی در جریان خون می تواند به دلیل



مصرف مقدار کافی خوراک و جذب چربی های از دیواره روده باریک باشد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که مصرف همزمان بلوس خوراکی با تاثیر بر مصرف خوراک توان شانس بروز بالانس منفی شدید انرژی را کاهش داده است.

غلظت نیتروژن اوره ای خون گاوهای دریافت کننده تیمارهای مختلف در هیچ یک از زمان های نمونه گیری تفاوت معنی داری نداشت. هر چند همچنانکه قبلا توضیح داده شد نیتروژن اوره ای شیر تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. گزارش ها نشان می دهد بین نیتروژن اوره ای شیر و خون ارتباط مثبتی وجود دارد اما در آزمایش حاضر چنین ارتباطی مشاهده نشد، شاید به این دلیل که در تغذیه گاوهای مورد آزمایش از سطوح بالای پروتئین استفاده نشده بود و محدوده تولید و بازچرخش آن در حد متعادلی قرار داشته است.

جدول ۱- تاثیر برخی مکمل های معدنی - ویتامینی بر میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) غلظت هورمون های تیروئیدی

گاوهای دوره انتقال

تیمارهای آزمایشی ^۱			
بلوس E - Se+	بلوس	E - Se	کنترل
هورمون تری یدوتیرونین (نانومول در لیتر)			
۱/۷۴±۰/۲۵	۲/۰۸±۰/۱۳	۱/۸۹±۰/۱۴	۱/۷۸±۰/۱۹
زمان زایش			
۱/۸۹±۰/۱۴	۱/۸۱±۰/۱۳	۱/۷۸±۰/۱۳	۲/۱۱±۰/۱۳
یک ماه پس از زایش			
۱/۸۱±۰/۱	۱/۹۵±۰/۰۹	۱/۸۴±۰/۰۹	۱/۹۵±۰/۰۹
کل دوره			
هورمون تترا یدوتیرونین (نانومول در لیتر)			
۳۴/۹۳±۵/۰۸	۳۶/۰۲±۴/۴۵	۳۴/۶۷±۵/۷۷	۲۴/۶۰±۶/۰۳
زمان زایش			
۳۱/۱۸±۲/۸۴	۳۱/۴۳±۲/۵۹	۲۷/۸۸±۲/۵۹	۳۵/۳۰±۲/۵۹
یک ماه پس از زایش			
۳۲/۸۴±۲/۸۰	۳۳/۵۲±۲/۵۲	۳۰/۱۴±۲/۹۳	۳۱/۷۳±۲/۹۳
کل دروه			
۰/۰۶۰±۰/۰۰۶۶	۰/۰۶۰±۰/۰۰۵۸	۰/۰۶۸±۰/۰۰۶۸	۰/۰۶۳±۰/۰۰۷۳
نسبت تری یدوتیرونین به تترا یدوتیرونین			

جدول ۲- تاثیر برخی مکمل های معدنی - ویتامینی بر میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) غلظت متابولیت های خون در گاوهای دوره انتقال



تیمارهای آزمایشی ^۱			
بلوس	E - Se	بلوس + E-Se	کنترل
کل پروتئین خون (گرم در دسی لیتر)			
۶/۸۴ ^a ± ۰/۳۳	۵/۹۸ ^b ± ۰/۱۸	۶/۷۷ ^a ± ۰/۱۷	۶/۰۰ ^b ± ۰/۲۵
زمان زایش			
۶/۸۰ ± ۰/۳۴	۷/۴۳ ± ۰/۳۱	۶/۷۷ ± ۰/۳۱	۶/۸۳ ± ۰/۳۱
یک ماه پس از زایش			
۶/۷۰ ± ۰/۵۳	۷/۶۰ ± ۰/۴۴	۷/۲۷ ± ۰/۴۴	۶/۹۵ ± ۰/۵۳
دو ماه پس از زایش			
۶/۷۷ ± ۰/۱۹	۶/۹۱ ± ۰/۱۹	۶/۹۳ ± ۰/۱۹	۶/۵۳ ± ۰/۱۹
کل دوره			
تری گلیسیرید (میلی گرم در دسی لیتر)			
۱۸/۲۰ ± ۵/۴۱	۱۸/۵۰ ± ۲/۹۶	۲۰/۱۷ ± ۲/۸۰	۱۷/۸۳ ± ۴/۱۱
زمان زایش			
۲۱/۸۰ ^a ± ۱/۱۴	۱۸/۸۳ ^{ab} ± ۱/۰۴	۱۷/۶۷ ^b ± ۱/۰۴	۱۷/۵۰ ^b ± ۱/۰۴
یک ماه پس از زایش			
۱۶/۵۰ ± ۲/۹۶	۲۱/۰۰ ± ۲/۴۲	۲۲/۰۰ ± ۲/۴۲	۱۶/۵۰ ± ۲/۹۶
دو ماه پس از زایش			
۱۹/۰۰ ± ۱/۰۵	۱۸/۲۵ ± ۱/۰۴	۱۹/۱۳ ± ۱/۰۵	۱۸/۵۶ ± ۱/۰۵
کل دوره			
نیتروژن اوره ای خون (میلی گرم در دسی لیتر)			
۱۲/۰۵ ± ۳/۷۰	۱۳/۲۳ ± ۲/۰۲	۱۱/۳۷ ± ۱/۹۱	۱۱/۴۶ ± ۲/۸۱
زمان زایش			
۱۵/۸۵ ± ۱/۱۵	۱۳/۵۴ ± ۱/۰۵	۱۴/۷۱ ± ۱/۰۵	۱۴/۴۷ ± ۱/۰۵
یک ماه پس از زایش			
۱۷/۳۵ ± ۲/۷۶	۱۶/۱۹ ± ۲/۲۵	۱۸/۲۱ ± ۲/۲۵	۱۴/۹۵ ± ۲/۷۶
دو ماه پس از زایش			
۱۴/۸۴ ± ۰/۶۵	۱۳/۶۷ ± ۰/۶۴	۱۳/۶۷ ± ۰/۶۵	۱۳/۸۷ ± ۰/۶۵
کل دوره			

منابع

1. Awadeh, F. T., R. L. Kincaid, and K. A. Johnson. 1998. Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves. *Journal of Animal Science* 76:1204-1215.
2. Pavlata, L., J. Prasek, J. Filipek, and A. Pechova. 2004. Influence of parenteral administration of selenium and vitamin E during pregnancy on selected metabolic parameters and colostrum quality in dairy cows at parturition. *Journal of Veterinary Medicine* 49:149-155.
3. Spears, J. W. and W. P. Weiss. 2008. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal* 176:70-76.
4. Yang, F.-L., X.-S. Li, and B.-X. He. 2011. Effects of vitamins and trace-elements supplementation on milk production in dairy cows: A review. *African Journal of Biotechnology* 10:2574-2578.

Effect of some trace mineral-vitamin supplements on thyroid hormones and blood metabolites of high production Holstein cows during summer season

S Khorsandi, A Riasi*, M Khorvash, S Ansari, H Rahmani, and F Mohammadpanah

Corresponding E-mail address: ariasi@cc.iut.ac.ir

Abstract

This study was conducted to evaluate the effects of some nutritional and injectable mineral-vitamin supplements on thyroid hormones (T₃ and T₄) and blood metabolites in transition dairy cows. One hundred multiparous Holstein cows were randomly assigned to four groups. The



treatments were consisted of: (1) control, (2) injection of Se- vitamin E supplement, (3) Feed minerals- vitamins bolus supplement, and (4) injection and feed mineral-vitamin supplements. The injectable supplement was contained vitamin E and Se and the dietary bolus was contained Cu, Co, Se, Mn, I, Zn, and vitamins A, E and D₃. The data showed nutritional bolus or injectable supplement had no effect on concentration T₃ and T₄ hormones. Nutritional bolus increased ($P<0.05$) total blood protein at parturition time. The group supplemented with injectable vitamin E-Se along nutritional bolus had higher triglyceride in the first month of lactation ($P<0.05$). The treatments had no effect on blood urea nitrogen. It was concluded that the nutritional bolus had positive effects on some of blood metabolic profile.

Keywords: Mineral- vitamin supplements, Dairy cow, Blood metabolites, Thyroid hormones

تأثیر برگ زیتون بر فشار خون سیستولیک جوجه‌های گوشتی در شرایط دمای معمولی و استرس سرمایی

صیقلی ورمقانی^۱، محمد امیر کریمی ترشیزی^{۲*}، شعبان رحیمی^۳، هوشنگ لطف الهیان^۴، محمد حسن زاده^۵ و هوشنگ جعفری^۶
^۱ دانشجوی دکتری تغذیه دام، گروه علوم دامی دانشگاه تربیت مدرس^۲ و استادیار و استاد گروه پرورش و تولید طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس،^۳ استادیار موسسه تحقیقات علوم دامی کشور،^۴ استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران،^۵ عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی ایلام.^۶ نویسنده مسئول

karimitm@modares.ac.ir

چکیده

هدف از اجرای این آزمایش بررسی تأثیر برگ زیتون بر میزان فشار خون در جوجه‌های گوشتی آراین بود. با استفاده از سطوح ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد برگ زیتون و داروی کاهنده فشار خون (پروپرانولول) بر اساس توصیه‌های جوجه‌گوشتی آراین در سه دوره زمانی آغازین، رشد و پایانی پنج جیره غذایی تهیه شد، بنابر این ۵ تیمار با ۴ تکرار و ۲۵ پرنده در هر تکرار در دو شرایط دمای معمولی و استرس سرمایی مورد مطالعه قرار گرفتند. در پایان ۴۲ روزگی فشار خون سیستولیک ۸ پرنده از هر تیمار از طریق سرخرگ بالی اندازه‌گیری شد. میزان فشار خون سرخرگی در تیمارهای شاهد، داروی فشار خون، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد برگ زیتون در شرایط دمای معمولی و استرس سرمایی به ترتیب ۶۸/۷۵، ۴۳/۲۵، ۶۷، ۵۵/۸۷، ۵۶/۸۷ و ۶۵/۸۷، ۴۱/۱۲، ۵۳/۵۰، ۵۱، ۴۸/۷۵ میلی‌متر جیوه بود. اختلاف میانگین فشار خون سیستولیک تیمارها در شرایط دمای معمولی معنی‌دار ($p < 0.05$) بود، به طوری که بالاترین و پایین‌ترین مقدار آن به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد و داروی فشار خون بود. در شرایط استرس سرمایی نیز بالاترین میزان فشار خون مربوط به تیمار شاهد بود که بجز تیمار ۰/۵ درصد زیتون با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) داشت. بنابر این استفاده از سطوح ۱ درصد برگ زیتون در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی به منظور کاهش فشار خون قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: فشار خون - برگ زیتون - دما - جوجه گوشتی

مقدمه

فشار خون نیرویی است که خون در حال جریان بر دیواره رگ وارد می‌کند و این واژه معمولاً برای فشار خون در سرخرگ‌های گردش عمومی خون به کار برده می‌شود (۴). افزایش فشار خون مخصوصاً در ماکیان با رشد سریع عامل مستعد کننده تعدادی از ناهنجاری‌های وابسته به سیستم قلبی - عروقی و قلبی - ریوی مانند آسیت، سندرم مرگ ناگهانی و پاره‌گی آئورت است (۳). بنابر این کاهش میزان فشار خون در جوجه‌های گوشتی در پیشگیری از این ناهنجاریها موثر بوده و برای این منظور گیاهان دارویی

می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند. برگهای زیتون و ضایعات حاصل از فرآیند روغن‌گیری زیتون هر دو از ترکیبات لیگنوسلولزی هستند که در صورت عدم استفاده مشکلات زیست محیطی بوجود می‌آورند، اما پتانسیل قابلیت استفاده در تغذیه دام و طیور را دارند، به طوریکه از نقطه نظر اقتصادی-اجتماعی فوق العاده حائز اهمیت هستند (۸). برگ زیتون مقادیر بالایی مواد فنلی دارد که مشابه موادی است که در میوه و سایر فرآورده های زیتون وجود دارد (۳). برگهای زیتون حاوی مقادیر قابل توجهی از پلی فنلها مخصوصاً اولئوروپین، ریوتین، ورباکوسید، آپجینین-۷-گلوکوزید و لیوتولین-۷-گلوکوزید است. پلی فنل غالب در برگهای زیتون اولئوروپین است که در درمان خیلی از بیماریها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱). مؤثرترین ترکیب بیولوژیکی موجود در برگ زیتون که خاصیت دارویی داشته و در بیماریهای قلبی عروقی نقش حائز اهمیتی دارد اولئوروپین است (۹). اولئوروپین و هیدروکسی تیروزول حاصل از تجزیه آن باعث کاهش بیماریهای قلبی-عروقی شده و از طریق انبساط عروق و خاصیت دیورتیکی باعث کاهش فشار خون و افزایش جریان خون در عروق کرونر قلب می‌گردد علاوه بر این ضد فعالیت نامنظم قلب است (۷ و ۱۱). برگ گیاه زیتون به دلیل دارا بودن خواص دیورتیکی، کاهش دهنده فشار خون، ضد باکتریایی، ضد آرترواسکلروز، آنتی اکسیدان، تب‌بر و ملین در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۰). مطالعات متعددی نشان داده است که برگ و عصاره برگ زیتون باعث کاهش فشار خون و افزایش جریان خون در عروق کرونر قلب می‌گردند (۶ و ۱۱). بنابر این هدف از اجرای این آزمایش بررسی میزان فشار خون سیستولیک در جوجه های گوشتی تغذیه شده با سطوح مختلف پودر برگ زیتون بود تا در صورت کاهش فشار خون به منظور جلوگیری از شیوع تعدادی از ناهنجاری های متابولیکی مربوط به سیستم قلبی-عروقی پودر برگ زیتون به عنوان یک مکمل در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روشها

برای تهیه برگ زیتون سرشاخه های قطع شده در زمان هرس درختان باغ زیتون فدک واقع در شهرستان قم در سایه خشک و پس از جدا سازی برگ از قسمت‌های چوبی به محل اجرای آزمایش انتقال داده شد. با استفاده از سطوح ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد برگ زیتون و داروی کاهش دهنده فشار خون (قرص پروپرانولول) و بر پایه ذرت و سویا بر اساس توصیه های جوجه گوشتی آراین در سه دوره زمانی آغازین، رشدی و پایانی تعداد پنج جیره غذایی تهیه شد. این جیره های غذایی در دو شرایط دمای معمولی و استرس سرمایی مورد مطالعه قرار گرفتند. برنامه دمایی استرس سرمایی شامل ۳۲، ۲۵، ۲۰ و ۱۵ درجه سلسیوس به ترتیب در روزهای ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱-۴۲ بود (۶). با توجه به جیره‌های غذایی در هر برنامه دمایی تعداد ۵ تیمار با ۴ تکرار و ۲۵ قطعه جوجه نر سویه آراین به مدت ۴۲ روز مورد مطالعه قرار گرفتند.

اندازه گیری فشار خون

اندازه گیری فشار خون با استفاده از از وسایل زیر صورت گرفت:

- ۱- دستگاه سونیکید مدل Vascular Flow Detector SONICAID BV102R UK متصل به پروب ۵/۵ مگاهرتز
- ۲- اسفینگومانومتر (No 1440, Babyphon Riester Jungingen Germany)
- ۳- کاف نوزاد (Infant Nylon-Velcuro arm circumference 7.5-13. Riester Jungingen Germany) و ژل سونوگرافی (Shafasonic, Iran)

در پایان دوره آزمایش از هر واحد آزمایشی ۲ قطعه جوجه (۸ قطعه در هر تیمار) به صورت تصادفی انتخاب و میزان فشار خون سیستولیک آنها از طریق سرخرگ بالی اندازه گیری شد. تجزیه و تحلیل داده های حاصله در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت، برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصله نشان داد که استفاده از برگ زیتون در جیره غذایی جوجه های گوشتی در شرایط دمای معمولی فشار خون سیستولیک را کاهش ($p < 0.05$) داد، به طوری که بالاترین و پایین ترین مقدار فشار خون سیستولیک به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد و داروی فشار خون است. در شرایط استرس سرمایی نیز بالاترین میزان فشار خون مربوط به تیمار شاهد است که بجز تیمار ۰/۵ درصد زیتون با سایر تیمارها اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) دارد (جدول ۱).
جدول ۱: میانگین و اشتباه معیار فشار خون سیستولیک جوجه های گوشتی تغذیه شده با جیره های مختلف در ۴۲ روزگی (mmHg)

دما / تیمار	شاهد	داروی فشارخون	۰/۵٪ برگ زیتون	۱٪ برگ زیتون	۱/۵٪ برگ زیتون
دمای	^a ۶۸/۷۵	^c ۴۳/۲۵	^a ۶۷/۰۰	^b ۵۵/۸۷	^b ۵۶/۸۷
معمولی	±۳/۴۴	±۳/۴۶	±۳/۱۸	±۴/۳۶	±۲/۹۳
استرس	^a ۶۵/۸۷	^b ۴۱/۱۲	^{ab} ۵۳/۵۰	^b ۵۱/۰۰	^b ۴۸/۷۵
سرمایی	±۳/۴۰	±۲/۳۵	±۵/۷۵	±۵/۱۵	±۵/۶۴

در هر ردیف تیمارهایی که با حروف مختلف لاتین نامگذاری شده اند اختلاف آنها معنی دار است ($p < 0.05$).

بحث

جدول ۱ نشان می دهد که اختلاف میانگین فشار خون سیستولیک در بین تیمارها معنی دار است ($p < 0.05$)، به طوریکه استفاده از سطوح ۱ و ۱/۵ درصد برگ زیتون در جیره غذایی جوجه های گوشتی در مقایسه با تیمار شاهد فشار خون سیستولیک را کاهش داد. استفاده از مقدار ۰/۵ درصد برگ زیتون در مقایسه با تیمار شاهد باعث کاهش معنی داری در فشار خون نشد، به نظر می رسد

که مقدار ماده موثره حاصل از این سطح زیتون در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی به مقدار کافی نبوده است که باعث کاهش معنی داری فشار خون نسبت به تیمار شاهد شود. مقدار فشار خون تحت تأثیر دو عامل مهم بروده قلب (مقدار خونی که در هر دقیقه به وسیله قلب به درون آئورت پمپ می شود) و مقاومت رگ (مقاومتی که بر سر راه خروج خون از قلب در رگها وجود دارد) قرار می گیرد، لذا کاهش برون ده قلب و اتساع عروق، فشار خون را کاهش می دهند. بنابر گزارش‌های منتشر شده برگ زیتون با مکانیسم های متفاوتی باعث کاهش فشار خون می گردد. برگ زیتون با عمل بازکنندگی مجاری عروق سطحی بدون اثر تضعیف کننده بر قلب سبب کاهش فشار خون می گردد (۱۱). بر اساس منابع موجود در مورد تأثیر برگ زیتون بر میزان فشار خون در جوجه های گوشتی تاکنون گزارشی منتشر نشده است، اما گزارش‌های منتشر شده در مورد انسان و حیواناتی مانند موش و خرگوش نشان می دهد که پودر و یا عصاره برگ زیتون باعث کاهش فشار خون می گردد (۶، ۷، ۱۰ و ۱۱) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. بنابر این استفاده از سطوح ۱ درصد برگ زیتون در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی به منظور کاهش فشار خون قابل توصیه است.

منابع

1. Altioikit, E., Baycin, D., Bayraktar, O. and Ulku, S. 2008. Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin. Separation and Purification Technology. 62: 342 - 348.
2. Bouaziz, M., Fki, I., Jemai, H., Ayadi, M. and Sayadi, S. 2008. Effect of storage on refined and husk olive oils composition: stabilization by addition of natural antioxidants from chemlali olive leaves. Food Chemistry. 108: 253 – 262.
3. Julian, JR. Production and growth related disorders and other metabolic diseases of poultry – A review. Vet. J. 2005; 169: 350 - 369.
3. Leonardis, A. D., Acetini, A., Alfano, G., Macciola, V. and Ranalli, G. 2008. Isolation of a hydroxytyrosol rich extract from olive leaves (*Olea europaea* L.) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity. European Food Research Technology. 226: 653 - 659.
4. Lichtenberger M. Determination of indirect blood pressure in the companion bird. Semnar In Avian and Exotic Pet Medicinal. 2005; 14: 149 - 152.
6. Luger, D., Shinder, D. Rzepakovsky, V., Rusal, M. And Yahav, S. 2001. Association between weight gain, blood parameters, and thyroid hormones and the development of ascites syndrome in broiler chickens. Poultry Science. 80: 965–971.
7. Manna, C., Migliardi, V., Golino, P., Scognamiglio, A., Galletti, P., Chiariello, M. and Zappia, V. 2004. Oleuropein prevents oxidative myocardial injury induced by ischemia and reperfusion. The Journal of Nutritional Biochemistry. 15: 461 - 466.
8. Martín Garcia, A. I., Yanez Ruiz, D. R., Moumen, A. and Molina Alcaide, E. 2006. Effect of polyethylene glycol, urea and sunflower meal on olive (*Olea europaea* var. *europaea*) leaf fermentation in continuous fermentors. Small Ruminant Research. 61: 53 - 61.
9. Omar, S. H. 2010. Oleuropein in olive and its pharmacological effects. Scientia Pharmaceutica. 78: 133 - 154.

10. Somova, L. I., Shode, F.O., Ramnanan, P. and Nadir, A. 2003. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *africana* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*. 84: 299 - 305.
11. Zarzuelo, A., Duarte, J., Jimenez, J., Gonzalez, M. and Utrilla, M.P. 1991. Vasodilator effect of olive leaf. *Planta Medica*. 57: 417 – 419.

Effect of olive leaf powder on systolic blood pressure in broilers reared at normal and cold temperature

S. Varmaghany¹, M.A. Karimi Torshizi^{2*}, S. Rahimi², H. Lotfollahian³, M. Hassanzadeh⁴, H. Jafari⁵.

¹Ph.D. Student of Animal Nutrition, Tarbiat Modares University, ²Department of Poultry Science, Tarbiat Modares University, ³Animal Science Researches Institute, ⁴Department of Poultry Diseases, faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, ⁵Natural Resources and Agriculture Research of Ilam,

*Corresponding author: E- mail: Karimitm@modares.ac.ir

Abstract

This study evaluated the effects of dietary supplementation of dried olive leaves on blood pressure in broilers. Two experiments included normal temperature (NT) and cold temperature (CT) were conducted using 1000 day old male broilers (Arian 386). Birds were assigned in a completely randomized design with 5 treatments and 4 replications. The diets formulated on the basis of Arian broiler chick recommendation for starter, grower and finisher. In both experiments, treatments included 1-control, 2-antihypertensive drug propranolol (4mg/kg body weight), 3- 0.5%, 4-1% and 5-1.5% olive leaf powder. Arterial blood pressure was measured on branchial artery of conscious birds via indirect method by using of pediatric cuff and Vascular Flow Detector (SONICAID- BV102R) in 8 birds per each treatment at the end of 42 d. Mean of blood pressure in treatments 1 to 5 in NT and CT were 68.75, 43.25, 67, 55.87, 56.87 and 65.87, 41.12, 53.5, 51, 48.75 mmHg respectively. Results showed that mean of blood pressure between treatments were significantly different ($P < 0.01$) in CT and NT. The use of olive leaf showed an antihypertensive effect on blood pressure of broiler chickens.

Keywords: Blood pressure- olive leaf- temperature- broiler chicken



تأثیر سطوح مختلف گیاه چویر (*Ferulago angulata*) بر پایداری اکسیداتیو، میزان چربی خام و اسیدیته گوشت جوجه‌های گوشتی

محمود دانایی^۱، یوسف جعفری آهنگری^۲، سید رضا هاشمی^۳، سعید حسینی^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام و طیور، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ^۲ عضو هیئت علمی دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ^۳ دکترای فیزیولوژی طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

*نویسنده مسئول: محمود دانایی، mahmooddanayi@yahoo.com

چکیده

در این مطالعه تأثیر افزودن پودر گیاه چویر (*Ferulago angulata*) در جیره جوجه‌های گوشتی به عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی بر کیفیت گوشت سینه و ران بررسی شده است. تعداد ۳۲۰ قطعه جوجه یک روزه سویه راس به صورت تصادفی به ۴ گروه با ۵ تکرار تقسیم شدند. طی این آزمایش جوجه‌ها سطوح مختلفی از پودر گیاه چویر شامل صفر، ۱/۵ و ۳ درصد را دریافت کردند و همچنین یک تیمار ویتامین E در سطح ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خوراک به مدت ۶ هفته اعمال گردید. در روز ۴۲، بعد از کشتار نمونه‌های گوشت ران و سینه برای انجام آزمایشات منجمد گردید. یک ماه پس از ذخیره‌سازی میزان مالون‌دی‌آلدهاید^{۱۵} نمونه‌ها با استفاده از آزمون اسید تیوباربیتوریک^{۱۶} و روش اسپکتروفتومتری انجام شد. همچنین چربی خام با استفاده از دستگاه سوکسله و اسیدیته نمونه‌های ران و سینه اندازه‌گیری شد. نتایج آزمایشات نشان داد که اختلاف معنی‌داری در میزان مالون‌دی‌آلدهاید و اسیدیته بین تیمارهای آزمایشی وجود ندارد ($p > 0.05$). همچنین جوجه‌های تغذیه شده با ۳ درصد گیاه چویر از میزان چربی خام بالاتری در عضله سینه برخوردار بودند ($p < 0.05$) و چربی خام نمونه‌های ران تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0.05$). به طور کلی بین تیمارهای آزمایشی از نظر فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: جوجه گوشتی - کیفیت گوشت - *Ferulago angulata* - آزمون مالون دی آلدهاید - آنتی اکسیدان طبیعی.

مقدمه

خرد کردن گوشت و دیگر روش‌های فرآوری گوشت قبل از منجمد سازی باعث آسیب به غشای سلول‌های گوشت شده و زمینه را برای واکنش اسیدهای چرب غیر اشباع گوشت با مواد پراکسیدان فراهم می‌کند که منجر به پایین آمدن سریع کیفیت و گسترش فساد در آن می‌شود. گوشت مرغ بدلیل داشتن میزان اسید چرب غیراشباع بالاتر نسبت به سایر حیوانات به آسیب اکسیداتیو حساس‌تر است (۱). اکسیدشدن چربی‌ها و پروتئین علت عمده کاهش کیفیت گوشت است. بروز واکنش‌های اکسیداتیو در عضله هنگام ذخیره سازی باعث تغییرات نامطلوب در گوشت می‌شود (۳). با توجه به اینکه آنتی اکسیدان‌های مصنوعی به دلیل نگرانی‌های مربوط به سلامتی با عدم استقبال مصرف‌کننده مواجه هستند استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی مانند گیاهان دارویی و متابولیت‌های ثانویه آن‌ها در جهت افزایش خصوصیات کیفی گوشت و فرآورده‌های گوشتی مورد مطالعه قرار گرفته است (۸). گیاه چویر با نام علمی *Ferulago angulata* از خانواده Apeacea و از چتریان نسبتاً فراوان در مراتع

¹⁵ malondialdehyde

¹⁶ thiobarbituric acid test

بیلاقی است و به شدت به سرما و یخبندان مقاوم است. این گیاه از گیاهان علوفه‌ای، دارویی و صنعتی در بسیاری از مراتع بیلاقی به ویژه زاگرس است. چویر از جمله گیاهانی است که مطالعات کمی پیرامون خواص آن صورت گرفته است. این گیاه دارای ترکیبات موثر یاروغن‌های ضروری می‌باشد که عمده ترکیب روغن‌های ضروری این گیاه را ترکیباتی مانند آلفا-پینن^{۱۷}، بتا-پینن^{۱۸}، پی-سیمن^{۱۹}، بورنیل استات^{۲۰}، بتا-فلاندرن^{۲۱}، آلفا-فلاندرن، دلتا ۳-کارن، سیس اوسیمین و دی-گرمانکرن تشکیل می‌دهند. خواص آنتی اکسیدانی عصاره این گیاه تأیید شده است (۴). لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر استفاده از پودر گیاه چویر به عنوان یک گیاه با خاصیت آنتی اکسیدانی بر فراسنجه‌های کیفیتی گوشت جوجه های گوشتی شامل میزان مالون دی آلدیهاید به عنوان محصول پرکسیداسیون چربی‌های گوشت و اسیدیته گوشت بعنوان پیامد تأثیرپذیر از پرکسیداسیون گوشت و همچنین تعیین میزان چربی خام گوشت انجام شده است.

مواد و روش ها

تعداد ۳۲۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس در ۴ تیمار و ۵ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی توزیع شده و تیمارهای آزمایشی از روز اول تا ۴۲ اعمال گردید. تیمارهای آزمایشی شامل جیره شاهد، بر اساس جداول احتیاجات غذایی انجمن ملی تحقیقات آمریکا (NRC, 1994) بر پایه ذرت و سویا، جیره شاهد به علاوه ۱/۵ درصد پودر گیاه، جیره شاهد به علاوه ۳ درصد پودر گیاه و جیره شاهد به علاوه ۳۰۰ میلی گرم ویتامین E بود. پس از کشتار در روز ۴۲ نمونه‌های گوشت سینه و ران جهت انجام آزمایشات مربوطه در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش ذخیره گردید. جهت اندازه گیری میزان وقوع پراکسیداسیون لیپیدی هر نمونه گوشت، از روش آزمون تیوباربیتوریک اسید با استفاده از روش رنگ سنجی به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. بدین منظور ده گرم گوشت چرخ کرده به مدت دو دقیقه با ۹۷/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی لیتر اسید کلریدریک چهار نرمال هموژنیزه شد و سپس مخلوط به دست آمده تقطیر شده و ۵۰ سی سی عصاره بدست آمد. سپس پنج میلی لیتر از عصاره بدست آمده و پنج میلی لیتر واکنش گر تیوباربیتوریک اسید (۹۰ درصد اسیداستیک و ۰/۲۸۸۳ گرم 2- تیوباربیتوریک اسید) به مدت ۳۵ دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده شد. سپس به مدت ده دقیقه در زیر شیر آب سرد قرار داده شد و میزان جذب نور در طول موج ۵۳۸ nm بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین گردید. برای تعیین اسیدیته گوشت از دستگاه pH متر استفاده شد. نمونه های گوشت چرخ کرده برای تعیین چربی خام در آون خشک شده و با استفاده از دستگاه سوکسله وحلال دی اتیل اتر چربی گیری شد و میزان چربی خام گوشت تعیین گردید. داده های آزمایشی با استفاده از نرم افزار SAS با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل گردید و میانگین و انحراف استاندارد مشاهدات محاسبه شد.

نتایج و بحث

¹⁷ α -pinene
¹⁸ β -pinene
¹⁹ P-cymene
²⁰ Bornyl acetate
²¹ β -phelandrene



نتایج حاصل از آزمایش در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. با توجه به جدول ۱ و ۲، بین تیمارهای آزمایشی از نظر اسیدیته گوشت سینه و ران تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p>0.05$) و این نتایج با مشاهدات میرشکار و همکاران، ۲۰۰۹ (۵) و سلانی و همکاران، ۲۰۱۱ (۶) مطابقت داشت. میزان مالون دی آلدهاید اندازه گیری شده در گوشت سینه و ران در تیمارهایی که در آن ها گیاه چویر و ویتامین E اعمال شده بود نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی داری نشان نداد ($p>0.05$). نتایج بدست آمده با مشاهدات میرشکار و همکاران (۵) و بوتسقلو و همکاران (۲) ۲۰۰۳ مغایرت داشت. این اختلافات ممکن است ناشی از ترکیب، شکل فیزیکی (اسانس، عصاره یا پودر گیاه مورد استفاده)، محتوای ترکیبات فعال و مقدار گیاه دارویی مورد استفاده باشد (۷). میزان چربی سینه در پرندگان مربوط به تیمار حاوی ۳ درصد چویر در مقایسه با تیمار شاهد و ویتامین E بیشتر بود ولی اختلاف معنی داری نداشت ($p>0.05$). بین تیمارهای آزمایشی از لحاظ میزان چربی ران اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p>0.05$).

جدول ۱- نتایج اثر تیمارهای آزمایشی بر روی میزان مالون دی آلدهاید (میلی گرم بر کیلوگرم)، اسیدیته و چربی خام نمونه های گوشت ران جوجه های گوشتی در یک ماه پس از کشتار

فراسنجه	تیمار			شاهد
	ویتامین E	۳ درصد گیاه چویر	۱/۵ درصد گیاه چویر	
میزان مالون دی آلدهاید	۲/۹۹±۰/۱۸	۳/۰۹±۰/۵۰	۲/۳۵±۰/۳۶	۳/۱۶±۰/۴۱
Ph	۶/۶۰±۰/۰۳ ^a	۶/۵۷±۰/۰۵ ^{ab}	۶/۴۹±۰/۰۲ ^b	۶/۵۹±۰/۰۵ ^{ab}
چربی خام	۳۲/۲۲±۱/۴۵	۳۱/۷۴±۱/۴۹	۳۱/۹۰±۱/۰۷	۳۲/۱۴±۲/۲۹

داده های نشان داده شده در جدول شامل میانگین هر فراسنجه به همراه خطای استاندارد آن فراسنجه در سطح احتمال ۰/۰۵ است. در هر فراسنجه حروف متفاوت نمایانگر معنی داری بین تیمارهاست.

جدول ۲- نتایج اثر تیمارهای آزمایشی بر روی میزان مالون دی آلدهاید (میلی گرم بر کیلوگرم)، اسیدیته و چربی خام نمونه های گوشت سینه جوجه های گوشتی در یک ماه پس از کشتار

فراسنجه	تیمار			شاهد
	ویتامین E	۳ درصد گیاه چویر	۱/۵ درصد گیاه چویر	
میزان مالون دی آلدهاید	۳/۱۶±۰/۳۲	۲/۷۲±۰/۳۱	۳/۰۵±۰/۵۸	۲/۲۸±۰/۳۶
pH	۶/۳۲±۰/۰۳	۶/۲۳±۰/۰۳	۶/۳۰±۰/۰۷	۶/۳۰±۰/۰۳
چربی خام	۹/۹۰±۱/۱	۱۲/۳۲±۳/۳۹	۱۰/۱۵±۰/۶۷	۹/۱۴±۰/۵۴

داده های نشان داده شده در جدول شامل میانگین هر فراسنجه به همراه خطای استاندارد آن فراسنجه در سطح احتمال ۰/۰۵ است.
در هر فراسنجه حروف متفاوت نمایانگر معنی داری بین تیمارهاست.

منابع

1. Botsoglou, N.A., Christaki, E., Fletouris, D.G., Florou-Paneri, P., and Spais, A.B. 2002. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. Meat. Sci. 62:259-265.
2. Botsoglou, N.A., Christaki, E., Fletouris, D.G., Florou-Paneri, P., and Spais, A.B. 2003. Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate supplementation. Food. Res. Inter. 36 :207 – 213.
3. Ganhaio, R., Morcuende, D., and Estevez, M. 2010. Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts :Influence on colour and texture deterioration during chill storage. Meat. Sci. 85: 402-409.
4. Khanahmadi, M., and Janfeshan, K. 2006. Study on antioxidant property of ferulago angulata plant. Asian. J. Plant. Sci. 5(3): 5210-526.
5. Mirshekar, R., Dastar, B. and Shabanpour, B. 2009. Effect of Rosemary, Echinacea, Green Tea Extract and Ascorbic Acid on Broiler meat quality. pak. J. Biol. Sci. 12(15): 1069-1074.
6. Selani, M.M., Contreras-Castillo, C.J., Shirahigue, L.D. and Gallo, C.R. 2011. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. J. Meat. Sci. 88: 397-403.
7. Steiner, T. 2009. Phytogetic in animal nutrition. Nottingham University Press. 181 p.
8. Zhang, W., Xiao, S., Samaraweera, H., Lee, E.J., and Ahn, D.U. 2010. Improving functional value of meat products. Meat. Sci. 86:15-31.

Effect of different levels of Chavir (*Ferulago angulata*) on oxidative stability, raw fat and acidity of broiler meat.

M. Danaie¹, Y. Jafari Ahangari², S.R. Hashemi², S. Hasani²

¹M.Sc Animal Physiology student, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

²Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
mahmooddanayi@yahoo.com

Abstract

This study evaluated the effect of dietary chavir plant (*ferulago angulata*) as a source of natural antioxidant on quality of breast meat and thigh meat in broiler Chickens. 320 one day old broilers (Ross strain) were randomly divided into 4 groups with 5 replicate. During this experiment broilers received levels of plant including 0, 1.5%, 3% and 300 mg per kg of diet Vitamin E were used for 6 weeks. In 42th day, after slaughter meat samples were frozen for experiments. One month after storage, concentration of malondialdehyde (MDA) was determined by TBARS test and spectrophotometry procedure. Also raw fat and pH of breast and thigh meat samples were measured. TBARS test and pH values were not influenced significantly by treatments ($p>0.05$). The Results also show that eter extract of breast samples in 3% was higher significantly ($p<0.05$) and differences in raw fat of thigh samples were insignificant ($p>0.05$).



Keywords: Broiler chicken- Meat quality- *Ferulago angulata*- Malondialdehyde test- Natural antioxidant.

تأثیر سطوح مختلف گیاه چویر (*Ferulago angulata*) بر کیفیت گوشت جوجه‌های گوشتی

محمود دانایی^۱، یوسف جعفری آهنگری^۲، سید رضا هاشمی^۳، سعید حسنی^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام و طیور، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ^۲ عضو هیئت علمی دانشکده

علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ^۳ دکترای فیزیولوژی طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم

کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

*نویسنده مسئول: محمود دانایی، mahmooddanayi@yahoo.com

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تأثیر گیاه چویر (*Ferulago angulata*) در جیره جوجه‌های گوشتی به عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی بر کیفیت گوشت سینه و ران انجام شد. فراسنجه‌های ارزیابی شده شامل رنگ گوشت، ظرفیت نگهداری آب^{۲۲} (whc)، رطوبت و میزان افت وزن ناشی از خروج آب می باشد. تعداد ۳۲۰ قطعه جوجه یک روزه سویه راس به صورت تصادفی به ۴ گروه با ۵ تکرار اختصاص یافتند. طی این آزمایش جوجه‌ها سطوح مختلفی از پودر گیاه چویر شامل صفر، ۱/۵، ۳، درصد را دریافت کردند و همچنین یک تیمار ویتامین E در سطح ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خوراک به مدت ۶ هفته اعمال گردید. در روز ۴۲ بعد از کشتار نمونه‌های گوشت برای انجام آزمایشات منجمد گردید. نمونه‌های گوشت بعد از یک ماه ارزیابی شد. نتایج نشان داد که شاخص‌های رنگ نمونه‌های ران تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($p>0.05$) اما در نمونه‌های گوشت سینه شاخص‌های قرمزی، روشنی و زردی به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0.05$). نتایج نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی از نظر افت وزن ناشی از خروج آب^{۲۳}، رطوبت نمونه‌های گوشت سینه و ظرفیت نگهداری آب در گوشت سینه و ران اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p>0.05$) و در تیمار ۱/۵ درصد مکمل شده با گیاه چویر رطوبت ران به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0.05$).

واژه‌های کلیدی: جوجه گوشتی - *Ferulago angulata* - کیفیت گوشت - ویتامین E - آنتی‌اکسیدان طبیعی.

مقدمه

استفاده از روش‌های تغذیه‌ای جهت بهبود کیفیت غذاهای ماهیچه‌ای یک رویکرد نسبتاً جدید در علوم دامی است. روش‌های تغذیه‌ای اغلب نسبت به افزودن مستقیم افزودنی‌ها به گوشت مؤثرترند. زیرا ترکیبات مهم درجایی رسوب می‌کنند یا انباشته می‌شوند که اغلب مورد نیاز هستند. گوشت مرغ به دلیل داشتن میزان اسید چرب غیراشباع بالاتر نسبت به آسیب اکسیداتیو حساس‌تر از سایر گوشت‌ها است (۲). اکسیداسیون چربی و پروتئین تهدید اصلی برای کاهش کیفیت گوشت است. آغاز واکنش‌های اکسیداتیو در ماهیچه در طی فرآیند و ذخیره‌سازی منجر به ایجاد تغییرات نامطلوب در گوشت می‌شود (۱). چون آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی به دلیل نگرانی‌های مربوط به سلامتی کاملاً توسط مصرف‌کننده پذیرفته نشده‌اند، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند گیاهان و متابولیت‌های ثانویه آن‌ها برای بهبود کیفیت گوشت و محصولات گوشتی مخصوصاً در کشور-های آسیایی مطالعه شده است (۶). گیاه چویر با نام علمی *Ferulago angulata* از خانواده Apeacea و از چتریان نسبتاً

²² Water holding capacity

²³ Drip loss

فراوان در مراتع ییلاقی است و به شدت به سرما و یخبندان مقاوم است. این گیاه از گیاهان علوفه‌ای، دارویی و صنعتی موجود در بسیاری از مراتع ییلاقی بویژه زاگرس است. چویر به طور سنتی به محصولات مختلف مانند فرآورده‌های لبنی و روغن یا کره آب‌کرده جهت جلوگیری از فاسد شدن آن‌ها افزوده می‌شد، ضمن اینکه مزه خوشایندی به آنها می‌بخشید (۵). گیاه چویر دارای روغن‌های ضروری و ترکیبات فنولیک است از آن جمله می‌توان به آلفا پینن^{۲۴}، بتا پینن^{۲۵}، پی سیمن^{۲۶} و فلاندرن^{۲۷} اشاره کرد. با توجه به اینکه گیاهان غنی از فلاوونوئیدها و ترکیب‌های فنولیک دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند بنابراین پژوهش حاضر باهدف بررسی استفاده از پودر گیاه چویر در جیره جوجه‌های گوشتی بر برخی فراسنجه‌های کیفیتی گوشت مانند رطوبت، قابلیت نگهداری آب، رنگ و افت وزن ناشی از خروج آب صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۲۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس در ۴ تیمار و ۵ تکرار در قالب یک طرح کاملاً تصادفی توزیع شده و تیمارهای آزمایشی از روز اول تا ۴۲ اعمال گردید. تیمارهای آزمایشی شامل جیره شاهد، بر اساس جداول احتیاجات غذایی انجمن ملی تحقیقات آمریکا (NRC, 1994) بر پایه ذرت و سویا، جیره شاهد به علاوه ۱/۵ درصد پودر گیاه چویر، جیره شاهد به علاوه ۳ درصد پودر گیاه چویر و جیره شاهد به علاوه ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم ویتامین E بود. در روز ۴۲ از هر تکرار دو قطعه پرنده کشتار شده و نمونه‌های گوشت سینه و ران جمع‌آوری و نمونه‌ها تا انجام آزمایشات مربوطه در فریزر ۲۰- درجه ذخیره شد. جهت اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب حدود ۱ گرم نمونه به مدت ۴ دقیقه سانتریفیوژ شد (۱۵۰۰g). آب باقیمانده پس از سانتریفیوژ کردن، از طریق خشک کردن نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{WHC} = \text{وزن پس از سانتریفیوژ کردن} - \text{وزن پس از خشک کردن} / (\text{وزن اولیه} \times 100)$$

جهت تعیین فراسنجه‌های رنگ گوشت از دستگاه رنگ سنج (Minolta Chromameter 500) ساخت کشور ژاپن استفاده شد. بدین منظور نمونه گوشت چرخ شده در پلیت قرار گرفته و شاخص‌های قرمزی (a^*)، روشنی (L^*) و زردی (b^*) نمونه مورد بررسی قرار گرفت. برای بدست آوردن رطوبت گوشت حدود ۱ گرم نمونه گوشت را در آون قرار داده و پس از خشک شدن رطوبت نمونه به صورت درصد محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری شاخص افت وزن ناشی از خروج آب نمونه‌های گوشت سینه ۲۴ ساعت بعد از کشتار وزن شده و در کیسه‌های پلاستیکی قرار گرفت. نمونه‌ها در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. ۷۲ ساعت بعد از کشتار و پس از خشک کردن رطوبت اضافی نمونه‌های گوشت وزن شده و میزان افت وزن ناشی از خروج آب با استفاده از اختلاف وزن گوشت در ۲۴ ساعت بعد از کشتار با وزن آن در ۷۲ ساعت بعد از کشتار بدست آمد. داده‌های آزمایشی با استفاده از نرم افزار SAS و با استفاده از رویه ANOVA و آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل گردید و میانگین و انحراف استاندارد مشاهدات محاسبه شد.

نتایج و بحث

²⁴ α -pinene
²⁵ β -pinene
²⁶ P-cymene
²⁷ phelanderene

نتایج حاصل از آزمایش در جداول ۱، ۲، ۳ و ۴ گزارش شده است. بر اساس جدول ۳ نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که در شاخص های رنگ‌سنجی گوشت ران شامل قرمزی و روشنی بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($p>0.05$). در بین تیمارهای آزمایشی تیمار شاهد به طور معنی‌داری کمترین میزان شاخص زردی را به خود اختصاص داد ($p<0.05$) (۴). بر اساس جدول ۴، تیمار ۳ درصد مکمل شده با چویر به طور معنی‌داری شاخص قرمزی گوشت سینه کمتری نسبت به سایر تیمارها داشت ($p<0.05$). از نظر شاخص روشنی، گوشت سینه بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و تیمارهای حاوی ۱/۵ و ۳ درصد چویر باعث افزایش روشنی گوشت گردید ($p<0.05$) (۳). شاخص زردی سینه در تیمار شاهد نسبت به تیمارهایی که در آنها چویر استفاده شده بود میزان کمتری داشت و تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p<0.05$). بین تیمارهای آزمایشی از لحاظ میزان افت وزن ناشی از خروج آب اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>0.05$). میزان رطوبت گوشت ران در تیمار حاوی ۱/۵ درصد چویر به طور معنی‌داری ($p<0.05$) بیشتر از سایر تیمارها بود و از نظر رطوبت سینه بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0.05$) و ظرفیت نگهداری آب در گوشت سینه و ران در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نداشت ($p>0.05$) (۳).

جدول ۱- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میزان رطوبت گوشت (درصد)، ظرفیت نگهداری آب (درصد) نمونه های گوشت ران جوجه های گوشتی در یک ماه پس از کشتار

فراسنجه	تیمار			ویتامین E
	شاهد	۱/۵ درصد گیاه چویر	۳ درصد گیاه چویر	
رطوبت	76.54 ± 0.84^b	79.14 ± 0.10^a	76.36 ± 0.44^b	76.40 ± 0.36^b
ظرفیت نگهداری آب (whc)	52.30 ± 2.3^b	60.31 ± 0.27^a	53.65 ± 1.17^{ab}	53.68 ± 1.49^{ab}

داده های نشان داده شده در جدول شامل میانگین هر فراسنجه به همراه خطای استاندارد آن فراسنجه در سطح احتمال ۰/۰۵ است. در هر فراسنجه حروف متفاوت نمایانگر معنی‌داری بین تیمارهاست.

جدول ۲- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میزان رطوبت گوشت (درصد)، ظرفیت نگهداری آب (درصد) افت وزن ناشی از خروج آب (درصد) نمونه های گوشت سینه جوجه های گوشتی در یک ماه پس از کشتار

فراسنجه	تیمار			ویتامین E
	شاهد	۱/۵ درصد گیاه چویر	۳ درصد گیاه چویر	
رطوبت	76.13 ± 0.81^a	76.91 ± 0.70^a	76.50 ± 0.37^a	74.83 ± 0.47^a
ظرفیت نگهداری آب (whc)	54.69 ± 2.02^a	55.75 ± 1.50^a	54.82 ± 1.54^a	55.78 ± 1.41^a
Drip loss	3.01 ± 0.38^a	3.25 ± 0.37^a	2.96 ± 0.23^a	2.89 ± 0.25^a



داده های نشان داده شده در جدول شامل میانگین هر فراسنجه به همراه خطای استاندارد آن فراسنجه در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

در هر فراسنجه حروف متفاوت نمایانگر معنی داری بین تیمارهاست.

جدول ۳- نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر شاخص های رنگ سنجی گوشت ران جوجه های گوشتی شامل روشنی (L^*),

قرمزی (a^*) و زردی (b^*) در یک ماه پس از کشتار

فراسنجه	تیمار			
	شاهد	۱/۵ درصد گیاه چویر	۳ درصد گیاه چویر	ویتامین E
L^*	$1/06 \pm 62/23$	$0/23 \pm 61/20$	$1/51 \pm 62/72$	$1/13 \pm 63/25$
a^*	$0/51 \pm 10/20$	$0/23 \pm 11/00$	$0/52 \pm 10/00$	$0/41 \pm 9/80$
b^*	$b/016 \pm 3/90$	$a/046 \pm 5/10$	$a/011 \pm 4/90$	$a/014 \pm 4/78$

داده های نشان داده شده در جدول شامل میانگین هر فراسنجه به همراه خطای استاندارد آن فراسنجه در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

در هر فراسنجه حروف متفاوت نمایانگر معنی داری بین تیمارهاست.

جدول ۴- نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر شاخص های رنگ سنجی گوشت سینه جوجه های گوشتی شامل روشنی (L^*),

قرمزی (a^*) و زردی (b^*) در یک ماه پس از کشتار

فراسنجه	تیمار			
	شاهد	۱/۵ درصد گیاه چویر	۳ درصد گیاه چویر	ویتامین E
L^*	$bc/114 \pm 61/53$	$ab/100 \pm 63/86$	$a/052 \pm 65/65$	$c/034 \pm 59/56$
a^*	$a/035 \pm 11/40$	$a/035 \pm 11/40$	$b/034 \pm 9/90$	$a/036 \pm 11/31$
b^*	$b/029 \pm 4/94$	$a/019 \pm 5/98$	$a/020 \pm 6/10$	$ab/019 \pm 5/42$

داده های نشان داده شده در جدول شامل میانگین هر فراسنجه به همراه خطای استاندارد آن فراسنجه در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

در هر فراسنجه حروف متفاوت نمایانگر معنی داری بین تیمارهاست.

منابع

1. Ganhao, R., Morcuende, D., and Estevez, M. 2010. Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts :Influence on colour and texture deterioration during chill storage. Meat. Sci. 85: 402-409.
2. Govaris, A., Florou-Paneri, P., Botsoglou, E., Giannenas, I., Amverosiadis, I., and Botsoglou, N. 2007. The inhibitory potential of feed supplementation with rosemary and/or tocopheryl acetate on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast during refrigerated storage. LWT. 40: 331-337.

3. Mirshekar, R., Dastar, B. and Shabanpour, B. 2009. Effect of Rosemary, Echinacea, Green Tea Extract and Ascorbic Acid on Broiler meat quality. *J. Biol. Sci.* 12(15): 1069-1074.
4. Selani, M.M., Contreras-Castillo, C.J., Shirahigue, L.D. and Gallo, C.R. 2011. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. *J. Meat. Sci.* 88: 397-403.
5. Sodeifian, G., and Ansari, K. 2011. Optimization of *Ferulago Angulata* Oil Extraction with Supercritical Carbon Dioxide. *J. Supercritical Fluids*.
6. Zhang, W., Xiao, S., Samaraweera, H., Lee, E.J., and Ahn, D.U. 2010. Improving functional value of meat products. *Meat. Sci.* 86:15-31.

Effect of different levels of Chavir (*Ferulago angulata*) on meat quality of broiler meat

M. Danaie¹, Y. Jafari Ahangari², S.R. Hashemi², S. Hasani²

¹M.Sc Animal Physiology student, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

²Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
mahmooddanayi@yahoo.com

Abstract

This experiment was performed to survey the effect of dietary Chavir (*Ferulago angulata*) as a source of natural antioxidant on quality of breast meat and thigh meat in broiler Chickens. The parameters that were investigated including color, water holding capacity, moisture and drip loss. 320 one day old broilers (Ross strain) were randomly divided into 4 groups with 5 replicate. During this experiment broilers received levels of plant including 0, 1.5%, 3% and 300 mg per kg of diet Vitamin E were used for 6 weeks. In 42th day, after slaughter meat samples were frozen for experiments. Meat samples were investigated after one month. The results show that color of thigh sample was not affected significantly by treatments ($p>0.05$) but breast samples were affected considerably so that redness, yellowness and lightness was increased ($p<0.05$). The results also shows that drip loss, moisture contents of breast meat samples and water holding capacity in breast and thigh were not significantly influenced ($p>0.05$). During supplemented treatment with 1.5 % Chavir, Moisture of thigh samples was increased significantly ($p<0.05$).

Keywords: Broiler chicken- *Ferulago angulata*- Meat quality- Vitamin E- Natural antioxidant.

اثر افزودن مایع منی بر اسپرم پوشش دار شده با زرده تخم مرغ قوچ تالشی بعد از ذخیره سازی در ۴ درجه سانتیگراد

علیرضا وافری^{۱*}، محمد روستایی علی مهر^۲، فریدون طالبی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه گیلان، ۲- استادیار گروه علوم دامی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان،

۳- کارشناس ارشد فیزیولوژی دام سازمان جهاد کشاورزی استان گیلان

*نویسنده مسئول: علیرضا وافری، alierzavaferi@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی اثر افزودن مایع منی به اسپرم پوشش دار شده، منی از ۴ راس قوچ نژاد تالشی به وسیله واژن مصنوعی جمع آوری شد. جهت پوشش دار کردن اسپرم، منی در لوله حاوی تریس-فروتوز-۱۵٪ زرده تخم مرغ جمع آوری شد. نمونه ها بعد از ارزیابی اولیه مخلوط و سانتریفیوژ شدند. بعد از حذف مایع فوقانی و رقیق سازی، نمونه ها به ۶ قسمت مساوی تقسیم و به مدت ۷۲ ساعت در ۴°C نگهداری شدند. پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت به منظور حذف زرده تخم مرغ ۳ قسمت از نمونه ها برداشته شد و در مورد هر قسمت یکی از روش های جدا سازی رقیق کننده از اسپرم انجام شد. در روش اول نمونه سانتریفیوژ شده و مایع رویی برداشته شد (GR)، در روش دوم نمونه سانتریفیوژ شده و دوباره با مایع رویی مخلوط شد (CM) و در روش سوم هیچ عملی انجام نشد و نمونه ها در دمای ۴°C نگهداری شدند (NC). نمونه های به دست آمده از هر روش به سه قسمت مساوی تقسیم شد و غلظت های صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد مایع منی به صورت حجم به حجم به آن ها اضافه شد. پس از افزودن مایع منی نمونه ها از نظر تحرک پیش رونده، سلامتی غشا پلاسمایی، درصد زنده مانگی و سلامتی غشا آکروزام بررسی شدند. مدت زمان نگهداری، روش افزودن و مقادیر مایع منی تفاوت معنی دار داشتند ($P < 0.05$). نتایج نشان داد نگهداری اسپرم پوشش دار شده به مدت ۴۸ ساعت مناسب بوده و حذف زرده تخم مرغ از اسپرم پوشش دار شده بعد از ذخیره سازی به کمک عمل سانتریفیوژ مطلوب نیست. برای باروری اسپرم پوشش دار شده استفاده از غلظت صفر یا ۱۰٪ مایع منی مناسب است.

کلیدواژه: اسپرم پوشش دار شده با زرده تخم مرغ- مایع منی

مقدمه

اسپرم بلافاصله پس از انزال قادر به بارور کردن تخمک نیست، این قابلیت در اثر مجاورت با مایع منی و گذراندن دوره زمانی مشخص در دستگاه تولید مثلی جنس ماده، تحت عنوان بلوغ و ظرفیت پذیری، حاصل خواهد شد (۳). مایع منی پستانداران مجموعه ای از مواد مختلف از جمله چندین نوع پروتئین است (۱۰). بعضی از این پروتئین ها به غشا اسپرم متصل و موجب خروج کلسترول و تغییر ساختار آن می شوند (۸). مایع منی برای حفظ قابلیت تحرک اسپرم در گاو (۲)، گوسفند (۵) و بهبود زنده مانگی اسپرم قوچ (۱۱) دارای اهمیت است. برعکس نقش مثبت در باروری، پروتئین های مایع منی می توانند دارای اثرات منفی در زمینه نگهداری اسپرم باشند. مجاورت طولانی مدت اسپرم با پروتئین های مایع منی آثار مخربی بر اسپرم دارد (۹). اجزای پروتئینی کاتیونی محلول در آب موجود در زرده تخم مرغ از طریق اتصال به پروتئین های مایع منی و مهار آن ها، سبب محافظت غشا اسپرم و آکروزام می شوند (۴). به منظور کاهش مجاورت اسپرم با مایع منی، پوشش دار کردن اسپرم با زرده تخم مرغ توصیه شده است (۴). ممکن است اثرات مفید مایع منی توسط زرده تخم مرغ مهار شود، بنابراین مطالعه آثار افزودن مایع منی در وجود و عدم وجود زرده تخم مرغ ضروری به نظر می رسد.

مواد و روشها

نمونه‌های منی از ۴ قوچ نژاد تالشی با میانگین وزنی 50 ± 5 کیلوگرم به صورت ۲ بار در هفته به وسیله واژن مصنوعی استریل متصل به لوله آزمایش حاوی مایع پوشش‌دار کردن که شامل بر تریس- فروکتوز [۳/۲۵۸ گرم تریس- (هیدروکسی متیل)- آمینومتان، ۱/۸۷۰ گرم اسیدسیتریک مونوهیدرات، ۰/۹۳ گرم فروکتوز و ۰/۵ میلی‌لیتر جنتامایسین (۵۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، pH=۷ با ۱۵٪ زرده تخم (حجم/حجم) مرغ بود، انجام شد. در مجموع تعداد ۱۶ انزال در این آزمایش جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در آزمایشگاه پس از ارزیابی اولیه با هم مخلوط شده و از طریق سانتریفیوژ، اسپرم‌ها از مایع پوشش‌دار کننده جدا شده و بر اساس غلظت $10^6 \times 800$ در هر میلی‌لیتر با استفاده از رقیق‌کننده تریس حاوی ۲۰ درصد زرده تخم مرغ رقیق شده و به ۶ قسمت مساوی تقسیم شدند. با استفاده از دستگاه سردکننده طی مدت ۲ ساعت دمای آن‌ها از 37°C به 4°C رسید و در همین دما به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شدند. پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت نگهداری ۳ قسمت از نمونه‌ها برداشته شد و در مورد هر قسمت یکی از روش‌های جدا سازی رقیق‌کننده از اسپرم انجام شد. در روش اول نمونه سانتریفیوژ شده و مایع رویی برداشته شد (CR)، در روش دوم نمونه سانتریفیوژ شده و دوباره با مایع رویی مخلوط شد (CM) و در روش سوم هیچ عملی انجام نشد و نمونه‌ها در دمای 4°C نگهداری شدند (NC). نمونه‌های به دست آمده از هر روش به سه قسمت مساوی تقسیم شد و غلظت‌های صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد مایع منی به صورت حجم به حجم به آن‌ها اضافه شد. پس از افزودن مایع منی نمونه‌ها از نظر تحرک پیش‌رونده، سلامتی غشا پلاسمایی، درصد زنده‌مانی و سلامتی غشا آکروزام مورد بررسی قرار گرفتند. تحرک پیش‌رونده با استفاده از میکروسکوپ فاز متضاد با بزرگ‌نمایی $\times 400$ ، ارزیابی شد. جهت ارزیابی سلامت غشا، نمونه‌ها با محلول هاپیوا-سمتیک مخلوط و داخل آون به مدت ۳۰ دقیقه در دمای 37°C درجه سانتیگراد نگهداری شد. سپس با استفاده از میکروسکوپ فاز متضاد با بزرگ‌نمایی $\times 400$ ، بررسی شدند. زنده‌مانی اسپرم با استفاده از رنگ هوخست بیس بنزآمید ۳۳۲۵۸ بررسی شد. جهت بررسی سلامت غشا آکروزام، از رنگ آلکسافلور ۴۸۸ استفاده شد (۱۲). این آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با آزمون فاکتوریل $3 \times 3 \times 2$ ، (۲ زمان نگهداری، ۳ روش افزودن مایع منی و ۳ سطح مایع منی)، و ۴ تکرار با استفاده از نرم افزار SAS و رویه GLM مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که اثر متقابل مدت زمان نگهداری، روش افزودن مایع منی و سطوح مختلف مایع منی، بر هیچ یک از فراسنجه‌های مورد بررسی، از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0/05$ ، جدول ۱). بین زمان نگهداری ۴۸ و ۷۲ ساعت از نظر درصد‌های تحرک پیش‌رونده، زنده‌مانی و سلامت غشا آکروزام اسپرم تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$ ، جدول ۱) و این مقادیر در زمان نگهداری ۴۸ ساعت بیشتر از زمان نگهداری ۷۲ ساعت بود که با نتایج پژوهش‌های مشابه هم‌خوانی دارد (۴). با افزایش مدت نگهداری به دلیل کاهش مواد اولیه مورد نیاز برای متابولیسم و افزایش ضایعات حاصل از آن در اسپرم نگهداری شده، خصوصیات کیفی اسپرم کاهش می‌یابد (۸). بیشترین تحرک پیش‌رونده اسپرم با استفاده از روش NC به دست آمد ($P < 0/05$ ، جدول ۱) و کمترین میزان سلامت غشا پلاسمایی و زنده‌مانی اسپرم به وسیله روش CR حاصل شد ($P < 0/05$ ، جدول ۱). که با نتایج پژوهش‌های مشابه هم‌خوانی دارد (۱۲) و (۱). انجام سانتریفیوژ که روش بسیار موثری برای جداسازی اسپرم به شمار می‌آید باعث آسیب به میتوکندری و ژنوم تک رشته‌ای موجود در هسته سلول می‌شود که غیرقابل برگشت بوده و بر تحرک و زنده‌مانی اسپرم تاثیر منفی دارد (۶). افزودن ۲۰٪ مایع منی سبب کمترین میزان تحرک پیش‌رونده اسپرم شد ($P < 0/05$ ، جدول ۱) و تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های صفر و ۱۰٪ مایع منی از نظر تحرک پیش‌رونده مشاهده نشد ($P > 0/05$ ، جدول ۱) که با



پژوهش‌های مشابه هم‌خوانی دارد (۷). پروتئین‌های مایع منی موجب خروج فسفاتیدیل کولین و کلسترول از دیواره اسپرم و آسیب دیدن آن می‌شوند و در نتیجه زنده‌مانی و تحرک اسپرم کاهش می‌یابد (۱۲). با خروج کلسترول و تغییر ساختار غشا، واکنش آکروزومی که لازمه شروع ظرفیت‌پذیری است رخ می‌دهد. مایع منی حاوی فاکتورهای ممانعت کننده و تحریک کننده واکنش آکروزومی اسپرم است ولی ظاهراً در شرایط پس از ذخیره سازی اسپرم پوشش‌دار شده با افزودن مایع منی واکنش آکروزومی در آن القا می‌شود (۱۲). با توجه به نتایج این تحقیق نگهداری اسپرم پوشش‌دار شده به مدت ۴۸ ساعت مناسب بوده و حذف زرده از اسپرم پوشش‌دار شده بعد از ذخیره سازی به کمک عمل سانتریفیوژ مطلوب نیست. برای باروری اسپرم پوشش‌دار شده استفاده از غلظت صفر یا ۱۰٪ مایع منی مناسب است.

1) A.J. Edmond, S.P. Brinsko, C.C. Love, T.L. Blanchard, S.R. Teague, D.D. Varner. 2012. Effect of centrifugal fractionation protocols on quality and recovery rate of equine sperm. *Theriogenology*, 77: 959–966.

2) Baas, J.W., P. C. Molan and P. Shannon. 1983. Factors in seminal plasma of bulls that affect the viability and motility of spermatozoa. *Journal of Reproduction and Fertility*, 68: 275–280.

جدول ۱. اثر مدت نگهداری، روش افزودن مایع منی و مقادیر مایع منی بر تحرک پیش رونده، سلامت غشا پلاسمایی، زنده مانی و سلامت غشا آکروزوم (Means $\pm$ S.E)

تحرک پیش رونده (%)	سلامت غشا پلاسمایی (%)	سلامت غشا آکروزوم (%)	سلامت غشا	
مدت نگهداری	h48	$1/531 \pm 24/889^a$	$63/133 \pm 1/124^a$	$78/078 \pm 1/014^a$
	h72	$21/444 \pm 1/279^b$	$61/678 \pm 1/144^a$	$62/411 \pm 1/273^b$
روش افزودن مایع منی	CR	$13/833 \pm 0/826^b$	$57/10 \pm 1/771^b$	$59/283 \pm 1/478^b$
	C	$26/667 \pm 1/675^a$	$63/70 \pm 0/997^a$	$66/816 \pm 1/359^a$
	M			
	NC	$29/0 \pm 1/851^a$	$66/41 \pm 0/991^a$	$69/633 \pm 1/183^a$
مقادیر مایع منی	۰٪	$25/333 \pm 1/937^a$	$66/40 \pm 1/258^a$	$66/283 \pm 1/443^a$
	۱۰٪	$24/333 \pm 1/768^a$	$61/90 \pm 1/337^a$	$65/317 \pm 1/427^a$
	۲۰٪	$19/833 \pm 1/416^b$	$60/917 \pm 1/539^a$	$64/133 \pm 1/498^a$

a-b: حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار است ($P < 0.05$).

منابع

- 3) Barrios, B., R. Pérez, M. Gallego and A. Tato. 2000. Seminal plasma proteins revert the cold-shock damage on ram sperm membrane. *Biology of Reproduction* 63: 1531-1537.
- 4) De Pauw, I. M. C., D. M. Van Soom, S. Verberckmoes and A. de Kruif. 2003. Effect of sperm coating on survival and penetrating ability of in vitro stored bovine spermatozoa. *Theriogenology*, 59: 1109-1122.

- 5) Graham, J. K. 1994. Effect of seminal plasma on the motility of the epididymal and ejaculated spermatozoa of the ram and bull during the cryopreservation process. *Theriogenology*, 41: 1151–1162.
- 6) Harrison, RA., IG. Whaite. 1972. Glycolytic enzymes in the spermatozoa and cytoplasmic droplets of bull, boar and ram, and their leakage after shock. *Journal of Reproduction Fertility*, 30:105-15.
- 7) Kawano, N., M. Shimada, and Terada, T. 2004. Motility and penetration competence of frozen-thawed miniature pig spermatozoa are substantially altered by exposure to seminal plasma before freezing. *Theriogenology*, 61: 351-364.
- 8) Love, C.C and T.L. Blanchard. 2012. Effect of daily semen centrifugation and resuspension on the longevity of equine sperm quality following cooled storage. *Theriogenology*, 77: 1911–1917
- 9) Manjunath, P., V. Nauc, A. Bergeron and M. Menard. 2002. Major proteins of bovine seminal plasma bind to the low-density lipoprotein fraction of hen's egg yolk. *Biology of Reproduction*, 67: 1250-1258.
- 10) Mann, T. and C. Lutwak-Mann. 1981. *Male Reproductive Function and Semen*. Berlin: Springer-Verlag.
- 11) Maxwell, W. M. C., G. R. Welch and L. A. Johnson. 1997. Viability and membrane integrity of spermatozoa after dilution and flow cytometric sorting in the presence or absence of seminal plasma. *Reproduction, Fertility and Development*, 8: 1165–1178.
- 12) Vishwanath, R., P. Shannon., and Curson, B. 1992. Cationic extracts of egg yolk and their effects on motility, survival and fertilizing ability of bull sperm. *Animal Reproduction Science*, 29: 185-194.
- Effect of adding seminal plasma on coated sperm of Taleshi ram with egg yolk after storage at 4°C

Vaferi, A.^{1*}, M. Roostaei Ali Mehr² and F. Talebi³

1- Master of Science Student of Animal Physiology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran 2-Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran 3-Master of Science of Animal Science, Assistant of Animal physiology, Organization of Jihad-e-Keshavarzi, Guilan, Rasht, Iran

* Corresponding E-mail address: alirezavaferi@yahoo.com, alirezavaferi@gmail.com

In order to study the impact of semen addition on coated sperm, the semen were collected from 4 Taleshi rams through artificial vagina. To coat the sperm, semen was collected within the pipe including Tris-fructose-15% egg yolk. The samples were gathered and centrifuged following the first evaluation. Following the mentioned liquid removal, cells reached the final concentration of 800×10^6 through Tris diluents-glucose-20% egg yolk. Samples were divided into 6 equal aliquots; they were cooled to 4°C and then preserved for 72 hours. In order to remove egg yolk 3 sections of samples were detached after 48 and 72 hours and one singular method of sperm dilution was made to perform over each section individually. In the first method, the centrifuged sample and the upper liquid were removed ; in the second method the centrifuged sample was mixed with the upper liquid once again and in the third method no action was taken and sample was kept under 4°C. Samples taken out of each method were divided into three equal sections in to which semen concentration of zero, 10 and 20% was added. Following such addition, samples were studied thoroughly from progressive motility, membrane integrity, and survival percentage



and acrosome integrity points of view. Preservation period, semen addition method and also the amount added time to time indicate P value for comparisons. The results showed that coated sperm preservation would be appropriate for 48 hours while egg yolk removal off the coated sperm following saving process would not help the centrifuge act. In order to keep optimum fertility of coated sperm, utilizing zero or 10% concentration of semen would be appropriate.

Keywords: coated sperm-seminal plasma

بررسی اثر اکسی توسین بر تراوشات واژنی میش های نژاد زندگی نقش آن در تسهیل تلقیح مصنوعی

رضا مسعودی^{۱*}، حمید کهرام^۲، احمد زارع شحنه^۳

۱و۲ به ترتیب دانشجوی دکتری تخصصی، استادیار و استاد گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

Rezamasoudi@ut.ac.ir

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی اثر تزریق درون عضلانی و درون وریدی دوزهای مختلف اکسی توسین بر ترشحات واژنی میش های نژاد زندگی در انتهای فصل تولید مثلی بود. در این مطالعه ۶۳ میش سه تا چهار ساله با وزن ۵۰ تا ۵۵ کیلوگرم از نژاد زندگی به طور تصادفی انتخاب و به هفت گروه مساوی تقسیم شدند. گروه اول به عنوان گروه شاهد انتخاب شد و هورمونی دریافت نکرد. شش گروه باقیمانده به دو دسته تزریق درون عضلانی و درون وریدی تقسیم شدند و در هر دسته میش ها در سه سطح ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ واحد، هورمون اکسی توسین را دریافت کردند. قبل از تزریق هورمون و ۱۰ تا ۱۵ دقیقه پس از تزریق، میزان تراوشات واژنی اندازه گیری شد. نتیجه این که تزریق عضلانی و وریدی اکسی توسین با دوز بیشتر از ۶۰ واحد باعث افزایش تراوشات واژنی در میش های نژاد زندگی می شود. این افزایش تراوشات به دلیل افزایش لغزندگی سرویکس و واژن، امکان تلقیح مصنوعی درون رحمی از طریق سرویکس را در میش آسان تر می کند.

کلمات کلیدی: اکسی توسین - میش زندگی - سرویکس - مایعات واژنی

مقدمه

ساختار آناتومیک سرویکس در گوسفند دارای خاصیتی منحصر به فرد است که معمولاً از تلقیح مصنوعی و انتقال رویان از طریق سرویکس جلوگیری می کند. سرویکس میش نسبتاً دراز می باشد و از لوله ای فیبری از بافت پیوندی تشکیل شده است. طول سرویکس تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند نژاد، تعداد زایش، سن و شرایط فیزیولوژی قرار دارد. با افزایش سن و تعداد زایش طول و قطر سرویکس افزایش می یابد. میانگین طول کانال سرویکس ۶/۵ تا ۶/۷ سانتی متر می باشد (۵، ۸). اگرچه طول سرویکس در دامنه ۵/۵ تا ۱۰ سانتی متر است که نشان دهنده وجود تفاوت بالای میان افراد است (۶). بخش داخلی سرویکس دارای ۴ تا ۷ حلقه است که به عنوان سدی در برابر ورود عوامل خارجی عمل می کند (۳). معمولاً حلقه دوم و سوم برخلاف مسیر حلقه اول است. مجرا در سه حلقه اول سطوح باریکی دارد و پیپت تلقیح مصنوعی به ندرت بیش از یک سانتی متر نفوذ می کند (۴). بر طبق مطالعات بافت شناسی سرویکس، حلقه های داخلی سرویکس مهمترین مانع در برابر ورود پیپت تلقیح مصنوعی می باشند (۶). به ورود پیپت به حلقه دوم و سوم سرویکس نفوذ می گویند. میانگین نفوذ از گل دهانه سرویکس تا حلقه دوم در بره ها حدود ۲۶ میلی متر و در میش های بالغ ۴۳ میلی متر می باشد (۹). تلقیح مصنوعی در گوسفند به طور معمول با اسپرم تازه و از طریق سرویکس انجام می شود. درصد باروری در این روش حدود ۴۰ تا ۶۰ درصد است (۱، ۲). تلقیح مصنوعی با اسپرم تازه با محدودیت هایی از قبیل کمبود قوچ با ویژگی های خاص در گله، گرفتن همزمان اسپرم و تلقیح در گله، عدم امکان استفاده مفید از

قوچ‌های برتر در سطح وسیع‌تر و محدودیت در حمل و نقل اسپرم مواجه است. تلقیح مصنوعی با اسپرم منجمد عاملی برای به حداکثر رساندن استفاده از قوچ‌های برتر و کنترل بیماری‌های مسری میان گله‌ها می‌باشد. درصد باروری اسپرم منجمد از طریق سرویکس بسیار پایین است، بنابراین نیاز است که درصد باروری و درصد بزه‌زایی در تلقیح مصنوعی گوسفند افزایش یابد (۷). امروزه تلقیح مصنوعی با اسپرم منجمد به روش لاپاراسکوپ با باروری حدود ۵۰ تا ۸۰ درصد در برخی از کشورها شیوه‌ای تجاری برای تلقیح درون‌رحمی در میش است (۱)، اگرچه اجرای لاپاراسکوپ به علت کمبود مهارت و جنبه‌های اقتصادی در صنعت گوسفند دارای محدودیت‌های جدی است. سوپراوولاسیون و جمع‌آوری رویان گوسفند نیز معمولاً با روش لاپاراتومی انجام می‌شود که ممکن است منجر به چسبندگی رحم شود. اگر بتوان سرویکس میش را قبل از تلقیح مصنوعی و یا جمع‌آوری جنین با روش‌های مختلف باز نمود، تلقیح درون‌رحمی با اسپرم منجمد و نیز جمع‌آوری رویان بدون نیاز به لاپاراسکوپ و یا لاپاراتومی انجام می‌شود. هدف از این تحقیق بررسی اثر تزریق درون‌عضلانی و درون‌وریدی اکسی‌توسین بر میزان تراوشات واژنی میش‌های نژاد زندی در انتهای فصل تولید مثلی می‌باشد. با افزایش تراوشات واژنی سرویکس لغزنده شده و گان تلقیح مصنوعی با سهولت وارد سرویکس می‌گردد.

مواد و روش‌ها

۶۳ راس میش سه تا چهار ساله از نژاد زندی با وزن ۵۰ تا ۵۵ کیلوگرم به طور تصادفی از یک گله ۶۰۰ راسی انتخاب شدند. میش‌ها برای ۱۴ روز سیدرگذاری (EAZI-BREED™, CIDR®, progesterone) شده و ۴۸ ساعت بعد از خارج کردن سیدر از واژن به هفت گروه نه‌تایی تقسیم شدند. گروه اول به عنوان گروه شاهد انتخاب شد و به آن‌ها فقط سالین تزریق شد. به ترتیب به میش‌های گروه دوم، سوم و چهارم ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین (داروسازی ابوریحان، ۱۰ واحد اکسی‌توسین در هر میلی‌لیتر) به عضله ران تزریق شد. به میش‌های گروه پنجم، ششم و هفتم ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین به سیاهرگ گردنی تزریق شد. پس از تزریق اکسی‌توسین و در هنگام نفوذ پیت تلقیح مصنوعی به سرویکس، میش‌های نژاد زندی بر اساس میزان تراوشات واژنی به سه دسته بین ۰ تا ۱/۵، ۳ تا ۴ و ۵ تا ۸ میلی‌لیتر به ترتیب به عنوان تراوشات کم، متوسط و زیاد تقسیم شدند. برای تجزیه داده‌ها از رویه GLM نرم افزار SAS 9.1 در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تراوشات واژنی در گوسفندان نژاد زندی در جدول ۱ گزارش شده است. در گروه شاهد که هورمون اکسی‌توسین را دریافت نکرده بودند در هفت راس از میش‌ها مقدار تراوشات واژنی کم و در دو میش مقدار تراوشات واژنی متوسط بود. در گروهی که ۶۰ واحد اکسی‌توسین را به صورت درون‌وریدی دریافت کرده بودند، در دو میش مقدار تراوشات واژنی کم، در چهار میش متوسط و در سه میش زیاد بود. در گروهی که ۶۰ واحد اکسی‌توسین را به صورت درون‌عضلانی دریافت کرده بودند، مقدار تراوشات واژنی در شش میش کم و در سه میش متوسط بود. در گروهی که ۸۰ واحد اکسی‌توسین را به صورت درون‌وریدی دریافت کرده بودند، مقدار تراوشات واژنی در شش میش متوسط و در سه میش زیاد بود. در گروهی که ۸۰ واحد اکسی‌توسین را به صورت درون‌عضلانی دریافت کرده بودند، مقدار تراوشات واژنی در یک میش کم، در شش میش متوسط و در دو میش زیاد بود. در گروهی که ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین را به صورت درون‌وریدی دریافت کرده بودند، مقدار تراوشات واژنی در سه میش متوسط و در شش میش زیاد بود. در گروهی که ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین را به صورت درون‌عضلانی دریافت کرده بودند، مقدار تراوشات واژنی در پنج میش متوسط و در چهار میش زیاد بود.



جدول ۳. میانگین تراوشات واژنی و اثر دوزهای مختلف اکسی توسین بر تراوشات واژنی در نژاد زندی

شاهد	۶۰ واحد			۸۰ واحد		۱۰۰ واحد	
	عضلانی		وریدی	عضلانی		وریدی	عضلانی
میانگین تراوشات (میلی لیتر)	$b_{0.88 \pm 1.85}$	$a_{0.88 \pm 6.00}$	$b_{0.88 \pm 2.22}$	$a_{0.88 \pm 6.94}$	$a_{0.88 \pm 6.08}$	0.88 ± 8.72 $a_{0.}$	7.44 ± 0.88 $a_{0.}$
کم	$77/77$ (۷/۹)	$22/22$ (۲/۹)	$66/66$ (۶/۹)	0 (۰/۹)	$11/11$ (۱/۹)	0 (۰/۹)	0 (۰/۹)
متوسط	$22/22$ (۲/۹)	$44/44$ (۴/۹)	$33/33$ (۳/۹)	$66/66$ (۶/۹)	$66/66$ (۶/۹)	$33/33$ (۳/۹)	$55/55$ (۵/۹)
زیاد	0 (۰/۹)	$33/33$ (۳/۹)	0 (۰/۹)	$33/33$ (۳/۹)	$22/22$ (۲/۹)	$66/66$ (۶/۹)	$44/44$ (۴/۹)

عدد داخل پرانتز نشان دهنده تعداد میش نسبت به کل میش ها در هر گروه می باشد. ^{a,b} نشان دهنده اختلاف معنی دار میان تیمارها است ($P < 0.05$)

سرویکس به عنوان مانعی در مقابل عبور تفنگ تلقیح مصنوعی و جمع آوری رویان عمل می کند و این خاصیت منجر به کاهش درصد آبستنی حاصل از تلقیح مصنوعی به روش واژینال و ترانس سرویکال می شود. از دلایل پایین بودن باروری تلقیح مصنوعی با اسپرم منجمد در روش های سرویکال و واژینال نسبت به لاپاراسکوپ در اثر ساختار سرویکس و ممانعت سرویکس گوسفند از رسیدن اسپرم کافی به محل لقاح می باشد. نتایج همچنین نشان داده که اکسی توسین علاوه بر اتساع سرویکس سبب افزایش تراوشات واژنی نیز می شود و با افزایش تراوشات واژنی کانال سرویکس و واژن بیشتر لغزنده می شود و این لغزندگی سبب می شود نفوذ پیپت تلقیح مصنوعی و سوند جمع آوری رویان آسان تر شود.

نتیجه گیری کلی

در نتیجه تزریق درون عضلانی و درون وریدی اکسی توسین با دوز ۸۰ واحد و بالاتر باعث افزایش تراوشات واژنی در میش های زندی می شود. این افزایش تراوشات به دلیل افزایش لغزندگی سرویکس و واژن، امکان تلقیح مصنوعی درون رحمی از طریق سرویکس را در میش آسان تر می کند.

منابع

1. Anel L, Kaabi M, Abroug B, Alvarez M, Anel E, Boixo JC, Fuente LFdl, Paz Pd. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. *Theriogenology* 2005; 63: 1235-1247.
2. Fair S, Hanrahan JP, O'Meara CM, Duffy P, Rizos D, Wade M, Donovan A, Boland MP, Lonergan P, Evans ACO. Differences between Belclare and Suffolk ewes in fertilization rate, embryo quality and accessory sperm number after cervical or laparoscopic artificial insemination. *Theriogenology* 2005; 63: 1995-2005.
3. Fukui Y, Roberts EM. Further studies on non-surgical intrauterine technique for artificial insemination in the ewe. *Theriogenology* 1978; 10: 381-393.
4. Halbert GW, Dobson H, Walton JS, Buckrell BC. The structure of the cervical canal of the ewe. *Theriogenology* 1990; 33: 977-992.
5. Halbert GW, Dobson H, Walton JS, Buckrell BC. A technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. *Theriogenology* 1990; 33: 993-1010.
6. Kershaw CM, Khalid M, McGowan MR, Ingram K, Leethongdee S, Wax G, Scaramuzzi RJ. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology* 2005; 64: 1225-1235.
7. Khalifa RM, Sayre BL, Lewis GS. Exogenous oxytocin dilates the cervix in ewes. *J Anim Sci* 1992; 70: 38-42.
8. Maxwell WMC. Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronized oestrus. 1. Effect of time of onset of oestrus, ovulation and insemination on fertility. *Animal Reproduction Science* 1986; 10: 301-308.
9. More J. Anatomy and histology of the cervix uteri of the ewe :new insights. *Acta Anat (Basel)* 1984; 120: 156-159.

Effects of oxytocin on secretion of vaginal fluids of Zandi ewes and its role on simplification of vaginal artificial insemination

Reza Masoudi*, Hamid Kohram, Ahmad Zare Shahne

Department of Animal Science, University Collage of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Rezamasoudi@ut.ac.ir

Abstract

The aim of this study was to examine the effect of intravenous (iv) or intramuscular (im) injection of different doses of oxytocin (OT) on secretion of vaginal fluids of Zandi ewes. Sixty three Zandi ewes, three to four years old, with 50 – 55 kg weights were randomly selected and divided equally into 7 groups. The first group was as control and received no hormone injection. Six other groups divided into two groups with iv or im injection and received 60, 80 or 100 IU of OT. Cervix dilation before OT injection and 10 to 15 minutes following the vaginal fluid were. In conclusion im or iv injection of OT with more than 60 IU doses could increase secretion of vaginal fluids of Zandi ewes. This increasing of vaginal fluid could simplify artificial insemination via lubricating of the cervical canal and vagina.

Keywords: Oxytocin - Zandi ewe – Cervix - Vaginal fluid.

بررسی اثر زرده تخم مرغ و شوک سرما، بر ذخیره سازی اسپرم پوشش دار شده در قوچ تالشی

آزاده محمدی^۱، محمدروستایی علی مهر^۲، مختار مهدی زاده اسطلخکوهی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، ۲- استادیار گروه علوم دامی دانشکده علوم

کشاورزی دانشگاه گیلان، ۳- کارشناس ارشد مدیریت امور دام سازمان جهاد کشاورزی استان گیلان

* نویسنده مسئول: آزاده محمدی، کیلومتر ۵ جاده رشت تهران، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان،

Azadeh_ms48@yahoo.com

چکیده

در این پژوهش، جهت بررسی اثر زرده تخم مرغ و شوک سرما، بر اسپرم پوشش دار شده، نمونه‌های منی از سه راس قوچ، با استفاده از واژن مصنوعی استریل، جمع آوری شد. جهت پوشش دار کردن اسپرم، نمونه‌ها در لوله حاوی تریس- فروکتوز ۱۵٪ زرده تخم مرغ، جمع آوری شد. پس از جمع آوری، نمونه‌ها تجمیع، سانتریفوژ و مایع رویی حذف شد. سپس با تریس رقیق و جهت حذف کامل مایع منی و زرده تخم مرغ، سانتریفوژ دوم انجام شد. نمونه‌ها به دو قسمت و هر قسمت به پنج بخش تقسیم و به آنها صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰٪ زرده تخم مرغ اضافه شد. دمای نیمی از تیمارها، به صورت تدریجی (۰،۲۵ °C/min)، طی دو ساعت و دمای نیم دیگر تیمارها، به صورت ناگهانی در خلال ۱۵ دقیقه، در مجاورت آب و یخ ۵°C، به ۵°C رسانده شد. پس از ۲۴ ساعت، تحرک پیش رونده، سلامت غشاپلاسمایی، زنده‌مانی (هوخست بیس‌بنزامید ۳۳۲۵۸) و سلامت غشاآکروزوم (آکسافلور ۴۸۸) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی نشان داد، اثر متقابل سطوح مختلف زرده تخم مرغ و روش سرد کردن بر هیچ یک از فراسنجه‌های مورد بررسی معنی دار نبود ($P > 0.05$). بیشترین تحرک پیش رونده در سطوح ۱۵ و ۲۰٪ زرده تخم مرغ مشاهده شد ($P < 0.05$). شوک سرما به صورت معنی داری، تحرک پیش رونده، سلامت غشا، زنده‌مانی و سلامت غشاآکروزومی اسپرم را، کاهش داد ($P < 0.05$). با توجه به نتایج حاصل از بررسی، میزان ۱۵٪ زرده تخم مرغ، جهت ذخیره سازی اسپرم پوشش دار شده، در شرایط سرد شدن تدریجی کافی است.

واژگان کلیدی: زرده تخم مرغ- شوک سرما- قوچ- اسپرم

مقدمه

مایع منی مخلوطی از ترشحات بیضه، اپیدیدیم و غدد ضمیمه است و به انتقال اسپرم به دستگاه تناسلی ماده کمک می‌کند. مایع منی حاوی ترکیبات بیوشیمیایی مختلف است. مشخص شده است، دسته‌ای از پروتئین‌های مایع منی گاو سبب بهبود تحرک و زنده‌مانی اسپرم می‌شود (۱). در مقابل گروهی از پروتئین‌ها با اتصال به غشا پلاسمایی، ذخیره سازی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این پروتئین‌ها به فسفولیپید کولین‌های غشا پلاسمایی اسپرم متصل شده، خروج کلسترول و فسفولیپید را از غشا تحریک می‌کنند. خروج کلسترول از غشا، منجر به افزایش حساسیت اسپرم به شوک سرما می‌شود. تحریک خروج کلسترول از غشا اسپرم، به وسیله پروتئین‌های مایع منی (BSP)، به مدت زمان مجاورت و غلظت آن‌ها بستگی دارد (۶). این پروتئین‌ها در مایع منی قوچ RSP نامیده می‌شوند. پوشش دار کردن اسپرم انزالی، با رقیق کننده حاوی زرده تخم مرغ، روش مناسبی جهت کاهش خسارت- های ناشی از مایع منی است (۳). در این روش، مدت زمان مواجهه اسپرم و مایع منی، از طریق جمع آوری اسپرم در لوله حاوی رقیق کننده تریس - زرده تخم مرغ، به حداقل می‌رسد. براین اساس، پس از حذف مایع منی و جلوگیری از خروج کلسترول و فسفولیپید، باید مقاومت اسپرم انزالی در برابر خسارت های ناشی از ذخیره سازی و شوک سرما افزایش یافته و نیاز به استفاده از

زرده تخم مرغ در خلال ذخیره سازی کاهش یابد. هدف از این بررسی، تعیین بهترین مقدار زرده تخم مرغ، در نگهداری اسپرم پوشش دار شده قوچ در 5°C است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان با استفاده از سه راس قوچ نژاد تالشی، با میانگین وزنی 40 کیلوگرم انجام شد. نمونه‌های منی، دو بار در هفته، به فاصله دو روز، به کمک واژن مصنوعی استریل، جمع آوری شد. جهت پوشش دار کردن اسپرم، انزال دوم در لوله حاوی تریس- فروکتوز $[3/258]$ گرم تریس- (هیدروکسی متیل)- آمینومتان، $1/870$ گرم اسیدسیتریک مونوهیدرات، $0/93$ گرم فروکتوز و $0/5$ میلی‌لیتر جنتامایسین (50 میلی‌گرم/میلی‌لیتر) در 100 میلی‌لیتر آب مقطر، $\text{pH}=7$ با 15% زرده تخم مرغ (حجم/حجم) جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه پس از انجام بررسی‌های اولیه، جهت حذف اثر قوچ، نمونه‌ها تجمیع شد. سپس با قدرت $700 \times g$ و به مدت 10 دقیقه سانتریفوژ شد. بعد از سانتریفوژ مایع رویی حذف شد و جهت حذف کامل مایع منی و زرده تخم مرغ، یک میلی‌لیتر رقیق کننده تریس- گلوکز $[3/634]$ گرم تریس- (هیدروکسی متیل)- آمینومتان، $1/996$ گرم اسیدسیتریک مونوهیدرات و $0/5$ میلی‌لیتر از جنتامایسین (50 میلی‌گرم/میلی‌لیتر) در 100 میلی‌لیتر آب مقطر، $\text{pH}=7$ به رسوب اضافه و به آرامی مخلوط شد و سانتریفوژ دوم با همان شرایط انجام و مایع رویی حذف شد. سپس نمونه‌ها با استفاده از رقیق کننده تریس تا حجم 3 میلی‌لیتر رقیق شده، به دو قسمت و هر قسمت به پنج بخش مساوی تقسیم، و با استفاده از رقیق کننده تریس- گلوکز حاوی صفر، 10 ، 20 ، 30 و 40 درصد زرده تخم مرغ به صورت $1:1$ (حجم/حجم) رقیق شد تا غلظت نهایی سلول به 500×10^6 در هر میلی‌لیتر و زرده تخم مرغ صفر، 5 ، 10 ، 15 و 20 درصد رسید. سپس دمای نیمی از تیمارها، به صورت ناگهانی به وسیله آب و یخ 5°C (اعمال شوک سرما) و دمای نیم دیگر به صورت تدریجی ($0/25^{\circ}\text{C}/\text{min}$) و به کمک دستگاه سرد کننده، به 5°C رسانده شد. پس از 24 ساعت، تحرک پیش رونده، سلامت غشاپلاسمایی، زنده مانی و سلامت غشا آکروزوم بررسی شد. جهت بررسی تحرک از میکروسکوپ فاز متضاد با بزرگ نمایی $400\times$ ، استفاده شد. جهت ارزیابی سلامت غشا پلاسمایی با استفاده از تست تورم هاپیو اسموتیک و میکروسکوپ فاز متضاد با بزرگ نمایی $400\times$ ، 100 عدد اسپرم در 5 میدان دید بررسی شد. اسپرم‌های دارای دم متورم به عنوان پاسخ مثبت (غشای پلاسمایی سالم) و اسپرم‌های دارای دم صاف به عنوان پاسخ منفی (غشای پلاسمایی آسیب دیده) در نظر گرفته شدند (5). جهت ارزیابی زنده مانی اسپرم با استفاده از رنگ هوخست بیس بنزامید 33258 و میکروسکوپ فلورسنت با فیلتر WU، بزرگنمایی $400\times$ ، 100 عدد اسپرم در 5 میدان دید بررسی شد. اسپرم‌های با تالو آب‌ی رنگ به عنوان پاسخ منفی (مرده) و اسپرم‌های بدون رنگ به عنوان پاسخ مثبت (زنده) در نظر گرفته شدند (2). جهت بررسی سلامت غشا آکروزوم، با استفاده از رنگ آلکسافلور 488 و میکروسکوپ فلورسنت با فیلتر WB، بزرگنمایی $400\times$ ، تعداد 100 عدد اسپرم در 5 میدان دید بررسی شد. آکروزوم‌های با رنگ یکدست و شفاف به عنوان پاسخ مثبت (سالم) و آکروزوم‌های با رنگ پراکنده، کدر و با حاشیه نامشخص به عنوان پاسخ منفی (آسیب دیده) در نظر گرفته شدند (7). به منظور تعیین اثرات مقادیر مختلف زرده تخم مرغ، و روش سرد کردن و اثرات متقابل آن‌ها بر تحرک پیش رونده، سلامت غشا پلاسمایی، زنده‌مانی و واکنش آکروزومی اسپرم پوشش دار شده، از آزمایش فاکتوریل (2×5) در قالب طرح کاملاً تصادفی با 10 تیمار و 5 تکرار استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشی با استفاده از رویه Mixed برنامه SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت و تفاوت‌ها در سطح $P < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد، اثر متقابل سطوح مختلف زرده تخم مرغ و روش سرد کردن، برهیچ یک از فراسنجه‌های مورد بررسی، از نظر آماری معنی دار نبود ($P>0.05$). باتوجه به نتایج حاصل از بررسی تحرک پیش رونده، سلامت غشا پلاسمایی، زنده‌مانی و سلامت غشا آکروزوم در تیمار حاوی صفر زرده تخم مرغ (به ترتیب، ۳۱/۷۵، ۵۳/۷۰، ۶۲/۲۳، ۶۰/۹۷٪) به صورت معنی داری کمتر از سایر تیمارها بود ($P<0.05$) (جدول ۱). در مقابل، بیشترین تحرک پیش رونده در سطوح ۱۵ و ۲۰٪ زرده تخم مرغ ($P<0.05$) و بیشترین سلامت غشا آکروزوم نیز در سطوح ۱۰، ۱۵ و ۲۰٪ زرده تخم مرغ ($P<0.05$) مشاهده شد. نتایج حاصل از بررسی همچنین نشان داد، تحرک پیش رونده، سلامت غشا، زنده‌مانی و سلامت غشا آکروزوم، تحت تاثیر شوک سرما، به شدت کاهش یافت ($P<0.05$) (جدول ۲). به نظر می‌رسد غلظت ۱۵٪ زرده تخم مرغ، جهت ذخیره سازی اسپرم پوشش دار شده در دمای 5°C مناسب باشد. اگرچه، غلظت ۱۵ و ۲۰٪ زرده نتوانست مانع از بروز آسیب‌های ناشی از شوک سرما شود. نتایج حاصل از بررسی حاضر، با نتایج بررسی‌های مشابه مطابقت داشت (۴). مشخص شده است، افزایش سرعت سرد کردن با افزایش سرعت برداشت کلسیم همراه است، که ناشی از آسیب‌های بزرگتری است که به غشای پلاسمایی وارد شده است (۹). افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی منجر به بروز نابهنگام ظرفیت پذیری و واکنش آکروزومی و در موارد شدید، مرگ سلول خواهد شد (۸). بنابراین نتایج حاصل از این بررسی نشان داد، با وجود کاهش اثرات مضر پروتئین‌های مایع منی و پایدار کردن غشا از طریق کاهش خروج کلاسترول، استفاده از ۱۵٪ زرده تخم مرغ در خلال ذخیره سازی ضروری است. همچنین، به منظور حفظ ویژگی‌های عملکردی اسپرم، توجه به روش و سرعت کاهش دما، الزامی است.

جدول ۱. اثر سطوح مختلف زرده بر تحرک پیش رونده، سلامت غشا پلاسمایی، زنده‌مانی و سلامت غشا آکروزوم ($\text{Means} \pm \text{S.E}$)

سطوح مختلف زرده تخم مرغ	تحرک پیش‌رونده	سلامت غشای پلاسمایی	زنده‌مانی	سلامت غشا آکروزوم
۰	31.75 ± 3.65^d	53.70 ± 3.32^d	62.23 ± 2.64^d	60.97 ± 1.44^c
۵	42.25 ± 3.45^c	61.85 ± 2.88^b	70.65 ± 2.31^a	69.30 ± 1.83^b
۱۰	48.25 ± 3.45^b	64.80 ± 2.42^{ab}	71.45 ± 2.26^a	73.13 ± 1.64^a
۱۵	57.75 ± 3.43^a	65.82 ± 3.02^{ab}	72.20 ± 2.07^a	72.80 ± 1.02^a
۲۰	59.75 ± 3.09^a	67.17 ± 2.32^a	72.45 ± 1.74^a	73.10 ± 1.49^a

^{a-c} حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار است ($P<0.05$).

جدول ۲. اثر شرایط نگهداری بر تحرک پیش رونده، سلامت غشا پلاسمایی، زنده‌مانی و سلامت غشا آکروزوم ($\text{Means} \pm \text{S.E}$)

روش سرد کردن	تحرک پیش‌رونده	سلامت غشای پلاسمایی	زنده‌مانی	سلامت غشا آکروزوم
سرد کردن تدریجی	60.80 ± 2.11^a	74.30 ± 1.88^a	78.05 ± 1.22^a	74.59 ± 0.94^a
سرد کردن ناگهانی	39.90 ± 1.84^b	51.04 ± 1.61^b	61.54 ± 1.15^b	65.13 ± 1.05^b

^{a-c} حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار است ($P<0.05$).

منابع

- 1) Bergeron, A., P. Manjunath. 2006. New insights towards understanding the mechanisms of sperm protection by egg yolk and milk. *Molecular Reproduction Development*. 73: 1338-1344.
- 2) De Leeuw, A.M., G. H. E. Den Daas., H. Woelders. 1991. The fix vital stain method simultaneous determination of viability and acrosomal and status of bovine spermatozoa. *Journal of Andrology*. 12: 112-118
- 3) De pauw, I. M. C., A. Van soom., D. Maes., S. Verberckmoes., A. De Kruif. 2003. Effect of sperm coating on the survival and penetrating ability of invitro stored bovine spermatozoa. *Theriogenology*. 59: 1109- 1122
- 4) Fiser, P. S., R. W. Fairfull. 1986. The Effects of rapid cooling (Cold Shock) of ram semen, photoperiod, and egg yolk in diluents on the survival of spermatozoa before and after freezing. *Cryobiology*. 23: 518-524
- 5) Jeyendran, R.S., H. H. Van-der-Ven., L. J. Zaneveld. 1992. The hypoosmotic swelling test: an update. *Archives of Andrology*, 29: 105- 116.
- 6) Manjunath, P., I. The'rien. 2002. Role of seminal plasma phospholipid binding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation. *J Reprod Immunol* 53:109-119.
- 7) Varisly, O., C. Uguz., C. Agca., Y. Agca. 2009. Motility and acrosomal integrity comparision between electro- ejaculated and epididimal ram sperm after exposure to a range of anisosmotic solutions, cryoprotective agents and low temperatures. *Animal Reproduction science*. 110:256-268
- 8) Watson, P. F. 2000. The cuases of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science*. 60: 481- 492
- 9) White, I. J. 1993. Lipids and Calcium Uptake of Sperm in Relation to Cold Shock and Preservation : a Review. *Reproduction Fertility Development*. 5:639-658

Effect of egg yolk and cold shock on storage coated spermatozoa in Tleshi ram

Mohamadei, A¹., M. Roostaei Ali Mehr ² and M. Mehdizade

Estalkh-Koohi³

1- Master of Science Student of Animal Physiology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran 2-Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran, 3-Master of Science of Animal Science, Assistant of Animal Production Department, Organization of Jihade Keshavarzi, Guilan, Rasht, Iran

Azadeh mohamadi. Azadeh_ms48@yahoo.com

Abstract

In this study, to evaluate the effect of egg yolk and cold shock on coated spermatozoa semen was collected by artificial vagina from three ram. Coated spermatozoa were prepared by collecting semen into tube containing Tris- fructose-egg yolk 15%. After collecting, samples were pooled, centrifuged and removed supernatant. After that samples were diluted by Tris and centrifuged to remove seminal plasma and egg yolk. Aliquots split into two fractions and each one was split into 5 parts and added egg yolk 0, 5, 10, 15 and 20%. The half of the treatments were gradually cold until 5 °C (0.25 °C/min) and other ones were encountered with cold shock by putting on the ice water for 15 min. Progressive sperm motility, plasma membrane integrity, viability (by



Hoechst 33258 fluorescent staining) and acrosome reaction(PNA-Alexa fluor-488) were investigated after 24 hours. The results showed that there was no interaction between egg yolk and cooling for progressive motility, plasma membrane integrity, viability and acrosom reaction ($P>0.05$). The most progressive motility was observed at 15 and 20% egg yolk concatenation ($P<0.05$). Cold shock decreased progressive sperm motility, membrane integrity, viability and acrosom integrity ($P<0.05$). In conclusion, 15% egg yolk under gradual cooling superior for storage of ram coated spermatozoa.

Key words: Egg yolk- Cold shock- Taleshi ram- Sperm

اثر شیر پس چرخ، سدیم سیترات، شیر و تریس بر استخراج و ذخیره سازی اسپرم اپیدیدی قوچ در ۵ درجه سانتیگراد
محمد عطائی^{۱*}، محمد روستائی علی مهر^۲

دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم دامی دانشگاه گیلان، ۲. استادیار گروه علوم دامی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان

*نویسنده مسئول: محمد عطائی، (atayimohammad@gmail.com)

چکیده

هدف این مطالعه مقایسه رقیق کننده های شیر پس چرخ، سدیم سیترات، شیر و تریس بر اسپرم اپیدیدی قوچ در دمای ۵ سانتیگراد بود. تعداد چهار جفت بیضه از کشتارگاه تهیه شد. برای استخراج اسپرم، ناحیه دم اپیدیدیم از بافت بیضه جدا و به چهار قسمت مساوی تقسیم شد. هر قسمت به صورت جداگانه در رقیق کننده های شیر پس چرخ، سدیم سیترات، شیر و تریس قرار داده شد. اسپرم های اپیدیدی بدست آمده با رقیق کننده های مشابه با محلول استخراج اسپرم از دم اپیدیدیم، تا غلظت $10^8 \times$ سلول در هر میلی لیتر در دمای محیط رقیق شدند. سپس نمونه ها بتدریج تا دمای ۵ درجه سانتیگراد سرد، و به مدت ۱۰ روز ذخیره شد. تحرک، زنده ماندن و سلامت غشاء پلاسمایی اسپرم روزانه سنجش شد. نتایج نشان داد که بالاترین درصد تحرک مربوط به رقیق کننده شیر پس چرخ با میانگین $17/36$ درصد بود ($P < 0/05$). بالاترین درصد زنده ماندن ($37/80$) و سلامت غشاء ($37/57$) مربوط به رقیق کننده شیر پس چرخ بود ($P < 0/05$). این مطالعه نشان داد که رقیق کننده شیر پس چرخ برای استخراج و ذخیره سازی اسپرم اپیدیدی قوچ در دمای ۵ درجه سانتیگراد مفید است.

واژگان کلیدی: ذخیره سازی - رقیق کننده - اسپرم اپیدیدی - قوچ

مقدمه

علاوه بر کیفیت منی، مهم ترین عامل اثرگذار بر بقای اسپرم نوع رقیق کننده ای است که برای رقیق کردن اسپرم استفاده می شود. رقیق کننده ها علاوه بر تأمین انرژی و pH مناسب باعث حفظ اسپرم در برابر شوک های ناشی از سرد کردن می شوند. رقیق کننده های زیادی برای ذخیره سازی اسپرم قوچ استفاده می شوند که از بین این رقیق کننده ها شیر و تریس بیشتر مورد استفاده قرار می گیرند (۶). شیر محیط مناسبی برای ذخیره سازی اسپرم قوچ است و باعث حفظ pH منی می شود. قبل از رقیق کردن اسپرم با شیر باید به مدت ۸ تا ۱۰ دقیقه در درجه حرارت ۹۲ تا ۹۵ درجه سانتیگراد گرما داده شود تا لاکتین آن که برای اسپرم مضر است غیر فعال شود (۲). مطالعات نشان داده که شیر پس چرخ اثرات مضر شیر معمولی را نداشته و برای ذخیره سازی اسپرم قوچ در دمای ۵ درجه سانتیگراد مناسب است (۷). مطالعات نشان داده که بافر تریس نسبت به سایر بافرها محیط مناسب تری برای ذخیره سازی اسپرم قوچ است. بافر تریس باعث حفظ تحرک و بهبود زنده ماندن در مدت ذخیره سازی اسپرم می شود (۷). هدف این مطالعه، مقایسه رقیق کننده های شیر پس چرخ، سدیم سیترات، شیر گاو و تریس بر استخراج و ذخیره سازی اسپرم اپیدیدی در دمای ۵ درجه سانتیگراد بود.

مواد و روش ها

این تحقیق در دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. تعداد چهار جفت بیضه از کشتارگاه تهیه و توسط بافر فیزیولوژیک ($NaCl 0/85$) با دمای ۳۵ درجه سانتیگراد به آزمایشگاه منتقل شد. برای استخراج اسپرم، ناحیه دم اپیدیدیم از بافت بیضه جدا و به چهار قسمت مساوی تقسیم شد. هر قسمت به صورت جداگانه در رقیق کننده های شیر پس چرخ (۹ گرم شیر پس چرخ و ۰/۲۵ میلی لیتر جنتامایسین در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر)، سدیم سیترات (۲/۳۷ گرم سدیم سیترات، ۰/۵ گرم گلوکز، ۰/۲۵ میلی لیتر جنتامایسین در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر)، شیر (شیر پاستوریزه گاو گرما دیده در ۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰

دقیقه (۷) و تریس (۳/۶۳۴) گرم تریس، ۱/۹۹۶ گرم اسید سیتریک، ۰/۵۰۴ گرم گلوکز، ۰/۲۵ میلی لیتر جنتامایسین در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شد. رقیق کننده حاوی اسپرم اپیدیدمی جمع آوری شد و برای تغلیظ با سرعت $700 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی آن حذف شد (۴). سپس غلظت اسپرم با لام هوسایتمتر تعیین گردید. سپس نمونه ها با رقیق کننده های شیر پس چرخ، سدیم سیترات، شیر و تریس رقیق شد به طوری که غلظت نهایی اسپرم به 5×10^8 سلول در هر میلی لیتر رسید. نمونه ها با استفاده از دستگاه سرد کننده طی یک ساعت و نیم به ۵ درجه سانتی گراد رسانده و تا ۱۰ روز در همین درجه نگهداری شدند و روزانه تحرک، زنده مانی و سلامت غشاء پلاسمایی اسپرم ارزیابی شد. مدت زمان بین آغاز آزمایش تا زمانی که تحرک نمونه به صفر رسید به عنوان زمان ماندگاری نمونه در نظر گرفته شد. بنابراین، نتایج صفات اندازه گیری شده بر اساس فرمول زیر به صورت میانگین وزنی محاسبه و ارائه شد.

$$\text{میانگین وزنی صفت} = \frac{(\text{داده روز اول} \times ۱) + (\text{داده روز دوم} \times ۲) + (\text{داده روز سوم} \times ۳) + \dots + (\text{داده روز یازده} \times ۱۵)}{(۱ + ۲ + ۳ + ۴ + \dots + ۱۴ + ۱۵)}$$

به منظور ارزیابی تحرک اسپرم ها، ۵ میکرو لیتر از منی روی لام با دمای ۳۵ درجه سانتی گراد قرار داده و روی آن لامل گذاشته شد سپس با استفاده از میکروسکوپ اختلاف فاز با بزرگ نمایی $\times 400$ تحرک پیش رونده اسپرم در ۵ گروه ۱ تا ۵ تقسیم شد. همچنین تحرک کلی اسپرم نیز تعیین گردید و با استفاده از رابطه زیر تحرک کلی اسپرم تعیین شد (۵).

$$0.5 \times (20 \times \text{گروه پیش رونده} + \text{تحرک کلی اسپرم} \%) = \text{شاخص تحرک اسپرم}$$

برای ارزیابی زنده مانی از رنگ هوخست ۳۳۴۵۸ بر اساس روش De Leeuw استفاده شد. بطور خلاصه نمونه به نسبت ۱:۱ با محلول گلو تار آلدئید ۲٪ در بافر فسفات مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در مکان تاریک در دمای محیط قرار داده شد سپس با رنگ هوخست $10 \mu\text{g/ml}$ به نسبت ۱ به ۱ مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در مکان تاریک در دمای محیط قرار داده شد سپس ۱۰۰ عدد اسپرم توسط میکروسکوپ فلوروسنت و فیلتر WU شمارش شد. اسپرم ها با تالوی آبی به عنوان سلول مرده و اسپرم های بدون تالو بعنوان سلول زنده گزارش شدند (۳). برای تعیین سلامت غشاء اسپرم از محلول هیواسموتیک (۹ گرم فروکتوز، ۴/۹ گرم سیترات سدیم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر در $\text{pH}=7$) استفاده شد. مقدار ۲۰ میکرو لیتر اسپرم با ۲۰۰ میکرو لیتر از محلول هیواسموتیک مخلوط و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد (۲). پنج میکرو لیتر از نمونه روی لام قرار داده و روی آن لامل گذاشته شد. سپس ۱۰۰ عدد اسپرم حداقل در ۵ میدان دید با میکروسکوپ اختلاف فاز با بزرگ نمایی $\times 400$ بررسی شد اسپرم هایی که دارای دم متورم به عنوان غشاء سیتوپلاسمی سالم و اسپرم هایی که دارای دم صاف بودند به عنوان غشاء سیتوپلاسمی آسیب دیده در نظر گرفته شد. به منظور تعیین اثر رقیق کننده های مختلف از طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار استفاده شد. برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن استفاده شد. مقایسه میانگین ها صفات ارزیابی شده با کمک نرم افزار SAS از طریق رویه GLM در سطح معنی داری ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که بالاترین درصد میانگین وزنی تحرک مربوط به رقیق کننده شیر پس چرخ با میانگین $17/36$ درصد (جدول ۱) بود ($P < 0/05$). مطالعات نشان داده شیر پس چرخ باعث بهبود زنده مانی و باروری اسپرم گوسفند می شود (۲). پایین ترین درصد میانگین وزنی تحرک مربوط به رقیق کننده سدیم سیترات با میانگین $7/03$ بود ($P < 0/05$). مطالعات نشان داده برای ذخیره سازی اسپرم گوسفند بافر تریس مناسب تر از سدیم سیترات است (۷). نتایج میانگین وزنی زنده مانی و سلامت غشاء نشان داد که رقیق کننده شیر پس چرخ دارای بالاترین درصد زنده مانی ($37/80$) و سلامت غشاء ($37/57$) بود و با سایر رقیق کننده ها جز تریس

تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$). پروتئین‌های موجود در شیر یک محیط مناسب برای ذخیره‌سازی اسپرم می‌باشد و اسپرم را در برابر تغییرات pH و دما محافظت می‌کند (۲). نتایج این تحقیق نشان داد که رقیق‌کننده شیر پس چرخ جهت استخراج و ذخیره‌سازی اسپرم اپیدیدیمی قوچ در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد مفید است.

جدول ۱: میانگین وزنی درصد تحرک، زنده‌مانی، سلامتی غشاء پلاسمایی اسپرم و حداکثر ماندگاری رقیق‌کننده‌ها

(means $\pm$ S.E)

رقیق‌کننده‌ها	تحرک	زنده‌مانی	سلامت غشاء پلاسمایی اسپرم	حداکثر مدت ماندگاری
شیر پس چرخ	$^{a}17/36 \pm 0/63$	$^{a}37/80 \pm 0/30$	$^{a}37/57 \pm 2/65$	۱۰
سدیم سیترات	$^{c}7/03 \pm 0/90$	$^{c}17/92 \pm 2/36$	$^{b}21/53 \pm 1/92$	۴
شیر	$^{b}12/78 \pm 1/58$	$^{bc}22/20 \pm 3/15$	$^{b}23/17 \pm 2/32$	۸
تریس	$^{b}12/72 \pm 1/51$	$^{ab}30/22 \pm 3/46$	$^{ab}30/04 \pm 2/53$	۷

^{a,b,c} حروف غیرمشابه تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها را در هر ستون نشان می‌دهد ($P < 0.05$).

منابع

1. Bucak, M.N., A. Atessahin and A. Yüce. 2009. Effect of anti-oxidants and oxidative stress parameters on ram semen after the freeze-thawing process. Small Ruminant Research. 75: 128-134.
2. Colas, G. 1975. Effect of initial freezing temperature, addition of glycerol and dilution on the survival and fertilizing ability of deep frozen ram semen. Reproduction Fertility. 42: 277-285.
3. De Leeuw, A.M., J.H.G. Daas and H. Woelders. 1991. Simultaneous determination of viability and acrosomal of bovine spermatozoa. Andrology. 12: 112-118.
4. Evans, G and W.M.C. Maxwell. 1987. Salamons Artificial Insemination of Sheep and Goats. Sydney, Butterworths, Pp:194.
5. García-Álvarez, O., A. Maroto-Morales., M. Ramón., E. del Olmo., V. Montoro., A.E. Dominguez-Rebolledo. A. Bisbal., P. Jiménez-Rabadán., M.D. Pérez-Guzmán and A.J. Soler. 2010. Analysis of selected sperm by density gradient centrifugation might aid in the estimation of in vivo fertility of thawed ram spermatozoa. Theriogenology. 74: 979-988.
6. Purdy, P.H. 2006. A review on goat sperm cryopreservation. Small Ruminant Research. 63: 215-225.
7. Salamon, S. and W. Maxwell. 2000. Storage of ram semen. Animal Reproduction Science, 62, 77-112.
8. Vishwanath, R. and P. Shannon. 2000. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. Animal Reproduction Science. 62:23-53.

Effect of skim milk, sodium citrate, milk and Tris on recovery and storage of ram epididymal spermatozoa at 5 °C

Mohammad Ataei^{1*}, Mohammad Rostaei Alimehr²

1. Master degree in Animal Husbandry, 2. Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan

* Mohammad Ataei: atayimohammad@gmail.com

Abstract:

This experience was conducted to determine the effect of skim milk, sodium citrate, milk and Tris on recovery and storage of ram epididymal spermatozoa at 5°C. 4 pairs of testes were obtained from slaughter house. The caudal epididymis was isolated from testis and split into four equal parts. Each part was put in skim milk, sodium citrate, milk and Tris and sliced at room temperature. The obtained epididymal spermatozoa were diluted until 5×10^8 sperm/ml by the same solution of sperm recovery. After that sampels were cooled gradually until 5°C and incubated for 10 days. Motility, viability and plasma membrane integrity of spermatozoa evaluated daily. Result indicated the highest of sperm motility was obtained by skim milk (17.36; $P<0.05$). The highest of sperm viability and membrane integrity was obtained by skim milk and Tris ($P<0.05$). This study show that skim milk is superior for recovery and storage of ram epididymal spermatozoa at 5°C.

Keywords: Storage- Diluent- Epididymal sperm- Ram.

بررسی مقادیر مختلف اسید هگزانوئیک و زرده تخم مرغ بر میزان نگهداری اسپرم اپیدیمی قوچ در ۵ درجه سانتیگراد

محمد عطائی^{۱*}، محمد روستائی علی مهر^۲

دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم دامی دانشگاه گیلان، ۲. استادیار گروه علوم دامی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان

*نویسنده مسئول: محمد عطائی، (atayimohammad@gmail.com)

چکیده

هدف این مطالعه بررسی مقادیر مختلف اسید هگزانوئیک و زرده تخم مرغ بر اسپرم اپیدیمی قوچ در دمای ۵ سانتیگراد بود. تعداد چهار جفت بیضه از کشتارگاه تهیه شد و استخراج اسپرم از دم اپیدیم با بافر تریس انجام شد. نمونه‌ها به ۱۵ قسمت مساوی تقسیم شد و به هر بخش به میزان صفر، ۰/۰۳۱۲۵ یا ۰/۰۶۲۵ درصد اسید هگزانوئیک و صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ یا ۲۰ درصد زرده تخم مرغ اضافه شد و سپس به مدت ۱۵ روز در دمای ۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد. تحرک، زنده‌مانی و سلامت غشاء پلاسمایی اسپرم روزانه سنجش شد. نتایج نشان داد که تیمار ۰/۰۳۱۲۵ درصد اسید هگزانوئیک و ۱۵ یا ۲۰ درصد زرده تخم مرغ دارای بالاترین درصد میانگین وزنی تحرک (به ترتیب ۳۳/۷۸ و ۳۲/۹۴) و زنده‌مانی (به ترتیب ۶۶/۲۹ و ۶۴/۶۶) بود ($P < 0/05$). تیمار حاوی ۰/۰۳۱۲۵ درصد اسید هگزانوئیک و ۱۵ درصد زرده تخم مرغ واجد بالاترین درصد میانگین وزنی سلامت غشاء اسپرم (۶۹/۹۳٪) بود ($P < 0/05$). این مطالعه نشان داد افزودن مقدار ۰/۰۳۱۲۵ درصد اسید هگزانوئیک و ۱۵ درصد زرده تخم مرغ به اسپرم اپیدیمی قوچ باعث بهبود در ذخیره‌سازی این سلول جنسی در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد می‌شود.

واژگان کلیدی: اسید هگزانوئیک - زرده تخم مرغ - اسپرم اپیدیمی - قوچ.

مقدمه

استخراج اسپرم از اپیدیم می‌تواند به عنوان روش مناسبی جهت تهیه اسپرم از بقایای کشتارگاهی باشد. مطالعات نشان داده است که اسپرم استخراج شده از اپیدیم قوچ مقاومت بیشتری نسبت به اسپرم‌های انزالی در برابر تنش‌های سرمایی دارند ولی میزان باروری آنها به علت عدم مجاورت با مایع منی در مقایسه با اسپرم انزالی پایین‌تر است (۶). زرده تخم مرغ یکی از رایج‌ترین ترکیبات رقیق‌کننده‌های منی است که بدلیل دارا بودن لیپوپروتئین‌ها با دانسیته پایین به عنوان محافظت‌کننده اسپرم در برابر شوک سرمایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱). اسید هگزانوئیک یک اسید چرب ۶ کربنه است که اولین بار توسط شانن (۱۹۶۵) جهت نگهداری اسپرم گاو بصورت مایع استفاده شد. شانن نشان داد که اسید هگزانوئیک باعث افزایش زنده‌مانی و باروری اسپرم گاو می‌شود. هدف از این پژوهش بررسی اثر افزودن سطوح مختلف اسید هگزانوئیک و زرده تخم مرغ بر اسپرم اپیدیم قوچ بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. تعداد ۴ جفت بیضه از کشتارگاه تهیه و توسط بافر فیزیولوژیک (۰/۸۵ NaCl) با دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شد. جهت استخراج اسپرم، ناحیه دم اپیدیم از بافت بیضه جدا و در ۵ میلی‌لیتر بافر تریس (۳/۶۳۴ گرم تریس (هیدروکسی متیل)-آمینومتان، ۱/۹۹۶ گرم اسید سیتریک، ۰/۵۰۴ گرم گلوکز، جنتامایسین و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر)، با اسکالپل قطعه قطعه و به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شد. بافر حاوی اسپرم اپیدیمی جمع‌آوری شد و جهت تغلیظ با سرعت $700 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی آن حذف شد (۴). سپس غلظت اسپرم با لام هوسایومتر تعیین گردید. ابتدا نمونه‌ها با رقیق‌کننده تریس گلوکز تا غلظت 1×10^9 رقیق شد و سپس به ۱۵ قسمت مساوی تقسیم شدند. به هر بخش مقدار صفر، ۰/۰۳۱۲۵ یا ۰/۰۶۲۵ درصد اسید هگزانوئیک و صفر، ۵،

۱۰، ۱۵ یا ۲۰ درصد زرده تخم مرغ اضافه شد و غلظت نهایی اسپرم به 5×10^8 سلول در هر میلی لیتر رسید. نمونه ها با استفاده از دستگاه سرد کننده طی ۲ ساعت به ۵ درجه سانتی گراد رسانده و تا ۱۵ روز در همین درجه نگهداری شدند و روزانه تحرک، زنده ماندن و سلامت غشاء پلاسمایی اسپرم ارزیابی شد. در مدت ذخیره سازی میزان ماندگاری اسپرم در رقیق کننده های مختلف، متفاوت بود. مدت زمان بین آغاز آزمایش تا زمانی که تحرک نمونه به صفر رسید به عنوان زمان ماندگاری نمونه در نظر گرفته شد. بنابراین نتایج صفات اندازه گیری شده بر اساس فرمول زیر به صورت میانگین وزنی محاسبه و ارائه شد.

$$\text{میانگین وزنی صفت} = \frac{(\text{داده روز اول} \times ۱) + (\text{داده روز دوم} \times ۲) + (\text{داده روز سوم} \times ۳) + \dots + (\text{داده روز پانزده} \times ۱۵)}{(۱ + ۲ + ۳ + ۴ + \dots + ۱۴ + ۱۵)}$$

به منظور ارزیابی تحرک اسپرم ها، ۵ میکرو لیتر از منی روی لام دمای ۳۵ درجه سانتی گراد قرار داده و روی آن لامل گذاشته شد سپس با استفاده از میکروسکوپ اختلاف فاز با بزرگ نمایی $\times 400$ تحرک پیش رونده اسپرم در ۵ گروه ۱ تا ۵ تقسیم شد. همچنین تحرک کلی اسپرم نیز تعیین گردید و با استفاده از رابطه زیر تحرک کلی اسپرم تعیین شد (۵).

$$\% \text{ تحرک کلی اسپرم} = \left(\text{تحرک کلی اسپرم} \% + (۲۰ \times \text{گروه پیش رونده}) \right) \times ۰/۵$$

جهت ارزیابی زنده ماندن از رنگ هوخست ۳۳۴۵۸ بر اساس روش De Leeuw استفاده شد. بطور خلاصه نمونه به نسبت ۱:۱ با محلول گلو تار آلدئید ۲٪ در بافر فسفات مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در مکان تاریک در دمای محیط قرار داده شد سپس با رنگ هوخست ۱۰۰g/ml به نسبت ۱ به ۱ مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در مکان تاریک در دمای محیط قرار داده شد سپس ۱۰۰ عدد اسپرم توسط میکروسکوپ فلورونس و فیلتر WU شمارش شد. اسپرم ها با تالوی آبی به عنوان سلول مرده و اسپرم های بدون تالو به عنوان سلول زنده گزارش شدند (۳). برای تعیین سلامت غشاء اسپرم از محلول هیواسموتیک (۹ گرم فروکتوز، ۴/۹ گرم سترات سدیم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر در pH=۷) استفاده شد. مقدار ۲۰ میکرو لیتر اسپرم با ۲۰۰ میکرو لیتر از محلول هیواسموتیک مخلوط و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد (۲). ۵ میکرو لیتر از نمونه روی لام قرار داده و روی آن لامل گذاشته شد. سپس ۱۰۰ عدد اسپرم حداقل در ۵ میدان دید با میکروسکوپ اختلاف فاز با بزرگ نمایی $\times 400$ بررسی شد اسپرم هایی که دارای دم متورم به عنوان غشاء سیتوپلاسمی سالم و اسپرم هایی که دارای دم صاف بودند به عنوان غشاء سیتوپلاسمی آسیب دیده در نظر گرفته شد. به منظور تعیین اثر مقادیر مختلف زرده تخم مرغ و اسید هگزانوئیک و اثرات متقابل آنها بر ویژگی های منی از آزمایش فاکتوریل (5×3) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تیمار (۵ سطح زرده و ۳ سطح اسید هگزانوئیک) در ۴ تکرار استفاده شد. برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن استفاده شد. مقایسه میانگین ها صفات ارزیابی شده با کمک نرم افزار SAS از طریق رویه GLM در سطح معنی داری ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که اثر متقابل اسید هگزانوئیک و زرده تخم مرغ بر فراسنج های تحرک، زنده ماندن و سلامت غشاء پلاسمایی اسپرم معنی دار بود ($P < 0/05$) (جدول ۱). نتایج نشان داد که بالاترین درصد میانگین وزنی تحرک و زنده ماندن مربوط به تیمارهای حاوی ۰/۳۱۲۵ درصد اسید هگزانوئیک و ۱۵ یا ۲۰ درصد زرده تخم مرغ بود ($P < 0/05$). مطالعات نشان داده که مقدار ۰/۳۱۲۵ درصد اسید هگزانوئیک در رقیق کننده ها باعث بهبود زنده ماندن و باروری اسپرم گاو می شود. اسید هگزانوئیک باعث کاهش متابولیسم اسپرم شده، در نتیجه زنده ماندن آن افزایش می یابد (۸). پایین ترین درصد میانگین وزنی تحرک و زنده ماندن مربوط به تیمارهای صفر درصد زرده تخم مرغ و صفر، ۰/۳۱۲۵ و ۰/۶۲۵ درصد اسید هگزانوئیک بود ($P < 0/05$). زرده تخم مرغ حاوی لیپوپروتئین با دانسیته پایین است. لیپوپروتئین های موجود در زرده تخم مرغ به غشاء پلاسمایی اسپرم متصل و سبب استحکام



بیشتر آن در روند ذخیره سازی شده، در نتیجه ماندگاری اسپرم را افزایش می دهد (۱۰). نتایج نشان داد که بالاترین درصد سلامت غشاء مربوط به تیمار ۰/۰۳۱۲۵ درصد اسید هگزانوئیک و ۱۵ درصد زرده تخم مرغ بود ($P < 0/05$). پایین ترین درصد سلامت غشاء پلاسمایی اسپرم مربوط به تیمار صفر درصد اسید هگزانوئیک و زرده تخم مرغ بود و با سایر تیمارها جز تیمار صفر ۰/۰۶۲۵ درصد اسید هگزانوئیک و صفر درصد زرده تخم مرغ تفاوت معنی دار نشان داد ($P < 0/05$). محققین نشان دادند که اسید هگزانوئیک باعث بهبود پایداری غشاء اسپرم می شود در نتیجه مدت ذخیره سازی اسپرم افزایش می یابد (۷). نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن ۰/۰۳۱۲۵ درصد اسید هگزانوئیک و ۱۵ یا ۲۰ درصد زرده تخم مرغ جهت ذخیره سازی اسپرم اپیدیمی کوچ در دمای ۵ درجه سانتی گراد مفید است.

جدول ۱: درصد میانگین وزنی تحرک، زنده مانی، سلامتی غشاء پلاسمایی اسپرم و حداکثر ماندگاری تیمارها

(means $\pm$ SE)

اسید هگزانوئیک	زرده تخم مرغ	تحرک	زنده مانی	سلامت غشاء اسپرم	حداکثر مدت ماندگاری تیمارها
	۰	۴/۴۹ $\pm$ ۰/۵۱ ^g	۱۲/۰۰ $\pm$ ۰/۰۷ ^c	۱۳/۶۰ $\pm$ ۰/۷۶ ^g	۷ روز
	۵	۱۰/۷۶ $\pm$ ۱/۲۱ ^f	۳۵/۵۸ $\pm$ ۲/۳۴ ^b	۳۲/۷۴ $\pm$ ۰/۲۸ ^e	۱۰ روز
۰	۱۰	۱۵/۹۹ $\pm$ ۰/۸۳ ^{cde}	۳۷/۹۴ $\pm$ ۳/۲۱ ^b	۳۴/۶۶ $\pm$ ۰/۲۴ ^e	۱۰ روز
	۱۵	۲۰/۶۷ $\pm$ ۲/۲۳ ^b	۴۲/۵۷ $\pm$ ۴/۳۹ ^b	۳۹/۱۵ $\pm$ ۰/۸۲ ^d	۱۱ روز
	۲۰	۱۶/۹۸ $\pm$ ۰/۷۶ ^{cd}	۴۲/۰۷ $\pm$ ۴/۲۲ ^b	۳۸/۷۹ $\pm$ ۰/۵۵ ^d	۱۱ روز
	۰	۵/۲۸ $\pm$ ۰/۴۷ ^g	۱۵/۷۹ $\pm$ ۰/۵۹ ^c	۱۶/۵۶ $\pm$ ۰/۳۵ ^f	۷ روز
	۵	۱۳/۹۷ $\pm$ ۱/۴۱ ^{def}	۴۳/۰۱ $\pm$ ۲/۲۳ ^b	۳۳/۸۷ $\pm$ ۰/۱۸ ^e	۱۰ روز
۰/۰۳۱۲۵	۱۰	۱۸/۱۳ $\pm$ ۰/۶۷ ^{bc}	۴۴/۵۳ $\pm$ ۱/۶۴ ^b	۴۶/۸۱ $\pm$ ۰/۸۴ ^c	۱۲ روز
	۱۵	۳۳/۷۸ $\pm$ ۲/۱۵ ^a	۶۶/۲۹ $\pm$ ۴/۷۲ ^a	۶۹/۹۳ $\pm$ ۱/۲۷ ^a	۱۵ روز
	۲۰	۳۲/۹۴ $\pm$ ۱/۲۱ ^a	۶۴/۶۶ $\pm$ ۲/۴۳ ^a	۶۷/۴۹ $\pm$ ۱/۵۸ ^b	۱۵ روز
	۰	۴/۴۲ $\pm$ ۰/۲۶ ^g	۱۴/۸۳ $\pm$ ۰/۶۹ ^c	۱۵/۴۰ $\pm$ ۰/۶۶ ^{fg}	۷ روز
	۵	۱۱/۷۶ $\pm$ ۱/۰۹ ^f	۳۸/۵۰ $\pm$ ۱/۹۳ ^b	۳۲/۶۳ $\pm$ ۰/۶۶ ^e	۱۰ روز
۰/۰۶۲۵	۱۰	۱۲/۶۷ $\pm$ ۱/۱۰ ^{ef}	۴۰/۵۵ $\pm$ ۳/۶۷ ^b	۳۲/۶۴ $\pm$ ۰/۵۵ ^e	۱۰ روز
	۱۵	۱۲/۸۷ $\pm$ ۰/۷۱ ^{ef}	۴۲/۱۱ $\pm$ ۲/۴۹ ^b	۳۳/۱۳ $\pm$ ۰/۴۰ ^e	۱۰ روز
	۲۰	۱۳/۳۶ $\pm$ ۱/۶۰ ^{def}	۴۱/۵۰ $\pm$ ۰/۶۸ ^b	۳۲/۴۵ $\pm$ ۰/۴۱ ^e	۱۰ روز

حروف غیر مشابه (^{a-g}) تفاوت معنی دار بین میانگین ها را در هر ستون نشان می دهد ($P < 0/05$).

منابع

1. Baily, J., F. Bilodeau and N. Comier. 2000. Semen cryopreservation in domestic animals. Andrology. 21: 1-8.
2. Bucak, M.N., A. Atessahin and A. Yüce. 2009. Effect of anti-oxidants and oxidative stress parameters on ram semen after the freeze-thawing process. Small Ruminant Research. 75: 128-134.

3. De Leeuw, A.M., J.H.G. Daas and H. Woelders. 1991. Simultaneous determination of viability and acrosomal of bovine spermatozoa. *Andrology*. 12: 112-118.
4. Evans, G and W.M.C. Maxwell. 1987. *Salamons Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Sydney, Butterworths, Pp: 194.
5. García-Álvarez, O., A. Maroto-Morales., M. Ramón., E. del Olmo., V. Montoro., A.E. Dominguez-Rebolledo. A. Bisbal., P. Jiménez-Rabadán., M.D. Pérez-Guzmán and A.J. Soler. 2010. Analysis of selected sperm by density gradient centrifugation might aid in the estimation of in vivo fertility of thawed ram spermatozoa. *Theriogenology*. 74: 979-988.
6. Gilmore, J.A., L.E. McGann., E. Ashworth., J.P. Acker., J.P. Raath., M. Bush and J.K. Crister. 1998. Fundamental cryobiology of selected African mammalian spermatozoa and its role in biodiversity preservation through the development of genome resource banking. *Animal Reproduction Science*. 277: 277- 297.
7. Resseguie, W.D and B.L. Hughes. 1984. Phospholipids and cholesterol profiles from chicken seminal components during in vivo storage at 5°C. *Poultry Science*. 63: 1438-1443.
8. Shannon, P. 1965. Contribution of seminal plasma, sperm numbers, and gas phase to dilution effects of bovine spermatozoa. *Journal of Dairy Science*. 48:1357-1361.
9. Srinivasan, V and B. Amitabha. 1989. Calcium uptake by bovine epididymal spermatozoa is regulated by the redox state of the mitochondrial pyridine nucleotides. *Biology of Reproduction*. 40: 744-751.
10. Vishwanath, R and P. Shannon. 2000. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. *Animal Reproduction Science*. 62:23-53.

Effect of different levels of hexanoic acid and egg yolk on the storage of Ram epididymal sperm at 5°C

Mohammad Ataei^{1*}, Mohammad Rostaei Alimehr²

1. Master degree in Animal Husbandry, 2. Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan

* Mohammad Ataei: atayimohammad@gmail.com

Abstract:

This experience was conducted to determine the effect of hexanoic acid and egg yolk on the storage of Ram epididymal sperm at 5°C. 4 pair of testes were collected for slaughter house. Epididymal spermatozoa were extracted from caudal epididymis by Tris. Samples were split into 15 parts and added zero, 0.03125 or 0.0625% hexanoic acid and zero, 5, 10, 15 or 20% egg yolk, and incubated at 5°C for 15 day. Motility, viability and plasma membrane integrity of spermatozoa evaluated every day. Result indicated that the highest weighed average of sperm motility and viability were achieved by 0.03125% hexanoic acid and 15 (33.78% and 66.29% respectively) or 20% (32.94% and 64.66% respectively) egg yolk ($P < 0.05$). The highest weighed average of functional membrane integrity was obtained by 0.03125% hexanoic acid and 15% egg yolk (69.93%; $P < 0.05$). The data indicate that adding 0.03125% hexanoic acid and 15% egg yolk improve longevity of ram epididymal spermatozoa at 5°C.

Keywords: Hexanoic acid- Egg yolk- Epididymal sperm- Ram.

بهبود درصد آبستنی میش‌های نژاد لری بختیاری با استفاده از هورمون eCG

رضا مسعودی^{۱*}، حمید کهرام^۲، علی هاتفی^۳، سلمان نصراللهی^۳

۱ و ۲ و ۳ به ترتیب دانشجوی دکتری تخصصی، استادیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

Rezamasoudi@ut.ac.ir

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر هورمون eCG بر افزایش درصد آبستنی میش‌های نژاد لری بختیاری در طی یک برنامه همزمانی فحلی و تلقیح مصنوعی در فصل تولید مثلی بوده است. در این آزمایش از ۴۵ راس میش از نژاد لری بختیاری با میانگین وزنی 56 ± 5 کیلوگرم و میانگین سنی ۴۲ ماه که به طور تصادفی از یک گله ۱۰۰ راسی انتخاب شده بودند، استفاده شد. به منظور همزمان سازی فحلی میش‌ها برای ۱۲ روز سیدرگذاری و به چهار گروه تقسیم شدند و به هنگام سیدربرداری سطوح ۴۰۰، ۴۵۰ و ۵۰۰ واحد eCG به صورت درون ماهیچه‌ای به ماهیچه ران آن‌ها تزریق شد و یک گروه نیز به عنوان کنترل انتخاب شد و eCG دریافت نکرد. در ساعت ۵۱ پس از سیدربرداری میش‌ها به صورت ترانس واژینال با اسپرم تازه تلقیح شدند و درصد آبستنی در روز ۵۰ پس از تلقیح با استفاده از سونوگرافی تشخیص داده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش دوز eCG سبب افزایش درصد آبستنی در میش می‌شود و گروه چهارم که ۵۰۰ واحد eCG دریافت کرده بود دارای بیشترین درصد آبستنی بود (۷۰ درصد) و درصد آبستنی در گروه‌های دریافت کننده ۴۵۰ و ۴۰۰ واحد eCG و کنترل به ترتیب ۵۴/۵، ۴۲/۸ و ۲۰ درصد بود که بیانگر اثر مثبت هورمون eCG بر درصد آبستنی می‌باشد و می‌توان با استفاده از این هورمون در هنگام سیدربرداری درصد آبستنی را بهبود بخشید.

کلمات کلیدی: درصد آبستنی - تلقیح مصنوعی - میش لری بختیاری - eCG.

مقدمه

امروزه با افزایش جمعیت، نیاز جامعه بشری به مواد پروتئینی افزایش یافته است. افزایش نیاز به محصولات دامی، متصدیان تولید اینگونه محصولات را بر آن داشت تا به هر نحو ممکن بتوانند این نیاز را تأمین کنند. این در حالی است که میزان تولید نهاده‌های محصولات دامی در جهان ثابت و یا سیر نزولی را با گذشت زمان طی کند. به طوری که سبب شده است که این متصدیان را به سمت اعمال روش‌ها و ترکیبات موثر در افزایش بازده این محصولات سوق دهد؛ با این وجود این در کشورهایی مثل ایران این نهاده‌ها دارای ارزش بیشتری می‌باشند. همچنین در اغلب این کشورها، عمده تولیدات دامی از احشامی چون گوسفند و بز به چشم می‌خورد که عمده این حیوانات از لحاظ پیشرفت ژنتیکی پیشرفت اندکی داشته‌اند. در این میان استفاده از گوسفند به عنوان یکی از منابع تولید محصولات دامی در کشورهایی چون ایران می‌تواند نقش مهمی را ایفا نماید. به علاوه به دلیل وجود تنوع ژنتیکی بالقوه و تاریخ کهن پرورش گوسفند در ایران بر اهمیت این موضوع می‌-



افزاید. همچنین این موضوع در ایران به دلیل وجود حدود ۵۳ میلیون رأس گوسفند بسیار حائز اهمیت می‌باشد. با این وجود نژادهای بومی ایرانی نسبت به سایر نژادهای دیگر دارای نرخ تولید مثلی پایین می‌باشند. به طوری که نرخ بهره‌زایی این گوسفندان در ایران حدود ۰/۷ تا ۰/۸ در هر سال می‌باشد که همین مسئله سبب کاهش تمایل پرورش دهندگان گوسفند به گسترش نژادهای بومی شده است. با این توصیفات در طی سال‌های اخیر استفاده از روش‌هایی از قبیل دستکاری‌های ژنتیکی و محیطی در دام‌های تولید کننده ضروری می‌باشد. به طوری که با به کارگیری این روش‌ها توان تولیدی گوشت گوسفند را در کشور بهبود می‌یابد. از جمله دستکاری‌های محیطی در امر افزایش بازده تولید محصولات دامی می‌توان به استفاده از روش‌های فیزیولوژیکی و تغذیه‌ای نام برد. در این میان روش‌های فیزیولوژیک توانسته است سهم بسزایی در بهبود بازده تولید ایفا کند. از جمله روش‌های فیزیولوژیکی می‌توان به استفاده برخی از هورمون‌های تولید مثلی موثر در بازده تولید مثلی را نام برد. از این میان، استفاده هورمون eCG می‌تواند نقش مهمی را در بهبود بازده تولید مثلی گوسفند ایفا کند. کاربرد eCG به عنوان یک گنادوتروپین جفتی توانسته بازده تولید مثلی را در مراحل مختلف تولید مثلی را بهبود بخشد [۱]. به طوری که از طریق دخالت بر روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز سبب افزایش تولید LH و FSH در حیوانات اهلی می‌شود و در نهایت سبب تحریک در رشد فولیکول‌ها افزایش موج‌های فولیکولی، افزایش تخمک ریزی، بهبود نرخ آبستنی و بهره‌زایی می‌شود [۲]. در این پژوهش سعی شده است تا اثر تزریق eCG بر افزایش درصد آبستنی میش‌های نژاد لری-بختیاری در طی یک برنامه همزمانی فحلی و تلقیح مصنوعی در فصل تولید مثلی را مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش با استفاده از میش‌های نژاد لری بختیاری و با بکارگیری افراد مجرب در مزرعه آموزشی و پژوهشی گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران در آبان ماه ۱۳۸۹ صورت پذیرفت. در این آزمایش از ۴۵ راس میش از نژاد لری بختیاری با میانگین وزنی ۵۶ کیلوگرم و میانگین سنی ۴۲ ماه که به طور تصادفی از یک گله ۱۰۰ راسی انتخاب انتخاب شده بودند، استفاده شد. به منظور همزمان سازی فحلی میش‌ها برای ۱۲ روز سیدرگذاری شده (EAZI- BREED™, CIDR®, progesterone) و سپس به چهار دسته تقسیم شدند. گروه اول شامل ۱۰ میش بود که بعنوان کنترل در نظر گرفته شدند و هورمونی دریافت نکردند. گروه دوم شامل ۱۴ میش بود که ۴۰۰ واحد eCG (Sanofi Animal Health, Libourne Cedex, France) دریافت کردند. گروه سوم شامل ۱۱ میش بود که ۴۵۰ واحد eCG دریافت کردند و در نهایت گروه چهارم شامل ۱۰ میش بود که ۵۰۰ واحد eCG دریافت نمودند. در ساعت ۵۱ پس از سیدربرداری میش‌ها با اسپرم تازه به کمک اسپیکولوم و چراغ قوه به صورت ترانس‌واژینال تلقیح شدند. تشخیص آبستنی با آزمایش اولتراسونوگرافی به وسیله یک دستگاه اولتراسوند (B-mode; Pimedical Falco 100 equipped by an 7.5 MHz probe) مجهز به یک پراب ۷/۵ مگاهرتز اکسترنال، در روز ۵۰ پس از تلقیح انجام شد.

نتایج و بحث

در ایران هدف عمده پرورش گوسفند تولید گوشت می‌باشد. این هدف را می‌توان با افزایش تولید بهره ازای هر میش ارتقا بخشید. با این وجود عمده نژادهای بومی ایران دارای تولید مثل فصلی می‌باشند. بنابراین می‌توان با استفاده از روش‌های رایج تولید مثلی بازده بهره‌زایی این دام‌ها را در فصل غیر تولید مثلی بهبود داد. در حال حاضر استفاده از گونادوتروپین‌ها به



عنوان یک روش های موثر در بهبود این بازده در طی سال های اخیر به شما می آید. در این میان کاربرد eCG به عنوان یک گونادوتروپین جفتی توانسته بازده تولید مثلی را در مراحل مختلف تولید مثلی را بهبود بخشد. به طوری که از طریق دخالت بر روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز سبب افزایش تولید FSH و LH در حیوانات اهلی می شود و در نهایت سبب تحریک در رشد فولیکول ها افزایش موج های فولیکولی، افزایش تخمکریزی، بهبود نرخ آبستنی و بهره ای می شود [۱-۲]. در این پژوهش استفاده از دوزهای مختلف این هورمون سبب افزایش نرخ آبستنی در نژاد لری بختیاری شد. نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش دوز eCG سبب افزایش درصد آبستنی در میش می شود و گروه چهارم که ۵۰۰ واحد eCG دریافت کرده بود دارای بیشترین درصد آبستنی بود (۷۰ درصد) و درصد آبستنی در گروه های دریافت کننده ۴۵۰ و ۴۰۰ واحد eCG و کنترل به ترتیب ۵۴/۵، ۴۲/۸ و ۲۰ درصد بود که بیانگر اثر مثبت هورمون eCG بر درصد آبستنی می باشد و نتایج حاصل از این پژوهش با دیگر نتایج محققین مطابقت داشت [۳-۵]. زالیگ و همکاران در سال ۲۰۰۶ با استفاده از eCG به این نتیجه رسیدند که این هورمون سبب بهبود نرخ آبستنی به نسبت گروه شاهد می شود. زرکای و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که کاربرد ۶۰۰ واحد eCG به همراه ۶۰ میلی گرم MAP در میش تا ۸۰ درصد سبب بهبود نرخ بهره ایی در این حیوان در فصل غیر تولید مثلی می شود [۶]. علاوه بر این پژوهشگران، گوکیسن و همکاران (۱۹۹۲) نشان دادند که استفاده از ۵۰۰ واحد eCG در میش های مزینوس علاوه بر افزایش علائم فحلی تا ۹۲ درصد سبب افزایش نرخ آبستنی تا ۸۵ درصد در این گونه شد [۳]. با این حال پژوهشگرانی چون زونترلو و همکاران (۲۰۰۶) و آکوز و همکاران (۲۰۱۱) نتیجه گرفتند که استفاده از این هورمون هیچ گونه تغییری در نرخ آبستنی در در میش های تحت تیمار نسبت به شاهد در فصل غیر تولید مثلی نداشت [۷]. این هورمون با اثر FSH خود سبب افزایش رشد فولیکول و آماده بودن فولیکول در هنگام تلقیح می گردد.

منابع:

1. Karagiannidisa, A., et al., Effect of time of artificial insemination on fertility of progestagen and PMSG treated indigenous Greek ewes, during non-breeding season. *Small Rumin. Res.*, 2001. 39: p. 67-71.
2. Echterkamp, S.E., Influence of breed and season on ovarian and pituitary response in progestagen-PMSG-treated ewes. *Theriogenology*, 1956. 18: p. 95 - 106.
3. Romano, J.E., et al., Effects of progestagen, PMSG and artificial insemination time on fertility and prolificacy in Corriedale ewes. *Small Rumin. Res.*, 1996. 23: p. 157-162.
4. Fallah Rad, A.H. and N. Farzaneh, Effect of CIDR and Different Doses of PMSG on Pregnancy and Lambing Rate out of Breeding Season in Baluchi Ewes. *J. anim. and veterinary advances*, 2007. 6: p. 1167 - 1171.
5. Mehmet, A., B. Bulbul, and S. Dere, Induction of multiple births in Akkaraman cross-bred sheep synchronized with short duration and different doses of progesterone treatment combined with PMSG outside the breeding season. *Bull Vet Inst Pulawy*, 2006. 50: p. 97 - 100.
6. Zarkawi, M., Oestrous synchronisation and twinning rate of Syrian Awassi ewes treated with progestagen and PMSG during the breeding season. *New Zealand J Agricultural Res.*, 2001. 44: p. 159-163.
7. Akuz, D., Effects of Long and Short-Term Progestagen Treatments Combined with PMSG on Oestrus Synchronization and Fertility in Awassi Ewes during the Breeding Season. *ACTA VET. BRNO*, 2011. 76: p. 391-397.

The improvement of Lori-bakhtiari ewes conception rate with eCG

Reza Masoudi*, Hamid Kohram, Ali Hatefi, Salman Nasrollahi

Department of Animal Science, University Collage of Agriculture and Natural Resources,
University of Tehran, Karaj, Iran

Rezamasoudi@ut.ac.ir

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of eCG on the improving of conception rate of Lori-Bakhtiari ewes during an estrous synchronization and artificial insemination program in the reproductive season. Forty five ewes with 56 kg weight were randomly selected and for estrous synchronization received CIDR for 12 days. At the time of CIDR removal, the ewes were assigned into 4 groups. The control group did not receive eCG. Three other groups divided into 3 part and receive 400, 450 and 500 IU eCG intramuscularly. Fifty one hours after CIDR removal the ewes were inseminated transvaginally. 50 days after insemination, conception rate was recognized via ultrasonography diagnosis. The result of this study showed the increase of eCG dose cause to improve of conception rate and the fourth group that received 500 IU eCG had the highest conception rate (70%) and the third, second and control control had 54.5%, 42.8% and 20% conception rate. In conclusion, eCG have a positive effect on conception rate and using of eCG at the time of CIDR removal improve the conception rate of Lori-Bakhtiari ewes.

Keyword: Conception rate - Artificial insemination - Lori-Bakhtiari ewe - eCG.

بررسی تأثیر سطوح مختلف عصاره مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون در موشهای

صحرائی

سودابه عربی^{۱*}، دکتر جواد آرشامی^۲، دکتر علیرضا حق پرست^۳، دکتر علیرضا وکیلی^۲،

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- عضو هیئت علمی گروه ایمنولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

soudabeharabi@yahoo.com

چکیده

مریم گلی (*Salvia Officinalis* L.) مهمترین گیاه دارویی تیره نعناعیان (Labiatae) است که تاریخچه بسیار گسترده ای داشته است. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر عصاره مریم گلی بر پارامترهای بیوشیمیایی خون در موش صحرائی بود. در این مطالعه از چهار گروه موش نر نژاد ویستار (۶ موش در هر گروه) برای آزمایش استفاده شد. گروه یک (گروه کنترل) نرمال سالیین و سه گروه دیگر سه دوز متفاوت ۷۵ mg/kg (گروه دوم)، ۱۵۰ mg/kg (گروه سوم) و ۳۰۰ mg/kg (گروه چهارم) عصاره الکلی مریم گلی را هر ۲۴ ساعت به مدت ۱۴ روز از طریق تزریق داخل صفاقی دریافت نمودند. در پایان دوره بانجام خون گیری از قلب موشها سطوح سرمی آلبومین، کلاسترول، کراتینین، پروتئین تام، تری گلیسیرید، آلانین آمینوترانس فراز (ALT) و آسپارات آمینوترانس فراز (AST) با کیت های بیوشیمیایی اندازه گیری شد. داده های بدست آمده با نرم افزار SAS و آزمون توکی، در سطح (p<۰/۰۵) ارزیابی شدند. نتایج آنالیز آماری داده ها نشان داد که تغییر معنی داری بین گروهها در مقادیر ALT و AST مشاهده نشد ولی افزایش معنی داری در میزان آلبومین و کراتینین سرم در هر سه تیمار مشاهده گردید (p<۰/۰۵). با توجه به نتایج این تحقیق افزایش سنتز آلبومین را می توان به عنوان یک نشانه در بهبود فعالیت سلول های کبدی پیشنهاد نمود.

کلید واژه ها: پارامترهای خون - مریم گلی - موش آزمایشگاهی

۱- مقدمه

یشرفت علم از یک سو و مسائل اقتصادی از سوی دیگر باعث کاهش مصرف گیاهان دارویی شده است و داروهای صنعتی در بسیاری از موارد جایگزین داروهای گیاهی شده اند (۱). ایران به دلیل موقعیت خاص جغرافیایی و شرایط اقلیمی، دارای پوشش گیاهی متنوع و از نظر طب سنتی و گیاه درمانی غنی می باشد. مریم گلی گیاهی است علفی، چندساله، متعلق به خانواده نعناعیان که ۷۰۰ گونه از این گیاه در سراسر دنیا شناسایی شده است که ۵۸ گونه آن در ایران یافت شده است (۸). این گیاه دارای ۱/۵ تا ۲ اسانس که اجزای اصلی آن عبارتند از: ساپونین، پیکروسالوین، سینئول، بورنئول، فلاونوئیدهای اپی ژنین، اسکوتلارترین ۶ و ۷ دی متیل اتر، اسکوتلارترین ۶ و ۷- تری متیل اتر، لوتولین ۳- متیل اتر، ۶ و ۷ و ۳ و ۴ تترامیتیل اترهای هیدروگزیلوتولین، مقادیر فراوانی توکوفرول، اسیدرزمارینک و اسیدآسکوربیک و تانن می باشد (۱۰). اسید رزمارینک، ترکیب فنلی است که دارای فعالیت های بیولوژیکی از جمله خاصیت ضدتوموری، آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، تقویت حافظه می باشد (۱۱). اسانس مریم گلی ایرانی حاوی باتوجه به مطالعات اندکی که درمورد استفاده از گیاهان دارویی در فراسنجه های بیوشیمیایی خون در حیوانات تک

معهده ای انجام شده، این آزمایش جهت بررسی سطوح مختلف عصاره مریم گلی بر پارامترهای خون در موشهای صحرایی انجام شد.

۲-مواد و روشها

۱-۲ عصاره گیری

گیاه مریم گلی از مزرعه دانشکده کشاورزی مشهد در خرداد ماه ۱۳۹۰ جمع آوری گردید. گیاه به مدت ۴۸ در سایه قرار گرفت تا میزان رطوبت آن کاهش یابد. سپس با آسیاب برقی پودر شده و با روش خیساندن عصاره گیری صورت گرفت. برای تهیه عصاره آبی و متانولی گیاه در حدود ۳۰ گرم پودر گیاه، ۱/۵ برابر حجم آن آب مقطر و متانول ۸۰ درجه افزوده و به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد و پس از صاف شدن توسط دستگاه تقطیر در خلاء در حرارت ۶۰ درجه سانتی گراد تغلیظ و در آن ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت کاملاً خشک گردید (۹).

۲-۲ حیوانات و تیمارهای مورد بررسی

در این آزمایش ۲۴ سرموشهای صحرایی نر بالغ (260 ± 20 گرم) نژاد ویستار از موسسه پاستور کرج تهیه گردید. حیوانات در شرایط استاندارد ($25 \pm 1^\circ\text{C}$)، رطوبت نسبی ۵۵-۵۰٪ و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. موشها در قالب ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: سطوح ۰ (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن محلول نرمال سالین) و غلظتهای ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن عصاره مریم گلی به صورت تزریق داخل صفاقی (IP) هر ۲۴ ساعت یکبار به مدت ۱۴ روز بود. در پایان دوره آزمایش خونگیری از قلب در شرایط بی هوشی نسبی، ۱۲ ساعت پس از آخرین تزریق انجام گرفت. نمونه های خون سانتریفیوژ (۲۵۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه) و سرم آنها کاملاً جدا گردید و میزان کلسترول، تری گلیسیرید، کراتینین، پروتئین تام و آلبومین با استفاده از کیت های بیوشیمیایی اندازه گیری شدند.

۳-۲ آنالیز آماری

تمامی داده ها از نظر آماری با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و تست Tukey بررسی گردیدند. معیار استنتاج آماری، $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

۳-نتایج

تجویز دوزهای ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ (mg/kg) عصاره متانولی مریم گلی به مدت ۱۴ روز در مقایسه با گروه کنترل تغییر معنی داری را در میزان آنزیمهای کبدی ALT و AST ایجاد نکرد. نتایج بررسی روی کراتینین سرم نشان داد که عصاره مریم گلی در دوزهای مورد بررسی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری در میزان کراتینین سرم ایجاد کرده است ($p < 0.05$). میزان پروتئین تام در دوزهای ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰ (mg/kg) افزایش معنی داری را نشان داد ($p < 0.05$). تجویز دوزهای ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ mg/kg عصاره مریم گلی تغییر معنی داری در میزان تری گلیسیرید، کلسترول در مقایسه با گروه شاهد، ننموده است (جدول ۱).

جدول ۱: تاثیر سطوح مختلف عصاره مریم گلی بر برخی پارامترهای خون در رت های نر ویستار

پارامترها					تیمارها
					۳۰۰ mg/kg ۱۵۰mg/kg ۷۵mg/kg کنترل
SEM					
آلبومین (g/l)	^b ۲۱,۷۵	^a ۲۶,۲۵	^a ۲۷,۵	^a ۲۸	۰,۲۷۴۵
کلسترول (mg/dl)	۷۷,۵	۷۷	۷۵,۵	۷۱,۵	۲,۳۰۱۴۹
تریگلیسیرید (mg/dl)	۷۵,۷۵	۸۶,۷۵	۶۴	۸۱,۵	۲,۶۲۵۰
کراتینین (mg/dl)	^b ۰,۵۷۵	^a ۰,۷	^a ۰,۷	^a ۰,۷	۰,۰۰۸۸۳
پروتئین کل (g/l)	^c ۶۴	^b ۷۰,۷۵	^a ۷۷,۷۵	^{ab} ۷۱,۷۵	۰,۷۳۶۸۶
آلانین آمینوترانسفراز (u/l)	۷۵,۲۵	۸۱,۵	۵۸	۶۵,۷۵	۲,۱۴۹۲
آسپاراتات آمینوترانسفراز (u/l)	۲۹۷	۲۲۳,۵	۲۰۷,۷۵	۲۰۰	۴,۸۸۸۲

*حروف غیر مشترک نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار می باشد.

۴-بحث

هدف از این مطالعه تعیین اثر مصرف سه دوز عصاره مریم گلی بر برخی پارامترهای خون موش نژاد ویستار بود. میزان سرمی آنزیم های آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) شاخص سلامت و عملکرد طبیعی کبد می باشند و افزایش میزان آنها نشان دهنده آسیب سلولهای کبدی می باشد (۵). در این آزمایش تغییر معنی داری در میزان آنزیمها ایجاد نشد که نشانگر عدم سمیت عصاره مریم گلی بر عملکرد کبد می باشد. سنتز آلبومین در بیماریهای مختلف به خصوص در بیماریهای کبدی، کاهش می یابد (۴) بنابراین افزایش میزان آلبومین در گروههای آزمایش نشان میدهد که تزریق عصاره مریم گلی نه تنها آسیبی به بافت کبد نرسانده، بلکه می تواند سبب بهبود فعالیت کبدی شود. مشخص شده است مریم گلی دارای ترکیب آنتی اکسیدان قوی از دسته فلاونوئیدهای پلی فنلی می باشد که در خون به صورت متصل به آلبومین حمل می گردد و دارای تأثیر متقابل در افزایش میزان این پروتئین حمل کننده می باشد (۶). سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره مریم گلی طبق تحقیقات Dapkeviciu و همکاران (۱۹۹۸) نشان داد که عصاره متانولی گیاه دارای حداکثر توانایی آنتی اکسیدانی می باشد. تأثیر این عصاره (۰/۱ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان) بر حیوانات آزمایشگاهی که به مدت یک ماه اتانول مصرف کرده اند، حکایت از تأثیر مثبت گیاه در کاهش فعالیت آنزیم های کبدی، پراکسیداسیون لیپیدی (TBARS) و حفظ سطح فاکتورهای آنزیمی و غیر آنزیمی سیستم تدافعی آنتی اکسیدان دارد (۳). با توجه به نتایج سرمی کراتینین در گروههای مورد بررسی و از آنجا که میزان کراتینین سرم از رایج ترین نشانه های آزمایشگاهی عملکرد کلیه می باشد و ارتباط نزدیکی با فیلتراسیون گلومرولار دارد، به نظر می رسد که عصاره مریم گلی در دوزهای مورد بررسی روی عملکرد گلومرولار تأثیر گذاشته. هر چند افزایش سطح کراتینین به عنوان مارکر غیرمستقیم GFR ضرورتاً، منعکس کننده آسیب کلیوی نمی باشد بلکه ممکن است بطور ثانویه بیانگر دهیدراتاسیون، هایپوولمی و کاتابولیسم پروتئین می باشد (۲). برای آنکه بتوان با قاطعیت بیشتری در مورد اثرات عصاره گیاه مریم گلی روی کلیه اظهار نظر نمود لازم است تأثیرات هیستوپاتولوژی عصاره های مختلف این گیاه مورد بررسی قرارگیرد.

۵-نتیجه گیری

در مجموع این مطالعه نشان داد که از عصاره هیدروالکلی مریم گلی خصوصا در دو سطح بالاتر می توان برای بهبود عملکرد کبد استفاده نمود. بنابراین پیشنهاد می شود که از دوزهای بالاتر عصاره مریم گلی در دامهای اهلی تحقیقات بیشتری صورت گیرد.

۶-منابع

۱- امین، غلامرضا: گیاهان دارویی سنتی ایران. نشر معاونت پژوهشی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، چاپ اول، جلد اول، ۱۳۷۰، ص ۳۱-۱.

2. Cassarett Douls. Toxicology: The basic science of poison. McGraw-Hill, 2001(vol1): 195-207.

3. Dapkeviciu, A., R. Venskutonis, T.A. van Beek, J.P.H. Linssen, Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania, Journal of the Science of Food and Agriculture 77(1998).

4. Dugenci, S., Arda N, Candan A. Some medicinal plants as immune stimulant for fish. J. Ethnopharmacol 2003; 88: 99-106.

5. Ghahraman, A. 1978. Flora Ironical. Research Institute of Forest and Rangeland Publication. Vol 4.

6. Goldberg D.M., Watts C. Serum enzyme changes as evidence of liver reaction to oral alcohol. Gastroenterology 1965, (49): 256-261.

7. Javidnia K, Miri R, Kamalinejad M, Nasiri A. Composition of the essential oil of *Salvia f.* & *Esfand* from Iran. Flavor and Fragrance J. 2002; 17: 465 - 7.

8. Omidbaigi, R. 2005. Production and processing of medicinal plants, Beh-Nashr Publications Mashhad, 438p.

9. Pavela, R. 2005. Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. Fitoterapia, 76:7-8. 691-696.

10. Pino, J.A., Estrarron, M. and Fuentes, V., 1997. Essential oil of Sage (*Salvia officinalis* L.) grown in Cuba. Journal of Essential Oil. Research 45: 354 - 9.

11. Wang, M.; Shao, Y.; Li, J.; Zhu, N.; Rangarajan, M.; LaVoie, E. J.; Ho, C.-T. Antioxidative phenolic glycosides from sage (*Salvia officinalis*). J. Nat. Prod. 1999, 62, 454-456.

Effect Of different level of *Salvia officinalis* L. extracts on blood parameters in rats

Arabi, S^{*1}, Arshami, J², Haghparast, A³, Vakili, A. ²

1- M.Sc. Student, Animal physiology, Ferdowsi University of Mashhad,

2- Dept. of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad,

3- Dept. of veterinary faculty, Ferdowsi University of Mashhad

soudabeharabi@yahoo.com*

Abstract

Salvia officinalis L. important species of the genus *Salvia* which is belong to the family of Lamiaceae has been used traditionally for treatment of bacteria, fungi and Dyspepsia diseases. The aim of this study was to find the effects of *salvia officinalis* extract on blood parameter in wistar rats. To perform these experiments, 24 healthy of male rats were randomly divided into 4

groups. The control group received normal saline 10 mg/kg. The treatment groups received 75, 150 and 300mg/kg of salvia extract injection intrapritoneal (I.P) method for 14 days. Then , blood samples were collected from rats heart for serum albumin, cholesterol, creatinin, glucose, Total protein , Triglyceride, enzymes ALT (Aspartate aminotrans ferase) and AST (Alanine aminotrans ferase) using autoanalyser. Data obtained were analyzed by SAS software and mean values were compared with Tukey test. The results of data analysis showed no significant difference between treatment groups for ALT and AST, but the level of serum creatinin and albumin increased by all treatment ($P<0.05$). According to the results of this study, the increase in albumin synthesis can proceed as a sign of improvement in liver proposed activity.

Key word: Blood parameter- Rat- Salvia officinalis.

اثرات سطوح مختلف عصاره گل راعی (*Hypericum perforatum*) بر برخی فراسنجه های خونی در موش های صحرایی

طاهره عقیلی^{۱*}، جواد آرشامی^۲، عبدالمنصور طهماسبی^۲، علی رضا حق پرست^۳

۱: دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه فردوسی مشهد

۲: عضو هیأت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

۳: عضو هیأت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

aghili.t1056@yahoo.com

چکیده:

این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گل راعی بر برخی فراسنجه های خونی در موش های صحرایی انجام شد. در این مطالعه، ۳۰ سر موش صحرایی نر و بیستار به طور تصادفی به ۵ گروه شش تایی تقسیم شدند. گروه شاهد محلول نرمال سالین و تیمارهای آزمایشی دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم عصاره گل راعی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن را به صورت تزریق داخل صفاقی به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. خونگیری در روز ۱۵ آزمایش به منظور تعیین میزان کلسترول، تری گلیسرید، کراتینین، پروتئین کل و آلبومین سرم توسط کیت های تجاری انجام شد. در این آزمایش تفاوت معنی داری در میزان کلسترول، تری گلیسرید و پروتئین کل در تیمارهای مختلف مشاهده شد ($P < 0.05$). نتایج نشان داد که میزان تری گلیسرید و کلسترول در تیمارها در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0.05$). در نتیجه با توجه به نتایج این تحقیق عصاره هیدروالکلی گل راعی احتمالاً می تواند در کاهش کلسترول خون مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: فراسنجه های خونی - موش های صحرایی - عصاره گل راعی

مقدمه

تاریخ استفاده از گیاهان دارویی توسط انسان به هزاران سال پیش برمی گردد ولی در چند سال اخیر توجه زیادی به استفاده از آنها برای مصارف حیوانی و به عنوان افزودنی خوراکی درغذای انسان شده است. گل راعی با نام علمی *Hypericum perforatum* یک گیاه دارویی علفی چندساله و تتراپلوئید، از خانواده *Hypericaceae* می باشد. مهمترین مواد موثره این گیاه شامل: نفتودیانترون ها (هیپرسیسین و پسودوهیپرسیسین)، فلوروگلوکوسینول (هیپرفورین و ادهیپرفورین)، فلاونوئیدها (کامپفرول، کوئرستین، روتین) و اسانس می باشد. این گیاه به دلیل داشتن هیپرسیسین و هایپرفورین دارای خواص مهمی مانند ضد افسردگی، ضد میگرن، ضد ویروس و ضد باکتری می باشد و در صنایع دارویی کاربرد فراوانی دارد (۱، ۴ و ۵). درمان با عصاره گل راعی به دنبال رژیم پرکلسترول از پیشرفت آترواسکلروز جلوگیری می کند، که احتمالاً با کاهش فاکتورهای خطر و سازوکار های آنتی اکسیدانی که موجب درمان آترواسکلروز می شوند، ارتباط دارد. بنابراین، کاهش ضایعات آترواسکلروز احتمالاً در ارتباط با کاهش فشار های اکسیداتیو می باشد (۳). با توجه به تحقیقات محدود در خصوص اثرات استفاده از عصاره ی گل راعی بر برخی فراسنجه های خونی در حیوانات تک معده ای، این آزمایش در همین راستا و با استفاده از سطوح مختلف عصاره گل راعی انجام گرفت.

مواد و روش ها

حیوانات مورد آزمایش

تحقیق حاضر در محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. در این آزمایش از موش های صحرایی ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۴۰ گرم که از محل تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی مؤسسه پاستور کرج تهیه شده بودند، استفاده شد. این حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای ۲۳-۲۴ درجه سانتی گراد و با دسترسی آزاد به آب و غذا در اتاق حیوانات نگهداری شدند.

جمع آوری گیاه و روش عصاره گیری

سرشاخه های گلدار خشک گل راعی از پارک علم و فناوری خراسان رضوی تهیه شد. عصاره گیری به روش خیساندن انجام شد (۱۰). ده گرم پودر گیاه در ۱۲۰ میلی لیتر اتانل ۵۰ درجه به مدت سه روز خیسانده و سپس مخلوط حاصل صاف گردید. آنگاه عصاره در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و فشار پایین تغلیظ شد و در فریز درایر به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید.

تیمارهای آزمایشی

سطوح صفر (۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن محلول نرمال سالین) ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم عصاره گل راعی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

اندازه گیری صفات

در پایان دوره آزمایش، پس از بیهوشی موش های صحرایی خونگیری از قلب آنها انجام گرفت. به منظور جداسازی سرم نمونه های خون در لوله آزمایشی ریخته و در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۲۵۰۰ در دقیقه قرار داده شد. میزان کلسترول، تری گلیسرید، کراتینین، پروتئین کل و آلبومین سرم خون با استفاده از کیت های تجاری (شرکت زیست شیمی، ایران) اندازه گیری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه، داده های جمع آوری شده با استفاده از طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند و اختلاف بین میانگین داده ها توسط آزمون Tukey و نرم افزار ۱۶ Minitab تعیین گردید. اختلاف بین میانگین گروهها در سطح ۵٪ معنی دار اعلام شد.

نتایج و بحث

اثرات سطوح مختلف عصاره گل راعی بر برخی فراسنجه های خونی در جدول یک آمده است.

جدول ۱: تأثیر سطوح مختلف عصاره گل راعی بر فراسنجه های خونی در موش های صحرایی

فراسنجه های خونی				تیمارها
کلسترول (mg/dL)	تری گلیسرید (mg/dL)	پروتئین کل (g/L)	کراتینین (mg/dL)	عصاره گل راعی (bw kg/mg)
۸۰/۷۰ ^a	۸۰/۸۰ ^{ab}	۶۳/۲۰ ^{a*}	۰/۶۰	۰



۶۳/۲۰ ^{ab}	۵۵/۲۵ ^b	۵۹/۸۰ ^{ab}	۰/۶۰	۵۰
۷۱/۸۰ ^{ab}	۱۲۴/۲۵ ^a	۵۵/۵۰ ^{ab}	۰/۶۰	۱۰۰
۷۷/۰۰ ^{ab}	۷۹/۸۰ ^{ab}	۶۳/۰۰ ^a	۰/۶۰	۲۰۰
۵۶/۵۰ ^b	۴۶/۵۰ ^b	۵۰/۵۰ ^b	۰/۵۰	۴۰۰
۵/۵۲	۱۰/۴۲	۲/۶۰	۰/۰۴	SE M

* حروف غیر مشترک در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ می باشد.

طبق نتایج این مطالعه، سطح کلسترول خون در تیماری که ۴۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری کاهش یافته است که با نتایج محمد حسین و همکاران (۲۰۱۱) همخوانی دارد. آنها گزارش کردند که تغذیه عصاره گل راعی به مدت ۱۵ روز در موشها منجر به کاهش معنی دار کلسترول پلاسما گردید. حکیم اوغلو و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که عصاره گونه *Lysimachioides* گل راعی سبب کاهش کلسترول کل و LDL گردید. همچنین آنها بیان کردند که احتمالاً وجود استرول های گیاهی سبب کاهش کلسترول می شوند. البته اثر کاهندگی استرولهای گیاهی بر لیپید های خون در مطالعات دیگر نیز نشان داده شده است (۶، ۷ و ۹). در آنالیز کیفی عصاره گل راعی وجود فلاونوئیدها، گلیکوزیدها و استرول ها گزارش شده است (۱۱). در این مطالعه، کاهش کلسترول ممکن است به دلیل فعالیت ساز و کار جبرانی نظیر کاهش بازجذب کلسترول داخلی یا افزایش ترشح کلسترول در روده و یا هر دو مورد یاد شده باشند. بنابراین، می توان نتیجه گیری نمود که عصاره هیدروالکلی گل راعی احتمالاً می تواند در کاهش کلسترول خون مؤثر باشد.

منابع

۱. عزیزی، م.، دیاس، آ. ۱۳۸۲. بررسی خصوصیات مرفولوژیکی گل راعی بومی ایران و میزان مواد مؤثره موجود در آن به روش HPLC-DAD. مجله علوم و صنایع کشاورزی. ۱۷ (۱): ۲۱-۳۰.
۲. قاضیان تفریسی، گ.، عزیزی، م.، فارسی، م. ۱۳۸۵. بررسی کشت درون شیشه ای گل راعی بومی ایران (*Hypericum perforatum*). فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۲ (۳): ۱۷۲-۱۷۹.
۳. کبیری ن، عسگری ص، رحیمی پ. ۱۳۹۰. کاهش و پس رفت ضایعات آترواسکلروزی به وسیله عصاره هیدروالکلی گیاه گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) در خرگوش های هایپرکلسترولمیک. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۷ (۴): ۶۲۴-۶۳۴.
۴. نقدی بادی، ح.، ضیایی، س.ع.، میرجلیلی، م.ح.، اهوایی، م.، خلیقی سیگارودی، ف.، حبیبی خانایانی، ب.، فراهانی، ا. ۱۳۸۲. تغییرات عملکرد کمی و میزان هیپریسین توده های مختلف گیاه دارویی هوفاریقون. فصلنامه گیاهان دارویی. ۱۱: ۵۹-۶۷.
5. Azizi, M. 2007. Change in content and chemical composition of *Hypericum perforatum* L. oil at three harvest time. Journal of herbs, spices and medicinal plants. 13 (2): 79-85.
6. Katan BM, Grundy SM, Jones P, Law M, Miettinen T, Paoletti R. Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. Mayo Clin Proc 2003;78:965-78.

7. Kumar V., Singh PN., Bhattacharya SK, 2001. Anti-inflammatory and analgesic activity of Indian *Hypericum perforatum* L. Indian J. Exp. Biol. 2001; 39: 339-43.
8. Nguyen HA, Miller AI, Dieperink E, Willenbring ML, Tetrack LL, Durfee JM, Ewing SL, Ho SB (2001) Spectrum of disease in U.S. veteran patients with hepatitis C. Am J Gastroenterol 97:1813-1820.
9. Nguyen T. The cholesterol-lowering action of plant stanol esters. J Nutr 1999;129:2109-12.
10. Pavela, R. 2005. Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. Fitoterapia, 76:7-8. 691-696.
11. Raso GM, Pacilio M, Di-Carlo G, Esposito E, Pinto L, Meli R, 2002. In-vivo and in-vitro antiinflammatory effect of *Echinacea purpurea* and *Hypericum perforatum*. J. Pharm. Pharmacol, 54: 1379-83.
12. Saddiqe, Z. Naeem, I. Maimoona, A. 2010. A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. J. Ethnopharmacology :131 (2010) 511-521.

The effects of different levels of *Hypericum perforatum* extract on some blood parameters in male rats

Aghili, T.,^{1*} Arshami, J.,² Tahmasbi, A. M.², Hagh Parast, A. R.³

1:Graduate Student in Animal Physiology, Ferdowsi University of Mashhad

2:Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi of University of Mashhad; Mashhad, Iran

3:Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi of University of Mashhad; Mashhad, Iran

Email: Aghili.t1056@yahoo.com

Abstract

Hypericum perforatum is known to be Hypericaceae family. In the last few years, this plant is given more attention for its antidepressant activity. The aim of present study was to investigate the effect of *Hypericum perforatum* extract on blood parameters of Wistar male rats. In this study, rats (n=30) were assigned randomly to five groups (6 rats/each). The control group received normal saline and the treatment groups 50, 100, 200 and 400 mg/kg *Hypericum* extract intra-peritoneal for 14 days. The blood collected on day 15 of experiment in order to determine the levels of serum glucose, cholesterol, triglyceride, creatinin, total protein and albumen in serum using biochemical kits.

The results showed that triglyceride and cholesterol in treatments decreased significantly when compared to the control group ($p < 0.05$). In this study, the creatinin level between treatment groups and the control group did not differ significantly. The levels of glucose, cholesterol, triglyceride and total protein showed significant differences ($p < 0.05$).

Key words: *Hypericum Perforatum* extract, blood parameters, male rats

تاثیر استفاده از روغن‌های گیاهی غیراشباع عبوری و غیرعبوری در جیره‌های فلاشینگ بر غلظت هورمون‌ها و متابولیت‌های خونی

مرتبط با فرایندهای تولیدمثلی

حسین دقیق کیا^{*}، بهرام رهبر^۱، علی حسین خانی^۱، صادق علیجانی^۱

^۱گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

*نویسنده مسئول: daghighkia@tabrizu.ac.ir

چکیده

هدف از انجام این آزمایش ارزیابی تاثیر استفاده از روغن‌های گیاهی غیراشباع به صورت عبوری و غیرعبوری در جیره فلاشینگ بر روی هورمون‌ها و متابولیت‌های خونی مرتبط با تولیدمثل گوسفند قزل بود. بدین منظور ۳۶ راس گوسفند قزل در سه تیمار به مدت ۴۲ روز در قالب طرح کامل تصادفی مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات در ۳ گروه دوازده راسی قرار داده شدند. گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از: شاهد (بدون مکمل چربی در جیره)، گروه با مکمل چربی روغن بذک (۵٪ ماده خشک جیره) و گروه با مکمل چربی نمک کلسیمی روغن پالم (۵٪ ماده خشک جیره). تمام جیره‌های غذایی از لحاظ انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام وضعیت مشابهی داشتند. برای همزمان سازی فحلی دام‌ها از سیدر استفاده شد. خون‌گیری در ۴ مرحله، شروع آزمایش، ۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از سیدربرداری از ورید و داج انجام گرفت. میزان کلسترول سرم خون گروه‌های مصرف کننده مکمل چربی نسبت به گروه شاهد بیشتر بود ($P < 0.05$). مقدار گلوکز تیمار روغن بذک نسبت به تیمارهای دیگر بالاتر بود ($P < 0.05$). میزان هورمونهای انسولین و استروژن در تیمار روغن بذک نسبت به دیگر تیمارها افزایش یافت ($P < 0.05$). نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از روغن بذک موجب افزایش متابولیت‌ها و هورمون‌های مرتبط با تولیدمثل شده که در پی بالا رفتن این هورمون‌ها و متابولیتها می‌توانند موجب افزایش رشد فولیکولی، میزان تخمک-ریزی شود.

واژه‌های کلیدی: روغن‌های گیاهی - فلاشینگ - گوسفند قزل

مقدمه

افزودن مکمل چربی به جیره دام‌های نشخوارکننده موجب بهبود عملکرد تخمدان‌ها، افزایش رشد و توسعه فولیکولهای کوچک و در نهایت موجب افزایش نرخ تخمک‌ریزی می‌شود (۱). استفاده از روغن غیراشباع و غیرعبوری در جیره موجب افزایش غلظت-های سرمی لیپوپروتئین، کلسترول، هورمون رشد، انسولین، کلسترول و IGF-1 می‌شود (۱۰). جیره‌های حاوی مکمل چربی مخصوصا روغن‌های گیاهی غنی از اسیدهای چرب غیراشباع غیرعبوری ممکن است موجب تحریک دینامیک فولیکولی و عملکرد جسم زرد گاوهای با وضعیت بدنی ضعیف پس از زایمان شود که این اثرات مستقل از انرژی جیره و افزایش وزن زنده می‌باشند (۸). در آزمایش حاضر روغن بذک بعنوان یک منبع چربی غیرعبوری مورد استفاده قرار گرفت. درعین حال با توجه به اثرات متقابل روغن‌های غیر اشباع و شرایط تخمیری شکمبه، یک منبع چربی (بصورت نمک کلسیمی) نیز مورد استفاده قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در ایستگاه تحقیقاتی و اصلاح نژاد گوسفند قزل واقع در شهرستان میاندوآب با ۳۶ راس گوسفند ماده ۳/۵ ساله تک قلوزا با سابقه دو شکم زایش با وزن 50 ± 3 کیلوگرم با شرایط محیطی یکسان و در ۳ گروه ۱۲ راسی مورد استفاده قرار گرفت. دامها در تیمارهای فلاشینگ علاوه بر جیره پایه مقداری جیره اضافی در حد احتیاجات فلاشینگ با انرژی قابل هضم و پروتئین

خام تقریباً مساوی، بصورت روزانه دریافت کردند؛ تیمارها شامل: گروه A: روغن بذرك (۵ درصد ماده خشك جیره)، گروه B: نمك كلسمی روغن پالم (۵ درصد ماده خشك جیره) و گروه C: گروه شاهد (فاقد مكمل چربی) بودند. گوسفندها با سیدر به مدت ۱۴ روز همزمان سازی فحلی شدند. برای بررسی تاثیر منابع مختلف انرژی بر روی متابولیت‌ها و هورمون‌های خونی مرتبط با تولیدمثل، خون‌گیری در ۴ مرحله: شروع آزمایش، ۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از سیدربرداری از ورید و داج گردنی انجام گرفت. سرم نمونه‌های خون با استفاده از سانتریفیوژ جدا شده و تا زمان آزمایش در دمای 20°C نگهداری شدند. میزان گلوکز، کلاسترول و نیتروژن اوره خون (BUN) توسط کیت‌های مخصوص و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و مقادیر هورمون‌های انسولین، پروژسترون و استروژن سرم خون با کیت‌های مربوطه و با روش الیزا اندازه‌گیری شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS و رویه MIXED استفاده شده و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی-کرامر انجام گرفت. نتایج و بحث

استفاده از منابع مختلف چربی در جیره گوسفندان قزل منجر به بروز تفاوت‌های معنی‌دار در متابولیت و هورمون‌های خونی مرتبط با تولیدمثل گردید (جدول ۱). تیمار روغن بذرك با ۱۰۸ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر گلوکز در ۲۴ ساعت بعد سیدربرداری، بیشترین غلظت گلوکز را در بین تیمارها داشت. گلوکز یکی از سوسترهای متابولیکی خیلی مهم برای عملکرد مناسب پروسه تولیدمثلی است. با دستکاری در تغذیه حیوان و با افزایش فعالیت‌های گلوکونئوزنزی می‌توان ترشح GnRH را فراتر از حد آستانه ترشح آن تحریک نمود (۴). روغن‌های گیاهی غنی از اسید الئیک (۱۸:۱) و اسیدلینولئیک (۱۸:۲) و اسیدلینولئیک (۱۸:۳) موجب افزایش فعالیت گلوکونئوزنزی از طریق افزایش تولید پروپیونات در شکمبه شده (۲) و در پی آن سنتز گلوکز افزایش یافته و باعث افزایش غلظت انسولین خون می‌شوند (۵). گلوکز یک منبع مهم انرژی برای تخمدان‌ها بوده و بعنوان سوخت متابولیکی اولیه مورد استفاده سیستم عصب مرکزی مطرح می‌باشد؛ در صورت ناکافی بودن دسترسی به گلوکز قابل استفاده، آزاد سازی GnRH از هیپوتالاموس کاهش می‌یابد (۷). در این تحقیق استفاده از مکمل روغن بذرك به خاطر داشتن اسیدهای چرب غیراشباع غیرعبوری (اسید الئیک (۱۸:۱) و اسیدلینولئیک (۱۸:۳)) جیره، موجب افزایش میزان گلوکز خون نسبت به دیگر گروه‌ها شده است. غلظت کلاسترول سرم خون در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0.01$)، بطوریکه مقدار کلاسترول سرم تیمارهای چربی در ۲۴ ساعت قبل از سیدر برداری نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد. کلاسترول نیز در رشد و توسعه فولیکول‌ها موثر می‌باشد. سطوح بالای گلوکز و کلاسترول بر روی هورمون‌های گونادوتروپیکی تاثیر گذاشته و موجب آزاد سازی LH می‌شود (۳). غلظت BUN سرم خون در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان ندادند.

استفاده از روغن بذرك سطح هورمون انسولین را در مقایسه با سایر گروه‌ها بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد ($P < 0.05$). افزایش سطوح سرمی انسولین بی‌ارتباط با سطح گلوکز خون نیست و احتمالاً در پاسخ به سطوح بالای گلوکز خون در این گروه از حیوانات افزایش یافته است. انسولین یک عامل موثر شناخته شده‌ای برای عملکرد فولیکولی در چندین گونه از دام می‌باشد و وظایفی از قبیل: افزایش فعالیت استروئیدسازی در سلولهای گرانولوزا، میتوز سلولی و تغییر و تمایز مورفولوژیکی در فولیکول‌ها و افزایش میزان غلظت پروژسترون در مایع فولیکولی را بر عهده دارد (۹). پس بنظر می‌رسد افزایش غلظت انسولین باعث رشد و توسعه فولیکول‌های بیشتری شده و متعاقب آن میزان تخمک‌ریزی بیشتر شود. آزمایشات انجام گرفته بر روی گوسفند نشان داده است که تیمارهای غذایی که بتواند غلظت گلوکز خون را افزایش داده و در پی آن موجب افزایش انسولین شوند، می‌توانند باعث افزایش آزاد سازی GnRH شوند (۶).



غلظت استروژن سرم خون در زمان استروس بین تیمارها تفاوت معنی داری داشت ($P < 0.05$). تیمار روغن بذرك با ۱۴۴ پیکوگرم بر میلی‌لیتر استروژن در مرحله استروس بیشترین غلظت استروژن را در بین تیمارها داشت. مکمل روغن بذرك در جیره موجب رشد و توسعه فولیکول‌ها شده و به تبع آن مقدار استروژن و تخمک‌ریزی افزایش یافت. تعداد نتاج می‌تواند همبستگی بالایی با غلظت استروژن در مرحله پرواستروس و استروس داشته باشد، چرا که غلظت زیاد استرادیول در فاز فولیکولی با فیدبک مثبت، سبب سرژ ترشحی گونادوتروپین‌ها می‌شود. این مکانیسم هم از راه افزایش فرکانس ترشحی GnRH و هم با افزایش حساسیت هیپوفیز پیشین نسبت به GnRH سبب آزاد شدن LH و FSH خواهد شد (۵). غلظت پروژسترون سرم خون تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت.

جدول ۱- اثر افزودن مکمل های چربی بر روی متابولیت و هورمون‌های خونی مرتبط با تولیدمثل

جیره			متابولیت‌ها و هورمون‌ها	
C	B	A		
۶۱/۲±۴/۲	۶۳±۴/۲	۶۳/۳±۴/۲	شروع آزمایش	گلوکز (mg/dl)
۸۶/۵ ^b ±۴/۲	۸۳/۱ ^b ±۴/۲	۱۰۰/۵ ^a ±۴/۲	۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری	
۷۸ ^b ±۴/۲	۸۴/۲ ^b ±۴/۲	۱۰۸/۶ ^a ±۴/۲	۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری	
۷۴/۶ ^b ±۴/۲	۷۸/۱ ^b ±۴/۲	۱۰۱/۷ ^a ±۴/۲	۴۸ ساعت پس از سیدربرداری	
۷۱/۶±۲/۸	۷۱/۱±۲/۸	۷۰/۱±۲/۸	شروع آزمایش	کلسترول (mg/dl)
۷۲/۷ ^b ±۲/۸	۱۰۳/۵ ^a ±۲/۸	۹۷/۳ ^a ±۲/۸	۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری	
۷۳/۷ ^b ±۲/۸	۱۰۵/۸ ^a ±۲/۸	۹۹/۹ ^a ±۲/۸	۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری	
۷۸ ^b ±۲/۸	۱۱۰ ^a ±۲/۸	۱۰۳/۶ ^a ±۲/۸	۴۸ ساعت پس از سیدربرداری	
۱۴/۴±۱/۷	۱۴/۷±۱/۷	۱۵/۱±۱/۷	شروع آزمایش	BUN (mg/dl)
۲۴/۸±۱/۷	۲۶/۷±۱/۷	۲۴/۹±۱/۷	۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری	
۲۴/۶±۱/۷	۲۵/۹±۱/۷	۲۶/۱±۱/۷	۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری	
۲۶/۵±۱/۷	۲۴±۱/۷	۲۵/۳±۱/۷	۴۸ ساعت پس از سیدربرداری	
۴۶/۷±۹/۶	۴۸/۴±۹/۶	۴۹/۷±۹/۶	شروع آزمایش	انسولین (IU/ml)
۴۶/۸ ^b ±۹/۶	۵۰/۵ ^b ±۹/۶	۶۸/۸ ^a ±۹/۶	۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری	
۴۵/۴ ^b ±۹/۶	۴۷/۴ ^b ±۹/۶	۶۹/۴ ^a ±۹/۶	۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری	
۴۴/۸ ^b ±۹/۶	۴۲/۳ ^b ±۹/۶	۶۵/۳ ^a ±۹/۶	۴۸ ساعت پس از سیدربرداری	
۳/۳±۰/۶	۴±۰/۶	۳/۴±۰/۶	شروع آزمایش	پروژسترون (ng/ml)
۲/۹±۰/۶	۳/۵±۰/۶	۴/۴±۰/۶	۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری	
۱/۴±۰/۶	۱/۵±۰/۶	۱/۸±۰/۶	۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری	
۰/۹±۰/۶	۱/۰۱±۰/۶	۱/۷۶±۰/۶	۴۸ ساعت پس از سیدربرداری	



استروژن (pg/ml)	۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری	۱۱۷/۷ ^a ±۴/۸	۱۰۳/۵ ^b ±۴/۸	۱۰۶/۵ ^b ±۴/۸
	۴۸ ساعت پس از سیدربرداری	۱۴۴/۳ ^a ±۴/۸	۱۱۹ ^b ±۴/۸	۱۲۵ ^b ±۴/۸

A روغن بذرك؛ B نمك كلسيمى روغن پالم و C شاهد

حروف لاتین غیر مشابه در هر سطر بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح (P<۰/۰۵) می باشد.

منابع

1. Aranda-Avila, I. Herrera-Camacho, J. Ake-Lopez, J.R. Delgado-Leon, R.A. and Ku-Vera, J.C. 2010. Effect of supplementation with corn oil on postpartum ovarian activity, pregnancy rate, and serum concentration of progesterone and lipid metabolites in F1 (Bos taurus × Bos-indicus) cows. J. Trop Anim Health Prod. 42: 1435–1440.
2. Chalupa, W.B. Vecchiarelli, A. Elser, D.S. Kronfeld and D.L. Palmquist. 1986. Ruminal fermentation in vivo as influenced by long-chain fatty acids. J.Dairy Sci. 69:1293 1301.
3. Flint, A.P.F. Denton, R.M. 1969. Glucose metabolism in the super ovulated rat ovary in vitro. J. Biochem. 112: 243–254.
4. Hess, B.W. Lake, S.L. Scholljegerdes, E.J. Weston, T.R. Nayigihugu, V. Molle, J.D.C. and Moss, G.E. 2005. Nutritional control of beef cow reproduction. J. Anim Sci. 83: 90-106.
5. Lammoglia, M.A. Willard, S.T. Hallford, D.M. and Randel, R.D. 1997. Effects of dietary fat on follicular development and circulating concentrations of lipids, insulin, progesterone, estradiol- 17b, 13, 14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2a and growth hormone in estrous cyclic Brahman cows. J. Anim Sci. 75:1591-1600.
6. Miller, D.W. Blache, D. Boukhliq, R. Curlewis, J.D. and Martin, G.B. 1998. Central metabolic messengers and the effects of nutrition on gonadotrophin secretion in sheep. J. Reprod and Fertil. 112: 347–356.
7. Rabiee, A.R. and Lean, I.J. 2000. Uptake of glucose and cholesterol by the ovary of sheep and cattle and the influence of arterial LH concentrations. Anim Reprod Sci. 64: 199-209.
8. Smith, T.H. 2001. Feeding fat to cows: feeding vegetable fats during lactation can increase the number of cows that are cycling by breeding season. Angus Beef Bulletin/March.
9. Spicer, L.J. Alpizar, A. and Echternkamp, S.E. 1993. Effects of insulin, insulin-like growth factor-I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and(or) insulin-like growth factor-I production in vitro. J. Anim Sci; 71:1232-1241.
10. Talavera, F. Park, C.S. and Williams, G.L. 1985. Relationships among dietary lipid intake, serum cholesterol and ovarian function in Holstein heifers. J. Anim Sci. 60:1045-1051.

Effect of unsaturated vegetable oils in the form of inert and non-inert in flushing diets on blood hormones and metabolites related with reproductive performance

H. Daghighi^{1*}, B. Rahbar¹, A. Hossein Khani¹ and S. Alijani¹

¹Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

*Corresponding Author: daghighkia@tabrizu.ac.ir

Abstract

The objective of this study was evaluation the effect of unsaturated vegetable oils in the form of inert and non-inert in flushing diets on blood hormones and metabolites related with reproduction in Ghezel ewe. 36 Ghezel sheep were used in three treatments for 42 days in completely randomized design. Animal allocated in 3 groups including 12 ewes in each group. Experimental groups were as follow: control (without supplemental fat in diet), sunflower oil (5% of ration dry matter) and calcium salts of palm oil (5% of ration dry matter). All the diets had similar metabolizable energy and crude protein content. CIDR was used for estrus synchronization. Blood sampling was performed in four phases, in the beginning, 24 hours before CIDR removal, 24 and 48 hours after CIDR removal from the jugular vein. Supplementation of fat resulted to higher levels of serum cholesterol ($P<0.01$). Groups with flaxseed oil in flushing diet had higher glucose levels than others ($P<0.01$). Insulin and estrogen hormones increased in the flaxseed oil supplemented group than others ($P<0.05$). The results of this study showed that, using of flaxseed oil increased metabolites and hormones related to reproduction and subsequently increased follicular growth and ovulation rate.

Keywords: Vegetable oil- flushing- Ghezel ewe

تأثیر افزودن سطوح مختلف اسیدآمینه L- سیستئین بر پارامترهای دینامیکی اسپرم گاو
حسین دقیق کیا^{۱*}، رستگار الفتی کرجی^۱، علی حسین خانی^۱، ایرج غفاری^۲ و آصف احمدفاضل^۱

^۱گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

^۲مرکز اصلاح نژاد و اسپرم گیری شیخ حسن

*نویسنده مسئول: daghighkia@tabrizu.ac.ir

چکیده

هدف از مطالعه حاضر تعیین تأثیر سطوح مختلف سیستئین بر روی پارامترهای عملکردی اسپرم در صفر و ۲ ساعت پس از یخ گشایی منی گاو نر نژاد هلشتاین می‌باشد. در این تحقیق از ۴ گاو نر هلشتاین (۴-۵ ساله) سالم و با شرایط نگهداری و تغذیه یکسان استفاده شد. نمونه‌های منی با رقیق کننده تریس زرده تخم با میزان اسپرم 3×10^6 در هر میلی‌لیتر رقیق شده و L- سیستئین در سه سطح ۰، ۲ و ۵ میلی‌مولار در هر تیمار آزمایشی بکار برده شد. تیمارها تحت شرایط یکسان منجمد شده و تا هنگام ارزیابی پس از یخ‌گشایی در ازت مایع نگهداری شدند. پارامترهای تحرک پیش‌رونده، منحنی سرعت حرکت (VCL)، میانگین سرعت حرکت (VAP) و سرعت حرکت در خط راست (VSL) اسپرم‌ها در صفر و ۲ ساعت بعد از یخ‌گشایی توسط آنالیزگر کامپیوتری (CASA) ارزیابی شدند. افزودن مقادیر ۳ و ۵ میلی‌مولار از L- سیستئین بویژه سطح ۵ میلی‌مولار به رقیق کننده تریس زرده تخم مرغ، جهت محافظت از لطمات ناشی از سرما به منی گاو احتمالاً می‌تواند باعث بهبود ویژگی‌های عملکردی و میزان ماندگاری اسپرماتوزوآ و نهایتاً سطح باروری شود. واژه نامه‌های کلیدی: اسپرم - رقیق کننده - L- سیستئین - تحرک اسپرم

مقدمه

به علت استفاده گسترده از اسپرم منجمد در صنعت پرورش گاو شیری، کلیه مراحل استحصال، عمل‌آوری، ذخیره و انتقال منی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، با اینحال هنوز راندمان نگهداری منی از وضعیت مناسبی برخوردار نیست. تعداد زیادی از اسپرم‌ها به علت آسیب‌های وارد شده در طول انجماد/ یخ‌گشایی قادر نیستند که تخمک را بارور سازند. مراحل انجماد، نگهداری و یخ-گشایی اسپرم با استرس اکسیداتیوی حاصل از افزایش رادیکال‌های آزاد مرتبط است (۱۰) که سبب تغییرات فیزیکی و شیمیایی بر روی غشاء پلاسمای اسپرم می‌شود (۶). سیستئین یک اسیدآمینه سولفوردار است که گروه تیول آن DNA و غشاء اسپرماتوزوآ را در برابر استرس اکسیداتیوی محافظت می‌کند و همچنین در ساختار گلوکاتایون به عنوان عامل آنتی‌اکسیدانی عمل می‌کند. بنابراین از این اسیدآمینه می‌توان جهت کاهش صدمات ناشی از رادیکال‌های آزاد تولید شده در نتیجه فرآیند انجماد منی استفاده نمود. هدف از انجام این مطالعه تعیین تأثیر سطوح مختلف سیستئین بر روی پارامترهای دینامیکی اسپرم در صفر و ۲ ساعت پس از یخ‌گشایی منی گاو نر نژاد هلشتاین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات و روش نمونه‌گیری

این تحقیق در مرکز اصلاح نژاد غرب و شمال غرب انجام شد. برای این منظور از ۴ گاو نر هلشتاین (۴-۵ ساله) سالم و با شرایط نگهداری و تغذیه یکسان اسپرم‌گیری شد. در مجموع ۱۶ نمونه‌گیری منی (۴ مرتبه از هر گاو) توسط واژن مصنوعی انجام شد. منی حیوانات قبل از انجماد ارزیابی شد و نمونه‌های منی که شرایط استاندارد (جمعیت بیش از ۵۰۰ میلیون اسپرم در هر میلی لیتر، تحرک پیش‌رونده بیش از ۷۰٪ و ناهنجاری کمتر از ۱۰٪) را داشتند، جهت اعمال تیمارهای آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت. جهت حذف تفاوت‌های فردی بین حیوانات، انزال گاوها (در هر تکرار) به نسبت یکسان ترکیب شدند.

فرآوری اسپرم

در مطالعه حاضر اسیدآمینه L - سیستئین (Merck، آلمان) در ۳ سطح ۲، ۳ و ۵ میلی مول به نمونه‌های منی موجود در رقیق‌کننده تریس زرده تخم با تعداد 60×10^6 اسپرم/میلی لیتر پیش از انجماد افزوده شد و یک تیمار فاقد اسیدآمینه (شاهد) در نظر گرفته شد. نمونه‌ها در پایت‌های ۰/۵ میلی لیتری به روش دستی پر و توسط دستگاه پرس ویژه (IMV، فرانسه) بسته بندی شدند. پایت‌ها مطابق روش انجماد آن مرکز توسط دستگاه نیمه اتوماتیک فریزکننده (Minitub، آلمان) تحت شرایط یکسان منجمد شده و تا هنگام ارزیابی پس از یخ‌گشایی در ازت مایع نگهداری شدند.

بررسی پارامترهای دینامیکی اسپرم و تجزیه و تحلیل آنها

بعد از یخ‌گشایی میزان تحرک پیش‌رونده، VCL، VAP و VSL، ۲۰۰ اسپرم در هر نمونه، توسط CASA مجهز به میکروسکوپ فازکتر است با بزرگنمایی $\times 100$ (Nikon، ژاپن) و دارای صفحه گرم، در زمان‌های صفر و ۲ ساعت ارزیابی شدند. داده‌های بدست آمده از این آزمایش با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تفاوت میانگین حداقل مربعات سطوح مختلف در سطح ۰/۰۵ مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

با توجه به اینکه گروه تیول DNA، غشاء پلاسمایی و پروتئین‌های غشاء داخل و خارج سلول اسپرماتوزوآ را در برابر آسیب‌های ناشی از اکسیدان‌ها و رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند، بنابراین قبل از انجماد نمونه‌های منی از L - سیستئین، برای کاستن آسیب‌های وارده در جریان انجماد منی استفاده شد. نتایج حاصل از این بررسی بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در صفات مورد بررسی در بین نمونه‌های تیماری بلافاصله بعد از یخ‌گشایی (ساعت صفر) بود (جدول ۱) که این نتایج با مطالعات پیشین (۷، ۹) مطابقت داشت. غشاء پلاسمایی اسپرم گاو و گوسفند سرشار از اسیدهای چرب غیر اشباع است، بنابراین در طی مراحل فرآوری و انجماد/ یخ‌گشایی در اثر افزایش عوامل اکسیدانی انواع اکسیژن فعال (ROS) اسیدهای چرب غیر اشباع دنا توره می‌شوند بنابراین با آسیب دیدن غشاء پلاسمایی تردد منابع انرژی بویژه منوساکاریدها از محیط به داخل سلول مختل میگردد، به عبارتی کاهش منابع انرژی در دسترس سلول تحرک اسپرماتوزوآ را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۱). نتایج به دست آمده از ارزیابی نمونه‌ها پس از ۲ ساعت انکوباسیون نشان داد که میزان تحرک پیش‌رونده در گروه سیستئین با سطح ۵ میلی مولار نسبت به گروه شاهد بطور معنی‌داری بالاتر بود ($P < 0/05$) ولی در تیمارهای سیستئین با سطوح ۳ و ۵ میلی مولار، تحرک کل در مقایسه با گروه شاهد بیشتر بود ($P < 0/05$) (جدول ۱). این نتایج با مطالعات انصاری و همکاران (۵) مطابقت داشت اما منطبق بر گزارشات مالو و همکاران (۷) نبود. میزان VCL در ساعت دوم، در گروه L - سیستئین با سطح ۵ میلی مولار نسبت به گروه شاهد بالاتر بود ($P < 0/05$) (جدول ۱) که مطالعات قبلی (۷) نیز نتایج مشابهی در این خصوص گزارش کردند. برای سایر پارامترها بین گروه‌ها در زمان دوم ارزیابی تغییر چشم‌گیری مشاهده نشد. پارامترهای دینامیکی اسپرماتوزوآ مانند تحرک کل، تحرک پیش‌رونده،



VAP، VCL و VSL با نرخ باروری گاو همبستگی مثبتی را نشان می‌دهند (۴). داده‌های حاصل از این مطالعه نشان دادند که افزودن آنتی اکسیدان L-سیستین در ساعت اولیه تاثیری بر پارامترهای دینامیکی اسپرماتوزوآ ندارد که احتمال می‌رود این اسید آمینه در ساعت اولیه پس از یخ‌گشایی نتواند اثر خود را بر سیستم متابولیسم و خشتی سازی عوامل اکسیدانی اعمال کند؛ این درحالیست که ارزیابی پارامترهای دینامیکی در ۲ ساعت و در مقادیر ۳ میلی مولار بر تحرک کل و ۵ میلی مول نشان دهنده بهبود تحرک پیشرونده، تحرک کل و VCL بود؛ بنابراین با گذشت زمان این اسید آمینه قادر است با دخالت در سیستم پاکسازی رادیکال‌های آزاد، پارامترهایی که با باروری همبستگی مثبتی دارند را نسبتاً بهبود بخشد. معنی‌دار شدن VCL حاکی از آن است که L-سیستین بر هاپراکتیو شدن اسپرماتوزوآ تاثیر مثبتی دارد. به عبارت دیگر این تاثیر مثبت، توانایی حرکت اسپرماتوزوآ در موکوس سرویکال دستگاه تناسلی دام ماده و رسیدن به سایت لقاح را بهبود می‌بخشد (۱، ۲، ۳، ۸). اگرچه پارامترهای VCL (بجز گروه L-سیستین در ساعت دوم انکوباسیون)، VAP و VSL تغییر معنی‌داری مشاهده نشد اما نتایج نشان دهنده افزایش میزان این پارامترها با افزایش سطح این اسیدآمینه بویژه ۵ میلی مولار از L-سیستین به رقیق‌کننده تریس زرده تخم مرغ می‌توان نتیجه گرفت که با افزودن مقادیر ۳ و ۵ میلی مولار بویژه ۵ میلی مولار از L-سیستین به رقیق‌کننده تریس زرده تخم مرغ می‌توان صدمات وارده به منی گاو در حین فرایند انجماد را کاهش داده و احتمالاً باعث بهبود سطح باروری و میزان ماندگاری اسپرماتوزوآ شد.

جدول ۱: مقایسات میانگین تاثیر سطوح مختلف L-سیستین بر پارامترهای دینامیکی اسپرماتوزوآ در ساعت صفر و ۲ پس

از انجماد/ یخ‌گشایی گاو نر نژاد هلشتاین

VSL (μm/s)		VAP (μm/s)		VCL (μm/s)		Motility (%)		P.M (%)		پارمتر ساعت ارزیابی	
صفر	۲	صفر	۲	صفر	۲	صفر	۲	صفر	۲	سطح آنتی اکسیدان	۰ ۲ ۳ ۵
۴۶۹۰ ^a	۵۷/۸۰ ^a	۵۸/۲۵ ^a	۷۴/۶۴ ^a	۸۵/۰۳ ^a	۱۳۱/۶۲ ^a	۶۰/۵۶ ^a	۷۸/۵۵ ^a	۴۵/۸۳ ^a	۵۳/۸۸ ^a		
۴۶۴۹ ^a	۵۶۲۴ ^a	۵۶۰۴ ^a	۸۱/۳۴ ^a	۸۲/۱۳ ^{ab}	۱۳۲/۴۷ ^a	۷۷/۳ ^{ab}	۸۰/۳۵ ^a	۴۶/۱۳ ^{ab}	۵۱/۸۶ ^a		
۴۹/۶۱ ^a	۵۹/۱۶ ^a	۶۱/۳۰ ^a	۷۱/۰۷ ^a	۱۰۰/۵۰ ^{ab}	۱۱۷/۲۱ ^a	۸۱/۰۱ ^b	۸۲/۷۶ ^a	۵۲/۰۶ ^{ab}	۵۵/۳۸ ^a		
۵۳/۱۰ ^a	۵۸/۰۹ ^a	۶۵/۷۱ ^a	۷۹/۸۰ ^a	۱۰۵/۶۰ ^b	۱۵۲/۱۴ ^a	۸۲/۳۸ ^b	۸۲/۰۶ ^a	۵۶/۴۳ ^b	۵۹/۳۰ ^a		
±۲/۸۸	±۲/۰۰	±۶/۰۵	±۲/۸۷	±۳/۸۴	±۷/۰۰	±۴/۷۷	±۱/۸۱	±۱/۹۴	±۲/۱۷	خطای معیار	

*حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد.

منابع

1. Aitken, R.J., D. Buckingham, K. West, F.C. Wu, K. Zikopoulos and D.W. Richardson. 1992. Differential contribution of leukocytes and spermatozoa to the generation of reactive oxygen species in the ejaculates of oligozoospermic patients and fertile donors. Journal Reproduction Fertility. 94: 451-462.
2. Aitken, R.J. and H. Fisher. 1994. Reactive oxygen species generation and human spermatozoa: the balance of benefit and risk. Bioassays. 16: 259-267.
3. Aitken, R.J., M. Sutton, P. Warner and D.W. Richardson. 1985. Relationship between the movement characteristics of human spermatozoa and their ability to penetrate cervical mucus and zona-free hamster oocytes. Journal Reproduction Fertility. 73: 441-449.

4. Al-Qarawi, A.A., H.A. Abdel-Rahman, S.A. El- Mougy and M.S. El-Belel. 2002. Use of a new computerized system for evaluation of spermatozoal motility and velocity characteristics in relation to fertility levels in dromedary bulls. *Animal Reproduction Sciences*. 74:1-9.
5. Ansari, M.S., R.B. Allah, N. Ullah, S.M. Hussain Andrabi and S. Akhter. 2011. Glutathione Addition in Tris-citric Egg Yolk Extender Improves the Quality of Cooled Buffalo (*Bubalus bubalis*) Bull Semen. *Pakistan Journal Zoology*. 43 (1): 49-55.
6. Chatterjee, S., E. de Lamirande, and C. Gagnon, 2001: Cryopreservation alters membrane sulfhydryl status of bull spermatozoa: protection by oxidized glutathione. *Molecular Reproduction and Development*. 60: 498-506.
7. Malo, C., L. Gil, N. Gonzalez, F. Martinez, R. Cano, I. de Blas and E. Espinosa. 2010. Anti-oxidant supplementation improves boar sperm characteristics and fertility after cryopreservation: Comparison between cysteine and rosemary (*Rosmarinus Officinalis*). *Cryobiology*. 61:142-7.
8. Mortimer, D. 1994. *Practical Laboratory Andrology*. Oxford Univ. Press, New York. pp. 243.
9. Perumal, P., S. Selvaraju, S. Selvakumar, A.K. Barik, D.N. Mohanty, S. Das, R.K. Das and P.C. Mishra. 2011. Effect of Pre-freeze Addition of Cysteine Hydrochloride and Reduced Glutathione in Semen of Crossbred Jersey Bulls on Sperm Parameters and Conception Rates Reproduction Domestic Animals. 46: 636-641.
10. Salvador, I., J. Yániz, M.P. Viudes-de-Castro, E.A. Gómez, and M.A. Silvestre. 2006. Effect of solid storage on caprine semen conservation at 5 °C. *Theriogenology*. 66 (4): 974-981.
11. Silva, P.F.N. and B.M.Gadella. 2006. Detection of damage in mammalian sperm cells. *Theriogenology*. 65: 958-978.

Effect of different levels of L-cysteine amino acid on the dynamic parameters of bull sperm
H. Daghigh Kia^{1*}, R. Olfati Karaji¹, A. Hosseinkhani¹, I. Ghafari² and A. Ahmad Fazel¹

¹Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz

²Sheikhhasan Breeding center, Tabriz

*Corresponding Author: daghighkia@tabrizu.ac.ir

Abstract

The study aimed to determine the effect of different levels of cysteine on functional sperm parameters in the zero and 2 h after thawing of Holstein bull semen. 4 Holstein bulls (4-5 years) with normal maintenance and same feeding conditions were used. Extended semen samples in Tris egg yolk, having $10^6 \times 30$ sperm/ml were applied with three levels of 0, 2 and 5 millimolar L-cysteine in three experimental treatments. Treatments were frozen under the same conditions and kept in liquid nitrogen until the thawing evaluation. The progressive motility, curve speed (VCL), average speed (VAP) and straight line velocity (VSL) parameters of sperm were evaluated at zero and 2 h after thawing by computer analyzer (CASA). Supplementation of 3 and 5 millimolar particularly the 5 millimolar of L-cysteine, to Tris egg yolk diluted semen, for cryoprotection of sperm, could possibly improve the performance characteristics and survival of spermatozoa and finally fertility rate.

Keywords: Sperm, sperm dilution, L-cysteine, sperm motility

بهبود عملکرد مبتنی بر تمایز جنسی همراه با تحریک رشد در جوجه‌های گوشتی با تزریق آنتی آروماتاز و فاکتور رشد شبه

انسولین یک در تخم مرغ

محمد محمدرضائی^{۱*}، مجید طغیانی^۲، شاهین اقبال‌سعید^۲، عباسعلی قیصری^۳ و مهدی شهریاری^۴

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان، باشگاه پژوهشگران جوان ۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان، استادیار گروه

علوم دامی

۳- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، ۴- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان، دانشجوی

کارشناسی ارشد گروه علوم دامی

*نویسنده مسئول: mmrezaee@khuisf.ac.ir

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی تأثیر تزریق آنتی آروماتاز فدرازول^{۲۸}، فاکتور رشد شبه انسولین یک (IGF-I) و ترکیب هر دو در تخم مرغ بر عملکرد و خصوصیات لاشه انجام شد. در این آزمایش از ۶۰۰ عدد تخم مرغ باور مادر گوشتی سویه‌ی راس ۳۰۸ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ گروه آزمایشی و چهار تکرار به اعضای هر گروه و دو ماده مذکور و ترکیب آن‌ها به همراه دو گروه کنترل و کنترل تزریق استفاده شد. محلول‌های آزمایشی مابین ساعت ۸۴ تا ۸۶ دوره انکوباسیون بوسیله دریل قلمی و سرنگ انسولین بعد از ضد عفونی شدن محل تزریق (قسمت پهن تخم مرغ) به داخل تخم مرغ (دقیقاً زیر کیسه هوا در قسمت آلبومین) تزریق شدند. در طول انجام آزمایش همه گروه‌ها از سه جیره که بر اساس احتیاجات غذایی راس به شکل پلت تهیه شده بود به صورت آزاد استفاده کردند. صفات مربوط به عملکرد به صورت هفتگی اندازه گیری و سپس برای کل دوره‌ی پرورش نیز محاسبه گردید. مصرف خوراک در طول کل دوره‌ی پرورش در جوجه‌های گروه فدرازول همراه با IGF-I در راستای افزایش وزن افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$). وزن بدن نیز به همین ترتیب در گروه مذکور افزایش معنی داری داشت و ضریب تبدیل غذایی نیز در گروه فدرازول همراه با IGF-I به طور معنی‌داری کمتر از سایر گروه‌ها بود ($P < 0/05$). درصد لاشه و چربی محوطه شکمی نیز در گروه فدرازول همراه با IGF-I به ترتیب افزایش و کاهش معنی داری داشت ($P < 0/05$). کلمات کلیدی: جوجه گوشتی - عملکرد - آنتی آروماتاز - فاکتور رشد شبه انسولین یک.

مقدمه

امروزه یکی از عوامل مهم در افزایش بازده اقتصادی در صنعت طیور گوشتی استفاده از گله‌های یکنواخت است به طوری که بر اساس توصیه اکثر شرکت‌های تولید کننده جوجه یک‌روزه، نیازها و همچنین عملکرد بین پرندگان نر و ماده با یکدیگر متفاوت هستند. از جمله شیوه‌های نوین تحقق این هدف در صنعت جهت دستیابی به نسبت‌های بالای جوجه‌های نر نسبت به جوجه‌های ماده، تمایز جنسی جوجه‌های ماده به جوجه‌های نر در دوران جنینی است. در فرایند تمایز جنسیت، نسبت آندروژن به استروژن در مقایسه با غلظت هر یک از هورمون‌ها در دو جنس مهم‌تر است (۷). فدرازول از خانواده آزول، از شناخته‌ترین آنتی آروماتازها ست که اثر آن بر فرآیند تمایز جنسیت در گونه‌های مختلف جانوری مورد مطالعه قرار گرفته است (۸). البرشت و روی نشان دادند که تجویز آنتی آروماتاز در روز پنجم انکوباسیون، ماده‌های ژنتیکی را دچار یک تمایز جنسی در جهت تکامل فنوتیپ نر می‌کند (۱). این محققین بیان mRNA، P450_{17a} و P450_{arom} را در گناد جنین تیمار شده با آنتی آروماتاز با بیان

mRNA، P450_{17a} و P450_{arom} در گناد طبیعی (به جای آروماتاز به آن‌ها محلول سرم فیزیولوژی تزریق شد)، مقایسه کردند، و مشاهده کردند که در جنین طبیعی mRNA، P450_{17a} و P450_{arom} در تخمدان و بیضه بیان می‌شود. سطوح mRNA، P450_{arom} در بیضه پرندگان تمایز یافته در گروه تیمار شده با آنتی آروماتاز پایین می‌ماند.

فاکتورهای رشد شبه انسولینی²⁹ خانواده‌ای از پپتیدها هستند که در پاسخ به هورمون رشد، آزاد می‌شوند و در واقع عواملی هستند که از طریق آن‌ها هورمون رشد اثرات خود را القاء می‌کند (۵، ۳). تاناکا و همکاران با بررسی بیان ژن این فاکتور در جنین جوجه‌های تازه از تخم تفریخ شده بیان کردند که فاکتور رشد شبه انسولین یک در جنین جوجه‌ها ساخته نمی‌شود (۹). در همین راستا با هدف بهبود عملکرد و تحریک رشد جوجه‌های گوشتی آزمایشی مبنی بر تمایز جنسی جوجه‌های ماده به نر و همچنین توسعه رشد عضلانی جوجه‌ها در دوران جنینی جهت افزایش قدرت تفریخ و همچنین افزایش رشد در دوران پرورش با استفاده از تزریق یک آنتی آروماتاز به همراه فاکتور رشد شبه انسولین - یک به داخل تخم مرغ طراحی و انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۶۰۰ عدد تخم مرغ نطفه دار سویه راس ۳۰۸ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار استفاده شد، که تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از گروه کنترل (بدون تزریق)، گروه کنترل تزریق (تزریق حلال تیمارهای اصلی)، گروه دریافت کننده آنتی آروماتاز فدرازول (۱۰۰ میکروگرم به ازای هر تخم مرغ) و گروه دریافت کننده آنتی آروماتاز فدرازول به همراه فاکتور رشد شبه انسولین یک (۱۰۰ میکروگرم آنتی آروماتاز همراه با ۱۰۰ نانوگرم فاکتور رشد شبه انسولین یک) و گروه دریافت کننده فاکتور رشد شبه انسولین یک (۱۰۰ نانوگرم به ازای هر تخم مرغ).

محلول‌های آزمایشی ما بین ساعت ۸۴ تا ۸۶ دوره انکوباسیون بوسیله دریل قلمی و سرنگ انسولین بعد از ضد عفونی شدن محل تزریق (قسمت پهن تخم مرغ) به داخل تخم مرغ تزریق شدند. سپس محل تزریق‌ها با پارافین مذاب مسدود شد. صفات مربوط به عملکرد از جمله مصرف خوراک، وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی مورد اندازه گیری قرار گرفت و به لحاظ محاسبه صفت یکنواختی وزن بدن در سن ۴۲ روزگی تمام پرندگان در هر تکرار به صورت انفرادی مورد وزن کشی قرار گرفتند. داده‌های مربوط به عملکرد با استفاده از بسته نرم افزار آماری SAS (۲۰۰۸) و بر اساس مدل آماری طرح‌های کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. از آنجایی که صفات مورد اندازه گیری لاشه از نمونه‌های تکراری در هر واحد آزمایشی (تکرار) برخوردار بود، جهت تجزیه و تحلیل آن‌ها از روند خطی طرح‌های کاملاً تصادفی با نمونه‌های تکراری^{۳۰} استفاده شد. مقایسه بین میانگین‌ها نیز برای صفات عملکردی و تمایز جنسی با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی دار^{۳۱} در سطح احتمال ۵ درصد، و برای صفات مربوط به لاشه با استفاده از کم‌ترین میانگین مربعات^{۳۲} انجام شد.

نتایج و بحث

از نظر وزن بدن بیشترین میانگین در کل دوره آزمایش مربوط به گروه فدرازول همراه با فاکتور رشد شبه انسولین یک بود ($P < 0.05$)، که تحت تاثیر آنتی آروماتاز فدرازول و فاکتور رشد شبه انسولین یک، در خلال تمایز جنسی افزایش چشمگیر وزن بدن را نیز از خود بروز دادند. که این امر را می‌توان با یافته‌های کوکامیس و همکاران که فاکتور رشد شبه انسولین را عامل افزایش رشد در بین جوجه‌های نر دانستند توجیه کرد (۲). در گروهی که هر دو ماده تزریق شد به لحاظ اعمال تمایز جنسی و پاسخ

²⁹ Insulin-like growth factor (IGF)

³⁰ Repeated Measures

³¹ LSD (Least Significant Different)

³² Least Squares Means (LS Means)



مثبت فاکتور رشد بر روی توسعه عضلات، میانگین وزن بدن افزایش یافت، به طوری که این افزایش علاوه بر معنی دار بودن ($P < 0.05$) از نظر تجاری نیز چشمگیر و قابل توجه بود (افزایش ۱۶٪ وزن بدن در سن ۴۲ روزگی). در بین گروه‌ها بیشترین مصرف خوراک مربوط به گروه فدرازول همراه با فاکتور رشد شبه انسولین یک بود ($P < 0.05$). در خصوص ضریب تبدیل غذایی نیز بهبود چشمگیر ضریب تبدیل غذایی در گروهی که فدرازول همراه با فاکتور رشد شبه انسولین یک به داخل تخم مرغ‌ها تزریق شده بود مشاهده گردید.

حال آنکه از نتایج این آزمایش و تحقیقات گذشته می‌توان چنین استنباط کرد که افزایش سطح فاکتور رشد شبه انسولین یک در خون جوجه‌ها (شبه عمل انسولین) با تاثیر بر گیرنده‌های حساس به گلوکز در سلول‌های عضلانی، آنها را مجبور به دریافت گلوکز بیشتر کرده (۲،۴) که در نهایت این افزایش دریافت گلوکز توسط سلول‌های عضلانی موجب کاهش گلوکز خون و افزایش بیشتر اشتها و در نهایت افزایش مصرف خوراک روزانه در پرنده شده است. و از آنجایی که سطح دریافت گلوکز نیز توسط سلول‌های عضلانی افزایش پیدا کرده است مقدار کمتری از انرژی قابل جذب در سلول‌ها به سمت چرخه‌ی ساخت چربی سرازیر می‌شوند. بنابراین همان طور که در جدول (۱) نیز مشاهده می‌شود در گروه‌های دریافت کننده فاکتور رشد شبه انسولین یک، درصد وزن چربی محوطه شکمی نسبت به وزن زنده به طور معنی داری کاهش و درصد وزن لاشه نسبت به وزن زنده نیز افزایش یافته است، که این تغییرات در پرنده‌گانی که تحت تاثیر تمایز جنسی بواسطه دریافت آنتی آروماتاز همراه با فاکتور رشد شبه انسولین یک نیز قرار داشتند شدت بیشتری داشت. در این ارتباط نوکولوا و همکاران (۶) نیز گزارش کردند که وزن و درصد چربی حفره شکمی جوجه‌های گوشتی نه به طور معنی داری کمتر از ماده‌ها است ($P < 0.05$).

جدول (۱): مقایسه میانگین شاخص‌های عملکردی و برخی صفات اقتصادی لاشه در کل دوره ۴۲ روزه آزمایش

وزن بدن (گرم)	مصرف خوراک روزانه (گرم در روز)	ضریب تبدیل (گرم بر گرم)	ضریب تغییرات وزن بدن	لاشه (درصد وزن زنده)	چربی حفره شکمی (درصد وزن زنده)	تیمار
۴۲ روزگی	صفر تا ۴۲ روزگی	صفر تا ۴۲ روزگی	۴۲ روزگی	۴۲ روزگی	۴۲ روزگی	
۲۲۱۸/۰۳ ± ۹/۱۹ ^d	۹۸/۲ ± ۰/۸۱ ^{cd}	۱/۸۹ ± ۰/۰۲۳ ^a	۲/۲۳۷ ± ۰/۸۳۷ ^{bc}	۶۵/۱ ± ۲/۳۹ ^c	۲/۱۵ ± ۰/۰۵۹ ^a	کنترل
۲۲۰۸/۹۷ ± ۱۰/۹۹ ^d	۹۷/۷ ± ۰/۹۳ ^d	۱/۸۹ ± ۰/۰۱۹ ^a	۲/۸۳۷ ± ۰/۷۷۳ ^b	۶۴/۰ ± ۲/۷۷ ^c	۲/۰۶ ± ۰/۰۵۲ ^c	کنترل تزریق
۲۳۸۲/۲۸ ± ۶/۵۰ ^b	۱۰۰/۸ ± ۱/۶۸ ^b	۱/۸۱ ± ۰/۰۱۱ ^c	۱/۴۷۹ ± ۰/۳۵۴ ^{cd}	۶۸/۵ ± ۱/۸۸ ^b	۱/۴۳ ± ۰/۰۱۹ ^b	فدرازول
۲۳۱۴/۳۴ ± ۱۷/۷۷ ^c	۹۹/۵ ± ۰/۹۱ ^{bc}	۱/۸۴ ± ۰/۰۱۱ ^b	۴/۳۵۱ ± ۰/۶۳۶ ^a	۶۸/۲ ± ۴/۵۲ ^b	۱/۷۵ ± ۰/۰۵۱ ^c	IGF-I
۲۶۴۷/۷۸ ± ۵/۴۷ ^a	۱۰۷/۱ ± ۰/۷۷ ^a	۱/۷۲ ± ۰/۰۰۹ ^d	۱/۱۶۹ ± ۰/۲۰۸ ^d	۷۴/۶ ± ۱/۵۲ ^a	۱/۲۶ ± ۰/۰۰۹ ^c	فدرازول + IGF-I
سطح						
احتمال						
۰/۰۱۳	۰/۰۰۱	۰/۰۲۱	۰/۰۱۴	۰/۰۰۱	۰/۰۱۳	تیمار

a-b: در هر ستون میانگین‌های فاقد حروف مشابه با یکدیگر اختلاف معنی داری دارند ($P < 0.05$). *: میانگین هر گروه

آزمایشی ± انحراف استاندارد آن

همان طور نتایج تحقیق حاضر نیز نشان می‌دهد (جدول ۱)، هنگامی که پرنده‌ها تحت تاثیر آنتی آروماتاز و تمایز جنسی قرار می‌گیرند تاثیر جنس در رشد از بین رفته و به طور کلی در صورت یکنواخت بودن شرایط محیطی بهترین یکنواختی وزن بدن را گله از خود نشان می‌دهد

منابع

1. Elbrecht, A., S. Roy. 1992. Aromatase enzyme activity and sex determination in chickens. *Science*, 255:467-469.
2. Kocamis, H., D.C. Kirkpatrick-Keller, H. Klandorf, J. Killefer. 1998. In ovo administration of recombinant human insulin-like growth factor-1 (rhIGF-1) alters postnatal growth and development of the broiler chicken. *Poultry Science*, 77:1913-1919.
3. Kocamis, H., N. Yeni, C. Brown, P. Kenney, D.C. Kirkpatrick-Keller, J. Killefer. 2000. Effect of in ovo administration of insulin-like growth factor-1 on composition and mechanical properties of chicken bone. *Poultry Science*, 79:1345-1350.
4. McFarland, D.C., J.E. Pesall, K.K. Gilkerson, N.H. Ferrin, W.V. Ye, T.A. Swenning. 1994. Comparison of protein metabolism and glucose uptake in turkey (*Meleagris Gallopavo*) satellite cells and embryonic myoblasts in vitro. *Comparative Physiology and Biochemistry*, 107A:301-306.
5. McMurtry, J.P., G.L. Francis, Z. Upton. 1997. Insulin-like growth factors in poultry. *Domestic Animal Endocrinology*, 14(4):199-229.
6. Nikolova, N., Z. Pavlovski, N. Milošević, L. Perić. 2007. The quantity of abdominal fat in broiler chicken of different genotypes from fifth to seventh week of age. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 23:331-338.
7. Seralini, G.E., S Moslemi. 2001. Aromatase inhibitors: past, present and future. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 178:117-131.
8. Smith, I.E. 1999. Aromatase inhibitors: a dose- response effect. *Endocrine-Related Cancer*, 6:245- 249.
9. Tanaka, M., Y. Hayashida, K. Sakaguchi, T. Ohkubo, M. Wakita, S. Hoshino, K. Nakashima. 1996. Growth hormone-independent expression of IGF-1 messenger RNA in extrahepatic tissues of the chicken. *Endocrinology*, 137:30-34.

Performance and carcass characteristics of broiler chicks subjected to in ovo injection of anti-aromatase and insulin-like growth factor-I
Mohammad Mohammadrezaei¹, Majid Toghyani², Shahin Eghbalsaied², Abbasali Gheisari³ and Mahdi Shahryari²

¹ Young Researchers Club, Khorasgan (Isfahan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

² Dept. of Animal Science, Khorasgan (Isfahan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

³ Dept. of Animal Science, Isfahan Research Center for Natural Resources and Agriculture, Isfahan, Iran

Abstract

This study was conducted to assess the effects of in ovo administration of fadrozole hydrochloride (FH) and insulin-like growth factor I (IGF-I) and their combination, on growth performance and carcass traits of broiler chicks. On day four of incubation, 600 fertile eggs were divided into five treatments with four replicates; including non-injected control, vehicle injected control, fadrozole (100 µg per egg), recombinant human (rh) IGF-I (100 ng per egg) and FH

(100 µg per egg) with rh IGF-I (100 ng per egg). The experimental substances were injected into eggs' albumen using 1mm syringes 86 hours after eggs had been set in incubator. All treatments were fed a similar pelleted diet, throughout the 42 days of the trial. Body weight gain, feed intake, and feed conversion ratio were recorded in weekly intervals and calculated for the entire period. All birds in replicates were weighed and slaughtered; carcass and abdominal fat were collected, weighed and calculated as a percentage of live body weight. Daily feed intake and weight gain were significantly higher in FH + rh IGF-I treatment, throughout the trial ($P<0.05$). Birds in FH + rh IGF-I treatments also exhibited a lower FCR compared to control birds ($P<0.05$). Coefficient of variation (CV) improved markedly in FH + rh IGF-I. Birds in FH + rh IGF-I treatment significantly had higher carcass yield and reduced abdominal fat pad compared to the other treatments.

Keywords: Broiler chicks – Performance - Fadrozole hydrochloride - Insulin-like growth factor- I.

بررسی اثرات اسانس گیاهان نعناع و آنیس به همراه اسیدآلی بر هیستومورفولوژی روده جوجه های گوشتی در سن ۱ تا ۲۱

روزی

فاطمه کریمی^۱، اسعد وزیری^۲، قربانعلی صادقی^۲

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام و طیور گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان

^۲عضو هیأت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان

Email : f.karimi_2012@yahoo.com

چکیده

این تحقیق جهت ارزیابی اثر اسانس گیاهان دارویی آنیس و نعناع به همراه اسیدآلی بر هیستومورفولوژی روده جوجه های گوشتی انجام گردید. تعداد ۵۱۲ قطعه جوجه یکروزه سویه راس ۳۰۸ به طور تصادفی به هشت تیمار اختصاص یافتند. جیره های آزمایشی شامل: جیره پایه ذرت و سویا به عنوان شاهد، جیره حاوی اسیدآلی (۳ کیلوگرم در تن)، جیره حاوی ۱۵۰ قسمت در میلیون اسانس آنیس، جیره حاوی ۱۵۰ قسمت در میلیون اسانس نعناع، جیره حاوی آنیس و نعناع (هر کدام ۱۵۰ قسمت در میلیون)، جیره حاوی آنیس به همراه اسیدآلی، جیره حاوی نعناع به همراه اسیدآلی و جیره حاوی اسانس آنیس و نعناع به همراه اسیدآلی. افزودن ترکیب اسانس های آنیس و نعناع با اسیدآلی به جیره موجب افزایش معنی دار ارتفاع پرز ژئوژنوم نسبت به گروه شاهد شد ($p < 0.05$). افزودن ترکیب اسانس های آنیس و نعناع با اسیدآلی سبب افزایش معنی دار نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ژئوژنوم نسبت به گروه شاهد و سایر گروه ها شد ($p < 0.05$). افزودن اسیدآلی، اسانس آنیس و نعناع و ترکیب آنها با اسیدآلی به جیره تأثیر معنی داری بر ارتفاع پرز در ایلئوم نسبت به گروه شاهد نداشت ($p > 0.05$)، اما نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در پرندگانی که اسانس آنیس دریافت کرده بودند افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد را نشان داد ($p < 0.05$). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از ترکیب اسانس های گیاهی به همراه اسیدآلی موجب افزایش ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ژئوژنوم شد.

واژه های کلیدی: گیاهان دارویی - اسیدآلی - هیستومورفولوژی روده - جوجه گوشتی

مقدمه

حذف آنتی بیوتیک از جیره طیور باعث افزایش مرگ و میر، ابتلا به بیماری ها بخصوص بیماری تورم نکروتیک روده، و کاهش عملکرد شده است [۲]. از اینرو محققین به دنبال جایگزین هایی برای آنتی بیوتیک می باشند که بتوانند عملکردی مشابه و یا حتی بهتر از آنتی بیوتیک ها در پرندگان ایجاد کنند [۱].

پروبیوتیک ها، آنزیم ها، پری بیوتیک، اسانس های روغنی گیاهان دارویی و اسیدهای آلی جایگزین هایی بودند که به تدریج توسط محققین توصیه شده اند [۱]. گیاهان دارویی به دلیل داشتن ترکیبات مختلف می توانند همزمان برای اهداف متعددی بکار برده شوند. ضمناً مقاومت به این ترکیبات گزارش نشده است. از دیگر مزایای این ترکیبات می توان به بهبود سیستم ایمنی خصوصاً در بیماری های تضعیف کننده سیستم ایمنی، اثرات ضد میکروبی، تحریک فرآیند هضم، کاهش غلظت چربی و کلسترول خون، خاصیت آنتی اکسیدانی و در نهایت محرک رشد اشاره کرد [۳]. تغذیه اسیدهای آلی نیز یک روش مناسب برای کنترل تعادل میکروبی روده می باشد [۵]. اسیدهای آلی همچون فوماریک، پروپیونیک، لاکتیک و سوربیک از طریق ساز و کارهای ویژه ای باعث کاهش تکثیر عوامل بیماریزای موجود در دستگاه گوارش و نیز مرگ آنها می شوند. همچنین اسیدهای آلی باعث افزایش

جذب مواد معدنی و افزایش قابلیت هضم و جذب پروتئین ها می شوند [۶]. در نتیجه می توان در اثر تغذیه اسیدهای آلی بهبود ضریب تبدیل غذایی و کاهش خوراک مصرف شده برای تولید مقدار معینی محصول را انتظار داشت [۵]. مطالعات زیادی در زمینه استفاده از اسیدهای آلی و عصاره گیاهان دارویی به عنوان جایگزین های بسیار سودمند برای آنتی بیوتیک ها انجام شده است. بر اساس مطالعات انجام شده، معمولاً اسیدهای آلی pH قسمت های ابتدایی دستگاه گوارش و اسانس های روغنی گیاهان دارویی، pH قسمت های انتهایی دستگاه گوارش را تعدیل می نمایند و لذا انتظار می رود که ترکیب این دو با تعدیل pH کل دستگاه گوارش بتواند اثرات سودمندتری را داشته باشد. با توجه به اینکه در مورد اثر ترکیبی این اسید آلی و اسانس روغنی گیاهان دارویی نعنای و آنیس تحقیقاتی صورت نگرفته است و انتظار می رود استفاده از این اسید آلی و اسانس روغنی گیاهان دارویی نعنای و آنیس تاثیرات مثبتی بر هیستومورفولوژی روده داشته باشد.

مواد و روش ها

این آزمایش بر روی ۵۱۲ قطعه جوجه سویه راس ۳۰۸ (بصورت مخلوط مرغ و خروس) انجام گرفت. در این آزمایش از ۸ تیمار استفاده شد که هر تیمار شامل ۴ تکرار بود و به هر تکرار ۱۶ قطعه جوجه اختصاص یافت. در سن ۲۱ روزگی ۲ قطعه پرنده از هر تکرار آزمایشی انتخاب و پس از کشتار، از قسمت های ژئوژنوم و ایلئوم روده نمونه هایی به طول ۱/۵ سانتی متر جدا و پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک، با استفاده از محلول فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردیدند. سپس پاساژ بافت شامل سه مرحله آبگیری، شفاف سازی و آغشته گیری انجام شد. آبگیری توسط درجات صعودی الکل، شفاف سازی توسط گزلیل و آغشته گیری به وسیله پارافین مذاب انجام گرفت. پس از قالب گیری، برش هایی از بافت های مورد نظر تهیه گردید و برای رنگ آمیزی از روش همتاکسیلین و اتوزین استفاده شد. در نهایت طول پرز و عمق کریپت با استفاده از میکروسکوپ Olympus مدل CHS اندازه گیری شد. تجزیه آماری داده ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS انجام شد و مقایسات میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن و در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج و بحث

افزودن ترکیب اسانس های آنیس و نعنای به همراه اسیدآلی به جیره موجب افزایش معنی دار ارتفاع پرز ژئوژنوم نسبت به گروه شاهد شد ($p < 0/05$). کمترین ارتفاع پرز در این دوره علاوه بر تیمار شاهد مربوط به پرندگانی بود که در جیره خود اسانس نعنای و ترکیب اسانس آنیس با اسیدآلی دریافت کرده بودند که اختلاف آن ها با تیمار ترکیب اسانس ها با اسیدآلی معنی دار بود ($p < 0/05$). افزودن ترکیب اسانس آنیس و نعنای با اسیدآلی سبب افزایش معنی دار نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ژئوژنوم نسبت به سایر گروه ها شد ($p < 0/05$). نتایج مقایسات مستقل نشان داد که بکارگیری ترکیب گیاهان داروئی با اسیدآلی در مقابل شاهد موجب افزایش معنی دار ($p < 0/05$) نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ژئوژنوم شد. افزودن اسیدآلی، اسانس آنیس و نعنای و ترکیب اسانس ها با اسیدآلی به جیره تأثیر معنی داری بر ارتفاع پرز در ایلئوم نسبت به گروه شاهد نداشت ($p > 0/05$)، اما ترکیب اسانس نعنای با اسیدآلی موجب کاهش معنی دار ارتفاع پرز در ایلئوم نسبت به گروه اسیدآلی، اسانس آنیس، ترکیب اسانس آنیس و نعنای و ترکیب اسانس ها با اسیدآلی گردید ($p < 0/05$). نتایج مقایسات مستقل نشان داد که بکارگیری ترکیب گیاهان داروئی و اسیدآلی در مقابل اسیدآلی سبب کاهش معنی دار ($p < 0/05$) ارتفاع پرز در ایلئوم شد. افزودن اسیدآلی، اسانس آنیس و نعنای و ترکیب این اسانس ها با اسیدآلی به جیره تأثیر معنی داری بر عمق کریپت در ایلئوم نداشت ($p > 0/05$). نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در پرندگانی که در جیره خود اسانس آنیس دریافت کرده بودند افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد را نشان داد ($p < 0/05$). این تیمار همچنین اختلاف معنی داری با تیمارهای حاوی اسانس نعنای،

ترکیب اسانس آنیس با اسیدآلی و ترکیب اسانس نعناع با اسیدآلی داشت ($p < 0.05$) که کمترین نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ایلئوم مربوط به پرندگانی بود که در جیره خود ترکیب اسانس آنیس با اسیدآلی دریافت کرده بودند. مواد مغذی و افزودنی های ترکیبی از عوامل موثر بر مورفولوژی روده طیور می باشند. افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت بیانگر افزایش ارتفاع پرز و همچنین کاهش عمق کریپت می باشد. این نسبت نشان دهنده ظرفیت هضمی روده کوچک می باشد و افزایش در این نسبت موجب بهبود در هضم و جذب می گردد [۷].

ویرا و همکاران (۲۰۰۸) با مکمل کردن جیره با اسیدهای آلی (مخلوط اسید لاکتیک، استیک، فسفریک و بوتیریک) در سطوح ۲، ۴، ۶ و ۸ کیلوگرم در تن جیره بر عملکرد جوجه های گوشتی طی یک دوره ۴۲ روزه گزارش کردند که افزودن اسیدهای آلی به جیره تأثیر معنی داری بر ارتفاع پرز و عمق کریپت در روده نداشت که با نتایج این آزمایش همخوانی نداشت [۶]. این عدم تطابق ممکن است به دلیل اختلاف در تعداد مصرف و نوع اسیدآلی مصرفی باشد. در توافق با نتایج مطالعه حاضر گارسیا و همکاران (۲۰۰۷) اثر افزودن عصاره گیاهان داروئی و اسید فرمیک را بر عملکرد و مورفولوژی روده جوجه های گوشتی طی یک دوره ۴۹ روزه بررسی نموده و گزارش کردند که افزودن اسید فرمیک به جیره باعث افزایش در ارتفاع پرز و عمق کریپت در ژئوژنوم گردیده است [۴]. در آزمایش گارسیا و همکاران (۲۰۰۷) تغذیه اسید فرمیک سبب افزایش طول پرز، عمق کریپت و مساحت سطح پرز ژئوژنوم در مقایسه با سایر گروه های آزمایشی شد. ترکیبات محرک رشد ضمن کاهش میکروب های دستگاه گوارش باعث کاهش تولیدات سمی آنها می شوند. اسیدهای چرب کوتاه زنجیره سبب تحریک تکثیر سلول کریپت ها، بهبود سلامت، نرخ نوشدگی و نگهداری روده می شوند [۴].

جدول ۱- اثر تیمارهای آزمایشی بر ارتفاع پرز و عمق کریپت ژئوژنوم و ایلئوم

تیمار	ژئوژنوم		ایلئوم		
	ارتفاع پرز (μm)	عمق کریپت (μm)	ارتفاع پرز به عمق کریپت	ارتفاع پرز (μm)	عمق کریپت (μm)
شاهد	۷۸۴/۸۸ ^b	۱۷۶/۷۹	۴/۴۰ ^b	۷۳۵/۹۷ ^{abc}	۱۷۳/۳۳ ^{bc}
اسید آلی	۹۰۹/۲۷ ^{ab}	۱۷۸/۵۷	۵/۱۳ ^b	۸۰۳/۸۷ ^{ab}	۱۶۶/۶۷ ^{abc}
آنیس	۸۳۵/۴۶ ^{ab}	۱۸۸/۵۴	۴/۴۸ ^b	۷۸۴/۲۰ ^{ab}	۱۴۰/۳۶ ^a
نعناع	۷۹۴/۳۷ ^b	۱۷۵/۰۰	۴/۵۸ ^b	۷۴۶/۹۴ ^{abc}	۱۷۱/۸۸ ^{bc}
آنیس و نعناع	۸۳۲/۲۶ ^{ab}	۱۷۱/۸۸	۴/۹۲ ^b	۸۳۲/۳۱ ^a	۱۷۲/۶۲ ^{abc}
آنیس + اسید آلی	۷۶۷/۷۹ ^b	۱۵۳/۵۷	۵/۰۱ ^b	۶۸۴/۷۲ ^{bc}	۱۷۱/۶۷ ^c
نعناع + اسید آلی	۸۷۲/۰۰ ^{ab}	۱۷۵/۰۰	۵/۰۹ ^b	۶۵۳/۲۳ ^c	۱۵۱/۲۵ ^{bc}
آنیس و نعناع + اسید آلی	۹۷۳/۰۰ ^a	۱۵۳/۵۷	۶/۳۶ ^a	۷۷۸/۹۰ ^{ab}	۱۵۵/۰۰ ^{ab}
SEM	۱۸/۱۲	۳/۵۶	۰/۱۲	۱۵/۰۷	۴/۰۶
	P value ($p < \dots$)				
تیمار	NS	NS	<۰/۰۰۰۶	<۰/۰۳	NS
	<۰/۰۲				

مقایسات مستقل						
NS	NS	NS	NS	NS	NS	اسیدآلی در مقابل شاهد
NS	NS	NS	NS	NS	NS	گیاهان دارویی در مقابل شاهد
NS	NS	NS	۰/۰۰۲۲	NS	NS	ترکیب گیاهان دارویی و اسیدآلی در مقابل شاهد
NS	NS	۰/۰۴۷	NS	NS	NS	ترکیب گیاهان دارویی و اسیدآلی در مقابل اسیدآلی

منابع

- [۱] افشار مازندران، ن.، رجب، ا. ۱۳۸۱. پروبیوتیک ها و کاربرد آنها در تغذیه دام و طیور. چاپ دوم. انتشارات نوربخش، تهران.
- [2] Apajalahati, J. 2003. Assessment of the relationship between nutrition and gut flora. 14th European Symposium on Poultry Nutrition. August (2003). Lillehammer, Norway. Pp.145-150.
- [3] Dunne, C., L. Murphy, S. Flynn, L. O'Mahony, O'Halloran, M. Feeny, D. Morrissey, G. Thornton, G. Fitzgerald, C. Daly, B. Kiely, E.M.M. Quigley, G.C. O'Sullivan, F. Shanahan, and J.K. Collins. 1999. Probiotics: from myth to reality.
- [4] García, V., P. C. Gregori, F. Hernández, M. D. Megías, and J. Madrid. 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. J. Appl. Poult. Res. 16: 555-562.
- [5] Schneitz, C., T. Kiiskinen, V. Toivonen, and M. Näsi. 1998. Effect of BROILACT® on the physicochemical conditions and nutrient digestibility in the gastrointestinal tract of broilers. Poult. Sci. 77:426-432.
- [6] Vieira, S. L., O. A. Oyarzabal, and D. M. Freitas. 2008. Performance of broilers fed diets supplemented with alkaloids and organic acid. Poult. Sci. Association, Inc.128-133.
- [7] Xu, Z. R., C. H. Hu, M. S. Xia, X. A. Zhan, and M. Q. Wang. 2003. Effects of Dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. Poult. Sci. 82:1030-1036.

The Effects of Mint (*Mentha piperita*) and Anise (*Illicium verum*) Essential Oils with and without Organic Acid on Gut Histomorphology in Broiler Chickens at 1-21 Days of age.

Fatemah Karimi, Assad Vaziry, Ghorbanali Sadeghi

Abstract

To evaluate the effect of essential oils (EO) of Mint and Anise with organic acid on gut histomorphology, a total of 512 as hatched broiler chicks were randomly allocated to 8 treatments , with four replicates per each. The experimental treatments were included a corn-soybean based diet as control, Mint EO (150 ppm), Anise EO (150ppm), a commercial organic



acid (Orgacids®, 3 g/kg), a combination EO's of Mint (150ppm) and Anise (150ppm), a combination of orgacids (3g/kg) and EO's of Mint (150ppm), a combination of orgacids (3g/kg) and EO's of Anise (150ppm) and a combination of orgacids (3g/kg) and EO's of Mint (150ppm) and Anise (150ppm). The results showed that addition of organic acid and essential oils of Mint and Anise significantly ($p<0.05$) increased the villi height and villi height / crypt depth ratio of jejunum. Essential oils of Mint and Anise significantly ($p<0.05$) increased the villi height in comparison to combination of orgacids and EO's of Mint and combination of orgacids and EO's of Anise. EO's of Anise significantly ($p<0.05$) increased the villi height / crypt depth ratio of ileum.

Key words: Anise, Broiler, Histomorphology, Mint, Organic acid.

تاثیر بذر گیاه دارویی رازیانه بر تولید شیر، هورمون های رشد و پرولاکتین خون گوسفند سنجابی

سیف الله کاشانی^{۱*}، فرخ کفیل زاده^۲، فریده ممیز^۳ و حبیب الله خیرمنش^۱

۱- دانش آموختگان کارشناسی ارشد علوم دامی دانشگاه رازی کرمانشاه ۲- دانشیار تغذیه دام دانشگاه رازی کرمانشاه ۳- دانش -

آموخته کارشناسی گیاهان دارویی دانشگاه اراک

Skashani64@gmail.com* نویسنده مسئول: سیف الله کاشانی:

چکیده

در پژوهش حاضر اثر گیاه دارویی رازیانه بر تولید و هورمون های رشد و پرولاکتین خون گوسفند نژاد سنجابی مورد ارزیابی قرار گرفته است. ۱۲ راس گوسفند بر اساس سن و میانگین تولید به دو گروه مساوی تقسیم شدند. گروه اول به عنوان گروه شاهد با جیره پایه و گروه آزمایشی علاوه بر جیره پایه، روزانه ۲۰ گرم پودر بذر رازیانه نیز دریافت کردند. پس از یک هفته دوره عادت دهی، دوره آزمایشی به مدت ۳ هفته در نظر گرفته شد. در این مدت، هر ۲ روز یک بار شیر تولیدی هر دام جداگانه ثبت شد. در روز آخر آزمایش از سرخرگ و داج هر دام نمونه های خون تهیه شد. نتایج حاصل نشان داد که میزان شیر تولیدی در گروه آزمایشی بیشتر از گروه شاهد بود ($P \leq 0/01$). در مورد هورمون های خون، هورمون رشد تغییر معنی داری نداشت ولی هورمون پرولاکتین در گروه آزمایشی افزایش یافت ($P \leq 0/01$) که می تواند یکی از عوامل افزایش تولید شیر باشد.

کلمات کلیدی: رازیانه - تولید شیر - هورمون رشد - هورمون پرولاکتین - گوسفند سنجابی

مقدمه

با پیشرفت روند تحقیقات به خصوص در زمینه کشاورزی جنبه های جدیدی از افزایش تولید نهاده های دامی با هزینه کمتر و باکیفیت مطلوب تر مد نظر قرار گرفته است. چندیست در این ارتباط گیاهان دارویی و متابولیت های مختلف آنان و اثر آنان بر تولیدات دامی مورد بررسی قرار گرفته اند.

رازیانه گیاهی علفی، چندساله و از خانواده چتریان می باشد. بیشتر خواص دارویی آن به ترکیباتی نظیر آنتول (Anethole) که به وفور در بذر و به مقدار کمتر در برگ و ساقه وجود دارد نسبت داده می شود که از جمله این خواص می توان به شباهت آنتول با دوپامین (عامل مهار ترشح هورمون پرولاکتین از هیپوفیز) و اثرات استروژنیک آن (۴) اشاره کرد که منجر به پیامدهای مفید و مختلفی در صورت مصرف می شود (۲۱). به طور خلاصه رازیانه با اثرات شبه هورمونی خود می تواند منجر به فرایندهای فیزیولوژیکی گردد که در انتها سبب افزایش تولید و ترشح شیر می شود (۶ و ۸).

این بررسی به دنبال کشف وجود یا عدم وجود تاثیر بذر رازیانه بر تولید شیر گوسفند بود و در صورت مثبت بودن این قضیه، چگونگی این اثر را و یا به عبارت بهتر علل فیزیولوژیک این امر را دنبال می کرد که با توجه به منابع موجود و تحقیقات انجام گرفته، بررسی تغییرات هورمونی مرتبط با تولید و ترشح شیر - هورمون رشد و پرولاکتین که به ترتیب موثرترین هورمون ها بر تولید ترشح شیر در نشخوار کنندگان می باشند (۹) - هدف این تحقیق بود.

مواد و روشها

۱۲ راس گوسفند بر اساس سن و میانگین تولید به دو گروه مساوی تقسیم شدند. جیره غذایی بر اساس جدول نیازهای غذایی NRC تنظیم شد. گروه اول به عنوان گروه شاهد با جیره پایه (جدول ۱) و گروه آزمایشی علاوه بر جیره پایه، روزانه ۲۰ گرم پودر بذر رازیانه نیز دریافت کردند. ترکیب شیمیایی اجزای مختلف جیره غذایی مصرفی در آزمایش نیز مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). پس از یک هفته دوره عادت دهی، دوره آزمایشی به مدت ۳ هفته در نظر گرفته شد. در این مدت، هر ۲ روز یک بار شیر تولیدی هر دام اندازه گیری و ثبت شد. در روز آخر آزمایش در ساعات مختلف پس از تغذیه از سرخرگ و داج هر دام نمونه های خون تهیه شد و در آزمایشگاه به روش رادیو ایمنواسی (RIA) جهت میزان پرولاکتین و هورمون رشد، مورد آنالیز قرار گرفت. برای آنالیز و مقایسه دو گروه شاهد و گروه آزمایشی در تمام قسمت های مذکور از آزمون t در نرم افزار SPSS استفاده شد.

جدول ۱ - اجزای تشکیل دهنده جیره (بر اساس درصد ماده خشک)

اجزای جیره	درصد
یونجه	۳۲
کاه	۲۴
ذرت سیلو شده	۱۱
جو	۳۳

جدول ۲ - ترکیب شیمیایی اجزای مختلف جیره غذایی مصرفی در آزمایش (درصد ماده خشک)

جیره	ماده خشک	پروتئین خام	فیبر خام	عصاره اتری	خاکستر
یونجه	۹۳/۲	۱۶/۱	۲۷/۶	۴/۸	۸/۱
کاه	۹۳/۱۵	۳/۳	۴۵	۱/۵	۷/۴
سیلو	۲۵/۴	۹	۳۴	۵/۴	۶/۷
جو	۹۱	۱۲/۱	۶	۱/۳۶	۳/۱
رازیانه	۹۱/۶	۱۹/۹۵	۲۱/۳۵	۱۵	۹/۲۲

نتایج و بحث

نتایج بدست آمده از رکوردبرداری شیر (جدول ۳) نشان می دهد میانگین شیر تولیدی قبل از شروع آزمایش برای گروه شاهد ۳۲۸ و برای گروه آزمایشی ۳۸۷ گرم در روز بوده و پس از شروع آزمایش اختلاف کاملاً معنی داری ($p \leq 0.01$) بین تولید شیر دو گروه مشاهده شده که گروه شاهد در مجموع ۳ هفته ی آزمایش ۳۲۳ گرم و گروه آزمایشی ۵۲۰ گرم در روز به طور میانگین شیر تولید کردند.

جدول ۳ - میانگین شیر تولیدی گوسفندان (گرم در روز)

مرحله آزمایش	میانگین گروه شاهد	میانگین گروه آزمایشی	معنی داری	SED
قبل از خوراندن رازیانه	۳۲۸	۳۸۷	ns	۵۰/۸۷
پس از خوراندن رازیانه				
میانگین ۳ هفته	۳۲۳	۵۲۰	**	۴۵/۹۸
میانگین هفته اول	۳۳۳	۵۱۱	ns	۸۷/۸۶
میانگین هفته دوم	۲۹۶	۵۲۹	*	۷۹/۴۱
میانگین هفته سوم	۳۴۰	۵۲۱	ns	۱۰۷/۲۱

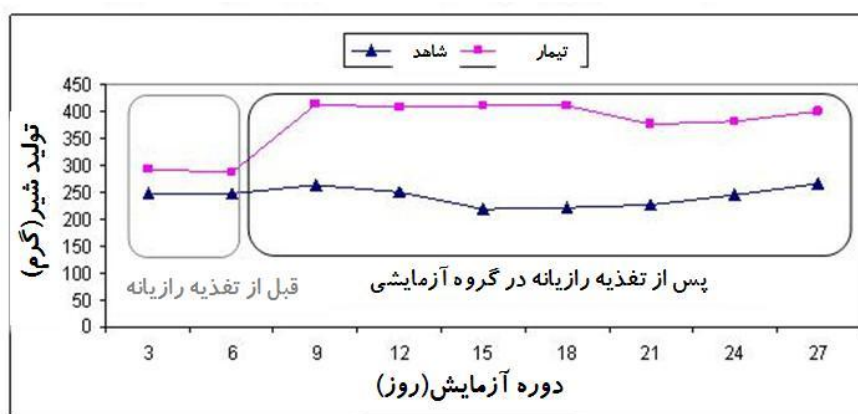
** نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ($p \leq 0.01$) می باشد.

* نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ($p \leq 0.05$) می باشد.

ns نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار می باشد.

همان طور که در نمودار ۱ مشاهده می شود، در طی هفته اول که هیچکدام از گروه ها رازیانه دریافت نکرده اند، اختلاف بین تولید شیر بسیار ناچیز می باشد ولی با اضافه شدن رازیانه به جیره گروه آزمایشی از هفته دوم این اختلاف بسیار مشهود و قابل توجه می باشد. برخی از تحقیقات افزایش وزن پستان در اثر افزایش سلول های اپیتلیال ترشحی را باعث افزایش تولید شیر می دانند (۷) و برخی دیگر افزایش شیر در اثر گیاهان دارویی را به فعالیت استروژنیک برخی ترکیبات گیاهان دارویی مرتبط دانستند (۳) و نهایتاً گروهی دیگر این اثر گیاهان دارویی را به افزایش راندمان مصرف مواد مغذی نسبت دادند (۱۰) و در این بررسی با توجه به نتایج بدست آمده، عمده دلیل افزایش تولید شیر، تغییرات هورمونی می باشد.

نمودار ۱- منحنی تولید شیر در گروه شاهد و آزمایشی در طی دوره آزمایش



در این مورد برخلاف هورمون رشد که تغییری در دو گروه نکرد؛ هورمون پرولاکتین در گروه آزمایشی افزایش معنی داری ($p \leq 0.01$) در مقایسه با گروه شاهد نشان داد (جدول ۴). نتایج حاصل تغییرات سطوح هورمون رشد و هورمون پرولاکتین مبین این نکته است که بذر رازیانه بر روی سیستم هورمونی بدن نیز تاثیرگذار است. میانگین هورمون رشد خون در ۳ ساعت اول پس از تغذیه درگوسفندان گروه آزمایشی تغییر مشهودی نسبت به گروه شاهد نداشت. اما میانگین هورمون پرولاکتین افزایش معنی

داری ($p \leq 0.01$) داشت. افزایش پرولاکتین را می توان به دو خاصیت آنتول مربوط دانست. اول اینکه آنتول دارای خاصیت استروژنیک بوده و می تواند به طور مستقیم بر روی تولید و ترشح پرولاکتین اثر مثبت داشته باشد (۳) و دوم اینکه به علت شباهت ساختمانی آنتول با دوپامین، به عنوان آنتاگونیست دوپامین عمل کرده و مانع از عمل دوپامین بر روی گیرنده های دوپامین در هیپوفیز شده و باعث افزایش ترشح پرولاکتین می شود (۵).

جدول ۴ - میانگین میزان هورمون های رشد و پرولاکتین خون (نانوگرم در میلی لیتر)

هورمون	میانگین گروه شاهد	میانگین گروه آزمایشی	معنی داری	SED
رشد	۰/۴۱۰	۰/۴۱۱	ns	۰/۰۵۹
پرولاکتین	۱/۱۵۸	۱/۴۴۴	**	۰/۰۹۴

*** نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ($p \leq 0.01$) می باشد.

ns نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار می باشد.

منابع

- ۱ - جهان آرا، ف و ف. حائری زاده. ۱۳۸۰. اطلاعات و کاربرد داروهای گیاهی رسمی ایران. انتشارات وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی.
- ۲ - زرگری، ع. ۱۳۷۰. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران. جلد ۱-۵

- 3- Agrawal, C., A. Narula, D.K. Vyas and D. Jacob, 1990. Effect of (kalaunji)(*Nigella sativa*) on the fertility and sialic content of the reproductive organs of the male rat. *Geobios*, 17: 269.
- 4- Albert-Puleo M. 1980. Fennel and anise as estrogenic agents. *J Ethnopharmacol* 2(4):337-344.
- 5- Basha, L.A., M. Rokaya, M. Hussein, M. Baddawi and A.M. Abdala, 1987. The influence of *Trigonella foenum graecum* on prolactin release in female albino rats during different phases of reproductive life. *J. Drug Res. Egypt.*, 17: 1-12.
- 6- Brinker FJ . 1998. *Herb Contraindications and Drug Interactions* . 2nd ed. Sandy, OR: Eclectic Medical Publications;
- 7- El-Komey, A.G., 1996. Effect of black seeds (*Nigella sativa*) during pregnancy and lactation o mammary gland development in rat. *Allex. J. Agric. Res.*, 41: 63-74.
- 8- Ernst E . 2002. Herbal medicinal products during pregnancy: are they safe? *BJOG* .;109(3):227-235.
- 9- Mohamed, A.H. and B.E. El-Saidy, 2004. Influence of some medicinal plants mixture as feed additives on balady lactating goats performance and some feeding utilization. *J. Agric. Sci., Mansoura University*, 29: 185.

10- Tiwari, S.P., R. Lal, S.P. Arora and M.P. Narange, 1993. Effect of aniseed-aherb combination on milk production in crossbred cows. *Indian J. Anim. Nutr.*, 10: 115-117

Feeding effects of fennel seeds (*foeniculum vulgare*) on lactation performance, growth hormone (GH) and prolactin (PRL) in Sanjabi ewes

Seifollah Kashani^{*}, Farokh Kafilzadeh, Farideh Momayez and Habibollah Kheymanesh

^{*} Corresponding E-mail address: skashani64@gmail.com

Abstract

In view of the traditional belief that fennel (*foeniculum vulgare*) can stimulate milk production in lactating women. Some plants have been identified as lactogenic because of a capacity to stimulate the synthesis of lactogenic hormones (prolactin (PRL), growth hormone (GH). This study was conducted to evaluate the effect of fennel seeds on milk production and Growth Hormone and Prolactin levels in lactating ewes. Twelve lactating ewes from the sanjabi breed in early lactation were divided into two groups depending on lactation week and parity. Six ewes were fed with 20 g per day of fennel seeds powder for three weeks while the other six ewes served as controls. Blood samples were collected in final week and were taken every 45 minutes for 3 hours during fennel treatment. The production milk yield of ewes fed fennel seed was and significantly higher ($p<0.01$) than that of the control group at week 3 of lactation. Mean levels of growth hormone during three hours bleeding were not significant in the fennel treated ewes compared to control but levels of prolactin were significantly higher ($p<0.01$) in the fennel treated ewes compared to control. This study demonstrates that the fennel seeds can stimulate PRL release in the lactating ewes and could consequently have the lactogenic and Galactagogue properties for lactating ruminants.

Key words: fennel - *foeniculum vulgare* - milk production - growth hormone – prolactin - lactating ewes

طراحی و ساخت دستگاه صفحه نیرویی و جمع آوری و پردازش داده های میدانی جهت تشخیص اتوماتیک و زودهنگام بیماری
لنگش در نشخوارکنندگان

جواد اکبری*^۱ و مهدی گنج خانلو^۲

۱ - قطب علمی طراحی، رباتیک و اتوماسیون، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی شریف

۲ - دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران

* تهران، خیابان آزادی، دانشگاه صنعتی شریف akbari@sharif.edu

چکیده

بیماری لنگش برای سالیان متمادی بعد از ناباروری و بیماری ورم پستان یکی از مهمترین بیماری گاوها در گاوداری ها بوده و اهمیت اقتصادی بسیار زیادی دارد و سالهاست که تلاش برای ارائه روش شناسایی به موقع این بیماری در محافل علمی ادامه دارد. این بیماری در سایر نشخوارکنندگان از قبیل اسب و گوسفند نیز گزارش شده است. در این مقاله با پژوهش تجربی و با در نظر گرفتن دورنمای نهایی تشخیص اتوماتیک و زودهنگام بیماری لنگش در گاوهای شیری، دستگاه صفحه نیرویی جهت داده برداری گسترده و به دست آوردن GRFها (نیروی زیر هر پا) طراحی و ساخته شد و بعد از حذف داده های بی ارزش پارامترهایی که قابلیت ایجاد تمایز بین نمونه بیمار و سالم داشتند شناسایی گردیدند. سپس توسط مدلی با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی نمونه های بیمار و سالم براساس ورودی ها که همان پارامترهای معیار هستند طبقه بندی و در نهایت ارزیابی گردید. دستگاه ساخته شده و شبکه عصبی مورد استفاده در این پژوهش، توانست با دقت ۷۸٪ در تشخیص وضعیت لنگش گاو موفق باشد. این پژوهش نشاندهنده کارایی مثبت روش مورد استفاده است و آینده این روش تشخیص زود هنگام را با داده برداری های گسترده تر و دقیق تر امیدوار کننده می سازد.

واژگان کلیدی: بیماری لنگش - نیروی تماسی سم با زمین (GRF) - تشخیص اتوماتیک و زودهنگام - دستگاه صفحه نیرویی - شبکه عصبی مصنوعی

مقدمه

بیماری لنگش (Lameness) یک بیماری شناخته شده در صنعت پرورش گاو چه در داخل و چه خارج ایران است که مشخصه معرفه آن لنگی گاو در حین راه رفتن به علت دردناک بودن قسمتی از اندام حرکتی می باشد. بیماری لنگش یکی از مشکلات عمده سلامتی گاو در گاوداریهای صنعتی است که آثار اقتصادی قابل توجهی دارد. مطالعات بسیاری جهت پی بردن به تعداد گاوهایی که از لنگش و بیماریهای سم رنج می برند، انجام شده است. در سال ۱۹۸۳ گزارش شده که وقوع سالیانه لنگش در انگلستان ۲۵٪ بوده است. در سال ۱۹۹۶ وقوع سالیانه ۵۵٪ و شیوع ۲۱٪ در ۳۷ گاوداری انگلستان گزارش شده که در این بررسی شیوع بیماری در گاوداری های مختلف از ۲٪ تا ۵۰٪ و وقوع سالیانه از ۱۱٪ تا ۱۷٪ گزارش شده است. در سال ۲۰۰۳،

شیوع ۱۴٪ بیماری لنگش در بین ۸ گاوداری با ۱۳۰۰ گاو در کشور دانمارک گزارش شده است. در سال ۲۰۰۲، پنج گاوداری با ۹۰۰ گاو در انگلستان مورد بررسی قرار گرفته و وقوع ۷۰٪ در طول ۱۸ ماه گزارش شده است [۱]. هم چنین در سال ۲۰۰۶ شیوع ۲۵٪ در ایالت ویسکانزین آمریکا، در سال ۲۰۰۴ شیوع ۱۰٪ در سوئیس و در سال ۲۰۰۲ شیوع ۵٪ در سوئد گزارش شده است [۲]. ضررهای اقتصادی بیماری لنگش شامل کاهش تولید شیر، مشکلات ناباروری، افزایش حذف زود هنگام و هزینه های درمانی می باشد و در بعضی از مطالعات هزینه ی کلیه ضررها (۲۲۴-۳۲۰) یورو برای هر نمونه گاو بیمار تخمین زده شده است [۳]. همچنین هزینه درمان بیماری لنگش در اروپا (۵۰-۱۰۰) یورو برای هر گاو بیمار گزارش شده است [۴].

نکته دیگری که در موضوع تشخیص بیماری لنگش گاوهای شیری حائز اهمیت است، تشخیص وقوع بیماری در اسرع وقت است. مطالعات نشان می دهد که از ماه ها قبل تا ماه ها بعد از این که گاو بطور بالینی لنگ تشخیص داده شود تولید شیر کمتری دارد.

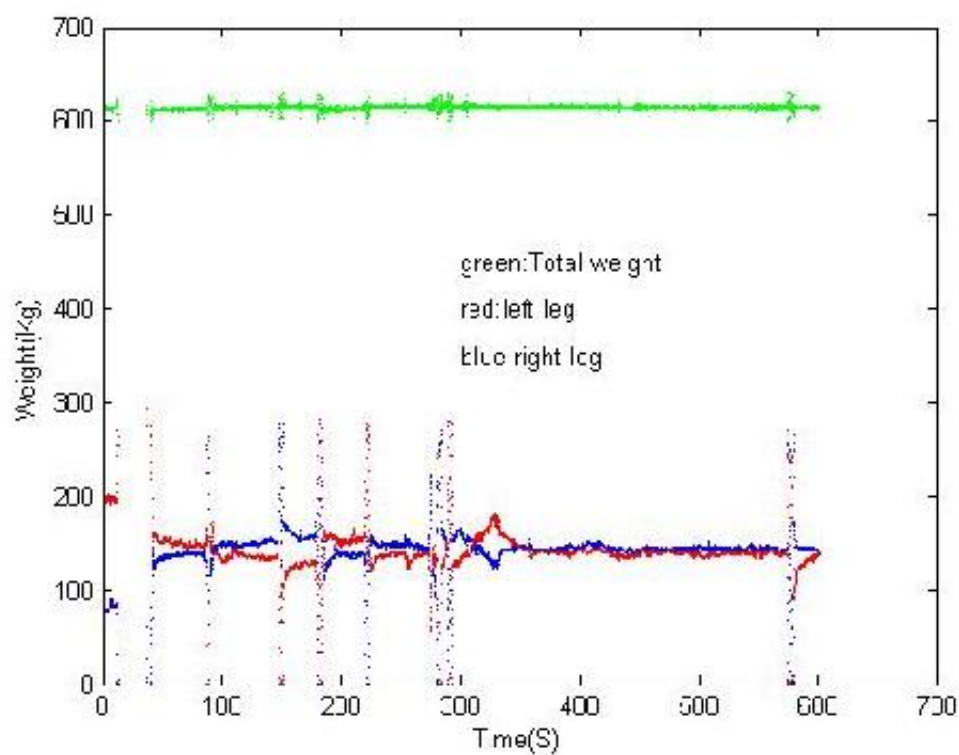
هدف این پژوهش در مرحله اول طراحی و ساخت دستگاه صفحه نیرویی و نصب آن در گاوداری است و در ادامه، اندازه گیری GRF ها و تحلیل آنها برای گاو سالم و بیمار است. تعیین پارامترهای مشخص کننده زود هنگام لنگش و در مرحله بعد ارائه مدلی با استفاده از شبکه عصبی نیز از اهداف این تحقیق در جهت تشخیص زود هنگام این بیماری می باشد.

مواد و روش ها

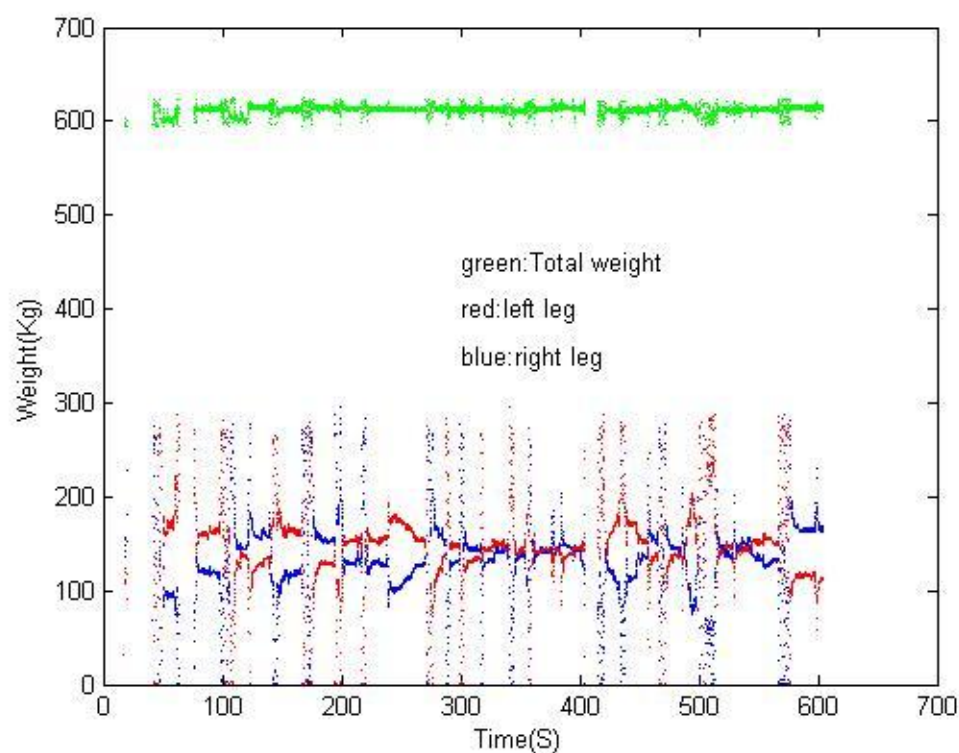
دستگاه صفحه نیرویی، دستگاهی با چهار صفحه اندازه گیری نیرو می باشد که در زیر هر صفحه یک لودسل با ظرفیت ۵۰۰ kg قرار می گیرد (شکل ۱). این دستگاه از دو بخش اصلی تشکیل شده است: بخش الکترونیکی و بخش مکانیکی، وظیفه بخش الکترونیکی انتقال داده های بدست آمده از لودسل ها به کامپیوتر و ذخیره کردن آنها می باشد. در کنار این بخشهای سخت افزاری، نوشتن نرم افزاری با روش کاربری ساده و با امکان کالیبراسیون در هر آزمایش از دیگر فعالیتهای این پژوهش می باشد. فرکانس داده برداری 10Hz در نظر گرفته شده است.



شکل ۱ دستگاه آزمایش قبل از نصب در گاوداری



(الف)



(ب)

شکل ۲: تغییرات الگوی توزیع وزن گاو با کد ۱۰۵۱ روی پاها، الف: در تاریخ ۶/۹، ب: در تاریخ ۷/۴

پارامترهای معیار تشخیص

یکی از پارامترهایی که بین گاو سالم و بیمار وجه تمایز ایجاد می نماید تعداد جابه جایی بار روی هر پا به پای مقابل می باشد که آن را تعداد کیک (kick) می نامیم. در این پروژه کیک حالتی تعریف می شود که نیروی وزن یکی از پاهای عقب گاو به کمتر از ۵kg کاهش یابد و وزن آن به پای کناری انتقال یابد. اثر لنگش بر تعداد کیک ها در نمودارهای زیر مشخص است. همانطور که در نمودارهای شکل ۲ مشهود است فرکانس کیکینگ گاو ۱۰۵۱ در تاریخ ۶/۹، ۰/۰۴ و در تاریخ ۷/۴، ۰/۱۲ بوده است.

با توجه به نتایج منابع معرفی شده در مقدمه، زمانی که یکی از پاهای عقب گاو دچار لنگش شود به طور کلی وزن کمتری روی آن پا قرار می دهد. در نتیجه پارامتر دیگری که می تواند در تشخیص لنگش کمک کند وزن متوسط هر کدام از پاهای عقب می باشد. باز هم برای اینکه بتوان پارامتری همسان برای داده برداری های مختلف به دست آورد در هر داده برداری نسبت وزن متوسط پای عقب سبک به پای عقب سنگین محاسبه گردید. برای گاو ۱۰۵۱ نسبت وزن پاها در تاریخ ۶/۹، ۰/۹۹ و در تاریخ ۷/۴، ۰/۸ بوده است. لازم به ذکر است که بیماری لنگش برای این گاو در تاریخ ۷/۲ محرز شده است.

در مرحله بعدی توسط کدی که در نرم افزار Matlab نوشته شد فرکانس کیکینگ و نسبت وزن متوسط پای عقب سبک به پای عقب سنگین برای هر مرحله داده برداری مربوط به گاو و تاریخ خاص محاسبه گردید. باید توجه داشت که در واقع از دو پارامتری که در بالا تعریف گردید به عنوان ورودی های شبکه عصبی جهت تشخیص اتوماتیک بیماری لنگش استفاده می گردد.

شبکه عصبی مورد استفاده

شبکه عصبی که در این پژوهش جهت طبقه بندی داده ها استفاده گردید Feed Forward Back Propagation می باشد. همانطور که در قسمت های قبلی بررسی گردید ورودی شبکه عصبی دو پارامتر، فرکانس کیکینگ و نسبت وزن متوسط پای عقب سبک به پای عقب سنگین می باشد. همچنین خروجی های هدف هم به صورت زیر برای آموزش شبکه در نظر گرفته شد.

جدول ۱: طبقه بندی خروجی ها

Class	شرح
۱	گاو سالم که هیچ علائمی از لنگش از خود بروز نمی دهد
۲	گاوی که تا ۷ روز آینده بیماری لنگش را بروز می دهد.
۳	گاو لنگ و گاوی که حداکثر ۳ روز از زمان رؤیت لنگش و درمان اولیه گذشته باشد.

نتایج اولیه (GRF)

در مدت زمان ۲ ماهی که داده برداری صورت گرفت ۹۸ گاو مانیتور شدند که ۶۷ تا از آن ها حداقل ۳ بار در مدت ۲ ماه روی دستگاه رفتند. طبق اطلاعاتی که از مسئول لنگش گاوداری پردیس کشاورزی دانشگاه تهران به دست آمد، ۲۷ مورد لنگش در طول ۲ ماه گزارش شد. در واقع میزان وقوع لنگش در طول مدت پژوهش حدود ۲۸٪ و میزان شیوع حدود ۱۵٪ بوده است. طبق روالی که در مجموعه مذکور متداول است، پس از تشخیص بیماری توسط تکنسین مربوطه درمان موضعی صورت می گیرد و با گذشت ۴ الی ۷ روز گاو از نظر لنگی سلامت خود را به دست می آورد اما افت تولید شیر او همچنان ادامه دارد و حدود ۱ الی ۲ ماه برای بازگشت به تولید شیر قبلی زمان احتیاج دارد. باید توجه داشت که تشخیص بیماری توسط تکنسین در نمره حرکتی ۳ و بالاتر معمولاً اتفاق می افتد که گاو به وضوح در هنگام راه رفتن لنگ می زند.

نتایج استفاده از شبکه عصبی و تشخیص لنگش

در مدل سازی شبکه عصبی پس انتشار مورد استفاده همانطور که در فصل قبل به آن اشاره شد از ۴۰۶ فایل داده ۶۰٪ جهت آموزش دسته ای (Train) شبکه به صورت رندوم مورد استفاده قرار گرفت. یعنی در هر مرحله حدود ۲۴۰ فایل به صورت دسته ای به شبکه خورانه شد. سیستم هوشمند عصبی به صورتی وزن ها و بایاس ها را تغییر می دهد که خروجی به هدف های مربوط به این ۲۴۰ داده نزدیک باشد و سپس خروجی شبکه با هدف مورد نظر مقایسه گردید. این مقایسه و تست با ۱۰٪ از فایل داده های (validation) باقیمانده انجام گرفت و اختلاف خروجی با هدف به عنوان Mean Squared Error ثبت گردید..

به طور کلی شبکه عصبی پس انتشار مورد استفاده دقتی در حدود ۷۸٪ دارد و تا ۸۵٪ قابل افزایش است و فقط در ۱۵٪ موارد ممکن است شبکه اظهار اشتباه دهد که با توجه به امکانات و شرایط موجود و اینکه اینگونه مانیتورینگ گاو برای اولین بار در ایران صورت گرفته است دقت قابل قبولی می باشد.

منابع

۱. هنرور محجوبین، م. ۱۳۸۶. پژوهشی در تشخیص اتوماتیک و زودهنگام بیماری لنگش در گاوهای شیری، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی شریف، ۹۵ صفحه.
۲. صداقتی، ن. ۱۳۹۰، طراحی و ساخت دستگاه صفحه نیرویی و جمع آوری و پردازش داده های میدانی جهت تشخیص اتوماتیک بیماری لنگش در نشخوارکنندگان، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی شریف، ۹۰ صفحه.

3. Engel, B., G. Bruin, G. Andre, and W. Buist. 2003. Assessment of observer performance in a subjective scoring system: visual classification of the gait of cows. J. Agric. Sci. 140:317-333.
4. Espejo, L. A., M. I. Endres and J. A. Salfer. 2006. Prevalence of lameness in high producing Holstein cows housed in free stall barns in Minnesota. J. Dairy Sci. 89:3052-3058.

تأثیر ویتامین E و Se بر برخی عناصر خونی و پارامترهای بیوشیمیایی خون گوسفند بلوچی تحت تنش گرمایی محبوب حیدری^۱، علی قربانی^۱

۱- دانشجویان کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام و طیور دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

mh_1365@yahoo.com
09159089979

چکیده

تنش، ناتوانایی یک حیوان برای تطابق محیط است به نحوی که حیوان نتواند به توانایی‌های ذاتی ژنتیکی خود برسد (۶). در این تحقیق از ۸ رأس گوسفند نژاد بلوچی استفاده شد. دوره عادت پذیری ۲ هفته بود. حیوانات به دو گروه ۴ تایی، بصورت تصادفی تقسیم شدند. هر دو گروه به مدت ۵ روز تحت تأثیر تنش گرمایی قرار گرفتند. دما در روز ۴۰ و در شب ۲۷ سانتی گراد بود. در گروه شاهد از تزریق پلاسبو (دارو نما) به میزان ۴ سی‌سی به ازای هر گوسفند و در گروه تیمار از ویتامین E و سلنیوم به میزان ۱ سی‌سی به ازای هر ۱۰ کیلوگرم وزن بدن به صورت عضلانی به مدت ۶ روز استفاده شد. عناصر خونی مورد نظر شامل: گلبول-های سفید و گلبول‌های قرمز و پارامترهای بیوشیمیایی شامل: آنزیم‌های گاماگلوتامیل ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، سرم گلوتامیک پیروویک ترانس آمیناز و سرم گلوتامیک اگزالواسیات ترانس آمیناز با استفاده از روش‌های استاندارد اندازه گیری شدند نتایج نشان داد که بین گروه شاهد و تیمار اختلاف معنی‌داری در گلبول‌های قرمز و پارامترهای بیوشیمیایی وجود نداشت اما بین گروه شاهد و تیمار اختلاف معنی‌داری در گلبول‌های سفید وجود داشت.

کلمات کلیدی: ویتامین E و سلنیوم- عناصر خونی- پارامترهای بیوشیمیایی -تنش گرمایی-گوسفند

مقدمه

هر تغییر محیطی که فرآیند هموستازی بدن را مختل کند یک عامل تنش‌زا به شمار می‌آید و عبارتی تنش به موقعیتی گفته می‌شود که هموستازی حیوان تهدید شود. اضطراب اثر منفی بر سلامتی و تولید مثل دارد و ممکن است سبب صدمه و بیماری شود. آثار تنش در نهایت در سطح هیپوتالاموس کنترل می‌شود و بوسیله تغییرات در رفتار و اثرات عصبی-هورمونی از طریق فعال کردن سامانه اعصاب خودکار و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-فوق کلیه تنظیم می‌شوند. از بین بردن علت تنش (مانند تنش ناشی از حمل و نقل، دمای نامناسب محیط، انجام معاینات و تزریقات و...) و فراهم کردن رفاه حیوان از راهکارهای مقابله با تنش است (۱). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند ویتامین‌های E و C و بعضی عناصر معدنی مانند سلنیوم و روی می‌توانند اثرات نامطلوب تنش گرمایی را کاهش دهند (۹). سلنیوم یک آنتی‌اکسیدان قوی است. بنابراین از واکنش‌های شیمیایی مضر که در سلول‌های بدن اتفاق می‌افتد، جلوگیری می‌کند (۷). دلیل شهرت ویتامین E خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن است که عبارت است از کاهش عوامل شیمیایی مخربی که در اثر استرس‌های فیزیولوژیکی و محیطی در خون بوجود آمده است (۲). بنابراین پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر ویتامین E، سلنیوم بر میزان گلوکز، تری گلیسرید، پروتئین تام، آلبومین، کلسترول، کورتیزول در گوسفندان بلوچی تحت تنش گرمایی انجام شد.

مواد و روشها

در این تحقیق از ۸ رأس گوسفند نر هم سن و هم وزن و از نژاد بلوچی استفاده شد. نگهداری حیوانات در محیط بسته و تحت شرایط کنترل شده دما و رطوبت صورت گرفت. دوره عادت پذیری ۲ هفته است که به دام ها یونجه به میزان ۲۰٪ و ۸۰٪ کنسانتره (۱۰) و آب به صورت آزاد داده شد. در ابتدای ورود دام از داروهای ضد انگل (آلبندازول-آیورمکتین) استفاده شد و دام ها پشم چینی شدند. حیوانات به دو گروه ۴ تایی بصورت تصادفی تقسیم شدند. هر دو گروه تحت تأثیر تنش گرمایی به مدت ۵ روز قرار گرفتند بطوری که دما در روز حدود ۴۰ درجه سانتی گراد و در شب حدود ۲۷ درجه سانتی گراد بود. در گروه شاهد از تزریق پلاسبو (دارو نما) استفاده شد و در گروه تیمار از ویتامین E-سلنیوم به میزان ۱ سی سی به ازای هر ۱۰ کیلوگرم وزن بدن به صورت عضلانی به مدت ۶ روز استفاده شد. خونگیری از گوسفندان در روزهای (۰، ۱، ۳، ۵) از ورید و داج انجام گرفت. سرم خون با استفاده از سانتریفوژ ۱۷۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه جدا شدند. سپس فاکتورهای خونی مورد نظر شامل: گلوکز، تری گلیسرید، پروتئین تام، آلومین، کلسترول و کورتیزول با استفاده از روش های استاندارد اندازه گیری شدند. ثبت علائم بالینی شامل دمای رکتال، ضربان قلب، تعداد تنفس، میزان مصرف خوراک حیوان اندازه گیری شد. اطلاعات با استفاده از نرم افزار SAS ۹.۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و Mean, S.E.M اطلاعات در روزهای تعیین شده با روش ANOVA و Repeated Measurement مورد ارزیابی قرار گرفتند. سطح معنی دار بودن ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. مدل آماری عبارت بود از:

$$ijky = \mu + \text{Group } i + \text{Day Group } i * \text{Day } j + e_{ijk}$$

که در این مدل، y_{ijk} : مقدار هر مشاهده، μ : میانگین صفت، Group_i : اثر تیمار، $\text{Group } i * \text{Day } j$: اثر متقابل تیمار در روز، e_{ijk} : اثر خطای آزمایش در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

در تحقیق حاضر اختلاف معنی داری بین گروه شاهد و تیمار در در گلبول های قرمز و پارامترهای بیوشیمیایی وجود نداشت بنابراین نتیجه می گیریم که استفاده از مکمل ویتامین E، سلنیوم بر گلبول های قرمز و پارامترهای بیوشیمیایی اثر معنی داری نداشت. اما بین گروه شاهد و تیمار اختلاف معنی داری در گلبول های سفید وجود داشت. در این تحقیق با شروع تنش گرمایی میانگین گلبول های سفید خون گوسفندان افزایش عددی داشت. که ممکن است باعث آزاد شدن اپی نفرین در هنگام تنش باشد (۴). تزریق مکمل ویتامین E -سلنیوم منجر به افزایش معنی دار تعداد گلبول های سفید شد. گلبول های قرمز به شکل صفحه مقعرالطرفین هستند که شکل آن ها هنگام عبور از مویرگ ها می تواند تغییر کند. از آنجایی که مهمترین عمل گلبول های قرمز حمل هموگلوبین و در نتیجه انتقال اکسیژن از ریه ها به سمت بافت ها است (۳) با شروع تنش گرمایی میانگین گلبول های قرمز افزایش عددی داشت اما این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود. آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز که نشانگر اصلی اختلالات کبدی-صفراوی در دام های بزرگ است (۴) بیشترین مقدارش در کلیه ها و کمترین مقدار آن در عضلات وجود دارد (۵). آلکالین فسفاتاز آنزیم هیدرولازکننده مسئول انتقال گروه فسفات از بسیاری از مولکول ها شامل نوکلئوتیدها، پروتئین ها و آلکالوئیدهاست (۸). طی این آزمایش آلکالین فسفاتاز کاهش عددی نشان داد. استفاده از ویتامین E منجر به کاهش این آنزیم از شروع دوره تا روز سه گردید. سرم گلوتامیک پیرویک ترانس آمیناز SGPT یا آلانین آمینوترانسفراز ALAT که انتقال یک گروه آمینو را از آلانین به آلفاکتوگلو تارات کاتالیز می کند در گروه تیمار با مصرف مکمل ویتامین E، سلنیوم افزایش عددی نشان داد. اما استفاده از مکمل ویتامین E، سلنیوم در میزان سرم گلوتامیک اگزواستات ترانس آمیناز اثری نداشت. این آنزیم آنزیمی غیراختصاصی است و در همه بافت ها وجود دارد

اما بیشترین فعالیت آن در کبد و عضلات است. در آسیب‌های کبدی این آنزیم بطور مشخص افزایش می‌یابد (۱۱). برخی نتایج مربوط به پارامترهای فوق در جداول ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ نشان داده شده است.

جدول ۱: مقایسه میانگین گلبول‌های سفید (μl) بین شاهد و تیمار در هر روز

کل دوره SE	کل دوره	روز ۵	روز ۳	روز ۱	روز ۰	
۰/۱۷	۷/۶۲ ^a	۷/۷۲	۷/۳۵	۸/۱ ^a	۷/۳۲ ^a	میانگین شاهد
۰/۱۷	۹ ^b	۸/۶۹	۸/۲۵	۹/۶ ^b	۹/۴۷ ^b	میانگین تیمار

جدول ۲: مقایسه میانگین گلبول‌های قرمز (ml) بین شاهد و تیمار در هر روز

کل دوره SE	کل دوره	روز ۵	روز ۳	روز ۱	روز ۰	
۰/۳۴	۷/۷	۷/۷۷	۷/۴۵	۸/۱۸	۷/۳۹	میانگین شاهد
۰/۳۴	۷/۹۳	۷	۸/۶۵	۸/۲۷	۷/۸	میانگین تیمار

جدول ۳: مقایسه میانگین آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز (IU/L) بین شاهد و تیمار در هر روز

کل دوره SE	کل دوره	روز ۵	روز ۳	روز ۱	روز ۰	
۴/۱۹	۶۸/۵۶	۶۸/۶۵	۶۴/۱	۶۸/۰۲	۷۳/۵	میانگین شاهد
۴/۱۹	۶۲/۵۳	۵۸/۹۷	۶۲/۹۷	۶۴/۱۲	۶۴/۰۷	میانگین تیمار

جدول ۴: مقایسه میانگین آنزیم آلکالین فسفاتاز ($\mu\text{g/dl}$) بین شاهد و تیمار در هر روز

کل دوره SE	کل دوره	روز ۵	روز ۳	روز ۱	روز ۰	
۵۲/۹۷	۴۱۰/۶۲	۳۷۴/۵	۴۰۹/۲۵	۴۲۳/۵	۵۳۵/۲۵	میانگین شاهد
۵۲/۹۷	۳۷۷/۶۹	۳۸۵/۷۵	۳۹۰	۳۷۹/۵	۳۸۲/۵	میانگین تیمار

جدول ۵: مقایسه میانگین غلظت SGPT بین شاهد و تیمار در هر روز

کل دوره SE	کل دوره	روز ۵	روز ۳	روز ۱	روز ۰	
۱/۸۲	۲۰/۷۵	۲۴/۵	۲۲/۷۵	۲۰/۲۵	۱۶/۷۵	میانگین شاهد
۱/۳	۲۴/۶۵	۲۴/۲۵	۲۳	۲۸/۷۵	۲۱/۷۵	میانگین تیمار

جدول ۶: مقایسه میانگین غلظت SGOT بین شاهد و تیمار در هر روز

کل دوره SE	کل دوره	روز ۵	روز ۳	روز ۱	روز ۰	
۴/۳۳	۱۱۹/۱	۱۳۷/۳	۱۲۹	۱۲۰/۵	۱۰۲/۳	میانگین شاهد
۳/۷۱۱	۱۱۹/۸	۱۱۴/۸	۱۱۱/۸	۱۲۱	۱۰۸/۸	میانگین تیمار

منابع

۱. سعادت نوری، م.، و سیاه منصور، ص.، ۱۳۷۱. اصول نگهداری و پرورش گوسفند. انتشارات اشرافی.

۲. صوفی سیاوش، ر.، ۱۳۸۵. تغذیه دام. انتشارات آبیژ
۳. گایتون، آ.، ۱۹۹۴. فیزیولوژی بدن انسان (ترجمه). چاپ هفتم. انتشارات خواجه نصیر. ۵۵۶.
۴. گرجی دوز، م.، فرزانه، ن.، رئوفی، الف.، سیفی، ح.، افشاری، غ.، مرجانمهر، ح.، ویراستار: گرجی دوز، م. ۱۳۷۹. طب داخلی دامهای بزرگ (ترجمه). جلد سوم. چاپ اول. انتشارات نوربخش تهران.
۵. مجابی، ع.، ۱۳۷۰. بیوشیمی درمانگاهی دامپزشکی. چاپ اول. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشکده دامپزشکی تهران.
6. Dobson, H., Smith, R.F., 2000. What is stress and how does it affect reproduction?. *Journal of Animal Science*. 60: 743-752.
7. Gabbedy, B.J., 1971. Effect of selenium on wool production body weight and mortality of young sheep in Western Australia. *Journal of Aust Veterinary*. 47(7): 318-22.
8. Horiuchi, S., Horiuchi, D., and Mizuno, A., 1959. A Possible Negative Feedback Phenomenon controlling Formation of Alkaline Phosphomonoesterase in *Escherichia coli*. *Journal of Veterinary Research*. 183: 1529-1530.
9. Nayyar, S., Jindal, R., 2010. Essentiality of antioxidant vitamins for ruminants in relation to stress and reproduction. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 30: 1-9.
10. NRC., 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th ed. Natl Acad Press. Washington, DC.
11. Oystein, V., Knut, Hove., Olav, S., 2003. Physiology of Domestic Animals. First Edition. International Book Distributing Co. 286-287.

Effect of vitamin E and Se on some blood factors and biochemical parameters of Baluchi sheep
blood under heat stress
M. heidari¹, A. ghorbani¹

1- Graduate student in Animal Science, Student Agriculture, University of Birjand, Birjand,
Iran

mh_1365@yahoo.com

09159089979

Abstract

Stress is animal inability to accordance with environment as animal can not achieve to genetic innate abilities. In this study were used 8 Baluchi sheep. Adaption time was 2 weeks. Animals were divided randomly into two groups of four bits. Both groups were affected by heat stress for 5 days. Temperature at day was 40°C and at night was 27°C. Sheep in the control group Injected with placebo 4 cc per each sheep and in the treatment group with vitamin E-selenium 1cc per 10kg body weight for 6 days IM. The blood factors included white blood cells and red blood cells and biochemical parameters included GGT, ALK, SGPT and SGOT which were measured using standard methods. Results showed there were not significant differences between control



and treatment in red blood cells and biochemical parameters , but there was significant difference between control and treatment in white blood cells.

Keywords: Vitamin E and Selenium-blood factors- biochemical parameters- Heat stress-Sheep

تأثیر ویتامین E و Se بر برخی پارامترهای فیزیولوژیک خون گوسفند بلوچی تحت تنش گرمایی
محبوب حیدری^۱، معصومه ولوی^۱، هادی قنبرزاده^۱، مرضیه نادری^۱

۱ - دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام و طیور دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

mh_1365@yahoo.com

09159089979

چکیده

تنش گرمایی یک فاکتور محدود کننده برای تولید گوسفند است. وقتی حیوان از گرما رنج می برد مصرف غذا و متابولیسم کاهش می یابد (۸). در این تحقیق از ۸ رأس گوسفند نژاد بلوچی استفاده شد. دوره عادت پذیری ۲ هفته بود. حیوانات به دو گروه ۴ تایی، بصورت تصادفی تقسیم شدند. هر دو گروه به مدت ۵ روز تحت تأثیر تنش گرمایی قرار گرفتند. دما در روز ۴۰ و در شب ۲۷ سانتی گراد بود. در گروه شاهد از تزریق پلاسبو (دارو نما) به میزان ۴ سی سی به ازای هر گوسفند و در گروه تیمار از ویتامین E و سلنیوم به میزان ۱ سی سی به ازای هر ۱۰ کیلوگرم وزن بدن به صورت عضلانی به مدت ۶ روز استفاده شد. پارامترهای فیزیولوژیک مورد نظر شامل: گلوکز، تری گلیسرید، پروتئین تام، آلبومین، کلسترول، کورتیزول با استفاده از روش های استاندارد اندازه گیری شدند. نتایج نشان داد که بین گروه شاهد و تیمار اختلاف معنی داری در گلوکز، تری گلیسرید، آلبومین و کلسترول وجود نداشت اما بین گروه شاهد و تیمار اختلاف معنی داری در پروتئین تام و کورتیزول وجود داشت. قرار گیری در شرایط تنش موجب افزایش غلظت کورتیزول گردید. استفاده از مکمل ویتامین E و سلنیوم موجب بهبود این روند گردید. کلمات کلیدی: ویتامین E و سلنیوم - پارامترهای فیزیولوژیک - تنش گرمایی - گوسفند

مقدمه

در مناطق مختلف دنیا واژه های تنش گرمایی معنای متفاوت دارد، زیرا در مناطق گرمسیر دمای محیط برای مدت طولانی بالا باقی می ماند ولی در مناطق معتدل تنها برای مدت کوتاهی دمای هوا بالاست. تنش گرمایی ناشی از برهم کنش بین دمای هوا و رطوبت، حرارت تابشی و سرعت تنفس است (۱). هرگاه دمای محیط به بیشتر از ۳۲ درجه سانتی گراد برسد تنش گرمایی اتفاق می افتد. تنش گرمایی منجر به آکالوز تنفسی، افزایش سرعت تنفس و افزایش دمای رکتال و سرعت تنفس می شود (۶). تنش اتفاقی است که بطور معنی دار همئوستاز حیوان را به چالش می کشد. تا زمانیکه چالش وجود داشته باشد حیوان تحت تنش است و پاسخ های فیزیولوژیکی و رفتاری به چالش اثرات تنش را دارند. حیوانات می توانند در حضور تنش تنظیمات رفتاری و فیزیولوژیکی ایجاد کنند که بتواند آن اتفاق را از چالش بودن حفظ کند (۱۱). به منظور کاهش اثرات نامطلوب تنش گرمایی از آنتی اکسیدان های طبیعی مانند ویتامین های E و C و از برخی مینرال ها (سلنیوم و روی) استفاده شده است (۱۲). همچنین ثابت شده است که ویتامین ها و مینرال ها نقش مهمی در رشد حیوانات و اعمال تولید مثلی آنان دارند. سلنیوم عمل بیولوژیکی مرتبط با ویتامین E دارد و یک جزء اساسی در گلوکاتایون پراکسیداز است. گلوکاتایون پراکسیداز آنزیمی است که در سم زدایی پراکسید هیدروژن و هیدروپراکسید های لیپید نقش بازی می کند. غشای ساب سلولار حساس ترین قسمت به پراکسیداسیون است. علاوه بر آن سلنیوم جزئی از پروتئین هاست و در ایمنی و عمل عصبی روانی تغذیه حیوانات دخالت می کند و کمبود آن در بیماری هایی مثل باروری

معیوب، سقط و جفت ماندگی مؤثر است (۱۰). بنابراین پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر ویتامین E، سلنیوم بر میزان گلوکز، تری گلیسرید، پروتئین تام، آلبومین، کلسترول، کورتیزول در گوسفندان بلوچی تحت تنش گرمایی انجام شد.

مواد و روشها

در این تحقیق از ۸ رأس گوسفند نر هم سن و هم وزن و از نژاد بلوچی استفاده شد. نگهداری حیوانات در محیط بسته و تحت شرایط کنترل شده دما و رطوبت صورت گرفت. دوره عادت پذیری ۲ هفته است که به دام ها یونجه به میزان ۲۰٪ و ۸۰٪ کنسانتره (۱۳) و آب به صورت آزاد داده شد. در ابتدای ورود دام از داروهای ضد انگل (آلبندازول-آیورمکتین) استفاده شد و دام-ها پشم چینی شدند. حیوانات به دو گروه ۴ تایی بصورت تصادفی تقسیم شدند. هر دو گروه تحت تأثیر تنش گرمایی به مدت ۵ روز قرار گرفتند بطوری که دما در روز حدود ۴۰ درجه سانتی گراد و در شب حدود ۲۷ درجه سانتی گراد بود. در گروه شاهد از تزریق پلاسبو (دارو نما) استفاده شد و در گروه تیمار از ویتامین E-سلنیوم به میزان ۱ سی سی به ازای هر ۱۰ کیلوگرم وزن بدن به صورت عضلانی به مدت ۶ روز استفاده شد. خونگیری از گوسفندان در روزهای (۰، ۱، ۳، ۵) از ورید و داج انجام گرفت. سرم خون با استفاده از سانتریفوژ ۱۷۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه جدا شدند. سپس فاکتورهای خونی مورد نظر شامل: گلوکز، تری گلیسرید، پروتئین تام، آلبومین، کلسترول و کورتیزول با استفاده از روش های استاندارد اندازه گیری شدند. ثبت علائم بالینی شامل دمای رکتال، ضربان قلب، تعداد تنفس، میزان مصرف خوراک حیوان اندازه گیری شد. اطلاعات با استفاده از نرم افزار SAS ۹.۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و Mean, S.E.M اطلاعات در روزهای تعیین شده با روش ANOVA و Repeated Measurement مورد ارزیابی قرار گرفتند. سطح معنی دار بودن ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. مدل آماری عبارت بود از:

$$ijky = \mu + \text{Group } i + \text{Day } j + \text{Group } i * \text{Day } j + e_{ijk}$$

که در این مدل، y_{ijk} : مقدار هر مشاهده، μ : میانگین صفت، $\text{Group } i$: اثر تیمار، $\text{Day } j$: اثر متقابل تیمار در روز، e_{ijk} : اثر خطای آزمایش در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

در این پژوهش اختلاف معنی داری بین گروه شاهد و تیمار در میزان گلوکز، تری گلیسرید، آلبومین و کلسترول وجود نداشت اما بین گروه شاهد و تیمار اختلاف معنی داری در پروتئین تام و کورتیزول وجود داشت. می توان نتیجه گرفت که مکمل ویتامین E، سلنیوم بر فاکتورهای فوق اثر معنی داری نداشت. در این تحقیق مشاهده شد که تنش گرمایی باعث افزایش عددی غلظت گلوکز گردید اما این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود. غلظت گلوکز خون گوسفند حدود ۴۸ تا ۵۲ میلی گرم در دسی لیتر تعیین شده است (۷). افزایش غلظت گلوکز خون احتمالاً بعثت تنش و تهییج و تجویز گلوکوکورتیکوئید، کاهش فعالیت آنزیم های متابولیکی، افزایش گلیکونولیز (تجزیه گلیکوژن به گلوکز) و گلوکونئوز (تولید گلوکز از ترکیبات غیرقندی) می باشد (۳). تنش گرمایی موجب افزایش کورتیزول می گردد. همچنین کورتیزول موجب گلوکونئوز و افزایش گلوکز می شود (۲). با قرارگیری در شرایط تنش مقادیر زیادی اپی نفرین و نوراپی نفرین از قسمت مرکزی غده فوق کلیه به خون آزاد می شود که این دو هورمون باعث افزایش میزان متابولیسم و تجزیه گلیکوژن به گلوکز شده و در نهایت سبب افزایش میزان گلوکز خون می گردد. در شرایط تنش کورتیزول موجب شکستن چربی ها شده و ورود آنها به خون می شود (۲). به همین علت غلظت کلسترول خون افزایش یافت اما میانگین غلظت تری گلیسرید کاهش عددی داشت که این کاهش از نظر آماری معنی دار نبود. در این تحقیق تنش گرمایی موجب

کاهش معنی دار غلظت پروتئین تام گردید که علت کاهش پروتئین تام اثر کورتیزول بر متابولیسم پروتئین ها (۲)، تغییرات دما و افزایش فعالیت غدد فوق کلیوی می باشد (۴). میزان آلبومین نیز تا پایان دوره کاهش عددی داشت. از علل کاهش آلبومین احتمالاً اثر کورتیزول بر شکستن پروتئین ها و از دست دادن مقادیر زیادی پلاسما می باشد (۲). میزان آلبومین در گروه بیمار در روز یک نسبت به روز صفر افزایش داشت که می تواند در اثر افزایش تعریق بعثت تنش گرمایی و دهیدراتاسیون رخ دهد (۵). برخی نتایج مربوط به پارامترهای فوق در جداول ۱، ۲، ۳ و ۴ نشان داده شده است. قرارگیری در شرایط تنش موجب افزایش غلظت کورتیزول از روز صفر تا روز سه آزمایش شد و از روز سه تا پایان آزمایش غلظت کورتیزول کاهش یافت. افزایش غلظت پایه کورتیزول خون حیوانات نشانه وجود تنش و کاهش آن نشانه سازگاری به تنش است (۹).

جدول ۱: مقایسه میانگین غلظت گلوکز (mg/dl) بین شاهد و بیمار در هر روز

کل دوره SE	کل دوره	روز ۵	روز ۳	روز ۱	روز ۰
۴/۲۱۹	۵۷/۶۲	۵۸/۲۵	۶۴/۷۵	۵۴/۷۵	۵۲/۷۵
۴/۲۱۹	۶۱/۵۶	۵۷/۲۵	۶۴	۶۳/۷۵	۶۱/۷۵
میانگین شاهد					
میانگین بیمار					

جدول ۲: مقایسه میانگین غلظت پروتئین تام (g/dl) بین شاهد و بیمار در هر روز

کل دوره SE	کل دوره	روز ۵	روز ۳	روز ۱	روز ۰
۰/۱۰۷	۷/۰۸ ^a	۶/۸	۷	۷/۱۵	۷/۲۷
۰/۱۰۷	۷/۰۵ ^b	۷/۳	۷/۴۵	۷/۶	۷/۸۵
میانگین شاهد					
میانگین بیمار					

جدول ۳: مقایسه میانگین غلظت کورتیزول (μg/dl) بین شاهد و بیمار در هر روز

کل دوره SE	کل دوره	روز ۵	روز ۳	روز ۱	روز ۰
۰/۰۹	۴/۹۶ ^a	۵/۱ ^a	۵/۲۲ ^a	۴/۸۲ ^a	۴/۷ ^a
۰/۰۹	۴/۱۸ ^b	۴/۱ ^b	۴/۳۵ ^b	۴/۲ ^b	۴/۰۷ ^b
میانگین شاهد					
میانگین بیمار					

جدول ۴: مقایسه میانگین غلظت کلسترول (mg/dl) بین شاهد و بیمار در هر روز

کل دوره SE	کل دوره	روز ۵	روز ۳	روز ۱	روز ۰
۳/۸۸	۴۲/۸۷	۴۰/۲۵	۴۳/۵	۴۴/۲۵	۴۳/۵
۳/۸۸	۴۶/۱۲	۴۳/۲۵	۴۴/۵	۵۰	۴۶/۷۵
میانگین شاهد					
میانگین بیمار					

منابع

- عزت پور، م.، ۱۳۷۷. پرورش گوسفند. ناشر عزت پور.
- گایتون، آ.، (۱۹۹۴). فیزیولوژی بدن انسان (ترجمه). چاپ هفتم. انتشارات خواجه نصیر.
- گرچی دوز، م.، فرزانه، ن.، رئوفی، الف.، سیفی، ح.، افشاری، غ.، مرجانمهر، ح.، ویراستار: گرچی دوز، م.، ۱۳۷۹. طب داخلی دامهای بزرگ (ترجمه). جلد سوم. چاپ اول. انتشارات نوربخش تهران.
- مجبایی، ع.، ۱۳۷۰. بیوشیمی درمانگاهی دامپزشکی. چاپ اول. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشکده دامپزشکی تهران.

۵. نظیفی، س. ۱۳۸۵. علوم آزمایشگاهی دامپزشکی (آسیب شناسی بالینی). چاپ دوم. انتشارات دانشگاه شیراز.

6. Alhaidary, A., 2004. Physiological responses of Naimey sheep to heat stress challenge under Semi-Arid Environments. International of agricultur and biology. 2: 307-309.
7. Annison, E.F., and White, R.R., 1961. Glucose utilization in sheep. Journal of Dairy Research. 80: 162-169.
8. Concepta, M., Giane, R., Helder, L., Rosilene, G., Luiz, C., and Samuel, R., 2009. Heat tolerance in Brazilian sheep: physiological and parameters. Trop Animal Health Production. 41: 95-101.
9. Downs, C.M., and Whitmire, C.E., 1957. Effect of cortisone on experimental Murine Typhus. Journal of Microbiology Research. 74: 432-438.
10. Koyancu, M., Yerlikaya, H., 2007. Effect of selenium vitamin E injections of ewes on reproduction and growth of their lambs. South. African Journal of Animal Science. 37: 233-236.
11. Moberg, G., 1975. Effect of environment and management stress on reproduction in the dairy cow. Symposium: Stress and Health of The Dairy Cow. 1618-1624.
12. Nayyar, S., Jindal, R., 2010. Essentiality of antioxidant vitamins for ruminants in relation to stress and reproduction. Iranian Journal of Veterinary Research. 30: 1-9.
13. NRC., 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th ed. Natl Acad Press. Washington, DC.

Effect of vitamin E and Se on some physiological parameters of Baluchi sheep blood under heat stress.

M. heidari¹, M. valavi¹, H. ghanbarzade¹, M. naderi¹

1- Graduate student in Animal Science, Student Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran

mh_1365@yahoo.com

09159089979

Abstract

Heat stress is a limiting factor to sheep production. When animal is suffering from the heat will reduce food intake and metabolism. In this study were used 8 Baluchi sheep. Adaption time was 2 weeks. Animals were divided randomly into two groups of four bits. Both groups were affected by heat stress for 5 days. Temperature at day was 40°C and at night was 27°C. Sheep in the control group Injected with placebo 4 cc per each sheep and in the treatment group with vitamin E-selenium 1cc per 10kg body weight for 6 days IM.

The Physiologic parameters included glucose, triglyceride, total protein, albumin, cholesterol, cortisol which were measured using standard methods. Results showed there were not significant differences between control and treatment in glucose, triglyceride, albumin and cholesterol, but there was significant difference between control and treatment in total protein and cortisol.



Expose to heat stress increased the cortisol concentration. Vitamin E, selenium improved these processes.

Keywords: Vitamin E and Selenium-physiologic parameters- Heat stress-Sheep

تأثیر سطوح مختلف پودر گیاه چویر (*Ferulago angulata*) بر کیفیت و پایداری اکسیداتیو گوشت بلدرچین ژاپنی

مسیب امیری^{۱*}، فیروز صمدی^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۲- دانشیار گروه علوم دامی،

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

*mosaiebamiri@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی تأثیر پودر گیاه چویر (*Ferulago angulata*) بر کیفیت گوشت بلدرچین‌های ژاپنی، آزمایشی با ۳۲۰ قطعه بلدرچین ژاپنی یک روزه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار آزمایشی شامل سطوح صفر، ۱/۵، ۳ درصد پودر چویر و ۲۰۰ میلی گرم ویتامین E، انجام شد. هر تیمار آزمایشی دارای ۴ تکرار و هر تکرار دارای ۲۰ قطعه بلدرچین بود. آب و خوراک به صورت آزاد در اختیار پرندگان قرار داده شد. در پایان آزمایش، دو قطعه جوجه از هر تکرار به منظور ارزیابی کیفیت گوشت سینه و ران کشتار گردید. نتایج بدست آمده از مقایسه تیمارها نشان داد که اثرات سطوح مختلف گیاه چویر بر شاخص مالون دی آلدهاید (TBA) و pH سینه و ران تأثیر معنی‌دار نداشت ($P < 0/05$). همچنین تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر چربی ران نداشتند اما استفاده از سطوح ۱/۵ و ۳ درصد چویر سبب کاهش معنی‌دار چربی سینه شد ($P < 0/05$).

کلمات کلیدی: بلدرچین ژاپنی - چویر - کیفیت گوشت - ویتامین E

مقدمه

با توجه به بازده تبدیل خوراک مصرفی به گوشت در بلدرچین ژاپنی، این پرنده می‌تواند نقش کلیدی در تولید پروتئین حیوانی داشته باشد (۲). امروزه در صنعت طیور بهبود کیفیت گوشت تولیدی از اهمیت فوق العاده‌ای برخوردار است. آغاز واکنش‌های اکسیداتیو در ماهیچه‌ها در طی فرآیند و ذخیره‌سازی منجر به ایجاد تغییرات نامطلوب در گوشت می‌شود (۴). گیاهان غنی از فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها مانند شیرین بیان، مریم گلی و آویشن با افزایش ویتامین C و همچنین داشتن اثرات ضد باکتریایی، باعث بهبود رشد و می‌شوند (۳) گیاه چویر با نام علمی *Ferulago angulata* از خانواده Apeacea و جنس *Ferula*، گیاهی علفی است که ساقه‌های آن به ارتفاع ۶۰ تا ۱۵۰ سانتی‌متر می‌باشد. چویر از چتریان نسبتاً فراوان در مراتع ییلاقی است و به شدت به سرما و یخبندان مقاوم است. این گیاه از گیاهان علوفه‌ای، دارویی و صنعتی در بسیاری از مراتع ییلاقی بویژه زاگرس است و مناطق کوهستانی با دامنه ارتفاعی ۱۲۵۰ تا ۳۳۰۰ متر عرصه رویش این گیاه است (۱). با توجه به خواص آنتی اکسیدانی این گیاه و نیز با توجه به اینکه تاکنون در خصوص اثرات آنتی اکسیدانی آن بر کیفیت گوشت طیور مطالعه‌ای انجام نشده است لذا این مطالعه به منظور بررسی امکان استفاده از گیاه چویر به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی در جیره جوجه‌های بلدرچین انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سالن پرورش بلدرچین دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان واحد پردیس انجام شد. در این آزمایش ۳۲۰ قطعه بلدرچین گوشتی ژاپنی یک روزه به ۱۶ گروه ۲۰ تایی تقسیم شدند. به هر تیمار ۴ پن بطور تصادفی اختصاص داده شد. ۴ تیمار آزمایشی شامل سطوح صفر، ۱/۵، ۳ درصد پودر گیاه چویر و ۲۰۰ میلی گرم ویتامین E بودند که به جیره پایه اضافه شده بود. کلیه جوجه‌ها از سن ۱ تا ۴۲ روزگی جیره پایه دریافت کردند. جیره‌های آزمایشی بر اساس ذرت - کنجاله سویا با



توجه به نیازمندی‌های توصیه شده توسط (NRC 1994) برای مراحل مختلف پرورش جوجه‌های بلدرچین گوشتی توسط نرم افزار UFFDA تنظیم گردیدند. جیره‌ها دارای انرژی و پروتئین یکسانی بودند. جوجه‌ها در طول دوره آزمایش بصورت آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند. برنامه نوردی سالن بصورت ۲۴ ساعت روشنایی بود. در پایان دوره آزمایش (۴۲ روزگی) تعداد ۲ قطعه بلدرچین که میانگین وزنی هر کدام نزدیک به میانگین گروه خود بود از هر تکرار به منظور بررسی تغییرات درصد چربی، غلظت مالون دی آلدهاید (TBA) و pH گوشت سینه و ران کشتار گردید.

برای اندازه‌گیری مالون دی آلدهاید، نمونه‌های گرفته شده از گوشت سینه و ران در زمان‌های صفر، ۳ و ۶ ماه نگهداری و میزان وقوع پراکسیداسیون لیپیدی هر نمونه گوشت به روش آزمون TBA با استفاده از روش رنگ سنجی به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۸). داده‌های آزمایشی به کمک برنامه SAS آنالیز و اختلافات معنی‌داری آن‌ها به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن بررسی گردید.

نتایج و بحث

تأثیر پودر چوب‌بر بر پایداری اکسیداتیو گوشت بلدرچین ژاپنی در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که استفاده از سطوح ۱،۵ و ۳ درصد پودر گیاه چوب‌بر در جیره جوجه‌های بلدرچین و نیز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پودر ویتامین E در مقایسه با جیره شاهد تأثیر معنی‌داری بر مقدار مالون دی آلدهاید نداشته است ($P < 0/05$). بیشترین مقدار مالون دی آلدهاید گوشت ران متعلق به تیمار شاهد بود و تیمار ۳ درصد نسبت به ۱،۵ درصد مقدار مالون دی آلدهاید کمتری را نشان داد و کمترین مقدار متعلق به تیمار ویتامین E بود. برخی از ترکیبات موجود در گیاه در بدن حیوان به عنوان پراکسیدان عمل کرده و باعث تشدید وقوع پراکسیداسیون لیپید در ماهیچه می‌شوند. تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر چربی خام ران نداشت اما استفاده از سطوح ۱،۵ و ۳ درصد چوب‌بر سبب کاهش معنی‌دار چربی خام سینه شد ($P < 0/05$). در مطالعه جانگ و همکاران (۵) میزان چربی در گوشت سینه در جوجه‌های مصرف‌کننده برخی از گیاهان دارویی کاهش یافت. ، اونیبی و همکاران (۶) هیچ تفاوت معنی‌داری در میزان چربی ماهیچه ران در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با پودر سیر مشاهده نکردند. نتایج آن‌ها با نتایج به دست در این مطالعه مطابقت دارد. سارکر و همکاران (۹) نیز گزارش کردند استفاده از چای سبز در جیره جوجه‌های گوشتی بر میزان چربی خام گوشت تأثیری ندارد. اثر گیاه چوب‌بر بر pH ران و سینه نیز معنی‌دار نبود ($P < 0/05$). اما بین تیمارهای آزمایشی کمترین مقدار متعلق به تیمار ۱،۵ درصد چوب‌بر بود. پارک و یو (۷) بیان داشتند استفاده از پسماندهای گیاهان دارویی چینی، pH را در گوشت ران جوجه‌های کاهش داد. نتایج آن‌ها با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت داشت. نتایج حاضر نشان داد که استفاده از پودر گیاه چوب‌بر تأثیر مثبتی بر پایداری اکسیداتیو گوشت (چربی خام، مالون دی آلدهاید و pH) در بلدرچین ژاپنی دارد اما تفاوت‌ها معنی‌دار نیستند.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثرات تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های چربی خام، مالون دی آلدهاید و اسیدیته نمونه‌های گوشت

ران بلدرچین ژاپنی در یک ماه پس از کشتار

تیمار				صفت
ویتامین E	۳ درصد چوب‌بر	۱/۵ درصد چوب‌بر	کنترل	
$13/76 \pm 0/47^a$	$13/75 \pm 1/58^a$	$15/30 \pm 1/86^a$	$15/91 \pm 3/65^a$	چربی



مالون دی آلد هاید	$^{a_1}1/83 \pm 0/57$	$^{a_1}1/55 \pm 0/3$	$^{a_1}1/47 \pm 0/3$	$^{a_1}0/87 \pm 0/18$
(میلی گرم بر کیلوگرم)				
Ph	$^{a_6}1/77 \pm 0/03$	$^{a_6}1/28 \pm 0/29$	$^{a_6}1/64 \pm 0/05$	$^{a_6}1/67 \pm 0/07$
در هر ستون میانگین های با حرف نامشابه، از لحاظ آماری اختلاف معنی دار دارند ($P < 0/05$).				
جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات تیمارهای آزمایشی بر شاخص های چربی خام، مالون دی آلد هاید و اسیدیتة نمونه های گوشت سینه بلدرچین ژاپنی در یک ماه پس از کشتار				
تیمار				
صفت	کنترل	۱/۵ درصد گیاه چویر	۳ درصد گیاه چویر	ویتامین E
چربی	$^{a_1}16/11 \pm 1/77$	$^{a_1}10/04 \pm 0/49$	$^{b_1}10/77 \pm 0/96$	$^{b_1}9/72 \pm 0/53$
مالون دی آلد هاید (میلی گرم بر کیلوگرم)	$^{a_0}0/99 \pm 0/09$	$^{a_1}1/21 \pm 0/05$	$^{a_1}1/15 \pm 0/16$	$^{a_1}1/21 \pm 0/14$
pH	$^{a_5}0/90 \pm 0/08$	$^{a_5}0/83 \pm 0/04$	$^{a_5}0/95 \pm 0/03$	$^{a_5}0/95 \pm 0/02$
در هر ستون میانگین های با حرف نامشابه، از لحاظ آماری اختلاف معنی دار دارند ($P < 0/05$).				

منابع:

- ۱- جوری، م. و مهدوی، م. ۱۳۸۹. شناسایی کاربردی گیاهان مرتعی. نشر آیت. ۴۵۶ص
- 2- Chimote, M.J., Barmase, B.S., Raut, A.S., Dhok, A.P., and Kuralkar, S.V. 2000. Effect of supplementation of probiotic and enzymes on performance of Japanese quails. Veterinary World . 2: 219-220.
- 3-Cook, N.C and S.Samman. 1999. Flavonoids-Chemistry Metabolism, cardio perefective effects and dietary sources. J.Nutr.Biochem.7: 66-76.
- 4-Ganhao, R., Morcuende D., and Estevez, M. 2010. Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. Meat. Sci. 89: 402-409.
- 5- Jang, A., Liu, X., Shin, M., Lee, B., Lee, J., and Jot, C. 2008. Antioxidative potential of raw breast meat from broiler chickens fed a dietary medicinal herb extract mix. Poultry Science. 87: 2382-23.
- 6- Onibi, G.E., Adebisi, O.E., Fajemisin, A.N., and Adetunji, A.V. 2009. Response of broiler chickens in term of performance and meat quality to garlic (*Allum sativum*) supplementation. African journal of Agricultural Research. 4: 511-517.
- 7- Park, S.J., and Yoo, S.O. 1999. Effects of supplementation of Chinese medicine refuse on performance and physiology in broiler chickens. Poultry Science. 26: 195-201.

8- Qiao, M., Fletcher, D.L., Smith, D.P., and Northcutt, J.K. 2001. The effect of broiler breast meat color on pH, moisture, water-holding capacity, and emulsification capacity. *Poult. Sci.* 80:675-680.

9- Srker, M.S.K., Kim, G.M., and Yang, C.J. 2010. Effect of green tea and biotite on performance, meat quality and organ development in Ross broiler. *Poultry Science*. 30: 77-88.

Effect of different level of Chavir plant (*Ferulago angulata*) in diet on meat quality and oxidative stability in Japanese quail

M Amiri^{1*}, F Samadi²

1- MSc. Student, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resource

2- Associate Professor of Animal Science, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resource

Abstract

In order to evaluate the effect of Chavir plant powder on meat quality characteristic of Japanese quails. Experiment was conducted with 320 Japanese quail one-day-old in a completely randomized design with 4 treatments and 4 replicates of 20 quails. Quail received diet containing base diet (control), 1.5% Chavir powder, 3% Chavir powder and 200 mg Vitamin E. Birds were provided with feed and water for ad libitum consumption. At the end of the experiment, after slaughter two birds from each replicate, breast and thigh meat quality was evaluated. The results of this study showed that using Chavir powder and Vitamin E had no significant effect on thiobarbituric acid reacting substance (TBARS) and pH in breast and thigh muscle. The experimental treatments had no significant effect on intramuscular fat in thigh muscle however intramuscular fat breast was significantly reduced in diets containing 1.5% and 3% Chavir ($P < 0.05$).

Keywords: Chavir- Japanese quail - Meat quality- Vitamin E

مقایسه نرخ آبستنی حاصل از پروتکل‌های مختلف همزمانی فحلی در گاو میش خوزستانی

زهرا نیسی^{*}، مرتضی مموتی، هدایت اله روشنفکر، صالح طباطبایی، محسن ساری

دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

^{*} دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، zahra_n2@yahoo.com

چکیده

در مطالعه حاضر نرخ آبستنی حاصل از تلقیح در زمان معین پس از همزمانی موج فولیکولی و تخمک‌ریزی با روش های اوسینک + سیدر و کوسینک + سیدر در مقایسه با تلقیح پس از مشاهده فحلی در برنامه سلکت سینک + سیدر بررسی شد. در این تحقیق تعداد ۴۲ راس گاو میش سیکلیک، در مراحل نامشخص چرخه فحلی، با در نظر گرفتن سن و وزن به طور تصادفی در سه گروه قرار گرفتند. (۱) گروه اوسینک + سیدر ($n=14$)، تزریق GnRH در روز صفر و ۹، PGF2 α در روز ۷ و سیدرگذاری از روز صفر تا ۷. گاو میش های این گروه ۱۶ ساعت بعد از دومین تزریق GnRH تلقیح شدند. (۲) گروه کوسینک + سیدر ($n=14$)، روز صفر سیدرگذاری و تزریق GnRH، روز ۷ تزریق PGF2 α همزمان با خارج کردن سیدر و روز ۹ همراه با دومین تزریق GnRH تلقیح مصنوعی انجام شد. (۳) گروه سلکت سینک + سیدر ($n=14$)، تیمارهای هورمونی این گروه همانند دو روش قبلی بوده با این تفاوت که دومین تزریق GnRH وجود نداشته و تلقیح مصنوعی دام ها به دنبال مشاهده فحلی به مدت ۳ روز انجام گرفت. نرخ آبستنی در گروه اوسینک + سیدر ($12/53 \pm 2/28$)، کوسینک + سیدر ($13/87 \pm 5/0$) و در گروه سلکت سینک + سیدر ($12/53 \pm 2/28$) تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند. نتیجه اینکه پروتکل کوسینک + سیدر با توجه به اینکه به طور غیرمعنی دار نرخ آبستنی بالاتری نسبت به دو روش دیگر ایجاد کرده و عدم نیاز به تشخیص فحلی و نیروی کارگر کمتر در مقایسه با دو روش دیگر برتری دارد.

واژه‌های کلیدی: همزمانی فحلی - نرخ آبستنی - گاو میش خوزستانی

مقدمه

مدیریت تولیدمثل و انتخاب در جهت افزایش باروری در گاو میش آبی نسبت به گاو کمتر انجام شده است (۱۰). استفاده از تلقیح مصنوعی در گاو میش در سطح دنیا به علت مشکلاتی که در تشخیص فحلی و پیدا کردن زمان موثر برای تلقیح وجود دارد، محدود است (۶). علاوه بر این، فاصله گوساله‌زایی طولانی در گاو میش اغلب ناشی از دوره عدم فحلی طولانی پس از زایش می‌باشد که عمدتاً به فعالیت تخمدان برمی‌گردد (۴). همزمان سازی فحلی (تخمک‌ریزی)، روشی است که با به کارگیری آن، گروهی از ماده‌هایی که در گامه‌های گوناگون چرخه تخمدان (فحلی) هستند، در فاصله زمانی کوتاهی از یکدیگر (تقریباً هماهنگ)، فحل شده و تخمک‌ریزی می‌کنند (۱). اجرای برنامه‌های همزمانی در گاو و گاو میش راه را جهت افزایش راندمان تشخیص فحلی و کارایی تلقیح مصنوعی در سطح گله هموارتر می‌سازد. به علاوه همزمانی فحلی از ملزومات اجرای برنامه‌های چند تخمک‌ریزی ۳۳ و انتقال جنین ۳۴ می‌باشد (۲). جهت حداکثر کردن عمر تولیدمثلی، یک گاو میش باید ۹۰-۸۰ روز پس از هر زایش آمیزش داده شود و هر ۱۳-۱۳/۵ ماه یک دوره شیرواری جدیدی را آغاز کند. ترکیب این روش‌ها استفاده از تلقیح مصنوعی در طول

³³ Superovulation
³⁴ Embryo transfer

سال، حصول آبستنی و گوساله زایی حتی در گاومیش‌های آنستروس طی فصل غیرتولیدمثلی را فراهم می‌کند (۶). این روش‌ها براساس دستکاری جسم زرد، به صورت تحریک لوتئولیز فولیکول پیش از بلوغ با استفاده از پروستاگلندین‌ها یا طولانی نمودن فاز لوتئال با استفاده از پروژستازن‌ها می‌باشند (۸). اخیراً، استفاده از روش اوسینک در گاومیش به نرخ آبستنی رضایت‌بخشی منجر شده است (۹) و مشتقات دیگر این روش طی چند سال اخیر توسعه یافته‌اند. نرخ آبستنی ۳۵ در یک دوره ۲۱ روزه که به دنبال میزان باروری ۳۶ و تشخیص فحلی حاصل می‌شود، معمول‌ترین پارامتر در ارزیابی عملکرد تولیدمثلی در گله‌های شیری به شمار می‌رود (۵). هدف از مطالعه حاضر بررسی تفاوت میزان آبستنی حاصل از پروتکل‌های مختلف همزمانی فحلی در گاومیش خوزستان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در یک گله ۱۰۰ راسی از گاومیش‌های شیری در منطقه سردارآباد شوشتر انجام شد. گاومیش‌ها تیپ خوزستانی بوده و براساس تعداد زایمان‌های انجام شده در جایگاه نیمه باز نگهداری شده و دوبار در روز دوشیده می‌شدند. تعداد ۴۲ راس گاومیش جهت انجام این مطالعه پس از بررسی رکتالی دستگاه تناسلی و اطمینان از غیرآبستن بودن آن‌ها انتخاب شدند. گاومیش‌ها از نظر سن بین ۳ تا ۸ سال بوده و تعداد بیشتر آن‌ها تلیسه بودند که به طور تصادفی بین گروه‌های سه‌گانه تقسیم شدند. تفاوت معنی‌داری از نظر وزن بین سه گروه وجود نداشته و هیچ‌گونه مشکلات تولیدمثلی از قبیل سخت زایی، کیست‌های تخمدانی، عفونت‌های رحمی و فحلی‌های خاموش وجود نداشت. تیمارها عبارتند از: (۱) گروه اوسینک + سیدر (تعداد = ۱۴ راس، میانگین وزن $363/57 \pm 89/05$ کیلوگرم و سن ۳-۸ سال)، تزریق $GnRH$ در روز صفر و ۹، $PGF2\alpha$ در روز ۷ و سیدرگذاری از روز صفر تا ۷. گاومیش‌های این گروه ۱۶ ساعت بعد از دومین تزریق $GnRH$ تلقیح شدند (۲). گروه کوسینک + سیدر (تعداد = ۱۴ راس، میانگین وزن $357/86 \pm 79/78$ کیلوگرم و سن ۳-۸ سال)، روز صفر سیدرگذاری و تزریق $GnRH$ ، روز ۷ تزریق $PGF2\alpha$ همزمان با خارج کردن سیدر و روز ۹ همراه با دومین تزریق $GnRH$ تلقیح مصنوعی انجام شد. (۳) گروه سلکت سینک + سیدر (تعداد = ۱۴ راس، میانگین وزن $367/3 \pm 62/76$ کیلوگرم و سن ۳-۸ سال)، تیمارهای هورمونی این گروه همانند دو روش قبلی بوده با این تفاوت که دومین تزریق $GnRH$ وجود نداشته و تلقیح مصنوعی دام‌ها به دنبال مشاهده فحلی به مدت ۳ روز انجام گرفت. داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسه‌ای چند دامنه دانکن در برنامه نرم افزاری SPSS (ویرایش ۱۶) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. داده‌ها به صورت $Mean \pm SE$ ارائه شده‌اند.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به آبستنی در گروه‌های آزمایشی این طرح در جدول ۱ آمده است. اختلاف معنی‌داری از نظر نرخ آبستنی بین سه گروه وجود ندارد. بیشترین میزان آبستنی مربوط به گروه دوم یعنی روش کوسینک + سیدر ($13/87 \pm 50$ درصد) بود.

³⁵ pregnancy rate
³⁶ conception rate
³⁷ Gonadotropin-releasing hormone
³⁸ Prostaglandin $F_{2\alpha}$



جدول نرخ آبستنی متعاقب استفاده از روش های مختلف همزمان سازی فحلی

Select synch+CIDR	Co-synch+CIDR	Ovsynch+CIDR	نرخ آبستنی (درصد)
$28/57 \pm 12/53^a$	$50 \pm 13/87^a$	$28/57 \pm 12/53^a$	

اختلاف حروف مشابه غیرمعنی دار می باشد ($P < 0/05$)

یکی از دلایل عدم معنی دار بودن نرخ آبستنی روش های این طرح ممکن است این باشد که بیشتر دام های مورد مطالعه تلیسه بوده و روش اوسینک در گاوهای شیری چندشکم را بسیار موثر تر از تلیسه ها می باشد. اگر چه علت این اختلاف بین گاوهای چند شکم را و تلیسه ها مشخص نیست، تخمک گذاری به دنبال اولین تزریق GnRH در ۸۵٪ از گاو ها اتفاق افتاده ولی فقط ۵۴٪ در تلیسه ها بوده است. همچنین تلیسه هایی که علائم فحلی را قبل از تزریق PGF2α نشان می دهند، باروری آن ها به دنبال تلقیح در زمان ثابت به شدت کاهش می یابد (۱۳). اعتقاد بر این است که تفاوت دینامیسم فولیکولی تلیسه ها و گاوهای شیری از جمله رشد سریع تر فولیکول های تخمدانی و بیشتر بودن تعداد امواج فولیکولی در تلیسه ها عامل همزمان نشدن رشد فولیکول های تخمدانی متعاقب استفاده از برنامه اوسینک در تلیسه ها در مقایسه با گاوهای شیری بوده و در کاهش نرخ باروری تلیسه ها نقش دارند (۳).

دروست^{۳۹} و همکاران (۲۰۰۵) نرخ آبستنی حاصل از روش اوسینک + PRID را در گاو میش های سیکلیک مدیترانه ای به طور معنی دار بالاتر از روش استاندارد اوسینک به دست آوردند (۳۰٪ در مقابل ۴۷٪). اما در گاو میش های غیر سیکلیک اختلاف معنی داری بین دو روش مشاهده نشد (۵۱/۵٪ در مقابل ۳۵/۷٪). این نتایج با مطالعه حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه ی دیگری که در گاو میش های ایتالیایی طی فصل غیر تولیدمثلی نیز انجام شد، نرخ آبستنی حاصل از روش اوسینک ۲۸/۲٪ بود که مشابه نرخ آبستنی گروه اول این طرح (گروه کوسینک + سیدر) بود اما در روش دیگر که شامل سیدر + استرادیول بنزوات + eCG + hCG بود، نرخ آبستنی ۵۳/۵٪ بود که مشابه گروه دوم طرح حاضر بود. براساس این نتایج نتیجه گیری می شود که امروزه تلقیح مصنوعی در زمان ثابت می تواند در تمام طول سال جهت برنامه ریزی مناسب آبستنی و دوره های گوساله زایی استفاده شود. با این وجود، توجه به این نکته حائز اهمیت است که موفقیت برنامه های تولیدمثلی وابسته به بسیاری از فاکتورهای مدیریتی مانند تغذیه و مدیریت بیماری ها، دسترسی به پرسنل متخصص، امکانات و اهداف برنامه های آمیزشی می باشد (۶).

مرحله چرخه فحلی به هنگام آغاز برنامه همزمانی و سن تلیسه یا گاو بر روی نرخ باروری و آبستنی حاصل از برنامه همزمانی موثر است. با توجه به غلظت پروژسترون قبل و بعد از تزریق PGF2α، گاو میش های گروه اول و دوم مطالعه حاضر احتمالاً در مرحله ی دای استروس یا ابتدای مرحله ی پرواستروس در زمان تزریق اولین دوز GnRH بوده اند و دستخوش لوتئولیز قرار نگرفته اند. آغاز برنامه همزمانی در مرحله ی پرو استروس با تحلیل ناقص جسم زرد و پایین بودن سطح پروژسترون قبل از تلقیح، و آغاز برنامه در اواخر دی استروس با بروز فحلی و تخمک گذاری قبل از تجویز دومین تزریق GnRH و کوتاه بودن طول عمر جسم زرد حاصل از القای تخمک ریزی با دومین تزریق GnRH همراه بود. افزایش طول مدت غالبیت فولیکول تخمک گذار، عدم تخمک ریزی فولیکول غالب متعاقب دومین تجویز و پایدار شدن آن نرخ آبستنی دو گروه مذکور را کاهش داده اند (۳). در این مطالعه روش کوسینک موثر تر از اوسینک بود. زیرا روش کوسینک در تلیسه ها موثر تر از گاوهای چندشکم را

³⁹ Drost

است. همچنین تخمک‌ریزی قبل از تلقیح مصنوعی (به علت پیر بودن اووسیت ها) می‌تواند عامل آبستنی پایین روش اوسینک باشد (۷).

در مطالعه پورسلی^{۴۰} و همکاران (۱۹۹۷) که روش اوسینک را بر روی گاوهای چند شکم زا و تلیسه های شیری بررسی کرد، در تلیسه ها نرخ آبستنی در گروه کنترل (دو تزریق $PGF2\alpha$ به فاصله ی ۱۴ روز) بیشتر از گروه اوسینک بود (۷۴/۴٪ در مقابل ۳۵/۱٪) اما در گاوهای چند شکم زا در هر دو گروه کنترل و تیمار مشابه بود (۳۸/۹٪ در مقابل ۳۷/۸٪). نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج طرح حاضر مخالف است. از جمله نکاتی که در مقایسه آزمایش حاضر با مطالعه مورد اشاره باید مورد توجه قرار گیرد این است که تعداد دام های این مطالعه بسیار بیشتر از مطالعه حاضر بوده و همچنین در گروه کنترل تلقیح به دنبال تشخیص فحلی انجام گرفته است.

مطالعه کوسینک بر روی تلیسه های گوشتی توسط گیری^{۴۱} و همکاران (۲۰۰۱) صورت گرفت که در پایان نرخ آبستنی حاصل از آن ۴۸٪ بود. این نتیجه نیز با نتیجه مطالعه حاضر در پرونکل کوسینک موافق است. دلیل آن می تواند فاصله ی تزریق هورمون تا تخمک‌ریزی و هماهنگی بین این دو با تلقیح مصنوعی باشد.

در مطالعه ی دیگری که توسط گیری و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد، روش سلکت سینک به نرخ آبستنی ۷۱٪ در گاوهای گوشتی و ۶۱٪ در گاوهای آنستروس منجر شد. این میزان آبستنی بالا ممکن است نتیجه تشخیص دقیق فحلی همگام شده با زمان مناسب تلقیح مصنوعی باشد. علاوه براین، چون تزریق GnRH باعث افزایش عملکرد فولیکول غالب در بیشتر گاوها شده، این روش می تواند تخمک های مناسب بیشتری را نتیجه دهد. این نتایج با نرخ آبستنی حاصل از روش سلکت سینک و سیدر در طرح حاضر مطابقت ندارد (۷۱٪ در مقابل ۲۸٪). گاوهای استفاده شده همگی چند شکم زا بوده و دارای شرایط بدنی مناسب و فاصله ی گوساله زایی ۸۳ روز بودند. این فاکتورها پاسخ فحلی و نرخ آبستنی حاصل را بهبود بخشیده اند.

عدم موفقیت در تلقیح به دلیل عدم لقاح یا مرگ زودرس رویان رخ می دهد. مهمترین دلیلی که برای ناباروری مطرح می شود، زمان نامناسب تلقیح مصنوعی می باشد. بنابراین در گروه کوسینک در شرایطی که هورمون و سیدر شرایط مناسب رشد فولیکول غالب را فراهم نموده و تزریق $PGF2\alpha$ تخمک ریزی را به دنبال داشته است، تلقیح مصنوعی متعاقب آن در زمان مناسبی با توجه به شرایط سیکلی بوده و تزریق همزمان GnRH با تلقیح، میزان باروری را افزایش داده است. روش کوسینک نیروی کارگر کمتری در مقایسه با دو روش دیگر داشته و نیاز به تشخیص فحلی در آن وجود ندارد.

منابع

۱. ضمیری، م. ج. ۱۳۸۵. فیزیولوژی تولیدمثل. انتشارات حق شناس. رشت. ۴۴۸ص.
۲. کافی، م.، ر. موسوی، زال بیک، ع. و ضمیری، م. ج. ۱۳۷۷. بررسی مقدماتی کاربرد سیدر (CIDR) در همزمانی فحلی گاو شیری. اولین سمینار پژوهشی گاو و گاومیش کشور. ۱۸ و ۱۹ آذر. تهران. صص: ۶۸-۶۲.
۳. مقدم، ع. ا.، نیاسازی نسلجی، و بلورچی، م. ۱۳۸۰. مقایسه نرخ آبستنی حاصل از روش های مختلف همزمانی فحلی و تخمک‌گذاری در تلیسه های هلشتاین. دومین سمینار پژوهشی گاو و گاومیش کشور. ۹-۱۱ بهمن. زاهدان. ۱۳۵-۱۲۶.

⁴⁰ Pursely

⁴¹ Geary

4. Abdulla EB. 2003. Improving the reproductive performance of Egyptian buffalo cows by changing the management system. *Animal Reproduction Science*. 75: 1-8.
5. Bartolome, J. A., Melendez, P., Kelbert, D., Swift, K., McHale, J., Hernandez, J., Silvestre, F., Risco, C. A., Artech, A. C. M., Thatcher, W. W. and Archbald, L. F. 2005. Strategic use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. *Theriogenology* 63: 1026-1037.
6. Baruslli, P. S., Carvalho, N. A. T., Gimenes, L.U. and Crepaldi, G. A. 2007. Fixed- time artificial insemination in buffalo. *Journal animal science*. 6(2): 107-118.
7. Demiral, U., UN, M., Abay, M., Bekyurek, T. and Ozturk, A. 2006. The effectiveness of Cosynch protocol in dairy heifers and multiparous cows. *Turkey Journal Veterinary Animal Science*. 30: 213-217.
8. De Rensis, F. and Lo'pez-Gatius, F. 2007. Protocols for synchronizing estrus and ovulation in buffalo (*Bubalus bubalis*): A review. *Theriogenology* 67: 209-216.
9. De Rensis, F., Roncia, G., Guarneri, P., Nguyen, B. X., Presicce, G. A., Huszenicza, G. and Scaramuzzi, R.J. 2005. Conception rate after fixed time insemination following ovsynch protocol with and without progesterone supplementation in cyclic and non-cyclic Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology* 63: 1824-1831.
10. Drost, M. 2007. Advanced reproductive technology in the water buffalo. *Theriogenology* 68: 450-453.
11. Geary, T. W., Downing, P.A.S., E. R., Brummer, J. E. and Whittier, J. C. 2000. Ovarian and estrous response of suckled beef cows to the select synch estrous synchronization protocol. *The professional animal scientist* 16: 1-6.
12. Geary, T. W., Whittier, J. C., Hallford, D. M. And MacNeil, M. D. 2001. Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. *Journal Animal Science* 79: 1-4.
13. Mapletoft, R.J., Bó, G.A. and Baruselli, P.S. 2009. Control of ovarian function for assisted reproductive technologies in cattle. *Journal Animal Reproduction*. 6(1): 114-124.
14. Pursely, J. R., Wiltbank, M. C., Stevenson, J. S., Ottobre, J. S., Garverick, H. A. and Anderson, L. L. 1997. Pregnancy Rates Per Artificial Insemination for Cows and Heifers Inseminated at a Synchronized Ovulation or Synchronized Estrus. *Journal Dairy Science*. 80: 295-300.

Comparison the pregnancy rates in different synchronization protocols in Khuzestanian Buffalo

Zahra neisi*, morteza mamoei, hedayatollah roshanfekr, saleh tabatabaei, mohsen sari

Department of animal and food science Ramin university of agriculture and natural resources (Khuzestan)

* Department of animal and food science Ramin university of agriculture and natural resources, Zahra_n2@yahoo.com



Abstract

This study evaluated the pregnancy rates obtaining from fixed time artificial insemination after synchronization of follicular wave and ovulatory with Ovsynch+ CIDR and Co-synch + CIDR protocols in comparison to artificial insemination after estrus detection in Select synch protocol. Cyclic buffaloes ($n = 42$) based on age and body weight were randomly assigned into 3 groups. 1) Ovsynch + CIDR ($n = 14$), administration of GnRH at days 0 and 9, PGF_{2α} at day 7 and insertion CIDR from days 0 to 7. Buffaloes of this group were inseminated 16 h after the second GnRH administration. 2) Co-synch + CIDR ($n = 14$), insertion the CIDR and administration of GnRH at day 0, administration the PGF_{2α} at day 7 with remove the CIDR, and day 9 with second administration of GnRH, artificial insemination was performed. 3) Select synch + CIDR ($n = 14$), hormone treatments of this group were similar to two other groups. But, there was not the second injection of GnRH and artificial insemination was performed after estrus detection during 3 days. The pregnancy rates of Ovsynch + CIDR ($28.57 \pm 12.53\%$), Co-synch+ CIDR ($50 \pm 13.87\%$) and Select synch + CIDR ($28.57 \pm 12.53\%$) had not significantly difference. The results of this experiment showed that Co-synch + CIDR protocol due to non-significantly higher pregnancy rate when compared with other protocols and non-necessary to estrus detection as well as low labor, is more effective method.

Key Words: Estrus synchronization - Pregnancy rate - Khuzestan Buffalo

اثر زمان مصرف مکمل امگا-۳ در دوره خشکی بر روی عملکرد تولید مثلی در گاوهای شیری هلشتاین پس از زایش

اکبر علی‌ویردیلو^۱، حمید امانلو^۱، آریا بدیعی^۲، سید محمدرضا بهشتی^۱، وحید غلامی^۱، نبی‌الله آقازیارتی فراهانی^{۱*}

۱- زنجان- دانشگاه زنجان- دانشکده کشاورزی- گروه علوم دامی

۲- تهران- دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج- دانشکده دامپزشکی

* نویسنده مسئول: نبی‌الله آقازیارتی فراهانی، زنجان-کیلومتر ۵ جاده تبریز-دانشگاه زنجان- گروه علوم دامی

آدرس الکترونیکی: N_Aghaziarati_F@yahoo.com

چکیده:

به منظور بررسی اثر زمان مصرف مکمل امگا-۳ در دوره خشکی بر عملکرد تولید مثلی گاوهای شیری هلشتاین پس از زایش، ۳۲ راس گاو شیری هلشتاین (۱۶ راس تلیسه و ۱۶ راس چند شکم) با میانگین دوره خشکی 54 ± 4 روز در قالب طرح بلوک کامل تصادفی، مورد استفاده قرار گرفتند. گاوها به صورت تصادفی در ۴ تیمار قرار گرفتند تیمارهای مورد استفاده به ترتیب شامل تیمار ۱: شامل گاوهایی که مکمل امگا-۳ را دریافت نکردند (تیمار شاهد). تیمار ۲: شامل گاوهایی که مکمل امگا-۳ را در کل دوره خشکی دریافت کردند. تیمار ۳: شامل گاوهایی که مکمل امگا-۳ را تنها در اوایل دوره خشکی دریافت کردند. تیمار ۴: شامل گاوهایی که مکمل امگا-۳ را در اواخر دوره خشکی دریافت کردند. جیره‌های مورد استفاده در این آزمایش شامل جیره اوایل دوره خشکی و جیره اواخر دوره خشکی بود که جیره پایه یکسان و ایزو- انرژیک شده بودند و تنها مکمل امگا-۳ به آنها اضافه شد (۱۶۰ گرم به ازاء هر راس) بود. فراسنجه‌های تولید مثلی، به جز اندازه فولیکول‌ها که نزدیک به معنی داری بود ($P < 0.05$)، در بقیه موارد از جمله، روزهای باز و تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی در تیمارهایی که مکمل امگا-۳ را در زمان‌های مختلف دوره خشکی دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

واژگان کلیدی: مکمل امگا-۳ - دوره خشکی - فراسنجه‌های تولید مثلی.

مقدمه:

امروزه بهبود ژنتیکی گاوهای شیری در جهت افزایش تولید شیر سبب شده است تا میانگین میزان آبستنی در نخستین تلقیح به کم‌تر از ۴۰ درصد به رسد. آمادگی بدنه رحم جهت لانه‌گزینی یک اصل اساسی در جهت بهبود تولید مثل می‌باشد که متأسفانه به دلیل عدم آماده بودن رحم ۲۰ تا ۴۰ درصد جنین‌ها در ۳۰ روز اول آبستنی از بین می‌روند. بررسی نقش و اهمیت $PGF_{2\alpha}$ در دوره پس از زایش نشان می‌دهد که میزان $PGF_{2\alpha}$ و متابولیت‌های آن در نخستین روز پس از زایش به شدت افزایش می‌یابد که این افزایش موجب از بین رفتن جسم زرد آبستنی می‌گردد. در دو هفته بعدی غلظت متابولیت $PGF_{2\alpha}$ به غلظت نخستین بر می‌گردد، این مساله نشانگر این است که $PGF_{2\alpha}$ در آغاز دوباره چرخه فحلی در دوره آغازین پس از زایش نقش به‌سزایی داشته و در نتیجه در بهبود درصد باروری نقش دارند. خوراندن جیره‌های سرشار از اسید لینو لنیک میزان ایکوزا پنتانویک را افزایش می‌دهد. افزایش ترشح $PGF_{2\alpha}$ از اندومتریوم رحم و پس‌روی جسم زرد موجب کاهش ترشح پروژسترون و مرگ و میر رویان می‌شود. لذا هر عاملی که در انتهای مرحله لوتئال، ترشح $PGF_{2\alpha}$ را از اندومتریوم رحم کاهش دهد و طول عمر جسم زرد را افزایش دهد بر توان تولید مثلی در گاوهای شیرده تاثیر خواهد داشت. یکی از روشهای کاهش ترشح پروستاگلندین اف-۲-آلفا در انتهای فاز لوتئال (دوره فعالیت جسم زرد)، افزودن اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه از قبیل، اسید لینولنیک، اسید

ایکوزاپنتانویک (EPA) و اسید دکوزاهگزانویک (DHA) (امگا-۳) به جیره گاوهای شیرده می‌باشد. با توجه به مطالب ذکر شده هدف از انجام این آزمایش، بررسی اثر زمان مصرف امگا-۳ در دوره خشکی بر توان تولید مثلی گاوهای شیری هلشتاین پس از زایش بود.

مواد و روش‌ها:

به منظور انجام این آزمایش، ۳۲ راس گاو شیرده هلشتاین (۱۶ راس شکم اول با میانگین وزنی 568 ± 34 کیلوگرم و ۱۶ راس چند شکم با میانگین وزنی 714 ± 51) با میانگین دوره‌ی خشکی 54 ± 5 روز انتخاب شدند و خوراک‌دهی در کل دوره به صورت گروهی و یک بار در روز انجام گرفت. گاو ها بعد از خشک شدن به صورت تصادفی به یکی از تیمارهای آزمایشی اختصاص داده شدند به طوری که در هر تیمار ۴ راس گاو تک شکم و آبستن و ۴ راس چند شکم و آبستن قرار گرفتند. مکمل امگا-۳ مورد استفاده با نام تجاری Optomega-50 با مقدار مصرف ۱۶۰ گرم به ازاء هر راس گاو در هر روز بود. گاو ها پس از زایش در روزهای ۱۰، ۱۷، ۲۴، ۳۱، ۴۰ از طریق سیاهرگ دمی خون‌گیری شدند و بعد از سانتریفوژ، غلظت پروتسترون نمونه های پلاسما با روش الیزا و دستگاه پلت خوان (Microtiter Plate Reader) اندازه گیری شد. برای تعیین اندازه و تعداد فولیکول‌ها و اندازه جسم زرد، تخمدان‌های راست و چپ هر کدام از گاو ها در روزهای ۱۰، ۱۷، ۲۴ و ۳۰ از طریق راست‌روده و با استفاده از دستگاه اولتراسونوگرافی (Pie Medical 100 Falco) مجهز به پروب ۵ مگاهرتز مورد بررسی قرار گرفت. تعداد و اندازه فولیکول‌های بزرگ‌تر از ۵ میلی‌متر، یادداشت شد. فولیکول‌ها براساس قطر به سه دسته کوچک (<۵ میلی‌متر)، متوسط (۹/۹-۵ میلی‌متر) و بزرگ (بیشتر از ۱۰ میلی‌متر) تقسیم‌بندی شدند. گاو هایی که در آن‌ها جسم زرد مشاهده شده بود ثبت شدند. طرح آماری مورد استفاده در این آزمایش از نوع بلوک کامل تصادفی بود. برای تجزیه واریانس داده‌ها از نرم افزار آماری SAS رویه MIXED استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه ای دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث:

نتایج پژوهش حاضر به صورت خلاصه در جدول ۱ آمده است. افزایش تعداد کل فولیکول‌ها در تخمدان گاوهای خورانده شده با جیره دارای امگا-۳ را می‌توان تا حدودی به افزایش سیالیت غشای سلول‌های تخمدان آن‌ها ارتباط داد. گیرنده های FSH در غشای سلول قرار دارند و لازمه وظایف بهینه آن‌ها، سیالیت مناسب غشاء فسفولیپیدی می‌باشد. مکمل های چربی ممکن است از طریق هورمون‌های متابولیک و متابولیت‌های پلاسما رشد فولیکول‌ها را تحت تاثیر قرار دهند. این هورمون‌ها و متابولیت‌ها با تاثیر بر سیستم عصبی مرکزی و تخمدان، رشد فولیکول‌ها را تحریک می‌کنند (۳). افزایش غلظت کلسترول در پلاسما گاوهای خورانده شده با جیره های دارای مکمل امگا-۳ می‌تواند دلیلی برای افزایش رشد فولیکول‌ها در این گاو ها باشد. نتایج آزمایش‌های مختلف (۵)، نیز نشان داد که خوراندن روغن ماهی یا روغن سویا بر تعداد فولیکول‌های متوسط اثر معنی‌داری نداشت. مشابه با نتایج آزمایش حاضر، در آزمایشات دیگر (۱ و ۲) اثر جیره های دارای منابع اسیدهای چرب امگا-۳ یا امگا-۶ بر تعداد فولیکول‌های کوچک، متوسط، بزرگ و تعداد کل فولیکول‌ها و همچنین اندازه بزرگ‌ترین اثر معنی‌داری نداشتند. پایین بودن تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی را می‌توان به فعالیت بهتر تخمدان گاو ها و رجعت زودتر رحم و سلامت رحم در گاو هایی که مکمل امگا-۳ را مصرف کرده بودند نسبت داد. نتایج حاضر موافق با نتایج تاجر و همکاران (۲۰۰۶) بود. پایین بودن فاصله زایش تا اولین تلقیح در تیمارهایی که مکمل امگا-۳ دریافت کرده بودند نیز مربوط به فعالیت بهتر تخمدان‌ها و سلامت دستگاه تولید مثلی می‌باشد. در

مجموع گاوهایی که مکمل امگا-۳ را در زمانهای مختلف در دوره خشکی دریافت کرده‌اند تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی و فاصله زایش تا اولین تلقیح پایین‌تری داشتند که در نتیجه روزهای باز پایین‌تری نیز خواهند داشت.

جدول ۱- اثرات خوراندن مکمل امگا-۳ در دوره‌ی خشکی بر روی صفات تولیدمثلی.

P-value	SEM	صفت اندازه گیری شده				تیمار
		۱	۲	۳	۴	
۰/۹۱	۰/۱۸	۱/۵۸	۱/۵۱	۱/۳۸	۱/۵۰	تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی
۰/۲۷	۵/۲۷	۷۹/۳۳	۷۲/۲۱	۶۳/۹۹	۶۳/۵۷	فاصله زایش تا اولین تلقیح (روز)
۰/۹	۱/۷	۱۳/۰۷	۱۳/۰۹	۱۲/۴۲	۱۲/۲۸	انسولین (پیکومتر در لیتر)
۰/۹	۰/۴۸	۲/۴۶	۲/۱۳	۲/۰۳	۲/۳۳	پروژسترون (نانوگرم در میلی لیتر)
۰/۴۸	۹/۷۶	۹۴/۰۳	۸۷/۳۰	۷۳/۰۰	۹۰/۷۷	روزهای باز
						تخمندان چپ
۰/۵۵	۰/۱۴	۰/۲۸	۰/۴۴	۰/۳۴	۰/۱۵	تعداد فولیکول های کوچک
۰/۸۱	۰/۱۶	۰/۳۷	۰/۵۵	۰/۵۰	۰/۵۷	تعداد فولیکول های بزرگ
۰/۵۵	۰/۱۷	۰/۶۵	۱/۰۰۶	۰/۸۴	۰/۷۲	تعداد کل فولیکول ها
۰/۶۶	۲/۹۱	۹/۷۸	۱۲/۸۶	۱۳/۳۱	۸	اندازه بزرگ‌ترین فولیکول
						تخمندان راست
۰/۳۰	۰/۱۲	۰/۲۰	۰/۲۶	۰/۴۶	۰/۱۱	تعداد فولیکول های کوچک
۰/۰۶	۰/۱۰	۰/۴۵	۰/۲۸	۰/۳۳	۰/۷۱	تعداد فولیکول های بزرگ
۰/۶۳	۰/۱۶	۰/۶۶	۰/۵۴	۰/۷۹	۰/۸۳	تعداد کل فولیکول ها
۰/۷۰	۱/۵۲	۱۵/۶	۱۳/۸۹	۱۳/۱	۱۴/۵	اندازه بزرگ‌ترین فولیکول
						هر دو تخمدان
۰/۷۶	۰/۲۲	۱/۳۲	۱/۵۴	۱/۶۴	۱/۵۵	تعداد کل فولیکول ها
۰/۹	۱/۵۶	۱۶/۶۸	۱۶/۶۳	۱۷/۱۸	۱۷/۳۷	اندازه بزرگ‌ترین فولیکول

منابع:

1. Petit, H. V., R. J. Dewhurst, N. D. Scollan, J. G. Proulx, M. Khalid, W. Haresign, S. H. Twagiramungu, and G. E. Mann. 2002. Milk production and composition, ovarian function and prostaglandin secretion of dairy cows fed omega-3 fats. 85: 889-899.
2. Petit, H. V., and H. Twagiramungu. 2006. Conception rate and reproductive function of dairy cows fed different fat sources. Theriogenology 66: 1316-1324.
3. Staples, C. R., J. M. Burke, and W. W. Thatcher. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. J. Dairy Sci. 81: 856-871.
4. Thatcher, W.W., T. R. Bilby, J.A. Bartolome, F. Silvestre, C.R. Staples, and J.E.P. Santos. 2006. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. Theriogenology. 65: 30-44.

5. Thomas, M. G., B. Bao and G. L. Williams.1997. Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. J. Dairy Sci. 75:2512-2519.

Investigation of the feeding time of omega-3 supplement during dry period on reproduction parameters in postpartum Holstein dairy cows

Akbar Aliverdilo¹, Hmid Amanlou¹, Aria Badiei², Seyed Mohammad Reza Beheshti¹
Vahid Gholami¹, Nabi Allah Aghaziarati Farahani^{*1}

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture. Zanjan University. Zanjan

2- School of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Karaj Branch, Tehran

* Corresponding E-mail address: N_Aghaziarati_F@yahoo.com

Abstract:

An experiment was carried out to assess the effects of omega-3 supplementation during dry period on the productive and reproductive performance of postpartum Holstein dairy cows. 32 Holstein dairy cows (16 primiparous and 16 multiparous) were assigned to 4 dietary treatments: 1) Control diet without omega-3 supplement. 2) omega-3 supplement of diet for the entire dry period. 3) omega-3 supplement of diet in early dry period. 4) omega-3 supplement of diet in late dry period. The experimental design used was randomized complete block with 8 replicates in each treatment (4 primiparous and 4 multiparous). All diets were energetically identical and the omega-3 fatty acid was supplemental at 160 gram per cow. Reproductive parameters such as open days and services per conception didn't respond to omega-3 supplementation of diets. However the size of follicles tended to ($P < 0/9$) increase in cows receiving omega-3 fatty acid compared to control cows.

Keywords: Dry period, Omega-3, Reproductive parameters.

مقایسه اثر دو روش همزمان سازی سیدر و اسفنج همراه با تزریق هورمون PMSG به روش کوتاه مدت بر عملکرد تولید مثلی

بز سیاه لری

علی رستگار^۱، جعفر یدی^۲، سعید خلیج زاده^۱

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، گروه علوم دامی، ساوه ۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، گروه دامپزشکی، ساوه

علی رستگار، خرم آباد لرستان گلدشت غربی کوی جانبازان خیابان ارم کوچه اکباتان ۵ منزل شخصی، کد پستی ۶۸۱۴۷۷۳۷۷۷

چکیده

در تحقیق حاضر به منظور مقایسه اثر دو روش همزمان سازی کوتاه مدت با استفاده از سیدر و اسفنج به همراه PMSG از ۵۴ راس بز سیاه لری در شکم های زایش اول تا چهارم استفاده گردید. برای این منظور حیوانات به دو گروه ۲۷ راسی در چهار شکم زایش به تعداد مساوی تقسیم شدند. حیوانات در هر دو گروه تحت مطالعه ۴۸ ساعت بعد از برداشتن اسفنج و سیدر با استفاده از اسپرم خالص مورد تلقیح مصنوعی قرار گرفتند. شاخص های تولید مثلی در یک دوره ۶ ماهه مورد مطالعه و سپس با استفاده از آزمون کای اسکور مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج تحقیق نشان داد که پاسخ به فحلی در هر دو گروه ۱۰۰ درصد بود. بازده باروری در بین تمامی حیوانات در گروه سیدر ۸۵/۲ درصد و در گروه اسفنج ۷۴/۱ درصد مشاهده گردید. درصد بزغاله زایی در گروه سیدر ۱۳۴/۸ و در گروه اسفنج ۱۳۰ درصد بدست آمد. همچنین درصد چند قلو زایی در گروه سیدر برابر ۳۴/۸ درصد و در گروه اسفنج برابر ۲۷/۹ درصد بود. نتایج تحقیق نشان داد که اگرچه از نظر عددی روش سیدر عملکرد تولید مثلی بهتری نسبت به روش اسفنج دارد اما از نظر آماری تفاوت معنی داری بین این دو روش وجود ندارد و از هر دو این روش ها می توان در جمعیت بز سیاه لری استفاده نمود.

کلمات کلیدی: همزمان سازی فحلی - بز سیاه لری.

مقدمه

یکی از دلایل اصلی کاهش نرخ باروری در گله های بز و گوسفند ضعف مدیریت تولید مثلی در گله ها است. برای بالا بردن میزان بهره وری تولید مثل گله ها، استفاده از روشهای جدید باروری از قبیل کنترل و همزمان سازی فحلی و همچنین استفاده از هورمون PMSG برای افزایش نرخ باروری که منجر بدست آوردن مزیت های عملی و مقرون به صرفه می گردد پیشنهاد شده است (۱۸). بطور کلی از پروژسترون و آنالوگهای آن برای همزمان سازی فحلی در طول فصل تولید مثل و غیرتولید مثل استفاده می شود (۴). استفاده از هورمون PMSG (۱۱)، هورمون محرک فولیکول (FSH) و مخلوط گناد و تروپین ها (۱۰) پس از پایان دوره همزمان سازی فحلی میزان تخمک گذاری را افزایش می دهد. تزریق هورمون PMSG در پایان دوره درمان با پروژسترون باعث همزمان سازی دقیق تر فحلی در نشخوارکنندگان کوچک می شود (۱۸). تزریق هورمون PMSG بعد از برداشتن سیدر باعث می شود که دام علائم فحلی را زودتر نشان دهد (۱۶). از اسفنج داخل واژنی آغشته به FGA یا مدروکسی پروژسترون استات و MAP برای همزمان سازی فحلی در بز استفاده می شود (۱۷). استفاده از پروژستارنها همراه با اسفنج گذاری برای دوره های کوتاه مدت ۶-۹ روزه برای ایجاد همزمان سازی فحلی در بز با موفقیت گزارش شده است (۵، ۶). آزاد شدن پروژسترون از سیدر و اسفنج در طول زمان کاهش می یابد و بنابراین فراهم کردن غلظت های بالای پروژسترون در یک دوره کوتاه مدت ۵ تا ۸ روزه در طول فصل تولید مثل برای همزمان سازی فحلی موثر است (۱۴). هدف از مطالعه اخیر مقایسه دو روش همزمان سازی فحلی با استفاده از سیدر و اسفنج آغشته به پروژسترون همراه با تزریق هورمون PMSG در یک دوره کوتاه مدت ۹ روزه بر

روی بازده تولید مثلی (درصد فحلی، بازده باروری، بازده بره زایی و درصد دوقلو زایی) در بز سیاه لری در فصل تولید مثل می باشد.

مواد و روش ها

این آزمایش در طول مدت شش ماه بر روی یک گله بز در استان لرستان، شهرستان پلدختر، روستای چال کل انجام شد. از لحاظ موقعیت جغرافیایی این منطقه ۶۹۵ متر از سطح دریا ارتفاع دارد و در موقعیت جغرافیایی ۴۷ درجه عرض جغرافیایی و ۳۳ درجه طول جغرافیایی واقع شده است. در مجموع ۵۴ راس بز ماده سیاه لری بین شکم اول تا چهارم زایش با محدوده وزن ۲۱ تا ۵۱/۵ کیلوگرم مورد استفاده قرار گرفت. شش راس بز نر بین سن ۲ تا ۵ سالگی با وزن ۳۸ تا ۵۳ کیلوگرم برای اسپرم گیری و تلقیح مصنوعی بزهای ماده انتخاب شدند. پانزده روز قبل از شروع مطالعه، بزهای ماده از نظر اسکور بدنی (وضعیت جسمانی) مورد بررسی قرار گرفتند. در منطقه مذکور فصل تولید مثل، همراه با برداشت محصولات کشاورزی می باشد، بنابراین تغذیه دامها در این فصل از پس چر مزارع می باشد. این آزمایش در فصل تولید مثل انجام شد. بزهای انتخاب شده به دو گروه ۲۷ راسی طوری تقسیم شدند که در هر گروه به ترتیب ۷ حیوان شکم اول، ۷ حیوان شکم دوم، ۶ حیوان شکم سوم و ۷ حیوان شکم چهارم قرار گرفتند. بزها در گروه سیدر آغشته به پروژسترون و گروه اسفنچ آغشته به هورمون پروژسترون به مدت ۹ روز همزمان سازی شدند. ۴۸ ساعت قبل از برداشتن اسفنچ و سیدر تزریق عضلانی هورمون PMSG صورت گرفت. تشخیص فحلی ۲۴ ساعت پس از خارج کردن اسفنچ و سیدر داخل واژنی، با استفاده از بز نر دارای پیش بند انجام شد. تلقیح مصنوعی حدود ۴۰ ساعت بعد از برداشتن اسفنچ و سیدر با استفاده از اسپرم خالصی که از شش راس بز نری که قبلاً مورد معاینه کامل قرار گرفته بودند، انجام شد و در دو گروه مورد مطالعه به نسبت مساوی از تمامی اسپرم ها استفاده شد. برای تلقیح مصنوعی بزها از خرکی که قبلاً آماده شده بود استفاده شد، بطوریکه پاهای جلویی بزها در حین تلقیح بر روی زمین قرار داشتند. برای تلقیح ابتدا پایوتهای ۱/۴ تهیه و در فلاکس حاوی آب ولرم ۳۲ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سپس با استفاده از سرنگهای مخصوص تلقیح مصنوعی گوسفند و بز و همچنین اسپیکولوم مجهز به چراغ قوه، اسپرم به ابتدای سرویکس منتقل گردید. دو ماه پس از تلقیح مصنوعی با استفاده از دستگاه اولتراسوند Medeta تشخیص آبستنی انجام شد.

در هر گروه شاخص های تولید مثلی شامل بازده فحلی، بازده باروری، درصد بره زایی و درصد چندقلو زایی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. برای اندازه گیری شاخص های ذکر شده از فرمول های زیر استفاده شد.

بازده فحلی: نسبت تعداد بزهای ماده ای که علائم فحلی را نشان دادند به تعداد کل بزهای همزمان سازی شده ضربدر ۱۰۰ (۱).

بازده باروری: نسبت تعداد بزهای ماده آبستن به تعداد کل بزهای ماده ای که تلقیح شدند ضربدر ۱۰۰ (۱۷).

درصد بره زایی: نسبت تعداد بزغاله های متولد شده به تعداد بزهایی که زایش کرده اند ضربدر ۱۰۰ (۲).

درصد چندقلو زایی: نسبت تعداد زایش های منجر به چند قلو زایی به تعداد کل زایش ها ضربدر ۱۰۰ (۱).

به منظور تجزیه و تحلیل صفات از آزمون ناپارامتریک کای اسکور (χ^2) استفاده شد. اطلاعات مربوط به صفات مورد نظر به صورت کدهای صفر و یک در فایل داده ذخیره شده و سپس با استفاده از آزمون کای اسکور نرم افزار آماری SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح معنی دار آزمون برابر ۵ درصد در نظر گرفته شد. با توجه به این که یکی از شروط درستی آزمون کای اسکور از ۵ کمتر نبودن مقادیر قابل انتظار در هر طبقه می باشد لذا با توجه به تعداد یکسان حیوانات در زیر گروه های شکم زایش مقایسه آماری با تلفیق شکم های زایش انجام گرفت. ضمناً شاخص های مربوط به هر روش به تفکیک شکم زایش نیز گزارش گردید.



نتایج و بحث

بازده فحلی یکی از شاخص های مهم تولید مثلی در روش های همزمان سازی می باشند. نتایج تحقیق نشان داد که بازده فحلی در هر دو روش همزمان سازی برابر با ۱۰۰ درصد می باشد. این امر بدین معنی است که هر دو روش مورد استفاده با موفقیت کامل باعث بروز فحلی در بزها می گردند و تفاوتی از این حیث بین این دو روش وجود ندارد. این میزان بازده فحلی با نتایج تحقیقات گذشته همخوانی داشته و بسیاری از محققین بازده فحلی ۱۰۰ درصد را گزارش نموده اند (۵، ۱۳، ۱۰، ۷).

بازده باروری، بازده زایش و همچنین درصد چند قلو زایی در هر یک از دو روش مورد استفاده در جداول یک و دو نشان داده شده است. بازده باروری در گروه سیدر ۸۵/۲ درصد و در گروه اسفنج ۷۴/۱ درصد بدست آمد. اگرچه بازده باروری در روش سیدر از نظر عددی بیشتر از روش اسفنج بدست آمد اما اختلاف معنی دار آماری بین آنها مشاهده نگردید. بازده زایش در گروه سیدر ۷۷/۸ و در گروه اسفنج ۷۰/۴ درصد گزارش گردید اما اختلاف از نظر آماری معنی دار نگردید. درصد دوقلو زایی در گروه سیدر ۳۴/۸ درصد و در گروه اسفنج ۲۷/۹ درصد مشاهده گردید.

جدول ۱- عملکرد تولید مثلی بزها با استفاده از روش کوتاه مدت همزمان سازی با استفاده از سیدر به همراه PMSG

تعداد	بازده فحلی (%)	بازده باروری (%)	نرخ زایش (%)	چندقلو زایی (%)	درصد بره زایی (%)	
۷	۱۰۰	۸۵/۷	۸۵/۷	۳۳/۳	۱۳۳/۳	شکم اول
۷	۱۰۰	۱۰۰	۸۵/۷	۲۸/۶	۱۲۸/۶	شکم دوم
۶	۱۰۰	۸۳/۳	۸۳/۳	۴۰	۱۴۰	شکم سوم
۷	۱۰۰	۷۱/۴	۵۷/۱	۴۰	۱۴۰	شکم چهارم
۲۷	۱۰۰	۸۵/۲	۷۷/۸	۳۴/۸	۱۳۴/۸	کل

جدول ۲- عملکرد تولید مثلی بزها با استفاده از روش کوتاه مدت همزمان سازی با استفاده از اسفنج به همراه PMSG

تعداد	بازده فحلی (%)	بازده باروری (%)	نرخ زایش (%)	چندقلو زایی (%)	درصد بره زایی (%)	
۷	۱۰۰	۷۱/۴	۷۱/۴	۲۰	۱۲۰	شکم اول
۷	۱۰۰	۷۱/۴	۵۷/۱	۲۰	۱۶۰	شکم دوم
۶	۱۰۰	۸۳/۳	۸۳/۳	۴۰	۱۴۰	شکم سوم
۷	۱۰۰	۷۱/۴	۷۴/۴	۰	۱۰۰	شکم چهارم
۲۷	۱۰۰	۷۴/۱	۷۰/۴	۲۷/۹	۱۳۰	کل

استفاده از هورمون PMSG پس از همزمان سازی فحلی، پاسخ به فحلی - نرخ باروری - نرخ زایمان و همچنین درصد دوقلو زایی را افزایش می دهد، که در این مطالعه نیز هورمون فوق موجب افزایش موارد ذکر شده نیز گردیده است (۳). نرخ سقط جنین در مطالعه اخیر پس از ۱۰۰ روز حاملگی در گروه سیدر ۷/۴ درصد و در گروه اسفنج ۳/۷ درصد و به طور میانگین در هر دو گروه ۵/۶٪ مشاهده شد. در بزهاییکه سقط جنین کردند، هیچگونه علائم عفونی مشاهده نشد. نرخ سقط جنین موجود در این گله با نرخ سقط جنین گزارش شده (۳/۳۸٪) در گله بزهای انگلستان قابل مقایسه بود. تصور می شود که سقط جنین ممکن است در اثر عوامل مدیریتی و پرورشی حیوانات بوجود آید (۷).

- ۱-Akoz, M., M. Bulbul, B. Ataman and S. Dere. 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. *Bull. Vet. Pulawy*. 50, 97-100
- ۲-Avendano-Reyes, L., F.D. Alvarez-Valenzuela, L. Molina-Ramirez, R. Rangel-Santos, A. Correa-Calderon, J. Rodriguez-Garcia, M. Cruz-Villegas, P.H. Robinson and T.R. Famula. 2007. Reproduction performance of Pelibuey ewes in response to estrus synchronization and artificial insemination in Northwestern Mexico. *J. Anim. Vet. Adv.* 6, 807-812.
- ۳-Boscós, C.M., F.C. Samartzi, S. Dellis, A. Rogge, A. Stefanakis and E. Krambovitis. 2002. Use progestagen-gonadotrophin treatment in estrus synchronization of sheep. *Theriogenology*. 58, 1261-1272.
- ۴-Dogan I.Z., H. Nur, H. Gunay, M. Sagirkaya, K. Soylu and C. Sonmez. 2005. Estrous synchronization during the natural breeding season in Anatolian black dose. *J. vet. Med. Czech*. 50, 33-38.
- ۵-Dogan, I., A. Konyalı, C. Tolu and S. Yurdabak. 2008. Different estrous induction protocols du-ring transition period in lactating Turkish Saanen does following AI. *Acta Vet.-Beograd* 58:259-266.
- ۶-Fonseca, J.F., J.H. Bruschi, I.C.C. Santos, J.H.M. Viana and C.M. Magalhães . 2005. Induction of estrus in non-lactating dairy goats with different estrous synchrony protocols *Anim. Reprod. Sci.* 85:117-124.
- 7-Fikret, K., D. Gokhan, S. Mustafa-Kemal and T. A. Cafer .2010. Oestrus with short-term long-term progestagen treatments in goats: use GnRH prior to short-term progestagen treatment. *Italian Journal of Animal Science*, vol9, NO1.
- 8-Freitas, V.J.F., G. Baril, and J. Saumande. 1997. Estrus in dairy goats: use fluorogestone acetate vaginal or nor-gestomet implants. *Anim. Reprod. Sci.* 46:237-244.
- 9-Karaca, F., G. Dogruer, M. Kemal Sarıbay and C. Tayyar Ateş Oestrus with short-term long-term progestagen treatments in goats: use GnRH prior to short-term progestagen treatment
- 10-KinghtsM., Q.S. Baptiste, A.B. Dixon, J.I. Pate, D.J. Marsh, E.K. Insheep and P.E. Lewis .2003. Effects of a dosage of FSH, vehicle and time of treatment on ovulation rate and prolificacy in ewes during the anestrous season. *Small. Rumin. Res.* 50, 1-9.
- 11-Lamrani, F., A. Benyounes, J. Sulong, G. Khaldi, R. Rekik, B. Bouraoui, J.F. Beckers and A. Tahar. 2008. Effects of repeated use of PMSG on reproductive performances of the ouled djellal ewes. *J. Anim. Vet. Adv.* 2, 22-30.
- ۱2-Motlomelo, K.C., J.P.C. Greyling and L.M.J. Schwalbach.2002. Synchronisation estrus in goats: use different progestagen treatments. *Small Ruminant Res.* 45:45-49.
- 13-Osuagwuh, A.I.A. 1992. Effects of strategic feed supplementation during pregnancy on birth weight perinatal survival West African Dwarf kids. *J. Agr. Sci.* 119: 123-126.
- 14-Ozturkler, Y., A. Colak, A. Baykal and B. Güven. 2003. Combined effect prostaglandin analogue progestagen treatment for 5 days on oestrus in Tushin ewes. *Indian Vet. J.* 80:917-920.
- 15-Romano, J.E. 2004. estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during breeding season in Nu-bian goats. *Small Ruminant Res.* 55:15-19.

- 16-Ustuner, B., U. Gunay, U. Nur and U. Ustuner. 2007. Effects of long and short-term progestagens treatment combined with PMSG on oestrus synchronization and fertility in Awassi ewes during the breeding season. J. Acta vet. Brno.76, 391-397.
- 17-Whitley, N. C. and D. J. Jackson. 2004. An update on estrus synchronization in goats: A minor species. Journal of animal science. 82: 270-276.
- 18-Wildeus S. 1999. Current concepts in synchronization of estrus: sheep and goats. J. Anim. Sci. 77, 1-14.
- 19-Zeleke, M., J.P.C. Greyling, L.M.J. Schwalbach, T. Muller and J.A . Erasmus. 2005. Effects of PMSG dose on oestrous synchronization and fertility in Dorper ewes during transition period. Small. Rumin. Res. 56, 47-53.

Comparison of two short term methods of estrus synchronization by CIDR and sponge with PMSG on reproductive performance of Lory black goats

Ali Rastegar¹, Jafar Yadi², Saeed Khalajzadeh¹

1- Department of Animal Science, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

2- Department of Veterinary, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

Ali Rastegar, Khorram Abad, Lorestan, western Goldasht Eram Alley Alley veteran Ekbatan 5th Avenue home, Postal Code 6814776777

Abstract

In the present study to compare the effect of two short-term synchronization methods using CIDR and sponge with PMSG on reproductive performance of Lory black goats were used 54 animals in four parities. Animals were divided into two groups with equal proportion of parity in each. In both groups, animals were artificially inseminated 48 hours after CIDR or sponge removal. Reproductive parameters in a 6-months period were studied and then compared by chi square test. The results showed that estrus response in both groups were 100%. Conception rate among all animals in CIDR and sponge group observed 85.2 and 74.1 percent respectively. Pregnancy rate in CIDR and sponge group was 77.8 and 70.4 percent respectively. Also, multiple kidding rate obtained 34.8 (%) in CIDR and 27.9 (%) in sponge group. Results showed that there is no significant difference between these two methods and both of these methods can be used in Lory black goat population.

Key words: estrus synchronization - Lory black goat

مطالعه تأثیر تلقیح ال-کارنیتین در تخم مرغ‌های مادرگوشتی بر میزان جوجه‌درآوری و وزن جوجه‌ها

صغری کمالی فر^{۱*}، مرتضی ممویی^۱، منصور میاحی^۲، صالح طباطبایی وکیلی^۱، خلیل میرزاده^۱

۱. به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و هیات علمی گروه علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین (اهواز)

۲. استاد گروه دامپزشکی (بهداشت و بیماری‌های طیور) دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

*kamaliz84@yahoo.com

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اثرات تزریق ال-کارنیتین در تخم مرغ مادرگوشتی بر درصد جوجه‌درآوری و وزن جوجه یک روزه انجام شد. بدین منظور ۱۸۰ عدد تخم مرغ بارور مرغ مادرگوشتی سویه راس ۳۰۸، وزن کشی و در قالب طرح کاملاً تصادفی به سه گروه آزمایشی با ۴ تکرار و ۱۵ عدد تخم مرغ در هر تکرار تقسیم شدند. تخم مرغ‌های گروه اول با ۰/۱ میلی لیتر از محلول ۰/۵ میلی گرم ال-کارنیتین در ۱۰۰ میکرو لیتر کلرید سدیم استریل و گروه شاهد با محلول کلرید سدیم ۰/۵ درصد به روش داخل جنینی در روز ۱۹ جوجه کشی تلقیح شدند. تخم مرغ‌های گروه سوم به عنوان شاهد منفی تلقیح نشدند. پس از تفریح جوجه‌ها شمارش و توزین شدند. نتایج این مطالعه نشان داد تزریق محلول ال-کارنیتین هرچند روی وزن جوجه یک روزه و نرخ جوجه‌درآوری تأثیر معنی داری نداشت ($P > 0/05$) ولی از نظر عددی باعث بهبود نرخ جوجه‌درآوری گردید.

کلمات کلیدی: جوجه‌های گوشتی - تزریق داخل جنینی - جوجه‌درآوری - ال-کارنیتین

مقدمه

کارنیتین یک آمین چهارتایی است و دارای دو نوع ایزومر دی و ال است که تنها نوع ال آن از لحاظ بیولوژیکی فعال می‌باشد (۳). ال-کارنیتین به راحتی در آب حل شده و دارای نقش‌های متعددی از جمله محافظت و تنظیم غشاهای سلول، افزایش ایمنی بدن و هم چنین نقش‌های متابولیکی می‌باشد (۱). بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب یک منبع انرژی اولیه برای فرایندهای رشد و توسعه جنین مرغ و در نهایت برای شکستن پوسته تخم مرغ لازم است (۸). ال-کارنیتین با همراهی کردن اسیدهای چرب فعال (آسیل کوآنزیم آ) جهت انتقال به ماتریکس میتوکندری نقش مهمی در تولید انرژی دارد. بنابراین این ترکیب برای ورود اسیدهای چرب بلند زنجیره به صورت استر آسیل کارنیتین به داخل میتوکندری ضروری است (۵). علاوه بر این تخم مرغ‌های تازه‌ای که مرغ‌های تغذیه شده با جیره‌های گیاهی می‌گذارند دارای ال-کارنیتین با غلظت کم است (۴). در جوجه‌هایی که مرغ‌های مادرشان با جیره حاوی ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم مکمل ال-کارنیتین تغذیه شده بودند، در روز هیجدهم جنینی غلظت ال-کارنیتین در کیسه زرده و کبد آنها برای اکسیداسیون افزایش یافت که منجر به نفوذ و بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب در آنها گردید. (۹).

مواد و روشها

در روز ۱۷ جوجه‌کشی ۱۸۰ عدد تخم مرغ بارور سویه گوشتی راس ۳۰۸، با میانگین وزنی ۵۵ گرم پس از نوربینی و اطمینان از نطفه‌دار بودن تخم مرغ انتخاب و به طور انفرادی وزن‌کشی شده و به سه گروه آزمایشی با توزیع وزنی مشابه تقسیم شدند. هر گروه آزمایشی شامل چهار تکرار و هر تکرار شامل ۱۵ عدد تخم مرغ بود. در روز ۱۹ جوجه کشی ابتدا محل مایع آمنیوتیک تخم مرغ‌ها با استفاده از روش نوربینی مشخص و سپس دو گروه از تخم مرغ‌ها به طور تصادفی برای تزریق انتخاب شدند. ابتدا انتهای پهن تخم مرغ با الکل اتانول ۷۰ درصد ضد عفونی و سپس سوراخ ریزی، در پوسته تخم مرغ ایجاد شد. به هر گروه ۰/۱ میلی لیتر



از محلول‌های آزمایشی توسط سرنگ با سر سوزن شماره ۲۳ به مایع آمینوتیک تخم‌مرغ‌های بارور تزریق گردید. در این آزمایش برای گروه شاهد بدون تزریق اعمال سایر گروه‌ها مانند نوربینی، جابجایی و غیره انجام شد. پس از تزریق محل آن توسط پارافین مذاب مسدود شد. سپس تخم‌مرغ‌های هر واحد آزمایشی به جایگاه مشخص شده‌ی خود در دستگاه جوجه‌کشی منتقل شدند. محلول‌های مورد آزمایش، شامل ۵ گرم ال-کارنیتین در یک لیتر کلرید سدیم (۶) و هم‌چنین کلرید سدیم ۰/۵ درصد استریل (شاهد مثبت) بود. در روز تفریخ جوجه‌های هر واحد آزمایشی پس از شمارش، وزن کشی شدند. داده‌های رکوردبرداری شده در این آزمایش پس از ثبت و محاسبه، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS در قالب طرح کاملاً تصادفی با رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح آماری ۵ درصد انجام شد.

نتایج

همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است، بالاترین نرخ جوجه‌درآوری ۷۳/۳۳ درصد مربوط به تیمار تزریق ال-کارنیتین می‌باشد و کمترین مربوط به تیمار شاهد (بدون تزریق) ۷۰ درصد می‌باشد ($P > 0/05$). وزن بدن جوجه‌های یک روزه حاصل از تخم‌مرغ‌های تزریق شده تفاوت معنی داری با گروه شاهد نداشت ($P > 0/05$). و هم‌چنین نسبت وزن جوجه‌های تفریخ شده به وزن تخم‌مرغ قبل از تزریق، در گروه‌های تزریق تفاوت معنی داری با گروه شاهد نداشت ($P > 0/05$). کارنیتین به طور ویژه‌ای انتقال اسیدهای چرب گروه آسیل را از کیسه زرده به بافت‌های جنین از طریق غشاء کیسه زرده تسهیل می‌کند. با این حال جنین در طی مرحله جوجه‌کشی ظرفیت محدودی برای ساخت ال-کارنیتین دارد (۲). احتمالاً بهبود نرخ جوجه‌درآوری به دلیل این است که، ال-کارنیتین انرژی لازم جهت رشد و نمو جنین را تأمین می‌کند، با توجه به فعال کردن مکانیسم‌های که برای قرار دادن انرژی در اختیار جنین طیور می‌شود (۷). هم‌چنین داده‌های حاصل از این مطالعه با نتایج سایر محققان که گزارش کردند وزن بدن جوجه‌های یک روزه حاصل از تخم‌مرغ‌های تزریق شده با مکمل ال-کارنیتین تفاوت معنی داری با گروه شاهد ندارد مطابقت دارد (۱۰). این مطالعه نشان داد، تزریق محلول ال-کارنیتین هرچند روی وزن جوجه یک روزه و نرخ جوجه در آوری تأثیر معنی داری نداشت ($P > 0/05$) ولی از نظر عددی باعث بهبود نرخ جوجه‌درآوری گردید.

جدول ۱- اثرات تزریق محلول‌های مورد آزمایش به درون تخم‌مرغ بر میزان جوجه‌درآوری، وزن بدن جوجه‌های هیچ شده و

نسبت وزن بدن به وزن تخم‌مرغ			
تیمار	جوجه‌درآوری	وزن هیچ	نسبت وزن جوجه هیچ شده به
	(درصد)	(گرم)	وزن تخم‌مرغ
شاهد (بدون تزریق)	۷۱/۶۶	۴۳/۶۰	۷۶/۴۷
محلول کلرید سدیم ۰/۵٪	۷۰	۴۳/۶۷	۷۸/۲۹
محلول ال-کارنیتین	۷۳/۳۳	۴۳/۶۳	۷۸/۳۲
اشتباه معیار میانگین	۲/۳۹	۰/۶۷	۰/۸۶

تزریق محلول ال-کارنیتین تأثیری بر درصد جوجه‌درآوری، وزن هج و نسبت وزن جوجه هج شده به وزن تخم مرغ نداشت.

منابع

1. Borum, P. R. 1983. Carnitine. *Annu .Rev. Nutr.* 3:233-259.
2. Casillas, E. R, and R. W. Newburgh. 1969. l-Carnitine and derivatives in embryonic chick tissue. *Biochim. Biophys Acta.* 184:566–577.
3. Cerretelli, P. & C. Marconi. 1990. L-carnitine supplementation in humans. *Journal of Sports Medicine* . 11: 1-14.
4. Chiodi, P., B. Ciani, S. Kentroti, F. Maccari, A. Vernadakis, L. Angelucci, and M. T. Ramacci. 1994. Carnitine and derivatives in the central nervous system of chick embryo. *Int. J. Biochem.* 26:711720.
5. Harpaz, S. 2005. L-Carnitine and its attributed functions in fish culture and nutrition. A review. *Aquaculture.* 249: 3–21.
6. Keralapurath, M. M. Keirs, R. W. Corzo, A. Bennett, R. Pulikanti. Peebles, E. D. 2010. Effects of in ovo injection of L-carnitine on subsequent broiler chick tissue nutrient profiles. *J. Poult Sci.* 89: 335-341.
7. Leibetseder, J. 1995. Studies of L-carnitine effects in poultry. *Archiv. Anim. Nutr.* 48: 97-108.
8. Moran, E. T. Jr. 2007. Nutrition of the developing embryo and hatchling. *J. Poult. Sci.* 86: 1043–1049.
9. Peebles, E. D., M. T. Kidd, C. D. McDaniel, J. P. Tanksley, H. M. Parker, A. Corzo, and J. C. Woodworth. 2007. Effects of breeder hen age and dietary l-carnitine on progeny embryogenesis. *J. Br. Poult. Sci.* 48: 299–307.
10. Zhai, W., S. Neuman, M. A. Latour, and P. Y. Hester. 2008. The Effect of In Ovo Injection of L-Carnitine on Hatchability of White Leghorns. *J. Poult. Sci.* 87: 569-572.

The effect of in ovo inoculation of L-carnitine on hatchability and hatching body weight of broiler chickens

Soghra kamalifar^{1*}, Morteza Mamoi

*: kamaliz84@yahoo.com

The study was conducted to evaluate effects of inoculation of L-carnitine in broiler breeder eggs on the hatchability and body weight of hatch chicks. For this purpose at 19 days of incubation 180 Ross breeder fertile eggs divided into 3 experimental groups with 4 replicate with 15 eggs in each in randomized complete design. Group one eggs inoculated with 0.1 mililiter of 0.5 mg L-carnitine dissolved in 100µl of a sodium chloride via in ovo inoculation. The control group in ovo inoculated with 0.1 mililiter of sodium chloride 0.5%. Group 3 fertile eggs kept as control group. Hatchability and body weight of each chick were calculated. It was concluded that L-carnitine increased hatchability but the difference was not significant ($P>0/05$) and in terms of the number improves hatchability.

Keyword: broiler chick- in ovo- inoculation - L-carnitine-hatchability

بررسی غلظت‌های مختلف گلیسرول در رقیق کننده حاوی لسیتین سویا بر تحرک و زنده مانی اسپرم قوچ بعد از فرآیند انجماد-ذوب

سهراب طوسی^{۱*}، مهدی امین افشار^۱، ابوذر نجفی^۲، محسن شرفی^{۲،۳}

۱- گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران، ۲- گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، ۳- گروه جنین شناسی، پژوهشکده علوم تولید مثل، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران

* مسئول مکاتبات: s_tosi2006@yahoo.com

چکیده

گلیسرول معمول‌ترین ماده محافظ انجمادی برای اسپرم قوچ است که با نفوذ به درون اسپرم و از طریق شیب اسمزی و جایگزین شدن با آب مانع تشکیل کریستال‌های یخ درون اسپرم می‌شود. اگر چه اثرات بیولوژیک گلیسرول در فرآیند انجماد-ذوب اسپرم قوچ بررسی شده است اما تاکنون سطوح بهینه گلیسرول در محیط‌های عاری از پروتئین حیوانی که حاوی لسیتین سویا باشد مورد ارزیابی قرار نگرفته است. هدف از این مطالعه بررسی چهار سطح گلیسرول (۲، ۴، ۶ و ۸ درصد) در رقیق کننده بر پایه بافر تریس حاوی یک درصد لسیتین سویا بود. نمونه اسپرم از چهار قوچ بالغ جمع آوری و سپس با استفاده از رقیق کننده‌ها رقیق سازی انجام شد و بلافاصله در داخل نی‌های انجماد ۰/۲۵ میلی لیتر کشیده شد. و سپس مطابق با شرایط استاندارد منجمد شدند. تحرک و زنده مانی اسپرم بعد از فرآیند انجماد-ذوب ارزیابی گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که در بین سطوح گلیسرول غلظت ۶ درصد گلیسرول باعث بهبود معنی دار تحرک و زنده مانی اسپرم در مقایسه با سطوح ۲ و ۴ می‌گردد ($p < 0/05$) و در حالی که افزایش غلظت گلیسرول به ۸ درصد باعث کاهش معنی دار تحرک و زنده مانی اسپرم شد ($p < 0/05$).

کلمات کلیدی: نگهدارنده درون سلولی، کریستال یخ، اسپرم قوچ، زنده مانی

مقدمه

در فرآیند انجماد اسپرم، سلول‌های اسپرم در معرض مواد محافظ انجمادی قرار می‌گیرند و سپس دما به زیر صفر درجه سانتی‌گراد می‌رود و متابولیسم اسپرم کاهش می‌یابد. سپس در فرآیند ذوب، ماده محافظ انجمادی از آن جدا شده و به اسپرم به حالت طبیعی فیزیولوژیکی برمی‌گردد (۲، ۶). در طی فرآیند سرد شدن، مهم‌ترین اتفاقی که می‌تواند باعث تخریب غشای اسپرم و آسیب به اسپرم شود تشکیل کریستال‌های یخ درون سلولی است که علاوه بر غشا قادر است اندامک‌های درون سلولی اسپرم مانند هسته و میتوکندری را نیز تحت تاثیر قرار دهد (۱). مطالعات موجود در مورد چگونگی جلوگیری از ایجاد کریستال‌های یخ درون سلولی و جلوگیری از شوک سرمایی، همواره موضوعی از تحقیقات بوده است که مورد توجه محققین قرار گرفته است. گلیسرول به عنوان محافظت کننده نفوذ پذیر به طور گسترده در انجماد اسپرم گونه های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ماده قابلیت نفوذپذیری بالایی داشته و اثر درون سلولی از خود نشان می‌دهد و در نتیجه با آب‌کشی

اسپرم، تشکیل کریستال‌های یخ درون سلولی را به تعویق انداخته و یا حتی کاهش می‌دهد و در نتیجه صدمات ناشی از آن را به حداقل ممکن می‌رساند (۱). مهم‌تر آن که غلظت گلیسرول می‌تواند توسط سایر اجزای رقیق کننده تحت تاثیر قرار بگیرد (۹). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که غلظت‌های گوناگون گلیسرول در دامنه بین ۴ تا ۸ درصد اثرات سودمند محافظتی برای اسپرم قوچ دارند (۶،۹). این مطالعات در رقیق کننده های بر پایه بافر تریس حاوی زرده تخم مرغ انجام شده است. با توجه به آنکه غلظت بهینه گلیسرول در رقیق کننده اسپرم قوچ تحت تاثیر عوامل بسیار زیادی از جمله سایر اجزای رقیق کننده می‌باشد و محیط‌های که حاوی لسیتین سویا می‌باشند جایگزین جدیدی از رقیق کننده های سنتی حاوی زرده شده‌اند، تاکنون گزارشی از بررسی غلظت یابی گلیسرول در این محیط‌ها صورت نگرفته است، لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر چهار غلظت ۲، ۴، ۶ و ۸ درصد گلیسرول در رقیق کننده های حاوی لسیتین سویا به منظور انجماد اسپرم قوچ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق جمع آوری نمونه منی از چهار قوچ بالغ نژاد لری بختیاری هفته ای دو بار، با استفاده از واژن مصنوعی انجام شد. به منظور رقیق سازی از محیط بر پایه بافر تریس (۲۷/۱ گرم تریس، ۱۴ گرم سیتریک اسید و ۱۰ گرم فروکتوز در یک لیتر) و حاوی یک درصد لسیتین سویا استفاده شد. چهار غلظت مختلف گلیسرول شامل ۲، ۴، ۶، و ۸ درصد در این نوع رقیق کننده بر تحرک اسپرم مورد بررسی قرار گرفت. حجم بین ۲-۰/۷۵ میلی لیتر، غلظت بیشتر از $10^9 \times 3/5$ اسپرم در میلی لیتر، تحرک بیشتر از ۷۰ درصد و مورفولوژی کمتر از ۱۰ درصد اسپرم غیر طبیعی، در هر انزال به عنوان منی نرمال در نظر گرفته شد و سپس رقیق سازی به نسبت ۱ حجم منی و ۲۰ حجم رقیق کننده‌هایی که در بالا ذکر شد انجام شد. سپس لوله سیمین در ظرف محتوی ۱۰۰ سی سی آب ۳۷ درجه قرار داده شد و در عرض ۳۰ دقیقه به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه پس از آنالیز اولیه فاکتورهای اسپرمی (غلظت، مورفولوژی و تحرک اسپرم‌ها)، در صورت مناسب بودن فاکتورهای فوق، جهت سرد شدن تدریجی و انکوباسیون با محیط انجماد (به ویژه گلیسرول)، ظرف آب محتوی لوله اسپرمی به مدت ۲ ساعت در یخچال ۵ درجه نگهداری گردید. غلظت نهایی اسپرم به میزان ۲۰۰-۱۰۰ میلیون اسپرم در هر میلی لیتر تعیین شد. پس از گذشت ۲ ساعت جهت حفظ دمای سیمین، ظرف آب محتوی سیمین بر روی کریستال‌های یخ قرار داده شد و بلافاصله در داخل نی‌های انجماد ۰/۲۵ میلی لیتر کشیده شد و سپس مطابق با شرایط استاندارد منجمد شدند. به منظور ذوب منی، نی‌ها از ازت مایع خارج و به مدت ۳۰ ثانیه در حمام آب ۳۷ درجه قرار داده شدند، سپس تحرک و زنده مانی اسپرم ارزیابی گردید. داده های بدست آمده با استفاده از نرم افزار SAS با رویه GLM آنالیز و میانگین‌ها با آزمون توکی مقایسه شد.

نتایج و بحث

جدول یک اثر چهار غلظت گلیسرول در رقیق کننده حاوی لسیتین سویا بر تحرک و زنده مانی اسپرم قوچ بعد از فرآیند انجماد-ذوب را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش غلظت گلیسرول باعث ایجاد یک روند افزایشی در درصد تحرک و زنده مانی اسپرم قوچ می‌شود، و گروه ۶ درصد گلیسرول دارای تحرک و زنده مانی معنی داری (۶/۱ و ۵۱/۲، به ترتیب برای تحرک و زنده مانی) در مقایسه با گروه های ۲ و ۴ درصد (۵/۳۰ و ۴/۳۶ در گروه ۴ درصد گلیسرول و ۷/۳۴ و ۶/۳۹) می‌باشد ($p < 0/05$). اگر چه با افزایش غلظت گلیسرول از ۶ به ۸ درصد دیگر نمی‌توان روند افزایش درصد تحرک و



زنده مانی را در اسپرم‌ها مشاهده کرد، و گروه ۸ درصد گلیسرول دارای درصد کمتر معنی داری از اسپرم‌های متحرک و زنده (به ترتیب شامل ۳۵/۲ و ۳۳/۷) در مقایسه با گروه‌های ۲ و ۴ درصد بود و در مقایسه با گروه ۶ درصد گلیسرول اختلاف معنی داری نداشت ($p > 0.05$). در این آزمایش درصد تحرک و زنده مانی اسپرم در تمامی تیمارها در مقایسه با قبل از انجماد کاهش معنی داری داشت. از علل کاهش تحرک اسپرم می‌توان به آسیب به فرا ساختار اسپرم اشاره نمود. گزارش شده است که حفظ انجمادی موجب تغییراتی در مورفولوژی اسپرم، آسیب به آکروزوم، آسیب میتوکندریایی و آسیب به دم اسپرم می‌شود. بنابراین درصد کمی از اسپرم‌ها هستند که بعد از فرآیند انجماد- ذوب از نظر فیزیولوژیکی سالم هستند و دارای فعالیت نرمال خواهند بود (۵). نتایج این مطالعه با گزارش فروزانفر و همکاران و شرفی و همکاران مطابقت دارد که هفت درصد گلیسرول درصد بهینه از گلیسرول برای فرآیند انجماد-ذوب اسپرم قوچ می‌باشد (۴،۷). سونمز و همکاران تاثیر غلظت‌های مختلف گلیسرول در محیط بر پایه تریس جهت انجماد سیمن قوچ بررسی نمودند (۸). نتایج تجربیات آن‌ها نشان داد که تحرک اسپرم پس از انجماد ذوب در گروه‌های تیماری مختلف بین ۴۴-۱ درصد بود که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. اما آنچه که مهم است این است که غلظت نهایی گلیسرول در محیط انجماد جهت انجماد منی قوچ، در نهایت به وسیله خاصیت سمی آن محدود می‌شود که خود به عوامل بسیار زیادی از جمله میزان خنک سازی و انجماد، نوع و غلظت اجزاء تشکیل دهنده محیط انجماد و روش اضافه کردن گلیسرول بستگی دارد (۳). در این آزمایش به نظر می‌رسد که در گروه ۶ درصد گلیسرول عمل جایگزینی آب با گلیسرول در مقایسه با سایر گروه‌های تیماری به نحو بهتری صورت گرفته است و پیشنهاد می‌شود که در محیط‌های حاوی یک درصد لسیتین سویا از ۶ درصد گلیسرول به منظور بهترین سطح حفاظت درون سلولی از اسپرم استفاده شود.

جدول ۱: تاثیر غلظت‌های مختلف گلیسرول بر تحرک و زنده مانی اسپرم قوچ در رقیق کننده‌های حاوی لسیتین سویا

تیمار	گلیسرول ۲ درصد	گلیسرول ۴ درصد	گلیسرول ۶ درصد	گلیسرول ۸ درصد
تحرک (درصد)	۳۰/۵±۲/۳۴	۳۴/۷±۲/۶	۴۶/۱±۲/۷	۳۵/۲±۱/۸۴
زنده مانی (درصد)	۳۶/۴±۱/۱۵	۳۹/۶±۲/۲۱	۵۱/۲±۱/۴۱	۳۳/۷±۲/۵۳

منابع

1. Abdelhakeam A, Graham E, Vazquez I. 1991. Studies on the presence and absence of glycerol in unfrozen and frozen ram semen: fertility trials and the effect of dilution methods on freezing ram semen in the absence of glycerol. *Cryobiology*. 28: 36-42.
2. Evans G, Maxwell WMC. 1987. Salamons' artificial insemination of sheep and goats: Butterworths,.
3. Fahy GM. 1986. The relevance of cryoprotectant "toxicity" to cryobiology. *Cryobiology*. 23: 1-13.
4. Forouzanfar M, Sharafi M, Hosseini S, Ostadhosseini S, Hajian M, Hosseini L, Abedi P, Nili N, Rahmani H, Nasr-Esfahani M. 2010. In vitro comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of ram semen. *Theriogenology*. 73: 480-487.

5. Holt W. 1997. Alternative strategies for the long-term preservation of spermatozoa. *Reproduction, fertility, and development*. 9: 309.
6. Salamon S, Maxwell W. 1995. Frozen storage of ram semen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Animal Reproduction Science*. 37: 185-249.
7. Sharafi M, Forouzanfar M, Hosseini SM, Hajian M, Ostadhosseini S, Hosseini L, Abedi P, Nili N, Rahmani HR, reza Javaheri A. 2009. In vitro comparison of soybean lecithin based-extender with commercially available extender for Ram semen cryopreservation. *International Journal of Fertility and Sterility*. 3: 149-152.
8. Sonmez M, Demirci E. 2004. The effect of ascorbic acid on the freezability of ram semen diluted with extenders containing different proportion of glycerol. *Turk J Anim Sci*. 28: 893-899.
9. Watson P, Martin I. 1974. Regions of the freezing curve causing changes in structure and viability of ram sperm.

Evaluation of different concentrations of glycerol in the diluent containing soybean lecithin on ram sperm motility and viability after
Freezing-thawing process

S. toosi^{1*}, M. Amin Afshar¹, A. Najafi², M. Sharafi^{2,3}

1. Department of Animal Science, Islamic Azad University, Science Research Unit, Tehran, Iran,

2. Department of Animal Science, University of Tehran, Tehran, Iran

3. Department of Embryology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran

* Corresponding E-mail address: s_tosi2006@yahoo.com

Abstract

Glycerol is the most common cryoprotectant which prevents ice crystal formation. To date, there have no report in the case of effect of glycerol in extenders containing soybean lecithin. The aim of this study was to evaluate the effect of four concentrations of glycerol (2, 4, 6 and 8%) on post thaw motility and viability of sperm after freezing-thawing. Semen samples were collected from four mature rams and then extended with extenders. Then, sperm was packed in 0.25 ml straws and frozen in nitrogen vapors. The straws were then stored in liquid nitrogen until further use. Motility and viability were evaluated after freezing-thawing. The results of present study indicate that the extender contain 6 % glycerol was significantly superior compare to 2 and 4 % in the case of motility and viability while extender containing 8 % glycerol significantly reduced the number motile and viable sperm compare to other concentrations.

Keywords: cryoprotectant, ice crystal, rams spermatozoa, Viability

تأثیر روش های رنگ آمیزی بر مورفومتری سر اسپرم گاو میش ایران با استفاده از سامانه CASA

سحر بابایی^{۱*}، فرهاد فرخی اردبیلی^۲، ایرج برنوسی^۲، وحید شفیعی پور^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه

۲- عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

۳- کارشناس مرکز اصلاح نژاد گاو میش شمالغرب کشور

*سحر بابایی: Babayisahar50@yahoo.com

چکیده

آنالیز کامپیوتری اسپرم (CASA) برای ارزیابی مورفومتریک اسپرم ها نیز استفاده می شود ولی نتایج آن در هر گونه بستگی به روش رنگ آمیزی مورد استفاده دارد. هدف از تحقیق حاضر ارزیابی تأثیر روش رنگ آمیزی اسپرم بر روی ابعاد سر آن در مورفومتری اسپرم گاو میش با استفاده از روش CASA بود. نمونه های منی مورد استفاده برای ارزیابی تأثیر روش رنگ آمیزی (دیفکوئیک و همتوکسیلین) بر روی ابعاد سر اسپرم از سه راس گاو میش بارور جمع آوری گردید. یک قطره از نمونه منی در PBS رقیق شده و برای تهیه گسترش مورد استفاده قرار گرفت. لام ها به دو روش Diff-Quick و همتوکسیلین رنگ آمیزی شدند. از هر نمونه و لام رنگ آمیزی شده ۱۰۰ اسپرم توسط نرم افزار CASA مورد شناسایی و آنالیز قرار گرفتند. بر اساس نتایج بدست آمده روش رنگ آمیزی بطور معنی داری ابعاد سر اسپرم را تحت تأثیر قرار داد. طول و عرض سر در اسپرم های رنگ آمیزی شده با Diff-Quick (به ترتیب ۷/۹۷ و ۴/۶۳ میکرومتر) بطور معنی داری بیشتر از اسپرم های رنگ آمیزی شده با همتوکسیلین (به ترتیب ۷/۴۱ و ۴/۴۵ میکرومتر) بود ($p < 0.05$). بر اساس نتایج این تحقیق میانگین ابعاد سر اسپرم گاو میش تحت تأثیر روش های رنگ آمیزی قرار دارد.

کلمات کلیدی: مورفومتری اسپرم- روش رنگ آمیزی- گاو میش- CASA

مقدمه

ارزیابی کیفیت اسپرم در پیشگونی باروری نمونه های منی مفید بوده و همچنین ابزاری در تشخیص بیماری بالینی حیوانات کم بارور می باشد. روش های ارزیابی متداول بر اساس ارزیابی های ذهنی فراسنجه های منی مانند قدرت حرکت، مورفولوژی (ریخت شناسی)، مقدار یا غلظت منی بوده است. ریخت شناسی منی کم قوت (ضعیف) یک نشانگر مهمی از کاهش یافتن باروری در بزها، نریان، گاوهای نر و انسان گزارش شده است. با این وجود، ارزیابی ذهنی اسپرم بر اساس مشاهده، نوسانات شدیدی در نتایج بین آزمایشگاه ها و تکنسین ها فراهم کرده است. (۲) این نوسانات تفسیر دقیق نتایج را مشکل ساخته و نیاز به تکنیک های غیر ذهنی و دقیق را ضروری می سازد. سامانه آنالیزگر مورفومتری اسپرم به کمک کامپیوتر (ASMA) که در طی سالهای اخیر معرفی شده است، به عنوان روشی برای غلبه بر مشکل مورفومتری ذهنی اسپرم ها می باشد. گرچه این تکنیک در اصل و در ابتدا برای اسپرم انسان طراحی شده بود، به طور پیشرونده ای در برخی از گونه های حیوانی نیز بکار رفته است. برای افزایش دقت CASA در هر کدام از گونه های حیوانی بایستی استاندارد سازی متغیرهایی مانند روشهای رنگ آمیزی و

آماده سازی نمونه تعیین گردد. رنگ آمیزی اسپرم باعث ایجاد کنتراست کافی اسپرم با زمینه لام شده و شناسایی آنرا امکان پذیر می سازد روشهای رنگ آمیزی مختلفی برای مورفومتری کامپیوتری اسپرم استفاده شده اند. دیفکوئیک و همتوکسیلین در انسان و حیوانات مختلف نتایج مناسبی را برای مورفومتری توسط ASMA نشان داده اند (۵). هدف از این آزمایش، تاثیر روش های رنگ آمیزی و مقایسه مورفومتری سر اسپرم توسط CASA بود.

مواد و روش ها

جمع آوری منی و آماده سازی نمونه: این آزمایش در مرکز اصلاح نژاد گاومیش شمال غرب کشور واقع در ۲۰ کیلومتری غرب ارومیه انجام گرفت. در این مطالعه از ۳ راس گاومیش نر که حیوانات تحت شرایط یکسان تغذیه ای، محیطی و نوری نگهداری می شدند استفاده شد. برای جمع آوری نمونه های منی از یک راس گاومیش ماده فحل و واژن مصنوعی استفاده گردید. بلافاصله بعد از جمع آوری اسپرم، حجم منی بوسیله استوانه مدرج و تحرک اسپرم ها توسط میکروسکوپ سه چشمی (Olympus CX21) مجهز به دوربین فیلمبرداری متصل به کامپیوتر (Samsung SDC-313B) اندازه گیری شد، نمونه هایی که دارای قابلیت تحرک خوب بودند انتخاب شده و به داخل بن ماری با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد منتقل شدند. ۸۰ میکرولیتر از هر نمونه ی منی در ۱ میلی لیتر محلول PBS رقیق شده و سپس ۵ میکرو لیتر از نمونه رقیق شده روی سطح شفاف لام هایی که قبلا با الکل ۷۰ درصد شسته شده بودند، گسترش تهیه شده و به قطره های منی یک روز کامل فرصت داده شد تا در هوای آزاد خشک شوند. سپس طبق جدول ۱ نسبت به رنگ آمیزی آنها به روش همتوکسیلین و Diff-Quick اقدام گردید.

آنالیز مورفومتری: آنالیز مورفومتری سرهای اسپرم توسط مدل مورفولوژیکی SCA انجام شد. در این سیستم تصویر اسپرم ها از طریق دوربین متصل به میکروسکوپ، با بزرگنمایی $100\times$ توسط روغن ایمرسون مشاهده شدند و سپس توسط نرم افزار مربوطه ابعاد مختلف اسپرم محاسبه شده و داده ها به کامپیوتر انتقال یافتند. پارامترهای محاسبه شده توسط CASA بین دو روش رنگ آمیزی مقایسه گردید. آزمایش به صورت طرح فاکتوریل در قالب بلوک کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. برای آنالیز آماری از نرم افزار SAS و رویه GLM استفاده شده است.

نتایج

در این مطالعه از ۸ انزال جمع آوری شده از سه راس گاومیش نر با هر روش رنگ آمیزی در مجموع ۴۸۰۰ اسپرم مورفومتری گردید. نتایج آنالیز واریانس تاثیر روش رنگ آمیزی بر روی پارامترهای اندازه گیری شده توسط CASA در جدول ۲ مشاهده می شود. تاثیر نوع رنگ آمیزی بجز میزان کشیدگی سر در سایر متغیرهای مورفولوژیک معنی دار بود. در اسپرم های رنگ آمیزی شده با همتوکسیلین نسبت به انواع رنگ آمیزی شده با دیفکوئیک میانگین طول و عرض سر بطور معنی داری ($P < 0.05$) کمتر بود (جدول ۳). میزان عدم تقارن و بیضوی بودن در اسپرم های رنگ آمیزی شده با Diff-Quick بیشتر از اسپرم های رنگ آمیزی شده با همتوکسیلین بود.

بحث

برای اینکه نرم افزار ASMA بتواند حدود اسپرم را شناسایی کرده و سپس ابعاد آن را محاسبه کند، بایستی از روش رنگ آمیزی مناسبی استفاده کرد. رنگ آمیزی اسپرم باعث ایجاد کنتراست کافی آن با زمینه لام شده و شناسایی آن را امکان پذیر می سازد. روش های رنگ آمیزی مختلفی برای مورفومتری کامپیوتری اسپرم استفاده شده اند Diff-Quick و هماتوکسیلین در انسان و حیوانات مختلف نتایج مناسبی را برای مورفومتری توسط ASMA نشان داده است (۵و۸). در مطالعه حاضر دقت ASMA برای تشخیص درست اسپرم ها در هر دو روش رنگ آمیزی مطلوب بود. میزان خطای رقومی کردن (درست تشخیص دادن حدود اسپرم توسط سیستم) در هر دو روش رنگ آمیزی کمتر از ۱۰٪ بود. نتایج این تحقیق نشان می دهد ارزیابی اسپرم گاو میش توسط CASA به طور معنی داری تحت تاثیر نوع رنگ آمیزی قرار دارد. ابعاد سر اسپرم در موارد رنگ آمیزی شده با Diff-Quick بطور معنی داری بزرگتر از اسپرم های رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین بود. Hidalgo و همکاران (۲۰۰۶) نیز در مطالعه ای بر روی مورفومتری اسپرم بز نتایج مشابهی را گزارش کردند. در این تحقیق که از سه روش رنگ آمیزی استفاده شده بود، اثر نوع رنگ آمیزی بر روی ابعاد اسپرم معنی دار بود و در اسپرم های رنگ آمیزی شده با Diff-Quick بزرگتر از هماتوکسیلین و هماکلر بود. در مطالعه انجام گرفته توسط Hidalgo و همکاران (۲۰۰۵) در اسب نیز اسپرم های رنگ آمیزی شده با Diff-Quick ابعاد بزرگ تری نسبت به اسپرم های رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین و هماکلر داشتند. Soler و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه ای بر روی اسپرم های جمع آوری شده از اپیدیدیم گوزن قرمز اثر سه نوع رنگ آمیزی را بر روی مورفومتری اسپرم توسط سیستم آنالیز کامپیوتری ارزیابی کردند. ابعاد سر اسپرم های رنگ آمیزی شده با Diff-Quick بطور معنی داری کوچکتر از موارد رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین بود، هر چند مقدار این اختلاف زیاد نبود. علت این نتایج متفاوت علاوه بر اختلاف گونه ای، می تواند ناشی از انجماد نیز باشد. (۳) متفاوت بودن ابعاد سر اسپرم های رنگ آمیزی با روش های مختلف می تواند ناشی از تفاوت در روش های فیکس کردن و نیز یکسان نبودن چگونگی تاثیر رنگ های مختلف بر روی اسپرم باشد. خشک کردن و فیکس کردن به عنوان عوامل موثر بر ابعاد سر اسپرم شناخته شده اند (۷). کاهش حدود ۱۵٪ در ابعاد طول و عرض اسپرم در انسان (۶) و کاهش ۲۰ درصدی طول و ۱۳ درصدی عرض اسپرم در نریان (۱) گزارش شده است. بطور کلی بر اساس نتایج این تحقیق هماتوکسیلین و Diff-Quick روش های رنگ آمیزی مناسبی برای مورفومتری اسپرم گاو میش توسط CASA می باشند و نوع روش رنگ آمیزی تاثیر معنی داری در مورفومتری اسپرم دارد.



جدول ۱- مراحل رنگ آمیزی با دیفکوییک و هماتوکسیلین

زمان	محلول	مرحله	روش رنگ آمیزی
۲۵ ثانیه	محلول تثبیت کننده	۱	Diff-Quick
۱۰ دقیقه	خشک کردن در معرض هوا	۲	
۳۰ ثانیه	محلول A	۳	
۳۵ ثانیه	محلول B	۴	
۱۵ بار	شستشو در آب مقطر	۵	
۷ دقیقه	تثبیت در الکل اتیلیک ۶۰٪	۱	Haematoxylin
۴۰ ثانیه	محلول هماتوکسیلین	۲	
۱۰ ثانیه	شستشو در آب	۳	

جدول ۲- تجزیه واریانس پارامترهای مختلف محاسبه شده توسط سیستم CASA در منی کاومیش رنگ آمیزی شده با دو نوع روش رنگ آمیزی.

میانگین مربعات پارامترهای مختلف سر اسپرم					درجه آزادی	منبع تغییرات
کشیدگی سر	بیضوی بودن سر	عرض سر	طول سر	عدم تقارن		
۰/۰۲۹۰۴۹۰۱**	۰/۹۸۷۲۲۲۲**	۰/۰۵۸۷۴۱۹۵**	۰/۲۸۳۲۲۴۳۷**	۰/۰۰۰۰۲۳۹۲**	۲	گاومیش
۰/۰۰۰۵۳۰۲۹ ^{ns}	۵/۶۸۸۸۸۸۹*	۰/۵۰۳۳۳۸۸۹**	۱/۰۴۰۲۱۰۸۰**	۰/۰۰۰۰۰۹۱۰**	۱	روش رنگ آمیزی

ns غیر معنی دار؛ * معنی دار در سطح احتمال $p < 0.05$ ؛ ** معنی دار در سطح احتمال $p < 0.01$

جدول ۳- میانگین (± اشتباه معیار) ابعاد سر اسپرم های ارزیابی شده توسط سیستم CASA با استفاده از دو روش رنگ آمیزی دیفکوییک و هماتوکسیلین

متغیر های سر اسپرم					روش رنگ آمیزی
کشیدگی سر (Rel. Unit)	* بیضوی بودن (Rel. Unit)	* عرض سر (μm)	* طول سر (μm)	* عدم تقارن (Rel. Unit)	
۱/۶۱۶۱±۰/۰۴۳۵	۰/۹۹۵۹±۰/۰۰۰۶	۴/۸۲۶۹±۰/۰۶۷۷	۷/۹۷۲±۰/۱۴۱۹	۰/۰۲۸۴±۰/۰۰۱۷	دیفکوییک
۱/۶۲۳۳±۰/۰۳۷۰	۰/۹۹۵۷±۰/۰۰۰۴	۴/۴۵۴۰±۰/۰۴۶۸	۷/۴۱۳۹±۰/۱۱۶۸	۰/۰۲۶۶±۰/۰۰۱۱	هماتوکسیلین

* در هر ستون اختلاف بین میانگین ها معنی دار می باشد ($P < 0.05$).

- 1-Ball B.A. and Mohammed H.O. (1995). Morphometry of stallion spermatozoa by computer-assisted image analysis. *Theriogenology*; 44: 367-377.
- 2-Cooper TG, Atkinson AD, Nieschlag E.(1999) Experience with external quality control in spermatology. *Human Reproduction*; 14:765-9.
- 3- Gravance C.G., Casey M.E., Casey p.j.(2009) Pre-freeze bull sperm head morphometry related to post-thaw fertility. *Animal Reproduction Science* 114: 81-88.
- 4-Hidalgo M, Rodríguez I, Dorado J, Soler C. Effect of sample size and staining methods on stallion sperm morphometry by the Sperm Class Analyzer. *Veterinary Medicine-Czech* 2005;50:24-32.
- 5-Hidalgo M, Rodriguez I, and Dorado J.(2006). Influence of staining and sampling procedures on goat sperm morphometry using the Sperm Class Analyzer. *Theriogenology*; 66: 996-1003.
- 6-Katz D.F., Overstreet J.W., Samuels S. J., Niswander P.W., Bloom T.D. and Lewis E.L.(1986). Morphometric analysis of spermatozoa in the assessment of human male fertility. *Journal Andrology*, 7: 203-210.
- 7-Sancho M, Perez-Sanchez F, Tablado L, de Monserrat JJ, Soler C.(1998) Computer-assisted morphometric analysis of ram sperm heads: evaluation of different fixative techniques. *Theriogenology*; 50: 27-37.
- 8-Soler C., Gadea B., Soler A.J., Fernández-Santos M.R., Estes M.C., Núñez J., Moreira P.N., Núñez M., Gutiérrez R., Sancho M., Garde J.J (2005) Comparison of three different staining methods for the assessment of epididymal red deer sperm morphometry by computerized analysis with ISAS[®] *Theriogenology*; 64: 1236-1243.

Influence of staining procedure on Iran buffalo sperm morphometry using the CASA system

Sahar Babayi^{1*}, Farhad Farrokhi Ardabili², Iraj Bernosy², Vahid Shafipor³

1 Urmia University MSC student of animal physiology

2 Urmia University Members Of Scientific boards

3 Buffalo breeding center authorities of urmia

*Sahar Babayi: babayisahar50@yahoo.com

Abstract

Computer-assisted sperm morphometry analysis has improved the assessment of sperm morphology, but the results depend on the use of staining procedures of spermatozoa from individual species. The aim of this study was to evaluate the effect of staining method on sperm head morphometry in buffalo semen using a computer assisted sperm analyzer (CASA). Semen samples were collected from three fertile buffaloes in order to evaluate the influence of two staining procedures (Diff-Quik and Haematoxylin) on the sperm head morphometry. An aliquot of semen diluted with PBS and used for preparation of slides. The slides were stained using Diff-Quik or Haematoxylin. One hundred spermatozoa per sample and stain were captured at random



and analyzed using CASA. Sperm morphometric values were significantly affected by the staining technique used. In sperm stained with Diff-Quik the head length and width ($7.97\mu\text{m}$ and $4.63\mu\text{m}$ respectively) were significantly higher than sperms stained with Haematoxylin ($7.41\mu\text{m}$ and $4.45\mu\text{m}$ respectively) ($p < 0.05$). In conclusion sperm head dimension in bull buffalo were affected by staining methods.

Key words: Sperm morphometry- Stain technique-Buffalo- CASA

تأثیر تغذیه سطوح مختلف تفاله چغندر قند بر فراسنجه‌های خونی بره‌های نر پرواری نژاد مغانی

سید علی بطحایی^{۱*}، یوسف جعفری آهنگری^۲، حسن یکتا^۱

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

* نویسنده مسئول: سید علی بطحایی. Email. ali.bathaei@yahoo.com.

چکیده

به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف تفاله چغندر قند بر فراسنجه‌های خونی بره‌های پرواری نژاد مغانی آزمایشی با ۳۰ رأس بره نر در قالب مشاهدات تکرار در زمان با ۵ تیمار و ۶ تکرار انجام شد. طول دوره آزمایش ۷۵ روز بود و به علاوه ۲ هفته دوره عادت‌پذیری نیز در نظر گرفته شد. بره‌ها به ۵ گروه (تیمار) تقسیم شده و در باکس‌های انفرادی قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی به ترتیب شامل: ۱) جیره بدون تفاله چغندر قند (جیره شاهد) ۲) جیره حاوی ۵ درصد تفاله چغندر قند ۳) جیره حاوی ۱۰ درصد تفاله چغندر قند ۴) جیره حاوی ۱۵ درصد تفاله چغندر قند ۵) جیره حاوی ۲۰ درصد تفاله چغندر قند بودند. خونگیری از بره‌ها در پایان آزمایش انجام شد. افزایش سطح تفاله چغندر قند به صورت خطی سبب افزایش سطح گلوکز سرم خون گردید که البته این اعداد از نظر آماری معنی‌دار نبودند ($p < 0.05$). اگرچه سطح اوره خون نیز در تیمارهای دارای سطوح پایین تر تفاله چغندر قند بیشتر از تیمارهای با سطوح بالاتر چغندر قند بود ولی این سطوح در دامنه طبیعی بوده و اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نگردید ($p < 0.05$). بنابراین تغذیه سطوح مختلف چغندر قند اثر نامطلوبی بر فراسنجه‌های خونی شامل گلوکز و اوره ندارد و از سوی دیگر می‌تواند ازت بیشتری را برای دام فراهم نماید.

واژه‌های کلیدی: تفاله چغندر قند- بره مغانی- فراسنجه‌های خونی - پرواری

مقدمه

چغندر به طور بومی در ناحیه مدیترانه و شرق اروپا وجود داشته و در حال حاضر در بیشتر نقاط دنیا کشت می‌شود. سالانه چندین هکتار از اراضی کشاورزی کشور زیر کشت چغندر قند است. از زمان‌های قدیم از ریشه‌های این گیاه برای موارد پزشکی خصوصاً برای درمان اختلالات کبدی و سم زدایی استفاده شده است. از جمله خواص درمانی چغندر، خاصیت ضد سرطانی آن است. تفاله چغندر قند به علت داشتن مواد قندی، مواد پروتئینی و اسیدهای آمینه، ترکیبات آلی مختلف، الیاف، سلولز، همی سلولز و مواد معدنی مانند سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و مواد دیگر از ارزش تغذیه‌ای مناسب برای دام‌ها برخوردار است. یکی از علل مهم پرارزش بودن تفاله در تغذیه دام، افزایش خوش خوراکی جیره که در نتیجه آن افزایش مصرف خوراک و به دنبال آن ازدیاد بدون وقفه و مداوم وزن دام می‌باشد. میزان رطوبت آن ۸۰ تا ۸۵ درصد و پروتئین خام آن ۱۰ درصد ماده خشک و از نظر فسفر فقیر است. انرژی قابل سوخت و ساز آن برای نشخوارکنندگان ۳۶،۲ مگا کالری در کیلوگرم می‌باشد. این ماده به طور گسترده در تغذیه گاوهای شیری، گوشتی و پرواری و گوسفندان پرواری استفاده می‌گردد، ولی برای تغذیه طیور مناسب نیست. با توجه به مصرف بالای آن در تغذیه دام تاکنون تحقیقات زیادی بر روی این ماده انجام شده و در این تحقیق سعی بر شناخت اثر افزایش سطوح تفاله چغندر قند در جیره بر فراسنجه‌های خونی می‌باشد.

مواد و روش‌ها



آزمایشی به مدت ۱۱ هفته با استفاده از ۳۰ رأس بره نر مغانی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۶ تکرار انجام شد. بره‌ها طی یک دوره ۱۴ روزه تحت برنامه عادت‌پذیری با شرایط آزمایش مورد نظر قرار گرفتند. در این دوره بره‌ها مورد معاینات دامپزشکی قرار گرفتند تا از سلامت آن‌ها اطمینان حاصل شود. به بره‌های انتخاب شده داروهای ضدانگل خوراندند. ترکیب شیمیایی کلیه نمونه‌ها براساس روش‌های استاندارد تعیین گردید (AOAC 2000). بره‌ها به پنج گروه شش رأسی تقسیم شده و به‌طور تصادفی در باکس‌های انفرادی قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) جیره شاهد (۲) جیره حاوی ۵ درصد تفاله چغندر قند (۳) جیره حاوی ۱۰ درصد تفاله چغندر قند (۴) جیره حاوی ۱۵ درصد تفاله چغندر قند (۵) جیره حاوی ۲۰ درصد تفاله چغندر قند بودند. در طول آزمایش کلیه دام‌ها در ۲ نوبت تا حد اشتها تغذیه شدند. در پایان آزمایش در هر تیمار از ۵ بره عمل خونگیری انجام گرفت. خونگیری از ورید چپ گردن بره‌ها با استفاده از لوله‌های ونوجکت هپارینه با ظرفیت ۱۰ میلی لیتر و یک روز قبل از کشتار انجام شد. سرم خون پس از جدا سازی به‌منظور ارزیابی فراسنجه‌های خونی به آزمایشگاه منتقل گردید. اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی که شامل غلظت گلوکز سرم و غلظت اوره سرم بودند با استفاده از کیت آنزیمی و دستگاه اتوآنالایزر^{۴۲} انجام شد. آنالیز داده‌های آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS (2001) و با رویه GLM صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

اثر تفاله چغندر قند بر فراسنجه‌های خونی

- گلوکز خون: افزایش سطح تفاله چغندر قند سبب افزایش سطح گلوکز سرم خون گردید که البته این اعداد از نظر آماری معنی‌دار نبودند ($p < 0.05$) (جدول ۱). که با نتایج (۵) مطابقت داشت.

در یک بررسی میزان طبیعی سطح گلوکز خون در گوسفند را ۵۰ تا ۸۰ میلی گرم در دسی لیتر گزارش شده است (۳).
- ازت اوره‌ای خون^{۴۳}: افزایش سطوح تفاله چغندر قند سبب کاهش ازت اوره‌ای خون نسبت به جیره شاهد در بره‌های پرواری گردید که تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نگردید ($p < 0.05$). و سطح اوره خون در همه تیمارها در دامنه طبیعی قرار داشت (جدول ۱). در یک آزمایش اوره و بیورت را به‌عنوان مکمل در جیره بره‌ها استفاده شد (۴). آن‌ها مشاهده کردند که ازت اوره‌ای سرم در خون بره‌های استفاده کننده از مکمل بیشتر بود. نتایج این آزمایش با گزارشات (۵) نیز مطابقت داشت.

جدول ۱- فراسنجه‌های خونی مربوط به تیمارهای مختلف

تیمار آزمایشی*					
فراسنجه خونی	۱	۲	۳	۴	۵
گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر)	۵۱,۸۸۷±۲/۴	۵۲,۰۰۵±۲/۵	۵۳,۱۴±۲/۵	۵۵,۰۹۲±۲/۶	۵۸,۹۹۲±۲/۶
اوره (میلی گرم بر دسی لیتر)	۲۱,۹۴±۰/۷	۲۱,۷۵±۰/۸	۲۱,۳۰۲±۰/۸	۲۰,۴۸۲±۰/۹	۱۹,۹۸۵±۰/۹

⁴². Auto-analyser

⁴³. Blood Urea Nitrogen (BUN)

(۱*) تیمار حاوی ۰ درصد تفاله چغندر
(۲) تیمار حاوی ۵ درصد تفاله چغندر
(۳) تیمار حاوی ۱۰ درصد تفاله چغندر
(۴) تیمار حاوی ۱۵ درصد تفاله چغندر
(۵) تیمار حاوی ۲۰ درصد تفاله چغندر

نتیجه گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که تفاله چغندر قند را می توان تا سطح ۱۵ درصد بدون تاثیر منفی بر فراسنجه های خونی و سلامت عمومی دام، در جیره بره های پرواری استفاده نمود. و از سوی دیگر با افزایش سطح تفاله چغندر قند میزان گلوکز سرم خون افزایش و با کاهش سطوح تفاله میزان اوره سرم خون افزایش یافت.

منابع

- ۱- بی نام، ۱۳۸۷. آمار کشت چغندر قند. انجمن صنفی کارخانجات قند کشور
- ۲-Engling; F.P and K Rohr.1989-feeding ensiled sugar beet leaves to dairy cows.CAB:Nutrition Abs and Reviews 38:4,338-348.36 Ref.
- ۳-Kaneko JJ (1989) clinical Biochemistry of Domestic Animals, 4th Edition, Academic Press, New York.
- ۴- Sinclair^b, A.J., . Leury, B.J . 2005. Feed intake, growth, plasma glucose and urea nitrogen concentration, and carcass traits of lambs fed isoenergetic amounts of canola meal, soybean meal, and fish meal with forage based diet. Small Ruminant Research
- ۵-Ramin A.G. 2005. Correlations among serum glucose, beta-hydroxybutyrate and urea concentrations in non-pregnant ewes. Small Ruminant Research

Effects of fed different levels of beet pulp on blood parameters fattening Moghani male lambs

Sayyed Ali Bathaei^{۱*}, Yosef Jafari Ahangary^۲, Hassan Yekta^۱

1. Graduate student, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
2. Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

*Corresponding author: E-mail: ali.bathaei@yahoo.com

Abstract

In order to examine the effects of different levels of sugar beet pulp on lamb blood parameters .The breed fattened Moghani in experiment with 30 male lambs replication observations during treatment with 5 and 6 were replication . During the experimental period was 75 days and sleeping habits as well as 2-week period lamb into 5 groups (treatments) were divided in the boxes a solo. Treatments were as : 1) Without sugar beet pulp diet (control diet), 2) diet containing 5% sugar beet pulp, 3) diets containing 10% sugar beet pulp., 4) diets containing 15% sugar beet pulp. 5)Diets containing 20% sugar beet pulp were. Blood sampling were done at the end of the test. Increasing level of sugar beet pulp as a linear increase blood glucose levels this number was not statistically significant, meaning ($p < 0.05$). Although the blood urea level in the treatments with lower levels of sugar beet pulp. Most of the treatments with higher levels of sugar beet pulp but these levels were in normal range, there was no significant difference



between treatments ($p < 0.05$). So fed different levels of sugar beet pulp, blood parameters, including glucose and urea does not adversely affect and the more you can provide more Nitrogen for the animal.

Keyword: Sugar beet pulp - Moghani lamb - Blood parameters - Fattening

تعیین برخی عوامل موثر بر عملکرد تولیدمثل در یک گله گاو هلشتاین در استان البرز

داود سالاریه ۱، سعید خلیج زاده ۲، جعفر یدی ۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم دام و طیور گرایش فیزیولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی ساوه

۲- عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی ساوه

۳- عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی ساوه

نویسنده مسئول: داود سالاریه (Davood.Salariye@gmail.com)

چکیده

برای تعیین عملکرد تولیدمثل در گاوهای شیری در یک واحد گاوداری در استان البرز معیاری مانند صفات تولیدمثلی اعم از روزهای باز، فاصله گوساله‌زایی، تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی در نظر گرفته شد، و فاکتورهای مؤثر روی این صفات شامل، فصل و سال، میزان تولیدشیر، سن گاو، وضعیت زایش دوره شیردهی مورد توجه قرار گرفت، ۱۶۳۴۸ داده از سال ۱۳۶۷ الی ۱۳۸۸ در این تحقیق استفاده شد، که فصل و سال زایش دوره شیردهی، وضعیت زایش، میزان شیرتولیدی اثر معنی‌داری بر صفات تولیدمثل داشت ($p < 0/05$). عملکرد تولیدمثل در زمستان نسبت به سایر فصول بخصوص تابستان به طور معنی‌داری پائین بود. دوره شیردهی اول و ششم به طور معنی‌داری افت عملکرد تولیدمثلی را نشان داد ($p < 0/05$).
واژه‌های کلیدی: گاو هلشتاین - عملکرد تولیدمثل - استان البرز.

مقدمه

شناخت و تعیین اثر عوامل مختلف مؤثر بر تولید مثل در گاوداریها برای افزایش بازدهی آن در حال حاضر از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد (۱). به تعویق افتادن آبستنی در دوره پس از زایش به ازای هر روز تأخیر در آغاز آبستنی بعدی ۲ تا ۳ دلار ضرر اقتصادی بر گله وارد می‌کند (۳). عملکرد تولیدمثل در گاوهای شیری همسطح با عملکرد تولیدشیر از نظر اقتصادی دارای ارزش است در گذشته بهبود وضعیت گله براساس افزایش تولید شیر صورت گرفته است که تحقیقات کنونی نشان داد کاهش عملکرد تولیدمثل در گله‌های پرتولید را در پی دارد (۱). صفات تولید مثلی از قبیل فاصله گوساله‌زایی، تعداد روزهای باز و روزهای خشکی معیارهای مناسبی برای ارزیابی عملکرد تولید مثل می‌باشند و از عوامل مؤثر بر این صفات می‌توان به سال و فصل زایش، میزان تولید شیر ۳۰۵ روز، درصد چربی شیر، میزان چربی تولیدی، دوره‌های شیردهی و سن زایش را نام برد. در گاوهای پرتولید پس از زایش معمولاً بدلیل عدم تأمین احتیاجات دام از مواد خوراکی دچار توازن منفی انرژی می‌شود. بر اثر کمبود شدید انرژی آزاد شدن پالسی هورمون لوتیوتروپیک متوقف می‌شود. تنش حرارتی سبب کاهش مصرف ماده خشک مصرفی می‌شود و توازن منفی انرژی را افزایش می‌دهد، وجود گلوکز پایین در خون افت غلظت انسولین و در نتیجه کاهش رشد و توسعه فولیکول می‌شود (۵). شناخت و تعیین اثر عوامل مختلف مؤثر بر عملکرد تولیدمثل در گاوداریها برای افزایش عملکرد تولید مثل در حال حاضر از اهمیت خاصی برخوردار است لذا باتوجه به اهمیت بالای تولید مثل و بازدهی آن باید اذعان نمود که هرچه بازدهی تولید مثل بالاتر باشد، قطعاً تعداد گوساله‌های متولد شده بیشتر، و سوددهی نیز به تبع آن افزایش خواهد یافت. این تحقیق به بررسی عوامل مؤثر بر صفات تولید مثل در یکی از گاوداری‌های استان البرز پرداخته است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق از یک واحد گاوداری در استان البرز که ۸۰۰۰ رأس دام در زمان انجام تحقیق در گاوداری موجود بوده است صورت گرفت. اطلاعات مورد استفاده مربوط به سالهای ۱۳۶۷ تا ۱۳۸۸ می‌باشند. تعداد داده‌های مورد استفاده در این تحقیق پس از ویرایش ۱۶۳۴۸ داده بود که آنالیز داده‌های مورد استفاده توسط نرم افزار آماری SPSS و رویه GLM صورت گرفت.

به منظور تجزیه و تحلیل صفات، مدلی به شرح ذیل مورد استفاده قرار گرفت:

$$Y_{ijklmnopqrst} = \mu + CY_i + CM_j + BY_k + LACT_l + AG_m + PLA_n + DYS_o + BT_p + ABO_q + MR_r + DI_s + CYM_{ij} + LA_{lm} + e_{ijklmnopqrst}$$

اجرای مدل به شرح ذیل است:

$$Y_{ijklmnopqrst} = \text{مشاهدات مربوط به متغیرهای مورد بررسی (تعداد روزهای باز، فاصله گوساله‌زایی و)}$$

$$\mu = \text{میانگین مشاهدات برای هر صفت}$$

$$CY_i = \text{اثر } i \text{ مین سال زایش (۱۷ گروه - از سال ۷۱ تا ۸۷)}$$

$$CM_j = \text{اثر } j \text{ امین ماه زایش (۱۲ گروه - از فرودین تا اسفند)}$$

$$BY_k = \text{اثر } k \text{ امین سال تولد (۲۱ گروه - از سال ۶۵ تا ۸۵)}$$

$$LACT_l = \text{اثر } l \text{ امین دوره شیردهی (۱۰ گروه - شکم یک تا شکم دهم)}$$

$$AG_m = \text{اثر } m \text{ امین سن دام هنگام زایش بر حسب ماه (۱۲۷ گروه - ۲۳ ماه تا ۱۵۰ ماه)}$$

$$PLA_n = \text{اثر جفت ماندگی (۲ گروه)}$$

$$DYS_o = \text{اثر سخت زایی (۲ گروه)}$$

$$BT_p = \text{اثر تیپ تولد (۲ گروه - تک یا دوقلو)}$$

$$ABO_q = \text{اثر سقط (۲ گروه)}$$

$$MR_r = \text{اثر } r \text{ امین کد تولید شیر خام (۹ گروه از کمترین تا بیشترین تولید)}$$

$$DI_s = \text{اثر } s \text{ امین کد تعداد روز شیردهی (۱۶ گروه - از ۱۲۰ روز تا بیش از ۵۷۰ روز)}$$

$$CYM_{ij} = \text{اثر متقابل سال و ماه زایش}$$

$$LA_{lm} = \text{اثر متقابل سن زایش و دوره شیردهی}$$

$$e_{ijklmnopqrst} = \text{اثر باقیمانده یا خطای آزمایش}$$

به منظور تجزیه و تحلیل صفات از رویه GLM نرم افزار آماری SPSS استفاده شد. سطح معنی‌دار آزمون ۵ درصد در نظر گرفته شد و برای مقایسه میانگین گروه‌ها از روش دانکن استفاده شد. همچنین به منظور تجزیه و تحلیل صفت تعداد روز خشکی و تعداد روز آبستنی اثر تعداد روزهای باز نیز به عنوان یک اثر به مدل اضافه گردید (۱۵ گروه - از دامنه ۳۰-۶۰ تا بیش از ۵۱۰ روز).

نتایج و بحث

فصل زایش روی عملکرد تولیدمثلی اثر معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). عملکرد تولیدمثلی (فاصله گوساله‌زایی، روزهای باز و تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی) در فصل تابستان نسبت به فصل زمستان بهتر بود (جدول ۱) که با یافته‌های Silva و همکاران (۱۹۹۲)، همخوانی نداشت. Silva و همکاران (۱۹۹۲) یکی از علت‌های کاهش عملکرد تولیدمثلی در فصل تابستان را افزایش دمای

محیطی در این فصل بیان کردند. سال زایش بر روی عملکرد تولیدمثل اثر معنی داری داشت. با گذشت زمان به تدریج تعداد روزهای باز، فاصله گوساله زایی و تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی افزایش می یابد. برطبق آمار مرکز اصلاح نژاد کشور میانگین فاصله گوساله زایی کشور در سال ۱۳۸۱ (۲۱/۴۲) روز و روزهای باز (۲۱/۱۵۰) عنوان شده که باتوجه به فاصله گوساله زایی استان (۳۴/۴۰۷) و روزهای باز (۴۸/۱۲۲) از میانگین کشوری بهتر بوده ولی با اهداف جهانی یعنی فاصله گوساله زایی ۳۶۵ روز و روزهای باز ۸۵ روز فاصله زیادی داریم (۲). با افزایش تولید شیر عملکرد صفات تولید مثلی کاهش می یابند که دلیل آن می تواند افزایش گرمای متابولیکی باشد که بر روی تعادل گرمایی گاوها با تولید بالا و در نتیجه کاهش مصرف خوراک و کاهش گلوکز و انسولین خون و در نتیجه روی رشد فولیکول ها تأثیر دارد. گاوهای پیرتر نیاز کمتری به تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی دارند، با افزایش سن دامها عملکرد تولیدمثلی کاهش یافت. لوسی و همکاران (۱۹۹۵) عنوان کردند که فاصله زایش تا برگشت کامل رحم به حالت طبیعی در گاوهای جوان نسبت به گاوهای پیرتر کوتاهتر می باشد که به تبع بر روی عملکرد تولیدمثل اثر می گذارد. در دوره زایش اول بدلیل تنش رشد و نیز در بیشتر مواقع بروز سخت زائی ها سبب می گردد که عملکرد تولیدمثلی در این دوره با افت مواجه شود. و دوره زایش ششم، می تواند به افزایش تولیدشیر و نیز مشکلات پس از زایمان در اندام تناسلی دام ماده اشاره نمود. تعداد روزهای باز در گاوهایی که در هنگام زایش دچار مشکل بودند نسبت به گاوهایی که زایش طبیعی داشتند ۱۲ روز بیشتر بود. شرایط مطلوب آب و هوایی در منطقه کرج و نیز دسترسی به علوفه و مواد غذایی مناسب به عنوان عوامل تأثیرگذار می تواند مطرح شود. در این تحقیق گاوها از لحاظ مقدار شیرتولیدی به ۹ دسته تقسیم شدند؛ ۰-۳۰۰۰ کیلوگرم، ۳۰۰۰ تا

۶۰۰۰ کیلوگرم، ۶۰۰۰-۹۰۰۰ کیلوگرم، ۹۰۰۰-۱۲۰۰۰ کیلوگرم، ۱۲۰۰۰-۱۵۰۰۰ کیلوگرم، ۱۵۰۰۰-۱۸۰۰۰ کیلوگرم، ۱۸۰۰۰-۲۱۰۰۰ کیلوگرم، ۲۱۰۰۰-۲۴۰۰۰ کیلوگرم و ۲۴۰۰۰-۲۷۰۰۰ کیلوگرم. فاصله گوساله زایی با افزایش تولیدشیر، افزایش یافته است و روزهای باز و تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی نیز از چنین روندی برخوردار بوده است، که با خدایی و همکاران (۱۳۸۳) همخوانی داشت. تحقیقات گزارش کرده اند که بین تولیدشیر و عملکرد تولیدمثل ارتباط منفی وجود دارد (هیلرز و همکاران، ۱۹۸۴). افزایش تولیدشیر با افزایش تولید گرمای متابولیکی ارتباط دارد که ممکن است روی تعادل گرمایی گاوهای با تولیدشیر بالاتر اثر بگذارد. تعادل منفی انرژی بعد از زایمان در گاوهایی که دارای تولیدشیر بالایی هستند، سبب افت عملکرد تولیدمثل می شود. میانگین فاصله گوساله زایی، روزهای باز و تعداد روزهای اولین تلقیح بعد از زایش در فصول مختلف در جدول ۱ آورده شده است. بطور خلاصه نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که گاوهای شیری در فصل تابستان عملکرد تولیدمثلی بهتری نسبت به فصل زمستان دارند. همچنین رابطه بین عملکرد تولیدمثل و میزان تولیدشیر منفی بود.

جدول ۱- تغییرات صفات تولید مثلی بر اساس ماه زایش

ماه زایش	روزهای باز	فاصله زایش	اولین تلقیح بعد از زایش
فروردین	$156^{d} \pm 98$	$434^{d} \pm 96$	$73^{de} \pm 32$
اردیبهشت	$154^{cd} \pm 96$	$433^{cd} \pm 97$	$75^{e} \pm 39$
خرداد	$152^{bc} \pm 92$	$429^{bc} \pm 93$	$70^{bcd} \pm 33$
تیر	$142^{a} \pm 86$	$419^{a} \pm 86$	$72^{cde} \pm 35$
مرداد	$142^{a} \pm 91$	$421^{a} \pm 91$	$67^{a} \pm 31$

شهریور	$139^{a \pm 9.0}$	$419^{a \pm 8.9}$	$68^{ab \pm 3.2}$
مهر	$141^{a \pm 9.3}$	$421^{a \pm 9.3}$	$69^{abc \pm 3.3}$
آبان	$140^{a \pm 9.4}$	$420^{a \pm 9.5}$	$70^{bcd \pm 3.4}$
آذر	$149^{b \pm 10.0}$	$428^{b \pm 9.8}$	$72^{cde \pm 3.2}$
دی	$154^{cd \pm 10.7}$	$432^{cd \pm 10.4}$	$73^{de \pm 3.4}$
بهمن	$155^{cd \pm 10.3}$	$433^{cd \pm 10.1}$	$75^{e \pm 3.4}$
اسفند	$161^{e \pm 10.6}$	$440^{e \pm 10.4}$	$72^{de \pm 3.3}$

نتیجه گیری

با افزایش دوره های شیردهی در استان البرز صفات تولید مثلی روزهای باز، روزهای خشکی و فاصله گوساله زایی روند صعودی را نشان داد. و فاکتورهای تولید مثلی تحت تأثیر میزان تولید شیر ۳۰۵ روز دوبار دوشش، درصد چربی، میزان چربی تولیدی، دوره شیردهی، گله، فصل و سال زایش می باشند.

منابع

- ۱- خدایی مطلق، م.، ز. روحانی، ۱. زارع شحنه، م. مرادی شهر بابک. (۱۳۸۶). تعیین برخی عوامل مؤثر بر عملکرد تولید مثل در گاو داری کشت و صنعت شریف آباد قزوین و شرکت دام و شیر بنیاد جانبازان. دومین کنگره علوم دام و آبزیان کشور، جلد دوم، ص ۱۵۰۶.
- ۲- داروساز تبریزی، ۱.، مسافری، ص. نوروژی، ه. سید مقفی، س. س. (۱۳۸۶) بررسی بعضی از شاخص های تولید مثلی گاو داریهای شیری اطراف شهرستان تبریز. دومین کنگره علوم دام و آبزیان کشور. جلد دوم. ص ۱۵۰۹.
- ۳- ضمیری، م.ج. (۱۳۸۳). سازه های مؤثر بر بروز رفتار فحلی در گاو. اولین کنگره علوم دامی و آبزیان کشور. جلد دوم. ص ۸۵۷.

4- Miller, P., L. D. Van Vleck, and C. R. Henderson. 1967. Relationships Among Herd Life, Milk Production, and Calving Interval. J. Dairy Sci. vol. 50. no. 8: 1283-1287.

5- Sadek, M.H., and A.E. Freeman, 1992. Adjustment Factors for Previous and Present Days Open Considering All Lactations. J. Dairy Sci. 75: 279-287.

Study of some effective factors in reproductive performance in a commercial Holstein dairy herd in Alborz province

D.Salariye¹, S.Khalaj zade², G.Yadi³

1-Department of Animal Sciences, Islamic Azad University Saveh, Iran

2&3- Department of Animal Sciences, College of Agriculture, Islamic Azad University Saveh, Iran

Corresponding E-mail address: Davood.Salaryie@gmail.com



Abstract

his study was carried out to determine the reproductive performance (calving interval, days open, calving to first service interval, service per conception) of Iranian Holstein dairy cattle in Alborz province and some effective factors in those of 16348 reproductive trait record's of cows collected of year 1988 to 2009 .The effect of calving year and season ,lactation number and milk production on reproductive performance were significant($p<0.05$). reproductive performance decreased from lactation number ≥ 6 . reproductive performance in winter was significantly lower than other season, specially compared to summer.

Key word : Holstein cows - reproductive performance - Alborz province.

بررسی اثر سطوح مختلف نانوذرات نقره بر عملکرد و صفات لاشه در بلدرچین

ناکو رضائی^{۱*}، امجد فرزین پور^۲، اسعد وزیری^۲، فاطمه چوبداریان^۱

۱ - دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان

۲ - عضو هیأت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان

* نویسنده مسئول: ناکو رضائی، ako.rezaei@gmail.com

چکیده

علم نانو و نانوتکنولوژی با توسعه شتابنده‌ای در سطح دنیا رو به گسترش است. ذرات در حد نانو خصوصیات فیزیکوشیمیایی متفاوتی از ذرات با اندازه بزرگتر از خود نشان می‌دهند. نانوذرات نقره دارای خواص ضد میکروبی قوی بوده و امروزه به عنوان ضد عفونی کننده های قوی در سالن های پرورش طیور کاربرد فراوانی دارند. نانوذرات نقره با عبور از غشای بیولوژیکی سلول بر فیزیولوژی سلول اثر می گذارد. پس مطالعه حاضر عوارض جانبی سطوح ۰، ۴، ۸، ۱۲ ppm نانوذرات نقره را بر روی عملکرد و برخی صفات لاشه بلدرچین تا سن ۴۲ روزگی می باشد که در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل چهار تیمار و سه تکرار اجرا شد. مشاهدات با استفاده از نرم افزار SAS و به روش آنالیز واریانس GLM تجزیه و تحلیل آماری شد و مقایسه میانگین ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن انجام گرفت. نتایج حاصل نشان داد که در بین تیمارهای آزمایشی مصرف کننده نانوذرات نقره اثر معنی داری بر روی صفات عملکرد شامل: مصرف خوراک، افزایش وزن هفتگی و ضریب تبدیل غذایی وجود نداشت. مصرف نانوذرات نقره در تیمارهای آزمایشی ۸ ppm و ۴ باعث افزایش معنی دار ($P < 0.05$) وزن نسبی برخی صفات لاشه شامل کبد، کلیه و روده بزرگ نسبت به گروه شاهد شد و روی سایر صفات لاشه اثرات معنی داری گزارش نشد. واژگان کلیدی: نانوذرات نقره-بلدرچین-صفات لاشه-عملکرد

مقدمه

نانو مواد بصورت وسیعی در تکنولوژی امروزی مورد استفاده قرار میگیرند (۴). ذرات در حد نانو خصوصیات فیزیکوشیمیایی متفاوتی از ذرات با اندازه بزرگتر از خود نشان می‌دهند (۱۰). نانوذرات نقره معمولاً بیشترین استفاده را در بین نانو مواد دارند و سمیت مصرف این نانوذرات به عنوان یک نگرانی عمومی در سلامت مصرف کننده مورد توجه می باشد. نانوذرات نقره می‌توانند در دیواره سلول باکتری نفوذ کنند و دارای خواص ضد میکروبی قوی در برابر باکتری های گرم منفی و گرم مثبت بوده و امروزه به عنوان ضد عفونی کننده های قوی در سالن های پرورش طیور کاربرد فراوانی دارند. گزارشات متعددی بر روی مطالعه عوارض جانبی استفاده از نانو ذرات نقره انجام شده است. نانوذرات نقره با عبور از غشای بیولوژیکی سلول بر فیزیولوژی سلول از طریق پروتئین ها و مکانیسم پیام رسانی سلول اثر می گذارند (۹). دیگر مکانیسم اثر شناخته شده نانوذرات نقره بر روی غشاهای سلولی، میتوکندری و مواد ژنتیکی درون سلول است. مطالعات متعددی اثرات استفاده از نانوذرات نقره در سلول ها و بافت های پوست، کبد، ریه، مغز، سیستم قلبی-عروقی را گزارش نموده اند (۲). کبد و کلیه به عنوان بافت های هدف نانوذرات نقره در بدن محسوب

می‌گردند که در این بافت‌ها امکان ذخیره شدن را دارند (۷ و ۱). هدف از مطالعه حاضر بررسی عوارض جانبی نانوذرات نقره بر عملکرد و صفات لاشه در بلدرچین به عنوان یک مدل حیوانی بوده است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۶۰ قطعه بلدرچین از سن ۱ تا ۴۲ روزگی استفاده شد. جیره بر پایه ذرت و سویا مطابق احتیاجات مواد مغذی توصیه شده توسط NRC (1994) تنظیم گردید. تیمارهای آزمایشی شامل ۰، ۴، ۸، ۱۲ ppm نانوذرات نقره در آب آشامیدنی بود. صفات عملکردی شامل: مصرف خوراک، افزایش وزن هفتگی و ضریب تبدیل اندازه گیری شد. صفات اجزای لاشه شامل: درصد وزنی قلب، کبد، کلیه، طحال، پیش معده، سنگدان، دودنوم، ژوژنوم، ایلئوم و روده بزرگ بود. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل چهار تیمار و سه تکرار و هر تکرار شامل ۳۰ قطعه بلدرچین اجرا شد. نتایج حاصله با استفاده از نرم افزار SAS و به روش آنالیز واریانس GLM مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت. مدل آماری شامل: $Y_{ij} = \mu + \tau_j + e_{ij}$ که در این رابطه: Y_{ij} نشان دهنده هر مشاهده (داده)، μ میانگین جامعه، τ_j اثر هر تیمار و e_{ij} اثر اشتباه آزمایش است.

نتایج و بحث

میانگین و انحراف معیار افزایش مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی در پایان دوره آزمایش به ترتیب $88/94 \pm 36/43$ گرم، $28/41 \pm 13/52$ گرم و $3/225 \pm 0/357$ به دست آمد. با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS نتایج حاصله نشان داد که در بین تیمارهای مورد آزمایش اثرات معنی‌داری روی مصرف خوراک، وزن و ضریب تبدیل غذایی نسبت به گروه شاهد نداشتند، این نتایج با سایر گزارشات در دیگر مدل‌های حیوانی که بیشتر بر روی موش مطالعه شده است مطابقت دارد (۴ و ۱). با توجه به وزن نسبی اندام‌های مختلف پس از کشتار در ۴۲ روزگی، وزن نسبی اجزای لاشه شامل: کبد، کلیه و روده بزرگ در تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری ($P < 0/05$) را نشان دادند. سایر اندام‌های لاشه تیمارهای آزمایشی شامل: قلب، طحال، پیش معده، سنگدان، دودنوم، ژوژنوم و ایلئوم نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نداشتند. وزن نسبی بافت‌های کبد و کلیه در گروه‌های آزمایشی که نانوذرات نقره را دریافت نمودند نسبت به گروه شاهد افزایش داشت، که این افزایش وزن در تیمارهای ۸ و ۴ ppm به گروه شاهد معنی‌دار بود. وزن نسبی روده بزرگ بصورت معنی‌داری ($P < 0/05$) در تیمارهای ۸ و ۴ ppm بیشتر از گروه شاهد بود و در تیمار ۱۲ ppm بصورت غیر معنی‌دار نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد (جدول - ۱). بر اساس مطالعات قبلی اثرات پاتوژنیک این ذرات بر سلول‌های کبد، خون، کلیه و مغز گزارش شده است. نانوذرات نقره پس از مصرف در بافت‌های بدن به خصوص دستگاه گوارش، کبد و دیگر بافت‌ها پراکنده شده و اثرات سمی خود را بروز می‌دهند. با توجه به قابلیت نفوذپذیری نانوذرات نقره از دیواره مویرگی؛ کلیه و کبد توانایی پاکسازی خون از این ذرات را دارند (۹). موقعیت استراتژیک سلول‌های کوپفر در بین دیواره‌های سینوزوئیدی کبد آنها را قادر به اخذ این ذرات می‌نماید و شاید هریک از جمعیت سلول‌های کبدی (شامل: ماکروفاژها، هپاتوسیت‌ها، سلول‌های اندوتلیال و ...) در این سمیت شرکت داشته و باعث بالارفتن سمیت نانوذرات نقره در بافت کبدی شوند (۷). افزایش وزن در کلیه و کبد ممکن است به دلیل تجمع نانوذرات نقره به عنوان ماده‌ای سمی برای بدن پرنده و در نتیجه التهاب و اختلال در ساز و کار و به‌خصوص در روندهای مرتبط با ساخت و ذخیره مواد در کبد باشد یا اینکه نانوذرات نقره با افزایش آنزیم‌های کبدی و ایجاد ضایعات بر بافت کبد و سلول‌های کبدی روند آپوپتوز را تسریع نموده است (۵ و ۱). افزایش وزن نسبی روده بزرگ به عنوان بخشی از دستگاه گوارش ممکن است به دلیل تولید رادیکال-

های آزاد توسط این ذرات باشد که منجر به التهاب روده بزرگ و در نتیجه افزایش وزن نسبی آن باشد که با دیگر گزارشات در این زمینه که در انسان مطالعه شده است مطابقت دارد (۱۱). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که نانوذرات نقره به عنوان ماده-ای که در زمینه سمیت آن فرضیه‌های زیادی مطرح است، در سطوح ۱۲، ۸، ۴ ppm اضافه شده به آب آشامیدنی در بلدرچین‌های در حال رشد بر روی عملکرد اثر معنی‌داری نداشته ولی مصرف نانوذرات نقره در تیمارهای آزمایشی ۴ و ۸ باعث افزایش معنی‌دار وزن نسبی کبد، کلیه و روده بزرگ نسبت به گروه شاهد شد.

جدول-۱ سطوح مختلف نانوذرات نقره بر صفات لاشه بلدرچین

SEM	میانگین مربعات				صفات لاشه (درصد وزنی بدن)
	گروه C (۱۲ppm)	گروه B (۸ppm)	گروه A (۴ppm)	گروه شاهد (۰ppm)	
۰/۰۲۲	۰/۶۴۳	۰/۶۷۷	۰/۶۷۲	۰/۵۸۱	قلب
۰/۰۹۱	ab _{۲/۳۷۰}	a _{۲/۸۳۷}	a _{۲/۷۹۷}	b _{۲/۱۴۱}	کبد
۰/۰۰۳	۰/۰۳۰	۰/۰۴۵	۰/۰۴۸	۰/۰۴۸	طحال
۰/۰۲۶	ab _{۰/۳۳۶}	a _{۰/۴۷۷}	a _{۰/۴۲۰}	b _{۰/۲۷۰}	کلیه
۰/۰۵۲	۲/۲۰۴	۲/۰۹۳	۲/۰۹۸	۱/۹۳۸	سنگدان
۰/۰۱۳	۰/۳۵۳	۰/۳۸۳	۰/۴۰۵	۰/۳۰۸	پیش معده
۰/۰۷۹	۱/۰۹۲	۱/۲۰۲	۱/۳۰۸	۱/۰۳۰	دودنوم
۰/۰۷۶	۲/۱۵۱	۲/۳۰۶	۲/۲۰۲	۱/۷۹۵	ژوژنوم
۰/۰۲۹	۰/۳۶۷	۰/۳۷۳	۰/۳۲۷	۰/۲۳۱	ایلئوم
۰/۰۰۷	ab _{۰/۱۶۰}	a _{۰/۱۹۰}	b _{۰/۱۳۲}	b _{۰/۱۲۵}	روده بزرگ

*در هر ستون حروف غیر مشابه تفاوت معنی دار در بین گروه ها را نشان می دهد ($P < 0.05$).

منابع

۱. زرگران اصفهانی، ح. شریفی، د. برین، ع و افضل زاده، ا. ۱۳۸۹. اثر نانو ذرات نقره بر عملکرد و خصوصیات لاشه جوجه های گوشتی. مجله علوم دامی ایران. شماره ۲. (۱۳۷-۱۴۳)
2. Ahmed, M., M. Alsalihi and M. K. G. Siddiqui. 2010. Silver nanoparticle applications and human health. Clinica Chimica Acta. 411: 1841- 1848.
3. Hendi, A. 2010. Silver nanoparticles mediate differential responses in some of liver and kidney functions during skin wound healing. Journal of King Saud University. 23: 47- 52.
4. Hussain, S.M., K.L. Hess, J.M. Gearhart, K.T. Geiss, and J.J. Schlager. 2005. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. Toxicology in Vitro. 19: 975- 983.
5. Hyuck sung, J., J. Ho jh, J. Duck Park, J. Uk yoon, D. Sung kim, K. Soon jeon, M. Yong song, J. Jeong, B. Seok han, J. Hee han, Y. Hyun chang, J. Hyun lee, M. Haing chiao, B. J. Kelman and I. Je yu. 2009. Subchronic Inhalation Toxicity of Silver Nanoparticles. Toxicological Science. 108: 452- 461.
6. Ji, J. H., J. H. Gung, J. U. Yoon, J. D. Park, B. S. Choi, Y. H. Chung, I. H. Knon, HJ. Jeong, B. S. Han, J. H. Shin, G. H. Sung, K. S. Song and I. G. Yu. 2007. Twenty-eight-day inhalation toxicity
7. Johnston. J.H., G. Hutchion, F. M. Christensen, S. Peters, S. Hankinand and V. Stone. 2010. A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: Particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity. Critical Reviews in Toxicology. 40: 328- 346.
8. Kashmiri, L. A. 2011. Physio-phathological response in Japanese quails to blood collection via cardiac puncture. International Journal Poultry Science. 10: 440- 443.
9. Shirvastava, S., T. Bera, S. K. Singh, P. Ramachadrarao and D. Dash. 2009. Characterization of Antiplatelet Properties of Silver Nanoparticles. American Chemical Society. 3: 1357- 1364.
10. Wijnhowen, S. W. P., W. Peijnenburg, C. Herberts, W. Hagens, A. Oomen, E. Heugens, B. Roszek, J. Bisschops, I. Gosens, D. Vande meent, S. Dekkers, W. Dejong, M. Van zijverden, A. Sips and R. Geertsma. 2009. Nano silver-a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. Nanotoxicology. 3: 109- 138.
11. Zhong, W., Kolls. J. K, Chen. H, McAllister, F, Oliver. P. D and Zhang. Z. 2008. Chemokines orchestrate leukocyte trafficking in inflammatory bowel disease. Front Biosciences. 13: 1654-1664.

Effect of different levels of silver nanoparticles on the performance and carcass characteristics in quails

Alako rezaei *, amjad farzinpour, asad vaziry, fatemeh chobdarian
Department of animal science, faculty of agriculture, university of Kurdistan
* Corresponding E-mail address: ako.rezaei@gmail.com

Abstract:

Accelerating the development of nanoscience and nanotechnology in the world is growing. Physico chemical properties of nano-particles at different particle sizes are larger than shown. Antimicrobial properties of silver nanoparticle has been strong and powerful now as a disinfectant in Poultry Industry are used in abundance. Silver nanoparticles through biological cell membranes affects on cell physiology. The study of adverse 12, 8, 4, 0 ppm silver nanoparticles on the performance and some carcass traits are quail to 42 days. The experiment was factorial in a completely randomized design with three replications. The effect of the different silver nanoparticle level was determined using the General Linear Model (GLM) of SAS procedure, whilst differences between the groups were determined using Duncan test. Results indicated that silver nanoparticles at 4, 8 ppm levels caused significantly increased weight of Carcass characteristics including liver, kidney and large intestine than the control ($p < 0.05$), whilst silver nanoparticle had no significant effect on feed intake, body weight gain and feed conversion.

Keywords: Silver nanoparticles - quails - Carcass characteristics - performance

بررسی اثر تفاله لیموترش (*Citrus limon*) بر کیفیت گوشت مرغان وازده تخمگذار

عباس جاویدی فیروز*، دکتر یوسف جعفری آهنگری، دکتر نورمحمد تربتی نژاد، دکتر سید رضا هاشمی و مهندس حسین محب-الدینی

دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

* نویسنده مسئول: عباس جاویدی فیروز، abbasjavid@yahoo.com

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثر تفاله لیموترش بر کیفیت گوشت مرغان وازده تخمگذار به مدت ۴۰ روز صورت پذیرفت. در این آزمایش از ۸۰ قطعه مرغ تخمگذار وازده استفاده شد که بصورت تصادفی دسته‌بندی شده و در ۴ تیمار و ۵ تکرار قرار گرفتند که هر تکرار شامل ۴ قطعه مرغ تخمگذار بود. تیمارهای آزمایشی شامل جیره کنترل و ۳ سطح مختلف از تفاله لیموترش (۶، ۱۰ و ۱۴ درصد) بود. در پایان دوره آزمایش از هر تکرار تعداد ۲ عدد مرغ جهت کشتار به صورت تصادفی انتخاب و شاخص‌های کیفیت گوشت سینه شامل میزان مالون‌دی‌آلدهید، چربی، pH، ظرفیت نگهداری آب، رطوبت، آب خروجی، شاخص روشنایی، قرمزی و زردی گوشت مورد سنجش قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که استفاده از سطوح مختلف تفاله لیموترش در جیره مرغان وازده تخمگذار تأثیری بر شاخص‌های کیفیت گوشت سینه از قبیل میزان مالون‌دی‌آلدهید، رطوبت، میزان خروج آب و ظرفیت نگهداری آب نداشت ($P > 0.05$)، ولی مقدار چربی در گوشت سینه مرغانی که با سطوح مختلف تفاله لیموترش تغذیه شده بودند کاهش یافت ($P < 0.05$). استفاده از تفاله لیموترش به میزان ۶ و ۱۰ درصد باعث کاهش شاخص قرمزی (A) در گوشت سینه مرغان وازده تخمگذار شد ($P < 0.05$)، ولی تأثیر معنی‌داری بر شاخص زردی و روشنایی در گوشت سینه نداشت ($P > 0.05$). همچنین نتایج استفاده از تفاله لیموترش بر میزان pH گوشت سینه نشان داد که استفاده از تفاله لیموترش باعث افزایش معنی‌داری در میزان آن نسبت به گروه شاهد شد ($P < 0.05$).
واژه‌های کلیدی: تفاله لیموترش-کیفیت گوشت-مرغان وازده تخمگذار

مقدمه

یکی از راههای کاهش ضایعات مواد غذایی بازیافت مواد ناشی از کارخانجات صنایع غذایی می‌باشد. در ایران و دیگر کشورهای در حال توسعه، بخش عظیمی از مواد غذایی به دلایل گوناگونی از قبیل فرآیند نامناسب، ناکارآمدی سیستمهای حمل و نقل و عدم دانش کافی هدر می‌روند. بنابراین یافتن راهکارهای مناسب جهت ضایعات غذایی از یکطرف و افزایش راندمان فرآورده‌های غذایی از طرف دیگر بایستی به عنوان یک ضرورت در اولویت‌های پژوهشی منظور گردد. از طرفی در صنایع دامپروری به مرغان تخم‌گذاری که دیگر برای تولید تخم مرغ مفید نمی‌باشند مرغان وازده (*Spent hens*) گفته می‌شود. مرغان وازده به علت گوشت بی‌کیفیت برای تولید محصولات گوشتی بطور مستقیم مناسب نمی‌باشند و بیشتر پس از فرآوری به حالت تکه تکه و خرد شده برای فرآورده‌هایی مثل سوسیس، سوپ، کتلت و ... بکار می‌روند. بعلاوه فرآوری گوشت این مرغ‌ها به علت تخم‌گذاری زیاد و شکننده بودن استخوان آنان در طی حمل و نقل و همچنین مخلوط شدن تکه‌های کوچک استخوان در زمان فرآوری بسیار مشکل بوده، از اینرو بهبود دادن کیفیت گوشت مرغان وازده یکی از نگرانی‌های صنعت طیور و امری بسیار مهم جهت بازاریابی این محصولات می‌باشد. تفاله مرکبات یکی از فرآورده‌های فرعی کارخانجات تولید افشره مرکبات بوده که در مقیاس وسیعی در

غرب استان مازندران و همچنین جنوب کشور تولید می‌شود. این تفاله‌ها مخلوطی از پوست، محتویات و دانه آنها می‌باشد که در تغذیه دام و طیور می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد (۱). یکی از فراوان‌ترین تفاله مرکبات، تفاله لیموترش (*Citrus limon*) می‌باشد، این تفاله شامل متابولیت‌های ثانویه‌ای از قبیل فلاونوئیدهایی مثل فلاونون، فلاوانون، کاتچین، آنتوسیانین است. مکانیسم عمل فلاونوئیدها از طریق اثر آنتی‌اکسیدانی و حذف رادیکال‌ها و واکنش با برخی سیستم‌های آنزیمی می‌باشد (۹)، بنابراین مکمل سازی جیره‌های غذایی با مواد آنتی‌اکسیدانی یک راهکار موثر در افزایش ماندگاری و پایداری گوشت می‌باشد (۷). اگر چه مطالعاتی درباره تاثیر لیموترش بر کیفیت گوشت در طیور مختلف انجام شده است (۲، ۶، ۸)، ولی مطالعه‌ای بر روی تاثیر تفاله لیموترش بر کیفیت گوشت مرغان وازده تخمگذار انجام نشده است، بنابراین این تحقیق با هدف بررسی سطوح مختلف تفاله لیموترش بر کیفیت گوشت مرغان وازده تخمگذار انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در ایستگاه تحقیقاتی طیور دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۴۰ روز بر روی سیستم قفس انجام شد که ۱۰ روز اول به منظور عادت‌دهی و ۳۰ روز باقی‌مانده جهت اعمال تیمارها در نظر گرفته شد. در این آزمایش از ۸۰ قطعه مرغ تخمگذار وازده استفاده شد نمونه‌ها به ۴ گروه تقسیم شدند که بصورت تصادفی دسته‌بندی شده و به قفس‌ها انتقال داده شدند. گروه اول جیره حاوی ۶٪ تفاله لیموترش، گروه دوم ۱۰٪ تفاله لیموترش، گروه سوم ۱۴٪ تفاله لیموترش و گروه چهارم جیره بدون تفاله لیموترش دریافت کردند (گروه شاهد). هر تیمار شامل ۵ تکرار بوده که هر کدام از تکرارها شامل ۴ قطعه مرغ تخمگذار بود. در طول دوره آزمایش آب و غذا به صورت آزاد در اختیار طیور قرار گرفت و از یک برنامه روشنائی ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنائی استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۴ گروه کنترل (بدون تفاله لیموترش)، ۶، ۱۰ و ۱۴ درصد تفاله لیموترش بودند. جیره‌ها از لحاظ انرژی و پروتئین یکسان بودند. در پایان دوره آزمایش از هر تکرار تعداد ۲ مرغ وازده تخمگذار انتخاب شد که پس از کشتار، نمونه‌های گوشت سینه تهیه شده جهت انجام آزمایشات کیفیت گوشت به آزمایشگاه منتقل شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از رویه GLM و نرم افزار SAS استفاده شد و میانگین‌های مربوطه بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش نشان داد که استفاده از سطوح مختلف تفاله لیموترش در جیره مرغان وازده تخمگذار تاثیری بر شاخص‌های کیفیت گوشت از قبیل میزان مالون‌دی‌آلدهاید، رطوبت، میزان خروج آب و ظرفیت نگهداری آب نداشت ($P>0/05$)، ولی مقدار چربی در گوشت مرغانی که با سطوح مختلف تفاله لیموترش تغذیه شده بودند کاهش یافت ($P<0/05$). استفاده از تفاله لیموترش به میزان ۶ و ۱۰ درصد باعث کاهش شاخص قرمزی (A) در گوشت سینه مرغان وازده تخمگذار شد ($P<0/05$)، ولی تاثیر معنی‌داری بر شاخص زردی و روشنائی در گوشت نداشت ($P>0/05$). همچنین نتایج استفاده از تفاله لیموترش بر میزان pH گوشت سینه نشان داد که با افزایش میزان تفاله از ۶ به ۱۴ درصد افزایش معنی‌داری در میزان pH گوشت مشاهده شد ($P<0/05$).

لانزا و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که بکاربردن تفاله مرکبات در جیره بلدرچین منجر به افزایش pH در گوشت بلدرچین شده است، آنان بیان داشتند احتمالاً تفاله مرکبات از طریق کاهش انباشت گلیکوژن در گوشت منجر به افزایش میزان pH در گوشت خواهد شد (۶). درانسفیلد و سسینکی (۱۹۹۹) بیان داشتند که میزان ظرفیت نگهداری آب وابسته به میزان pH

می‌باشد و کاهش در میزان pH منجر به کاهش در میزان ظرفیت نگهداری آب خواهد شد که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد (۳). همانطور که در جدول-۱ مشاهده می‌شود با افزایش میزان pH بر ظرفیت نگهداری آب افزوده و با کاهش آن از میزان ظرفیت نگهداری آب کاسته شده است. نرمی و لطافت گوشت به طور مستقیم با میزان ظرفیت نگهداری آب و بطور معکوس با میزان خروج آب رابطه دارد، پس کاهش میزان خروج آب از گوشت سینه مرغان وازده تخمگذار می‌تواند منجر به بهبود نرمی و لطافت گوشت سینه گردد. جانگ و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که استفاده از گیاهان دارویی در جیره جوجه‌های گوشتی تاثیر معنی‌داری بر ظرفیت نگهداری آب در گوشت سینه نداشت که نتایج آنان با نتایج حاصل از این مطالعه مشابهت دارد (۵). مورا و همکاران (۲۰۰۸)، به بررسی تاثیر استفاده از تفاله مرکبات بر کیفیت گوشت جوجه‌های گوشتی پرداختند، آنان مشاهده کردند که استفاده از تفاله مرکبات در جیره بر شاخص زردی گوشت سینه تاثیر معنی‌داری نداشته است ولی باعث کاهش شاخص قرمزی در گوشت سینه شده است که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد (۸). آنان بیان داشتند کاهش میزان شاخص قرمزی می‌تواند به علت سطوح پایین مولکول‌های بیواکتیو قرمز در تفاله مرکبات یا به علت کاهش میزان جذب روده‌ای رنگ دانه‌ها در اثر استفاده از تفاله مرکبات یا هر دو عامل باشد (۸). محلول شدن و در پی آن جذب رنگدانه‌ها در روده باریک در یک فاز چربی اتفاق می‌افتد (۴)، چون فیبرهای محلول موجود در تفاله مرکبات اثر منفی بر هضم و جذب چربی در روده باریک دارند (۱۱) می‌توان انتظار داشت که تفاله مرکبات به علت داشتن این فیبرهای محلول تاثیر منفی بر روی جذب رنگدانه‌های محلول در چربی داشته‌اند. ون‌لاک و همکاران (۲۰۰۰)، اینگونه اظهار کردند که کم رنگ شدن گوشت می‌تواند در pH=۵/۷ اتفاق بیافتد که با نتایج این تحقیق در مورد تیمار ۶ درصد تفاله لیموترش مطابق است (۱۲). سالز و میل (۱۹۹۶)، بیان داشتند که بین pH و روشنایی گوشت یک همبستگی منفی وجود دارد به این صورت که با افزایش میزان pH در گوشت شاخص روشنایی در گوشت کاهش داشته و نتیجه آن گوشت تیره‌تر خواهد بود، که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (۱۰). با توجه به نتایج، با افزایش میزان تفاله لیموترش به میزان ۱۴ درصد، pH بصورت معنی‌داری زیاد می‌شود ($p < 0/05$)، که این افزایش pH منجر به کاهش شاخص روشنایی در گوشت سینه شده است بطوری‌که کمترین میزان روشنایی گوشت سینه مربوط به مرغانی است که جیره حاوی ۱۴ درصد تفاله لیموترش دریافت کرده‌اند. مورا و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که استفاده از تفاله مرکبات در جیره جوجه‌های گوشتی منجر به کاهش میزان چربی لاشه خواهد شد، آنان دریافتند جوجه‌هایی که جیره حاوی ۱۰ درصد تفاله مرکبات دریافت کردند دارای چربی شکمی پایینی بودند که منجر به کاهش محتوای چربی در لاشه شد (۸). تفاله مرکبات از لحاظ پکتین که جزء فیبرهای محلول دسته‌بندی می‌شود غنی می‌باشد، که سبب بالارفتن گرانروی و ایجاد یک محیط ویسکوز در روده طیور می‌شود. آنان بیان داشتند که استفاده از تفاله مرکبات در جیره جوجه‌های گوشتی در نهایت با تاثیر منفی بر عملکرد طیور موجب رشد پایین آنان خواهد شد که این رشد پایین منجر به کاهش انباشت چربی در بدن خواهد شد، احتمالا این پرندگان قادر به دریافت انرژی مورد نیاز برای رشد خود و به تبع آن انباشت چربی نبوده‌اند (۸).

جدول ۱- تأثیر استفاده از سطوح مختلف تفاله لیموترش بر پارامترهای کیفی گوشت مرغان وازده تخمگذار

SEM	۱۴٪ تفاله	۱۰٪ تفاله	۶٪ تفاله لیموترش	شاهد	صفت مورد مطالعه
	لیموترش	لیموترش			
۰/۴۱	۳/۰۲	۲/۸۵	۲/۹۶	۲/۵۲	مالون‌دی‌آلدئید (mg/kg)

۱/۰۸	۶۹/۳۳	۶۸/۵۷	۷۰/۶۳	۶۸/۴۷	رطوبت %
۰/۱۷	۱/۵۲	۱/۶۰	۱/۷۳	۱/۸۰	میزان خروج آب %
۰/۷۱	۴/۱۰ ^b	۳/۹۶ ^{bc}	۳/۴۰ ^c	۴/۶۷ ^a	چربی
۰/۵۵	۶۵/۷۶	۶۵/۰۵	۶۴/۰۱	۶۴/۵۴	ظرفیت نگهداری آب
۰/۰۲	۵/۹۲ ^a	۵/۸۵ ^{ab}	۵/۷۸ ^b	۵/۸۳ ^{ab}	pH
۱/۹۸	۴۹/۹۶	۵۶	۵۴/۳۸	۵۳/۷۲	L (روشنایی)
۰/۴۰	۹/۹۶ ^a	۸/۲۴ ^b	۸/۲۲ ^b	۹/۳۲ ^{ab}	a (قرمزی)
۰/۲۲	۳/۰۳	۲/۷۲	۲/۷۴	۲/۵۶	b (زردی)

حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد ($p < 0.05$).

SEM = میانگین خطای استاندارد

منابع:

1. Arthington, J. D., Kunkle, W. E and A. M. Martin. 2002. Citrus pulp for cattle. Journal of Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 18: 317-326.
2. Bhaskar, N., Sachindra, N.M., Modi, V.K., Sakhare, P.Z., and N.S. Mahendrakari. 2005. Preparation of proteolytic activity rich ginger powder and evaluation of its tenderizing effect on spent-hen muscles. Journal of Muscle Foods. 17: 174-184.
3. Dransfield, E., and Sosnicki, A.A. 1999. Relationship between muscle growth and poultry meat quality. Poultry Science. 78: 743-746.
4. Garrett, D.A., Failla, M.L., and Sarama, R.J. 1999. Development of an in vitro digestion method to assess carotenoid bioavailability from meals. Journal of Agricultural Food Chemistry. 47: 4301-4309.
5. Jang, A., Liu, X., Shin, M., Lee, B., Lee, S., Lee, J., and Jot, C. 2008. Antioxidative potential of raw breast meat from broiler chickens fed a dietary medicinal herb extract mix. Poultry Science. 87: 2382-2389.
6. Lanza, M., Fasone, V., Galofaro, V., Barbagallo, D., Bella, M., and P. Pennisi. 2004. Citrus pulp as an ingredient in ostrich diet: effects on meat quality. Journal of Meat Science. 68: 269-275.
7. Maraschiello, C.C., Sarraga, C., and A. Garcia. 1999. Glutathione peroxidase activity, TBARS, and α -tocopherol in meat from chicken fed different diets. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47: 867-872.
8. Maurao, J.L., Pinheiro, V.M., Prates, J.A.M., Bessa, R.J.B., Ferreira, L.M.A., Fontes, C.M.G.A., and P.I.P. Ponte, 2008. Effect of dietary dehydrated pasture and citrus pulp on the performance and meat quality of broiler chickens. Journal of Poultry Science. 87: 733-743.

9. Misharina, T.A., and A.L. Samusenko. 2008. Antioxidant properties of essential oils from lemon, grapefruit, coriander, clove, and their mixtures. *Journal of Applied Biochemistry and Microbiology*. 45: 438-442.
10. Sales, J., and Mellet, F.D. 1996. Post-mortem pH decline in different ostrich muscles. *Journal of Meat Science*. 42: 235-238.
11. Silva, S.S., and Smithard, R.R. 1997. Digestion of protein, fat and energy in rye-based broiler diets is improved by the addition of exogenous xylanase and protease. *Journal of British Poultry Science*. 38: S38-S39.
12. Van Laack, R.L.J.M., Liu, C.H., Smith, M.O., and Loveday, H.D. 2000. Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. *Journal of Poultry Science*. 79: 1057-1061.

Effect of dried citrus pulp (Citrus limon) on meat quality of spent layer hens
Abbas javidi firooz^{*}, Dr. yousof jafari ahangari, Dr. noormohamad torbatinejad, Dr. seyed reza hashemi and hosein mohebodini

Animal science faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources University of Gorgan
abbasjavidi@yahoo.com

Abstract:

The aim of this study was to determine the effect of dried citrus pulp (DCP) on meat quality of spent layer hens. A total of 80 spent layer hens were randomly allocated to 4 groups with 5 replicate and 4 hens in each replicate for 40 days. There were 4 treatments that consist of: Control group and three levels of DCP(%6, %10 and 14%). At the end of experiment, two chicks from each replicate have been selected randomly to determine the amount of malondialdehyde, muscle Fat, pH, water holding capacity (WHC), moisture, drip loss and L^{*}, a^{*} and b^{*} indexes in breast muscle. Results showed that The DCP had no significant effect on the amount of malondialdehyde, water holding capacity (WHC), moisture, drip loss, L and B index. DCP decreased breast muscle fat and a^{*} index significantly (P<0.05), whereas increased pH significantly (P<0.05).

Key words: Dried citrus pulp (Citrus limon)- meat quality- spent layer hens

بررسی اعمال محدودیت کمی و تاثیر آن بر خصوصیات لاشه درگوساله های نرئومی استان لرستان
کریم قربانی و بهروز یاراحمدی، اعضای هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان

چکیده:

به منظور بررسی اثر محدودیت کمی بر روی گوساله های نرئومی لرستان تعداد ۶۰ رأس گوساله بامیانگین وزن 95 ± 5 کیلوگرم و سن 10 ± 180 روز انتخاب شدن، گوساله ها پس از گذراندن دوره عادت پذیری و انجام اقدامات بهداشتی، به چهار گروه ۱۵ رأسی شامل گروه شاهد و سه گروه آزمایشی شامل جیره نگهداری به اضافه ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد جیره نگهداری تغذیه شدند. طول دوره محدودیت ۱۲۰ روز و دوره جبران ۱۸۰ روز بود. در دوره جبران تیمارهای آزمایشی و شاهد با جیره غذایی متعادل بطور آزاد در حد اشتها تغذیه شدند. در طی مدت محدودیت و دوره جبران صفات افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل غذایی، خوراک مصرفی روزانه اندازه گیری شد. جهت بررسی صفات کشتار دوماجره کشتار و تجزیه لاشه در پایان دوره محدودیت و دوره جبران انجام گرفت. متوسط وزن کشتار در دوره محدودیت برای تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی به ترتیب ۲۲۴، ۱۴۸، ۱۵۲، ۱۶۰ و در پایان دوره جبران این مقادیر به ترتیب ۲۷۵، ۲۳۱، ۲۲۳ و ۲۲۳ کیلوگرم بود. متوسط افزایش وزن روزانه دوره محدودیت برای تیمار شاهد و آزمایشی به ترتیب ۷۲۲، ۲۹۴، ۳۰۵ و ۳۶۱ و در دوره جبران ۷۷۹، ۵۷۴، ۸۳۲ و ۷۶۳ گرم در روز بود. تفاوت مشاهده شده بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی برای صفات افزایش وزن روزانه و وزن کشتار در دوره محدودیت معنی دار شد ($P < 0.05$) بطوری که در دوره جبران تیمارهای آزمایشی افزایش وزن روزانه بیشتری داشتند. همچنین تیمار شاهد با سایر تیمارهای آزمایشی از لحاظ خوراک مصرفی، ضریب تبدیل غذایی، راندمان لاشه و نسبت گوشت، چربی قابل تفکیک و استخوان لاشه با تیمارهای آزمایشی در دو آزمایش تفاوت معنی داری نشان دادند ($P < 0.05$). نتایج آزمایش نشان داد گوساله های نرئومی استان این قابلیت را دارند که چنانچه از سن شش ماهگی به مدت ۴ ماه از نظر کمی در حد جیره نگهداری به اضافه ۱۰ درصد جیره نگهداری تحت تاثیر اعمال محدودیت غذایی قرار بگیرند و پس از آن به مدت ۶ ماه بطور آزاد به خوراک کافی دسترسی داشته باشند این استعداد را دارند که با استفاده از پدیده رشد جبرانی تا حدود زیادی رشد به تعویق افتاده خود را جبران نمایند و به وزنی مشابه گوساله های همسن خود برسند.

واژه های کلیدی: رشد جبرانی، پرواربندی، گوساله های بومی.

مقدمه:

در شرایط روستایی تغذیه گاو های بومی متکی به علوفه حاصل از زراعت و پس چر غلات است به همین دلیل در بیشتر ایام سال این دامها با کمبود مواد مغذی روبرو هستند و معمولاً یک دوره محدودیت غذایی اجباری را می گذرانند. گوساله های بومی به علت سرعت رشد کم و جثه کوچک تا سن حدود یک سالگی و وزن ۱۰۰-۹۵ کیلوگرم قابلیت کمی برای پروار دارند. گاو مانند گوسفند پس از گذراندن یک دوره محدودیت، در دوره جبران، قادر است رشد جبرانی نشان دهد (۲۳). آزمایش بر روی گوساله های نرئستانی انجام گرفت نشان داد با اعمال محدودیت غذایی به مدت ۳ و ۶ ماه، امکان جبران رشد از دست رفته به طور کامل در گوساله های این نژاد وجود دارد (۳). در آزمایش دیگری رشد جبرانی در گوساله های دو قلو که از تولد تا سن ۹ ماهگی در دو سطح متفاوت از لحاظ کمی محدود شده بودند، نتایج نشان داد، دامهایی که محدودیت شدیدتری بر روی آنها اعمال شده بود علی رغم طولانی شدن طول دوره جبران، نتوانستند اختلاف وزن بوجود آمده در اثر محدودیت را جبران کنند (۸). گراهام و سیرل (۱۹۷۵) دریافته اند که در حیوانات در مرحله جبران خوراک مصرفی افزایش می یابد. رایان (۱۹۸۹) مشاهده کرد که گاوهای مورد بررسی در ۱۴ روز اول دوره جبران ۳۸ کیلوگرم افزایش وزن نشان دادند و نتیجه گیری کرد که اغلب این افزایش وزن بواسطه افزایش وزن

محتویات دستگاه گوارش است. یکی از مکانیسمهایی که بر روری جبران رشد به تعویق افتاده موثر است افزایش خوراک مصرفی و بهبود راندمان غذایی است. این مکانیسمها توسط بسیاری از محققین بیان شده است (۹). بخشی از افزایش سریع سرعت رشد در دوره تغذیه مجدد افزایش حجم دستگاه گوارشی و محتویات آن است (۳ و ۸). هدف از این تحقیق بررسی اثر محدودیت کمی بر روی بر روی صفات رشد و خصوصیات لاشه در توده گوساله های نر بومی لرستان بود.

مواد و روشها:

به منظور بررسی رشد جبرانی در گوساله های نر بومی استان لرستان، آزمایشی با تعداد ۶۰ رأس گوساله با متوسط سن 15 ± 180 روز و میانگین وزن 95 ± 5 کیلوگرم انجام شد. دوره عادت پذیری و اقدامات بهداشتی دو هفته بود در این دوره ضمن عادت دهی گوساله ها به جیره غذایی مورد نظر، خوراندن داروی ضد انگل و تست سل و بر سلولز نیز بعمل آمد. سپس براساس وزن اولیه بر پایه طرح کاملاً تصادفی به چهار گروه ۱۵ راسی تقسیم بندی شدند. تیمارهای مورد نظر شامل گروه شاهد و سه تیمار آزمایشی بود. دامهای هر تیمار در یک جایگاه انفرادی نگهداری شدند. در طی مدت انجام آزمایش وزن کشتی به صورت ماهیانه انجام شد همچنین مقدار خوراک مصرف شده روزانه اندازگیری شد. باقیمانده احتمالی خوراک قبل از وعده بعدی خوراکدهی جمع آوری و توزین شد. نیاز غذایی برای دو سطح نگهداری (جیره پایه) و رشد با استفاده از جداول NRC (۱۹۸۹) برای گوساله های نر نژادهای کوچک جثه با وزن اولیه ۱۰۰ کیلوگرم و اضافه وزن ۷۰۰ گرم در روز تنظیم شد. به منظور بررسی صفات لاشه شامل وزن کشتار، وزن آرایش خوراکی و غیر خوراکی لاشه، وزن گرم و سرد لاشه، راندمان لاشه، درصد گوشت لخم، چربی قابل تفکیک و استخوان لاشه و هریک از قطعات لاشه دو مرحله کشتار و تجزیه لاشه انجام گرفت. کشتار اول در پایان دوره محدودیت و کشتار دوم در خاتمه دوره جبران انجام گرفت، در هر مرحله تعداد ۳ رأس گوساله از هر تیمار انتخاب و پس از یک دوره ۱۶ ساعت محرومیت آب و غذا، ابتداء توزین و سپس کشتار شدند. لاشه های گرم ۲۴ ساعت در سردخانه با دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. در روز بعد، پس از توزین مجدد لاشه ها هر یک از آنها به پنج قسمت (گردن، سردست، راسته، دنده و میان پهلوی و ران) تقسیم شدند و هر قطعه جداگانه توزین شده و سپس از لحاظ چربی قابل تفکیک، گوشت لخم و استخوان تجزیه شدند. طرح آماری مورد استفاده در این آزمایش، طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و هر تیمار با ۱۵ مشاهده (هر رأس گوساله یک مشاهده) بود.

نتایج و بحث:

تغییرات وزن زنده:

نتایج بدست آمده نشان داد اعمال محدودیت غذایی موجب کاهش سرعت رشد و حتی از دست دادن بخشی از وزن زنده دامها در دوره محرومیت غذایی شد. در پایان دوره محدودیت وزن زنده در تیمار شاهد بیشتر بود ۲۲۴ در مقایسه با ۱۵۲، ۱۴۸ و ۱۶۰ کیلوگرم برای تیمارهای محدود شده. تفاوت بین تیمار شاهد و تیمارهای تحت اعمال محدودیت معنی دار بود ($P < 0.05$). هر چه مدت محدودیت بیشتر شد مقدار کاهش وزن بیشتر بود. میزان کاهش سرعت رشد بستگی به شدت محدودیت دارد (۲، ۶ و ۱۱). نتایج بدست آمده در این آزمایش نیز نشان داد که سرعت رشد تحت تاثیر شدت محدودیت قرار می گیرد.

جدول شماره ۱- میانگین و انحراف معیار صفات پروار در دو مرحله آزمایش

دوره	تیمار	تعداد	وزن شروع	افزایش وزن روزانه	وزن کشتار	خوراک مصرفی	ضریب تبدیل غذایی
دوره محدودیت	۱۰٪	۱۵	۹۵ ± ۳/۵	۲۹۴ ± ۲۹ b	± ۲/۵ b ۱۴۸	۲/۸۸	۷/۸۲
	۲۰٪	۱۵	۹۷ ± ۱/۵	۳۰۵ ± ۳۲ b	± ۱/۵ b ۱۵۲	۳/۰۷	۸/۵۳
	۳۰٪	۱۵	۹۵ ± ۳	۳۶۱ ± ۳۱ b	± ۲/۵ b ۱۶۰	۳/۸۲	۸/۵۹
	شاهد	۱۵	۹۴ ± ۲/۵	۷۲۲ ± ۲۵ a	± ۳/۵ a ۲۲۴	۵/۶۸	۸/۲۱
دوره آزاد	۱۰٪	۱۰	۱۴۸ ± ۲/۵	۷۷۹ ± ۱۲ b	± ۲/۶ b ۲۲۵	۷/۱۸	۸/۳
	۲۰٪	۱۰	۱۵۲ ± ۱/۵	۸۳۲ ± ۱۵ a	± ۳/۸ b ۲۳۱	۷/۵۵	۸/۴۱
	۳۰٪	۱۰	۱۶۰ ± ۲/۵	۷۶۳ ± ۲۲ b	± ۴/۵ b ۲۳۳	۷/۲۷	۸/۲۲
	شاهد	۱۰	۲۲۴ ± ۳/۵	۵۷۴ ± ۲۰ c	۲۷۵ ± ۳/۲ a	۶/۷۳	۱۱/۴۶

میانگین و انحراف معیار صفات مختلف شامل وزن شروع پرواربندی، وزن کشتار، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی و خوراک مصرفی طی دو مرحله محدودیت و جبران برای هریک از گروه های آزمایشی در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. بیشترین و کمترین وزن پایان مرحله محدودیت به ترتیب با ۲۲۴ و ۱۴۸ کیلوگرم به تیمار شاهد و تیمار جیره نگهداری به اضافه ۱۰ درصد بود. مقادیر این صفت در پایان دوره جبران برای تیمار شاهد ۲۹۲ و برای تیمارهای آزمایشی به ترتیب ۲۳۷، ۲۴۵ و ۲۵۱ کیلوگرم بود. که تفاوت مشاهده شده بین تیمارهای آزمایش و شاهد معنی دار بوده ($P < 0/05$). بیشترین و کمترین وزن نهایی بدست آمده به ترتیب با ۲۹۲ و ۲۳۷ کیلوگرم به تیمار شاهد و تیمار جیره نگهداری به اضافه ۱۰ درصد بود. تیمار جیره نگهداری به اضافه ۱۰ درصد اگرچه در دوره جبران سرعت رشد بیشتری داشت اما به دلیل وزن کمتر در شروع دوره جبران در پایان دوره جبران وزن کمتری داشت.

خوراک مصرفی و راندمان غذایی :

نتایج بدست آمده نشان داد محدودیت غذایی باعث افزایش خوراک مصرفی در دوره جبران می شود. تیمارهای محدود شده در دوره جبران خوراک بیشتری را مصرف کردند. میانگین خوراک برای تیمارهای آزمایشی و شاهد به ترتیب ۲/۸۸، ۳/۰۷، ۳/۸۲ و ۵/۶۸ کیلوگرم در روز بود. در دوره جبران خوراک مصرفی افزایش یافت برای تیمارهای آزمایشی و شاهد به ترتیب ۷/۵۵، ۷/۱۸ و ۸/۲۲ و ۶/۷۳ و ۷/۲۷ کیلوگرم در روز بود. ضریب تبدیل غذایی در دوره جبران برای تیمارهای آزمایشی به ترتیب ۸/۳، ۸/۴۱ و ۸/۲۲ و

بود که در مقایسه با ۱۱/۴۶ برای تیمار شاهد تفاوت آنها معنی دار بود. ($P < 0.05$). بطوری که تیمارهای آزمایشی در دوره جبران ضریب تبدیل غذایی بهتری داشتند.

تغییرات مربوط به وزن لاشه سرد:

متوسط وزن کشتار پایان محدودیت برای تیمارهای آزمایشی و شاهد به ترتیب ۱۶۰،۱۵۲،۱۴۸ و ۲۲۴ کیلوگرم بود در این مرحله تیمار شاهد وزن زنده، لاشه و قطعات لاشه بالاتری نسبت به تیمارهای آزمایشی داشت. در کشتار دوم نیز وزن لاشه و قطعات آن در تیمار شاهد بیشتر از سایر تیمارها بود و تفاوت مشاهده شده بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی معنی دار شد ($P < 0.05$). بازده لاشه تیمارهای آزمایشی بیشتر از شاهد بود. یکی از دلایل افزایش سرعت رشد در مرحله جبران علاوه بر افزایش حجم دستگاه گوارش افزایش نسبت بافت ماهیچه ای (گوشت) لاشه است. مشاهدات این آزمایش نشان داد تیمارهای محدود شده از نظر وزن کلیه، کبد، چربی داخلی و روده داخلی و معده خالی و همچنین وزن بیضه با گروه شاهد تفاوت معنی داری داشتند ($P < 0.05$). چربی داخلی در تیمارهای آزمایشی بطور معنی داری کمتر از چربی داخلی تیمار شاهد بود.

نتیجه گیری کلی:

بطور کلی نتایج آزمایش نشان داد گوساله های نر بومی استان این قابلیت را دارند که چنانچه پس از سن حدود شش ماهگی به مدت ۱۲۰ روز از نظر کمی در حد جیره نگهداری به اضافه ۲۰ درصد متعادل و بطور آزاد تغذیه شوند به خوراک کافی دسترسی داشته باشند می توانند تا حدود زیادی رشد به تعویق افتاده خود را جبران نمایند و به وزنی مشابه وزن زنده گوساله های همسن خود برسند. ضمن آنکه در مدت دوره محدودیت تا رسیدن این گوساله ها به سن مناسب برای پروار هزینه های تغذیه کاهش خواهد یافت.

منابع مورد استفاده:

- ۱- رضایی وند، ح. ۱۳۷۹. بررسی رشد جبرانی در بره (گوسفند عربی)، پایان نامه کارشناس ارشد، دانشگاه شهید چمران اهواز، مجتمع آموزشی و پژوهشی کشاورزی رامین.
- ۲- قربانی، کریم. ۱۳۸۱. بررسی رشد جبرانی و خصوصیات لاشه در دو روش پرواربندی (مرتج و تغذیه دستی) در بره های نر لری. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه شهید چمران اهواز. آموزشکده کشاورزی رامین.
- ۳- منصوری، هرمز، ۱۳۷۴. بررسی رشد جبرانی در گوساله های نر سیستانی، انتشارات موسسه تحقیقات علوم دامی کشور.
- 4- Abdalla, H.O., D.G. Fox, and M.L.Thonney. 1988. Compensatory gain by Holstein calves after underfeeding protein, Anim. Sci. 66: 2687-2695.
- 5- Kamalzadeh, A., 1996. Prespects of compensatory growth for sheep production systems. PH.D. Thesis University of Wageningen. Netherland.
- 6- Ryan, W.J. 1990. Compensatory growth in cattle and sheep. Nutr Abstract. (Series B) 60: 653-664.
- 7- Rayn, W.J., I.W. Williams, and R.J.Moir. (199۰b). Compensatory growth in sheep and cattle. II. Changes in body composition tissue weights. Aust. J. Agric. Res. 44: 1623-1633.
- 8- Searles, G.H, and K.H.C.L. 1971. Compensatory growth in yearling beef cattle. Proceeding of the Newzeland, Society Anim. Prod. 31:51-61.

The effect of feed restriction and compensatory growth on fattening performance in native male calves.

By:karim Ghorbani &B. Yarahmadi, H. Mansoori

Abstract:

In order to study the effect of feed restriction and compensatory growth on fattening performance in native male calves. Using 60 calves with 180 ± 10 day of age and 95 ± 5 kg of live weight were selected. and divided to 4 groups include control group and 3 treatment groups. The control group were fed ad-libitum for 10 month but restriction groups during 4 months was limited quantity of feed about maintenance plus 10, 20 and 30 percentage. then they were refeeding for 6 months. the animals were weighed monthly, feed intake and feed residual were collected and were measured daily. Carcass characteristics in two stage at the end of restriction period the end of refeeding period were measured. Average daily gain of restricted groups during 6 month were 289, 305 and 361 gr/day respectively vs 722 gr/day for control group ($P > 0.05$). During refeeding period daily gain increased to 832, 779 and 763 gr/day in restricted groups vs 574 gr/day for control group ($P > 0.05$). During refeeding period feed intake of were 6.18, 6.55 & 6.27 kg/day v.s 7.73 kg/day for control group ($P > 0.05$). the final weight of restricted group was less than control group 237, 245 and 251 kg L.W v.s 292 kg for control group. the feed efficiency in restricted groups were 8.3, 8.41 & 8.22 v.s 11.46 kg/kg live weight gain. Feed conversion in experimental treatments were 8.3, 8.41 and 8.22 kg/kg BW respectively v.s 11.46 for control group were significant ($P > 0.05$). The control group was highly carcass weight 155 kg comparison with other group 109, 123 & 128 kg. in view point of carcass efficiency and carcass fat in experimental group was less. in the two stage of slaughter the carcass efficiency, meat efficiency, fat and bone rate was less than the control group. this experiment conclusion showed that native calves be able to passed one period restricted with feed of about of maintenance plus 20 to 30% of maintenance requirement for 6 month and they able achieve about 90% of loss your live weight loss in month 4 restriction period.

Key word: compensatory growth, refeeding, native Lori male calves.

تأثیر هم زمان هورمون تستوسترون و اخته‌سازی بر وزن بیضه، کبد و نسبت وزن دنبه به وزن لاشه در بره‌های نر پرواری بهرام سی سختی^۱، خلیل میرزاده^۲، مرتضی ممویی^۲، مرتضی چاجی^۲ و حسین تقوی^۱

۱- دانشجویان کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، خوزستان

۲- اعضای هیئت علمی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، خوزستان

* نویسنده مسئول: بهرام سی سختی، Bahram.sisakhti@gmail.com

چکیده:

این پژوهش در ایستگاه تحقیقاتی و دامپروری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان واقع در شهر ملاثانی انجام شد. از ۱۶ رأس بره‌ی نژاد عربی با شرایط سنی (۶۰-۵۰) و وزنی تقریباً برابر ($0.625 \pm 0.14/25$) با وضعیت تغذیه‌ای مشابه استفاده گردید. بره‌ها در ۴ تیمار آزمایشی (A, B, C و D) با ۴ تکرار قرار گرفتند. تیمارهای A و B بره‌های اخته شده‌ای بودند که فقط به گروه B تستوسترون تزریق گردید و تیمارهای C و D بره‌های اخته نشده‌ای بودند که فقط به گروه D تستوسترون تزریق شد. در پایان دوره سه ماهه، دو بره از هر تیمار کشتار شد و لاشه، بیضه‌ها، دنبه و کبد بره‌ها وزن گردید و همچنین نسبت وزن دنبه به وزن لاشه‌ی هر بره محاسبه شد. پس از آنالیز داده‌ها، مشخص شد که وزن بیضه در تیمار C نسبت به سایر تیمارها از اختلاف معنی‌داری برخوردار است ($P < 0.05$). وزن کبد در تیمار C نسبت به تیمارهای A و D از اختلاف معنی‌داری برخوردار بود ($P < 0.05$) ولی بین تیمار C و تیمار B، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). نسبت وزن دنبه به وزن لاشه در تیمار B بیشتر از سایر تیمارها بود ولی به طور کلی این نسبت در بره‌های اخته شده نسبت به بره‌های اخته نشده، از اختلاف معنی‌داری برخوردار نبود ($P > 0.05$).

واژگان کلیدی: تستوسترون، اخته، بیضه، کبد، دنبه، بره پرواری

مقدمه

حیوانات نر اخته شده در مقایسه با حیوانات نر اخته نشده، مقدار بافت چربی بیشتر و گوشت لخم کمتری دارند. آندروژن‌ها در رشد دخالت دارند، چرا که گاو نر بدن بزرگ‌تر، اندام‌های جلویی سبترتر و توده‌ی گوشت لخم بیشتری در مقایسه با یک گوساله‌ی نر اخته شده یا تلیسه دارد. از دیگر کنش‌های مهم استروئیدهای جنسی می‌توان به تأثیرات آن‌ها در رشد استخوان‌ها و بلوغ اشاره کرد. در مرحله‌ی پیش از بلوغ دام‌ها، دزهای اندک استروئیدها، رشد و توده استخوان را به صورت خطی افزایش می‌دهند. تستوسترون رایج‌ترین آندروژن طبیعی است که به وسیله‌ی بیضه‌ها تولید می‌شود. آندروژن‌ها همچنین به خون محیطی می‌روند و سبب تنظیم ماهیچه‌های دارتوس، اپیدیدیمیس، غده‌های تناسلی پیوست و رفتارهای جنسی می‌گردند. ترنبولون استات (TBA) یک آندروژن مصنوعی است که اثرات آنابولیکی قوی دارد. این ماده برای استفاده در گوساله‌های نر اخته شده و تلیسه‌ها در سال ۱۹۸۷ مورد تأیید قرار گرفت. همچنین TBA در تلیسه‌ها سبب افزایش وزن روزانه، ابقای نیتروژن و انباشت پروتئین می‌شود. در گاوهای گوشتی و شیری نیز گوشت لخم لاشه را افزایش می‌دهد (۲).

مواد و روش‌ها

این پژوهش در ایستگاه تحقیقاتی و دامپروری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان واقع در شهر ملاثانی انجام شد. در این طرح از ۱۶ رأس بره‌ی عربی با شرایط سنی (۵۵ تا ۶۰ روز) و وزنی تقریباً برابر ($0.625 \pm 0.14/25$) و وضعیت تغذیه‌ای



مشابه استفاده گردید. بره‌ها تا سن سه ماهگی از شیر مادر تغذیه می‌کردند و کنسانتره نیز به صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار می‌گرفت. جیره‌ی استفاده شده در این طرح، جیره‌ی پروراری بود که بر اساس NRC سال ۲۰۰۷ تنظیم شده بود (۵). بره‌ها در ۴ تیمار آزمایشی (A, B, C و D) با ۴ تکرار قرار گرفتند. تیمارهای A و B بره‌های اخته شده‌ای بودند که فقط به گروه B تستوسترون تزریق می‌گردید. تیمارهای C و D بره‌های اخته نشده‌ای بودند که فقط به گروه D تستوسترون تزریق می‌گردید. تزریق هورمون تستوسترون به صورت هر ۲ هفته یک بار (تزریق عضلانی) و وزن‌کشی بره‌ها به صورت هفتگی و در روز و ساعت مشخصی صورت می‌گرفت. در پایان دوره‌ی سه ماهه، ۲ بره از هر تیمار کشتار شد و لاشه، بیضه‌ها، دنبه و کبد بره‌ها وزن گردید. با تقسیم کردن وزن دنبه به وزن لاشه‌ی هر بره و ضرب کردن در عدد ۱۰۰، نسبت وزن دنبه به وزن لاشه را محاسبه شد. این طرح در قالب آزمایش فاکتوریل و بر پایه‌ی طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید و آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد (۶).

بحث و نتایج

در این تحقیق، اثر هورمون تستوسترون و اخته‌سازی بر وزن بیضه، کبد و نسبت وزن دنبه به وزن لاشه (که به صورت درصد بیان شده است) در بره‌های اخته شده و اخته نشده، در یک دوره‌ی سه ماهه مورد بررسی قرار گرفت. وزن بیضه در تیمار C نسبت به سایر تیمارها، از اختلاف معنی‌داری برخوردار بود ($P < 0.05$) که احتمالاً این اختلاف مربوط به اثر تزریق هورمون تستوسترون باشد و به عبارتی تستوسترون تزریقی، از ترشح تستوسترون بیضوی ممانعت کرده و بدنال آن، از رشد بهینه‌ی بیضه‌ها جلوگیری شده است. قبل از شروع طرح، تصور می‌شد تزریق هورمون تستوسترون در بره‌های اخته نشده، سبب رشد بیشتر بیضه‌ها گردد و با وجودی که قبل از کشتار، اسکروتوم بره‌های اخته نشده‌ای که هورمون دریافت کرده بودند از حالت طبیعی برخوردار بودند اما بعد از کشتار مشاهده شد که بیضه‌ها در بره‌های اخته نشده‌ای که هورمون دریافت کرده بودند (تیمار D)، پس روی کرده‌اند. وزن کبد در تیمار C نسبت به تیمارهای A و D از اختلاف معنی‌داری برخوردار بود ($P < 0.05$) ولی بین تیمار C و تیمار B، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). اختلاف بین تیمارها از نظر وزن کبد، مربوط به اثر متقابل اخته‌سازی و تزریق هورمون تستوسترون بود. به طور کلی وزن کبد در بره‌های اخته نشده بیشتر از بره‌های اخته شده بود، که این نتیجه مخالف نتیجه‌ی برخی از تحقیقات بود که نشان داده‌اند وزن کبد در بره‌های اخته شده بیشتر از بره‌های اخته نشده است (۳، ۴). نسبت وزن دنبه به وزن لاشه در تیمار B نسبت به سایر تیمارها افزایش یافته بود ولی این اختلاف معنی‌داری نبود ($P > 0.05$). به طور کلی نسبت وزن دنبه به وزن لاشه در بره‌های اخته شده (A و B) نسبت به بره‌های اخته نشده (C و D) بیشتر بود که این نتیجه، موافق با برخی تحقیقات بود که نشان می‌دهند حیوانات نر اخته شده در مقایسه با نرهای اخته نشده، مقدار بافت چربی بیشتری دارند (۱).

جدول مربوط به وزن بیضه، کبد و نسبت وزن دنبه به وزن لاشه

تیمارها	اخته	تستوسترون	وزن بیضه‌ها	نسبت وزن دنبه به وزن لاشه (درصد)	وزن کبد
C	-	-	۹۶/۲۹ ^{a*}	۱۳/۳۴	۵۱۰ ^a
D	-	+	۱۳/۲۹ ^b	۱۵/۰۴	۴۴۰ ^b
A	+	-	۰ ^b	۱۴/۱۰	۴۳۰ ^b



۴۸۰ ^{ab}	۱۸/۴۲	^b	+	+	B
۱۵/۸۱	۵/۱۲	۱۹/۳۶			SEM ₁

1. SEM میانگین خطای استاندارد

*حروف غیر مشترک نشانه معنی دار شدن است

منابع

۱. ضمیری م. ج. ۱۳۸۴. فیزیولوژی تولید مثل. انتشارات حق شناس.
 ۲. هاسنر، ک. ال. ۲۰۱۰. تنظیم هورمونی رشد در دام. ترجمه: توحیدی، آ.، ع، دیرنده و ط، صابری فر، انتشارات دانشگاه تهران.
 3. Ferrell, C. L., L. J. Koong and J. A. Nienaber 1986. effect of previous nutrition on body composition and maintenance energy costs of growing lambs. Br. J. Nut. 56: 505-605.
 4. Haddad, S. G., M. Q. Husein and R. W. Sweidan. 2006. Small Ruminant Research 65: 149-153.
 5. National Research Council. 2007. Nutrient Requirements of small ruminant.
 6. SAS, 2004. SAS/SATA. User Guide for Personal Computer release 618 SAS institute, Inc carry, NC., USA.
- Simultaneous two-way effect of testosterone hormone and castration on the testicular and liver weight and fat tail to the carcass weight ratio in fattening lamb
B. Sisakhti^{*1}, Kh. Mirzadeh², M. Mamoei², M. Chaji² and H. Taghavi¹
- 1- Students of animal science, Department of animal science, Khuzestan Ramin agricultural and Natural resources university, Ahvaz-mollasani, Khuzestan, Iran
 - 2- Assistant Professor, Department of animal science, Khuzestan Ramin agricultural and Natural resources university, Ahvaz-mollasani, Khuzestan, Iran
- * Bahram.sisakhti@gmail.com

This research was conducted in Livestock research station of Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan. Used of 16 Arabic lambs (55-60 days old: 14.25 ± 0.625 kg body weight), feeding situation was similar for all of them. The lambs were divided on 4 treatments groups (A, B, C and D) and 4 replicates. Lambs in A and B groups were castrated, and testosterone hormone injected to B group only; C and D were non castrated lambs, but testosterone injected to D group only. In the end of 3-month breeding period, two lambs from each treatment were slaughtered, and carcass, testicles, fat tail and liver were weighted and also calculated fat tail weight to carcass weight ratio for each lamb. After data analyzing, it was found that there are significant differences in the testicular weight of C treatment to other treatments ($P < 0.05$). Liver weight in C treatment compared to D and A treatments was significantly differences ($P < 0.05$) but this difference between C and B treatments, was not significant ($P > 0.05$). Fat tail weight to carcass weight ratio of B treatment was greater than other treatments but this ratio was not significant between castrated and non castrated treatments ($P > 0.05$).

Keywords: Testosterone- Castration- Testis- Liver- Fat tail- Fattening Lamb.

مطالعه چرخه فحلی اسب قره باغ در استان آذربایجان شرقی

فریدون امینی* و علی مصطفی تهرانی

اعضای هیئت علمی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

پست الکترونیک fred_amini@yahoo.com

* کرج موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

چکیده

تولید مثل نقش مهمی در حفظ و تکثیر دام و افزایش جمعیت و بهبود بهره وری آن دارد. با توجه به این که اطلاعات دقیقی در مورد تولید مثل توده ژنتیکی اسب قره باغ در استان آذربایجان شرقی وجود نداشت، بررسی غلظت هورمون های استروژن و پروژسترون و زمان دقیق جفت گیری و تخمک گذاری در طول چرخه فحلی در طول فصل بهار در دو راس مادبان اصیل قره باغ با متوسط وزن ۳۰۰ کیلوگرم و سن حدود ۷ سال در مرکز پرورش اسب شهرستان تبریز انجام گردید. جهت تشخیص فحلی، مادبان ها طی فصل تولید مثل (اواخر زمستان تا اوایل بهار) هر روز نزد نریان ها برده می شدند. در مادبان های فحل، فعالیت فولیکولی با استفاده از سونوگرافی و لمس تخمدان ها تعیین شد و به طور یک روز در میان خون گیری از طریق ورید و داج انجام شد و غلظت هورمون های پروژسترون و استروژن پلازما به روش رادیو ایمنو اسی مورد سنجش قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد، تغییرات غلظت پلاسمایی استروژن و پروژسترون در اسب های قره باغ مشابه سایر توده های ژنتیکی اسب میباشد. اوج مقدار پروژسترون در روز هفتم و اوج مقدار استرادیول در روز سیزدهم از چرخه فحلی مشاهده گردید که همزمان دو موج فولیکولی تشخیص داده شد. زمانی که استروژن به حداکثر خود می رسید پروژسترون به حداقل خود می رسید. به نظر می رسد غلظت پلاسمایی پروژسترون در طول فصل تولید مثل شاخص مناسبی برای تعیین مرحله چرخه فحلی مادبان های قره باغ باشد. کلید واژه ها: اسب قره باغ- استروژن- پروژسترون- زمان تخمک ریزی

مقدمه

اسب قره باغ یکی از نژاد های قدیمی اسب های سواری دنیاست که مهد نژادی آن منطقه آذربایجان در اطراف و اکناف دو رود خانه ارس و کور است. این نژاد در بهبود و اصلاح نژاد اسب منطقه و بخصوص ممالک همجوار نقش بسیار مهمی داشته است و خود از تلاقی نژاد های اسب ترکمن ایران و عرب و بومی آذربایجان حاصل شده است (۴). اسب قره باغ به زندگی طولانی در مناطق کوهستانی عادت کرده، دارای جثه ای ریز با ترکیب عضلانی بسیار عالی، قد متوسط، سم های سخت و فشرده و مقاوم به راهپیمایی با سرعت خوب بوده و بیماری و آسیب پذیری و شرایط سخت آب و هوایی را بخوبی تحمل می کند (۲). در حال حاضر در منطقه آذربایجان کلاً تعداد ۲۵۰ راس اسب قره باغ شناسایی شده است که از منطقه شمال غرب استان اردبیل طیف جمعیتی این اسب ها شروع و بصورت مورب تا مرز نخجوان پیش رفته است و بطور کلی کانون اصلی جمعیت این اسب در منطقه ورزقان و خاروانای استان آذربایجان شرقی می باشد (۳).

بیشتر مطالعات موجود در مورد فیزیولوژی تولید مثل اسب ها در منابع مربوط به نژاد های خارجی می باشد. بر روی اسب های بومی ایران مطالعات چندانی موجود نیست (۱). مهمترین هورمونهای تولید مثلی دو هورمون استروژن و پروژسترون می باشند (۵). در این پروژه به مطالعه روی این دو هورمون و تغییرات آن ها با سایر نژاد ها در یک چرخه فحلی پرداخته شده است.

مواد و روش ها

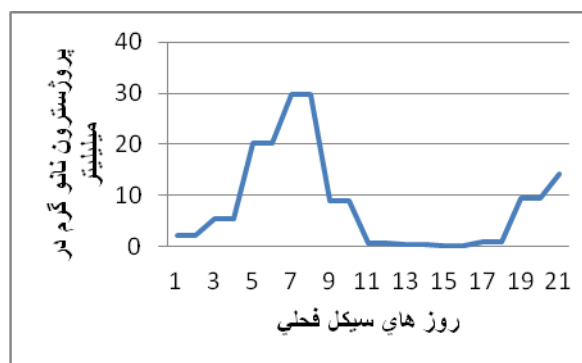
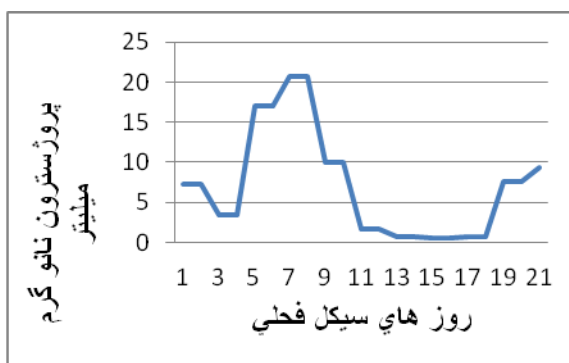
این مطالعه در مرکز پرورش اسب سهند واقع در شهرستان تبریز بر روی دو راس مادبان قره باغ خالص به نام های ماه نشان و فلورا طی یک نوبت چرخه فحلی انجام گرفت. مادبان ها دارای متوسط وزن ۳۰۰ کیلوگرم و سن حدود ۷ سال بوده و در شرایط مدیریتی باشگاه های پرورش اسب نگهداری می شدند. جهت تشخیص فحلی طبق یک برنامه زمان بندی شده هر روز مادبان ها نزد نریان ها برده شده تا بعد از مشاهده علائم فحلی که شامل دفع ادرار به همراه حرکات انقباضی کلیتوریس و در نهایت نداشتن حالت تهاجمی به نریان بود، مادبان فحل مشخص می شد. در مادبان های فحل، فعالیت فولیکولی از طریق سونوگرافی با دستگاه پوینده (Scanner, 480 Pie model) و لمس تخمدان ها تعیین شد. به منظور تعیین عیار هورمون های پروژسترون و استروژن در یک چرخه فحلی کامل (۲۱-۲۴ روز) یک روز در میان از ورید و داج تک تک مادبان های فحل خونگیری به عمل آمد. نمونه های خون در لوله های خلاء دار حاوی EDTA جمع آوری شده و سپس به مدت ۲-۳ دقیقه با دور ۵ هزار در دقیقه سانتریفیوژ گشته و در نهایت پلاسما حاصله در میکروتیوب های پلاستیکی درب دار جمع آوری و در مجاورت یخ به فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد تا روز تعیین عیار هورمونی منتقل گردیدند. مقادیر هورمون ها از روش RIA با استفاده از دستگاه گاما کانتر تعیین گردید.

نتایج و بحث

نمودار ۱ تغییرات هورمون پروژسترون را در چرخه فحلی مادبان قره باغ نشان می دهد. بر اساس این نمودار، مشخص می شود تخمک ریزی در روز سوم فحلی انجام شده که متعاقب آن جسم زرد تشکیل می شود که در نتیجه سبب افزایش این هورمون گشته و تا روز ۶-۸ به حداکثر مقدار خود رسیده است. در این روز فولیکل ها دوباره شروع به رشد نموده و هورمون استروژن ترشح می کند که سبب کاهش ترشح هورمون پروژسترون تا روز یازدهم چرخه شده است. این چرخه دوباره از تاریخ هجدهم تکرار می گردد. بر اساس این نمودار طول چرخه فحلی این مادبان به مدت ۱۸ روز ادامه دارد. مقدار این هورمون از اولین روز شروع علائم فحلی از ۷ نانوگرم در میلی لیتر به ۳ نانوگرم در میلی لیتر در روز سوم کاهش می یابد. از روز سوم مقدار این هورمون افزایش یافته و به حداکثر مقدار خود در روز ششم می رسد (۲۲ نانوگرم در میلی لیتر)، از روز ششم تا روز یازدهم چرخه فحلی مقدار این هورمون کاهش یافته و از روز ۱۷ تا روز ۲۱ که شروع علائم فحلی چرخه بعدی است مقدار این هورمون افزایش می یابد.

نمودار ۲ تغییرات هورمون استروژن را در یک چرخه فحلی نشان می دهد. استروژن در مایع فولیکولی عامل ایجاد فحلی در دام است. ترشح این هورمون سبب کاهش ترشح هورمون FSH و افزایش مقدار هورمون LH و تخمک ریزی می گردد (۷). در این مطالعه، خون گیری و سنجش هورمون های استروژن و پروژسترون از مرحله استروم شروع می شود. این مرحله از اولین ساعات پذیرفتن نریان شروع و تا زمانی که مادبان دیگر اجازه سرویس به نریان نمی دهد خاتمه می یابد. در این مرحله فولیکل گراف به اندازه کافی بزرگ شده و آماده تخمک ریزی می گردد. استروژن در این مرحله به حداکثر مقدار خود می رسد. مخاط دستگاه تناسلی به رنگ صورتی و پر خون می شود. تخمک ریزی غالباً یک روز قبل از خاتمه این مرحله صورت می گیرد. طول این مرحله حدود ۴-۷ روز است. همانطور که در نمودار ۳ (مربوط به اسب های قره باغ) مشخص گردیده است، زمانی که هورمون استروژن به حداکثر خود می رسد سبب می شود تا هورمون پروژسترون به حداقل مقدار خود برسد (۶). به نظر می رسد غلظت هورمون پروژسترون در طول فصل تولید مثل شاخص مناسبی برای تعیین وضعیت چرخه فحلی مادبان های قره باغ باشد. جدول ۱ مقایسه چرخه تولید مثلی مادبان های قره باغ با مادبان های تروبرد (تولید ژنتیکی استاندارد بین المللی) را نشان می دهد. بر اساس این جدول، پروفیل هورمون های استروژن و پروژسترون در زمان فحلی در اسب های قره باغ از همان الگوی

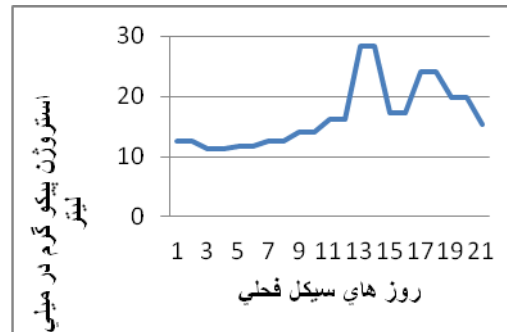
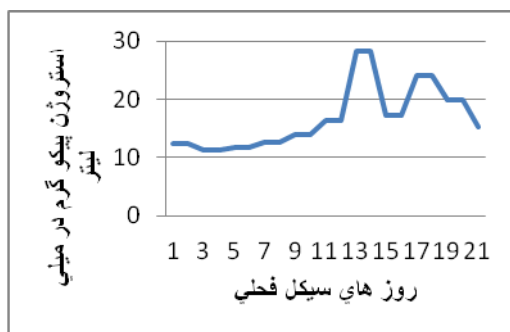
استاندارد پیروی می کنند. طول چرخه تولید مثلی در مادیان قره باغ هم چون مادیان ترابرد در محدوده ۱۸-۲۶ روز قرار دارد. خصوصیات تولید مثلی اسب های قره باغ شامل طول مدت زمان پرواستروس، استروس، مستروس و دایستروس و زمان تخمک ریزی شبیه سایر نژاد های اسب های بومی و اسب های نژاد خارجی (ترابرد) می باشد. زمان تخمک ریزی حدود یک روز قبل از خاتمه فحلی مادیان تشخیص داده شد که با سایر نژاد های بومی و خارجی در یک محدوده قرار دارد.



ب: مادیان فلورا

الف: مادیان ماه نشان

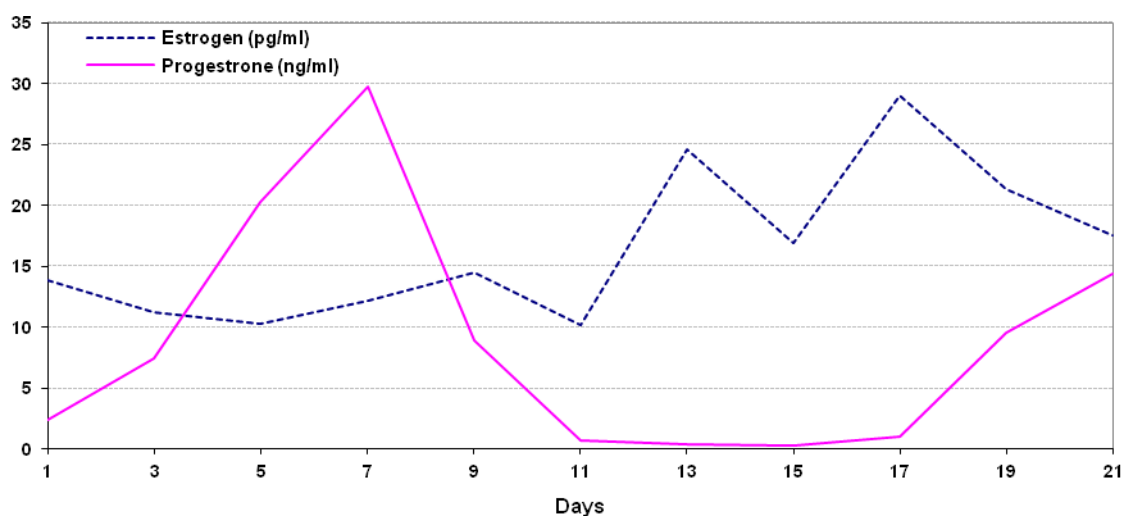
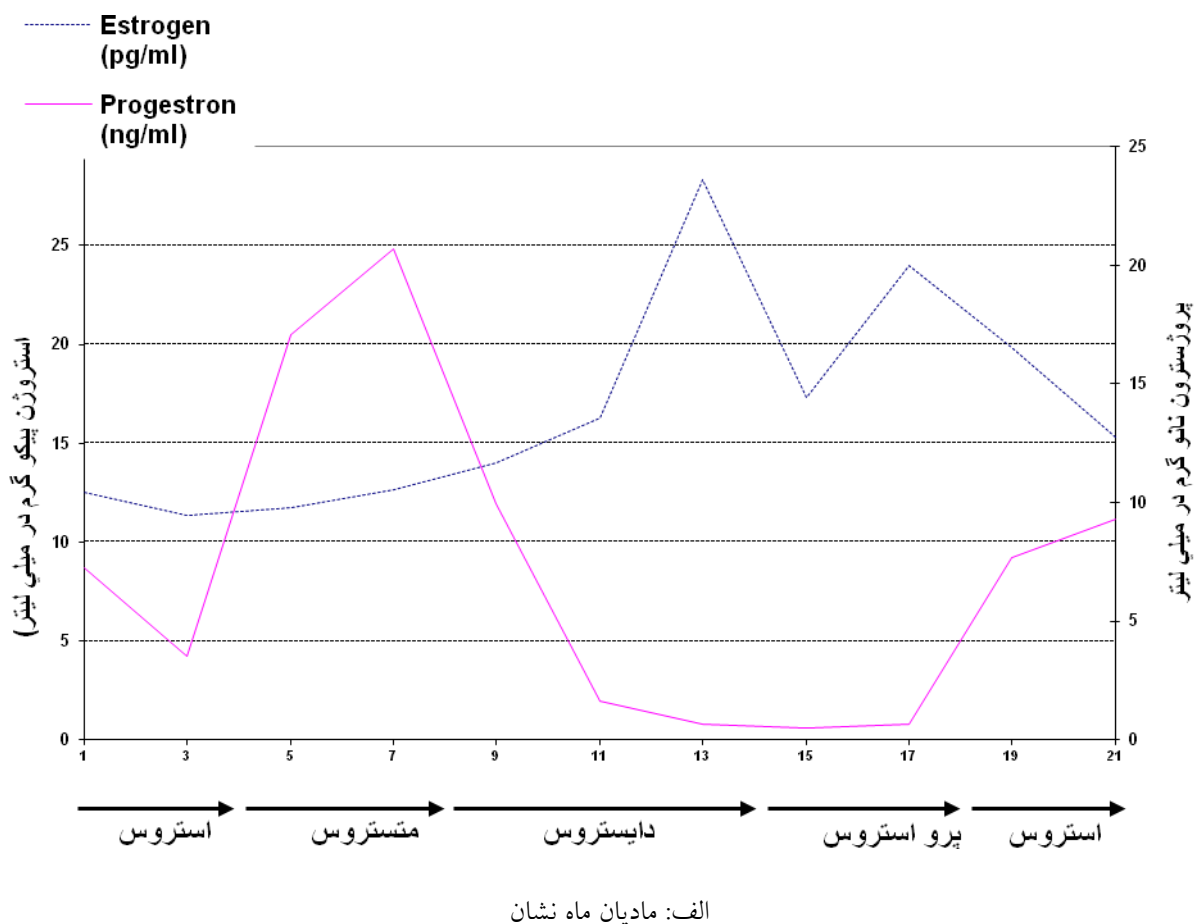
نمودار ۱- مقادیر هورمون پروسترون در یک چرخه فحلی در مادیان های ماه نشان (الف) و فلورا (ب)



ب : مادیان فلورا

الف: مادیان ماه نشان

نمودار ۲- مقادیر هورمون استروژن در یک چرخه فحلی در مادیان های ماه نشان (الف) و فلورا (ب)



نمودار ۳- مقادیر هورمونهای استروژن و پروژسترون در یک سیکل فحلی در مادیان های ماه نشان (الف) و فلورا (ب)

جدول ۱- مقایسه چرخه تولید مثلی مادیان های نژاد قره باغ با مادیان های نژاد ترورید

چرخه تولید مثلی	مادان ترورد (روز)	مادان قره باغ (روز)
پرواستروس	۳-۲	۴-۳
استروس	۸-۴	۶-۵
متستروس	۳-۲	۴-۳
دایستروس	۱۲-۱۰	۹-۸
طول مدت استروس	۲۶-۱۸	۲۲-۱۹
زمان تخمک ریزی	۶-۴ روز بعد از شروع علائم فحلی	۵-۳ روز بعد از شروع علائم فحلی

منابع

۱. امینی، ف. ۱۳۸۸. بررسی خصوصیات تولید مثلی مادان های نژاد ترکمن. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور.
۲. ایزدینیا، ح. ۱۳۸۲. مطالعه صفات تولید مثلی و خصوصیات مرفولوژیکی و وضعیت تغذیه اسب عرب در خوزستان. گزارش نهایی مرکز تحقیقات و منابع طبیعی استان خوزستان.
۳. مدیریت ترویج و مشارکت مردمی. ۱۳۷۶. گزارش مشروح اولین جشنواره اسب قره باغ. نشریه ترویجی.
۴. یوسف نیا، س. ۱۳۸۴. خصوصیات اسب ترکمن. فصلنامه دنیای اسب، سال اول، شماره ۲، صفحه ۱۸-۲۱.
5. Adams G.P. and W.T.K. Bosu. 1988. Reproductive physiology of the non-pregnant mare. Vet. Clin. North Am. 4 (2): 161-176.
6. Boyle M.S., M.W. Sanderson, J. Skidmore, and W.R. Allen. 1989. Use of serial progesterone measurement to assess cycle length, time of ovulation and timing of uterine flushes in order to recover equine Morulae. Equine Vet. J. Suppl. 8: 10-13.
7. Daels P.F., D.C. Ammon, G.H. Stabenfeldt, I.K. Liu, J.P. Hughes, and B.L. Lasley. 1991. Urinary and plasma estrogen conjugates, estradiol and estrone concentrations in non-pregnant and early pregnant mares. Theriogenology. 35 (5): 1001-1017.

A study on estrous cycle of Garbage horse breed in eastern Azerbaijan Province

Abstract

Reproduction has an important role in livestock preserving and proliferation and increasing of its population and productivity. Because there isn't enough information on reproduction of Garbage horse native breed in eastern Azerbaijan province, this study was conducted to evaluate plasma concentration of estrogen and progesterone and the exact time of mating and ovulation during estrous cycle in two Garbage mares with average 300 kg weight and around 7 years old age in a horse breeding center of Tabriz region. Mares were teased daily for detecting the estrous in breeding season (late winter to early spring). In estrous mares, follicular dynamic was detected through ultrasonography and ovary palpation and blood was sampled via jugular vein every other day and plasma estrogen and progesterone was measured by radioimmunoassay. Results indicated that plasma estrogen and progesterone changes of Garbage horse were similar to other horse breeds. Peak amount of progesterone after ovulation was on day 7th of estrous cycle,



whereas peak amount of 17- β estradiol was in day 13th of estrous cycle with two follicular waves. The highest level of progesterone was observed at the lowest level of 17- β estradiol. It is appeared that plasma progesterone concentration during breeding season is a suitable indicator for detection of estrous cycle stage of Garbage mares.

Key words: Garbage horse -Estrogen -Progesterone-Ovulation time

ارتباط بین غلظت لپتین پلاسما و پیوبرتی در جوانه‌گاوهای ماده نجدی

مریم درخشانی^{۱*}، الهام منصوری بنی^۱، مرتضی ممویی^۲، خلیل میرزاده^۲، آرمین توحیدی^۳ و صالح طباطبایی^۲
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی علوم دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ۲-اعضای هیئت علمی دانشکده علوم دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان ۳-عضو هیئت علمی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی پردیس کرج

* نویسنده مسئول: مریم درخشانی، پست الکترونیکی: m.derakhshani65@yahoo.com

چکیده

در حیوان ماده، پیوبرتی عبارت است از سن اولین فحلی آشکار که همراه با تخمک‌ریزی باشد. سن پیوبرتی تحت تأثیر عوامل فیزیکی محیط، دوره نوری، نژاد والدین، درجه حرارت محیط و وزن بدن قرار دارد. لپتین، هورمون پروتئینی با ۱۴۶ اسید آمینه و وزن مولکولی ۱۶ کیلودالتون، توسط ژن چاقی (ob) ساخته می‌شود. این هورمون بیشتر به وسیله بافت چربی سفید تولید می‌شود. لپتین، سبب ترشح GnRH از هیپوتالاموس می‌شود و ترشح پالس‌های GnRH به تدریج سطوح گنادوتروپین سرم را افزایش می‌دهد؛ افزایش گنادوتروپین‌ها در خون باعث ترشح هورمون‌های استروئیدی (استروژن و پروژسترون) از تخمدان و در نهایت منجر به بالغ شدن سیستم تولید مثلی و القای پیوبرتی می‌شود. هدف از این آزمایش بررسی تغییرات غلظت لپتین پلاسما در طول پیوبرتی و ارتباط آن با غلظت پروژسترون می‌باشد. برای این منظور، از ۷ رأس گوساله ماده نجدی ایستگاه اصلاح نژاد و پشتیبانی گاو نجدی شوشتر خوزستان، با میانگین سنی ۸ ماه استفاده گردید. برای تعیین غلظت هورمون‌های لپتین و پروژسترون چند مرحله قبل و بعد از پیوبرتی خونگیری به عمل آمد. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه میانگین غلظت پروژسترون پلاسما در خلال پیوبرتی گوساله‌های ماده نجدی $1/45 \pm 4/18$ و محدوده سن پیوبرتی ۱۶-۱۳ ماه با میانگین وزنی $3/74 \pm 137/81$ کیلوگرم تعیین شد. در این آزمایش برخلاف جنس نر که با افزایش غلظت تستوسترون خون در زمان پیوبرتی، لپتین کاهش می‌یابد، همبستگی معنی‌داری بین غلظت لپتین و پروژسترون پلاسما یافت نشد. واژه‌های کلیدی: پیوبرتی - لپتین - ابعاد تخمدان - همبستگی - گوساله ماده نجدی

مقدمه

پیوبرتی در حیوانات مزرعه‌ای، یک فرآیند پیچیده است که فاکتورها و علائم اولیه و ثانویه زیادی در آن دخالت دارد. سن بلوغ تحت تأثیر عوامل فیزیکی محیط، دوره نوری، نژاد والدین، درجه حرارت محیط و وزن است. شروع پیوبرتی اساساً شامل فعال شدن محورهای H-P-G است که در نهایت باعث گامتوزن و تولید استروئیدهای جنسی بوسیله گونادها می‌شود. به تازگی روشن شده است که لپتین دارای اثر محرک بر ترشح گنادوتروپین‌ها در برخی از گونه‌های پستانداران است (۱). لپتین، هورمون پروتئینی با ۱۴۶ اسید آمینه و وزن مولکولی ۱۶ کیلودالتون، توسط ژن چاقی (ob) ساخته می‌شود. این هورمون بیشتر به وسیله بافت چربی سفید تولید می‌شود. لپتین، سبب ترشح GnRH از هیپوتالاموس می‌شود و ترشح پالس‌های GnRH به تدریج سطوح گنادوتروپین سرم را افزایش می‌دهد، افزایش گنادوتروپین‌ها در خون باعث ترشح هورمون‌های استروئیدی (استروژن و پروژسترون) از تخمدان و در نهایت منجر به بالغ شدن سیستم تولید مثلی و القای پیوبرتی می‌شود (۱۵).

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۷ رأس گوساله ماده نجدی ایستگاه اصلاح نژاد و پشتیبانی گاو نجدی شوشتر استان خوزستان با میانگین سنی ۸ ماه استفاده شد. در آغاز آزمایش حیوانات از نظر وضعیت سلامت عمومی و عدم ابتلا به بیماری معاینه و در شرایط تغذیه‌ای و مدیریتی یکسان نگهداری شدند. به منظور تعیین غلظت هورمون لپتین هر ماه و برای پروژسترون، هفته‌ای ۲ بار قبل و بعد از رسیدن به بلوغ جنسی نمونه‌های خون از سیاهرگ و داج جمع آوری شد. بی‌درنگ پس از خون‌گیری نمونه‌های حاصل در سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. نمونه‌های پلاسما تا زمان اندازه‌گیری غلظت هورمون، داخل لوله‌های پلاستیکی در فریزر آزمایشگاه مرکزی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان در دمای °C ۲۰- نگهداری شدند. فعالیت تخمدان‌ها از نظر وضعیت رشد فولیکولی و تشکیل جسم زرد به منظور تعیین پیوبرتی جنسی از راه توشه رکتال و دستگاه سونوگرافی بررسی شدند. غلظت پلاسمایی هورمون لپتین به روش رادیوایمنواسی با استفاده از کیت تجاری ساخت شرکت میلی پور آمریکا (Milli Pore Leptin-RIA-kit) و غلظت هورمون پروژسترون نیز با روش RIA اندازه‌گیری شد. تغییرات غلظت هورمون‌های لپتین، پروژسترون و ابعاد تخمدان در مراحل قبل و بعد پیوبرتی جنسی به روش آنالیز واریانس اندازه‌گیری‌های مکرر و با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج بصورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ ارائه شده است.

نتایج و بحث

هورمون پروژسترون

تفاوت میانگین غلظت هورمون پروژسترون در مراحل قبل و پس از پیوبرتی جنسی در جدول ۱ آمده است. با توجه به نتایج به دست آمده اختلاف آماری معنی داری بین غلظت پروژسترون در مراحل قبل از پیوبرتی و پس از پیوبرتی ($P < 0.05$) مشاهده شد.

(جدول ۱) تفاوت میانگین غلظت پلاسمایی پروژسترون در مراحل قبل از پیوبرتی و پس از پیوبرتی گاوهای ماده نجدی

پس از پیوبرتی (۱۶-۱۳ ماهگی)	قبل از پیوبرتی (۱۲-۸ ماهگی)
4.18 ± 1.45^a	3.02 ± 0.77^b
غلظت پلاسمایی پروژسترون (ng/ml)	

اعداد با حروف نامشابه دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P < 0.05$).

تلیسه‌ها با نمایش اولین فحلی به پیوبرتی می‌رسند و به دنبال آن مرحله رشد جسم زرد طبیعی آغاز می‌شود (۱۲). نخستین تخمک‌ریزی و تشکیل اولین جسم زرد که نشانه پیوبرتی می‌باشد را می‌توان با بررسی تخمدان‌ها از طریق اولتراسونوگرافی و یا لمس آن‌ها از راه راست روده در گاو، اسب و گاو میش مشخص کرد (۲). از آنجا که سن دقیقی برای گوساله‌های ماده نجدی ثبت نشده بود، در مطالعه حاضر برای اولین بار، سن دقیقی برای پیوبرتی این نژاد در شرایط تغذیه و اقلیمی مشخصی به دست آمد. با

توجه به یافته‌های به دست آمده از توشه رکتال و سونوگرافی تک تک دام‌ها، و لمس فولیکول‌ها در سطح تخمدان و تایید حضور جسم زرد و با در نظر گرفتن بومی بودن این نژاد و استعداد های فردی هر دام و محدودیت های مدیریتی و تغذیه ای که وجود داشت، محدوده سن پیوبرتی در این نژاد بومی ۱۶-۱۳ ماهگی و با میانگین وزنی $137/81 \pm 13/5$ کیلوگرم تعیین گردید. میانگین غلظت پروژسترون در این محدوده سن پیوبرتی، $4/18 \pm 1/45$ نانوگرم بر میلی لیتر بود به طوری که افزایش معنی داری در میانگین غلظت پروژسترون نسبت به دوره قبل از پیوبرتی مشاهده شد. غلظت پروژسترون پلاسمای بیش از 1 ng/ml اغلب به عنوان معیار پیوبرتی برای تلیسه ها استفاده می شود (۵). مطالعات انجام شده بر غلظت پروژسترون پلازما به عنوان معیار پیوبرتی در تلیسه های تلاقی یافته برهمن نشان داد که تلیسه های تلاقی یافته برهمن قبل از پیوبرتی ممکن است غلظت پروژسترون بیش از $1/5 \text{ ng/ml}$ را نشان دهند (۵). همچنین در پژوهشی، سن ۱۸ ماهگی را به عنوان سن پیوبرتی در اولین آبستنی تلیسه های هولشتاین-فریزن متولد شده در سودان مطرح کردند که بیشتر از ۵۰٪ تلیسه ها علایم فعلی را از خود نشان دادند و حضور جسم زرد در تخمدان آن ها نیز تشخیص داده شد (۱۶). تفاوت سن پیوبرتی در نژادهای مختلف، به دلیل فاکتورهای ژنتیکی و محیطی از جمله تغذیه، بیماری، درجه حرارت، مدیریت و فصل تولد است که نسبت رشد تلیسه ها را تحت تاثیر قرار می دهند.

تفاوت اندازه تخمدان های چپ و راست

گوساله های ماده نجدی از سن حدود ۱۰ ماهگی سونوگرافی شدند. از این مرحله تا محدوده سن پیوبرتی شکل تخمدان ها به تدریج از حالت لوبیایی شکل و غیرفعال به حالت گرد و فعال تبدیل شد. از نظر فعالیت، رشد فولیکولی و تخمک ریزی، تخمدان راست فعالیت از تخمدان چپ بود. با توجه به نتایج به دست آمده، بین ابعاد تخمدان راست و چپ اختلاف آماری معنی داری مشاهده شد به طوری که ابعاد تخمدان راست بزرگتر از تخمدان چپ بود که این اختلاف در اندازه تخمدان ناشی از فعال بودن تخمدان سمت راست نسبت به تخمدان چپ در موقع اندازه گیری است. پیوبرتی جنسی تلیسه ها شامل افزایش محیط تخمدان می باشد که بیشتر در سن ۱۳ ماهگی اتفاق می افتد (۱۱). طول تخمدان ها بین $1/5$ تا ۵ سانتی متر و قطر آن ها بین ۱ تا ۳ سانتی متر می باشد و به مرحله ای از چرخه تولید مثل که دام در آن قرار دارد، بستگی دارد. همچنین ساختمان تخمدان ثابت نیست و شکل ظاهری آن ها به طور دایم در حال تغییر است که با چرخه رشد فولیکول ها، تحلیل رفتن فولیکول ها، تخمک ریزی، رشد و پسروی جسم زرد مرتبط است (۳).

میانگین ابعاد تخمدان های راست و چپ

اندازه تخمدان (mm)		
طول	عرض	
$14/8 \pm 3/6^a$	$10/13 \pm 3/35^a$	تخمدان راست
$10/51 \pm 2/91^b$	$6/45 \pm 1/38^b$	تخمدان چپ

حروف نامشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0/01$).

براساس نتایج به دست آمده (جدول ۲) مشخص شد که بین غلظت لپتین در مراحل قبل و پس از پیوبرتی جنسی، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.01$)، به‌طوری‌که میانگین غلظت لپتین برای محدوده سنی ۸-۱۲ ماهه کمترین ($23/61 \pm 4$) نانوگرم بر میلی‌لیتر) و برای محدوده سنی ۱۶-۱۳ ماهه بیشترین مقدار ($35/15 \pm 4/41$) نانوگرم بر میلی‌لیتر) می‌باشد.

جدول ۲: میانگین غلظت پلاسمایی لپتین در مراحل قبل و پس از پیوبرتی جنسی گاوهای ماده نجدی

غلظت پلاسمایی لپتین (ng/ml)	قبل از پیوبرتی (۸-۱۲ ماهگی)	پس از پیوبرتی (۱۳-۱۶ ماهگی)
	$23/61 \pm 4^b$	$35/15 \pm 4/41^a$

اعداد با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.01$).

لپتین دارای اثر محرک بر ترشح گنادوتروپین‌ها در برخی از گونه‌های پستانداران است (۱). با توجه به نتایج بدست آمده با نزدیک شدن پیوبرتی غلظت لپتین پلازما افزایش می‌یابد. در مطالعات گارسیا و همکاران (۹) میزان تولید mRNA لپتین در بافت چربی و میزان لپتین سرم در حین پیوبرتی بررسی گردید و نشان داده شد که میزان لپتین در گاوهای شیری از هفته ۱۶ قبل از تخم‌کری تا هفته شروع تشکیل تخمک بالغ به طور خطی افزایش می‌یابد. همچنین این محققین نشان دادند که میزان لپتین و IGF-1 سرم و بیان ژن لپتین در نزدیکی پیوبرتی افزایش می‌یابد ولی افزایش میزان لپتین سرم در حین پیوبرتی به علت افزایش فعالیت باند شدن لپتین نمی‌باشد. بلاک و همکاران (۷) با تحقیق بر تنظیم تغذیه‌ای و رشدی لپتین پلازما در گاو شیری به این نتیجه نرسیدند و استنباط کردند که ممکن است، زمانی که منابع متابولیسمی کافی باشد، لپتین یک فاکتور مساعدت کننده برای شروع تشکیل تخمک بالغ است، اما ترشح لپتین به تنهایی برای شروع پیوبرتی کافی نیست. غلظت لپتین سرم در جوندگان و انسان‌ها، با نزدیک شدن پیوبرتی به صورت خطی افزایش می‌یابد (۴ و ۱۳). در این مطالعه انجام شده همبستگی معنی‌داری بین غلظت پلاسمایی لپتین و پروژسترون یافت نشد. تغییرات در لپتین سرم با پروژسترون پلازما همبستگی ندارد (۹). افزودن لپتین به محیط کشت سلول‌های گرانولوزای رت و انسان هیچ تاثیری بر تولید پروژسترون نداشت، اما زمانی که FSH و دگزامتازون هر دو به محیط کشت اضافه شود ترشح پروژسترون افزایش می‌یابد (۶). لپتین دارای اثر مهاری بر ترشح پروژسترون در بافت‌هایی از جمله سلول‌های گرانولوزای انسان (۱۰)، سلول‌های گرانولوزای گاو (۸) و سلول‌های گرانولوزای رت (۱۴) است.

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که یکی از مهم‌ترین عملکردهای اندوکرینی بافت چربی، تولید و آزادسازی لپتین می‌باشد که نقش بارزی در تنظیم ذخایر انرژی و باروری دارد. لپتین سیگنال مهمی بین میزان انباشت چربی و آغاز تولید مثل است و مغز را از کافی بودن ذخائر انرژی برای تامین نیازهای بالای تولیدمثل، آگاه و به این صورت در آغاز و زمان بندی پیوبرتی موثر است (۴).

منابع:

۱. توحیدی، آ. ۱۳۸۱. اثرات انرژی و هورمون لپتین بر ترشح هورمون های جنسی و متابولیسم و میزان تخمک گذاری در میش. رساله دکتری تخصصی. دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس.
۲. ضمیری، م. ج. ۱۳۸۵. فیزیولوژی تولیدمثل. انتشارات حق شناس. رشت. ۴۴۸ ص.
۳. بال، پی. جی. و پیترز، آ. ر. ۱۹۹۵. تولیدمثل در گاو. امیر هوشنگ فلاح راد. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۳۴۰ ص.
1. Ahima, R. S., J. Dushay., S. N. Flier., D. Prabakaran and J. S. Flier. 1997. Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice. The Journal of Clinical investigation. 99: 391-395.
2. Arthington, J. D and R. F. Cooke. 2008. Plasma progesterone concentrations as puberty criteria for Brahman-crossbred heifers. Animal Reproduction Science. 235-239.
3. Barkan, D., H. Jia., A. Dantes., L. Vardimon., A. Amsterdam and M. Rubinstein. 1999.
4. Leptin modulates the glucocorticoid-induced ovarian steroidogenesis. Endocrinology. 140:1731-8.
5. Block, S. S., M. Smith., R. A. Ehrhardt., M. C. Diaz., R. P. Rhoads., M. E. van Amburgh and Y. R. Biosclair. 2003 a. Nutritional and developmental regulation of plasma leptin in dairy cattle. J. Dairy Sci. 86: 3206-3214.
6. Brannian, J., Y. Zhao., M. McElroy. 1999. Leptin inhibits gonadotrophin-stimulated granulosa cell progesterone production by antagonizing insulin action. Hum Reprod. 14: 1445-1448.
7. Garcia, M. R., M. Amestalden., S. W. Williams., R. L. Stanko., C. D. Morrison and D. H. Keisler. 2002. Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. J. Anim. Sci. 80: 2158-2167.
8. Greisen, S., T. Ledet., N. Moller., J. O. Jorgensen., J. S. Christiansen., K. Petersen and P. Ovesen. 2000. Effects of leptin on basal and FSH stimulated steroidogenesis in human granulosa luteal cells. Acta Obstet Gynecol Scand. 79: 931-935.
9. Lobo, R. B., M. B. Fernandes., W. E. Maffei., L. A. F. Bezerra., M. P. Lobo., D. Gavio., L. B. Ribeiro. 2001. Estudo preliminar da mensuracao do perimetro ovariano em bezerras da raca Nelore participantes do PMGRN. Rev. Bras. Reprod. Anim. 25, 127-128.
10. Nogueira, G. P. 2004. Puberty in South American Bos indicus (Zebu) cattle. Animal Reproduction Science. 82-83: 361-372.
11. Quinton, N. D., R. F. Smith., P. E. Clayton., M. S. Gills., S. Shalet., S. K. Justice., S. A. Simon., S. Walters., M. C. Postel-Vinay., A. I. F. Blakmore and R. J. M. Ross. 1999. Leptin binding activity changes age: The link between leptin and puberty. Endocrinology 84: 2336-2341.
12. Spicer, L. J., C. S. Chamberlain., C. C. Francisco. 2000. Ovarian action of leptin: effects on insulin-like growth factor-I-stimulated function of granulosa and thecal cells. Endocrine. 12: 53-59.
13. Yu, W. H., A. Walczewska., S. Karanth and S. M. McCan. 1997. Nitric oxide mediates leptin-Induced luteinizing hormone-releasing hormone(LHRH) and LHRH and leptin-induced LH release from the pituitary gland. Endocrinology. 138: 5055-5058.
14. Zain, H. A., E. Abdein and S. A. Makkawi. 2006. Age at puberty and the effect of season of birth on age and bodyweight at first conception in Holstein- Friesian heifers born in Sudan. Journal of Animal and Veterinary Advances. 5: 418-422.

The relationship between plasma leptin concentrations and puberty in Najdi female calves

Maryam Derakhshani^{* 1}, Elham Mansouri beni¹, Morteza Mamoei², Khalil mirzadeh², Armin Towhidi³, Saleh Tabatabaei²

1-Master science of domestic animal physiology Ramin Agriculture and Natural Resources University of khozestan 2-member board of professor of Department of Animal Science of Agriculture and Natural Resources University of Khozestan 3-member board of perofessor of Pardis Agriculture and Natural Resources University of Karaj

* Corresponding E-mail address: m.derakhshani65@yahoo.com

Abstract

In female animal, puberty is the age that first of estrus with ovulation is occurred. Puberty is under influence of physical environment factors including photo period, parents race, temperature and body weight. Leptin, the peptide hormone with 146 amino acid and 16 kDa protein is produced by the obese gene. This hormone mainly is produced by white adipose tissue. Leptin stimulates GnRH secretion and GnRH pulses gradually increase the levels of serum gonadotrophin. Increasing the secretion of gonadotropins in blood result in the esteroids hormones (estrogene and progesterone) secretion from ovary. This hormones induce the puberty and the maturation of reproductive system. The objective of this experiment was to study the changes of plasma leptin concentration during puberty and its relationship with progesterone concentration in Najdi female calves. For this purpose, 7 female Najdi calves of Shushtar Breeding Station of Najdi cattle with average ages of 8 months were used. For determination the leptin and progesterone concentrations, multiple sampling before and after puberty were performed. The results of this study indicate that mean plasma progesterone concentrations during puberty was 4.18 ± 1.45 in female Najdi calves and 13-16 month with 137.81 ± 13.5 kg body weight was considered as the age of puberty. In this experiment contrary to bull calves that plasma concentrations of leptin decreased during puberty, significantly correlation between leptin and progesterone concentrations were not found.

Keywords: puberty- leptin- ovary size- correlation- Najdi female calves

اثر غلظت‌های متفاوت ژله رویال بر رشد فولیکول‌های بزرگ، تولید تخم مرغ

و جوجه درآوری مرغ‌های مولد بومی

مهدی حفاوتی طبری^۱، زربخت انصاری پیرسرانی^{۲*} و مهرداد ایرانی^۱

گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر، ۲- گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

*نویسنده مسوول: زربخت انصاری zarbakht_ansari@yahoo.com

چکیده

در این پژوهش اثر ژله رویال بر جوجه درآوری، تولید تخم مرغ و قطر فولیکول‌های بزرگ تخمدان مرغ‌های مولد بومی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن زنده) و سه تکرار (۱۰ مرغ و یک خروس در هر تکرار) مورد مطالعه قرار گرفت. محلول ژله رویال به صورت زیر پوستی هر صبح به مدت دو هفته تزریق شد و رکورد برداری تا یک هفته بعد از آن ادامه یافت. دو مرغ از هر تکرار در پایان هفته بعد از تزریق به منظور اندازه‌گیری قطر فولیکول‌های بزرگ تخمدان کشتار شدند. تفاوت معنی‌داری در نرخ جوجه درآوری، قطر فولیکول‌های زرد بزرگ تخمدان و تولید تخم مرغ در بین تیمارهای ژله رویال و گروه شاهد دیده نشد. وزن بدن به طور معنی‌داری در تیمار با ۱ میلی گرم ژله رویال نسبت به شاهد افزایش نشان داد ($P < 0/05$). در هفته اول تزریق وزن بدن به طور معنی‌داری در تیمار با ۱ میلی گرم نسبت به ۰/۵ میلی گرم ژله رویال و شاهد افزایش داشت ($P < 0/05$). افزایش معنی‌داری در وزن تخم مرغ با تیمار ۱/۵ میلی گرم نسبت به ۰/۵ میلی گرم ژله رویال و شاهد در مدت تزریق ژله رویال مشاهده شد ($P < 0/05$). همچنین وزن تخم مرغ با تیمار ۱ میلی گرم ژله رویال در مقایسه با تیمار ۰/۵ و ۱/۵ میلی گرم ژله رویال در هفته اول تزریق افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). نتیجه این مطالعه نشان داد که تزریق ژله رویال ممکن است بر ویژگی‌های تخم و وزن بدن تاثیر بگذارد، ولی مطالعه بیشتری نیاز است تا در مورد جوجه درآوری و پارامترهای دیگر تصمیم‌گیری شود.

واژگان کلیدی: ژله رویال- رشد فولیکول- تولید تخم- جوجه درآوری- مرغ مادر

مقدمه

بهبود بخشیدن به عملکرد تولید مثل مرغ‌های مولد بومی (در راستای حفظ ذخایر ژنتیکی)، به علت بازده کم تولید مثلی نسبت به طيور تجاری، از اهداف هر کشور می‌باشد. پژوهش‌ها اهمیت مواد مغذی همچون ویتامین‌ها، مواد معدنی و پروتئین در تغذیه گله مادر را برای تکامل جنین و جوجه درآوری نشان می‌دهد (۲۱). از جمله مواد خوراکی طبیعی دارای، انواع مواد مغذی می‌توان ژله رویال را نام برد (۱۶ و ۱۹) این ماده (توسط زنبورهای کارگر جوان تولید می‌شود) غذای مخصوص ملکه زنبور عسل می‌باشد و فعالیت‌های شبیه هورمون‌های استروئیدی دارد (۱۵). ژله رویال حاوی تستوسترون بوده (۱۰) و ژله رویال در بیشتر مطالعات نشان داد به طور معنی‌داری ویژگی‌های تولید مثلی را بهبود می‌بخشد (۱۱). این ماده افزایش وزن را در بوقلمون داشته (۷) و همچنین به طور معنی‌داری باعث افزایش عملکرد مرغ‌های مادر گوشتی تجاری شده است (۹).

مواد و روش:

یکصد و بیست قطعه مرغ مولد بومی تخم‌گذار و ۱۰ قطعه خروس نسل هجدهم از مرکز اصلاح نژاد مرغ بومی مازندران در سن ۶۰ هفتگی به‌طور تصادفی انتخاب و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار، سه تکرار و ۱۰ قطعه مرغ در هر تکرار دسته بندی شدند. مرغ‌ها به مدت چهار هفته نگهداری شدند. هفته اول برای سازگاری و از هفته دوم تیمارهای آزمایشی با مقادیر صفر، نیم، یک و یک‌ونیم میلی گرم ژله رویال به ازای هر کیلوگرم وزن زنده مرغ‌ها در نظر گرفته شدند. به مدت دو هفته (هفته اول و دوم تزریق ژله رویال)، هر صبح ژله رویال به صورت محلول در آب مقطر و در ناحیه گردن به صورت زیر پوستی تزریق

شد (۴). غلظت ژله رویال با توجه به پژوهش Hassan (۲۰۰۹) انتخاب شد (یک میلی گرم به ازای وزن زنده) (۱۰). پس از دو هفته تزریق ژله رویال، مرغ‌ها یک هفته دیگر (هفته پس از تزریق) نگهداری و رکورد برداری شدند. در پایان هفته‌ی پس از تزریق (۶۳ هفتگی) از هر تکرار دو مرغ (شش قطعه در هر تیمار) برای اندازه گیری قطر فولیکول‌های زرد بزرگ تخمدان کشتار شدند. دویست و شصت تخم مرغ نگهداری شده برای جوجه کشی، پس از ثبت شماره به همراه تخم مرغ‌های دیگر در دستگاه ستر با شرایط یکسان قرار داده شد. داده‌های جمع آوری و ثبت شده، در نرم افزار Excel، با رویه‌ی GLM نرم افزار SAS ۹.۱ (۱۷) مورد ارزیابی گرفت و میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند. مدل آماری طرح کاملاً تصادفی: $\mu + e_{ij}$

$$Y_{ij} = T_i$$

نتایج و بحث:

اثر ژله رویال بر جوجه درآوری

جدول ۱ نشان می دهد غلظت‌های استفاده شده از ژله رویال منجر به کاهش جوجه درآوری نسبت به تیمار شاهد نشده است و تفاوت معنی داری در افزایش یا کاهش جوجه درآوری دیده نشد. از آنجایی که مواد مغذی مؤثر در جوجه درآوری (۲۱) در ژله رویال هم وجود دارد (۱۴)، ممکن بود با استفاده از غلظت‌های بیشتر ژله رویال، با افزایش مدت تزریق، تفاوت معنی داری در افزایش نرخ جوجه درآوری نسبت به تیمار شاهد مشاهده می‌شد. مقدم و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند تزریق ژله رویال درون تخم مرغ اثر مثبتی بر جوجه درآوری نداشت. همچنین جوجه درآوری تمامی تیمارها کمتر از تیمار شاهد بود. (۱۲).

جدول ۱- اثر غلظت های متفاوت ژله رویال (mg /kgbw) جوجه درآوری مرغ‌های مولد بومی
(SEM $\pm$ میانگین) در هفته پس از تزریق ژله رویال (۶۳ هفتگی)

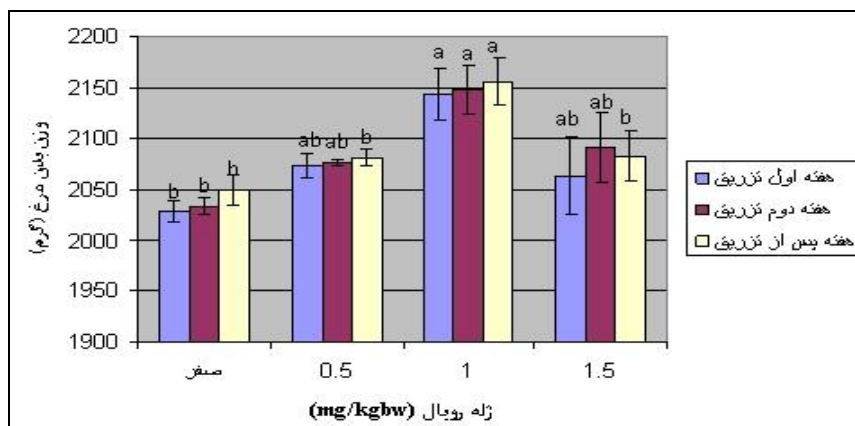
تیمار	صفر	۰/۵	۱	۱/۵	SEM
تعداد تخم مرغ	۲۵ $\pm$ ۲/۶۵ ^a	۲۴ $\pm$ ۰/۸۸ ^{ab}	۱۷/۳۳ $\pm$ ۱/۷۶ ^b	۱۹ $\pm$ ۲/۵۲ ^{ab}	۱/۰۳۷
تخم مرغ‌های غیربارور	۶/۶۷ $\pm$ ۴/۴۱	۳ $\pm$ ۱	۴ $\pm$ ۱/۱۵	۴ $\pm$ ۱/۵۳	۱/۳۵۱
تخم مرغ‌های بارور	۱۸/۳۳ $\pm$ ۴/۸۱	۲۰/۵۰ $\pm$ ۰/۵	۱۴ $\pm$ ۱/۱۵	۱۵ $\pm$ ۱/۷۳	۱/۴۶۴
هچ نشده	۲/۶۷ $\pm$ ۰/۸۸	۳ $\pm$ ۰	۲/۳۳ $\pm$ ۰/۳۳	۲ $\pm$ ۰	۰/۲۶۳
هچ شده	۱۵/۶۷ $\pm$ ۵/۳۶	۱۷/۵۰ $\pm$ ۰/۵	۱۱/۶۷ $\pm$ ۱/۲۰	۱۳ $\pm$ ۱/۷۳	۱/۶۱۱
درصد هچ	۷۹/۶۰ $\pm$ ۱۲/۲۰	۸۵/۷۱ $\pm$ ۰	۸۳/۱۳ $\pm$ ۲/۵۸	۸۶/۳۰ $\pm$ ۱/۶۱	۳/۵۱۰

حروف نا مشابه در هر سطر، به معنی وجود اختلاف معنی دار بین میانگین‌ها در سطح خطای آماری ۵٪ می‌باشد.

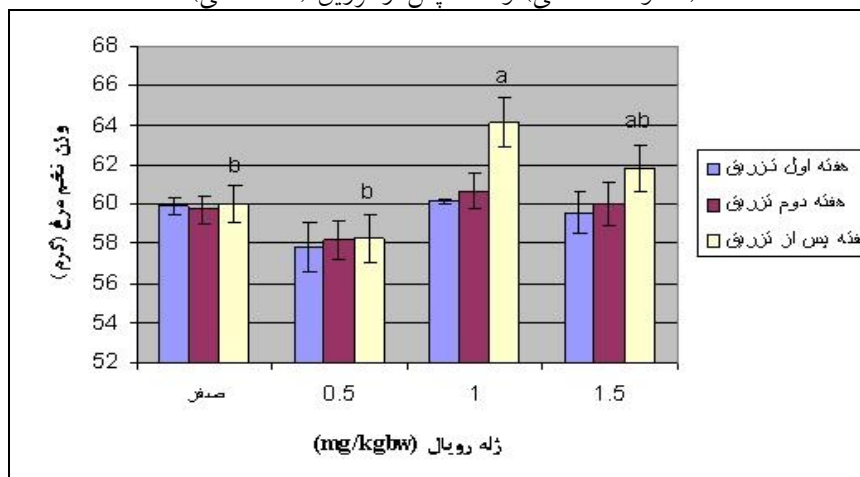
اثر ژله رویال بر وزن بدن، تولید تخم مرغ، وزن تخم مرغ جمع آوری شده طی آزمایش

دراین پژوهش وزن زنده مرغ‌ها در هفته اول تزریق ژله رویال (۶۱ هفتگی) در تیمار با غلظت یک میلی گرم نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی داری داشت ($P < ۰/۰۵$). بیشترین افزایش وزن بدن در هفته اول و دوم تزریق (۶۱ و ۶۲ هفتگی) مربوط به تیمار با غلظت یک میلی گرم است. در هفته پس از پایان تزریق (۶۳ هفتگی)، وزن بدن فقط در تیمار با غلظت یک میلی گرم نسبت به دیگر تیمارها افزایش معنی داری نشان داد ($P < ۰/۰۵$). اسید آمینه آرژنین محرک ترشح هورمون رشد (۳) و همچنین پلی پپتید شبه انسولین منجر به ترقی رشد می‌شود (۱۲). افزایش و یا وزن آویداکت در پی استفاده از هورمون‌های استروئیدی گنادها به خوبی ثابت شده است (۱۶). امکان دارد هورمون‌های جنسی (۱۰)، فاکتور شبه انسولین (۱۹)، اسید آمینه آرژنین و دیگر اسیدهای آمینه (۲۰) موجود در ژله رویال منجر به افزایش وزن آویداکت و در نهایت وزن بدن شده باشد. وزن تخم مرغ در هفته

پس از تزریق (۶۳ هفتگی) در تیمار با غلظت یک نسبت به تیمارهای با غلظت نیم میلی گرم و تیمار شاهد افزایش معنی داری داشت ($P < 0/05$). عامل مهم کنترل وزن تخم مرغ ترشح استروژن و پروژسترون از راه اثر بر آویداکت و ترشح آلبومین و آویدین می باشد (۲). احتمال می رود علت افزایش وزن تخم مرغ، وجود ترکیبات استروژنی در ژله رویال و اثر تحریک کنندگی آن بر ترشح استروژن باشد. گزارش شد مصرف ژله رویال به صورت خوراکی در اردک (۵) بوقلمون (۷) مرغ تخم گذار (۶) به طور معنی داری باعث افزایش وزن بدن می شود که با یافته پژوهش حاضر هم خوانی دارد. همچنین Bonomi و همکاران (۲۰۰۰a) و Hammad (۲۰۰۶) گزارش کردند به طور معنی داری مصرف ژله رویال، باعث افزایش وزن تخم مرغ و بدن مرغ می شود که با این پژوهش هم خوانی دارد (۶ و ۹).



نمودار ۱- اثر غلظت های متفاوت ژله رویال بر وزن بدن مرغ های مولد بومی در هفته اول و دوم تزریق (۶۱ و ۶۲ هفتگی) و هفته پس از تزریق (۶۳ هفتگی)



نمودار ۲- اثر غلظت های متفاوت ژله رویال بر وزن تخم مرغ مرغ های مولد بومی در هفته اول و دوم تزریق (۶۱ و ۶۲ هفتگی) و هفته پس از تزریق (۶۳ هفتگی)

اثر ژله رویال بر قطر فولیکول های زرد بزرگ تخمدان

نتایج جدول ۲ نشان می دهد تفاوت معنی داری در اندازه قطر فولیکول های تخمدان در تمامی تیمارها دیده نشد. ثابت شد هورمون رشد با افزایش موضعی IGF-I در سلول های بافت تخمدان می تواند باعث رشد فولیکول ها شود. هورمون رشد به طور هم زمان با اثر بر جگر زرده سازی را تحریک می کند (۱). استروژن ها، در تولید اجزای اصلی زرده نقش مهمی دارند (۲). انصاری و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کرد در پی کاربرد هورمون رشد + تستوسترون شماره فولیکول ها افزایش معنی داری یافت که سبب



افزایش معنی دار قطر همه فولیکول‌های سفید و زرد کوچک و بزرگ شد. اما اثر معنی داری در فولیکول‌های بزرگ زرده دار دیده نشد (۴). شاید تأثیر ژله رویال بیشتر بر فولیکول‌های ریز باشد تا بزرگ، زیرا اثر محرک‌های رشد بر فولیکول‌های ریز بیشتر از بزرگ است. در این پژوهش افزایش غلظت تری‌گلیسیرید و VLDL در پلاسما افزایش معنی داری نشان داد ($P < 0/05$). این امر می‌تواند حاکی از فراهم شدن پیش سازهای افزایش تولید تخم مرغ باشد. احتمال دارد هورمون‌های موجود در ژله رویال در افزایش لیپیدهای جگر مؤثر باشد. شاید با کاربرد غلظت‌های بیشتر یا افزایش زمان تزریق با همان غلظت‌های استفاده شده سبب افزایش شمار فولیکول ریز تخمدان و قطر فولیکول‌های بزرگ آن شود.

جدول ۱- اثر غلظت‌های متفاوت ژله رویال (mg/kgbw) جوجه درآوری مرغ‌های مولد بومی (SEM $\pm$ میانگین) در هفته پس از تزریق ژله رویال (۶۳ هفتگی)

تیمار فولیکول	صفر	۰/۵	۱	۱/۵	SEM
F ₁	۲۹/۵۶ $\pm$ ۰/۴۴	۱۳/۳۹ $\pm$ ۰/۶۷	۳۰/۱۷ $\pm$ ۰/۹۹	۳۰/۱۰ $\pm$ ۰/۹	۰/۴۱۶
F ₂	۲۵/۸۸ $\pm$ ۰/۴۹	۲۸/۵۰ $\pm$ ۰/۹۴	۲۷/۱۹ $\pm$ ۱/۱۵	۲۶/۸۸ $\pm$ ۰/۶۶	۰/۴۳۱
F ₃	۲۱/۷۷ $\pm$ ۰/۸۴	۲۴/۲۹ $\pm$ ۱/۴۴	۲۳/۹۵ $\pm$ ۱/۰۴	۲۱/۰۹ $\pm$ ۱/۹۷	۰/۷۳۳
F ₄	۲۰/۳۷ $\pm$ ۰/۴۱	۱۸/۵۶ $\pm$ ۱/۴۳	۱۸/۴۳ $\pm$ ۱/۱۳	۱۹/۸۸ $\pm$ ۰/۸۲	۰/۶۸۳
F ₅	۱۳/۵۳ $\pm$ ۰/۶۵	۱۳/۳۱ $\pm$ ۰/۹۲	۱۶/۳۲ $\pm$ ۱/۰۴	۱۳/۴۲ $\pm$ ۰/۸۴	۰/۴۳۷

حروف با مشابه در هر سطر، به معنی وجود اختلاف معنی دار بین میانگین‌ها در سطح خطای آماری ۵٪ می‌باشد.

نتیجه گیری کلی

یافته‌ها دلالت بر آن دارند که تزریق ژله رویال ممکن است بر ویژگی‌های تخم و وزن بدن تأثیر بگذارد، ولی مطالعه بیشتری نیاز است تا در مورد جوجه درآوری و پارامترهای دیگر تصمیم گیری شود.

منابع :

۱. انصاری پیرسرای ز. ۱۳۸۸. تأثیر تزریق تستوسترون و هورمون رشد بر بیان ژن های IGF-I و پروتئین نوع II متصل شونده به IGF در مرغ های مولد بومی مازندران. رساله دکتری دانشگاه تهران. ۹۱ صفحه.
۲. ضمیری م ج. ۱۳۸۰. تولید مثل در پرندگان اهلی. ترجمه. انتشارات دانشگاه شیراز. ۴۲۳ صفحه.
۳. جواهری زاده ه. زاهدی ص. ۱۳۷۸. فیزیولوژی غدد درون ریز. ترجمه. چاپ اول. نشر شادگان تهران. ۲۷۰ صفحه.
4. Ansari Pirsaraei, Z., A. Zare Shahneh, M. Zaghari, M. J. Zamiri, G. Rahimi Mianji. 2009. Effect of testosterone and growth hormone injection before puberty on follicles size, rate of egg production and egg characteristics of the Mazandaran Native breeder hens. African Journal of Biotechnology, 7: 3149-3154.
5. Bonomi, A., B.M. Bonomi. 2000. Royal jelly in duck feeding. Rivista di Scienza dell'Alimentazione. 29: 465-476.
6. Bonomi, A., B.M. Bonomi, P. formaggioni, A. Quarantelli. 2000a. The use of royal Jelly in the Laying hens feeding. Rivista di Scienza dell'Alimentazione, 29: 339 – 352.
7. Bonomi, A., B.M. Bonomi, A. Quarantelli. 2001. Royal Jelly in turkey feeding. Rivista di Scienza dell'Alimentazione, 30: 49-60.
8. Gilbert, A.B. 1971. Egg albumen and its formation. In: Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl. D.J. Bell, B.M. Freeman (Eds.). 1st edn. Academic Press. London, Pp 1291-1329.
9. Hammad, A.M.S. 2006. Study on royal jelly in poultry feeding 1- effect of royal Jelly type on the performance of laying hens at the end of production, Season. Egypt Poultry Science, 26: 1-15.

10. Hassan, A.A. 2009. Effect of royal Jelly on Sexual efficiency in adult male rats. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, 23: 155-160.
11. Khattab, M.M., A.A. Radwan, E.A. Afifi. 1989. Physiological effect of royal jelly on female reproductive capacity in rabbits. Proceedings of the fourth international conference Apiculture in Tropical climates. Cairo Egypt, 6-10 November 70-73.
12. Krme, K.L., S.H. Tager, C.N. Child, R.D. Speirs. 1977. Insulin-Like hypoglycemic and immunological activities in honey bee Royal Jelly. Journal of Insect Physiology, 23: 293 - 295.
13. Moghaddam, A.A., I. Karimi, M. Borji, S. Bahadori, D. Komazani. 2010. Effect of royal jelly injection in eggs on embryonic growth, hatchability and gonadotropin levele of chicks. Book of abstracts of 6 Ist annual meeting of the European association for animal production, Session 23 Pp184.
14. Olimpia, M., A.L. Dezmireand. 2008. A study about physicochemical composition of fresh and lyophilized royal jelly. Zootehnie si Biotehnologi, 41: 328-332.
15. Popesu, O.L., L.A.I. marnhitas, D.S Dezmirean, M.O. Lilia, L.Laura. 2008. A characterization about physical-chemical compsoition of royal jelly. Bulletin of University Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies, 65: 1-2.
16. Sabatini, A.G., G.L. Marcazzan, M.F. Caboni, S. Bogdanov, L Bicudo, A. Muradian. 2009. Quality and standardization of royal jelly. Journal of Apiproduet and Apimedical Science, 1:1-6.
17. SAS. 2003. SAS User's Guide: Statistics. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
18. Sobhy, E.A., M. Tailang, H.M. Ali, U.K. pati. 2011. Pharmacological activities of royal Jelly. International Journal of Recent Advances in Pharmaceutical Research, 2: 21-26.
19. Suguru, F.U., J.I. Lamia, M.I. Fujiwara, T.O. Yaeshima, T.A. Kawashima, K.A. Kabayashi. 1990. A potent antibacterial protein in royal jelly. Journal of biological chemistry, 265: 11333-11337.
20. Takenaka, T., T. Echigo. 1980. General chemical composition of the royal jelly. Bulletin of the Faculty of Agriculture, 20: 71-78.
21. Wilson, H.R. 1997. Effects of maternal nutrition of hatchability. Poultry Science, 76: 134-143.

Effects of different levels of Royal jelly on large follicular growth, egg production and hatchability of native breeder hens

Mehdi Hafavati Tabari¹ Dr. Zarbakt Ansari^{2*} and Dr. Mehrdad Irani¹

1-Department of Animal Sciences, Islamic Azad University, Qaemshahr Branch, 2-
Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
*Corresponding E-mail address: zarbakht_ansari@yahoo.com

Abstract

This investigation conducted to study the Rj influence on hatchability, egg production and ovary large yellow follicular diameter of native breeder hens, under Completely Randomized Design with four treatments (0, 0/5, 1 and 1/5 mg/kgbw Rj) and three replicates with 10 hens and one roster in each replicates. Royal jelly was injected subcutaneously in solution every morning for two weeks and data recording continued one week after that. Two hens were slaughtered at the end of the week after injection (WAI) to Measure diameter of large yellow follicles. There were no significant difference in hatchability rate, large yellow follicular diameter of ovary and egg production between Rj treatment and control group. Body weight had significant increase in treatment with 1mg Rj compared with control ($p<0/05$). In the WAI, egg weight was significantly increased in treatment with 1 mg Rj in comparison with 0/5 mg Rj and control ($p<0/05$). Egg weight increased significantly in treatment 1/5 mg Rj compared with 0/5 mg Rj



and control, during injection period of Rj and also there were significant increase in egg weight in treatment 1 mg Rj in comparison with 0/5 and 1/5 mg Rj at WAI.

In conclusion, the present results indicated that injections of Royal jelly may be effective on some egg characteristics and egg weight, but more study is needed to decide about hatchability and other parameters.

Keywords: Royal jelly- Follicular growth- Egg production- Hatchability- Breeder hen

بررسی ارتباط بین فعالیت تخمدان‌های چپ و راست و الگوی تخمک‌گذاری در گاوهای هلشتاین

حامد کرمی*، مهران ترکی، روح الله مرادی نژاد، وحید پیری

گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی

* حامد کرمی hkaramishabankareh@yahoo.com

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر تزریق $PGF2\alpha$ بر میزان وقوع فحلی در گاوهای $RCL3$ (جسم زرد فعال روی تخمدان راست) و $LCL3$ (جسم زرد فعال روی تخمدان چپ)، درصد و الگوی وقوع تخمک‌گذاری‌ها از تخمدان‌های چپ و راست بود. ۱۲۸۴ راس گاو هلشتاین در فاصله ۶۰-۵۰ روز بعد از زایش مورد معاینه قرار گرفته و بر اساس حضور جسم زرد فعال روی تخمدان‌های چپ یا راست به دو گروه $RCL3$ و $LCL3$ دسته‌بندی شدند. به همهی گاوهای هورمون $PGF2\alpha$ تزریق و پس از مشاهده فحلی، تلقیح شدند. گاوها در فاصله ۲۸ روز پس از تلقیح با استفاده از دستگاه سونوگراف تست آبستنی شدند. میزان پاسخ گاوها به هورمون $PGF2\alpha$ در هر دو گروه $RCL3$ و $LCL3$ مورد مقایسه قرار گرفت (به ترتیب، ۶۲٪ در مقابل ۵۶٪؛ $P > 0.05$) که تفاوت معنی داری بین دو گروه مشاهده نشد. میزان و الگوی تخمک‌گذاری در تخمدان‌های چپ و راست مورد مقایسه قرار گرفت. در هر دو حالت نسبتی از تخمک‌گذاریها به تخمدان مقابل انتقال یافت. میزان وقوع آبستنی در تست ۲۸ روزگی در هر دو گروه $RCL3$ و $LCL3$ در تخمک‌گذاری از تخمدان مقابل (به ترتیب، ۷۲٪ در مقابل ۶۹٪) و همسو (به ترتیب، ۶۶٪ در مقابل ۶۴٪) مورد مقایسه قرار گرفت که اختلاف معنی داری در هر دو حالت مشاهده نشد ($P > 0.05$). به هر حال تغییری در میزان وقوع فحلی در دو گروه مشاهده نگردید، اما نسبت بالایی از تخمک‌گذاری‌ها به تخمدان مقابل انتقال یافت.

واژه کلیدی: تخمدان‌های چپ یا راست- تخمک‌گذاری- جسم زرد- $PGF2\alpha$ - گاو شیری

مقدمه

عملکرد نابرابر تخمدان‌ها یک پدیده طبیعی در پستانداران بوده و در بعضی گونه‌ها تخمدان راست و در بعضی دیگر تخمدان چپ غالب است (۶). بر اساس منابع مختلف، علی رغم یکسان بودن فعالیت تخمدان‌های چپ و راست، بیشتر تخمک‌گذاری‌ها و آبستنی‌ها در گاو در طرف راست رخ می‌دهد (۴). محققین در مطالعات خود نشان دادند که مکان تخمک‌گذاری در سیکل قبلی روی وضعیت سلامت فولیکول غالب تاثیر می‌گذارد (۱). در واقع اگر فولیکول غالب در تخمدان مقابل توسعه یابد، اووسیت جهت لقاح و توسعه قبل از جایگزینی نسبت به زمانی که تخمک‌گذاری در دو سیکل متوالی در یک تخمدان رخ می‌دهد، مستعدتر است. محققان در یک بررسی دیگر گزارش کردند که در گاو تخمدان راست در مقایسه با چپ در پاسخ به درمان با eCG یا FSH دارای تعداد بیشتری جسم زرد و فولیکول بزرگ است (۷). همچنین محققین گزارش کردند در گوسفند بعد از تزریق دوزهای بالای eCG ، تعداد فولیکول‌های بزرگ بیشتری در تخمدان راست (۵۴٪) در مقایسه با تخمدان چپ (۴۵٪) مشاهده شد (۵). در حالی که الگوی تخمک‌گذاری در سیکل‌های متوالی موضوع تعدادی از مطالعات بوده است، هنوز داده‌های قطعی در مورد اینکه آیا تخمک‌گذاری به طور متناوب در دو طرف، در تخمدان طرف مشابه سیکل قبلی و یا به طور تصادفی رخ می‌دهد، وجود ندارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر تزریق $PGF2\alpha$ بر میزان وقوع فحلی در گاوهای $RCL3$ (جسم زرد فعال روی تخمدان راست) و ($LCL3$ جسم زرد فعال روی تخمدان چپ)، درصد و الگوی وقوع تخمک‌گذاری‌ها از تخمدان‌های چپ و راست بود.

مواد و روش‌ها

تعداد کل ۱۲۸۴ راس گاو شیری نژاد هلشتاین طی روزهای ۵۵-۶۰ بعد از زایش از طریق توشه رکتال معاینه و بر اساس حضور جسم زرد فعال روی تخمدان‌های چپ و راست به دو گروه RCL_3 (۷۸۲ راس، ۶۰/۹ درصد) و LCL_3 (۵۰۲ راس، ۳۹/۱ درصد) تفکیک شدند. همچنین گاوهای مورد بررسی بر اساس شکم زایش در دو گروه گاوهای شکم ۱-۲ و گاوهای شکم ۳-۶ قرار گرفتند. در مرحله بعد به همه گاوهای تحت آزمایش بر اساس فرمول تخمدانی (RCL_3 یا LCL_3) هورمون $PGF_{2\alpha}$ تزریق شد. گاوهایی که به $PGF_{2\alpha}$ پاسخ داده و فحل شدند به صورت مصنوعی با استفاده از اسپرم منجمد توسط تکنسین فارم تلقیح شدند. در ادامه تست آبستنی ۲۸ روزگی گاوها با استفاده از دستگاه سونوگراف مجهز به مبدل ۵/۵-۸/۵ مگاهرتز انجام شد. در کل دوره آزمایش اطلاعات مربوط به هر گاو ثبت و در پایان با استفاده از نرم افزار آماری SAS به روش مقایسه میانگین مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. این آزمایش در شرکت شیر و دام کنگاور به انجام رسید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تزریق $PGF_{2\alpha}$ به گاوهای RCL_3 و LCL_3 در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود میزان بروز فحلی در گاوهای با فرمول تخمدانی RCL_3 در مقایسه با LCL_3 بیشتر است (به ترتیب، ۶۲٪ در مقابل ۵۶/۹٪). گرچه این اختلاف از لحاظ آماری در سطح ۵ درصد معنی دار نیست ($P>0/05$).

جدول ۱ اثر تزریق $PGF_{2\alpha}$ بر میزان وقوع فحلی در گاوهای با فرمول تخمدانی RCL_3 و LCL_3

معیار مورد بررسی	گروه‌های آزمایشی		P-Value
	RCL_3	LCL_3	
تعداد کل گاوها	۷۸۲	۵۰۲	-
تعداد و درصد گاوهای فحل شده	۴۸۵ (۶۲/۰)	۲۸۶ (۵۶/۹)	۰/۰۷
پس از تزریق $PGF_{2\alpha}$			

نتایج حاصل از مقایسه میزان و الگوی تخمک‌گذاری در تخمدان‌های راست و چپ پس از تزریق $PGF_{2\alpha}$ و میزان وقوع آبستنی در تست ۲۸ روزگی با دستگاه سونوگراف در گاوهای با فرمول تخمدانی RCL_3 و LCL_3 در جدول ۲ نشان داده شده است. در گاوهای گروه LCL_3 درصد بالایی از تخمک‌گذاری‌ها در تخمدان مقابل (تخمدان راست) رخ داده است که در مقایسه با میزان وقوع تخمک‌گذاری در تخمدان مقابل (تخمدان چپ) گروه RCL_3 اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد (به ترتیب، ۸۰/۲٪ در مقابل ۶۵/۵٪) ($P<0/05$). همچنین در گاوهای RCL_3 در مقایسه با LCL_3 میزان انتقال تخمک‌گذاری به تخمدان مقابل پس از تزریق $PGF_{2\alpha}$ کمتر بوده و بطور معنی‌داری نسبت بیشتری از تخمک‌گذاریها بر روی تخمدان راست باقی مانده است (به ترتیب، ۳۴/۵٪ در مقابل ۱۹/۸٪) ($P<0/05$). بین میزان وقوع آبستنی در تست ۲۸ روزگی در تخمک‌گذاری از تخمدان مقابل و همسو در دو گروه RCL_3 و LCL_3 اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (به ترتیب، ۷۲/۷٪ در مقابل ۶۹/۲٪)، (به ترتیب، ۶۶/۶٪ در مقابل ۶۴/۲٪) ($P>0/05$).

جدول ۲ مقایسه میزان وقوع تخمک‌گذاری و آبستنی در تخمدان مقابل در گاوهای با فرمول تخمدانی RCL_3 و LCL_3

P-Value	گروه‌های آزمایشی		معیار مورد بررسی
	RCL_3	LCL_3	
-	۱۴۲	۲۳۵	تعداد کل گاوها*
۰/۰۰۱	۱۱۴ (%۸۰/۳ ^a)	۱۵۴ (%۶۵/۵ ^b)	تعداد و درصد تخمک‌گذاریها در تخمدان مقابل
۰/۰۰۲	۲۸ (%۱۹/۸ ^b)	۸۱ (%۳۴/۵ ^a)	تعداد و درصد تخمک‌گذاریها در تخمدان همسو
۰/۵۴	۷۹ (%۶۹/۲)	۱۱۲ (%۷۲/۷)	میزان آبستنی در تست ۲۸ روزگی در تخمک‌گذاری از تخمدان مقابل
۰/۸۲	۱۸ (%۶۴/۲)	۵۴ (%۶۶/۶)	میزان آبستنی در تست ۲۸ روزگی در تخمک‌گذاری از تخمدان همسو

a,b حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مختلف آزمایشی است ($P < ۰/۰۵$).

* نسبتی از کل گاوهای مورد بررسی که پس از ظهور علائم فحلی پس از تزریق $PGF_{2\alpha}$ ، تلقیح و پس از انجام تست آبستنی در ۲۸ روزگی فرمول تخمدانی آنها ثبت شده است.

در مطالعه حاضر گاوهای گروه RCL_3 که دارای جسم زرد فعال روی تخمدان راست بودند در مقایسه با گاوهای گروه LCL_3 که دارای جسم زرد فعال روی تخمدان چپ بودند در پاسخ به درمان با $PGF_{2\alpha}$ میزان فحلی بیشتری را نشان دادند. در یک مطالعه محققین گزارش کردند که تعداد گیرنده‌های $PGF_{2\alpha}$ اجسام زرد مستقر بر روی تخمدان راست در مقایسه با تخمدان چپ بیشتر است (۸). بنابراین یکی از دلایل افزایش بروز فحلی در گاوهای با فرمول تخمدانی RCL_3 در مطالعه حاضر احتمالاً تعداد بیشتر گیرنده این هورمون بر روی جسم زرد مستقر بر روی تخمدان راست است. در مطالعه حاضر، در هر دو گروه گاوهای RCL_3 و LCL_3 پس از تزریق $PGF_{2\alpha}$ و ایجاد فحلی نسبت بالاتری از تخمک‌گذاری در تخمدان مقابل رخ داد. بعلاوه در گروه گاوهای LCL_3 نسبت به RCL_3 درصد بیشتری از تخمک‌گذاریها در تخمدان مقابل (راست) رخ داد. از طرفی در گروه گاوهای RCL_3 نسبت به LCL_3 درصد بیشتری از تخمک‌گذاریها در تخمدان همسو رخ داد (جدول ۴-۵) بنابراین درصد تخمک‌گذاری بطور معنی داری در تخمدان راست نسبت به تخمدان چپ بالاتر است. این نتایج با بررسی‌های محققان دیگر در مورد میش (۳) و انسان (۲)، که نشان دادند تخمدان راست نسبت به چپ در تخمک‌گذاریهای منفرد و مضاعف فعالیت بیشتری دارد، مطابقت دارد.

منابع

1. Fukuda, M., K. Fukuda, C. Y. Andersen and A. G. Byskov. 1996. Anovulation in an ovary during two menstrual cycles enhances the pregnancy potential of oocytes matured in that ovary during the following third cycle. Hum. Reprod. 14: 96-100.

2. Fukuda, M., K. Fukuda, C. Y. Andersen and A. G. Byskov. 2000. Right-sided ovulation favours pregnancy more than left-sided ovulation. *Hum. Reprod.* 15:1921–1926.
3. Karami Shabankareh, H., J. Habibizad, and M. Torki. 2009. Corpus luteum function following single and double ovulation during estrous cycle in Sanjabi ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 114, 362–369.
4. Kidder, H. E., G. R. Barrett, and L. E. Casida. 1952. A study of ovulations in six families of Holstein-Friesians. *J. Dairy. Sci.* 35: 436–444.
5. Martinez, F., M. Kaabi, F. Martinez-Pastor, M. Alvarez, E. Anel, and J. C. Boixo. 2004. Effect of the interval between estrus onset and artificial insemination on sex ratio and fertility in cattle: a field study. *Theriogenol.* 62: 1264–1270.
6. McDonald, L. E. 1977. *Veterinary endocrinology and reproduction.* Lea and Febiger, Philadelphia.
7. Naqvi, S. M. K., and R. Gulyani. 1998. The effect of gonadotropin realising and follicle stimulating hormone in conjunction with pregnant mare serum gonadotropin on the superovulation response in crossbred sheep in India. *Trop. Anim. Health Prod.* 30: 369–376.
8. Wiltbank, M. C., T. F. Shiao, D. R. Bergfelt, and O. J. Ginther. 1995. Prostaglandin F₂ Receptors in the Early Bovine Corpus Luteum. *Biology of Reproduction.* 52: 74–78
9. Statistical Analysis Systems, 2003. *SAS User's Guide, Statistics.* Version 9.1 ed. SAS

Institute. Inc, Cary NC.

Investigation of the relationship between left and right ovarian activities and ovulation in Dairy cows

Hamed karami*, Mehran torki, Rohollah moradinejad, Vahid piri

Department of animal science, Razi University

* Hamed karami, hkaramishabankareh@yahoo.com

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of PGF_{2α} administration on the incidence of estrus in cows which active corpus luteum is on the right (RCL3) and left ovary (LCL3), percentage and frequency of ovulations of left and right ovaries. One thousand tow hundred eighty four Holstein cows were examined from 50 to 60 days after parturition, and according to the presence of active corpus luteum on the left or right ovaries were classified. Cows were treated with prostaglandin F_{2α} and inseminated after the observed estrus. Pregnancy was diagnosed at 28 d after artificial insemination by using ultrasonography. The response rate to PGF_{2α} in both groups of cows was compared (Respectively, 62% vs. 56%, P> 0.05). There was no significant difference between two groups. Ovulation rate and pattern in right and left ovaries were compared. In both groups high proportion of ovulations was occurred in the opposite ovary. The ratio of Pregnancies at 28 d post insemination from opposite-sided ovulation (respectively, 72.7% vs. 69.2%) and same-sided ovulation (respectively, 66.6% vs. 64.2%), did not differ among right and left ovaries (P> 0.05).

Keyword: Right or left ovaries- Ovulation-Corpus luteum-PGF_{2α}-Dairy cattle

اثر استفاده از بیوپلاس ۲ ب در صفات لاشه و فیزیولوژیکی بوقلمون های بومی آذربایجان

علیرضا فانی^۱، هوشنگ لطف الهیان^۲، رامین سلامت دوست نویر^۳، جمشید قیاسی قلعه کندی^۳، احمدرضا حسنی^۴
۱ - دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر، کارشناس مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، ۲ - عضو هیئت علمی موسسه علوم دامی کشور، ۳ - عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر، ۴ - عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی
Email: fani.alireza@gmail.com

چکیده:

به منظور مطالعه اثر استفاده از بیوپلاس ۲ ب در صفات لاشه و برخی خصوصیات فیزیولوژی تعداد ۷۲ قطعه جوجه بوقلمون چهار ماهه در مرکز تحقیقات تاتار بطور تصادفی انتخاب شده و در باکس ها قرار گرفتند. آزمایش فاکتوریل به صورت 2×4 (دو جنس نر و ماده و چهار سطح پروبیوتیک) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. در پایان آزمایش دو پرنده از هر تکرار ذبح و مورد تفکیک لاشه قرار گرفت. وزن لاشه، بازده لاشه خالص، بازده سینه، بازده ران، بازده قسمت های اندام های خوراکی (قلب، کبد و سنگدان)، وزن کبد، چربی محوطه شکمی، وزن لوله گوارشی، وزن کل روده، طول روده و ... اندازه گیری و نتایج حاصل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. اثر پروبیوتیک ها بر روی وزن زنده، بازده لاشه خالی، بازده ران، بازده سینه و بازده قسمت های خوراکی بطن و بازده چربی و درصد وزن کبد اختلاف معنی داری از لحاظ آماری نشان ندادند ولی در رابطه با اثر جنس در وزن زنده و بازده سینه، وزن لوله گوارش، وزن کل روده، طول روده، طول روده باریک ($P < 0.01$) و بازده چربی بطنی ($P < 0.05$) اختلاف از لحاظ آماری معنی دار بود.

واژگان کلیدی:

بوقلمون - پروبیوتیک - خصوصیات لاشه و فیزیولوژیکی

مقدمه

پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های زنده، که به صورت مکمل های غذایی میکروبی با منشاء بیولوژیک می باشند؛ و از طریق بهبود تعادل میکروبی دستگاه گوارش و تسریع تکثیر میکروارگانیسم های مفید، تاثیر سودمندی بر روی میزبان دارند (باقر صاد، ۱۳۷۷). در آزمایش جین و همکاران (۱۹۹۸)، استفاده از لاکتوباسیل ها به تنهایی یا به صورت مخلوط بر درصد وزن اندامها (کبد، طحال، بورس، سنگدان، دئودنوم، ژوژنوم، ایلئوم و کل روده باریک) تاثیر معنی داری داشت. موهان و همکاران (۱۹۹۶)، اثر مکمل جیره ای پروبیوتیک پروبیولاک را بر جوجه های گوشتی بررسی نمودند و استفاده از پروبیوتیک بر وزن اندامها (قلب، طحال، سنگدان و کبد) موثر نبود. در بررسی کریمی ترشیزی (۱۳۸۴) در سن ۲۸ روزگی تیمارها موجب کاهش وزن کل دستگاه گوارش در مقایسه با گروه شاهد شدند. و در ۴۲ روزگی وزن نسبی دستگاه گوارش و روده کوچک به طور معنی داری تحت تاثیر تیمار پروبیوتیکی قرار گرفته و کاهش یافت، ولی تیمارهای مورد آزمایش بر طول نسبی روده کوچک اثر معنی داری نداشتند. در آزمایش پترسون و همکاران (۲۰۰۳) باسیلوس سوبتیلیس سبب افزایش وزن روده کوچک شد.

مواد و روش ها

از گله تحت آزمایش تعداد ۷۲ قطعه جوجه بوقلمون بطور تصادفی انتخاب شده و در باکس ها قرار گرفتند. آزمایش فاکتوریل به صورت 2×4 در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. آزمایش از سن ۱۶ هفتگی بوقلمون ها شروع شده و تا ۲۰ هفتگی خاتمه یافت. گروه های آزمایشی شامل صفر، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ درصد پروبیوتیک بودند. اولین گروه آزمایش بعنوان شاهد بوده و سه گروه دیگر با دو سطح مختلف پروبیوتیک تجاری دو سویه (بیوپلاس) در جیره تغذیه شد. که بلافاصله بعد از انجام کشتار و جهت سهولت امر پرکنی، لاشه ها در آب ۵۰ الی ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه قرار گرفتند و بعد از پرکنی با توجه به مشخصات هر یک از نمونه های آزمایشی، هر یک به طور جداگانه تفکیک لاشه گردیدند. همچنین برخی صفات فیزیولوژی از قبیل وزن کل دستگاه گوارش و طول روده نیز مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

اثر سطوح پروبیوتیک بر روی خصوصیات لاشه

جدول (۱-۱) میانگین بازده لاشه جوجه بوقلمون ها را که در سن ۴ ماهگی نسبت به وزن زنده و در تیمارهای مختلف و جنس را نشان می دهد.

- وزن زنده: با توجه به سطوح پروبیوتیک بر روی خصوصیات وزن زنده تاثیر گذاشته ولی معنی دار نبوده ولی در بررسی اثر جنس مشاهده شده که مابین جنس ها اختلاف معنی داری در سطح احتمال ($P < 0/01$) مشاهده شد.
- وزن لاشه: نتایج حاصل نشان گر این است که سطوح مختلف پروبیوتیک تاثیر معنی داری بر روی وزن لاشه نداشت. ولی در مطالعات انجام شده بر روی اثر جنس مشاهده می شود که جنس نر با ۳۱۱۶ گرم نسبت به جنس ماده با ۲۰۴۴/۲۳ گرم از وزن لاشه بیشتری برخوردار بوده به طوری که این اختلاف در سطح احتمال ($P < 0/05$) کاملاً نمایان می باشد.
- بازده لاشه خالص: از نتایج چنین استنباط می گردد سطوح مختلف پروبیوتیک و فاکتور جنس بر روی بازده لاشه خالص اختلاف معنی دار نداشته است.
- بازده ران: سطوح مختلف پروبیوتیک و فاکتور جنس بر روی بازده ران تاثیر معنی داری را نشان نداد.
- بازده سینه: قسمت سینه یکی از موثرترین و با ارزش ترین قسمت های لاشه را تشکیل می دهد از نتایج چنین بر می آید که پروبیوتیک، تاثیر معنی داری بر روی بازده سینه نداشته است ولی فاکتور جنس اختلاف معنی داری از نظر بازده سینه نشان می دهد ($P < 0/05$)
- درصد کبد: هیچ یک از فاکتورهای جنس، سطوح مختلف پروبیوتیک بر روی درصد کبد اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد.

جدول (۱-۱) میانگین بازده قسمت های مختلف لاشه بوقلمون (بر حسب درصد نسبت به وزن زنده)

وزن زنده	وزن لاشه	خوراکی بطنی	لاشه خالص	ران	سینه	چربی بطنی	کبد

۱/۸۳	۱/۰۵	۱۸/۸۵	۱۹/۳۰	۷۱	۴/۸۰	۲۴۸۹/۶۷	۳۴۷۹/۱۷	شاهد	تیمار
۲/۰۵	۰/۶۸	۱۹/۶۶	۱۹/۳۲	۷۰/۲۱	۵	۲۳۹۶/۸۳	۳۴۱۱/۶۷	۰/۰۵	
۱/۹۹	۰/۶۲	۱۸/۹۶	۱۹/۸۹	۶۹/۶۴	۴/۶۱	۲۵۵۱/۳۳	۳۶۶۲/۶۷	۰/۱	
۲/۱۹	۰/۸۰	۱۹/۷۱	۲۲/۲۸	۷۱/۹۰	۴/۷۹	۲۷۱۴	۳۷۴۹/۵۰	۰/۱۵	
۰/۴۲۵	۰/۶۷۸	۰/۴۱۴	۰/۳۵۱	۰/۵۷۴	۰/۶۹۰	۰/۶۵۵	۰/۶۸۹	ارزش P	
۱/۹۷	۱/۱۳ ^a	۱۹/۸۹ ^a	۱۹/۳۹	۷۰/۳۵	۴/۷۲	^b ۲۰۴۴/۲۳	۲۹۰۶ ^b	ماده	جنس
۲/۰۷	^b ۰/۳۸	^b ۱۸/۵۸	۲۱/۱۵	۷۱/۰۹	۴/۸۹	^a ۳۱۱۶	^a ۴۳۶۷/۲۷	نر	
۰/۷۱۹	۰/۰۰۴	۰/۰۲۳	۰/۲۵۱	۰/۵۱۴	۰/۴۹۴	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	ارزش P	
۰/۷۸۲	۰/۱۲۱	۰/۲۹۴	۰/۶۷۲	۰/۶۴۷	۰/۱۰۲	۱۳۸/۴۸۲	۱۸۰/۱۸۵	SEM	

اثر سطوح پروبیوتیک بر روی برخی خصوصیات فیزیولوژیکی

نتایج جدول (۱-۲) نشان گر این است که سطوح مختلف پروبیوتیک تاثیر معنی داری بر روی صفات وزن لوله گوارش، وزن کل روده، طول روده و طول روده باریک اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. ولی از نظر جنس اختلاف معنی داری در سطح احتمال ($P < 0.01$) مشاهده گردید.

جدول (۱-۲) میانگین حداقل مربعات برخی صفات فیزیولوژیکی بوقلمون در تیمارهای مختلف

طول روده باریک (cm)	طول روده (cm)	وزن کل روده (گرم)	وزن لوله گوارش (گرم)		
۱۸۸/۶۷	۱۹۷/۵۰	۱۸۸/۳۳	۵۶۳/۱۷	شاهد	تیمار
۱۸۶/۳۳	۱۹۴/۱۷	۱۷۶/۶۷	۵۵۸/۵۰	۰/۰۵	
۱۸۰/۵۰	۱۸۸/۳۳	۱۶۶/۶۷	۵۲۴/۱۷	۰/۱	
۱۷۹/۶۷	۱۸۷/۵۰	۱۶۳/۳۳	۵۲۷/۳۳	۰/۱۵	
۰/۳۰۶	۰/۲۷۰	۰/۰۴۵	۰/۴۵۴	ارزش P	
۱۷۳/۴۶ b	۱۸۱/ ۱۵b	b ۱۵۰	b۴۳۷/۳۱	ماده	جنس
۱۹۶ a	a۲۰۴/ ۵۵	a۲۰۱/۸۲	a۶۶۸/۵۵	نر	
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	ارزش P	
۳/۸۴۲	۴/۰۴۷	۷/۴۶۵	۳۰/۱۷۳	SEM	

منابع :

باقر صاد، ع. (۱۳۷۷). پروبیوتیکها در تغذیه طیور. مجله چکاوک. شماره ۱. دوره هفتم. صفحه: ۸۶-۷۷.

کریمی ترشیزی، م. ا. (۱۳۸۴). جداسازی، شناسایی و انتخاب باکتریهای اسید لاکتیک مناسب برای تولید پروبیوتیک در تغذیه جوجه‌های گوشتی. رساله دکترا. دانشکده کشاورزی. دانشگاه تربیت مدرس. صفحه ۵-۷

Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, M. A. and Jalaludin, S. (1998). Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing lactobacillus cultures. *Poultry Science*. 77:1259-1265.

Moohan, B., Kadirvel, R., Natarajan, A. and Bhaskaran. (1996). Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilization and serum cholesterol in broilers. *British Poultry Science*, 37:395-401.

Patterson, J. and L. Burkholder. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production *poult. Sci. Vol*; 82:627-631.

Effect of using bio-plus-2-b on carcass and physiological characteristics of Azarbaijan native turkeys

Alireza fani¹, Hoshang lotfulahian², Ramin salamatdoust nobar³, Jamshid giyasee galeakande³
Ahmadreza hasani⁴

1- MSc student, Department of animal science, Islamic Azad University of shabestar, expert of East Azarbaijan research center for Agriculture and natural resources, Tabriz

2- Faculty member of animal sciences research institute

3- Department of Animal Science, Islamic Azad University, shabestar branch, Iran

4- Faculty member of East Azarbaijan research center for Agriculture and natural resources, Tabriz

Abstract:

In order to study the effect of using Bo-plus-2-b on carcass and physiological characteristics, there was chosen 72 turkey chicken at Tatar research station. The experimental design was 2*4 factorial (two sexes and 4 levels of probiotic) at the basis of CRD in 3 replications. At the end there were slaughtered 2 birds from each replication and their carcass were analyzed. Carcass weight, pure carcass efficiency, breast efficiency, femur efficiency, intakable organs (heart, fever, and gizzard) efficiency, fever weight, inner fat, alimentary canal weight, total weight of gut, length of gut were characteristics that we measured. Data were analyzed. Effect of probiotic on live weight, pure carcass efficiency, femur efficiency, and intakable organs (heart, fever, and gizzard) efficiency, and fat efficiency and fever weight percent were not statistically significant. But there were significant difference between two sexes from the view point of live weight, breast efficiency, alimentary canal weight, total weight of gut, length of gut, length of small intestine, ($p < 0.01$) and efficiency of inner fat ($p < 0.05$).

Key words: Turkey- Bio plus 2-b- Carcass and physiological characteristics

اثرات تابش لیزر قرمز روی خصوصیات رشد جوجه های گوشتی

علیرضا فانی^۱، هوشنگ لطف الهیان^۲، احمدرضا حسنی^۳، قربان الیاسی زرین قبا^۳، محسن علمی^۳، حسین تقی پور^۳
۱ - دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر، کارشناس مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، ۲ - عضو هیئت علمی موسسه علوم دامی، ۳ - عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی

Email: fani.alireza@gmail.com

چکیده

به منظور بررسی اثرات تابش لیزر قرمز روی خصوصیات رشد جوجه های گوشتی تفریخ شده این آزمایش انجام شد. ۲۲۵ قطعه جوجه گوشتی یک روزه، در قالب طرح کامل تصادفی با سه تیمار و سه تکرار (۲۵ قطعه جوجه) مورد آزمایش قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) شاهد، (۲) ۱۰ میلی وات پرتوتابی لیزر، به مدت ۱/۵ دقیقه، ۰/۵ ساعت قبل از انکوباسیون، (۳) ۶ میلی وات پرتوتابی لیزر، به مدت ۱/۵ دقیقه، ۰/۵ ساعت قبل از انکوباسیون بود. در این آزمایش افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی در هر دو هفته یکبار اندازه گیری شد. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری نشان داد جوجه هائی نیم ساعت قبل از انکوباسیون با ۱۰ میلی وات لیزر قرمز به مدت ۱/۵ دقیقه تیمار شده بودند. در سن ۲۸-۱۵ روزگی افزایش وزن بهتری به نسبت گروه شاهد داشتند ($p < 0/05$).

کلمات کلیدی: لیزر قرمز - خصوصیات رشد - جوجه گوشتی

مقدمه:

در صنعت پرورش طیور دستیابی به فن آوری های جدید و به روز برای ابقای سطح تولید ضروری به نظر می رسد بر این اساس اطلاع از آخرین تحقیقات علمی و کاربردی در هر دوره پرورش باعث خواهد گردید که معیارهای مربوط به تولید و رشد در سطح اقتصادی، مقرون به صرفه باشد. اشعه لیزر یک پرتو مشابه با خصوصیات اشعه خورشید است که تأثیرات تنظیم کنندگی آن بر روی فعالیت سامانه های آنزیمی، سوخت و ساز پروتئین، چربی ها و اسیدهای نوکلئیک به اثبات رسیده است. نیاز به کاربرد پیشرفته برای افزایش سطح تولید در مزارع پرورش طیور ضروری و اجتناب ناپذیر است. نتایج حاصل از تحقیقات علمی و کاربردی در دوره های پرورشی، فراسنجه های تولیدی را بی تردید بهبود خواهد بخشید. در ایران در مورد تأثیر پرتوتابی لیزر بر بیولوژیک، تحقیقات محدودی صورت گرفته است. متداول شدن این روش ها در صنعت مرغداری به علت تفاوت های موجود در روش های مختلف جوجه کشی و نبود دانش و اطلاعات علمی کافی در مورد اثرات اشعه لیزر با شدت پایین بر روی تولیدات طیور و ماکیان است. ایوانف و همکاران (۱۹۸۹) طی تحقیقی نشان دادند که تشعشع لیزر بدون تکرار بر روی تخم های جوجه کشی از نوع هلیوم-نئون به میزان ۳/۸ درصد باعث بهبود درصد جوجه درآوری نسبت به گروه شاهد گردید. و همچنین میزان مصرف خوراک ۰/۵ درصد کمتر از گروه شاهد بود. یاکیمو و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند میزان درصد جوجه درآوری، افزایش وزن در تیمار تحت تاثیر اشعه لیزر در جوجه های بلدرچین، مرغ های تخم گذار و مرغ های گوشتی بیشتر از گروه شاهد بود. صدیقی و همکاران (۱۳۷۶) گزارش کردند که یکی از جنبه های جالب توجه لیزر، نقش آن در افزایش رشد و اصلاح گیاهان و برخی موجودات زنده است. اثر تابش لیزرهای با توان کم مانند لیزر هلیوم - نئون بر تخم بعضی از پرندگان مانند اردک

و مرغ و چند نوع ماهی مطالعه شده است. نتایج حاصل از این مطالعات صریحا نشان داد که لیزر باعث کاهش مرگ و میر و افزایش جوجه درآوری و افزایش وزن می شود. پوپو و همکاران (۱۹۸۴) گزارش نمودند که تابش لیزر هلیوم - نئون با توان کم با طول موج $632/8$ نانومتر به تخم مرغ و تخم بلدرچین به طور چشم گیری موجب افزایش جوجه درآوری و افزایش وزن بدن در جوجه ها گردیده است.

مواد و روش ها

در این آزمایش، تعداد ۲۰۰۰ عدد تخم مرغ سویه راس ۳۰۸ از موسسه مرغ مادر گوشتی با متوسط وزن (۵۰-۶۰ گرم) و قابل جوجه کشی خریداری و به ایستگاه تحقیقاتی بناب واقع در ۵ کیلومتری شهر بناب منتقل گردید از این تعداد تخم مرغ، ۹۰۰ عدد تخم به صورت تصادفی انتخاب و به سه گروه (تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی ۶ و ۱۰ میلی وات لیزر) به تعداد یکسان تقسیم و هر گروه شامل سه تکرار و هر تکرار حاوی ۱۰۰ عدد تخم مرغ برای تعیین درصد جوجه درآوری بود. سپس با دستگاه تولید کننده لیزر هلیوم- نئون با طول موج 633 نانومتر، از مرکز تحقیقات لیزر خریداری شده بود مورد تابش قرار گرفت که تیمارها به شرح زیر می باشد. کلیه داده های به دست آمده با استفاده از برنامه نرم افزاری SAS در قالب طرح کاملا تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث:

اثر پرتودهی لیزر بر روی خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی در سن ۱-۱۴ روزگی با توجه به نتایج مندرج در جدول (۳-۱) در مقدار خوراک مصرفی، افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایش مشاهده نمی شود. ولی تیمار شاهد با $22/11$ گرم در روز کمترین خوراک مصرفی را نسبت به سایر تیمارها دارد و بیشترین افزایش وزن با $13/20$ گرم در روز مربوط به تیمار ۱۰ میلی وات بوده و کمترین ضریب تبدیل با $1/81$ مربوط به تیمار ۱۰ میلی وات می باشد.

جدول (۳-۱) میانگین خوراک مصرفی، افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی تیمارهای مختلف در سن ۱-۱۴ روزگی

تیمار	خوراک روزانه	افزایش وزن	ضریب تبدیل
شاهد	۲۲/۱۱	۱۱/۸۲	۱/۸۷
۱۰ میلی وات ، مدت ۱/۵ دقیقه، ۰/۵ ساعت قبل از انکوباسیون	۲۳/۹۸	۱۳/۲۰	۱/۸۱
۶ میلی وات ، مدت ۱/۵ دقیقه ۰/۵ ساعت قبل از انکوباسیون	۲۴/۲۹	۱۲/۳۹	۱/۹۶
P	۰/۵۴۹	۰/۳۹۴	۰/۱۸۴
SEM	۰/۸۰۱	۰/۳۸۹	۰/۰۳۳

اثر پرتودهی لیزر بر روی خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی در سن ۲۸-۱۵ روزگی با توجه به نتایج مندرج در جدول (۲-۳) در مقدار خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایش مشاهده نمی شود. بطوری که تیمار ۶ میلی وات با ۸۷/۴۷ گرم در روز کمترین خوراک مصرفی را نسبت به سایر تیمارها دارد و کمترین ضریب تبدیل غذایی با ۱/۹۴ متعلق به تیمار ۶ میلی وات می باشد. ولی از نظر افزایش وزن در سطح احتمال ($P < 0.05$) اختلاف معنی داری مشاهده گردید. بطوری که تیمار ۱۰ میلی وات با ۴۷/۷۷ گرم بیشترین افزایش وزن بین سایر تیمارها بود.

جدول (۲-۳): میانگین خوراک مصرفی، افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی تیمارهای مختلف در سن ۲۸ تا ۱۵ روزگی

تیمار	خوراک روزانه	افزایش وزن	ضریب تبدیل
شاهد	۸۷/۸۹	۴۴/۹۴b	۱/۹۵
۱۰ میلی وات ، مدت ۱/۵ دقیقه ۰/۵ ساعت قبل از انکوباسیون	۹۳/۳۲	۴۷/۸۸a	۱/۹۵
۶ میلی وات ، مدت ۱/۵ دقیقه ۰/۵ ساعت قبل از انکوباسیون	۸۷/۴۷	۴۵/۱۲b	۱/۹۴
P	۰/۶۲۶	۰/۰۴۷	۰/۹۹۵
SEM	۲/۴۷۷	۰/۶۱۵	۰/۰۴۳

اثر پرتودهی لیزر بر روی خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی در سن ۴۲-۲۹ روزگی: با توجه به نتایج مندرج در جدول (۳-۳) در مقدار خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایش مشاهده نمی شود. بطوری که تیمار ۶ میلی وات با ۱۳۲/۳۵ گرم در روز کمترین خوراک مصرفی را نسبت به سایر تیمارها دارد و بیشترین افزایش وزن با ۶۳/۶۴ گرم در روز مربوط به تیمار شاهد می باشد. همچنین از نظر ضریب تبدیل غذایی تیمار شاهد با ۲/۱۲ کمترین ضریب تبدیل غذایی بین سایر تیمارها بود.

جدول (۳-۳): میانگین خوراک مصرفی، افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی تیمارهای مختلف در سن ۲۹ تا ۴۲ روزگی

تیمار	خوراک روزانه	افزایش وزن	ضریب تبدیل
شاهد	۱۳۴/۳۵	۶۳/۶۴	۲/۱۲
۱۰ میلی وات ، مدت ۱/۵ دقیقه ۰/۵ ساعت قبل از انکوباسیون	۱۴۱/۹۰	۶۱/۸۷	۲/۲۹
۶ میلی وات ، مدت ۱/۵ دقیقه ۰/۵ ساعت قبل از انکوباسیون	۱۳۲/۳۵	۵۹/۹۵	۲/۲۱

۰/۲۴۱	۰/۶۵۹	۰/۳۹۲	P
۰/۰۴۰	۱/۴۷۶	۲/۸۰۷	SEM

منابع مورد استفاده:

۱- صدیقی، ر. و رادستان، م. ۱۳۷۶. تأثیر لیزر بر رشد و اصلاح نژاد گیاهان و جانوران، مرکز تحقیقات لیزر بناب، انتشارات سازمان انرژی اتمی ایران.

2- Ivanov, N., D., Chotinski, and S., aleksandrov. 1989. Effect of laser irradiation of eggs before incubation on hatching. Poultry-Abstracts. 5: 78-82.

3- Popove, A.A., V.T., Rozumnuk, and A.M., Matuserich. 1984. Influence of laser on hatching quality of eggs. Ptiserodstvo (Poultry, Moskow) 5: 22-23.(in russian).

4- Yakimenko, I., V., Besulin, and A., Testik. 2002. The effects of low intensity red laser irradiation on hatching eggs in chicken and quail. International Journal of Poultry Science; 1(1): 6- 8.

Title: Effect of red laser on performance broiler chicks

Alireza fani¹, Hoshang lotfulahian², Ahmadreza hasani³, ghorban elyase zarin goba, Mohsan elmi³, hosain tagepour³

1- MSc student, Department of animal science, Islamic Azad University of shabestar, expert of East Azarbaijan research center for Agriculture and natural resources, Tabriz

2- Faculty member of animal sciences research institute

3- Faculty member of East Azarbaijan research center for Agriculture and natural resources, Tabriz

Abstract:

An experiment was administrated in order to determine effect of red laser irradiation on performance of hatched broiler chicks. 225 in the case of completely random design with 3 treatment and 3 repeats (each repeat including 25 chickens) were examined. Experimental treatments include 1) control, 2) 10 mw laser radiation for 1.5 minutes, 0.5 hours before incubation, 3) 6 mw laser radiation for 1.5 minutes, 0.5 hours before incubation. During the experiment period, weight gain, feed intake and feed conversion ratio very measured ones with two weeks results result, of data analyzed showed chick, that half a minute before indicated treat with 10 mw helium-neon laser as long as 1.5 minute, compared to control group, had the better weight gain in 15-28 days of old ($p < 0/05$).

Key words: Red laser - Performance - Broiler chicks

- اثرات سطوح مختلف عصاره هیدرو الکلی زنجبیل بر پارامترهای خونی رت های نر
محسن ابوالفضل^{۱*}، جواد آرشامی^۲، علیرضا وکیلی^۳، عبدالمنصور طهماسبی^۴، علیرضا ایوبی^۵
۱. دانشجویان کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، گروه علوم دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲. دانشیار فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۲- استادیار تغذیه دام، گروه علوم دامی،
دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۲- دانشیار تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
* نویسنده مسئول: محسن ابوالفضل، abolfazli.mohsen@gmail.com، تلفن: ۰۹۳۶۳۶۹۵۱۷۰

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره آبی الکلی زنجبیل بر روی پارامترهای خون در موشهای صحرایی نر بود. در این مطالعه ۲۴ سر رت نر در قالب طرح کاملاً تصادفی به چهار گروه ۶ تایی تقسیم شدند. عصاره زنجبیل در سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی و به مدت ۱۴ روز به رت‌ها تزریق شد. گروه کنترل نرمال سالمین دریافت کردند. در پایان دوره پس از بیهوشی از همه گروه‌ها خونگیری به عمل آمد و از سرم حاصل شده برای اندازه گیری پارامترهای خونی استفاده شد. نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که عصاره زنجبیل توانسته میزان سرمی گلوکز ($P < 0.05$) و کلسترول ($P < 0.01$) را در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی داری کاهش دهد. میزان تری گلیسرید و کراتینین تغییر معنی داری نشان نداد. میزان پروتئین تام در گروه های زنجبیل به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0.01$). نتایج بدست آمده نشان می دهد که عصاره زنجبیل می تواند در کاهش کلسترول و گلوکز خون (در رت های غیر دیابتی) موثر باشد و نقش آن در کاهش چربی خون نیازمند تحقیقات بیشتر می باشد
واژه های کلیدی: زنجبیل - گلوکز - کلسترول - چربی - رت

مقدمه

گیاهان دارویی از گذشته های دور تا به امروز در طب سنتی نقش مهمی در درمان بیماری ها ایفا می کنند. با پیشرفت علم، تحقیقات بسیاری در جهت مشخص کردن خواص گیاهان دارویی بر روی اندام های خاص بدن صورت گرفته است (۱). زنجبیل ریزوم گیاه تازه یا خشک شده *zingiber officinale* است که به عنوان دارو از دوران باستان مصرف می شده است. پراکندگی آن از شرق آسیا تا نواحی گرمسیری استرالیا می باشد. مهمترین ترکیبات زنجبیل شامل شوگالول ها، جرانئول، جینکل، جرانیل، سزکوئی ترپنها، جینجروال ها، پیروگالول ها، زینجیرن، ارکوکورمن، بتاسزکویی فلاندرن و بتابیزابولن میباشد (۲). از اثرات زنجبیل بر بدن میتوان به کاهش گلوکز خون (۳)، تری گلیسرید (۳)، کلسترول (۴)، آنتی اکسیدانت (۲)، کاهش دهنده فشار خون و کاهنده ضربان قلب (۳) و ضد التهاب (۲) اشاره نمود. با توجه به تحقیقات محدود در این زمینه (مطالعه بر روی رت های غیر دیابتی)، مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف عصاره هیدرو الکلی زنجبیل بر پارامترهای خونی رت نر صورت گرفت.

مواد و روشها



ابتدا ریزوم زنجبیل تهیه و به کمک آسیاب پودر گردید. به مقدار مساوی آب و الکل را به پودر زنجبیل اضافه نموده و به مدت ۴۸ ساعت بر روی دستگاه تکان دهنده قرار گرفت تا تمامی مواد قابل حل در آب و الکل حل گردند. پس از ۴۸ ساعت محلول را صاف کرده و توسط دستگاه تقطیر در خلا (در دمای ۵۰ درجه و سرعت چرخش ۹۰ دور در دقیقه) تا ۱/۳ حجم اولیه تغلیظ گردید و در انکوباتور در دمای کمتر از ۵۰ درجه به صورت پودر خشک در آمد. حیوانات مورد آزمایش در این تحقیق ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن متوسط ۱۸۵-۱۹۵ گرم و سن ۲-۳ ماه بود. حیوانات در قالب طرح کاملاً تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند. گروه شاهد: تزریق سرم فیزیولوژی (بصورت داخل صفاقی) به منظور یکسان نمودن شوک حاصل از تزریق. گروه دوم: تزریق عصاره هیدروالکلی زنجبیل به میزان ۵۰ میلی گرم بر گیلوگرم، به صورت داخل صفاقی به مدت ۱۴ روز. گروه سوم: تزریق عصاره هیدروالکلی زنجبیل به میزان ۱۰۰ میلی گرم بر گیلوگرم و گروه چهارم: تزریق عصاره هیدروالکلی زنجبیل به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر گیلوگرم، به صورت داخل صفاقی به مدت ۱۴ روز. در پایان دوره از همه گروه ها خونگیری به عمل آمد و از سرم حاصل برای اندازه گیری پارامترهای خونی استفاده شد. در نهایت نتایج حاصل از آزمایش با نرم افزار SAS و با استفاده از مدل عمومی خطی (GLM) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

استفاده از زنجبیل در سه سطح باعث کاهش مقدار گلوکز سرم در مقایسه با گروه شاهد شد. اما این تغییرات برای سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم معنا دار گردید ($P < 0/05$) و سطح ۵۰ میلی گرم با تیمار شاهد اختلاف معناداری نشان نداد و میانگین تیمارها در جدول یک نشان داده شده است. مقدار تری گلیسرید در بین تیمارها دارای اختلاف معنی داری نبود ($P > 0/05$) ولی میزان تری گلیسرید در گروه ۵۰ میلی گرم عصاره زنجبیل به میزان ($14/00 \text{ mg/dL}$) نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد و در دو گروه ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم عصاره به ترتیب به میزان ($7/00 \text{ mg/dL}$) و ($5/00 \text{ mg/dL}$) کاهش یافت. میزان کلسترول در تیمارهای زنجبیل نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری نشان داد ($P < 0/01$) و میانگین تیمارها در جدول یک نشان داده شده است. میزان کراتینین در بین تیمارها دارای اختلاف معنی داری نبود ($P > 0/05$) و میانگین تیمارها در جدول یک آمده است. میزان پروتئین تام در بین تیمارها دارای اختلاف معنی داری بود ($P < 0/01$) و بیشترین مقدار آن در سطح ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره زنجبیل دیده شد. میانگین داده ها به صورت کامل در جدول یک آمده است.

جدول ۱- میانگین داده ها در گروه های مختلف

گلوکز	تری گلیسرید	پروتئین تام	کلسترول	کراتینین	
۱۳۵/۲۵۰	۷۲/۰۰	۵۷/۷۵۰	۵۲/۷۵۰	۰/۵۸۰۰	گروه شاهد
۱۳۴/۷۵۰	۸۶/۰۰	۶۷/۷۵۰ *	۵۱/۵۰۰	۰/۶۱۰۰	گروه ۵۰ mg
۱۲۷/۵۰۰ *	۶۵/۵۰	۶۶/۵۰۰ *	۴۷/۷۵۰ *	۰/۶۱۰۰	عصاره
					گروه ۱۰۰ mg
					عصاره
۱۲۴/۲۵۰ *	۶۷/۵۰	۶۹/۷۵۰ *	۴۴/۵۰۰ *	۰/۵۹۵۰۰	گروه ۲۰۰ mg
					عصاره

* و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

نتایج بدست آمده نشان می دهد که گلوکز خون در تیمارهای زنجبیل به طرز معنی داری کاهش یافته است. این نتایج با مطالعات شیردل که در رت های دیابتی انجام گرفته مطابقت دارد (۳) و همچنین در مطابقت با نتایج الامین (۵)، محمد (۶)، ایرانلوی (۷) و آخانی (۸) و مخالف با نتایج تکلی (۹) که در جوجه نژاد راس ۳۰۸ صورت گرفته می باشد. احتمالاً یکی از اثرات عصاره زنجبیل مهار فسفریلاز کبدی می باشد و از تجزیه گلیکوژن ذخیره شده در سلولهای کبدی جلوگیری میکند یا ممکن است منجر به افزایش میزان ترشح انسولین از سلولهای بتای پانکراس شود و به کاهش گلوکز خون کمک کند و یا در پیشبرد مسیر تولید گلیکوژن هم تاثیر داشته باشد. عصاره زنجبیل ممکن است از سویی فعالیت آنزیم گلوکز ۶ فسفاتاز کبدی را مهار کند و بدینوسیله از تجزیه گلوکز ۶ فسفات به گلوکز جلوگیری نماید و مانع افزایش گلوکز خون شود. میزان کلسترول در تیمارهای زنجبیل نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری نشان داد. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعات شیردل (۳)، محمد (۶) و الروح (۱۰) هماهنگ می باشد. کاهش کلسترول همچنین تایید کننده ی مطالعات آدمولا (۱۱) و الامین (۵) می باشد ولی در تضاد با نتایج حاصل از فعالیت تکلی (۹) است. کاهش کلسترول توسط عصاره زنجبیل ممکن است به علت فعالیت آنتی اکسیدانی آن و از سویی خاصیت ضد استرسی آن باشد (۶). همچنین ممکن است عصاره زنجبیل با خاصیت مهار کنندگی از ساخت کلسترول جلوگیری نماید و همچنین باعث کاهش سنتز کلسترول درون سلولی شود (۶ و ۱۰). کاهش جذب کلسترول از لوله های گوارشی توسط عصاره هم میتواند دلیل دیگری بر کاهش میزان آن باشد (۱۰). میزان پروتئین موجود در پلاسما ی خون در تیمار های زنجبیل در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی داری افزایش یافت که این یافته ها با نتایج حاصل از مطالعات نورینا (۱۲) و ژنگ (۴) مطابقت می نماید و مخالف با نتایج محمد (۶) می باشد. اختلاف در نتایج این مطالعات می تواند ناشی از اختلاف در شرایط آزمایشگاهی و همچنین استفاده از سطوح مختلف زنجبیل باشد. از طرفی افزایش غلظت پروتئین موجود در پلاسما هماهنگ با افزایش خاصیت آنزیمی و آنتی اکسیدانی می باشد. نشان داده شده است که زنجبیل حاوی مقدار زیادی از آنزیم های پروتئولیتیک گیاهی می باشد که به هضم پروتئین جیره کمک می کند. البته کاهش اکسیداسیون پروتئین در کبد رت هایی که زنجبیل مصرف کرده اند نیز گزارش شده است که کاهش پروتئین پلاسما ممکن است به علت اثرات مخرب زنجبیل با دوز بالا در کاهش هضم پروتئین ها باشد (۴).

منابع

۱. مدرسی، م.، مصری پور، م و قبادی پور، م. ۱۳۸۵. تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل بر نیتروژن اوره خون و کراتینین موشهای کوچک آزمایشگاهی. دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، ۸ (۳): ص ۴۸ تا ۵۳
۲. جوهری، ح.، شریفی، ا.، انصاری، ن.، حسینی، م و امیری، ف. ۱۳۸۸. اثر عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر وزن بدن، وزن بیضه و اسپرماتوزن در موشهای صحرایی نر تحت شیمی درمانی داروی سیکلوفسفامید. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ۱۷ (۵): ص ۳۶۵ تا ۳۷۴
۳. شیردل، ز.، میربدل زاده، ر و مدنی، ح. ۱۳۸۸. تاثیر آنتی دیابتیک و آنتی لیپیدمیک زنجبیل در رت های دیابتی شده با آلوکسان منوهیدرات و مقایسه آن با داروی گلی بن کلامید. مجله دیابت و لیپید ایران، ۹ (۱): ص ۷ تا ۱۵

4. Zhang, G. F., Yang, Z. B., Wang, Y., Yang, W. R., Jiang, S. Z and Gai. G. S. 2009. Effects of ginger root (*Zingiber officinale*) processed to different particle sizes on growth performance, antioxidant status, and serum metabolites of broiler chickens. *Poultry Science*. 88: 2159-2166
5. Al-amin, Z. M., Thomson, M., Al-qattan, K. K., Shalaby, R and Ali, M. 2006. Anti-diabetic and hypolipidaemic properties of ginger (*Zingiber officinale*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *British Journal of Nutrition*. 96: 660-666
6. Mohamed, A. B., Mohammed, A. M and Jalil, A. Q. 2012. Effect of Ginger (*Zingiber officinale*) on Performance and Blood Serum Parameters of Broiler. *International Journal of Poultry Science*. 11(2): 143-146
7. Iranloye, B. O., Arikawe, A. P., Rotimi, G and Spgbade, A. O. 2011. Anti-diabetic and anti-oxidant effects of *Zingiber Officinale* on alloxan-induced and insulin-resistant diabetic male rats. [Niger J Physiol Sci](#). 26(1): 89-96
8. Akhiani, S. P., Vishwakarma, S. L and Goyal, R. K. 2006. Antidiabetic Activity Of *Zingiber Officinal Roscoe* In Streptozotocin-Induced Non-Insulin Dependent Diabetic Rats. *Indian journal of pharmaceutical sciences*. 67(5): 553-557
9. Tekeli, A., Celik, L., Kutlu, H. R and Gorgulu, M. 2008. Effect of dietary supplemental plant extracts on performance, carcass characteristics, digestive system development, intestinal microflora and some blood parameters of broiler chicks. Dept. of Animal Science 01330 Adana-Turkey
10. Elrokhi, E. M., Yassin, N. A. Z., Shenawy, S. M. A and Ibrahim, B. M. M. 2010. Anti hypercholesterolaemic effect of ginger rhizome (*Zingiber officinale*) in rats. *Inflammopharmacol*. 18: 309-315
11. Ademola, S. G., Farinu, G. O and Babatunde, G. M. 2009. Serum Lipid, Growth and Haematological Parameters of Broilers Fed Garlic, Ginger and Their Mixtures. *World Journal of Agricultural Sciences*. 5(1): 99-104
12. Abdullah, N., Saat, N. Z. M., Hasan, H. A., Budin, S. B and Kamaralzaman, S. 2004. Protective Effect of the Ethanol Extract of *Zingiber officinale Roscoe* on Paracetamol Induced Hepatotoxicity in Rats. *Jurnal Sains Kesihatan Malaysia*. 2(2): 85-95

Effects of different levels of hydro-alcoholic *Zingiber Officinale* (ginger) extract on blood parameters in male rats

¹* abolfazli, M., ²arshami, J., ²vakili, A., ²tahmasebi, A., and ¹ayoubi, A.

1. MSc student of Animal Physiology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. 2- Associate professor of Animal Physiology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. 2- Associate professor of Animal nutrition, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. Corresponding E-mail address: abolfazli.mohsen@gmail.com

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of hydro alcoholic extract of ginger on blood parameters in male rats. 24 male rats were divided into four groups. hydro alcoholic extract of ginger were administered Intraperitoneally to three groups of male rats at 50 mg/kg



b.w, 100 mg/kg b.w. and 200 mg/kg b.w. for 14 days. Control group received normal saline as placebo. The blood was obtained from all groups of rats after being lightly anaesthetized and was analysed for blood parameters. Results of statistical analysis showed that Ginger extract was significantly effective in lowering serum glucose ($P < 0.05$) and cholesterol ($P < 0.01$) compared with the control rats. Triglyceride and creatinine levels showed no significant change. The amount of total protein increased significantly in the ginger group ($P < 0.01$). The present results indicate that ginger extract can be effective in lowering cholesterol and blood glucose (In non-diabetic rats) And its role in reducing blood lipid More research is needed.

Keywords: Ginger- glucose- cholesterol- lipid- rat

- اثر سطوح مختلف عصاره هیدرو الکلی زنجبیل بر بافت بیضه و سطح تستوسترون در موشهای صحرایی نر
محسن ابوالفضل^{۱*}، جواد آرشامی^۲، علیرضا وکیلی^۳، عبدالمنصور طهماسبی^۴، علیرضا ایوبی^۱
۳. دانشجویان کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، گروه علوم دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۴. دانشیار فیزیولوژی دام، گروه علوم دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۲- استادیار تغذیه دام، گروه علوم دامی،
دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۲- دانشیار تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
* نویسنده مسئول: محسن ابوالفضل، abolfazli.mohsen@gmail.com، تلفن: ۰۹۳۶۳۶۹۵۱۷۰

چکیده

از ریشه زنجبیل به عنوان یک ماده دارویی و ادویه در پخت و پز استفاده می شود. بیان شده است که زنجبیل و ترکیبات آن دارای خاصیت ضد تهوع و استفراغ، ضد ترومبوز، ضد التهاب، محرک و آنتی اکسیدان می باشند. هدف از این مطالعه بررسی اثر سطوح مختلف عصاره آبی الکلی زنجبیل بر بافت بیضه و سطح تستوسترون در موشهای صحرایی نر بود. در این مطالعه ۲۴ سر رت نر در قالب طرح کاملاً تصادفی به چهار گروه ۶ تایی تقسیم شدند. عصاره زنجبیل در سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی و به مدت ۱۴ روز به رت‌ها تزریق شد. گروه کنترل نرمال سالین دریافت کردند. برای تعیین تغییرات توده بافتی، وزن بیضه ها تعیین و ریزنگار میکروسکوپی لوله های اسپرم ساز مقایسه گردید. شمارش اسپرماتوسیت های اولیه به وسیله میکروسکوپ نوری صورت گرفت. میزان تستسترون پلازما با استفاده از کیت مخصوص تعیین شد. پس از بررسی نتایج تفاوت معنی داری بین وزن بیضه ها در گروه های تجربی مشاهده نگردید. در مشاهده مقاطع عرضی لوله های اسپرم ساز تفاوت قابل توجهی در ویژگی های بافتی هیچ یک از گروه ها مشاهده نگردید. تعداد اسپرماتوسیت های اولیه و سطح تستسترون پلازما به صورت معنی داری افزایش یافت ($P < 0.01$). نتایج این مطالعه نشان می دهد که عصاره زنجبیل می تواند در افزایش تعداد اسپرماتوسیت های اولیه و سطح تستسترون سرم موثر باشد.

واژه های کلیدی: زنجبیل - تستسترون - بیضه - اسپرماتوسیت - رت

مقدمه

ناباروری یکی از مشکلات بزرگ در زندگی می باشد و تقریباً ۳۰ درصد آن مربوط به مشکلات در مردان است. تحقیقات بسیاری گزارش کرده اند که آنتی اکسیدانها و ویتامینهای A,B,C,E در غذا باعث محافظت اسپرم از رادیکالهای آزاد می شود (۱). زنجبیل ریزوم گیاه تازه یا خشک شده *zingiber officinale* است که به عنوان دارو از زمان باستان مصرف می شده است. امروزه از آن به صورت گسترده در کل جهان به عنوان ادویه استفاده می شود (۱). خاصیت آنتی اکسیدانی و آندروژنی در زنجبیل وجود دارد (۲ و ۳). مهمترین ترکیبات زنجبیل شامل شوگااول ها، جرانول، جینکل، جرانیل، سزکونی ترپنها، جینجرول ها، پیروگالول ها، زینجیبرن، ارکوکورمن، بتاسزکوبی فلاندرن و بتایزبولن می باشد (۴). از اثرات زنجبیل بر بدن می توان به کاهش درد، ضد التهاب، آنتی تومور، آنتی اکسیدانت، حذف رادیکالهای آزاد، تحریک قاعدگی و رفع بی نظمی ماهیانه، موثر در اسپرماتوژنز و افزایش میل جنسی اشاره نمود (۴). با توجه به خواص زنجبیل، مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر سطوح مختلف عصاره آبی الکلی زنجبیل بر بافت بیضه و سطح تستوسترون در موشهای صحرایی نر انجام گرفت.

مواد و روشها

ابتدا ریزوم زنجبیل تهیه و به کمک آسیاب پودر گردید. به مقدار مساوی آب و الکل را به پودر زنجبیل اضافه نموده و به مدت ۴۸ ساعت بر روی دستگاه تکان دهنده قرار گرفت تا تمامی مواد قابل حل در آب و الکل حل گردند. پس از ۴۸ ساعت محلول را صاف کرده و توسط دستگاه تقطیر در خلا (در دمای ۵۰ درجه و سرعت چرخش ۹۰ دور در دقیقه) تا ۱/۳ حجم اولیه تغلیظ گردید و در انکوباتور در دمای کمتر از ۵۰ درجه به صورت پودر خشک در آمد. حیوانات مورد آزمایش در این تحقیق ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن متوسط ۱۸۵-۱۹۵ گرم و سن ۲ تا ۳ ماهه بود. حیوانات در قالب طرح کاملاً تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند. گروه شاهد: تزریق سرم فیزیولوژی (بصورت داخل صفاقی) به منظور یکسان نمودن شوک حاصل از تزریق. گروه دوم: تزریق عصاره هیدروالکلی زنجبیل به میزان ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم، به صورت داخل صفاقی به مدت ۱۴ روز. گروه سوم: تزریق عصاره هیدروالکلی زنجبیل به میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و گروه چهارم: تزریق عصاره هیدروالکلی زنجبیل به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، به صورت داخل صفاقی به مدت ۱۴ روز. پس از بیهوش کردن حیوانات در پایان دوره، بیضه ها را خارج کرده و توسط ترازوی دیجیتال وزن شدند سپس بیضه ها را در فرمالین ثابت کرده و برش ها به ضخامت ۵ میکرون و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اِئوزین تهیه گردید. در پایان دوره خونگیری به صورت مستقیم از قلب انجام شد و با استفاده از کیت مخصوص شرکت دی آر جی (آلمان) و دستگاه الایزا میزان تستسترون سرم نمونه های خونی تعیین شد. در نهایت نتایج حاصل از آزمایش با نرم افزار SAS و با استفاده از مدل عمومی خطی (GLM) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

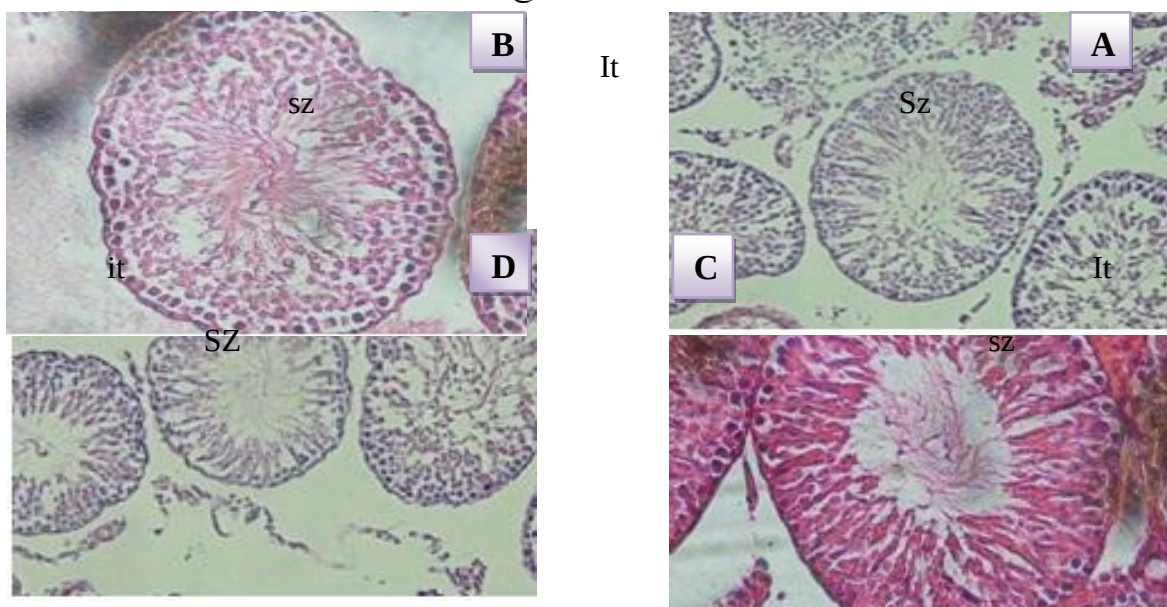
نتایج و بحث

در مشاهده مقاطع عرضی لوله های اسپرم ساز با سطح یکسان به وسیله میکروسکوپ نوری و مقایسه با گروه کنترل، تفاوت قابل توجهی در ویژگی های بافتی هیچ یک از گروه ها مشاهده نگردید و همه گروه ها از نظر ظاهری، شکل و پراکندگی لوله های اسپرم ساز طبیعی بودند. در بررسی که برای وزن بیضه ها صورت گرفت تفاوت معنی داری بین وزن بیضه ها در گروه های مختلف مشاهده نشد ($P > 0.05$). شمارش اسپرماتوسیت های اولیه در مقاطع عرضی لوله های اسپرم ساز با سطح مقطع یکسان و بررسی تفاوت میانگین اسپرماتوسیتها در گروه های تجربی و کنترل، مشخص نمود که بین میانگین تعداد اسپرماتوسیت های گروه های زنجبیل و کنترل تفاوت معنی داری وجود دارد ($P < 0.01$) و با افزایش میزان عصاره زنجبیل در گروه ها، میانگین اسپرماتوسیت ها هم افزایش یافته است. میزان تستسترون موجود در پلاسمای خون به صورت معنی داری در گروه های زنجبیل افزایش یافت و بیشترین مقدار آن مربوط به سطح ۲۰۰ میلی گرم عصاره می باشد. میانگین داده ها در جدول شماره یک آمده است.

جدول ۱- میانگین داده ها در گروه های مختلف

ضخامت لایه سلولی (میکرون)	تعداد اسپرmatوسیت	عرض سمینفروس (میکرون)	طول لوله سمینفروس (میکرون)	تستسترون ng/ml	گروه شاهد
۱۷۲/۸۴۴	۶۱/۰۷۱	۳۷۷/۱۴۱	۴۳۶/۷۲۲	۳/۵۳۵	گروه شاهد
۱۶۹/۷۳۲	* ۶۸/۲۸۶	۳۷۴/۳۷۴	۴۳۴/۷۶۷	۲/۹۲۸	گروه ۵۰ mg
۱۷۱/۰۷۷	* ۷۶/۷۱۴	۳۷۶/۰۷۶	۴۲۸/۶۹۴	* ۴/۳۹۸	عصاره
۱۶۹/۳۱۹	* ۸۷/۵۷۱	۳۷۴/۰۶۸	۴۳۰/۲۸۹	* ۵/۸۷۷	گروه ۱۰۰ mg
					عصاره
					گروه ۲۰۰ mg
					عصاره ۲۰۰

* و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد



D,C,B,A

به ترتیب تیمارهای شاهد و ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم می باشند. بزرگنمایی تصاویر (x40) می باشد. اسپرmatوزو (SZ). بافت بینابینی (It).

ساختار منظم لوله ها و لایه زاینده در تمام تیمارها قابل مشاهده می باشد. نتایج حاصل شده در این مطالعه نشان می دهد که در تیمارهای زنجبیل مقدار تستسترون پلازما به طور معنی داری افزایش یافته است که با نتایج مطالعه های خاکی (۱)، زاهدی (۵)، موراکیو (۶ و ۷) مطابقت می نماید. افزایش در میزان ترشح تستسترون می تواند به دلیل افزایش بیوسنتز اندروژن ها در اثر مواد موثره در زنجبیل باشد. تحقیقات نشان داده است که همزمان با مصرف زنجبیل میزان کلسترول موجود در بیضه ها افزایش می یابد

که این خود دلیلی بر افزایش بیوستز تستسترون می باشد زیرا کلسترول به عنوان ماده پایه در بیوستز آندروژن ها و هورمونهای استروئیدی می باشد (۲). یکی از خواص مهم زنجبیل آنتی اکسیدانت بودن آن می باشد که با حفظ فعالیت آنزیم های سوپر اکساید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز انجام می شود. عدم تناسب بین تولید رادیکالهای آزاد و مهار آنها موجب آسیب بافت بیضه می شود. زنجبیل با کاهش و یا جلوگیری از تولید رادیکالهای آزاد نقش مهمی در بهبود یا حفظ بافت بیضه ایفا میکند (۱). افزایش میزان اسپرماتوسیت ها در این مطالعه با نتایج جوهری (۴)، خاکی (۱) و موراکینیو (۷) مطابقت میکند. افزایش سلولهای اسپرماتوسیت به دلیل وجود ترکیبات فعال در زنجبیل می باشد. این ترکیبات شامل جینجرول ها، شوگااول ها و سزکویی ترپن ها می باشند. این ترکیبات آنتی اکسیدان می باشند که با مهار رادیکالهای آزاد از صدمه به بافت جلوگیری کرده و باعث تقسیمات سلولی می شوند. از طرفی زنجبیل با خاصیت آندروژنی که دارد باعث افزایش میزان آندروژن ها می شود که افزایش آندروژن ها در بالا بردن میل جنسی و احتمالاً باروری موثر می باشد (۴).

منابع

1. Khaki, A., Fathiazad, F., Nouri, M., afshin, A., Hamadeh, M and Novin, M. 2009. The effects of Ginger on spermatogenesis and sperm parameters of rat . Iranian Journal of Reproductive Medicine. 7(1): 7-12
2. Kamtchouing, P., Mbongue Fandio, GY., Dimo, T and Jatsa, HB. 2002. Evaluation of angrogenic activity of Zingiber officinale and pentadiplandra brazzeana in male rats. Asian J Androl. 4: 299-301.
3. Sekiwa, Y., Kubota, k and Kobayashi, a. 2000. Isolation of novel glucosides related to gingerdiol from ginger and their antioxidative activities. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48(2): 373-377
۴. جوهری، ح.، شریفی، ا.، انصاری، ن.، حسینی، م و امیری، ف. ۱۳۸۸. اثر عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر وزن بدن، وزن بیضه و اسپرماتوزن در موشهای صحرایی نر تحت شیمی درمانی داروی سیکلوفسفامید. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ۱۷ (۵): ص ۳۶۵ تا ۳۷۴
5. Zahedi, A., Khaki, A., Ahmadi, HR., Rastegar, H and Rezazadeh, SH. 2010. Zingiber officinale Protective Effects on Gentamicin's Toxicity on Sperm in Rats. Journal of Medicinal Plants. 9(35): 93-98
6. Morakinyo, A.O., Achema, P and Adegoke, O. 2010. Effect of Zingiber Officinale (Ginger) on Sodium Arsenite- Induced Reproductive Toxicity in Male Rats. Afr. J. Biomed. 13: 39-45
7. Morakinyo, A.O., adenyi, O.S and Arikawa, A. P. 2008. Effects of Zingiber Officinale on Reproductive Functions in the Male Rat. African Journal of Biomedical Research. 11: 329-334

Effects of different levels of hydro-alcoholic Zingiber Officinale (ginger) extract on testis tissue and level of Testosterone in male rats

1 * abolfazli, M., ²arshami, J., 2vakili, A., 2tahmasebi, A., and 1ayoubi, A.

2. MSc student of Animal Physiology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. 2- Associate professor of Animal Physiology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. 2- Associate professor of Animal nutrition, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. Corresponding E-mail address: abolfazli.mohsen@gmail.com

Abstract

Ginger rhizome (*Zingiber officinale* R., family: Zingiberaceae) is used medicinally and as a culinary spice. Ginger and its constituents are stated to have antiemetic, antithrombotic, anti-inflammatory, stimulant and antioxidant. The aim of this study was to investigate the Effects of different levels of hydro-alcoholic *Zingiber Officinale* (ginger) extract on testis tissue and level of Testosterone in male rats. 24 male rats were divided into four groups of 6 rats each. hydro alcoholic extract of ginger were administered Intraperitoneally to three groups of male rats at 50 mg/kg b.w, 100 mg/kg b.w. and 200 mg/kg b.w. for 14 days. Control group received normal saline as placebo. Histological properties as seminiferous tubules scattering, testis weight and the number of primary spermatocytes, were compared with the placebo controlled group. Plasma testosterone levels were determined using specific kits. The number of primary spermatocytes and serum testosterone level increased significantly ($P<0.01$) compared to with placebo but no significant differences were observed in histological properties and testis weight between experimental groups and placebo controlled group. The results of this study indicate that ginger extract can be effective in increasing The number of primary spermatocytes and serum testosterone level.

Keywords: ginger- testosterone- testis- spermatocyte- rat

بررسی اثر سطوح مختلف چای کامبوچا (Kombucha) بر عملکرد جوجه های گوشتی

آسیه خزاعی^{۱*}، هادی سریر^۲، محمد باقر منتظر تربتی^۲، نظر افصلی^۲، همایون فرهنگ فر^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه بیرجند، ۲- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

* نویسنده مسئول: آسیه خزاعی (khazae66@gmail.com)

چکیده

در این تحقیق از ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر یکروزه نژاد راس به منظور بررسی عملکردشان استفاده شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار (شامل تیمار شاهد، ۱۰٪ کامبوچا، ۲۰٪ کامبوچا، ۳۰٪ کامبوچا و ۴۰٪ کامبوچا) و ۴ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار انجام شد. در پایان هر هفته مقدار مصرف خوراک، دان برگشتی و افزایش وزن جوجه ها و ضریب تبدیل غذایی یادداشت و داده های جمع آوری شده با نرم افزار SAS آنالیز شد. نتایج نشان داد که چای کامبوچا تاثیر معنی داری بر عملکرد جوجه های گوشتی نداشت اما از نظر عددی سبب بهبود ضریب تبدیل خوراکی شد.

کلمات کلیدی: کامبوچا- جوجه های گوشتی- عملکرد

مقدمه

افزایش تقاضا برای خوراکیهای جدید و قیمت بالای خوراکیهای معمولی سبب شده است که انسان به دنبال جستجوی میکروارگانیسم هایی باشد، که این میکروارگانیسم ها قادر به تولید مواد مغذی باشند و بتواند در جیره دام و طیور مورد استفاده قرار گیرد (۵). انسان در طی سالیان متمادی به اثرات مختلف درمانی عصاره های گیاهی پی برده است. از مزیت های شناخته شده این عصاره ها عدم وجود عوارض جانبی خطرناک و گستردگی طیف اثر آنها می باشد که در این خصوص برخی از آنها از قبیل چای با زندگی روزمره انسانها عجین شده اند. چای ماده غذایی است که اثرات مختلف ضد توموری از قبیل القای آپوپتوزیس، القای تمایز سلولی، خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و تغییر متابولیسم کارسینوژنی در آن مشاهده شده است. در صنعت پرورش طیور به منظور کاهش تلفات و افزایش عملکرد جوجه های گوشتی استفاده از ترکیبات آنتی بیوتیکی متداول است. اما علی ر غم نتایج مطلوب استفاده از آنتی بیوتیک ها در خوراک دام و طیور، امروزه تلاش های گسترده ای در جهت حذف استفاده از آنها در جیره حیوانات وجود دارد و این به دلیل است که در مصرف کنندگان این محصولات دامی مقاومت برخی میکروب ها به این آنتی بیوتیک ها ایجاد می شود (۱). *Medusomyces gisevii* نامی است که برای چای قارچی پیشنهاد می شود که می تواند به عنوان یک منبع غیر معمول غنی از پروتئین میکروبی در جیره طیور مورد استفاده قرار گیرد (۵). چای قارچی یا کامبوچا محصول مشترک دو مخمر *pichia* sp.NRRL Y-4810 و *zygosaccharomyces* sp.NRRL Y-4882 و باکتری استو باکتر گونه NRRL B-2357 است. (۵ و ۳). چای قارچی یک قارچ نیست و نام «چای قارچی» نام اشتباهی است که از توانایی منحصر به فرد باکتری ها در سنتز یک شبکه سلولزی شناور که شبیه یک سطح قارچی روی یک محیط غیر تحریک شده است ناشی می شود؛ این نوشیدنی از تخمیر چای شیرین به دست می آید. این سوسپانسیون حاوی گلوکوروئیک اسید، گلوکونیک اسید، لاکتیک اسید، اگزالیک اسید، بوتیریک اسید، استیک اسید، فولیک اسید و ویتامین های B1، B2، B3، B6، B12، B15، ویتامین C، مواد معدنی و آنزیم ها است. چای کامبوچا محتوی بیشترین پلی فنول ها شامل فلاونوئیدها است. یکی از این فلاونوئید ها که از مشتقات کاتچین است، آنتی اکسیدانی است با قدرت ۱۰۰ برابر بیشتر از ویتامین C و ۲۵ برابر ویتامین E که یک آنتی اکسیدان قوی است (۳). گزارش کردند که کاتچین های موجود در چای جذب کلسترول را از روده کاهش می دهد و

باعث افزایش دفع کلسترول و لیپید از طریق مدفوع می شود (۴). همچنین گزارش شده است که مصرف چای کامبوچا سامانه دفاعی بدن را تقویت نموده و موجب پیشگیری از بیماری ها می شود؛ زیرا این نوشیدنی تنها منبع غذایی حاوی اسید گلوکورونیک می باشد و اسید گلوکورونیک نقش مهمی در سم زدایی بدن توسط کبد دارد. این اسید در واقع UDP-glucuronic acid بوده که فرم فعال اسید گلوکورونیک است، و با مواد سمی ترکیب شده و آنها را در آب محلول ساخته و قدرت جداسازی آن ها را از بدن داراست (۲). کامبوچا یک نوشیدنی ساده و ارزان قیمت است که از دو ماده فراوان و قابل دسترس (چای و شکر) به دست می آید (۳). شاید این نوشیدنی در یک نگاه کلی مقرون به صرفه نباشد اما با توجه به توده مواد مغذی فراوان، خواص درمانی ذکر شده در بالا و عدم عوارض جانبی آن می تواند به عنوان یک پروبیوتیک جایگزین آنتی بیوتیک ها در جیره دام و طیور گردد. هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر چای کامبوچا بر افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی جوجه های گوشتی است.

مواد و روش ها

در این آزمایش از ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی یکروزه سویه تجاری راس در قالب طرح کاملاً تصادفی که شامل ۵ تیمار و ۴ تکرار برای هر تیمار و ۱۰ جوجه در هر تکرار بود استفاده شد.

تهیه چای کامبوچا: برای تهیه چای کامبوچا به ازای هر لیتر آب ۱۰٪ شکر و ۱،۲٪ چای سبز و ۱۲ سی سی سرکه استفاده شد؛ بدین صورت که شکر در آب در حال جوش حل و سپس چای سبز به آن اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه دم کشید و بعد از سرد شدن، این چای شیرین شده از پارچه ای تمیز عبور داده و صاف شده و داخل ظرف شیشه ای با دهانه گشاد ریخته و سرکه به آن افزوده شد و در آخر قارچ کامبوچا را روی مایع پهن کرده و دهانه ی ظرف را با پارچه ای نازک و تمیز پوشانده شده و سپس ظرف را به مدت ۱۴ روز در محلی تاریک با دمای ۲۴-۲۸ درجه سانتیگراد با تهویه مناسب انکوبه شد. بعد از ۱۴ روز قارچ دختر که بر روی سطح ظرف تشکیل داده شده بود جدا و مایع تشکیل شده از پارچه تمیز عبور داده شده و در درصدهای متفاوت به آب جوجه ها افزوده شد. تیمار های آزمایش به شرح زیر بودند:

تیمار ۱ = تیمار شاهد که از آب معمولی استفاده شد

تیمار ۲ = ۱۰٪ کامبوچا به آب جوجه ها افزوده شد

تیمار ۳ = ۲۰٪ کامبوچا به آب جوجه ها افزوده شد

تیمار ۴ = ۳۰٪ کامبوچا به آب جوجه ها افزوده شد

تیمار ۵ = ۴۰٪ کامبوچا به آب جوجه ها افزوده شد

جیره های آزمایش با انرژی و پروتئین یکسان و برای هر ۵ تیمار یکسان بود. هر هفته مقدار خوراک مصرفی و میانگین وزن ۱۰ جوجه هر تکرار و ضریب تبدیل غذایی محاسبه و یادداشت شد. در پایان دوره رشد (۲۸ روزگی) تجزیه و تحلیل داده های مربوط به فاکتورهای اندازه گیری شده با استفاده از نرم افزار SAS و رویه GLM انجام گردید. از آزمون توکی - کرامر برای مقایسه میانگین گروه های آزمایشی در سطح معنی دار ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به اثر سطوح مختلف چای کامبوچا بر روی ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن جوجه های گوشتی در جدول ۱ آمده است. نتایج نشان می دهد که اثر تیمارهای آزمایشی بر افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی در روز ۲۸ معنی دار نبوده است، اما یک کاهش عددی در FCR در تیمار ۵ (۰/۴۰٪ کامبوچا) مشاهده می شود، ولی این کاهش عددی بسیار اندک است و چشمگیر و قابل بحث نیست. در چند تحقیق دیگر هم استفاده از چای کامبوچا اثر معنی داری بر وزن جوجه های گوشتی نداشت (۸ و ۶). اما آزمایشی دیگر نشان داد که تقریباً غلظت ۱۵٪ چای قارچی مصرف آب و خوراک و وزن بدن را در جوجه های گوشتی افزایش داد که با نتایج ما مغایرت دارد و همچنین به صورت عددی سبب بهبود صفت ضریب تبدیل گردید که با نتایج ما مطابقت دارد (۷). در تحقیق ما اثر افزودن چای کامبوچا به آب جوجه های گوشتی مطالعه نشد. گزارش شده است که با افزودن اسید استیک به آب جوجه های گوشتی هیچ گونه تفاوت معنی داری از لحاظ مصرف غذا، وزن زنده، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذا بین تیمارهای آزمایشی دیده نشد (۱).

نتیجه گیری کلی

چای کامبوچا بر روی افزایش وزن و مصرف خوراک جوجه های گوشتی تاثیر معنا داری ندارد؛ گر چه از نظر عددی سبب کاهش بسیار اندکی در ضریب تبدیل غذایی تیمار ۵ شد، اما این کاهش آن قدر چشمگیر و قابل بحث نیست.

جدول ۱- اثر سطوح مختلف چای کامبوچا بر عملکرد جوجه های گوشتی

افزایش وزن (WG)		ضریب تبدیل غذایی (FCR)		اثر
(جوجه / گرم)				
SEM	میانگین	SEM	میانگین	تیمار
p= ۰.۳۶۷۲		p= ۰.۷۱۳۱		
۱۱.۶۶	۲۴۱.۳۳	۱.۷۸۲۷	۰.۰۳۶	شاهد
۱۱.۶۶	۲۴۷.۷۶	۱.۸۲۵۴	۰.۰۳۶	۱۰٪ کامبوچا
۱۱.۶۶	۲۱۸.۸۱	۱.۸۳۹۴	۰.۰۳۶	۲۰٪ کامبوچا
۱۱.۶۶	۲۲۱.۴۲	۱.۸۱۸۸	۰.۰۳۶	۳۰٪ کامبوچا
۱۱.۶۶	۲۲۸.۸۷	۱.۷۸۱۵	۰.۰۳۶	۴۰٪ کامبوچا

منابع

۱. اکبری م.، کرمانشاهی ح. و کلیدری غ.، 1383. بررسی اثر افزودن اسید استیک در آب آشامیدنی بر عملکرد، شاخص های رشد و جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه های گوشتی. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، سال هشتم، شماره سوم.
۲. بیگ محمدی، ف.، کرباسی، ا. و بیگ محمدی، ز.، ۲۰۱۰. تولید میزان اسید گلوکورونیک بالا در نوشابه تخمیری کومبوچا تحت شرایط محیطی. تکنولوژی غذا و مواد مغذی. جلد ۷. ص ۱۰-۱.

3. Adriani L., Mainah H.S. and Marbun N., 2010. The effect of supplementation fermented kombucha tea on fat and cholesterol levels of duck meat. *Lucrări Științifice – Vol. 55: (3)103-105*
4. Dufresne C. and Farnworth E., 2000. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research International* 33 : 409-421
5. Hesseltine, C.W., 1965. A millenium of fungi, food and fermentation. *Mycologia* 5, 149–197.
6. Kusnandar, N., 2004. Cholesterol carcass, abdominal fat and percentage of viscera of broiler chicken given kombucha fermentation tea in drinking water at different time. Thesis study program of Nutrition and feed science, Nutrition and feed science department, Faculty of Animal science, Bogor Agriculture University.
7. Murugesan, G.S., Sathishkumar, M. and Swaminathan, K., 2005. Supplementation of waste tea fungal biomass as a dietary ingredient for broiler chicks. *Bioresource Technology* 96: 1743–1748.
8. Rakhmawati, U., 2002. The effect of kombucha addition in the diet and drink water on broiler performance. Thesis. Study program of Nutrition and Feed science, Nutrition and feed science Department, Faculty of animal Science, Bogor Agriculture University.
9. Tu Y. and Xia H., 2010. Antimicrobial activity of fermented green tea liquid. Original Research Report.

The Effect of different levels of kombucha on performance of broiler Chickens.

Asie khazae¹, Hadi Sarir², Mohammad bagher Montazer torbati², Nazar Afzali², Homayoon Farhangfar²

Abstract

In order to investigate the effect of Kombucha on performance of broiler chickens, 200 one day-old male broiler chickens were used according to completely randomized design. These chickens were distributed to 5 treatments (control, 10%, 20%, 30%, 40%) with 4 replicates (n=10). At the



end of each week feed intake (FI), body weight gain (BWG), feed conversion ratio (FCR) were measured and analyzed by SAS (9.1). The results showed that kombucha doesn't have any significant effect on performance of broiler chickens between treatments, but improved feed conversion ratio in 5th group.

Key word: kombucha- broiler chicken- performance

تاثیر آنتی اکسیدانی ملاتونین بر جنبایی کل، زنده مانی و مرفولوژی اسپرم منجمد-یخ گشایی شده گاو

ایرج اشرفی^۱، حمید کهرام^۱، فرهاد فرخی اردبیلی^۲، ایرج غفاری^۳

۱- گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳- مرکز اصلاح نژاد دام منطقه شمال غرب و غرب کشور، تبریز، ایران

نویسنده مسئول: ایرج اشرفی، گروه علوم دامی دانشگاه تهران، کرج ۰۹۱۴۴۱۹۰۸۱۵

Email: i.ashrafi@ut.ac.ir

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی اثر غلظت های مختلف ملاتونین به عنوان آنتی اکسیدان قوی (۰، ۰/۱، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی مولار) بر ویژگی های اسپرم گاو نر هلشتاین پس از فرایند انجماد- یخ گشایی انجام پذیرفت. نمونه های منی از ۴ گاو نر جمع آوری و با رقیق کننده سترات - زرده تخم مرغ به همراه غلظت های مختلف ملاتونین رقیق و تا ۵ درجه سانتی گراد سرد و سپس در معرض بخار ازت منجمد و در تانک حاوی ازت مایع ذخیره شدند. پس از یخ گشایی ویژگی های جنبایی کل، زنده مانی و مرفولوژی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده رقیق کننده حاوی سطوح مختلف ملاتونین نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری ($P < 0/05$) باعث تغییر صفات جنبایی، زنده مانی و درصد اسپرم های دارای مرفولوژی غیرطبیعی می شود. غلظت ۲ میلی مولار همراه با غلظت ۱ میلی مولار بیشترین افزایش ($P < 0/05$) را در درصد جنبایی کل و کاهش اسپرم با موفولوژی غیرطبیعی داشته و همراه با غلظت ۳ میلی مولار موجب بیشترین افزایش در درصد زنده مانی شده است. غلظت ۴ میلی مولار با این که به صورت معنی داری ($P < 0/05$) باعث بهبود جنبایی کل و کاهش اسپرم با مرفولوژی غیرطبیعی نسبت به گروه شاهد شده است ولی در سایر صفات تاثیر معنی داری در نداشته است. نتایج حاصل از این مطالعه استفاده از غلظت ۲ میلی مولار ملاتونین در رقیق کننده برای انجماد منی گاو را پیشنهاد می کند.

واژگان کلیدی: ملاتونین، آنتی اکسیدان، اسپرم گاو، محافظت از انجماد، ویژگی های کنتیکی

مقدمه

در سیستم های صنعتی پرورش گاو، تلقیح مصنوعی نقش مهمی در کنترل تولید مثل دارد. در سطح مزرعه، کنترل تولید مثل، همزمان سازی زایش در یک دوره زمانی و تغذیه تکمیلی برای فراهم کردن نیازهای شیردهی را تسهیل کرده و موجب افزایش تعداد نتاج به ازای هر راس دام نر می شود. تلقیح مصنوعی مهمترین فنی است که برای اصلاح ژنتیکی حیوانات ارائه شده است. انجماد و ذخیره اسپرم، شامل قراردادن اسپرم در ازت مایع و در نتیجه توقف واکنش های متابولیکی آن است. با کاهش و یا توقف متابولیسم اسپرم طول عمر باروری آن ها افزایش می یابد و در نتیجه می توان از آن ها برای مدت زمان طولانی تری استفاده نمود. حفظ انجمادی اسپرم تغییرات فراساختاری، بیوشیمیایی و عملکردی را در غشای اسپرم به وجود می آورد که در نتیجه آن زنده مانی اسپرم را بعد از انجماد-ذوب تحت تاثیر قرار می دهد (۱).

غشای پلاسمایی اسپرم دارای اسیدهای چرب غیراشباع زیادی است و بنابراین برای جلوگیری آسیب پراکسیداسیون، به ویژه هنگام محافظت انجمادی، استفاده از آنتی اکسیدان ها لازم است. این آسیب پراکسیداتیو موجب کاهش یک پارچگی غشا، آسیب به عملکرد سلول، کاهش جنبایی و کاهش توانایی باروری اسپرم برای تلقیح مصنوعی می شود. یکی از عواملی که می تواند موجب

تخریب غشای پلاسمائی، اختلال در حرکت و دیگر فعالیت‌های اسپرماتوزوئیدها شود، رادیکال‌های آزادند. آنتی‌اکسیدان‌ها از ترکیباتی هستند که فعالیت رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهند (۲) اسپرماتوزوا به دلیل داشتن اسید چرب غیراشباع در غشا مورد حمله پراکسیدازها قرار گرفته و این واکنش پراکسیدازی منجر به شکست اسیدهای چرب غیراشباع و تولید محصولات تغییر یافته اکسیداتیوی می‌شود که برای سلول کشنده است. مکانیسم‌های متفاوتی برای مهار استرس اکسیداتیو و کاهش آسیب‌های ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال وجود دارد که یکی از آن‌ها استفاده از آنتی‌اکسیدان در محیط است به همین دلیل به رقیق‌کننده باید آنتی‌اکسیدان اضافه شود. در چندین سال اخیر توانایی نفوذ ملاتونین در عملکرد سیستم ایمنی بدن، جلوگیری از رشد سرطان و خواص آنتی‌اکسیدانی آن در از بین بردن رادیکال‌های آزاد کشف شده است (۳) بنابراین در این مطالعه اثرات افزودن ملاتونین به مایع رقیق‌کننده را بر روی کیفیت اسپرم پس از ذوب بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های منی سه روز در هفته به وسیله مهبل مصنوعی از ۴ راس گاو هلشتاین واقع در مرکز اصلاح نژاد شمال غرب و غرب کشور جمع‌آوری شده و پس از انتقال به آزمایشگاه نمونه‌های نرمال انتخاب شده و سپس از نمونه‌های منی هر دام به یک مقدار مساوی مخلوط و با رقیق‌کننده سترات-زرد تخم مرغ رقیق شد. در رقیق‌سازی از روش دومرحله‌ای استفاده شده است. بعد از ارزیابی اولیه، نمونه‌های منی گاو برای رسیدن به غلظت ۱۰۰ میلیون اسپرماتوزوآ در هر سی‌سی ابتدا با رقیق‌کننده A رقیق شده و بعد از اعمال تیمار ملاتونین (۰، ۰/۱، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی مولار) در لوله‌های آب هم دما قرار داده شده و به یخچال 5°C انتقال داده شده تا دمای نمونه‌های منی به آرامی به 5°C برسد، سپس به مقدار مساوی با حجم رقیق‌کننده A، از رقیق‌کننده B که حاوی ۱۱ درصد گلیسرول می‌باشد افزوده شده تا غلظت نهایی گلیسرول به ۷ درصد برسد. بعد از سپری شدن نیم ساعت، نمونه‌ها توسط دستگاه فیلینگ-سیلینگ در پایوته‌های ۰/۵ سی‌سی پر و بسته‌بندی شده است. پایوته‌ها که قبل از بسته‌بندی توسط چاپگر مخصوص برای تیمارها و تکرارهای مشخص نام‌گذاری شده بودند روی رک‌های مخصوص انجماد چیده شده و برای انجماد به دستگاه نیمه اتوماتیک انجماد اسپرم انتقال داده می‌شدند. دمای دستگاه انجماد در -70°C تنظیم و ثابت شده و بعد از انتقال رک‌های حاوی پایوته‌های منی رقیق شده به دستگاه، درب دستگاه بسته شده و شیب انجماد به گونه‌ای تنظیم شد که دمای محفظه حاوی پایوته‌ها در عرض ۱۰ دقیقه از -70°C به -150°C برسد. بعد از سپری شدن این زمان پایوته‌ها توسط گوبلت‌های مخصوص علامت‌گذاری شده برای هر تیمار به تانک ازت -196°C انتقال می‌یافتند. هنگام یخ‌گشایی از حمام آب گرم 37°C به مدت ۴۵ ثانیه استفاده می‌شد. از سیستم آنالیز رایانه‌ای تحرک اسپرم برای ارزیابی جنبایی، رنگ آمیزی ائوزین-نیگروزین برای ارزیابی زنده‌مانی و از محلول هانکوک برای شمارش اسپرم‌های غیرطبیعی و اسپرم‌های دارای آکروزوم غیرطبیعی استفاده شد. این آزمایش با ۵ تکرار انجام شده و داده‌های حاصل به صورت جداگانه در قالب طرح کامل تصادفی و به کمک رویه Proc GLM نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

رقیق‌کننده حاوی سطوح مختلف ملاتونین نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) باعث تغییر صفات جنبایی، زنده‌مانی و درصد اسپرم‌های غیرطبیعی می‌شود.

جدول ۱. مقایسه صفات جنبایی، زنده‌مانی، مورفولوژی غیرطبیعی و آکروزوم غیرطبیعی اسپرم یخ‌گشایی شده گاو در بین سطوح آزمایشی ملاتونین (میلی مولار)



صفات	گروه شاهد	mM(۰/۱)	mM(۱)	mM(۲)	mM(۳)	mM(۴)
جنبایی کل (%)	$4/2 \pm 0.1/43$	$b,c, 2/2 \pm 79/51$	$a, 0/4 \pm 87/60$	$a, 2/4 \pm 54/62$	$b, 4/3 \pm 40/55$	$c, 2/8 \pm 55/47$
زنده‌مانی (%)	$2/3 \pm 59/65$	$a, 2/3 \pm 68/31$	$a, 3/5 \pm 71/10$	$a, 1/1 \pm 69/8$	$b, 3/0 \pm 61/81$	$b, 2/5 \pm 61/57$
اسپرم با مورفولوژی غیرطبیعی	$a, 2/1 \pm 18/38$	$c, 1/7 \pm 12/74$	$d, 1/3 \pm 8/13$	$d, 1/3 \pm 6/91$	$c, 1/1 \pm 13/27$	$b, 1/15 \pm 5/59$
اسپرم با آکروزوم غیرطبیعی	$a,b, 0/6 \pm 2/96$	$a, 0/9 \pm 3/24$	$a,b, 0/4 \pm 2/7$	$b, 0/4 \pm 2/1$	$a,b, 0/4 \pm 2/5$	$a, 0/6 \pm 3/2$

بالانویس‌ها (a,b,c,d) در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت‌های معنی‌داری در سطح $P < 0.05$ بین تیمارها می‌باشد.

غلظت ۴ میلی‌مولار با این که به صورت معنی‌داری ($P < 0.05$) باعث بهبود جنبایی کل و کاهش اسپرم با مورفولوژی غیرطبیعی نسبت به گروه شاهد شده است ولی در سایر صفات تاثیر معنی‌داری در نداشته است ($P > 0.05$). غلظت ۲ میلی‌مولار همراه با غلظت ۱ میلی‌مولار بیشترین افزایش ($P < 0.05$) را نیز در درصد جنبایی کل و کاهش اسپرم با مورفولوژی غیرطبیعی داشته و همراه با غلظت ۳ میلی‌مولار موجب بیشترین افزایش در درصد زنده‌مانی شده است. سطح یک میلی‌مولار همچنین موجب افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) زنده‌مانی و یکپارچگی غشای پلاسمایی نسبت به گروه شاهد می‌شود. سطح ۰/۱ میلی‌مولار نیز موجب بهبود معنی‌دار ($P < 0.05$) جنبایی کل و پیشرونده، زنده‌مانی، یکپارچگی غشای پلاسمایی و کاهش درصد اسپرم‌ها با مورفولوژی غیرطبیعی می‌شود.

بحث

مطالعات روی اسپرم گاو (۴) و اسب (۵) نشان داد که فرایند محافظت از انجماد موجب افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود. در منی گاو مشاهده شد که پلاسمای منی رقیق شده یک منبع مهم آنتی‌اکسیدانی است که اسپرم را در فرایند محافظت از انجماد، علیه استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند (۶). تولید بیش از حد گونه اکسیژن فعال می‌تواند آسیب‌های جدی بر ساختار و عملکرد اسپرم وارد کند (۷) به این دلیل از آنتی‌اکسیدان‌های خارجی علاوه بر آنتی‌اکسیدان‌های موجود در پلاسمای منی در رقیق‌کننده انجماد اسپرم استفاده شده و توانایی آن‌ها در بهبود کیفیت و عملکرد اسپرم بعد از فرایند انجماد-یخ‌گشایی گزارش شده است (۸). بنابراین شواهد غیرمستقیمی وجود دارد که استرس اکسیداتیو در طی فرایند محافظت از انجماد به سلول اسپرم آسیب وارد می‌کند. تاثیر حفاظتی ملاتونین در سلول‌های مختلف موجب شده اثر آنتی‌اکسیدانی ملاتونین کاملاً مشهود شود. ملاتونین مستقیماً تعداد زیادی از رادیکال‌های آزاد سمی را غیرفعال کرده (۹-۱۱)، در بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موثر بوده و موجب افزایش سطح mRNA و پروتئین‌های این آنزیم‌ها می‌شود (۱۲) ملاتونین همچنین می‌تواند اسپرماتوزوا را علیه جیوه، نیتریک اکساید، H_2O_2 و آسیب‌های اکسیداتیو محافظت کند (۱۳). گاوایی و برنارد (۲۰۰۲) گزارش کردند که ملاتونین بر اساس دوزهای مورد استفاده جنبایی اسپرم را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۴). فوجی نوکی (۲۰۰۸) مشاهده کرد که استفاده از ملاتونین در شرایط آزمایشگاهی موجب افزایش فعالیت اسپرم، موش می‌شود که سطح ۱ نانومولار موثرترین دوز می‌باشد (۱۵). کاساسو (۲۰۱۰) گزارش کرد که استفاده از غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌مولار ملاتونین موجب بهبود ظرفیت‌پذیری و کاهش تغییرات شبه آپاتوزی می‌شود، در حالی که در سطوح پایین‌تر اثرات محافظتی ملاتونین مشاهده نمی‌شود (۱۶).

1. Holt, W.V., Basic aspects of frozen storage of semen. *Anim Reprod Sci*, 2000. 62(1-3): p. 3-22.
2. Leboeuf, B., B. Restall, and S. Salamon, Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 2000. 62(1-3): p. ۱۱۳-۱۴۱.
3. Reiter, R.J., The pineal gland and melatonin in relation to aging: a summary of the theories and of the data. *Exp Gerontol*, 1995. 30(3-4): p. 199-212.
4. Chatterjee, S. and C. Gagnon, Production of reactive oxygen species by spermatozoa undergoing cooling, freezing, and thawing. *Mol Reprod Dev*, 2001. 59(4): p. 451-8.
5. Ball, B.A., A.T. Vo, and J. Baumber, Generation of reactive oxygen species by equine spermatozoa. *Am J Vet Res*, 2001. 62(4): p. 508-15.
6. Bilodeau, J.F., et al., Levels of antioxidant defenses are decreased in bovine spermatozoa after a cycle of freezing and thawing. *Mol Reprod Dev*, 2000. 55(3): p. 282-8.
7. Saleh, R.A. and A. Agarwal, Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *J Androl*, 2002. 23(۶): p. 737-52.
8. Berlinguer, F., et al., Superoxide dismutase affects the viability of thawed European mouflon (*Ovis g. musimon*) semen and the heterologous fertilization using both IVF and intracytoplasmatic sperm injection. *Reprod Fertil Dev*, 2000. 10(۱-۲): p. 19-25.
9. Tan, D.X., et al., One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *J Pineal Res*, 2007. 42(1): p. 28-42.
10. Hardeland, R., D.X. Tan, and R.J. Reiter, Kynuramines, metabolites of melatonin and other indoles: the resurrection of an almost forgotten class of biogenic amines. *J Pineal Res*, 2009. 47(2): p. 109-26.
11. Peyrot, F. and C. Ducrocq, Potential role of tryptophan derivatives in stress responses characterized by the generation of reactive oxygen and nitrogen species. *J Pineal Res*, 2008. 45(3): p. 235-46.
12. Reiter, R.J., et al., Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. *J Biomed Sci*, 2000. 7(6): p. 444-58.
13. Rao, M.V. and B. Gangadharan, Antioxidative potential of melatonin against mercury induced intoxication in spermatozoa in vitro. *Toxicol In Vitro*, 2008. 22(4): p. 935-42.
14. Gwayi, N. and R.T. Bernard, The effects of melatonin on sperm motility in vitro in Wistar rats. *Andrologia*, 2002. 34(6): p. 391-6.

15. Fujinoki, M., Melatonin-enhanced hyperactivation of hamster sperm. *Reproduction*, 2008. 136(5): p. 533-41.
16. Casao, A., et al., Effects of melatonin implants during non-breeding season on sperm motility and reproductive parameters in Rasa Aragonesa rams. *Reprod Domest Anim*, 2010. 45(3): p. 425-32.

Antioxidant effects of melatonin on total motility, viability and morphology of cryopreserved bull spermatozoa

Iraj Ashrafi^{1*}, Hamid Kohram¹, Farhad Farrokhi Ardabili², Iraj Ghafari³

¹Department of Animal Science, Faculty College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

²Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran

³Animal Breeding Center of North and Northwest of Iran, Tabriz, Iran

*Corresponding E-mail address: i.ashrafi@ut.ac.ir

Abstract

Oxidative damage to sperm resulting from reactive oxygen species generated by the cellular components of semen during storage is possibly one of the main causes for the decline in sperm quality. The aim of this study was to determine the effects of melatonin as an antioxidant on post-thaw parameters of bull semen. Ejaculates were collected using the artificial vagina from four bulls and five replicates of the ejaculates were diluted with a citrate-based extender with melatonin at the doses of 0.1, 1, 2, 3 and 4 mM and an extender containing no melatonin (control) and packed in 0.5 ml straws. Straws were transferred to refrigerator and maintained at 5 °C for 3 h, and then the straws were frozen in liquid nitrogen vapor. and plunged into liquid nitrogen. A computer-assisted sperm motility analysis was used to analyze sperm motion characteristics. We observe that, the use of bull semen extender supplemented with 2 mM melatonin led to the highest value ($P < 0.05$) for post-thaw total motility (65.54 %) and live sperm (69.80 %). melatonin at the different levels were not effective in the acrosome damage following the thawing process. The results indicate that supplementation of melatonin to the semen extender can improve the semen post-thaw quality.

Key words: melatonin- antioxidant-bull semen- cryopreservation-microscopic parameters

تاثیر ملاتونین بر جنبایی پیشرونده، یکپارچگی غشای پلاسمایی، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و پراکسیداسیون لیپید اسپرم منجمد- یخ گشایی شده گاو

ایرج اشرفی^۱، حمید کهرام^۱، حسین طایفی نصرآبادی^۲

۱- گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲- گروه بیوشیمی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

نویسنده مسئول: ایرج اشرفی، گروه علوم دامی دانشگاه تهران، کرج ۰۹۱۴۴۱۹۰۸۱۵

Email: i.ashrafi@ut.ac.ir

چکیده

فرآیند انجماد اسپرم باعث بروز آسیب های ساختاری و بیوشیمیایی در اسپرم می شود که می تواند زنده مانی و باروری اسپرم را تحت تاثیر قرار داده و موجب افزایش تولید گونه های اکسیژن فعال و ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو می شود. لذا هدف این مطالعه بررسی اثر آنتی اکسیدانی سطوح مختلف هورمون ملاتونین (۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی مولار) در رقیق کننده اسپرم گاو می باشد. نمونه های منی از ۴ گاو نر جمع آوری و با رقیق کننده سیترات - زرده تخم مرغ به همراه غلظت های مختلف ملاتونین رقیق و تا ۵ درجه سانتی گراد سرد و سپس در معرض بخار ازت منجمد و در تانک حاوی ازت مایع ذخیره شدند. پس از یخ گشایی ویژگی های جنبایی پیشرونده، یکپارچگی غشای پلاسمایی، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و میزان پراکسیداسیون لیپید مورد بررسی قرار گرفت. اساس یافته های حاصل از مطالعه ما، غلظت ۲ میلی مولار ملاتونین همراه با غلظت ۱ میلی مولار بیشترین افزایش ($P < 0.05$) را نیز در درصد جنبایی پیشرونده و همراه با غلظت ۳ میلی مولار موجب بیشترین افزایش در یکپارچگی غشای پلاسمایی شده است. سطوح ۱ و ۲ میلی مولار ملاتونین بیشترین افزایش را در ظرفیت آنتی اکسیدانی تام داشته و غلظت های ۱، ۲ و ۳ میلی مولار ملاتونین موجب کاهش معنی دار ($P < 0.05$) تولید مالون دی آلدهاید نسبت به گروه شاهد شده که سطح ۲ میلی مولار ملاتونین بیشترین کاهش را در پراکسیداسیون لیپید موجب شده است.

واژگان کلیدی: ملاتونین - آنتی اکسیدان - اسپرم گاو - انجماد - استرس اکسیداتیو

مقدمه

هدف از انجماد اسپرم به کاربردن آن ها در تکنیک های کمک کننده به تولیدمثل بوده که در این تکنیک ها، منی پس از انزال، به طور مستقیم وارد دستگاه تولید مثل ماده نشده بلکه پس از تحریک دام نر و جمع آوری منی توسط مهبل مصنوعی، اسپرم رقیق شده و به منظور نگهداری طولانی مدت به صورت سردسازی یا منجمد، با روش هایی مانند قرار دادن در دستگاه تولیدمثل ماده، اضافه نمودن به محیط کشت در آزمایشگاه جهت باروری اووسیت بالغ و یا انتخاب یک اسپرم جنبا و سالم از نظر مورفولوژی، جهت تزریق درون سیتوپلاسمی اووسیت مورد استفاده قرار می گیرد. لذا استفاده از اسپرم طبیعی و کارآمد در این تکنیک ها ضروری و روش های به کاربرده شده جهت غنی سازی سلول اسپرم، نقش مهمی را در پیشرفت این تکنیک ها برعهده خواهد داشت (۱). غشای پلاسمایی اسپرم، مدل کامل و عالی جهت بررسی اثر عوامل خارجی مختلف، روی غشاها بوده و نقش بیولوژی منحصر به فردی را در فرایند باروری ایفا می کند. انجماد و یخ گشایی، تکامل غشای اسپرم را افزایش و منجر به واکنش آکروزومی سلول اسپرم شده، همچنین فرایند ظرفیت پذیری و واکنش آکروزومی، جنبایی اسپرم را تحت تاثیر قرار داده، از طرفی عمر و توانایی آن را در

واکنش با دستگاه تولید مثل ماده و باروری کاهش می دهد. فرایند انجماد اسپرم، با تشکیل گونه های اکسیژن فعال و با استرس و آسیب های اکسیداتیوی همراه بوده که از عوامل مهم، در کاهش جنبایی و باروری اسپرم در طول نگهداری منی محسوب می-شوند (۲-۳). غشای پلاسمایی اسپرم حاوی مقدار زیادی اسید چرب غیراشباع و فاقد ترکیبات سیتوپلاسمی آنتی اکسیدانی بوده، بنابراین مستعد به آسیب های پراکسیداسیون لیپیدی (۲-۳) توسط رایکال های آزاد مثل هیدروژن، پراکسید، آنیون سوپر اکسید و هیدروکسیل بوده که با کاهش سلامت غشا، کاهش جنبایی اسپرم، و آسیب عملکرد سلولی همراه می باشد (۳). ایجاد تعادل بین تولید رایکال های آزاد و فراورده های گروه های واکنش اکسیژنی و سم زدایی آن ها توسط آنتی اکسیدان ها، یک عامل مهم در بقای سلول اسپرم و عملکرد آن ها، قبل و بعد از حفاظت انجمادی می باشد که به هم خوردن این تعادل باعث استرس اکسیداتیوی می-شود. استفاده از آنتی اکسیدان در رقیق کننده یکی از روش های استرس اکسیداتیو می باشد. مطالعات زیادی بر خاصیت آنتی اکسیدانی ملاتونین تاکید کرده (۴-۵) و تاثیر مثبت آن در حفاظت از اسپرم در طی فراوری را گزارش کرده اند (۶-۷). لذا در این مطالعه تصمیم گرفتیم تاثیر آنتی اکسیدانی ملاتونین را در تقویت سیستم آنتی اکسیدانی پلاسمای منی و حذف رایکال های آزاد هنگام فراوری اسپرم مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش ها

نمونه های منی سه روز در هفته به وسیله مهبل مصنوعی از ۴ راس گاو هلشتاین واقع در مرکز اصلاح نژاد شمال غرب و غرب کشور جمع آوری شده و پس از انتقال به آزمایشگاه نمونه های نرمال انتخاب شده و سپس از نمونه های منی هر دام به یک مقدار مساوی مخلوط و با رقیق کننده سترات-زرد تخم مرغ رقیق شد. در رقیق سازی از روش دوم مرحله ای استفاده شده است. بعد از اعمال تیمار ملاتونین (۰، ۰/۱، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی مولار). پایوت ها بعد از بسته بندی به یخچال ۵ درجه منتقل شده و بعد از سپری شدن زمان سردسازی و تعادل، با قرار گرفتن در بخار ازت مایع به مدت ۱۵ دقیقه منجمد شده و به ازت مایع انتقال داده شدند. هنگام یخ گشایی از حمام آب گرم 37°C به مدت ۳۷ به مدت ۴۵ ثانیه استفاده می شد. از سیستم آنالیز رایانه ای تحرک اسپرم برای ارزیابی ویژگی های جنبایی و از تست التهاب هیپو-اسموتیک به منظور ارزیابی یکپارچگی غشای پلاسمایی استفاده شد. برای انجام آزمایشات بیوشیمیایی ابتدا هموژن سلولی تهیه شده و سپس پراکسیداسیون لیپیدی با استفاده از تیوباربتوریک اسید 0.67% و تری کلرواستیک اسید 20% اندازه گیری شد. 0.5 میلی لیتر از هموژن سلولی به 1 میلی لیتر محلول فوق اضافه و سپس به مدت 1 ساعت در دمای جوش قرار داده شده و سپس جذب محلول رویی در طول موج 532 نانومتر اندازه گیری شد. نتایج با استفاده از استاندارد مالون دی آلدهاید به صورت (نانو مول در دسی لیتر) بیان گردید. برای اندازه گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی تام با مکانیسم FRAP از روش بنزی و استرین استفاده شد. به همین منظور ابتدا محلول کار FRAP به قرار زیر تهیه گردید. میزان 10 میلی لیتر بافر استات ($\text{pH}=3.6, 300\text{mmol/l}$) با 1 میلی لیتر از ماده تری پیریدیل تریازین محلول در اسید کلریدریک (40mmol/l) مخلوط شده و 1 میلی لیتر محلول کلریدریک (20mmol/l) به آن اضافه شده و سپس به یک میلی لیتر محلول کار میزان 100 میکرو لیتر سوپرناتانت حاصل از هموژن سلولی اضافه و جذب آن در طول موج 593 نانومتر به مدت 4 دقیقه اندازه گیری گردید. پس از کسر جذب بلانک، جذب حاصله با استفاده از استاندارد ویتامین C به صورت میکرو مولار ویتامین C بیان گردید (۸) این آزمایش با ۵ تکرار انجام شده و داده های حاصل به صورت جداگانه در قالب طرح کامل تصادفی و به کمک رویه Proc GLM نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

رقیق‌کننده حاوی سطوح مختلف ملاتونین نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) باعث تغییر جنبایی و یکپارچگی غشای پلاسمایی می‌شود. غلظت ۴ میلی‌مولار با این‌که به صورت معنی‌داری ($P < 0.05$) باعث بهبود یکپارچگی غشای پلاسمایی نسبت به گروه شاهد شده است ولی درصد جنبایی پیشرونده را کاهش داده است ($P > 0.05$). غلظت ۲ میلی‌مولار همراه با غلظت ۱ میلی‌مولار بیشترین افزایش ($P < 0.05$) را نیز در درصد جنبایی پیشرونده داشته و همراه با غلظت ۳ میلی‌مولار موجب بیشترین افزایش در درصد یکپارچگی غشای پلاسمایی شده است.

مقایسه جنبایی، یکپارچگی غشای پلاسمایی، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی تام و میزان تولید مالون دی‌آلدهاید در اسپرم یخ‌گشایی شده گاو همراه با سطوح آزمایشی ملاتونین

صفات	گروه شاهد	mM(۰/۱)	mM(۱)	mM(۲)	mM(۳)	mM(۴)
جنبایی پیشرونده (%)	$4.2 \pm 93/20$	$2.2 \pm 77/26$	$0.3 \pm 45/31$	$2.2 \pm 14/30$	$7.2 \pm 91/23$	$6.9 \pm 15/15$
یکپارچگی غشای پلاسمایی (%)	$2.4 \pm 50/35$	$2.5 \pm 58/46$	$1.8 \pm 66/46$	$1.4 \pm 68/38$	$1.1 \pm 67/85$	$2.5 \pm 57/02$
پتانسیل آنتی‌اکسیدانی تام	$3.21 \pm 17/7$	$4.39 \pm 29/1$	$4.50 \pm 42/58$	$2.70 \pm 40/27$	$2.75 \pm 48/97$	$1.76 \pm 18/36$
($\mu\text{M Vit C}$)	$0.74 \pm 6/09$	$0.68 \pm 5/30$	$0.96 \pm 3/6$	$0.65 \pm 3/9$	$0.79 \pm 2/78$	$0.82 \pm 5/7$
مالون دی‌آلدهاید (nmol/dL)						

بالانویس‌ها (d,c,b,a) در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت‌های معنی‌داری در سطح $P < 0.05$ بین تیمارها می‌باشد. با اندازه‌گیری میزان پتانسیل تام آنتی‌اکسیدانی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مشخص می‌شود. تغییرات میزان پتانسیل تام آنتی‌اکسیدانی در اثر اعمال تیمار نسبت به گروه شاهد، نشان‌دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی ماده افزوده شده است. نتایج حاصل از این مطالعه همچنین نشان می‌دهند که حضور ملاتونین در رقیق‌کننده اسپرم گاو موجب افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) پتانسیل آنتی‌اکسیدانی تام شده و میزان تولید مالون دی‌آلدهاید کاهش ($P < 0.05$) می‌یابد که نشان‌دهنده کاهش پراکسیداسیون لیپید اسپرم است. در این بین سطوح ۱ و ۲ میلی‌مولار ملاتونین بیشترین افزایش را در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام داشته و اختلاف بین گروه شاهد و سطح ۴ میلی‌مولار ملاتونین معنی‌دار نمی‌باشد ($P > 0.05$)، همچنین غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ میلی‌مولار ملاتونین موجب کاهش معنی‌دار تولید مالون دی‌آلدهاید شده است که سطح ۲ میلی‌مولار ملاتونین بیشترین کاهش را در پراکسیداسیون لیپید موجب شده است.

بحث

مشاهده بیشترین افزایش در عملکرد اسپرم منجمد گاو در حضور ملاتونین بیان می‌کند که سطح ۲ میلی‌مولار ملاتونین می‌تواند به عنوان موثرترین سطح استفاده از ملاتونین در رقیق‌کننده انجماد اسپرم گاو باشد. در مطالعه‌ای که توسط لئون و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد، گزارش شد که نقش محافظتی ملاتونین روی میتوکندری و به طبع آن روی جنبایی اسپرم می‌تواند از طریق چندین مکانیسم باشد. مکانیسم (۱) خاصیت آنتی‌اکسیدانی و جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد توسط ملاتونین، اندامک‌های سلول را در برابر آسیب‌های استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند (۹). مکانیسم (۲) ملاتونین موجب افزایش فعالیت کمپلکس‌های ۱ و ۴ در شاخه‌های انتقال الکترون شده، در نتیجه موجب بهبود تنفس میتوکندریایی و افزایش تولید ATP تحت شرایط طبیعی و استرس

می‌شود (۱۰). مکانیسم ۳) ملاتونین با کاهش مصرف اکسیژن، کاهش پتانسیل غشا و کاهش تولید آنیون سوپراکساید، میتوکندری را در برابر آسیب های اکسیداتیو محافظت می‌کند در حالی که میزان تولید ATP حفظ شود (۱۱) بنابراین بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان پیشنهاد کرد که بهبود ویژگی های جنمایی و یکپارچگی های غشای پلاسمایی در حضور ملاتونین می‌تواند ناشی از اثر آنتی اکسیدانی قوی ملاتونین باشد. با این وجود بر اساس نتایج این مطالعه غلظت ۴ میلی مولار ملاتونین نمی‌تواند تمامی اثرات مثبت ناشی از افزودن سطح ۲ میلی مولار ملاتونین را نشان دهد.

منابع

1. Bielfeld, P., et al., Effect of egg yolk medium on the acrosome reaction of human spermatozoa. *J Androl*, 1990. 11(3): p. 260-9.
2. Blank, M., L. Soo, and J.S. Britten, Adsorption of albumin on rabbit sperm membranes. *J Membr Biol*, 1976. 29(4): p. 401-9.
3. Bronson, R.A., T. Peresleni, and M. Golightly, Progesterone promotes the acrosome reaction in capacitated human spermatozoa as judged by flow cytometry and CD46 staining. *Mol Hum Reprod*, 1999. 5(6): p. 507-12.
4. Allegra, M., et al., The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. *J Pineal Res*, 2003. 34(1): p. 1-10.
5. Juknat, A.A., et al., Melatonin prevents hydrogen peroxide-induced Bax expression in cultured rat astrocytes. *J Pineal Res*, 2005. 38(2): p. 84-92.
6. Sonmez, M., A. Yuce, and G. Turk, The protective effects of melatonin and Vitamin E on antioxidant enzyme activities and epididymal sperm characteristics of homocysteine treated male rats. *Reprod Toxicol*, 2007. 23(2): p. 226-31.
7. Ramadan, T.A., et al., Effectiveness of exposure to longday followed by melatonin treatment on semen characteristics of Damascus male goats during breeding and non-breeding seasons. *Theriogenology*, 2009. 71(3): p. 458-68.
8. Benzie, I.F. and J.J. Strain, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*, 1996. 239(1): p. 70-6.
9. Leon, J., et al., Melatonin mitigates mitochondrial malfunction. *J Pineal Res*, 2005. 38(1): p. 1-9.
10. Acuna, C.D., et al., Melatonin, mitochondrial homeostasis and mitochondrial-related diseases. *Curr Top Med Chem*, 2002. 2(2): p. 133-51.
11. Lopez, A., et al., Melatonin protects the mitochondria from oxidative damage reducing oxygen consumption, membrane potential, and superoxide anion production. *J Pineal Res*, 2009. 46(2): p. 188-98.

Effects of melatonin on progressive motility, plasma membrane integrity, total antioxidant capacity and lipid peroxidation of cryopreserved bull spermatozoa

Iraj Ashrafi^{1*}, Hamid Kohram¹, Hossein Tayefi - Nasrabadi²

¹Department of Animal Science, Faculty College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

²Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Corresponding E-mail address: i.ashrafi@ut.ac.ir

Abstract

The aim of this study was to determine the effects of melatonin as an antioxidant on post-thaw parameters of bull semen such as progressive motility, plasma membrane integrity, total antioxidant capacity and lipid peroxidation. Ejaculates were collected from four bulls and five replicates of the ejaculates were diluted with a citrate-based extender with melatonin at the doses of 0, 0.1, 1, 2, 3 and 4 mM and packed in 0.5 ml straws. Straws were transferred to refrigerator and maintained at 5 °C and then the straws were frozen in liquid nitrogen vapor, and plunged into liquid nitrogen. A computer-assisted sperm motility analysis was used to analyze sperm motion characteristics. The hypoosmotic swelling test was used to evaluate the functional integrity of the sperm membrane. The ferric reducing/antioxidant power assay was used to measure the total antioxidant capacity and the concentrations of Malondialdehyde, as indices of the LPO in the sperm samples, were measured. We observe that, the use of bull semen extender supplemented with 2 mM melatonin led to the highest value ($P < 0.05$) for post-thaw progressive motility (30.1%), hypo-osmotic swelling test (68.38 %) and total antioxidant capacity (40.27 μ M Vit C) compared to the control group (20.93, 50.35, 17.7) respectively and the levels of malondialdehyde decreased ($P < 0.05$) with the addition 2 mM (3.9 nmol/dL), compared to the control (6.096). The results indicate that supplementation of melatonin to the semen extender can improve the semen post-thaw quality.

Key words: melatonin, antioxidant, bull semen, cryopreservation, oxidative stress

ارزیابی ویژگی‌های بافت‌زایی سلول‌های حمایتی در گوسفند؛ مطالعه‌ای در سطح میکروسکوپ نوری

رحمت‌الله فتاحیان دهکردی* و علی پرچمی

استادیار گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد

* نویسنده مسئول: رحمت‌الله فتاحیان دهکردی، شهرکرد-کیلومتر ۲ جاده سامان- دانشگاه شهرکرد-

fatahian_1349@yahoo.com

چکیده

تکامل سلول‌های پشتیبان در دوره‌ی آبستنی در جنین‌های نر گوسفند از لحاظ ساختاری در سطح میکروسکوپ نوری مورد ارزیابی قرار گرفت. حیوانات به‌ترتیب به دو گروه با سن تقریبی ۱۱۰-۱۰۰ روزگی و قبل از تولد یعنی سن ۱۴۶-۱۳۵ روزگی دسته‌بندی شدند. نمونه‌ها، از بیضه داخل اسکرتوم تهیه گردید و مقاطع بافتی به‌دست آمده با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوژین رنگ‌آمیزی شدند. یافته‌ها نشان داد که در هر دو گروه سنی، حفره‌ی داخلی طناب‌های جنسی از یک مایع کلونیدی انباشته شده بود، به‌جز آنکه در گروه دوم برخی معدود از طناب‌ها فضای داخلی حفره خالی بود. اما علاوه بر مواد کلونیدی سیتوپلاسم سلول‌های پشتیبان نیز در حفره‌ی داخلی طناب مشارکت داشتند. سلول‌های پشتیبان روی غشای پایه مستقر بوده و ارتباط تنگاتنگی بین این سلول‌ها وجود داشت. شکل طناب‌ها به‌وسیله‌ی ترتیب منظمی از سلول‌های پشتیبان در بخش اطراف طناب نظم یافته بود. در گروه دوم، تراکم سلول‌های پشتیبان خیلی فراوان بود و طناب‌ها با الگوی منظمی در سطوح مختلف مقطع بافتی شکل یافته بود.

واژگان کلیدی: سلول‌های پشتیبان، بافت‌زایی، گوسفند، میکروسکوپ نوری

مقدمه

ویژگی مجزا کننده‌ای که می‌تواند بیضه را از ساختار تخمدان تخمدان تفکیک کند مربوط به تشکیل ساختارهایی است که پایه‌ریز اسپرماتیدهای آینده می‌باشند و به نام لوله‌های اسپرم‌ساز معرفی می‌شوند. ساختار بافتی این لوله‌ها به‌گونه‌ای است که شامل دو نوع سلول پشتیبان و سلول زایای آغازین می‌باشد (۵). مشخص شده است که وجود یکسری تعاملات بافتی مابین سلول‌های پشتیبان و ماده‌ی زمینه‌ی اطراف سلول‌ها، زمینه را برای ایجاد فرایندهای سلولی آماده کرده و منجر به شکل‌گیری طناب‌های جنسی اولیه می‌شود (۶). ظهور ویژگی‌های اندام تناسلی نر، توسط سلول‌های پشتیبان به‌معرض گذارده می‌شود و با رویت این سلول‌ها، مراحل از ازدیاد و تمایز آن‌ها در گناد تناسلی آغاز می‌گردد (۳ و ۴). با توجه به این مفاهیم، مطالعه‌ی حاضر روند هیستوژنز سلول‌های پشتیبان را مد نظر قرار داده و سعی شده مطالب ارزنده‌ای در باب تمایز و تکامل این سلول‌ها ارائه دهد.

مواد و روش کار

ارزیابی میکروسکوپی سلول‌ها در دو گروه جنینی با سن‌های متفاوت انجام شد. تعداد ۱۵ جنین از کشتارگاه دام شهرکرد انتخاب شد و با اندازه‌گیری طول فرق سر-دنبالچه آن‌ها، به دو گروه سنی ۱۱۰-۱۰۰ روزگی و سن تقریباً پیش از تولد (۱۴۶-۱۳۵) تقسیم

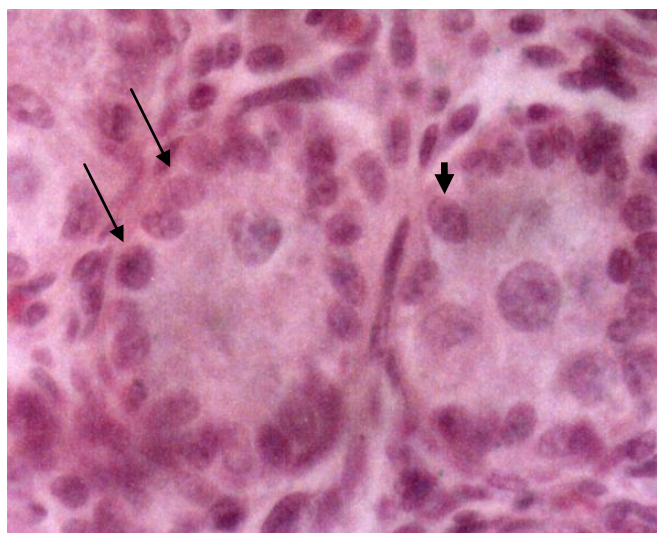
گردیدند (۵). کیسه‌ی بیضه جنین‌ها باز شد و بیضه از بافت‌های اطرافی جدا گردید و بلافاصله پس از جداسازی بیضه در محلول ثبوتی فرمالین مرکب ۱۰ درصد قرار گرفتند. با اطمینان از ثبوت بافت‌ها، نمونه‌ها در محیط آزمایشگاه به قطعاتی به ضخامت ۵ میکرومتر برش داده شده و از هر نمونه ۱۰ مقطع بافتی انتخاب گردید و به صورت مساوی توسط رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین و PAS مورد رنگ‌آمیزی قرار گرفتند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS در بین دو گروه مورد مطالعه، تجزیه تحلیل شده و با روش آنالیز واریانس یک طرفه ارزیابی شدند.

نتایج و بحث

در بررسی میکروسکوپیک مشخص گردید که پارانشیم بیضه شامل یکسری طناب‌های جنسی اولیه بود و حالت مدور به خود گرفته بودند. هرچند که در اطراف گناد این طناب‌ها از وضوح بیشتری برخوردار بودند ولی به نسبت از پراکنش یکسانی در تمام سطح مقطع گناد برخوردار بودند. حفره‌ی داخلی طناب‌ها توسط ماده‌ای کلونیدمانند پر شده بود و قوام یکنواختی را در داخل لومن ایجاد کرده بود. علاوه بر آن، سیتوپلاسم کشیده‌ای از سلول‌های پشتیبان به درون حفره‌ی داخلی نفوذ کرده بود و افزون بر ماده‌ی داخلی حفره‌ی طناب، سبب نمایی عاری از فضای خالی می‌شد و به هم پیوستگی آشکاری را در حفره‌ی داخلی ایجاد می‌کرد. این خصیصه‌های ساختاری در گروه دوم نیز مشاهده گردید با این تفاوت که طناب‌ها از الگوی منظم‌تری پیروی کرده و توسعه‌ی بافت همبند بین طناب‌ها فاصله‌ی مکانی آن‌ها را از هم افزایش داده بود. حفره‌ی داخلی طناب‌ها مشخصه‌ای همانند گروه سنی اول داشت با این تفاوت که در برخی معهود از طناب‌ها وجود فضاهای خالی داخل حفره‌ای به صورت نامشخص و نامحسوس مشهود بود. این ویژگی‌ها توسط Abd-El-Maksoud (۲۰۰۵) و Abdel-Raouf و همکاران (۱۹۷۴) گزارش شد و آن‌ها نشان دادند که در بیضه جنین گاو و بوفالو طناب‌های جنسی اولیه دارای حفره‌ی داخلی توپری بوده و این خصوصیت را در دوره‌ی تکاملی خود حفظ می‌کنند؛ به جز آن‌که دیده شده در اواخر آبستنی یکسری فضاهای خالی در داخل تعدادی اندک از طناب‌ها وجود دارد (۱ و ۲).

سلول‌های پشتیبان محوریت اصلی طناب‌های جنسی را تشکیل می‌دادند و تماماً در کنار هم قرار گرفته و روی غشا پایه مستقر بودند. به علت تراکم زیاد این سلول‌ها در ناحیه‌ی اطرافی طناب‌های جنسی، تعدادی از آن‌ها به سمت مرکز طناب پیش‌روی کرده بودند و تا حدی طناب‌ها را از حالت کروی بودن خارج کرده بودند. تراکم این سلول‌ها در گروه سنی دوم نسبت به گروه سنی اول تا حد زیادی فزونی یافته بود و آرایش نامنظمی از هم‌شکلی طناب‌ها ایجاد کرده بود؛ خصوصاً اینکه اندازه‌های متفاوتی از طناب‌ها در بررسی میکروسکوپیک قابل مشاهده بود (رجوع شود به تصویر ۱). یافته‌های حاضر با اطلاعاتی که از سلول‌های سرتولی بیضه جنین در گاو و گاومیش به دست آمده هم‌خوانی داشته و از لحاظ ساختار بافتی در وضعیت مشابهی نسبت به این تحقیق قابل تشخیص بودند (۱ و ۲). در بیضه جنین موش صحرایی نیز با محرز شدن وجود این سلول‌ها در بخش اطرافی طناب‌ها، مشخص گردید که پیدایش و تکوین آن‌ها به روز سیزده آبستنی برمی‌گردد و سلول‌های پشتیبان روند تکامل خود را تا انتهای آبستنی ادامه می‌دهند (۴). نتایج به دست آمده حاکی از آن است که روند تکامل در دوران سنی مورد مطالعه ادامه داشته و به تمایز و تفریق کامل سلول‌های پشتیبان انجامیده است. بدین صورت که ساختار سلولی آن‌ها در این دو گروه سنی با افزایش سن رشد و تمایز مشخص‌تری به خود گرفته است و تا قبل از تولد ویژگی‌های بافتی را حفظ کرده است. با این تفصیل نتیجه گرفته می‌شود که ویژگی‌های شاخص بافتی این سلول‌ها، موید ارتباط نقش عمل‌کردی آن‌ها در پشتیبانی و حمایت از سلول‌های جنسی در طناب‌های جنسی دارد.

1. Abd-El-Maksoud, A. 2005. Morphological, glycohistochemical and immunohistochemical studies on the embryonic and adult bovine testis. Ph.D. Thesis, Ludwig-Maximilians-Universitat. pp: 76-142.
2. Abdel-Raouf, M., M.A. El-Naggar and M.R. Fateh El-Bab. 1974. The development of the fetal testis in the buffalo. *Zoologica Anatomia Entwickl Gesch.* 144: 227-236.
3. Bardin, C.W., C.Y. Cheng, N.A. Mustow and G.L. Gunsalus, 1994. The sertoli cells. In: Knobil E., Neill J.D. (Eds.). *The physiology of reproduction*. 2nd ed. Raven Press New York. pp: 1291-1334.
4. Magre, S. and A. Jost. 1980. The initial phases of testicular organogenesis in the rat. An electron microscopy study. *Archives d'anatomie microscopique et de morphologie expérimentale*. 69: 297-318.
5. McGeady, T.A., P.J. Quinn, E.S. FitzPatrick and M.T. Ryan. 2006. *Veterinary Embryology*. Blackwell Publishing. London. pp: 244-336.
6. Orth, J.M. and W.F. Jester. 1995. NCAM mediates adhesion between gonocyte and sertoli cells in cocultures from testes of neonatal rats. *Endocrinology*. 16: 389-399.



تصویر ۱: ساختار میکروسکوپی بیضه جنین با سن ۱۱۰ روزگی، برش عرضی از طناب جنسی (نوک پیکان) که سلول‌های پشتیبان در اطراف طناب‌ها به خوبی مشخص است (پیکان‌ها)، (بزرگنمایی $\times 40$, H&E).

Appraisal of Supporting Cells Histogenesis Properties in Sheep: At Light Microscopic Level

Rahmat Allah Fatahian Dehkordi and Ali Parchami

Department of Anatomical sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord,
Shahrekord, Iran

E-mail: fatahian_1349@yahoo.com

Abstract

The development of supporting cells in pregnancy period in the male fetuses in the sheep were examined light microscopic structurally on the normal fetuses in period of the pregnancy. The animals were ranged into two age groups respectively from 100-110 age days till about before birth (135-146 age days). The samples were prepared from fetuses' testis into scrotum and earned tissue sections were staining by Haematoxylin and Eosin for tissue investigation. The data showed that in both groups, internal cavity of the sex cords had been full from a colloid fluid except in the second group certain cords showed an empty space, but moreover colloid substances, cytoplasm of the supporting cells participate in cords internal cavity. Supporting cells resided on the basal lamina and there were close relationship between these cells. The cords shape was formed by regular arrangement of the supporting cells in the cords environment. In second group, density of the supporting cells was extreme and cords had been found an irregular pattern in the tissue section levels.

Keywords: Supporting cells, Histogenesis, Sheep, Light microscope

بررسی مقایسه‌ای ساختار بافتی قشر غده‌ی فوق‌کلیوی در گوسفند و بز

علی پرچمی* و رحمت‌الله فتاحیان دهکردی

استادیار گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد

* نویسنده مسئول: علی پرچمی، شهرکرد-کیلومتر ۲ جاده سامان- دانشگاه شهرکرد- parchami431rf@yahoo.com

چکیده

هدف از پژوهش حاضر مقایسه‌ی ویژگی‌های هیستومورفومتریک غده‌ی فوق‌کلیوی در گوسفند و بز بود. ۱۰ گوسفند بالغ سالم و ۱۰ بز بالغ سالم از نژاد لری بختیاری در محدوده‌ی سنی ۱/۵ تا ۲ سال بر مبنای فرمول دندانی در کشتارگاه شهرکرد انتخاب شدند. نتایج حاصل از مطالعه‌ی میکروسکوپی نشان داد که قشر غده‌ی فوق‌کلیوی در گوسفند و بز ویژگی‌های مورفولوژیکی مشابهی نشان می‌دهند. سلول‌های دوهسته‌ای در ناحیه‌ی فاسیکولاتا در بز در مقایسه با گوسفند فراوان‌ترند. اما ظاهر اسفنج‌مانند این لایه در گوسفند در مقایسه با بز آشکارتر است. یافته‌های استریولوژیک غده تفاوت معناداری در دو گونه نشان نمی‌دهند ($p < 0.05$). غده‌ی فوق‌کلیوی در گوسفند از کپسول (۱/۴۱٪)، ناحیه‌ی گلومرولوزا (۹/۲۲٪)، ناحیه‌ی فاسیکولاتا (۴۰/۶۹٪)، ناحیه‌ی رتیکولاریس (۲۴/۲۲٪) و مدولا (۲۴/۴۶٪) تشکیل شده است. غده‌ی فوق‌کلیوی در بز از کپسول (۱/۳۴٪)، ناحیه‌ی گلومرولوزا (۸/۶۴٪)، ناحیه‌ی فاسیکولاتا (۳۹/۱۰٪)، ناحیه‌ی رتیکولاریس (۲۰/۶۸٪) و مدولا (۳۰/۲۴٪) تشکیل شده است. واژگان کلیدی: گوسفند، بز، غده‌ی فوق‌کلیوی، ساختار بافتی

مقدمه

غده‌ی فوق‌کلیوی در پستان‌داران از دو بخش کارکردی مجزا به نام قشر و مدولا تشکیل شده است. قشر غده خود از سه ناحیه‌ی بافتی آشکار تشکیل شده که عبارت‌اند از: ناحیه‌ی گلومرولوزا، ناحیه‌ی فاسیکولاتا و ناحیه‌ی رتیکولاریس (۱). این نواحی نقش‌های گوناگونی در تولید هورمون‌های استروئیدی ایفا می‌کنند (۷).

آرایش بافتی سلول‌های تشکیل‌دهنده‌ی لایه‌های گوناگون قشر غده در گونه‌های مختلف، متفاوت است. ناحیه‌ی گلومرولوزا در اسب، الاغ، خوک و گوشت‌خواران از طناب‌ها و توده‌های نامنظم سلولی تشکیل شده است. ناحیه‌ی فاسیکولاتا عریض‌ترین ناحیه در قشر غده‌ی فوق‌کلیوی بوده و از طناب‌هایی با آرایش شعاعی از سلول‌های مکعبی یا استوانه‌ای ساخته شده است (۴). کف‌آلود بودن ظاهر سلول‌های این لایه به دلیل فراوانی واکوئل‌های موجود در این سلول‌هاست که لیبید آن‌ها در خلال مراحل آمادش بافتی شسته و زدوده می‌شود. ناحیه‌ی رتیکولاریس از طناب‌های هم‌دهان‌شده‌ی سلولی تشکیل شده است. ویژگی‌های ظاهری این سلول‌ها به این ویژگی‌ها در سلول‌های ناحیه‌ی فاسیکولاتا شباهت داشته اما هسته و سیتوپلاسم آن‌ها تیره‌رنگ‌تر است (۶). میزان گستردگی لایه‌های گوناگون بافتی و مشارکت این لایه‌ها در تشکیل قشر غده در گونه‌های مختلف متفاوت بوده و الگوهای متنوعی نشان می‌دهد (۲، ۶، ۸ و ۹). از آن جایی که تاکنون گزارشی در خصوص ویژگی‌های هیستومورفومتریک غده‌ی فوق‌کلیوی در نشخوارکنندگان کوچک منتشر نشده است، هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی مقایسه‌ای ساختار بافتی قشر غده‌ی فوق‌کلیوی در گوسفند و بز و مقایسه‌ی نتایج حاصل با پژوهش‌های منتشر شده در سایر گونه‌های حیوانی است.

مواد و روش کار

۱۰ رأس گوسفند بالغ و ۱۰ رأس بز بالغ سالم از نژاد لری بختیاری در محدوده‌ی سنی ۱/۵ تا ۲ سال بر اساس فرمول دندان‌ی (نیکل و همکاران، ۷۹) در کشتارگاه شهرکرد انتخاب شدند. بلافاصله پس از کشتار، کلیه‌ها و غدد فوق‌کلیوی راست جدا شده و غده‌ی فوق‌کلیوی راست با تشریح ظریف بافتی از کلیه‌ی راست جدا شده و پس از اندازه‌گیری ابعاد در فرمالین بافر ۱۰٪ غوطه‌ور شده و به آزمایشگاه بافت‌شناسی منتقل شدند. در آزمایشگاه مقاطع عرضی کاملی به ابعاد حدود ۰/۵ میلی‌متر (شامل بافت قشر و مدولای غده) از نواحی مشابهی از غده در تمامی حیوانات جدا شده و در محلول فرمالین بافر ۱۰٪ غوطه‌ور می‌شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت و اطمینان از تثبیت کامل، نمونه‌ها از فرمالین خارج شده و با انجام مراحل متداول آمادش بافتی با دستگاه آمادش بافتی خودکار، قالب‌های بافتی پارافینی از آن‌ها تهیه شد. از هر قالب، ۳۰ اسلاید بافتی تهیه شد. اسلایدها با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین رنگ‌آمیزی شده و پس از بررسی دقیق ویژگی‌های مورفولوژیک اسلایدها با استفاده از میکروسکوپ نوری با استفاده از میکرومتر چشمی پارامترهای مورفومتریک مورد نظر در ۲۵ ناحیه‌ی مجزا از هر اسلاید مورد محاسبه قرار گرفته و میانگین پارامترها محاسبه و ثبت می‌شد. جهت مقایسه‌ی یافته‌ها در دو گونه از نرم‌افزار آماری SPSS استفاده شد. سطح $P < 0.05$ به‌عنوان سطح معنادار در نظر گرفته شد.

نتایج

در هر دو گونه غدد فوق‌کلیوی تا اندازه‌ای مسطح و لوبیایی‌شکل بوده و در بخش قدامی‌میان‌ی کلیه جای گرفته‌اند. میانگین طول غده در گوسفند ۱/۸ سانتی‌متر و در بز ۲/۱ سانتی‌متر و میانگین پهنای آن در گوسفند ۱ سانتی‌متر و در بز ۱/۲ سانتی‌متر است. میانگین ابعاد ماکروسکوپیک غده تفاوت آماری معناداری در دو گونه نشان نمی‌دهد.

در هر دو گونه قشر غده به سه ناحیه‌ی بافتی آشکار تقسیم شده که ویژگی‌های مورفولوژیکی مشابهی نشان می‌دهند. خارجی‌ترین ناحیه ناحیه‌ی گلوبروولوزا است. این لایه کم‌ترین ضخامت بافتی را نشان داده و سلول‌های تشکیل‌دهنده‌ی آن چندوجهی یا کروی‌شکل بوده و آرایشی طناب‌مانند دارند. هسته‌ی سلول‌ها به‌طور عمده کروی بوده و ریزقطرات چربی به‌میزان اندک در سیتوپلاسم سلول‌ها یافت می‌شوند. ناحیه‌ی فاسیکولاتا عریض‌ترین لایه‌ی بافتی بوده و از طناب‌های سلولی تشکیل شده که با آرایش شعاعی به‌سوی مدولای غده سودهی شده‌اند. سلول‌های تشکیل‌دهنده‌ی این لایه به‌طور عمده مکعبی یا چندوجهی بوده و سلول‌های دوهسته‌ای به‌ویژه در غده‌ی فوق‌کلیوی بز به‌طور پراکنده یافت می‌شوند. هسته‌ی سلول‌های تشکیل‌دهنده‌ی این لایه در مقایسه با هسته‌ی سلول‌ها در ناحیه‌ی گلوبروولوزا نامنظم‌تر بوده و روشن‌ترند. سلول‌ها به‌نسبت درشت بوده و در سیتوپلاسم آن‌ها میزان فراوانی ریزقطره‌ی لیپیدی یافت می‌شود. به‌دلیل حل‌شدن این ریزقطرات در حلال‌های مورد استفاده در آمادش‌های بافتی، سیتوپلاسم سلول‌ها در اسلایدهای بافتی ظاهری اسفنج‌مانند دارد. ظاهر اسفنج‌مانند این لایه‌ی بافتی در گوسفند آشکارتر از بز بوده و چنین به‌نظر می‌رسد که فراوانی یا تراکم ریزقطرات چربی در این لایه در غده‌ی فوق‌کلیوی گوسفند آشکارا بیش‌تر از بز است. ناحیه‌ی رتیکولاریس از شبکه‌ای از طناب‌های سلولی تشکیل شده است. سلول‌های تشکیل‌دهنده‌ی این لایه آشکارا کوچک‌تر از سلول‌های تشکیل‌دهنده‌ی لایه‌ی فاسیکولاتا بوده و هسته‌هایی بسیار پررنگ دارند. شمار اندکی ریزقطره‌ی چربی با اندازه‌های مختلف در سیتوپلاسم سلول‌ها یافت می‌شود.

ویژگی‌های مورفومتریک نواحی گوناگون غده‌ی فوق‌کلیوی در دو گونه در جدول ۱ فهرست شده است.

جدول ۱. میانگین درصد ضخامت نواحی گوناگون غده‌ی فوق‌کلیوی در گوسفند و بز

پارامتر-گونه	کپسول	قشر	مدولا	لایه‌ی گلمرولوزا	لایه‌ی فاسیکولاتا	لایه‌ی رتیکولاریس
گوسفند	۱/۴۱	۷۴/۱۳	۲۴/۴۶	۹/۲۲	۴۰/۶۹	۲۴/۲۲
بز	۱/۳۴	۶۸/۴۲	۳۰/۲۴	۸/۶۴	۳۹/۱۰	۲۰/۶۸

نتایج حاصل از یافته‌های مورفومتریک نواحی گوناگون غده‌ی فوق‌کلیوی نشان می‌دهند که بیش‌ترین میانگین درصد ضخامت لایه‌های بافتی تشکیل‌دهنده‌ی قشر غده‌ی فوق‌کلیوی در هر دو جنس به لایه‌ی فاسیکولاتا اختصاص داشته و کم‌ترین درصد ضخامت در لایه‌ی گلمرولوزا یافت می‌شود. میانگین درصد ضخامت هیچ یک از پارامترهای مورد مطالعه تفاوت معناداری در دو گونه نشان نمی‌دهد.

بحث

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهند که ویژگی‌های مورفولوژیکی قشر غده‌ی فوق‌کلیوی در گوسفند و بز در مجموع تفاوت قابل ملاحظه‌ای با سایر گونه‌ها نشان نمی‌دهد. نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند که در هر دو گونه‌ی مورد مطالعه، کم‌ترین ضخامت بافتی مربوط به لایه‌ی گلمرولوزا بوده و ناحیه‌ی فاسیکولاتا عریض‌ترین لایه‌ی بافتی است. یافته‌ی اخیر با یافته‌های سایر پژوهش‌گران در بسیاری دیگر از گونه‌هایی که تاکنون مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، هم‌خوانی دارد. در بسیاری از گونه‌های حیوانی ناحیه‌ی فاسیکولاتا عریض‌ترین ناحیه در قشر غده‌ی فوق‌کلیوی بوده (۳، ۶ و ۹) و سلول‌های تشکیل‌دهنده‌ی آن به دلیل برخورداری از محتوای لیپیدی فراوان ظاهری اسفنج‌مانند را در آمادش‌های بافتی نشان می‌دهند (۳، ۴ و ۶). یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهند که در گوسفند و بز نیز در سیتوپلاسم سلول‌های تشکیل‌دهنده‌ی این لایه میزان فراوانی ریزقطره‌ی لیپیدی یافت می‌شود. ظاهر اسفنج‌مانند این لایه‌ی بافتی در گوسفند آشکارتر از بز بوده و چنین به نظر می‌رسد که فراوانی یا تراکم ریزقطرات چربی در این لایه در غده‌ی فوق‌کلیوی گوسفند آشکارا بیش‌تر از بز است. ناحیه‌ی فاسیکولاتا ۶۰٪ قشر غده‌ی فوق‌کلیوی را در خرگوش به خود اختصاص می‌دهد (۹). در انسان ۶۵٪ غده به‌وسیله‌ی این لایه تشکیل می‌شود (۶). در خوک هم تکامل‌یافته‌ترین ناحیه‌ی قشر غده‌ی فوق‌کلیوی ناحیه‌ی فاسیکولاتا بوده، سلول‌های آن بزرگ‌تر از سلول‌های سایر نواحی قشر غده بوده و ۴۷٪ کل سلول‌های پارانشیمی قشر غده را به خود اختصاص می‌دهند. در این حیوان، ناحیه‌ی رتیکولاریس حدود ۳۷٪ و ناحیه‌ی رتیکولاریس تنها ۱۷٪ کل سلول‌های پارانشیمی قشر غده را به خود اختصاص می‌دهند (۸). نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند که در گوسفند ۴۰/۶۹٪ و در بز ۳۹/۱۰٪ از غده به‌وسیله‌ی ناحیه‌ی فاسیکولاتا شکل گرفته است.

در مطالعه‌ای که به‌وسیله‌ی جمدار و اما (۱۹۸۲) انجام شد، مدولای غده‌ی فوق‌کلیوی در بز حدود یک‌چهارم غده گزارش شده است. مدولای غده‌ی فوق‌کلیوی در انسان ۱۳٪ غده اعلام شده است (۶). نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند که درصد مشارکت مدولا در تشکیل غده در گوسفند و بز به ترتیب ۲۴/۴۶ و ۳۰/۲۴٪ است. در مطالعه‌ای که به‌وسیله‌ی بابا (۱۹۷۴) منتشر شده در خوک مساحت ناحیه‌ی گلمرولوزا ۱۱/۹ و مساحت دو ناحیه‌ی فاسیکولاتا و رتیکولاریس در مجموع ۸۸٪ گزارش شده

است (۲). ناحیه‌ی فاسیکولاتا از طناب‌های سلول‌های مکعبی یا استوانه‌ای تشکیل شده که به‌طور معمول تنها یک لایه‌سلول ضخامت داشته و با آرایش شعاعی استقرار یافته‌اند (۳ و ۴). در مطالعه‌ای که به‌وسیله‌ی عبدالله و علی (۱۹۸۸) صورت گرفت آشکار شد که در شتر جزایری از بافت مدولا ممکن است در قشر غده‌ی فوق‌کلیوی یافت شوند و بافت قشری متشکل از همهی نواحی متداول بافتی ممکن است پیرامون سرخ‌رگ‌ها یا اعصاب موجود در مدولا یافت شوند. قشر غده ۷۴٪ حجم غده را به خود اختصاص داده و نسبت قشر به مدولا ۴ به ۱ است. نواحی گلومرولوزا، فاسیکولاتا و رتیکولاریس به‌ترتیب ۱۳٪، ۵۳٪ و ۲۹٪ حجم قشر این اندام را به خود اختصاص می‌دهند.

منابع:

1. Arnold, J. 1866. Ein Beitrag zur feineren Struktur und dem Chemismus der Nebennieren. Virchows Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin. 35: 64-107.
2. Baba, A.I. 1974. Histologische und histometrische Veränderungen der Nebennieren bei kümmernden Ferkeln Zbl. Veterinaria Medicina. 21: 331-335.
3. Bacha, W.J. and L.M. Wood. 1990. Color Atlas of Veterinary Histology. Lea and Febiger, Philadelphia, pp: 178-185.
4. Dellman, N.D. 1993. Textbook of Veterinary Histology. Fourth ed., Lea and Febiger, Philadelphia. Pp: 280-282.
5. Jamdar, M.N. and A.N. Ema. 1982. Melanin pigment containing cells in the capsule of the adrenal of the goat. Zbl. Vet. Med. C Anatomica Histologica Embryologica 11: 250-253.
6. Junqueira, L.C., J. Carneiro, and R. Kelley 1995. Basic Histology. Eighth ed., Appleton and Lange, Toronto, pp: 387-397.
7. Keegan, C.E. and G.D. Hammer. 2002. Recent insights into organogenesis of the adrenal cortex. Trends Endocrinology Metabolism. 13: 200-208.
8. Oplka, M., B. Kaminska, T. Doboszynska and L. Dusza. 2001. The morphometric parameters of adrenal cortex in sows: in normal condition and after prolactin infusion. Folia Morphologica. 60(4): 317-322.
9. Tanyolac, A. 1993. Özel Histoloji. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd., Ankara, pp: 162-165.

Comparison assessment of the tissue structure of cortex of adrenal gland in sheep and goat

Ali Parchami and Rahmat Allah Fatahian Dehkordi

Department of Anatomical sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord,

Shahrekord, Iran

E-mail: Parchami431rf@yahoo.com

Abstract

The aim of the present investigation was to compare histomorphometric properties of the suprarenal gland in sheep and goat. Ten healthy adult sheep and 10 healthy adult goats of the Lori Bakhtyari breed, aged from 1.5 to 2 years were selected according to their dental formula in



the abattoir of Shahrekord. Results obtained from microscopic observations showed that the adrenal cortex of the sheep and goat had similar morphological appearance. Binucleate cells in the zona fasciculata were more numerous in goats in comparison with those in sheep. The sponge-like appearance of this layer, however was apparently more prominent in sheep as compared to that in goats. Stereological analysis of the gland did not revealed any significant differences between the species ($p<0.05$). The adrenal gland of sheep consisted of capsula (1.41%), zona glomerulosa (9.22%), zona fasciculata (40.69%), zona reticularis (24.22%) and medulla (24.46%). The adrenal gland of goat consisted of capsula (1.34%), zona glomerulosa (8.64%), zona fasciculata (39.10%), zona reticularis (20.68%) and medulla (30.24%).

Keyword: Sheep, Goat, Adrenal gland, Tissue structure

تأثیر داینوپروست (پروستاگلندین اف ۲ آلفا طبیعی) بر فراسنجه‌های منی قوچ عربی در فصل تولیدمثل

مجید یوسفیان^{۱*}، صالح طباطبائی وکیلی^۲، مرتضی ممویی^۲، خلیل میرزاده^۲، مرتضی چاجی^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۲- اعضای هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

* نویسنده‌ی مسئول: مجید یوسفیان، خراسان رضوی- تربت حیدریه- خ سلمان فارسی- سلمان فارسی ۱۱- پلاک ۱۶

myoosefian@gmail.com

چکیده

نقش فیزیولوژیکی پروستاگلندین اف ۲ آلفا در نرها به خوبی شناخته نشده است. تصور بر اینست که پروستاگلندین اف ۲ آلفا بطور مستقیم بر بافت‌های قابل انقباض کپسول بیضه و اپیدیدیم اثر گذاشته و باعث افزایش نرخ عبور اسپرم‌ها از اپیدیدیم به مجرای دفران می‌شود. هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر پروستاگلندین اف ۲ آلفا بر فراسنجه‌های منی قوچ عربی، شامل: حجم منی، غلظت، شمار کل، جنبانی و درصد اسپرم‌های زنده و ناهنجار در فصل تولیدمثل بود. برای این کار، ۸ رأس قوچ نژاد عربی که از نظر سن و وزن، کمابیش همانند بودند بگونه‌ی تصادفی و یکسانی در دو تیمار آزمایشی شاهد و پذیرنده‌ی هورمون قرار گرفتند (۴ دام در هر تیمار). به هر قوچ تیمار شاهد، مقدار ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیکی و به هر کدام از قوچ‌های تیمار پروستاگلندین اف ۲- آلفا، ۴ میلی‌گرم داینوپروست بصورت عضلانی تزریق شد. اسپرم‌گیری، ۱۵ دقیقه پس از تزریق، ۱ روز در هفته و به مدت ۴ هفته در فصل تولیدمثل با دستگاه الکترواجاکولاتور انجام شد. غلظت اسپرم با لام هموسایتومتر اندازه‌گیری شد. جنبانی اسپرم‌ها با ارزیابی سه میدان میکروسکوپی و درصد اسپرم‌های زنده و ناهنجار با ارزیابی لام‌های رنگ‌آمیزی شده با رنگ اتوزین-نیگروزین اندازه‌گیری شدند. یافته‌های ما نشان داد که پروستاگلندین اف ۲ آلفا بگونه‌ی معناداری، فراسنجه‌های یاد شده بجز درصد اسپرم‌های زنده را در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد ($p < 0.05$).

واژگان کلیدی: پروستاگلندین اف ۲ آلفا - کیفیت منی - قوچ - فصل تولیدمثل

مقدمه

پروستاگلندین‌ها را اولین بار در ترشحات غدد پیوست جنسی شناسایی کردند و علت انتخاب این اسم هم به دلیل ارتباطی بوده که هورمون با غده پروستات داشته است. این هورمون بوسیله‌ی تقریباً تمامی بافت‌های بدن تراوش می‌شود. تمام پروستاگلندین‌ها از جنس اسیدهای چرب هیدروکسی غیر اشباع ۲۰ کربنه هستند و یک حلقه سیکلوپنتن در ترکیب خود دارند. پیش‌نیاز پروستاگلندین‌ها، یک اسید چرب ضروری بنام اسید آراشیدونیک است. اگرچه پروستاگلندین‌ها در پلاسمای منی شناسایی شده‌اند، ولی نقش فیزیولوژیکی آنها در جنس نر، به خوبی شناخته نشده است (۱).

پروستاگلندین اف ۲ آلفا به نظر می‌رسد که با اثر مستقیم بر بافت‌های قابل انقباض کپسول بیضه و اپیدیدیم باعث افزایش سرعت عبور اسپرم‌ها از اپیدیدیم به کانال دفران می‌شود. به همین دلیل، استفاده از این هورمون قبل از اسپرم‌گیری ممکن است غلظت اسپرم در منی انزالی را افزایش دهد (۶). اسپرماتوزوئیدها پس از آزاد شدن از اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز به سرعت به

سوی لومن^{۴۴} این مجاری و هیلوم^{۴۵} بیضه جابجا می‌شوند. به نظر می‌رسد که شدت جریان مایع توبولی حاوی اسپرماتوزوآ به فعالیت انقباضی بافت‌های اطراف مجاری بستگی دارد؛ که از نوع خاصی از سلول‌های ماهیچه‌ای صاف به نام سلول‌های میوئیدی ساخته شده‌اند (۱۴). پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر پروستاگلندین‌اف ۲آلفا بر فراسنجه‌های منی قوچ عربی در فصل تولید- مثل انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آبان‌ماه سال ۱۳۹۰ هجری شمسی در ایستگاه دامپروری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان واقع در شهر ملائانی در ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز انجام شد. در این آزمایش، ۸ رأس قوچ نژاد عربی با سن و وزن کمابیش یکسان و تغذیه‌ی همانند و بهینه در راستای طرح کاملاً تصادفی و در دو گروه برابر (شاهد و تیمار) پخش شدند ($n=4$). به هر قوچ در گروه شاهد، ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیکی و به هر کدام از قوچ‌های گروه تیمار، ۴ میلی‌گرم داینوپروست^{۴۶} بصورت عضلانی تزریق شد. این کار، ۱ روز در هفته و به مدت ۴ هفته در فصل تولیدمثل گوسفند (پاییز) انجام شد. ۱۵ دقیقه پس از تزریق، اسپرم‌گیری با دستگاه الکترواجاکولاتور انجام گرفت؛ نمونه‌های منی در فالكون‌های درجه‌بندی شده‌ی هم‌دمای جمع‌آوری شد و ارزیابی جنبانی اسپرم‌ها و رنگ‌آمیزی لام‌ها بی‌درنگ در همان مکان انجام شد. برای برپایی شرایط دمایی بهینه و نگهداری نمونه- های رقیق شده، یک دستگاه حمام آب گرم به‌کار گرفته شد. حجم از روی فالكون خوانده شد. غلظت اسپرم‌ها با لام هموسایتمتر^{۴۷} اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری جنبانی اسپرم‌ها، یک میکروسکوپ نوری به همراه هات پلیت^{۴۸} قابل تنظیم به- کار گرفته شد تا دمای لام و لامل، بهینه باشد. درصد اسپرم‌های زنده و ناهنجار با رنگ‌آمیزی ائوزین-نیگروزین^{۴۹} و در بزرگنمایی $\times 400$ میکروسکوپ نوری ارزیابی شد. داده‌های این پژوهش با آزمون دانکن و نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۶) آنالیز شدند.

یافته‌ها

یافته‌ها در جدول ۱ آورده شده‌اند. ما دریافتیم که پروستاگلندین‌اف ۲آلفا باعث افزایش معنی‌داری در فراسنجه‌هایی همچون حجم منی، غلظت، شمار کل، جنبانی و ناهنجاری اسپرم‌ها شد ولی تأثیری بر درصد اسپرم‌های زنده نداشت ($p<0.05$).

جدول ۱: کارایی پروستاگلندین‌اف ۲آلفا بر فراسنجه‌های منی قوچ عربی در فصل تولیدمثل

فراسنجه‌های منی	گروه شاهد	گروه پروستاگلندین‌اف ۲آلفا
حجم منی (ml)	$b_{1/57 \pm 0.07}$	$a_{1/86 \pm 0.04}$

1. Lumen
2. Hilum
3. Dinoprost
4. Hemocytometer
5. Hot plate
6. Nigrosin-Eosin stains

$^{a_3}/29 \pm 0.08$	$^{b_2}/89 \pm 0.11$	غلظت اسپرم ($\times 10^9/ml$)
$^{a_6}/11 \pm 0.19$	$^{b_4}/57 \pm 0.29$	شمار کل اسپرم‌ها ($\times 10^9$)
$^{a_8}/33 \pm 1.03$	$^{b_7}/67 \pm 0.82$	جنبانی اسپرم (%)
$87/4 \pm 0.58$	$85/33 \pm 0.78$	اسپرم‌های زنده (%)
$^{a_{10}}/27 \pm 0.54$	$^{b_7}/13 \pm 0.50$	ناهنجاری اسپرم‌ها (%)

در هر ردیف، میانگین‌هایی که دارای بندواژه‌های همانند انگلیسی نیستند، تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) دارند. داده‌های جدول برحسب $\pm SE$ میانگین نوشته شده‌اند.

بحث

در توافق با ما، معصومی و همکاران در پژوهشی روی گاو هلستاین ایرانی (۹)، ناراسیمارائو و همکاران در گاومیش (۱۰) و کریدر و همکاران در آزمایشی روی اسب (۷) بیان کرده‌اند که پروستاگلندین‌اف α_2 ، حجم منی را بگونه‌ی معناداری بالا برده است. در مقابل، تراس و روت‌کاستریتز در مطالعه‌ای روی سگ (۱۳)، استین و هارپر روی خوک (۳) و ریچارد و همکاران در تحقیقی روی خرگوش (۱۱) دریافتند که پروستاگلندین‌اف α_2 تأثیری بر حجم منی نداشته است.

همانند با یافته‌های ما، معصومی و همکاران (۹) گزارش کرده‌اند که پروستاگلندین‌اف α_2 بطور معنی‌داری، غلظت و شمار اسپرم‌ها را افزایش داد. همچنین، هاشیزوم و نیوا (۴) و همسورت و همکاران (۵) در آزمایش روی خوک نتیجه گرفتند که فراسنجه‌های غلظت و شمار کل اسپرم‌ها پس از تزریق عضلانی پروستاگلندین‌اف α_2 افزایش یافت. همسو با این نتایج، روت-کاستریتز و هس در تحقیقی روی سگ (۱۲) دریافتند که استفاده از پروستاگلندین‌اف α_2 به همراه یک تیزر باعث بالارفتن شمار اسپرم‌ها شد. همچنین، ریچارد و همکاران (۱۱) مشاهده کردند که پروستاگلندین‌اف α_2 ، شمار کل اسپرم‌ها را در خرگوش تا مقدار ۵۰٪ افزایش داد. برخلاف این یافته‌ها، تراس و روت‌کاستریتز در پژوهش روی سگ (۱۳) و استین و هارپر روی خوک (۳) گزارش کردند که پروستاگلندین‌اف α_2 تأثیر معناداری بر فراسنجه‌های غلظت و شمار اسپرم نداشته است. در گزارشی، کریدر و همکاران (۷) نشان دادند که پروستاگلندین‌اف α_2 بطور معناداری، غلظت اسپرم در اسب را کاهش داد.

همانطور که از جدول برمی‌آید، ما مشاهده کردیم که پروستاگلندین‌اف α_2 ، جنبانی و ناهنجاری اسپرم‌ها را افزایش داد ولی تأثیری بر درصد اسپرم‌های زنده نداشت. در تقابل با نتایج ما، معصومی و همکاران (۹) بیان کرده‌اند که کلورپروستنول، تأثیری بر جنبانی، ناهنجاری و درصد اسپرم‌های زنده نداشته است. همچنین، کریدر و همکاران (۷) و استین و هارپر (۳) ذکر کرده‌اند که پروستاگلندین‌اف α_2 تأثیر معنی‌داری بر جنبانی و ناهنجاری اسپرم‌ها نداشته است. تراس و روت‌کاستریتز (۱۳) نیز عدم تأثیر پروستاگلندین‌اف α_2 را بر جنبانی اسپرم‌ها تأیید کرده‌اند.

تفاوت در نتایج ما و دیگران می‌تواند به نوع دام مورد استفاده، گوناگونی سن یا وزن دام نر، مصرف آنالوگ‌های متفاوت پروستاگلندین‌اف α_2 ، دز مصرفی و برخی کارهای مدیریتی، مربوط باشد (۹).

افزایش در تعداد اسپرم یک انزال بدنبال تزریق پروستاگلندین α 2، احتمالاً بدلیل افزایش نسبت اسپرماتوژنسیس نیست (۸) بلکه ممکن است به افزایش جابجایی اسپرمها در مجاری بیرونبرنده مربوط باشد (۹). گزارش شده که سلولهای میوئیدی برای پروستاگلندین α 2 به عنوان سلولهای هدف میباشند و پیشنهاد شده که این ایکوزانوئید در کنترل درون گنادی انقباض مجاری اسپرمساز دارای نقش می باشد (۱۴). به این مسأله تصدیق شده است که عضلات صاف احاطه کننده اپیدیدیمیس در پاسخ به پروستاگلندین α 2 منقبض می شوند؛ در نتیجه، اسپرمهای بالغ به مجرای دفران یعنی جایی که آنها برای انزال قابل دسترس هستند منتقل می شوند. گیرنده های پروستاگلندین α 2 در نواحی دیستال اپیدیدیم فراوانترند که این بخش را به تغییرات غلظت پروستاگلندین α 2 حساس تر می کند. افزون بر تأثیرات انقباضی بر عضلات صاف اپیدیدیم، کپسول بیضه نیز در پاسخ به پروستاگلندین α 2 منقبض می شود (۹).

منابع

۱. ضمیری، م. ج. ۱۳۸۵. فیزیولوژی تولیدمثل. چاپ اول، انتشارات حق شناس. صص ۱۲۰ و ۴۴۸.
2. Cosentino, M. J. and A. T. Cockett. 1986. Structure and function of the epididymis. Urol. Res. 14: 229-240.
3. Estienne, M. J. and A. F. Harper. 2004. Semen characteristics and libido in boars treated repeatedly with PGF 2 α . J Anim Sci. 82: 1494-1498.
4. Hashizume, T. and T. Niwa. 1984. Effect of administration of PGF2 α on the properties of sperm rich fraction of boar semen. Japan J. Anim. Reprod. 30: 182-185.
5. Hemsworth, P. H., J. Donnelly, J. K. Findlay and D. B. Galloway. 1977. The effects of PGF2 α on sperm output in boars. Prostaglandins. 13: 933-941.
6. Hess, M. 2002. The effects of Prostaglandin F2 α , Oxytocin and Gonadotropin Releasing Hormone on ejaculate characteristics in the Dog. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science. Virginia Polytechnic Institute and State University.
7. Kreider, J. L., W. L. Ogg and J. W. Turner. 1981. Influence of prostaglandin F2 α on sperm production and seminal characteristics of the stallion. Prostaglandins. Vol. 22, No. 6.
8. Marshall, C.E. and H. D. Hafs. 1976. Sperm output and quality after PGF2 α in bulls. J. Anim. Sci. 43: 296 (abstract).
9. Masoumi, R., A. Towhidi, A. N. Javaremi, H. Nabizadeh and M. Zhandi. 2011. Influence of PGF2 α on semen quality and libido in Holstein bulls. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 35(1): 1-6.
10. Narasimha Rao, A. V., G. B. Haranath, C. Visweswara Rao and J. Ramamohana Rao. 1986. Effect of prostaglandin F2 α on libido, seminal quantity and quality of buffalo bulls. Theriogenology. Vol. 25, No. 5.

11. Reichard, L. A., H. D. Hafs, N. B. Haynes, R. J. Collier, T. E. Kiser and M. S. McCarthy. 1978. Sperm output and serum testosterone in rabbits given prostaglandin $F_{2\alpha}$ or E_2 . Prostaglandins. Vol. 16, No. 1.
12. Root Kustritz, M. V. and M. Hess. 2007. Effect of administration of prostaglandin $F_{2\alpha}$ or presence of an estrous teaser bitch on characteristics of the canine ejaculate. Theriogenology. 67: 255-258.
13. Traas, A. M. and M. V. Root Kustritz. 2004. Effect of administrating Oxytocin or Prostaglandin $F_{2\alpha}$ on characteristics of the canine ejaculate. Can Vet J. 45: 999-1002.
14. Tripiciano, A., A. Filippini, F. Ballarini and F. Palombi. 1998. Contractile response of peritubular myoid cells to prostaglandin $F_{2\alpha}$. Molecular and cellular endocrinology. 138: 143-150.

The effect of Dinoprost (natural prostaglandin $F_{2\alpha}$) on semen quality characteristics of Arabic rams in breeding season

Majid Yoosefian^{1*}, Saleh Tabatabaie Vakili², Morteza Mamouei², Khalil Mirzadeh², Morteza Chaji²

1. M.Sc. student of Animal Physiology, Ramin agricultural & natural resources university, Khouzestan, Iran

2. Ph.D., Department of Animal science, Ramin agricultural & natural resources university, Khouzestan, Iran

* myoosefian@gmail.com

Abstract

It is not well known the physiologic role of prostaglandin $F_{2\alpha}$ in males. It is thought that $PGF_{2\alpha}$ acts directly on the contractile tissues of the testicular capsule and epididymis causing an increased rate of sperm passage from the epididymis to the deferent ducts. The purpose of the present study was to evaluate the effects of $PGF_{2\alpha}$ on semen characteristics including semen volume, density, total number, motility and percentage of abnormal and live sperm cells in breeding season. Similar 8 Arabic rams were randomly assigned to the two treatments. Physiological saline (1 ml) was injected into each ram in the control group, whereas $PGF_{2\alpha}$ was administered IM at a single dose of 4 mg to each ram in the treatment group. This procedure was repeated once weekly during 4 weeks in breeding season. 15 minutes after injection, semen samples were collected using an electroejaculator. Determination of sperm concentration was performed with a hemocytometer. For assessing the progressive motility of sperm, the mean of the 3 microscopic fields was used in each sample under a light microscope at 400× magnification. Percentage of viable and abnormal spermatozoa was evaluated by nigrosin-eosin-stained slides. Our results indicated that $PGF_{2\alpha}$ caused a significant enhancement in many of the semen parameters except for the percentage of live sperm cells compared with control group.

Key words: $PGF_{2\alpha}$ - semen quality- ram- breeding season

کارایی هورمون اکسی توسین بر فراسنجه‌های کیفی منی قوچ عربی در فصل تولیدمثل

مجید یوسفیان^{۱*}، صالح طباطبائی وکیلی^۲، مرتضی ممویی^۲، خلیل میرزاده^۲، مرتضی چاجی^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۲- اعضای هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

* نویسنده‌ی مسئول: مجید یوسفیان، خراسان رضوی- تربت حیدریه- خ سلمان فارسی- سلمان فارسی ۱۱- پلاک ۱۶

myoosefian@gmail.com

چکیده

نقش فیزیولوژیکی اکسی توسین در جنس نر به‌خوبی روشن نشده است. به هر روی، گزارش شده که اکسی توسین به جابجایی اسپرم، درون مجرای وایران و اپیدیدیم، از راه برانگیختن انقباض ماهیچه‌های صاف آن‌ها کمک می‌کند؛ به بیان دیگر، اکسی توسین ممکن است در کوچ اسپرماتوزوئیدها در اپیدیدیم نقش داشته باشد. هدف از این پژوهش، آزمون کارایی اکسی توسین بر فراسنجه‌های منی قوچ عربی، دربرگیرنده‌ی: حجم منی، غلظت، شمار، جنبانی و درصد اسپرم‌های زنده و ناهنجار در فصل تولیدمثل بود. برای این کار، ۸ رأس قوچ نژاد عربی که از نظر سن و وزن، کمابیش همانند بودند بگونه‌ی تصادفی و یکسانی در دو تیمار آزمایشی شاهد و پذیرنده‌ی هورمون قرار گرفتند (۴ دام در هر تیمار). به هر قوچ تیمار شاهد، مقدار ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیکی و به هر کدام از قوچ‌های تیمار اکسی توسین، ۷ واحد بین‌المللی هورمون از راه سیاهرگ وداژ تزریق شد. اسپرم-گیری، ۱۵ دقیقه پس از تزریق، ۱ روز در هفته و به مدت ۴ هفته در فصل تولیدمثل با دستگاه الکترواکولاتور انجام شد. غلظت اسپرم با لام هموسایتومتر اندازه‌گیری شد. جنبانی اسپرم‌ها با ارزیابی سه میدان میکروسکوپی و درصد اسپرم‌های زنده و ناهنجار با ارزیابی لام‌های رنگ‌آمیزی شده با رنگ انوزین-نیگروزین اندازه‌گیری شدند. یافته‌های ما نشان داد که اکسی توسین بگونه‌ی معناداری، فراسنجه‌های یاد شده را در سنجش با گروه شاهد بهبود بخشید ($p < 0.05$).

واژگان کلیدی: اکسی توسین - کیفیت منی - قوچ - فصل تولیدمثل

مقدمه

هورمون اکسی توسین^۱ در همه‌ی پستانداران نر و ماده وجود دارد. ساختار شیمیایی آن یک نانوپپتید است. اکسی توسین درون‌تنی در هسته‌های سوپرااپتیک^۱ و پاراونتریکولار^۲ هیپوتالاموس ساخته می‌شود؛ سپس هورمون از راه عصبی به هیپوفیز پسین کوچ کرده و در آنجا اندوخته شده و در پاسخ به محرک‌های عصبی تراوش می‌شود (۲).

اکسی توسین، کارایی روشنی روی انقباض ماهیچه‌های صاف رحم و سلول‌های غدد پستانی در جنس ماده دارد ولی نقش فیزیولوژیکی آن در نرها به‌خوبی روشن نیست؛ گرچه گزارش شده است که اکسی توسین از راه برانگیختن سلول‌های ماهیچه‌ای صاف، جابجایی اسپرم را در هنگام گذر آن از مجرای وایران و اپیدیدیم شتاب می‌بخشد (۶). این کارکرد اکسی توسین با وجود گیرنده‌های آن در اپیدیدیم، مجرای وایران و سلول‌های لایدیگ و سرتولی پشتیبانی می‌شود (۱۰). همچنین اکسی توسین در

1. Oxytocin

2. Nucleus Supraopticus

3. Nucleus Paraventricularis

سلول‌های لایدیگ (۲)، اپیدیدیمیس و پروستات تولید می‌شود (۳). افزون بر این، به‌کارگیری اکسی‌توسین، جمع‌آوری منی با الکترواجاکولاتور^۴ را آسان می‌سازد (۷). پژوهش کنونی با هدف روشن نمودن کارایی اکسی‌توسین بر فراسنجه‌های منی قوچ عربی در فصل تولید مثل انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آبان‌ماه سال ۱۳۹۰ هجری شمسی در ایستگاه دامپروری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان واقع در شهر ملائانی در ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز انجام شد. در این آزمایش، ۸ رأس قوچ نژاد عربی با سن و وزن کمابیش یکسان و تغذیه‌ی همانند و بهینه در راستای طرح کاملاً تصادفی و در دو گروه برابر پخش شدند ($n=4$). به هر قوچ در گروه شاهد، ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیکی و به هر کدام از قوچ‌های گروه تیمار، ۷ واحد بین‌المللی اکسی‌توسین از راه سیاهرگ و داج تزریق شد. این کار، ۱ روز در هفته و به مدت ۴ هفته در فصل تولیدمثل گوسفند (پاییز) انجام شد. ۱۵ دقیقه پس از تزریق، اسپرم‌گیری با دستگاه الکترواجاکولاتور انجام گرفت؛ نمونه‌های منی در فالكون‌های درجه‌بندی شده‌ی هم‌دما جمع‌آوری شد و ارزیابی جنبانی اسپرم‌ها و رنگ‌آمیزی لام‌ها بی‌درنگ در همان مکان انجام شد. برای برپایی شرایط دمایی بهینه و نگهداری نمونه‌های رقیق شده، یک دستگاه حمام آب گرم به‌کار گرفته شد. حجم از روی فالكون خوانده شد. غلظت اسپرم‌ها با لام هموسایتومتر^۵ اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری جنبانی اسپرم‌ها، یک میکروسکوپ نوری به همراه هات پلیت^۶ قابل تنظیم به‌کار گرفته شد تا دمای لام و لامل، بهینه باشد. درصد اسپرم‌های زنده و ناهنجار با رنگ‌آمیزی ائوزین-نیگروزین^۷ و در بزرگنمایی $\times 400$ میکروسکوپ نوری ارزیابی شد. داده‌های این پژوهش با آزمون دانکن و نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۶) آنالیز شدند.

یافته‌ها و بحث

در این پژوهش، به‌کارگیری اکسی‌توسین در سنجش با گروه شاهد به افزایش حجم منی، غلظت و شمار اسپرم‌ها انجامید ($p<0.05$). همانند با یافته‌های ما، بزکورت و همکاران (۲) در پژوهشی روی قوچ آواسی گزارش کردند که اکسی‌توسین، حجم منی، غلظت و شمار اسپرم‌ها را افزایش داد. همچنین نایت (۴) بیان کرد که به‌کارگیری اکسی‌توسین در قوچ، مایه‌ی افزایش معنادار در حجم منی و غلظت اسپرم گردید و شمار اسپرم‌ها را به اندازه‌ی ۴۵٪ در هر انزال افزایش داد. در برابر، تراس و کاستریتز (۸) در آزمایش روی سگ، برنتسون و ایگبوئلی (۱) در گاوهای نر هلشتاین و والچ و همکاران (۹) در پژوهشی روی انسان با به‌کارگیری اکسی‌توسین، هیچ دگرگونی در این فراسنجه‌ها مشاهده نکردند.

یافته‌های ما نشان داد که فراسنجه‌های جنبانی، ناهنجاری و درصد اسپرم‌های زنده، بگونه‌ی معناداری افزایش یافتند ($p<0.05$). در این راستا، والچ و همکاران (۹) نشان دادند که به‌کارگیری اکسی‌توسین در انسان، جنبانی اسپرم‌ها را افزایش داد ولی این افزایش، معنی‌دار نبود. در برابر، یافته‌های پژوهشگران دیگر همچون بزکورت و همکاران (۲) روی قوچ آواسی، برنتسون و ایگبوئلی (۱) روی گاو هلشتاین و تراس و کاستریتز (۸) در سگ بیان می‌کند که اکسی‌توسین در بالا بردن این فراسنجه‌ها

4. Electroejaculator

5. Hemocytometer

6. Hot plate

7. Nigrosin-Eosin stains

کارایی نداشته است؛ ولی نایت و لیندسی (۵) در پژوهشی روی قوچ نشان دادند که اکسی توسین بگونه‌ی بسیار معناداری ($p < 0.01$) درصد اسپرم‌های ناهنجار را بالا برد.

تفاوت یافته‌های بین ما و دیگران ممکن است به دلیل گوناگونی نژاد و دام به کار گرفته شده، مواد، دوز و گونه‌ی به کارگیری اکسی توسین باشد (۲). افزایش در فراسنجه‌های منی دربرگیرنده‌ی حجم منی، غلظت و شمار اسپرم، جنبانی اسپرم، ناهنجاری و درصد اسپرم‌های زنده را می‌توان با شتاب گرفتن جابجایی اسپرم‌ها در به کارگیری اکسی توسین روشن نمود. اکسی توسین در هنگام گذر اسپرم‌ها از مجرای وبران و اپیدیدیم که دارای گیرنده‌های این هورمون هستند سلول‌های ماهیچه‌ای صاف را برانگیخته و آن‌ها را منقبض می‌کند؛ برآیند اینکه، جابجایی اسپرم‌ها در این گذرگاه‌ها شتاب خواهد گرفت (۲). یافته‌ها در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: کارایی اکسی توسین بر فراسنجه‌های منی قوچ عربی در فصل تولیدمثل

فراسنجه‌های منی	گروه شاهد	گروه اکسی توسین
حجم منی (ml)	$^{b}1/57 \pm 0/07$	$^{a}2/22 \pm 0/06$
غلظت اسپرم ($\times 10^9/ml$)	$^{b}2/89 \pm 0/11$	$^{a}3/74 \pm 0/12$
شمار اسپرم‌ها ($\times 10^9$)	$^{b}4/57 \pm 0/29$	$^{a}8/30 \pm 0/37$
جنبانی اسپرم (%)	$^{b}70/67 \pm 0/82$	$^{a}89/38 \pm 0/89$
اسپرم‌های زنده (%)	$^{b}85/33 \pm 0/78$	$^{a}90/69 \pm 0/80$
ناهنجاری اسپرم‌ها (%)	$^{b}7/13 \pm 0/50$	$^{a}9/56 \pm 0/49$

در هر ردیف، میانگین‌هایی که دارای بندواژه‌های همانند انگلیسی نیستند، تفاوت معنی‌دار ($p < 0.05$) دارند.

داده‌های جدول برحسب $SE \pm$ میانگین نوشته شده‌اند.

منابع

- Berndtson, W. E., G. Igboeli. 1988. Spermatogenesis, sperm output and seminal quality of Holstein bulls electroejaculated after administration of Oxytocin. J. Reprod. Fert. 82: 467-475.

2. Bozkurt, T., G. Turk and S. Gur. 2007. Effects of exogenous Oxytocin on serologic and seminal steroids and semen characteristics in rams. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 31(5): 303-309.
3. Ivell, R., M. Balvers, W. Rust, R. Bathgate and A. Einspanier. 1997. Oxytocin and male reproductive function. *Adv. Exp. Med. Biol.* 424: 253-264.
4. Knight, T. W. 1974. The effect of Oxytocin and Adrenaline on the semen output of rams. *J. Reprod. Fert.* 39: 329-336.
5. Knight, T. W. and D. R. Lindsay. 1970. Short- and long- term effects of Oxytocin on quality and quantity of semen from rams. *J. Reprod. Fert.* 21: 523-529.
6. Nicholson, H.D., T. J. Parkinson, K. R. Lapwood, 1999. Effects of Oxytocin and Vasopressin on sperm transport from the cauda epididymis in sheep. *J. Reprod. Fertil.* 117: 299-305.
7. Palmer, C. W., S. D. Amundson, L. F. C. Brito, C. L. Waldner and A. D. Barth. 2004. Use of Oxytocin and Cloprostenol to facilitate semen collection by electroejaculation or transrectal massage in bulls. *Anim. Reprod. Sci.* 80: 213-223.
8. Traas, A. M. and M. V. Root Kustritz. 2004. Effect of administering Oxytocin or Prostaglandin $F_{2\alpha}$ on characteristics of the canine ejaculate. *Can Vet J.* 45: 999-1002.
9. Walch, K., R. Eder, A. Schindler and W. Feichtinger. 2001. The effect of single-dose Oxytocin application on time to ejaculation and seminal parameters in men. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, Vol. 18, No. 12.
10. Whittington, K., S. J. Assinder, T. Parkinson, K. R. Lapwood and H. D. Nicholson. 2001. Function and localization of Oxytocin receptors in the reproductive tissue of rams. *Reproduction.* 122: 317-325.

The effect of oxytocin on semen quality characteristics of Arabic rams in breeding season

Majid Yoosefian^{1*}, Saleh Tabatabaie Vakili², Morteza Mamouei², Khalil Mirzadeh², Morteza Chaji²

1. M.Sc. student of Animal Physiology, Ramin agricultural & natural resources university, Khouzestan, Iran

2. Ph.D., Department of Animal science, Ramin agricultural & natural resources university, Khouzestan, Iran

* myoosefian@gmail.com

Abstract

It is not well known the physiologic role of oxytocin (OT) in males. It is thought that OT acts on the contractile tissues of the testicular capsule and epididymis causing an increased rate of sperm passage from the epididymis to the deferent ducts. The purpose of the present study was to evaluate the effects of OT on semen characteristics include volume, density, total number, motility and percentage of abnormal and live sperm cells in breeding season. Similar 8 Arabic rams were randomly assigned to the two treatments. Physiological saline (1 ml) was injected into each ram in the control group, whereas OT was administered IV at a single dose of 7 IU to each ram in the treatment group. This procedure was repeated once weekly during 4 weeks in



breeding season. 15 minutes after injection, semen samples were collected using an electroejaculator. Determination the sperm concentration was performed with a hemocytometer. For assessing the progressive motility of sperm, the mean of the 3 microscopic fields was used in each sample under a light microscope at 400× magnification. Percentage of viable and abnormal spermatozoa was evaluated by nigrosin-eosin-stained slides. Our results indicated that OT caused a significant enhancement in many of the semen parameters compared with control group.

Key words: oxytocin- semen quality- ram- breeding season

بررسی اثرات عصاره ی الکلی گلبرگ زعفران (*Crocus sativus* L.) بر پارامترهای خون در موش های صحرایی

عاطفه بابایی^{۱*}، جواد آرشامی^۲، علی رضا حق پرست^۳، محسن دانش مسگران^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم دام گرایش فیزیولوژی

۲- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی دانشکده کشاورزی

۳- عضو هیئت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

Atefeh_babaie@yahoo.com نویسنده مسئول: عاطفه بابایی، مشهد، دانشگاه فردوسی، دانشکده کشاورزی گروه علوم دامی

چکیده:

گلبرگ زعفران حاوی مقادیر زیادی از ترکیبات گلیکوزیدی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین ها می باشد. هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثرات عصاره گلبرگ زعفران بر پارامترهای خون در موش صحرایی می باشد. بدین منظور پنج گروه شش تایی از موش های نر جنس ویستار مورد استفاده قرار گرفت. گروه کنترل نرمال سالیین و چهار گروه دیگر دوزهای ۷۵، ۱۵۰، ۲۲۵ و ۴۵۰ mg/kg عصاره الکلی گلبرگ زعفران را به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. پس از پایان دوره میزان کلسترول، تری گلیسرید، کراتینین، پروتئین تام، آلبومین و آنزیم های ALT و AST سرم خون با استفاده از کیت های بیوشیمیایی اندازه گیری شدند. نتایج نشان داد که، میزان آلبومین به طور معنی داری افزایش و کلسترول و AST به صورت وابسته به دوز نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ($p < 0.05$). مقادیر تری گلیسرید، کراتینین و پروتئین تام تغییر معنی داری نداشتند. میزان افزایش در مقدار آلبومین و کاهش آنزیم های کبدی می تواند نشان دهنده ی عدم آسیب بافت و بهبود عملکرد کبد باشد. کاهش در کلسترول می تواند ناشی از ترکیبات فلاونوئیدی عصاره گلبرگ زعفران باشد.

کلمات کلیدی: متابولیت های خونی - عصاره الکلی زعفران - موش صحرایی

مقدمه:

زعفران با نام علمی *Crocus sativus* L. از خانواده زنبقی ها می باشد. زعفران یکی از محصولات اصلی ایران و به خصوص استان خراسان می باشد که در طب سنتی به خواص دارویی بی شمار آن اشاره گردیده است. طبق تحقیقات انجام شده گلبرگ زعفران حاوی گلیکون فلاونول میریستین، کواریستین، کامپفول و دو نوع آنتوسیانین به نام های دلفینیدین و پتونیدین می باشد. در مطالعات گوناگون خواص آنتی اکسیدانی (۸) اثرات ضد التهابی (۵،۱۰)، سمیت عصاره گلبرگ زعفران (۵،۱)، اثر ضد افسردگی (۶) و اثر برفشار خون (۴) عصاره گلبرگ زعفران مورد بررسی قرار گرفته است. هر ساله مقادیر زیادی از گلبرگ زعفران بدون استفاده بدور ریخته می شود، در حالی که شواهد گوناگونی مبنی بر وجود ترکیباتی با اثرات فارماکولوژی مختلف در گلبرگ زعفران است که می توان در مصارف انسانی، دام و طیور مورد استفاده قرار داد. تحقیق حاضر جهت بررسی اثرات عصاره گلبرگ زعفران بر متابولیت های خون در موش های صحرایی صورت گرفت.

مواد و روش ها:

۱- عصاره گیری: گلبرگ های زعفران تازه از مزارع اطراف تربت حیدریه در خراسان رضوی جمع آوری و توسط هرباریوم دانشگاه فردوسی مورد تایید قرار گرفت و به آن کد (FUMH) ۳۱۸۳۲ داده شد. پس از خرد کردن گلبرگ های خشک شده، به میزان لازم حلال اتانول ۸۰٪ به آن افزوده و به مدت چند دقیقه مخلوط تکان داده شد. پس از ۷۲ ساعت، محتویات ظرف صاف و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ با دور ۲۵۰۰ rpm شد. محلول بخش بالایی لوله جدا گردید و حلال اضافی در دستگاه خذف

حلال در خلاء و دمای ۴۰ درجه سانتی گراد، حذف شد. سپس مابقی محلول در داخل آون با دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت صفحات خشک شده به کمک اسپاتول تراشیده شد.

۲- حیوانات: در این آزمایش از موش های سفید نر جنس Wistar دارای سلامتی کامل، در سن ۱۰ هفتگی با وزن 215 ± 15 گرمی تهیه شده از موسسه پاستور کرج استفاده گردید. موش ها در اتاقی با دمای 22 ± 2 درجه سانتی گراد با ۱۲ ساعت روشنای و ۱۲ ساعت تاریکی با رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد نگهداری شدند. همه ی موش ها در طی آزمایش دسترسی آزاد به آب و غذای آماده پلت شده (تهیه شده از شرکت جوانه خراسان) داشتند. به منظور گروه بندی، ۳۵ سر موش به صورت تصادفی در پنج گروه ($n=6$) قرار داده شد. کل دوره آزمایش ۱۴ روز بود. یک گروه از موش ها به عنوان گروه کنترل روزانه 10 ml/kg به صورت صفاقی نرمال سالین و گروه های دیگر به ترتیب مقادیر 75 ، 150 ، 225 ، 450 mg/kg عصاره الکی گلبرگ زعفران دریافت کردند.

۳- اندازه گیری پارامتر های خون: در پایان دوره پس از بیهوش نمودن رت ها، خون از قلب جمع آوری شد. نمونه های جمع آوری شده در 25000 rpm در ۵ دقیقه سانتریفیوژ و سرم خون ها جمع آوری گردید. با استفاده از کیت های اندازه گیری زیست شیمی ساخت ایران به روش رنگ سنجی و دستگاه اتو آنالیزور (Bio system) مدل A15، میزان کلسترول، تری گلیسرید، پروتئین تام و آلبومین و آنزیم های آلانین ترانسفراز (ALT) و آسپارات ترانسفراز (AST) اندازه گیری شدند. آنالیز داده ها:

به منظور بررسی آنالیز آماری از آزمون ANOVA و سپس TUKEY با استفاده از نرم افزار SAS استفاده گردید. نتایج به صورت میانگین و در سطح ($p < 0.05$) گزارش گردید.

نتایج و بحث:

همان طور که در جدول (۱) آمده است، میزان آلبومین بین گروه کنترل و گروه های دریافت کننده دوز 450 mg/kg اختلاف معنی داری وجود دارد ($p < 0.05$). میزان کلسترول به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است ($p < 0.05$). میزان پروتئین تام، کراتینین، تری گلیسرید و ALT بین هیچ یک از گروه ها معنی دار نشد. مقدار AST بین گروه کنترل و گروه های دریافت کننده دوزهای 225 و 450 mg/kg اختلاف معنی داری وجود داشت ($p < 0.05$).

جدول ۱: نتایج آزمایش های بیوشیمیایی بعد از ۱۴ روز تجویز داخل صفاقی عصاره گلبرگ زعفران در رت.

پارامتر ها	تیمار ها					±SEM
	(mg/kg)۰	(mg/kg)۷۵	(mg/kg)۱۵۰	(mg/kg)۲۲۵	(mg/kg)۴۵۰	
پروتئین تام (g/L)	۶۳،۲۵	۶۴	۶۴	۶۳،۷۵	۶۴،۷۵	۰،۶۶۵
آلبومین (g/L)	^b ۲۱	^{ab} ۲۱،۷۵	^{ab} ۲۱،۷۵	^{ab} ۲۴	^a ۲۴،۷۵	۱،۹۵۷
تری گلیسرید (mg/dL)	۸۰،۷۵	۶۶،۵	۶۶،۵	۷۱،۲۵	۶۵	۸،۹۴۰
کلسترول (mg/dL)	^a ۸۰،۷۵	^b ۶۹،۲۵	^b ۶۶،۲۵	^b ۶۵،۵	^b ۶۸،۷۵	۱،۹۵۷
کراتینین (mg/dL)	۰،۵۹۲۵	۰،۵۷۲۵	۰،۶۲۵	۰،۵۷۲۵	۰،۶	۰،۰۲۰
آسپارات ترانسفراز (U/L)	^a ۲۳۰	^{ab} ۱۶۵	^{ab} ۱۷۵،۲۵	^b ۱۳۸	^b ۱۵۷	۱۶،۳۱
آلانین ترانسفراز (U/L)	۶۲،۲۵	۵۳،۵	۴۹،۵	۴۵	۴۷،۷۵	۴،۵۴

اعداد بصورت میانگین گزارش شده اند. ارقامی که دارای حروف غیر مشترک هستند، اختلاف معنی دار دارند. ($p < 0.05$)

کریمی و همکاران در سال ۱۳۸۳ نشان دادند که تجویز ۱۴ روزه عصاره آبی گلبرگ زعفران موجب کم خونی و آسیب در بافت ریه و کبد گردید. همچنین میزان آلبومین در تیمارهای در گروه های تیمارنسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافت (۱). همان طور که در جدول (۱) آورده شده آلبومین به طور معنی داری افزایش یافت. سنتز آلبومین در کبد صورت می گیرد و افزایش میزان آلبومین نشان دهنده ی بهبود فعالیت کبدی در اثر تزریق عصاره گلبرگ زعفران می باشد. همچنین مشخص شده، گلبرگ زعفران دارای ترکیب آنتی اکسیدان قوی از دسته فلاونوئید های پلی فنلی می باشد که در خون به صورت متصل به آلبومین حمل می گردد و دارای تاثیر متقابل در میزان این پروتئین حمل کننده می باشد (۸). آنزیم های ALT و AST به مقدار فراوان در کبدی قرار دادند و با تخریب سلول های کبدی این آنزیم ها آزاد شده و میزان آنها در سرم خون افزایش می یابد (۷) نتایج ما نشان داد که میزان AST به طور معنی داری کاهش یافت. گیاهانی که حاوی فلاونوئیدها هستند ، سبب کاهش میزان کلسترول خون از طریق تاثیر بر واکنش های متابولسمی بافت های مختلف بر متابولیسم چربی می شوند (۳)، که مطابق با نتایج بدست آمده در این مطالعه می باشد.

نتیجه گیری: عصاره گلبرگ زعفران می توان در جهت بهبود عملکرد کبد و کاهش کلسترول خون مورد استفاده قرار گیرد. جهت استفاده از گلبرگ زعفران در خوراک دام لازم است پژوهش های بیشتری در این راستا انجام گیرد.

منابع:

۱. کریمی، غ. ر.، طیبی، ن.، حسین زاده، ح.، شیرزاد، ف. ۱۳۸۳. بررسی سمیت حاد عصاره آبی کلاله و گلبرگ در موش صحرائی. فصلنامه گیاهان دارویی. سال سوم. شماره ۱۲.

- Akhondzadeh Bast, A., Ghoreishi, S. A., Noorbala, A. A. (2008). "Petal and Stigma of *Crocus sativus* L. in the Treatment of Depression: A Pilot Double - blind Randomized Trial." J. Medicinal Plants 7.
- Bohm H, Boeing H, Hempel J, Raab B and Kroke A. Flavonols, flavone and anthocyanins as natural antioxidants of food and their possible role in the prevention of chronic diseases. Z Ernährungswiss. 1998; 37: 147-163.
- Fatehi, M., Rashidabady, T., Fatehi- Hassanabad, Z. (2003). "Effects of crocus sativus petal's extract on rat blood pressure and on reponses induced by electrical field stimulation in the rat isolated vas deferens and guinea- pig ileum." J. Ethnopharmacology. 84: 199-203.
- Hosseinzadeh, H., and Younesi, H. M. (2002). "Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice." BMC Pharmacology. 2: 7-15.
- Hosseinzadeh, H., Motamedshariaty, V., and Hadizadeh, F. (2007). "Antidepressant effect of Kempferol, a constituent of saffron(*crocus sativus*) petal, in mice and rats." Pharmacologyonline. 2: 367-370.
- Hultcrantz R, Glaumann H, Lindberg G and Nilsson LH. Liver investigation in 149 asymptomatic patients with moderately elevated activities of serum aminotransferases. Scand. J. Gastroenterol. 1986; 21: 109-113.

8. kanakis, C. D., Tarantilis, P. A., Tajmir- Riahi, H. A., and Polissiou , M .G. (2007). "Crocerin , dimethyl crocetin and safranal bind humman serum albumin: Stability and antioxidative properties." J. Agric. food chem. 55(3): 970-977.
9. Shams, J., Molavi, S., Kamalinejad, M., Sharaei, H., and Noroozadeh, A. (2007). "Reduction of morphine to tolerance by the crocus sativus extract in famale mice as assessed by tail flick." proceeding of 18^h Iranian congress of physiology and pharmacology. Mashad- Iran. Aug.26-30: 78-90.
10. Vahidi, A. R., Bashardost, N ,and Akhondi, H. (2007). "The analgesic effect of saffron extract in rats as compard with morphine sullfate." Plant Med. 73: 995.

Effects of Crocus sativus petals' extract on blood parameters in Rat
Babaei A. ^{1*}, Arshami J. ², Haghparast A. R. ³, Danesh Mesgaran M².

1-M.Sc.Student, Ferdowsi University of Mashhad,

2- Department of Animals Science, Ferdowsi University of Mashhad,

s3-Department of veterinary faculty, Ferdowsi University of Mashhad,

* Corresponding E-mail address : Atefeh_babaie@yahoo.com

Abstract:

Saffron (Crocus Sativus) petals consist of anthocyanins, glycosides and flavonoids, have strong antioxidative activities. In this study, effects of Crocus Sativus petals' extract on blood parameters have been evaluated in rats. 30 male Wistar rats with the mean body weight of 215 ± 15 g were randomly assigned in to 5 groups of 6 animals. Control group received normal saline (10 ml/kg) and treatment groups received 75,150, 220 and 450 mg/kg of saffron petals' extract, for 14 days. At the end of experiment, levels of liver function marker enzymes (AST, ALT), total proteins, albumin, creatinine, cholesterol and triglyceride were assessed in serum of the rats. This study showed that hydromethanolic extract of saffron petals' significantly increased serum albumin and glucose compared to control and caused to significantly decreased levels of serum cholesterol, AST. No changes were observed on serum total proteins, creatinine, AST and triglyceride levels in control and saffron groups. The results of this study indicated the petal of C.sativus in improved liver activity and are not toxic in given dose, with no cause liver tissue damage.

Key word: Blood parameters' – Rat – Saffron petals.

تأثیر EGF در محیط دو مرحله‌ای کشت آزمایشگاهی رویان گاو بر نرخ تولید بلاستوسیت

آزاده زحمتکش^{۱*}، محمود امیری رودبار^۲، مرتضی دلیری جوپاری^۳

^۱ گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، ^۲ گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه

فردوسی مشهد، مشهد، ایران، ^۳ گروه بیوتکنولوژی دام و آبزیان، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: آزاده زحمتکش a.zahmatkesh@ag.iut.ac.ir

چکیده

استفاده از فاکتور رشد اپیدرم (EGF) باعث افزایش نرخ بلاستوسیت در کشت آزمایشگاهی رویان گاو می‌شود. نیازهای تغذیه‌ای رویان پستانداران طی نمو در مرحله‌ی پیش از لانه‌گزینی تغییر می‌کند که با تغییرات در ترشحات دستگاه تولید مثلی ماده همزمان است. بنابراین برای نمو بهینه‌ی رویان‌های پستانداران استفاده از محیط‌های دوحله‌ای که با تغییر نیازهای تغذیه‌ای رویان‌ها در پیش از لانه‌گزینی متناسب باشد، پیشنهاد می‌شود. موضوع این تحقیق بررسی اثر EGF در محیط دو مرحله‌ای بر نرخ کلیواژ و نرخ تولید بلاستوسیت می‌باشد. تخمک‌ها از فولیکول‌هایی با قطر ۶-۲ میلی‌متر آسپیره شدند و وارد محیط بلوغ شدند و پس از ۲۴ ساعت، تخمک‌های بالغ وارد محیط لقاح شدند. تخمک‌های بارور شده‌ی احتمالی در دو گروه تیماری از محیط‌های کشت دوحله‌ای جنین انسانی G1 و G2 یکی بدون EGF و دیگری دارای ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر EGF در هر دو مرحله به مدت ۹ روز برای به‌دست آمدن بلاستوسیت‌ها کشت داده شدند. آزمایش در سه تکرار صورت گرفت و نتایج به صورت درصد کلیواژ و نرخ تولید بلاستوسیت به ازای هر کلیواژ ثبت شد. بررسی آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار و به‌کمک نرم‌افزار SAS و با رویه‌ی GLM انجام شد و مقایسات بر اساس LSMEANS و آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ صورت گرفت. EGF در محیط کشت دوحله‌ای بر نرخ کلیواژ مؤثر نبود ($p > 0/1$) ولی بر نرخ تولید بلاستوسیت اثر معنی‌دار داشت ($p < 0/05$). این اثر می‌تواند به دلیل اهمیت تغذیه‌ای آن در سنتر پروتئین و یا تحریک تقسیمات میتوزی رویان باشد.

واژه‌های کلیدی: EGF، کلیواژ، بلاستوسیت، محیط کشت دوحله‌ای

مقدمه

استفاده از EGF باعث افزایش نرخ بلاستوسیت در کشت آزمایشگاهی رویان‌های گاوی می‌شود (۹). با توجه به اینکه بیان ژن PDGF-b در اویداکت گاو به اثبات رسیده، به احتمال بسیار زیاد این فاکتورهای رشد، در رشد طبیعی رویان نقش دارند (۱۰). احتمالاً بین EGF و FGF در صورت افزوده شدن به محیط کشت رویان، یک اثر تعاونی مثبت برای رشد رویان وجود دارد (۷). در یک آزمایش که اثر چندین فاکتور رشد مورد بررسی قرار گرفت مشخص شد که این فاکتورها اثر معنی‌داری بر رشد رویان‌ها در مراحل ابتدایی جنینی در محیط فاقد سرم دارند (۹). وجود mRNA گیرنده‌های EGF از مرحله‌ی دو سلولی تا بلاستوسیت در رویان گاو اثبات شده است، و نشان دهنده‌ی اثر مثبت در مراحل ابتدایی نمو رویان است. نیازهای تغذیه‌ای رویان پستانداران در طی نمو در مرحله‌ی پیش از لانه‌گزینی تغییر می‌کنند که با تغییرات در ترشحات دستگاه تولید مثلی جنس ماده از اویداکت به رحم همزمان است. بنابراین برای نمو بهینه‌ی رویان‌های پستانداران استفاده از محیط‌های دو یا چند مرحله‌ای که با تغییر نیازهای تغذیه‌ای رویان‌ها در پیش از لانه‌گزینی متناسب باشد، پیشنهاد می‌شود (۳). با توجه به این یافته‌ها یک محیط کشت دو مرحله‌ای توسط گاردنر و لان برای رویان‌های انسان تهیه شد (۵). بلاستوسیت‌های حاصل با استفاده از این محیط‌ها دارای کیفیت بهتری نسبت به روش هم‌کشتی با سلول‌های سوماتیک بودند (۶). این محیط دو مرحله‌ای بر اساس تغییرات نیازهای

کربوهیدراتی و آمینواسیدی رویان‌ها است، و در نتیجه نرخ بالای بلاستوسیت را باعث می‌شود (۲). موضوع این تحقیق بررسی اثر EGF در این محیط دو مرحله‌ای بر نرخ کلیواژ و نرخ تولید بلاستوسیت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و بلوغ آزمایشگاهی تخمک- تخمدان‌ها از کشتارگاه جمع‌آوری شده و در نرمال سالین با دمای ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شدند. تخمک‌ها با روش اسپیره از فولیکول‌هایی با قطر ۶-۲ میلی‌متر جدا شدند. سپس تخمک‌های دارای سیتوپلاسم یکپارچه و حداقل سه لایه کومولوس در زیر میکروسکوپ جدا شده و سه مرتبه در قطره‌های ۲۵۰ میکرولیتری از محیط TCM199 + ۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر BSA شستشو داده شدند. سپس تخمک‌های دارای کمپلکس‌های کومولوس به- صورت دسته‌های ۱۵-۱۰ تایی در قطرات ۵۰ میکرولیتری از محیط بلوغ (TCM199، ۱۰٪ FBS و ۱۰۰ نانوگرم در میلی-لیتر EGF)، به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور تحت شرایط دمای ۳۸/۵°C، ۵٪ CO₂ و رطوبت حداکثر کشت داده شدند.

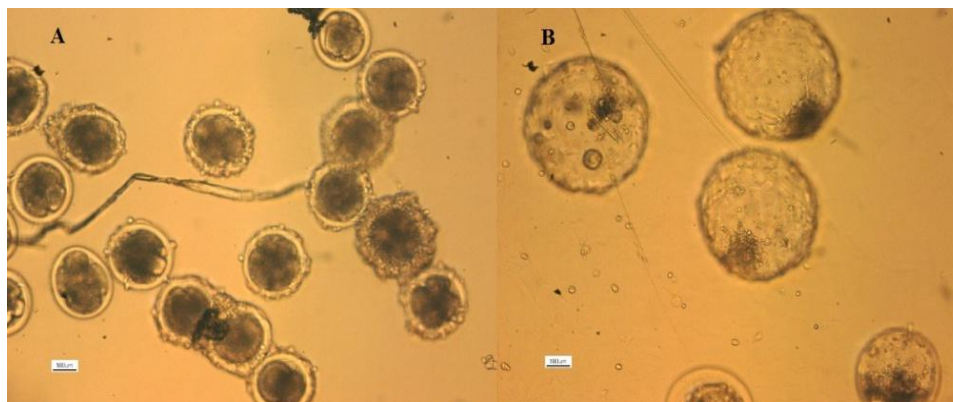
لقاح آزمایشگاهی- برای تهیه‌ی اسپرم از اپیدیدیمیس تازه استفاده شد. اسپرم‌های متحرک پس از شستشو در محیط HEPES TALP با روش Swim up جدا سازی شدند. تخمک‌های بالغ که کومولوس‌های کاملاً گسترش‌یافته داشتند، پس از شستشو در قطرات ۵۰ میکرولیتری محیط لقاح (TALP-IVF به همراه ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر هیپارین)، در گروه‌های ۱۵-۱۰ تایی قرار داده شدند و با ۵ میکرولیتر اسپرم با غلظت ۱۰×۱۰^۶ در میلی‌لیتر، برای ایجاد غلظت نهایی ۱×۱۰^۶ در میلی‌لیتر اسپرم، تلقیح شده و در درون انکوباتور به مدت ۲۲ ساعت و شرایط دمای ۳۸/۵°C، ۵٪ CO₂ و رطوبت حداکثر قرار داده شدند.

کشت آزمایشگاهی رویان- ابتدا تخمک‌های بارور شده‌ی احتمالی از سلول‌های کومولوس جدا شده و پس از شستشو به صورت تصادفی در داخل دو گروه تیماری از محیط‌های کشت دومرحله‌ای جنین انسانی G1 و G2 معرفی شده توسط گاردنر و لین (۴)، یکی بدون EGF و دیگری دارای ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر EGF در هر دو مرحله به مدت ۹ روز برای بدست آمدن بلاستوسیت-ها کشت داده شدند. این آزمایش در سه تکرار با شرایط مشابه صورت گرفت و نتایج به صورت نرخ تولید بلاستوسیت به ازای هر کلیواژ ثبت شد.

بررسی آماری داده‌ها- آنالیز در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار و به کمک نرم‌افزار SAS و با رویه‌ی GLM انجام شد و مقایسات بر اساس LSMEANS و آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ صورت گرفت.

نتایج و بحث

در این آزمایش به دلیل اهمیت تغییر شرایط رویان در اویداکت و رحم، از محیط کشت دو مرحله‌ای برای رشد رویان گاو استفاده شد. تخمک‌های بارور شده پس از ۲۴ ساعت وارد محیط G1 شدند، و پس از گذشت ۳۵ ساعت از لقاح، سلول‌های تقسیم‌نشده جدا شدند و درصد کلیواژ ثبت شد. رویان‌ها پس از ۷۲ ساعت به محیط G2 منتقل شدند. هر دوی محیط‌ها به صورت دو گروه تیماری دارای EGF و بدون EGF در سه تکرار در نظر گرفته شدند. رویان‌ها در روز نهم در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند و تعداد بلاستوسیت‌ها ثبت شد (شکل ۱). نتایج درصد کلیواژ و نرخ بلاستوسیت به ازای هر کلیواژ در جدول ۱ آمده است.



شکل ۱- A: رویان‌ها در مرحله‌ی ۱۶-۸ سلولی، B: رویان‌ها در مرحله‌ی بلاستوسیت. سه بلاستوسیت شکوفا شده در شکل مشاهده می‌شود.

باستان و همکاران اثر دوزهای مختلف EGF را در محیط بلوغ، بر بلوغ تخمک گاو و باروری و تکامل رویان در دو محیط یک- مرحله‌ای و دو مرحله‌ای مقایسه کردند و اختلاف معنی‌داری در تولید بلاستوسیت در دو محیط مشاهده نکردند، اگرچه در هر دو محیط بر تکامل بلاستوسیت مؤثر بود (۱). در این آزمایش از EGF (۱۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر) به دلیل اثرات مثبت بر بلوغ میوزی تخمک و گسترش سلول‌های کومولوس و افزایش نرخ کلیواژ (۸) در محیط بلوغ استفاده شد و اثر آن با دوز ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر بر افزایش نرخ کلیواژ در محیط کشت دومرحله‌ای G1/G2 مورد بررسی قرار گرفت. بررسی آماری نشان داد که تیمار EGF با تیمار کنترل (بدون EGF) از نظر درصد کلیواژ تفاوت معنی‌داری نداشت و EGF در محیط کشت دومرحله‌ای بر نرخ کلیواژ مؤثر نبود ($p > 0.01$) که این نتیجه با مطالعه‌ی لونرگان و همکاران مطابقت دارد. آن‌ها اعلام کردند که EGF در محیط SOF (مایع سنتزی اویداکت) بر نرخ کلیواژ رویان گاو اثر معنی‌داری نداشت (۸).

جدول ۱- اثر ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر EGF در محیط کشت دومرحله‌ای G1/G2 بر نرخ کلیواژ و بلاستوسیت

درصد بلاستوسیت به ازای هر کلیواژ	تعداد کل بلاستوسیت	درصد کلیواژ	تعداد کل تخمک	تیمار
۳۷/۰۵ ^a	۴۱	۷۹/۷۳ ^a	۱۳۷	۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر EGF
۳۲/۹۳ ^b	۳۲	۸۱/۶۲ ^a	۱۱۹	بدون EGF

در هر ستون مقادیر با حروف مشترک از نظر آماری معنی‌دار نیستند و مقادیر با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p < 0.05$).

در این آزمایش اثر EGF بر نرخ تولید بلاستوسیت معنی دار شد ($p < 0.05$). با توجه به معنی داری اثر EGF در محیط SOF بر تولید بلاستوسیت در مطالعاتی لونرگان و همکاران (۸)، نتایج آزمایش حاضر، تأییدی بر اثر این فاکتور بر تکامل رویان است. وجود گیرنده‌ی EGF در رویان گاو اثبات شده است (۴) و در نتیجه این فاکتور از طریق اتصال اختصاصی به گیرنده و ورود به سلول اثرات خود را اعمال می‌کند. این اثر مثبت EGF می‌تواند به دلیل اهمیت تغذیه‌ای آن در سنتز پروتئین (۱۱) و یا تحریک تقسیمات میتوزی رویان (۸) باشد.

منابع

1. Baştan, A., B. Polat, D. Baki ACAR, Ö. Korkmaz and A. Çolak. 2010. Determination of optimal dose of EGF for bovine oocyte maturation and subsequent in vitro fertilization and culture in two media. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science. 34(1): 33-38.
2. Gardner, D.K. 1994. Mammalian embryo culture in the absence of serum or somatic cell support. Cell Biology International. 18: 1163-1179.
3. Gardner, D. K. 1999. Development of serum-free culture systems for the ruminant embryo and subsequent assessment of embryo viability. Journal of Reproduction and Fertility Supplement. 54: 461-475.
4. Gardner, D.K. and M. Lane. 1997. Culture and selection of viable blastocysts: a feasible proposition for human IVF. Human Reproduction Update. 3: 367-382.
5. Gardner, D. K. and M. Lane. 1998. Culture of viable human blastocysts in defined sequential serum-free media. Human Reproduction. 13: 148-159.
6. Lane, M., D. K. Gardner, M. J. Hasler, J. F. Hasler. 2003. Use of G1.2/G2.2 media for commercial bovine embryo culture: equivalent development and pregnancy rates compared to co-culture. Theriogenology. 60: 407-419.
7. Lee, E.S. and Y. Fukui. 1995. Effect of various growth factors in a defined culture medium on in vitro development of bovine embryos matured and fertilized in vitro. Theriogenology. 44: 71-83.
8. Lonergan, P., C. Carolan, A. V. Langendonck, I. Donnay, H. Khatir and P. Mermillod. 1996. Role of Epidermal Growth Factor in Bovine Oocyte Maturation and Preimplantation Embryo Development In Vitro. Biology of Reproduction. 54: 1420-1429.
9. Palma, G.A. and G. Brem. 1995. Effect of growth factors IGFI, TGF- α , EGF and PDGF on development of in vitro produced bovine blastocysts. Theriogenology. 43: 291-291.
10. Viuff, D., P. Hyttel, T. Greve, T. Eriksen, S. Alexandersen. 1995. Transcription and localization of growth factor mRNA in the bovine oviduct. Molecular Reproduction and Development 42: 28-34.
11. Wood, S. A. and P. L. Kaye. 1989. Effects of epidermal growth factor on preimplantation mouse embryos. Journal of Reproduction and Fertility. 85:575-582.

Effect of EGF in sequential bovine embryo culture medium on blastocyst rate

Azadeh Zahmatkesh^{1*}, Mahmood Amiri Roudbar², Morteza Daliri Joupari³

¹Department of Animal Sciences, College of agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran, ²Department of Animal Sciences, College of agriculture, Ferdowsi University of

Mashhad, Mashhad, Iran, ³Department of Animal and Marine Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran

* Corresponding E-mail address: a.zahmatkesh@ag.iut.ac.ir

Abstract

Epidermal Growth Factor (EGF) increases blastocyst rate in bovine embryo in vitro culture. Nutritional requirements of mammalian embryos, changes through pre-implantation and it is in coincidence with changes in secretion of female reproductive tract. So it has been suggested to use sequential culture media to provide changes in nutritional requirements for optimal growth of mammalian embryos. In this study, we investigated the effect of EGF in sequential media on cleavage and blastocyst rates. Oocytes were aspirated from 2-6 mm follicles and transferred to maturation media, and after 24h inseminated. After 22h presumptive fertilized oocytes were cultured for 9 days in human sequential G1/G2 media in two groups of treatments, one with 10 ng/ml EGF in both media and the other with no EGF. The experiment was done in three replicates and the data were recorded as percentage of cleavage and percentage of blastocysts per cleavage. Statistical analysis was run in SAS software and PROC GLM as completely randomized design with two treatments. Comparisons were made with LSMEANS and Tukey test with $\alpha=0.05$. The effect of EGF on cleavage rate was not significant ($p>0.1$), but it had a significant influence on blastocyst rate ($p<0.05$). This effect may be the result of the nutritional role of EGF in protein synthesis or its mitogenic activity in embryo.

Keywords: EGF, cleavage, blastocyst, sequential medium

مطالعه دینامیک فولیکولی بزهای مهابادی در طی سیکل استروس با استفاده از سونوگرافی از راه واژن

*مهری عبدالله پور^۱، فرهاد فرخی اردبیلی^۲، فریدسبزی^۱

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه ۲- استادیار گروه علوم دامی

دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

*مهری عبدالله پور: mehri.abd23@yahoo.com

چکیده

هدف از انجام این مطالعه بررسی دینامیک فولیکولی، تشخیص فولیکول های غالب در هرموج، زمان تخمک گذاری و تعداد تخمک گذاری طی فصل استروس بود که با استفاده از روش اولتراسونوگرافی در بزهای نژاد مهابادی انجام گرفت. این تحقیق بر روی ۶ راس بز اکوتیپ مهابادی با میانگین سن ۴-۶ سال و وزن ۶۰-۸۰ کیلوگرم انجام شد. معاینات برای همه ی بزها به مدت ۴۵ روز (معادل طول دو سیکل) و به صورت روزانه از طریق پروب میکروکانوکس واژینال و در وضعیت ایستاده انجام گرفت. در ۴ راس از بزهای مورد مطالعه که طول سیکل استروس نرمال (۱۹-۲۲) بود به ازای هر سیکل ۳ موج فولیکولی تشخیص داده شد که موج ها در روزهای ۱/۰±۰/۰، ۸۲/۰±۰/۸ و ۱۳/۵±۰/۲۹ برای سیکل اول و در روزهای ۱/۰±۰/۰، ۸۷/۵±۰/۷ و ۱۳/۵±۰/۹۶ برای سیکل دوم اتفاق افتادند. فواصل بین موج ها برای سیکل اول ۷/۰±۰/۸۲، ۵/۵±۰/۶۵ و ۸/۰±۱/۰۸ روز و برای سیکل دوم ۶/۵±۰/۸۷، ۷/۰±۰/۷۱ و ۷/۷۵±۰/۴۸ روز به دست آمد. بین دو سیکل از لحاظ زمان وقوع موج ها و فواصل بین موج ها اختلاف معنی داری وجود نداشت. در ۲ راس از بزها با فواصل بین دو تخمک گذاری متوالی طولانی (۴۲ روز)، ۵ موج فولیکولی مشاهده گردید. در بزهایی با ۳ موج قطر فولیکولهای تخمک گذار براساس تعداد تخمک گذاری ۱۰/۹۳±۰/۵ و ۸/۷۷±۰/۳۸ میلی متر بدست آمد. بر اساس نتایج این تحقیق رشد فولیکولی در بزهای مهابادی به شکل موجی می باشد ولی مطالعات بیشتر برای تعیین جزئیات بیشتر دینامیک فولیکولی و میزان وقوع سیکل های نامنظم ضروری است.

کلمات کلیدی: دینامیک فولیکولی - اولتراسونوگرافی - واژن - بز

مقدمه

کاربرد تعدادی از تکنولوژی های تولیدمثلی اعم از تلقیح مصنوعی و انتقال جنین نیاز به آگاهی کامل از عوامل تنظیم کننده موثر در فیزیولوژی تولیدمثل دام ماده دارد و داشتن دانش در این زمینه به منظور کنترل و همزمان سازی توسعه ی فولیکولی و تخمک گذاری جهت افزایش کارایی تولیدمثل طی برنامه های تولیدمثلی ضروری است (۱۴). سونوگرافی یکی از تکنیک هایی است که در طی ۳۰ سال گذشته بطور روزافزونی در مطالعات تولیدمثلی بکار رفته است (۱۳). استفاده از اولتراسونوگرافی موجب افزایش دانش مادرزمینه ی فیزیولوژی تولیدمثل دامها و چگونگی کنترل آن می شود. اگرچه استفاده از

این تکنیک برای مطالعات تخمدانی در نشخوارکنندگان کوچک در مقایسه با دام‌های بزرگتر حدود ۱۰ سال دیرتر انجام گرفته است (۱). با توجه به عدم امکان ملامسه رکتال، اولتراسونوگرافی یک روش غیر تهاجمی و بسیار مناسب به منظور بدست آوردن اطلاعات در رابطه با جنبه های مورفولوژیکی قسمتهای مختلف دستگاه تولیدمثلی در دامهای نر و ماده در نشخوارکنندگان کوچک است (۹). در گاو و اسب مطالعه رشد فولیکولی از طریق اولتراسونوگرافی نشان داده است که رشد فولیکول ها دارای الگوی موجی می باشد. ولی در نشخوارکنندگان کوچک بویژه بز تحقیقات محدودی در این زمینه انجام گرفته است (۲). در بزهایی با سیکل های بین تخمک گذاری طبیعی (۲۲-۱۹ روز) تعداد موج های فولیکولی معمولا ۴ عدد گزارش شده است با این وجود در برخی از نژاد ها وجود ۳ موج فولیکولی در طی هر سیکل گزارش شده است (۱۰ و ۲). یکی از انواع بزهای بومی که در غرب ایران پرورش می یابد اکوتیپ مهابادی است این اکوتیپ خصوصیات چند منظوره ی گوشتی، شیری داشته و تولید موی آن نیز مناسب می باشد. علاوه بر این درصد دوقلو زایی و حتی چند قلو زایی خوبی دارد. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی دینامیک فولیکولی از طریق اولتراسونوگرافی از راه واژن در این اکوتیپ از بزهای بومی کشور بود.

مواد و روش کار

این تحقیق بر روی ۶ راس بز ماده ی اکوتیپ مهابادی با میانگین سن ۴ تا ۶ سال و میانگین وزنی ۶۰ تا ۸۰ کیلوگرم و در طی فصل تولیدمثل انجام گرفت. سیکل استروس بزها با استفاده از سیدر همزمان گردید و سیدر به مدت ۱۹ روز در داخل واژن باقی ماند. معاینه تخمدان ها توسط دستگاه اولتراسونوگرافی (Emperor EMP830 vet) و از روز خارج کردن سیدر آغاز شده و اولین تخمک گذاری به عنوان شروع سیکل اول در نظر گرفته شد. معاینات به طور روزانه برای مدت ۴۵ روز انجام گرفت. سونوگرافی با استفاده از پروب میکروکانوکس (فرکانس ۵MHz) و از راه واژن در وضعیت ایستاده انجام گرفت. علاوه بر ضبط تصاویر یافته های مهم سونوگرافیک، از تمامی معاینات سونوگرافی با استفاده از دستگاه mp4 فیلم برداری گردید و این تصاویر و فیلم ها برای ارزیابی بیشتر بعدی مورد استفاده قرار گرفتند. در مجموع معاینات صورت گرفته تعداد و اندازه فولیکول ها، تشخیص فولیکول های غالب هر موج، زمان و تعداد تخمک گذاری ها، تعداد موج های فولیکولی و زمان آغاز آنها تعیین گردید. فاصله ی بین دو تخمک گذاری به عنوان طول یک سیکل، تعیین فولیکول غالب و حداکثر اندازه آن بر اساس معاینات متوالی و زمان شروع موج از روی تحلیل فولیکول غالب موج قبلی و افزایش فولیکول های کوچک و زمان تخمک گذاری از روی حذف شدن ناگهانی فولیکول های غالب و تعیین دقیق تعداد تخمک گذاری ها از روی تعداد جسم زردهای موجود صورت گرفت. برای مقایسه ی اختلاف بین زمان شروع موج ها و فواصل بین موج ها در بین دوسیکل از برنامه SAS و طرح آماری Paired Ttest (T تست جفت شده) استفاده شد.

نتایج و بحث

جدول ۱- خصوصیات موج های فولیکولی در طی دو سیکل استروس متوالی (باطول طبیعی) در ۴ راس بز مهابادی با طول سیکل طبیعی (میانگین $\pm$ انحراف معیار).

سیکل

سیکل

استروس اول			استروس دوم		
زمان شروع موج های فولیکولی	فاصله بین	بیشترین قطر فولیکول	زمان شروع موج	فاصله بین	بیشترین قطر فولیکول
(روز سیکل)	(متوالی (روز)	غالب (mm)	(روز سیکل)	(متوالی (روز)	غالب (mm)
اول	۱/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۸۲	۱۰/۳±۲/۱۱	۱/۰±۰/۰	۹/۵±۰/۵۳
دوم	۸/۰±۰/۸۲	۵/۵±۰/۶۵	۹/۶±۰/۵۷	۷/۵±۰/۸۷	۸/۸±۰/۲۸
سوم	۱۳/۵±۰/۲۹	۸/۰±۱/۰۸	۱۰/۹±۰/۵۰	۱۳/۵±۰/۹۶	۱۰/۴±۰/۶۷
			*۸/۸±۰/۳۸		*۹/۳±۰/۹۵

*اندازه دومین فولیکول در سیکل هایی که دو فولیکول تخمک گذاری کرده است.

در ۴ راس از بزهای مورد مطالعه (۶۶/۶٪) که دارای سیکل استروس با طول طبیعی بودند به ازای هر سیکل ۳ موج فولیکولی را نشان دادند و در ۲ بز دیگر (۳۳/۳٪) که سیکل استروس بطور غیر طبیعی طولانی بود به ازای هر سیکل استروس ۵ موج مشاهده گردید. در بزهایی که دارای ۳ موج فولیکولی در هر سیکل بودند، طول سیکل استروس اول و دوم به ترتیب $۲۱/۲۵ \pm ۰/۷۵$ و $۲۱/۵ \pm ۰/۴$ روز بود. میانگین زمان شروع هر موج، طول هر موج و حداکثر قطر فولیکول غالب در بزهای با طول سیکل طبیعی در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطوریکه مشاهده می شود زمان شروع هر موج در دو سیکل متوالی نزدیک هم بوده ولی در هر سیکل طول موج های فولیکولی متفاوت می باشد. بین ۲ سیکل استروس از لحاظ زمان وقوع موج های فولیکولی و فواصل بین موج ها اختلاف معنی داری وجود نداشت. در بزهایی با ۵ موج فولیکولی یک سیکل استروس طولانی مدت (۴۲ روز) مشاهده شد که زمان وقوع موج ها در روزهای $۱/۰ \pm ۰/۰$ ، $۶/۵ \pm ۲/۵$ ، $۱۳/۵ \pm ۲/۵$ و $۲۲/۵ \pm ۲/۵$ و فواصل بین موج ها $۵/۵ \pm ۲/۵$ ، $۷/۰ \pm ۰/۰$ ، $۹/۰ \pm ۰/۰$ ، $۸/۵ \pm ۰/۵$ و $۱۱/۰ \pm ۲/۰$ روز بود. در بزهایی با ۳ موج، در هر سیکل برای ۳ بز تخمک گذاری دوتایی و برای ۱ بز تخمک گذاری تکی ثبت شد و به ازای ۶ تخمک گذاری دوتایی در ۳ مورد تخمک گذاری با فاصله یک روز مشاهده شد. در بزهایی که طول سیکل استروس طبیعی بود بیشترین قطر فولیکول غالب در موج های مختلف دو سیکل متوالی بین $۰/۵$ تا $۱۰/۹ \pm ۰/۳۸$ میلی متر ثبت گردید. در بزهایی با ۵ موج قطر بزرگترین فولیکول غالب در موج های ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب برابر با $۹/۳ \pm ۰/۲$ ، $۸/۸۵ \pm ۱/۳۵$ ، $۷/۴۵ \pm ۱/۵۵$ و $۹/۲ \pm ۰/۵$ میلی متر و برای موج ۵ قطر فولیکول های تخمک گذار براساس تعداد تخمک گذاری برابر $۱۰/۸ \pm ۲/۷$ میلی متر و $۱۱/۶$ میلی متر بود. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان دهنده الگوی رشد موجی در بزهای نژاد مهابادی است. مطالعات قبلی انجام گرفته در نژادهای مختلف بز نیز نشان داده است که رشد و تحلیل فولیکول های آنترال بصورت موجی می باشد (۸، ۹ و ۱۱). در تحقیق حاضر در بزهایی که طول سیکل طبیعی داشتند تعداد موج های فولیکولی در هر سیکل ۳ موج و در سیکل های طولانی ۵ موج بود. در سایر مطالعات انجام شده بر روی بز نیز تعداد موج های فولیکولی بین ۲ تا ۴ موج (۳)، ۳ تا ۴ موج (۸ و ۱۱)، ۴ موج (۶)، ۵ تا ۶ موج (۱۲) و در مطالعه ای بر روی بزهای نژاد آنگلونیویان دو رگ ۳ موج (۱۰) و بر روی بزهای نژاد سانن تحت شرایط محیطی گرمسیری ۳ موج گزارش شده است (۲). هرچند در اغلب مطالعات نشان داده شده است که الگوی رشد فولیکول ها می تواند بین سیکل های متوالی بز متغیر باشد (۸). Filho و همکاران در بررسی سونوگرافی رشد فولیکول ها در یک نژاد از بز الگوی رشد فولیکول ها را در طی دو سیکل متوالی مشابه گزارش کردند. در تحقیق حاضر نیز در طی دو سیکل مورد مطالعه در بزهایی که طول سیکل طبیعی بود الگوی رشد فولیکول ها در هر دو سیکل

مشابه بود. تعداد کم دام و کافی نبودن تعداد سیکل مورد مطالعه می تواند دلیل عدم مشاهده الگوهای متفاوت در بین دام ها و دو سیکل متوالی باشد. در تحقیق حاضر میانگین زمان شروع هر موج فولیکولی بین دو سیکل مورد مطالعه مشابه هم بود که مشابه سایر گزارش ها می باشد (۱۰ و ۸). میانگین طول موج های فولیکولی در هر سیکل متفاوت بود (جدول ۱) که این امر می تواند ناشی از تغییرات آندوکرینی در طی سیکل استروس به خصوص اثر غلظت پروژسترون روی توسعه ی فولیکولی باشد. غلظت بالای پروژسترون فاصله ی بین موج فولیکولی را برای موج بعد کاهش می دهد (۱۱ و ۴) که در مطالعه حاضر نیز طولانی تر شدن موج سوم (موج تخمک گذاری) نسبت به دوموج دیگر ممکن است ناشی از کاهش غلظت پروژسترون در نتیجه ی تحلیل جسم زرد باشد. در مطالعه ی حاضر مشاهده شد که از ۶ تخمک گذاری دوتایی در طی دو سیکل، در ۳ مورد هر دو تخمک گذاری در یک روز اتفاق افتاد ولی در ۳ مورد فولیکول دوم یک روز بعد تخمک گذاری انجام داد با این حال بر اساس گزارش Ginther و همکاران در موارد تخمک گذاری دوتایی، هر دو فولیکول در یک روز تخمک گذاری می کنند، دلیل این اختلاف می تواند فاصله زمانی بین دو معاینه سونوگرافی متوالی باشد که در تحقیق حاضر ۲۴ ساعت بود. برای تعیین دقیق فاصله زمانی بین دو تخمک گذاری بایستی تعداد معاینات سونوگرافی را افزایش داد. در دو راس از بزهای مطالعه شده طول سیکل (براساس فاصله بین دو تخمک گذاری) بسیار طولانی بود (۴۲ روز). طول غیر طبیعی سیکل استروس بز در سایر مطالعات نیز گزارش شده است. در یک مطالعه بر روی بزهای نژاد آلیپاین، ۷۷٪ سیکل ها طول طبیعی (۲۵-۱۷ روز)، در ۱۴٪ موارد سیکل کوتاه (۸ روز) و در ۹٪ موارد نیز سیکل بسیار طولانی (۳۹ روز) بود (۵). تعیین درصد سیکل های با طول غیر طبیعی در بزهای مهابادی نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

منابع

1. Adams, G.P. 1999. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility*. 54,17-32.
2. Cruz, J.F., Rondina, D., Freitas, V.J. 2005. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in Anglo-Nubian and Saanen goats raised in tropical climate. *Tropical Animal Health and Production*. 37, 395-402.
3. De Castro, T., Rubianes, E., Menchaca, A., Rivero, A. 1998. Ultrasonic study of follicular dynamics during the estrous cycle in goats. *Theriogenology* 49:399 (abstr.).
4. De Castro, T., Rubianes, E., Menchaca, A., Rivero, A., 1999. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology* 52, 399-411.
5. Fatet A, Pellicer-Rubio MT, Leboeuf B. 2011. Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science*. 124(3-4):211-9.
6. Ginther, O.J., Kot, K. 1994. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology* 42:987-1001.
7. Lassala, A., Hernández-Cerón, J., Rodríguez-Maltos, R., Gutierrez, C.G. 2004. The influence of the corpus luteum on ovarian follicular dynamics during estrous synchronization in goats. *Animal Reproduction Science* 84:369-375.
8. Medan MS, Watanabe G, Sasaki K, Groome NP, Sharawy S, Taya K. 2005. Follicular and hormonal dynamics during the estrous cycle in goats. *Journal of Reproduction and Development* ; 51(4):455-63.

9. Meinecke-Tillman S. and Meinecke B. 2007. Ultrasonography in small ruminant reproduction. In: Comparative Reproductive Biology, Edited by: Schatten H. and Constantinescu G.M., 349-376
10. Melo Filho, A.M. 2002. Goat follicular dynamics evaluation (Capra hircus) through ultrasound. Master thesis, School of Veterinary Medicine of Bahia, Salvador, Brazil, 56pp
11. Menchaca, A., Rubianes, E. 2002. Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats. Theriogenology 57:1411-1419.
12. Padilla, G., Holtz, W. 2000. Follicular dynamics in cycling Boer goats. In: Proceedings of the Seventh International Conference on Goats, Tours, France, p. 479.
13. Rajamahendran R, Ambrose DJ, and Burton B. 1994. Clinical and research applications of real-time ultrasonography in bovine reproduction: a review. Can Vet J 35: 563-572.
14. Rubianes, E., Menchaca, A. 2003. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. Animal Reproduction Science. 78, 271-287.
15. Santos Filho, A.S., Oliveira, M.A.L., Caldas, J.G.L., Lima, P.F., Donato, I.V. 2001. Ovarian follicular dynamics of five eighth stage Gir and Friesian cows. Reproduction Domestic Animal. 36, 207-210.

Follicular dynamics in Mahabadi goats using transvaginal ultrasound

Mehri Abdollahpour¹, Farhad Farrokhi Ardabili², Farid Sabzi¹

1-Master Student of Animal Science Department, university of Urmia, Urmia, Iran.

2-Member of Academic, university of Urmia, Urmia, Iran.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the follicular dynamics, detection of dominant follicles, time of ovulation and number of ovulation during the estrus season via transvaginal ultrasonography in Mahabadi goats. This study was conducted on 6 Mahabadi goats with 4-6 years age mean age and 60-80 Kg weight. Examinations for all goats were done daily by microconvex vaginal probe and in a standing position for 45 days. In 4 goats with normal estrous cycle length (19-22 days) 3 follicular waves were detected in each cycle. First, second and third waves observed in days 1.0 ± 0.0 , 8.0 ± 0.82 , 13.5 ± 0.29 in first cycle and 1.0 ± 0.0 , 7.5 ± 0.87 , 13.5 ± 0.96 in second cycle, respectively. Intervals between the waves for first cycle were 7.0 ± 0.82 , 5.5 ± 0.65 , 8.0 ± 1.08 days and for second cycle were 6.5 ± 0.87 , 6.0 ± 0.71 , 7.75 ± 0.48 days respectively. There was no significant difference on day of wave emergence and wave length between first and second cycles. In the two goats that have long estrous cycle (42 days), 5 follicular waves were observed. In goats with 3 waves, diameters of ovulated follicles were 10.93 ± 0.5 mm for first and 8.77 ± 0.38 mm for second follicle. The results of this study showed that follicular growth in Mahabadi goats has wave pattern. Further studies are necessary to determine the details of follicular dynamics and incidence of irregular cycles in these native goats.

Keywords: Follicular dynamics- Ultrasonography- Transvaginal- Goat

فیستولاسیون شکمبه: اثرات منفی احتمالی بر متابولیتهای خونی؟

سید مسعود ذوالحواریه، علی صادقی نسب^{*}، حمید شکریان

دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا. همدان - ایران.

نویسنده مسئول: علی صادقی نسب، دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا. همدان -

ایران، sadeghinasabali@basu.ac.ir

چکیده

شانزده راس گوسفند نر نژاد مهربانی با میانگین وزنی $49 \pm 5/2$ کیلوگرم، میانگین سنی ۹-۱۸ ماه و از نظر بالینی کاملاً سالم به روش اتفاقی به دو گروه مورد (۸ راس) و شاهد (۸ راس) تقسیم شدند. گروه مورد تحت عمل جراحی فیستولاسیون شکمبه قرار گرفتند و سه هفته پس از انجام جراحی و التیام کامل، هر دو گروه تحت تغذیه با جیره یکسان (۷۵ درصد یونجه و ۲۵ درصد جو) قرار گرفتند. پس از طی یک هفته دوره عادت پذیری، در روزهای ۱ تا ۷ و نیز ۳۰ خون وداجی از هر دو گروه اخذ و میزان سرمی گلوکز، اسید اوریک، ازت اوره خون (BUN)، کلسترول، تری گلیسرید و کراتینین آنها اندازه گیری شد. نتایج یافته های بیوشیمیایی با روش t -test زوجی مورد بررسی آماری قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده اختلاف میزان BUN و اسید اوریک در دو گروه از نظر آماری معنی دار بود. این اختلاف ها حاکی از متابولیسم ناقص ازت در شکمبه و نقصان چرخه متابولیسم اوره می باشد که احتمالاً به دلیل نقص در محیط بی هوازی شکمبه در اثر انجام عمل فیستولاسیون و بررسی های روزانه از آن طریق می باشد. نتایج بدست آمده نشان می دهد که متابولیسم پروتئین در گوسفندان فیستوله با اشکال جدی مواجه خواهد شد و لذا محققان باید در اعتبار نتایج حاصل از اینگونه تحقیقات دقت کافی بکار بندند.

کلمات کلیدی: فیستولاسیون شکمبه - متابولیتهای خونی - گوسفند - جراحی تجربی .

مقدمه

استرس های مختلف باعث تغییر سیمای متابولیکی و وضعیت گوارشی دامها می شود (۳، ۴). فیستولاسیون شکمبه به عنوان یکی از راه های بررسی وضعیت تغذیه ای (۵) اگرچه می تواند بررسی مداوم محتویات شکمبه را به راحتی فراهم کند ولی از آنجا که انجام این روش مستلزم مداخله جراحی و ضایعات موضعی مزمن است احتمالاً بر وضعیت متابولیکی و گوارشی دامهای تحت بررسی موثر خواهد بود. در این مطالعه سعی شده است با بررسی بعضی از متابولیتهای خونی مهم به عنوان یک مطالعه مقدماتی اثر این روش مورد توجه قرار گیرد.

مواد و روش کار

جمعاً ۱۶ راس گوسفند نر نژاد مهربانی با وزن $49 \pm 5/2$ کیلوگرم، میانگین سنی ۹-۱۸ ماه و از نظر بالینی کاملاً سالم با روش اتفاقی به دو گروه مورد (۸ راس) و شاهد (۸ راس) تقسیم شدند. گروه مورد تحت عمل جراحی فیستولاسیون قرار گرفتند و سه هفته پس از انجام جراحی و التیام کامل، هر دو گروه تحت تغذیه با جیره یکسان (۷۵ درصد یونجه و ۲۵ درصد جو) قرار گرفتند. دوره عادت پذیری یک هفته در نظر گرفته شد و پس از آن در روزهای ۱ تا ۷ و نیز ۳۰ خون وداجی راس ساعت ۱۲ از هر دو گروه اخذ و میزان سرمی گلوکز، اسید اوریک، ازت اوره خون (BUN)، کلسترول، تری گلیسرید و کراتینین آنها اندازه گیری شد (جیره غذایی ذکر شده تا پایان آزمایش تغییر داده نشد). نتایج هر تست در روزهای مربوطه بین دو گروه مورد و شاهد به روش t -test زوجی مورد بررسی آماری قرار گرفت.



نتایج و بحث

متوسط BUN و اسید اوریک در مجموع روزهای نمونه برداری به ترتیب در دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی داری را نشان می داد (BUN $18/62 \pm 3/02$ در برابر $11/8 \pm 3/46$ و اسید اوریک $2/83 \pm 1/53$ در برابر $1/53 \pm 0/65$). ضریب همبستگی BUN و اسید اوریک در گروه مورد ($r=0/93$ ، $P<0/05$) محاسبه گردید. کراتینین سرمی در تمام روزهای آزمایش نسبت به گروه شاهد افزایشی البته غیر معنی دار را نشان می داد. دیگر متابولیت ها تغییرات قابل ذکری را نشان نمی دادند. افزایش معنی دار BUN در گروه مورد نسبت به شاهد نشان از متابولیسم ناقص ازت در شکمبه دارد که احتمالاً به دلیل آسیب محیط بی هوازی شکمبه در اثر جراحی و فیستولاسیون است (۸و۶،۷). علاوه بر این افزایش معنی دار اسید اوریک و ضریب همبستگی بالای آن با BUN ($r=0/93$ ، $P<0/05$) در گوسفندان فیستوله نشانی دیگر از نقصان در متابولیسم چرخه اوره در آنها می باشد (۱). در مجموع آنچه از برآورد این دو متابولیت برمی آید بروز اشکال جدی در متابولیسم پروتئین در گوسفندان فیستوله است که می تواند به دلیل مداخله جراحی در محیط بی هوازی شکمبه و تغییر در روند تخمیر باشد. اگرچه کراتینین سرمی گروه مورد در تمام روزهای آزمایش نسبت به گروه شاهد افزایش غیر معنی داری را نشان می داد ولی این افزایش خود می تواند نشانه ای از رابدومیولیز و آسیب عضلات حتی برای دوره ترمیم و دوره های بعدی در دامهای تحت جراحی باشد (۳و۲). با توجه به یافته های فوق اگرچه این روش به عنوان یک روش تحقیق در مورد محیط شکمبه طراحی شده است ولی می تواند مستقیم و غیر مستقیم بر متابولیسم دام نشخوارکننده نیز موثر باشد و نتایج حاصله باید با احتیاط مورد توجه قرار گیرد لذا طراحی مطالعه ای اختصاصی و کاملتر در این جهت اکیداً توصیه می گردد.

جدول ۱: تغییرات برخی فاکتورهای بیوشیمیایی گوسفندان فیستوله (خط بالای هر ردیف) و بدون فیستول (خط پایین هر ردیف) در روزهای مختلف دوره آزمایش

روز	گلوکز Mg/dl	اسید اوریک Mg/dl	BUN Mg/dl	کلسترول Mg/dl	تری گلیسرید Mg/dl	کراتینین Mg/dl
۱	$70 \pm 2/01$	$2/5 \pm 4/2$	$14/4 \pm 4/1$	$75 \pm 3/2$	$29/2 \pm 3$	$1/1 \pm 0/25$
	$67 \pm 3/1$	$2 \pm 1/3$	$16/2 \pm 3/2$	$50 \pm 3/34$	$22/1 \pm 3/2$	$0/86 \pm 0/52$
۲	$63 \pm 2/3$	$2 \pm 2/2$	$13 \pm 0/17$	$63 \pm 4/75$	$35 \pm 3/3$	$1/2 \pm 0/33$
	$65 \pm 2/5$	$1 \pm 0/37$	$14/2 \pm 4/35$	$73 \pm 4/22$	$25 \pm 4/98$	$1/1 \pm 0/35$
۳	$43 \pm 0/89$	$3/6 \pm 1/4$	$25 \pm 3/33$	$72 \pm 5/06$	$32/2 \pm 3/45$	$1/17 \pm 1/01$
	$63 \pm 1/1$	$1/75 \pm 0/35$	$12 \pm 6/73$	$80 \pm 3/14$	$49/2 \pm 6/7$	$1/03 \pm 0/45$
۴	$66 \pm 2/25$	$3 \pm 0/35$	$23/1 \pm 1/1$	$80 \pm 1/7$	$43/01 \pm 4/3$	$1/3 \pm 0/2$
	$74 \pm 4/48$	$1/5 \pm 0/32$	$11/2 \pm 3/03$	$78 \pm 5/02$	$27 \pm 4/3$	$1/2 \pm 0/32$
۵	$60 \pm 3/12$	$2/8 \pm 1/3$	$16/2 \pm 4/3$	$69 \pm 3/27$	$27 \pm 1/32$	$1/2 \pm 0/05$
	$52 \pm 3/1$	$1/27 \pm 0/47$	$12/03 \pm 3/2$	$48 \pm 6/12$	$22 \pm 5/32$	$1/1 \pm 0/47$
۶	$67 \pm 4/5$	$3 \pm 1/35$	$20/5 \pm 3/22$	$74 \pm 3/03$	$29/9 \pm 2/1$	$1/15 \pm 0/083$
	$48 \pm 1/2$	$1/54 \pm 0/37$	$8/8 \pm 2/14$	$50 \pm 5/1$	$25/3 \pm 6/22$	$0/98 \pm 0/25$



1 ± 0.3	$27/1 \pm 3/2$	$72 \pm 4/2$	$15/4 \pm 4/25$	$2/5 \pm 1/0.3$	$55 \pm 2/1$	۷
$1/3 \pm 0.37$	$27/1 \pm 4/35$	$49 \pm 6/0.2$	$11/3 \pm 3/0.2$	$2 \pm 1/48$	$43 \pm 0/3$	
1 ± 0.22	$32 \pm 4/1$	$75 \pm 3/0.3$	$21/9 \pm 3/73$	$3/2 \pm 0/92$	$67 \pm 4/32$	۳۰
0.95 ± 0.35	$29 \pm 5/12$	$65 \pm 3/12$	$9/5 \pm 2/0.3$	$1/2 \pm 0/52$	$50 \pm 3/3$	

کلیه نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار است. حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد.
($P < 0.05$)

منابع

۱. مجابی، ع، عباسعلی پورکبیره، م، شریعتی، ت، بکایی، س و صافی، ش. ۱۳۷۹. سنجش میزان طبیعی پارامترهای مهم بیوشیمیایی سرم خون در گوسفندان بظاهر سالم نژاد قزل. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۵۵، شماره ۲. صفحه ۴۵.
2. Cooper C. L. 2005. Handbook of stress medicine and health. 2nd edition. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. pp: 111-113.
3. Dwyer C.M. 2008. The Welfare of Sheep. springer. pp: 8-14
4. Dooly, P.C. and V. J. Williams. 2000. Changes in the jugular haematocrit of sheep during feeding. Aust j Bio Sci ; 28(1): 43-53
5. Hecker, J. F. 1974. Surgery of gastro-intestinal tract. In Experimental surgery of small ruminants. pp: 42-49.
6. Remond, D., J. P. Chaise, E. Delval and C. Poncet 2002. Net transfer of urea and ammonia across the ruminal wall of sheep. J Anim Sci. 23(1) pp: 48-54.
7. Radostits, O. M., C. C. Gay, K.W. Hinchcliff and P.D. Constable 2007. Veterinary Medicine. 10th edition. Saunders Publication. pp: 1618-19
8. Preston, T.R. 1996. Tropical Animal feeding amanual for research workers in animal production and health. Pp: 235-242.

Rumen fistulation: Potential negative effect on blood metabolites?

Zolhavarieh, S.M.; Sadeghi-nasab, A.*; Shokrian, H

Department of Clinical Sciences, Faculty of Para Veterinary Sciences, Bu-Ali Sina University. Hamedan, I.R. Iran.

*Corresponding author's email: sadeghinasabali@basu.ac.ir

Abstract

Sixteen clinically normal male, 9-18 months old Mehrabani breed sheep, weighing 49 ± 5.2 kg simple randomly separated to control ($n=8$) and case ($n=8$) groups. Rumen fistulation was achieved on later group experimentally and passed 3 weeks post operation to complete healing. Then, two groups passed one week feed adaptation period and subsequently received a similar ration for one month (75% alfalfa and 25% barely). All animals were evaluated clinically and their blood samples obtained from the first to seventh, and 30 days. Monitored biochemical variables were glucose, uric acid, blood urea nitrogen (BUN), cholesterol, triglyceride and creatinine. Biochemical data were analyzed by pair t-test. According to the results, BUN and Uric acid of two groups were significantly different. These differences showed a failure of nitrogen metabolism in the rumen and impaired urea cycle that it's



caused by failure of anaerobic environment of rumen following of rumen fistulation and daily evaluation of rumen contents. Our results showed that protein metabolism in fistulated sheep is faced to a serious problem and researchers must take care of reliability of their results.

Key words: Rumen fistulation - Blood metabolites – Sheep – Experimental surgery.

مقایسه محتوی عناصر روی و مس سرم و سم گاوهای سالم و دچار لنگش

علی صادقی نسب^{۱*}، سید مسعود ذوالحوریه^۱، حسن علی عربی^۲، بهرام دادمهر^۳، علی اصغر بهاری^۴، پویا زمانی^۵، زهرا بختیاری^۶، زهرا برادران سید^۶، حمید شریفی^۶، فاطمه ابوالقاضی^۶

۱- گروه دامپزشکی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا-همدان. ۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا-همدان. ۳- مرکز آموزش علمی کاربردی عمارلو، جیرنده. ۴- دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران. ۵- بخش بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه کرمان، کرمان. ۶- دانشکده شیمی، دانشگاه بوعلی سینا-همدان.

نویسنده مسئول: علی صادقی نسب، دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا. همدان- ایران

sadeghinasabali@basu.ac.ir

چکیده

جهت ارزیابی میزان روی و مس، مهمترین عناصر دخیل در لنگش گاوهای شیری نمونه های خون و سم ۶۰ راس گاو شیری با درجه های مختلف لنگش (سالم، گاوهای با لنگش خفیف تا متوسط و گاوهای با لنگش شدید) اخذ شد. نمونه های سرم، سم و جیره این گاوها از نظر این عناصر مورد بررسی قرار گرفتند. میزان روی و مس جیره به ترتیب ۷۵ و ۲۲ ppm بدست آمد. مقدار مس سم گاوهای شديدا لنگ به صورت معنی داری از دیگر گروه ها کمتر بود ($P < 0.0081$). ضریب همبستگی اسپیرمن ارتباط معنی دار منفی بین مس سم و درجه لنگش ($r = -0.355$ ، $P = 0.015$) همچنین ارتباط مثبت بین روی و مس سم ($r = 0.7029$ ، $P = 0.0024$) را نشان می داد. به رغم عدم وجود ارتباط معنی دار بین روی و مس سرمی و درجات لنگش، اثر متقابل این دو عنصر بر یکدیگر در سطح جیره و نیز بدن مشخص می باشد. از طرف دیگر، همزمانی منفی لنگش و محتوی مینرالی مس و روی سم و همبستگی این عناصر در استحکام آن کاملاً محرز می باشد ولی به طور قطع نمی توان گفت کدام یک علت و کدام معلول است. در نتیجه گیری کلی اینکه لنگش را باید به عنوان "سندروم" در نظر گرفت و قبل از هر اقدامی جهت تجویز مکمل های مینرالی و نیز پیشگیری از بروز مشکلات بیشتر، باید به این اثرات متقابل توجه کافی مبذول داشت.

کلمات کلیدی: درجه لنگش-روی-مس-گاو.

مقدمه

لنگش یکی از سه بیماری مهم گاوداری های صنعتی با سبب شناسی های بسیار گوناگون است که خسارات اقتصادی قابل توجهی به آنها وارد می کند. عناصر کمیاب روی و مس از جمله عوامل تغذیه ای است که توجه بسیاری بدانها معطوف شده است (۱۱ و ۱۲). روی با عملکردهای کاتالیزوری، ساختاری و تنظیمی که در بدن ایفا می کند نقش مهمی در افزایش استحکام سم، تحریک روند ترمیم، بازسازی بافت های پوششی و حفظ تمامیت سلولی بافت ها دارد. نقش زیست شناختی مس نیز با شرکت در ساخت پروتئین های مهمی همچون سروپلاسمین، سوپراکسید دیسموتاز و تیول اکسیداز به اجرا گذاشته می شود که در جلوگیری از پراکسداسیون غشاهای سلولی، ایجاد باندهای دی سولفیدی بین ریشه های سیستمین بافت های کراتینه و در نتیجه استحکام هرچه بیشتر این بافت ها موثرند (۱۱ و ۱۲) و لذا از این جهت است که این دو عنصر توجه زیادی را به خود جلب کرده اند. هدف از



این بررسی ارزیابی وضعیت روی و مس سرمی و سم و ارتباط احتمالی آنها با یکدیگر و همچنین با درجات مختلف لنگش می باشد.

مواد و روش کار

بر اساس روش اصلاح شده Amory و همکاران (۲۰۰۶) گاوهای چند شکم زائیده ای که در زمان ۱۰۰-۴۰ روز پس از زایمان و با متوسط تولید شیر 40 ± 8 کیلوگرم در روز بودند به سه گروه گاوهای سالم، گاوهای با لنگش خفیف تا متوسط و گاوهای با لنگش شدید تقسیم شدند. این بررسی در فروردین ماه و در یکی از گاوداری های منطقه قزوین انجام شد. از بین هر کدام از سه گروه یاد شده ۲۰ راس گاو به روش تصادفی ساده (جمعا تعداد ۶۰ راس) انتخاب گردید. ۱۰ میلی لیتر خون وداجی از هر کدام از گاوها اخذ گردید. زمان نمونه برداری بعد از خوراک ریزی صبح و بین ساعت ۹ تا ۱۱ بوده است. همزمان نمونه های تراشه هایی از کف سم هر گاو نیز برداشت شد. نمونه های خون در دور ۳۵۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و سرم آنها جدا و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا هنگام آزمایش نگهداری شد. تراشه های سم ها نیز به ترتیب با آب و برس، الکل اتیلیک ۹۶ درجه، آب مقطر دیونیزه شسته و خشک و سپس آسیاب گردید. یک گرم (ماده خشک) TMR گاوهای مورد بررسی، ۰/۵ میلی لیتر سرم و ۱۰۰ میلی گرم نمونه پودر سم از هر سه گروه در دو مرحله هشت ساعته با ۵ میلی لیتر مخلوط اسید پرکلریک: اسید نیتریک (۳:۷) در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی گراد هضم (۷۵) و به روش جذب اتمیک (Varian spect AA 220) میزان عناصر روی و مس آنها اندازه گیری شد

ضریب همبستگی رتبه ای درجه لنگش با پارامترهای سرم و سم و همچنین ضریب همبستگی ساده پارامترهای سرمی و سم با کمک رویه CORR در نرم افزار SAS (SAS، ۲۰۰۴) محاسبه گردید. مقایسه میانگین های مقادیر روی و مس در طرحی کاملا تصادفی با روش GLM و آزمون دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس ماده خشک میزان روی جیره ۷۵ppm و مس آن ۲۲ ppm بدست آمد. میزان روی و مس موجود در سرم و سم دامهای مورد بررسی در جدول ۱ آمده است. مقادیر مس موجود در سم گاوهای با لنگش شدید با دیگر گروه ها تفاوت معنی داری را نشان می داد (جدول ۱ و ۲).

جدول ۱. مقادیر روی و مس موجود در سرم و سم گاوهای سالم، با لنگش خفیف تا متوسط و لنگش شدید

سم		سرم		درجات لنگش
مس (µg/g)	روی (µg/g)	مس (µg/dl)	روی (µg/dl)	
$17 \pm 15^*$	71 ± 13	69 ± 24	86 ± 55	سالم
$12 \pm 6^*$	78 ± 19	68 ± 13	93 ± 48	لنگش خفیف

تا متوسط				
لنگش شدید	۹۵±۵۲	۶۳±۳۴	۷۰±۱۶	۵/۰۰±۳/۹**
SEM [#]	۱۱/۶۶	۵/۹۷	۳/۸۵	۲/۴۵
P value	۰/۸۵۶۶	۰/۶۹۰۹	۰/۲۸۶۹	۰/۰۰۸۱

* و **: نشانه های متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد ($P < 0.05$).

Standard error of means: SEM[#]

جدول ۲. ضرایب همبستگی برآورد شده بین روی و مس سرمی و سم و نسبت آنها در درجات مختلف لنگش (مقادیر

P داخل پرانتز)

پارامتر	درجه لنگش	روی سرمی	مس سرمی	روی سم
روی سرمی	-۰/۰۱۵- (۰/۹۰۴)	۱		
مس سرمی	-۰/۰۹۶ (۰/۴۵۸)	-۰/۰۲۸۱ (۰/۰۳۲۴)	۱	
روی سم	-۰/۰۳۷۸ (۰/۷۷۹۶)	-۰/۱۱۴۵ (۰/۳۹۶۳)	۰/۱۳۱ (۰/۳۴۳۲)	۱
مس سم	-۰/۳۵۵ (۰/۰۱۵)	-۰/۱۵۰۷ (۰/۲۶۷)	۰/۴۷۳۲ (۰/۰۰۰۲)	۰/۷۰۲۹ (۰/۰۰۲۴)

هر چند در تحقیقاتی عنصر روی و مس به عنوان دو عامل مهم در پیشگیری از لنگش گاو عنوان می شود ولی در تحقیق حاضر تفاوت معنی داری در مقادیر روی و مس سرمی گروه های مختلف مشاهده نشد. این نتیجه با یافته های محققین دیگر نظیر Kessler و همکاران (۲۰۰۳)، Drendel و همکاران (۲۰۰۵)، Griffiths و همکاران (۲۰۰۷)، Seyrek و همکاران (۲۰۰۸)، Cope و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد. به نظر می رسد مقدار دریافتی روی و مس گاوهای تحت مطالعه که به ترتیب ppm ۷۵ و ۲۲ در روز بوده است مانع بروز کمبود این عناصر و متعاقب آن جلوگیری از بروز مشکلات سم شده است. لذا مشکلات لنگش موجود را باید در عوامل دیگر ایجاد لنگش جستجو کرد.

حداکثر نسبت مجاز روی به مس جیره ۳:۱ برآورد شده است (۶) که این نسبت در جیره گاوهای مورد بررسی ۳/۴ بوده است. اگرچه Smith و همکاران (۲۰۱۰) عنوان می کنند که افزایش مصرف مکمل های روی باعث کاهش سودمندی مس در بدن می شود (۱۱) و نقش آنتاگونیستی این دو عنصر در جیره و نیز در بدن (۶، ۱۰ و ۱۱) ثابت شده است، ولی به نظر نمی رسد افزونی روی سرمی به صورت معنی داری باعث اثرات منفی بر مس سرمی شده باشد ($P=۰/۰۳۲۴$ ، $r=-۰/۰۲۸۱$).

محتوی مس سمی گاوهای شدیداً لنگ با دیگر گروه‌ها تفاوت معنی داری را نشان می‌داد (جدول ۱، $P < 0.0081$) که با افزایش درجه لنگش از این محتوی کاسته شده است ($r = -0.355$ ، $P = 0.015$). به نظر می‌رسد احتمالاً این یافته پیش از آنکه علت بروز لنگش باشد خود معلول لنگش است و شاید شرایط دیگر ایجاد لنگش باعث سستی بافت سم و کاهش محتوی مس سم شده باشد و/یا حتی لنگش شدید دسترسی و مصرف غذا را کاهش داده و نهایتاً باعث بروز این نتایج شده باشد. این نکته در کاهش محتوی روی سم گاوهای مورد مطالعه نسبت به مطالعات دیگر (۱۲) نیز خودنمایی می‌کند و این احتمال با ضریب همبستگی معنی دار مثبت بین مس و روی سمی که به دست آمده بیشتر تایید می‌گردد ($r = 0.7029$ ، $P = 0.0024$) که نویسندگان تحقیق بیشتر در این زمینه را توصیه می‌نمایند.

بر اساس گزارشی روی موجود در سم گاوان دچار لنگش کمتر از گاوان سالم بوده است (۱۲) اما این نکته با تحقیقی دیگر که عنوان می‌کند سطح سرمی روی و میزان آن در مو و بافت‌های شاخی همیشه با سطح تغذیه‌ای آن وابستگی ندارد مگر در مواردی که از مقادیر بالای ۳۰۰ تا ۶۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا استفاده شده باشد (۱۱)، همخوانی ندارد. لذا به نظر می‌رسد می‌توان عدم تفاوت معنی دار مقادیر روی و مس سم در دیگر گروه‌های گاوهای تحت مطالعه را با این مطلب نیز در ارتباط دانست و به علاوه این خود تأکیدی مجدد بر بررسی همه جانبه لنگش در هنگام برخورد با آن در گله می‌باشد. اگر چه در این تحقیق ارتباطی بین مقادیر سرمی مینرالهای یاد شده و لنگش مشاهده نشد، کاهش شدیداً معنی دار مس در سم‌های لنگ نسبت به سالم ($5 \mu\text{g/g}$ در مقابل $17 \mu\text{g/g}$) به رغم عدم تفاوت معنی دار آنها در سرم ($69 \mu\text{g/dl}$ در مقابل $62 \mu\text{g/dl}$)، نویسندگان اهمیت آنها در حفظ سلامت سم را برابر تحقیقات دیگران قابل قبول می‌دانند و با توجه به یکسان انتخاب کردن تمامی شرایط حاکم بر گروه‌ها، نهایتاً توصیه می‌شود در مواجهه با مشکل لنگش باید به "سندرم" بودن آن توجه ویژه‌ای مبذول داشت و حتی در صورت ظن به مشکلات تغذیه‌ای، قبل از هر گونه توصیه‌ای، جیره (از نظر مینرال‌ها و مواد کیلاته‌کننده ...) و وضعیت متابولیکی گاوها بررسی و بر اساس آن اقدام شود. چه این اقدام علاوه بر شناسایی صحیح مشکل از بروز مشکلات بعدی و هزینه‌های غیر ضروری نیز جلوگیری خواهد کرد.

منابع

1. Amory J. R., P. Kloosterman, Z. E. Barker, J. L. Wright, R. W. Blowey and L. E. Green. 2006. Risk Factors for Reduced Locomotion in Dairy Cattle on Nineteen Farms in the Netherlands. *J Dairy Sci.*, 89: 1509-1515.
2. Burtis, C. A., E. R. Ashwood. 1999. Clinical chemistry. W.B. Saunders publishing, London, Pp: 1044-1045.
3. Drendel, T. R., P. C. Hoffman, N. R. St. Pierre, D. Acan, M. T. Socha, D. J. Tomlinson and T. L. Ward. 2005. Effects of Feeding Zn, Manganese, and Copper Amino Acid Complexes and Cobalt Glucoheptonate to Dairy Replacement Heifers on Claw Disorders. *The Professional Animal Scientist*. 21: 217-224.
4. Griffiths, L.M. H. Loeffler, M. T. Socha, D. J. Tomlinson and A. B. Johnson. 2007. Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. *Animal Feed Science and Technology*. 137: 69-83.
5. McKenzie J. M. 1979. Content of zinc in serum, urine, hair, and toenails of New Zealand adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 32, March, 570-579.
6. National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC, Pp: 143-148.

7. Nouri M., H. Chalian, A. Bahman, H. Mollahajian, M. Ahmadi-Faghih, H. Ahmadi-Faghih and A. Ahmadi-Faghih. 2008. Nail Molybdenum and Zinc Contents in Populations with Low and Moderate Incidence of Esophageal Cancer. Arch Iranian Med. 11, (4): 392 – 396.
8. SAS Institute, 2004. SAS and STAT User's Guide, Release 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC.
9. Seyrek, K., Yalak, E., Aksit, H., 2008. Serum sialic acid, malondialdehyde, retinol, zinc and copper concentration in dairy cows with lameness. Bull Vet Inst Pulawy. 52: 281-284.
10. Smith S.L., Grace N.D., West D.M., Balemi S.C. 2010. The impact of high zinc intake on the copper status of dairy cows in New Zealand. New Zealand Veterinary Journal. 58, (3): 142-145.
11. Suttle, N.F., 2010. The mineral nutrition of livestock. CABI Publication. 4th edition. Wallingford. UK, pp. 250-306, 426-459.
12. Tomlinson D.J., C. H. Mulling and T. M. Fakler. 2004. Invited Review: Formation of Keratins in the Bovine Claw: Roles of Hormones, Minerals, and Vitamins in Functional Claw Integrity. J. Dairy Sci. 87: 797–809.

Comparison of serum and hoof trace minerals variation of healthy and lame dairy cattle

Ali Sadeghi-nasab^{1*}; Seyed Masoud Zolhavarieh¹; Hassan Aliarabi²; Bahram Dadmehr³; Aliasghar Bahari¹; Pouya Zamani²; Zahra Bakhtiari¹; Zahra Baradaran-Seyed Z.⁴; Hamid Sharifi⁵; Fatemeh Abolghazi⁶

1-Department of Clinical Sciences, Faculty of Para Veterinary Sciences, Bu-Ali Sina University. Hamedan, I.R. Iran. 2-Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. Iran. 3-Applied Science Education Center of Amarlou. Jirandeh, Iran. 4-DVM, DVSc student, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. Tehran, I.R. Iran. 5-Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine. Shahid Bahonar University of Kerman. Kerman, I.R. Iran. 6-Faculty of Chemistry. Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. Iran.

*Corresponding author's email: sadeghinasabali@basu.ac.ir

Abstract

To assess the most important trace elements contributing in dairy cattle lameness, zinc and copper, blood and hoof samples of 60 dairy cows with different locomotion scores (LSs) were collected. After acid digestion, serum, hoof and ration concentration of Zn and Cu were determined. Zinc and Cu concentration of their ration were 75, 22 ppm, respectively. Hoof concentration of Cu of severe lame cows were significantly lower than others ($P < 0.0081$). Spearman correlation coefficient demonstrated a negative relationship between LSs and hoof Cu ($r = -0.355$, $P = 0.015$) and positive relationship between hoof Zn and Cu ($r = 0.7029$, $P = 0.0024$). Despite of non significant relationship between serum Zn and Cu with LSs, their antagonistic effect on ration and in the body is clear. On the other hand, concurrent negative effect of lameness and mineral content of hoof was completely confirmed. Thus for prevention of further problems, it is important to notice to mineral antagonistic effects, prior of any mineral supplementations.

Keywords: Locomotion score- Zinc-Copper-Cattle.

بررسی ارتباط میزان ویتامین A، E و عناصر کمیاب با کاهش رشد تلیسه های جایگزین

علی صادقی نسب^{۱*}، بهرام دادمهر^۲، سید مسعود ذوالحوریه^۱، علی اصغر بهاری^۱

۱- گروه دامپزشکی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا-همدان. ۲- مرکز آموزش علمی کاربردی عمارلو،

جیرنده.

نویسنده مسئول: علی صادقی نسب، دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا. همدان- ایران

sadeghinasabali@basu.ac.ir

چکیده

تغذیه صحیح گوساله های جایگزین یکی از مهمترین اصول پرورش گاوهای شیری است. در این بررسی بالینی از گروه های سه گانه تلیسه های ۱۲ تا ۱۳ ماهه، تلیسه های تلقیح شده تا ۴۵ روز آبستنی و تلیسه های آبستن ۴ تا ۵ ماهه که از نظر تغذیه ای دچار مشکلاتی بودند و نشانه های کاهش رشد، ضعف عمومی، مشکلات پوشش خارجی و تولید مثلی متعددی را نشان می دادند، خونگیری و به روش بررسی نمونه های ادغامی (Pooled samples) از نظر ویتامین های A، E و عناصر کمیاب سلنیوم، مس، روی و منگنز مورد ارزیابی قرار گرفتند. ویتامین E و منگنز به صورت آشکار و سلنیوم در حد مختصری کمبود را نشان می داد که با نشانه های بالینی تطابق داشت. به نظر می رسد عدم توجه به تغذیه صحیح رده های غیر شیروار گله و مصرف غذای کپک زده باعث کمبود اولیه و ثانویه این عناصر و نهایتاً بروز نشانه های کاهش رشد و عدم کفایت تولید مثلی این رده از دامهای گله شده است.

واژه گان کلیدی: عناصر کمیاب- ویتامین E- گاو- کاهش رشد- ناباروری

مقدمه

تغذیه صحیح و رشد گوساله ها از مهمترین نکات در پرورش گاو شیری می باشد که در صورت عدم تامین آن مراحل بعدی تولید نیز متاثر خواهد شد (۳). عوامل و شرایط مختلف تغذیه ای به عنوان مهمترین عامل موثر بر این روند همیشه مورد توجه پرورش دهندگان گوساله و تلیسه های جایگزین بوده است. در این میان ویتامین های A، E و عناصر کمیاب روی، مس، سلنیوم و منگنز با دخالت در زنجیره های بیوشیمیایی متابولیکی، ایمنی، تولید مثلی و غیره به صورت مستقیم یا غیر مستقیم بر مراحل گوناگون رشد تلیسه های جایگزین و نتایج متعاقب اولین زایمان آنها بسیار موثر خواهد بود (۸، ۴). استفاده از نمونه های ادغام شده (Pooled samples) به عنوان یک روش ارزان که تفسیر نتایج آن راحت تر می باشد و از طرفی با توجه به سرعت پاسخگویی آزمایشگاه، در بالین به خوبی قابل استفاده است. لذا این روش بررسی به خوبی می تواند در موارد خاص مورد توجه دامپزشکان، دامداران و مدیران تغذیه گله ها قرار گیرد (۱۱، ۱۰). در این مطالعه بالینی بر اساس روش نمونه برداری ادغامی سعی شده است که وضعیت تغذیه ای موارد درگیر ارزیابی و از نظر بالینی پیگیری شود.

مواد و روش کار

موهای تلیسه های نژاد هلشتاین سیاه سفید موجود در یک گاوداری صنعتی در هنگام اولین زایمان قهوه ای و ژولیده به نظر می رسید و در اولین اولتراسونوگرافی پس از زایمان، تخمدانهای آنها غیر فعال بود. متوسط تولید شیر تلیسه های مذکور نسبت به تلیسه های مشابه در سال قبل 2 ± 0.15 کیلوگرم در روز کاهش را نشان می داد و حداکثر به حدود ۷۲٪ میزان تولید

گاوه‌های چند شکم زاییده گله می‌رسید. در تاریخچه گاوه‌های شکم اول و حتی رده‌های پرورشی پایین‌تر (تا رده گوساله‌های ۱۳-۱۲ ماهه آماده تلقیح)، بروز مشکلات مدیریتی از قبیل خرابی فیدر و عدم توجه کافی به اجرای صحیح جیره، تغذیه و خوراک دهی و به خصوص تغذیه با سیلو و یونجه کپک زده گزارش می‌شد. از سه گروه تلیسه‌های ۱۲ تا ۱۳ ماهه، تلیسه‌های تلقیح شده تا روز ۴۵ آبستنی و تلیسه‌های آبستن ۴ تا ۵ ماهه (هر گروه ۶ راس) ده میلی لیتر خون وداجی اخذ و در لوله‌های شیشه‌ای به آزمایشگاه منتقل و پس از سانتریفوژ در دور ۳۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سرم آنها جدا شد. یک میلی لیتر سرم از هر کدام از ۶ نمونه سه گروه یاد شده برداشت و پس از مخلوط کردن، نمونه‌ای ادغام شده تهیه گردید. نیم میلی لیتر سرم ادغامی از هر سه گروه در دو مرحله هشت ساعته با ۵ میلی لیتر مخلوط اسید پرکلریک: اسید نیتریک (۳:۷) در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی گراد هضم و به روش جذب اتمیک (Varian spect AA 220) میزان عناصر روی، مس، سلنیوم و منگنز آنها اندازه‌گیری شد. ویتامین A و E (آلفا توکوفرول) نمونه‌های سرمی تازه به ترتیب به روش (Suzuki 1990) و (Stevenson et al. 1989) اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

در شرایط تولید اقتصادی بیشترین میزان تولید تلیسه‌های شکم اول باید به بیش از ۷۵٪ بیشترین مقدار تولید گاوه‌های شکم چندم گله برسد (۳)، با توجه به نشانه‌های بالینی فوق‌الذکر و از طرف دیگر، با توجه به استمرار مشکلات مدیریتی یاد شده در رده‌های پایین‌تر و حضور نشانه‌های بالینی مانند ضعف عمومی، کاهش رشد، پوشش خارجی ژولیده و با رنگ قهوه‌ای نویسندگان را بر آن داشت که بیشترین توجه خود را به رده‌های تلیسه‌های ۱۲ تا ۱۳ ماهه، تلیسه‌های تلقیح شده تا روز ۴۵ آبستنی و تلیسه‌های آبستن ۴ تا ۵ ماهه معطوف نمایند. لذا نمونه برداری به این گروه‌ها به عنوان رده‌هایی که به احتمال بیشتر، مشکلات از آنها پایه‌ریزی شده است معطوف گردید. نتایج کلی نمونه‌های ادغام شده در جدول ۱ آمده است. آنچه که از مقایسه جدول ۱ با دامنه طبیعی این متغیرها به دست می‌آید کاهش آشکار ویتامین E سرمی در نمونه‌های ادغام شده هر سه گروه می‌باشد. محدوده طبیعی ویتامین E در گاو توسط محققین متفاوت بررسی شده است. Smith و همکاران (۱۹۸۸) مقادیر کمتر از ۴ ppm و Weiss (۱۹۹۸) ۳-۳/۵ ppm را کمبود تلقی می‌کنند. در مطالعه‌ای میزان ویتامین E در گاوه‌های مناطق مختلف نروژ، ۶/۹ ± ۰/۳ ppm تعیین شده است (۵). Hidroglou و همکارش (۱۹۸۲) این میزان را ۵/۱ ± ۰/۱ ppm در گاوه‌های سالم و ۳/۰۸ ± ۰/۲ ppm در گاوه‌های دچار کبد چرب اعلام کرده‌اند. عدم توافق نتایج بدست آمده توسط محققان فوق‌ناشی از تفاوت در بررسی اپیدمیولوژیک در هر کدام از مطالعات فوق‌الذکر می‌باشد (۵). اگرچه مقادیر سلنیوم سرمی گاو‌های بالغ ۰/۱ - ۰/۷۰ µg/ml طبیعی تلقی می‌شود (۴) ولی Fan و همکارش (۱۹۹۱) مقادیر کمتر از ۰/۱۲ µg/ml سلنیوم سرمی را به عنوان کمبود مزمن تلقی نموده‌اند. ویتامین E و سلنیوم جزء آنتی‌اکسیدان‌های مهم موجود در غذا و نیز در بدن می‌باشند (۴، ۵ و ۸). در بررسی بالینی حاضر به نظر می‌رسد از یک طرف کپک زدگی غذا باعث کاهش محتوی سلنیوم و ویتامین E غذای مصرفی و از طرف دیگر مایکوتوکسین‌های جذب شده به صورت مضاعف بر میزان سرمی آنها اثر منفی گذاشته‌اند. هنگامی که این یافته‌ها با نیاز نسبتاً بالای گروه‌های در حال رشد در کنار یکدیگر گذاشته می‌شود اثرات بالینی و تولید مثلی یاد شده همچون تخمدان‌ها غیر فعال پس از زایمان توجیه بیشتری پیدا می‌کند.

محدوده طبیعی منگنز سرمی ۱۸-۱۹ µg/dl می‌باشد (۴) که این عنصر نیز در هر سه گروه مورد بررسی کاهش نشان می‌دهد (جدول ۱). عدم بروز فحلی، فحلی آرام، ناباروری، کاهش اندازه و عملکرد طبیعی تخمدان‌ها، سقط جنین یا تولد گوساله

هایی با ناهنجاری های مادرزادی استخوانی در گاوها، و کاهش رشد، کاهش شفافیت و ژولیدگی پوشش خارجی به همراه کم رنگ شدن آن در گوساله ها از نشانه های بالینی سندرم کمبود منگنز است (۴). افزایش نسبت کلسیم:فسفر جیره از ۲:۱ باعث اثرات منفی بر جذب منگنز جیره می شود و به خصوص اگر مقدار منگنز جیره در حدود مرزی باشد باعث کمبود آن می گردد (۴). اگر چه نسبت کلسیم:فسفر جیره گروه های مورد بررسی به ترتیب ۳/۴۶، ۲/۸۵ و ۲/۸۵ بوده است ولی متذکر می گردد که ظاهرا منگنز جیره مصرفی هر سه گروه حدود ۷۰ ppm بر اساس ماده خشک تنظیم شده بود که با توجه به توصیه NRC (۲۰۰۱) مصرف ۴۰ ppm بر اساس ماده خشک کفایت نیاز گاو را می کند (۴). بنابراین اگرچه در بالین باید به این کاهش سرمی اهمیت داد و در صدد رفع آن برآمد ولی علت این کاهش سرمی را باید در تداخل های دیگر یا اشکالات مدیریتی جستجو کرد. متغیرهای دیگر در محدوده طبیعی قرار داشتند. بنابراین به نظر می رسد در میان فراسنجه های بررسی شده در این مطالعه، ویتامین E، منگنز و تا حدودی سلنیوم در مشاهدات بالینی یادشده تاثیر گذار بوده اند.

جدول ۱. میزان ویتامین A، E و عناصر کمیاب سرم ادغام شده (Pooled) سه گروه مختلف تلیسه

ویتامین A	ویتامین E	سلنیوم	مس	روی	منگنز
µg/dl	ppm	µg/ml	µg/dl	µg/dl	µg/dl
۳۳/۸	۳/۱۸	۰/۰۹۸	۱۰۶	۱۲۰	۱۵/۲
۳۲/۹	۲/۹۶	۰/۱۲	۱۰۰	۱۱۴	۱۶/۸
۴۰/۲	۳/۵۶	۰/۰۸۶	۱۰۴	۱۲۴	۱۴/۷

منابع

1. Fan, A.M., Chang, L.W. 1991. Human Exposure and Biological Monitoring of Methylmercury and Selenium. In: Biological Monitoring of Exposure to Chemicals: Metals. Eds., Dillon, H.K. and Ho, M.H. John Wiley & Sons, New York. USA. Pp: 233-241.
2. Hidroglou, H., K.E. Hartin. 1982. Vitamins A, E and Selenium Blood Levels in the Fat Cow Syndrome. Can. vet. J. 23: 255-258.
3. Radostits, O.M. 2001. Herd Health, Food animal production medicine. Saunders Publication: London. Third edition. Pp: 118, 365-375.
4. Radostits, O.M., C. C. Gay, K.W. Hinchcliff, P.D. Constable. 2007. Veterinary Medicine, Saunders Publication: London. Pp: 1732-1733, 1775, 1746-1747.
5. Sivertsen, T., G. Øvernes, O. Østera, U. Nymo, T. Lunder. 2005. Plasma Vitamin E and Blood Selenium Concentrations in Norwegian Dairy Cows: Regional Differences and Relations to Feeding and Health. Acta vet. scand, 46: 177-191.
6. Smith K.L., J.S. Hogan, H.R. Conrad. 1988. Selenium in dairy cattle: its role in disease resistance. Vet. Med. 83: 72-78.
7. Stevenson LM, Jones DG. 1989. Relationships between vitamin E status and erythrocyte stability in sheep. J Comp Pathol. 1989 May; 100(4): 359-368.
8. Suttle, N.F., The mineral nutrition of livestock, 2010. CABI Publication: Wallingford. UK. Pp: 256, 362-368, 378, 426-428.
9. Suzuki J., N. Katoh. 1990. A simple and cheap method for measuring serum vitamin A in cattle using only a spectrophotometer. Jpn. J. Vet. Sci. 52: 1281-1283.

10. Van Saun, R.J. Validation of a pooled sample technique for herd metabolic profile screening. Proceedings XXIV World Buiatrics Congress, Nice, France, October 15-19, 2006a (Abstract #50/OS07-3 [CD-ROM Proceedings]).
11. Van Saun, R.J. Interpretation of pooled metabolic profiles for evaluating transition cow health status. Proceedings XXIV World Buiatrics Congress, Nice, France, October 15-19, 2006b (Abstract #117/PS3-015 [CD-ROM Proceedings]).
12. W.P.Weiss, 1998. Requirements of fat-soluble vitamins for dairy cows: a review. J. Dairy Sci. 81: 2493- 2501.

Relationship between vitamin A, E, trace minerals and poor growth replaced heifers

Ali Sadeghi-nasab¹, Bahram Dadmehr², Seyed Masoud Zolhavarieh¹, Aliasghar Bahari¹

1-Department of Clinical Sciences, Faculty of Para Veterinary Sciences, Bu-Ali Sina University. Hamedan, I.R. Iran. 2-Applied Science Education Center of Amarlou. Jirandeh, Iran.

*Corresponding author's email: sadeghinasabali@basu.ac.ir

Abstract

The proper feeding of replaced calves is one of the most important principles of cattle breeding. In this clinical survey triple groups, 12-13 months age heifers, inseminated up to 45 days pregnant heifers and 4-5 months pregnant heifers with clinical signs of poor growth, general debility, coat problems and infertility have been selected for pooled blood sampling. Pooled samples analyzed for vitamin A, E and selenium, copper, zinc and manganese. With accordance by clinical findings, vitamin E and manganese of triple groups clearly and selenium of them slightly showed decreases. It is suspected that improper and mouldy feeds presented to non lactating groups of mentioned farm caused primary and secondary deficiencies of these elements and finally poor growth rate and fertility insufficiency in affected animals.

Key words: Trace minerals, Vitamin E, Cattle, Poor growth, Infertility.

بررسی اثر تفاله لیموترش (*Citrus limon*) بر لیپیدها و شیلومیکرون‌های سرم مرغان وازده

تخمگذار

عباس جاویدی فیروز*، دکتر یوسف جعفری آهنگری، دکتر نورمحمد تربتی نژاد، دکتر سید رضا هاشمی ومهندس حسین محب-

الدینی

دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

* نویسنده مسئول: عباس جاویدی فیروز، abbasjavid@yahoo.com

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثر تفاله لیموترش بر برخی فراسنجه‌های خونی مرغان وازده تخمگذار (در صنایع دامپروری به مرغان تخم گذاری که دیگر برای تولید تخم مرغ مفید نمی‌باشند مرغان وازده (Spent hens) گفته می‌شود). به مدت ۴۰ روز صورت پذیرفت. در این آزمایش از ۸۰ قطعه مرغ تخمگذار وازده استفاده شد که بصورت تصادفی به ۲۰ قفس انتقال داده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار کنترل و سطوح مختلف تفاله لیموترش (۶، ۱۰ و ۱۴ درصد) بودند. هر تیمار شامل ۵ تکرار بود که به هر کدام از آنها ۴ قطعه مرغ تخمگذار اختصاص داده شد. در پایان دوره آزمایش از هر تکرار تعداد ۲ عدد مرغ جهت خون‌گیری انتخاب و میزان کلسترول کل، تری‌گلیسرید، LDL، HDL و VLDL اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد که میزان تری‌گلیسرید و VLDL در گروهی که جیره حاوی ۱۰ درصد تفاله را دریافت نمودند، به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش یافت. کمترین میزان HDL در جیره بدون تفاله لیموترش مشاهده شد که نشان داد استفاده از جیره حاوی تفاله لیموترش موجب افزایش میزان HDL در خون می‌شود. بطور خلاصه نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از تفاله لیموترش در جیره مرغان تخمگذار می‌تواند سبب کاهش میزان تری‌گلیسرید، VLDL و همچنین افزایش میزان HDL پلاسما شود.

واژه‌های کلیدی: تفاله لیموترش-فراسنجه‌های خونی-لیپیدها و شیلومیکرون‌های پلاسما-مرغان وازده تخمگذار

مقدمه

بیماری‌های قلب، به خصوص عروق کرونر، مهمترین علت از کار افتادگی و مرگ و میر در جوامع صنعتی است (۸). یک رابطه آماری بین مقادیر کلسترول سرم و وفورآترواسکلروز و بیماریهای قلبی عروقی وجود دارد که در درجه اول به بالا بودن میزان LDL بستگی دارد ولی ارتباط معکوسی بین میزان HDL و بیماری‌های قلبی وجود دارد (۶). امروزه از داروهای شیمیایی برای جلوگیری ازآترواسکلروز استفاده می‌شود که عوارض جانبی شدیدی را به دنبال دارد. لذا این امر انسان را به فکر واداشته که موجبات درمان گیاهی آن را بدون دخالت داروها فراهم سازد. تفاله خشک شده لیمو یک فرآورده فرعی کارخانجات عصاره‌گیری لیمو بوده که در مقیاس وسیعی در غرب استان مازندران و جنوب کشور تولید می‌شود. این تفاله مخلوطی از پوست، محتویات و دانه آن می‌باشد که در تغذیه نشخوارکنندگان نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲). از جمله ترکیبات لیموترش (*Citrus limon*) فلاونوئیدهایی از قبیل فلاوون، فلاوانون، کاتچین، آنتوسیانین را میتوان نام برد. مکانیسم عمل فلاونوئیدها از طریق اثر آنتی-اکسیدانی و حذف رادیکال‌ها و واکنش با برخی سیستم‌های آنزیمی می‌باشد، بنابراین مکمل سازی جیره‌های غذایی با مواد آنتی-

اکسیدان یک راهکار مؤثر در کاهش چربی‌های خون می‌باشد. تا کنون مطالعاتی روی تأثیر لیموترش بر کاهش میزان لیپیدهای پلازما در حیوانات مختلف انجام شده است (۱۰ و ۱)، بنابراین این تحقیق با هدف بررسی سطوح مختلف تفاله لیموترش بر میزان چربی‌های خون مرغان وازده تخمگذار انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در ایستگاه تحقیقاتی طیور دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۴۰ روز انجام شد که ۱۰ روز اول به منظور عادت‌دهی و در ۳۰ روز باقی‌مانده تیمارها در شرایط مناسب نور و تهویه اعمال گردید. در این آزمایش از ۸۰ قطعه مرغ تخمگذار وازده استفاده شد. پرندگان به ۴ گروه بصورت تصادفی دسته‌بندی شده و به قفس‌ها انتقال داده شدند. گروه اول جیره حاوی ۶٪ تفاله لیموترش، گروه دوم ۱۰٪ تفاله لیموترش، گروه سوم ۱۴٪ تفاله لیموترش و گروه چهارم جیره بدون تفاله لیموترش دریافت کردند (گروه شاهد). هر تیمار شامل ۵ قفس بوده که هر کدام از قفس‌ها شامل ۴ قطعه مرغ تخمگذار بود (هر قفس یک تکرار در نظر گرفته شد). در طول دوره آزمایش آب و غذا به صورت آزاد در اختیار طیور قرار گرفت و از یک برنامه روشنایی ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی استفاده شد. در پایان دوره آزمایش خون‌گیری از مرغان تخمگذار انجام شد و نمونه‌ها جهت مشخص شدن میزان لیپیدهای سرم به آزمایشگاه منتقل شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از رویه GLM و نرم افزار SAS و میانگین داده‌های مربوطه بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج آزمایشات نشان داد که استفاده از تفاله لیموترش باعث کاهش معنی‌داری در میزان تری‌گلیسیرید و VLDL نسبت به گروه شاهد شد ($P < 0/05$). همچنین استفاده از تفاله لیموترش به میزان ۱۰ درصد در جیره مرغان وازده تخمگذار باعث افزایش معنی‌داری در مقدار HDL گردید ($P < 0/05$). (جدول-۱).

جدول ۱- تأثیر استفاده از سطوح مختلف تفاله لیموترش بر برخی پارامترهای خونی (میلی گرم در دسی لیتر) در مرغان وازده تخمگذار

تیمار	تری گلیسیرید	کلسترول	HDL	LDL	VLDL
شاهد	۷۹۴/۴۰ ^a	۲۰۴/۹۸	۲/۳۴۷ ^b	۴۳/۷۵	۱۵۸/۸۸ ^a
۶٪ تفاله لیموترش	۷۴۴/۱۶ ^a	۱۹۶/۸۴	۴/۶۵۸ ^{ab}	۴۲/۲۸	۱۴۹/۹۰ ^a
۱۰٪ تفاله لیموترش	۵۱۴/۹۸ ^b	۱۷۰/۹۲	۵/۶۱۸ ^a	۶۱/۶	۱۰۳/۹۴ ^b
۱۴٪ تفاله لیموترش	۷۷۷/۳۹ ^a	۱۶۷/۹۱	۴/۹۷۸ ^{ab}	۱۷/۱۲	۱۴۵/۸۲ ^a
SEM	۴۵/۰۵	۱۷/۶۹	۰/۸	۱۹/۵۵	۹/۰۰۵

حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد ($p < 0.05$).

SEM = میانگین خطای استاندارد

هانگ و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که مکمل سازی جیره با عصاره پوست مرکبات و پونه کوهی باعث کاهش سطوح VLDL و همچنین موجب افزایش میزان HDL خون جوجه های گوشتی شد که با نتایج فوق هم خوانی دارد (۷). نجفی و ترکی (۲۰۱۰) گزارش کردند که مکمل سازی جیره با عصاره گیاهان دارویی تأثیری بر میزان کلسترول سرم خون جوجه های گوشتی نداشته است که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (۹). بلوکباسی و همکاران (۲۰۰۶)، کوک و همکاران (۱۹۹۸) و نجفی و ترکی (۲۰۱۰) بیان داشتند که نظام یا الگوی روشنی در مورد پاسخ لیپوپروتئین های خون نسبت به عصاره های گیاهی نیافتند (۴، ۵ و ۹). نازک و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که استفاده از تفاله لیموترش در جیره مرغان تخمگذار موجب کاهش میزان تری-گلیسرید خون و همچنین موجب افزایش میزان HDL خون شده است که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (۱۰). بوک و گروه تحقیقاتی او در سال ۱۹۹۹ نشان دادند که میزان کلسترول کبدی و پلاسما و تری گلیسرید کبدی موش هایی که تحت تأثیر عصاره نارنگی و همچنین عصاره مخلوط دو نوع بیوفلاونوئید موجود در مرکبات قرار داشتند از میزان پائین تری نسبت به گروه شاهد برخوردار بوده و چنین نتیجه گیری نمود که این کاهش به فلاونوئیدهای موجود در آن ارتباط دارد، آنان ضمن بررسی فعالیت و میزان آنزیم های کبدی این موش ها به این نتیجه رسیدند که کاهش فعالیت آنزیم ACAT و HMG-COA ردوکتاز که آنزیمی کلیدی در مسیر سنتز کلسترول می باشد، باعث کاهش میزان کلسترول سرم خون موش ها می شود، از طرفی کاهش فعالیت آنزیم ACAT موجب کاهش میزان استرکلسترول مورد نیاز جهت بیوسنتز VLDL و به تبع آن کاهش تراوش آن از کبد خواهد شد و از این طریق احتمالاً موجب کاهش میزان VLDL در خون خواهد شد (۳). در نهایت میتوان اینگونه نتیجه گرفت که کاهش سطوح تری گلیسرید و VLDL و افزایش میزان HDL در تیمارهای حاوی تفاله لیموترش بیانگر تأثیر مثبت آن در کاهش چربی های مضر خون می باشد.

منابع:

۱. یغمائی، پ.، پریور، ک.، هفت سوار، م.، زرهینان، ف. و شهسواری، س. ۱۳۸۸. بررسی تأثیر اسانس روغنی پوست لیمو ترش بر میزان چربی های خون و شمارش افتراقی لکوسیت های خون در موش های نر بالغ نژاد ویستار. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، ص ۵۵-۶۴.

2. Arthington, J.D., Kunkle, W.E. and A.M. Martin. 2002. Citrus pulp for cattle. Journal of Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 18: 317-326.
3. Bok, S.H., Lee, S.H. and Y.B. Park. 1999. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3hydroxil 3methyl glutaryl-COA reductase and acylCOA: Cholesterol transferase are lower in rat fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. Journal of Nutrition. 129: 1182-1185.
4. Bölükbasi, S.C., Erhan, M.K., and Ozkan, A. 2006. Effect of dietary thyme oil and vitamin E on growth, lipid oxidation, meat fatty acid composition and serum lipoproteins of broilers. South African Journal of Animal Science. 36: 189-196.

5. Cooke, C.J., Nanjee, M.N., Dewey, P., Cooper, J.A., Miller, G.J., and Miller, N.E. 1998. Plant monoterpenes do not raise plasma high-density-lipoprotein concentrations in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*. 68: 1042–1045.
6. Dujovne, C.A. and W.S. Harris. 1989. Pharmacological treatment of dyslipidemia. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 29: 265-283.
7. Hong, J.C., Steiner, T., Aufy, A., and Lien, T.F. 2012. Effects of supplemental essential oil on growth performance, lipid metabolites and immunity, intestinal characteristics, microbiota and carcass traits in broilers. *Journal of Livestock Science*. 144 : 253–262.
8. McIntosh, H.D. 1989. Risk factors cardiovascular disease and death: A clinical perspective. *Journal of the American College of Cardiology*. 14: 24-30.
9. Najafi, P., and Torki, M. 2010. Performance, blood metabolite and immunocompetence of broiler chicks fed diets included essential oils of medicinal plants. *Journal of Animal Veterinary Advanced*. 9: 1164–1168.
10. Nazok, A., Rezaei, M. and H. Sayyazadeh. 2010. Effect of different levels of dried citrus pulp on performance, egg quality, and blood parameters of laying hens in early phase of production. *Journal of Tropical Animal and Health Production*. 42: 737-742.

Effect of dried citrus pulp (Citrus limon) on blood lipids and chylomicrons of spent layer hens
Abbas javidi firooz*, Dr. yousof jafari ahangari, Dr. noormohamad torbatinejad, Dr. seyed reza
hashemi and hosein mohebodini

Animal science faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources University of Gorgan
abbasjavidi@yahoo.com

Abstract:

This study was conducted to determine of the effect of dried citrus pulp (DCP) on some blood parameters in spent layer hens. A total of 80 spent layer hens were randomly allocated to 4 groups with 5 replicate and 4 hens per each replicate, each pen was an experimental unit. The trial of this study lasted 40 days. There were 4 treatments, Control group and three levels of DCP(%6, %10 and 14%). To determine serum triglyceride(TG), cholesterol, low-density lipoprotein (LDL), very low-density lipoprotein (VLDL) and high-density lipoprotein (HDL), blood samples were collected from the bronchial vein of two chicks from each replicate at the end of experiment. Results showed that diet with 10% of DCP decreased TG and VLDL significantly ($P<0.05$), although increased the amount of HDL. These results showed that use of DCP in spent layer hens diets reduced blood VLDL and TG and increased HDL concentration.

Key words: Dried citrus pulp(Citrus limon)- Blood parameters- Lipids- Spent layer hens

اثرات پودر و عصاره برگ آلوئه‌ورا بر پاسخ های ایمنی در جوجه های گوشتی

مجتبی بشارتیان^{۱*}، جواد آرشامی^۲، رضا ولی زاده^۲، عبدالمنصور طهماسبی^۲، رضا بهاری کاشانی^۲

دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد^۲ - دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد مشهد

نویسنده مسئول: مجتبی بشارتیان، مشهد - خیابان آیت الله عبادی - کوچه پژن - بیت پژن ۱۵ و ۱۷ - پلاک ۱۳۱ - طبقه اول

Besharatian.mojtaba@yahoo.com

چکیده

در این مطالعه از ۱۲۵ قطعه جوجه یک روزه گوشتی (راس-۳۰۸) در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۵ تکرار و ۵ قطعه جوجه در هر تکرار استفاده شد. احتیاجات غذایی جوجه‌ها بر اساس جیره پیشنهادی شرکت راس تنظیم شد. پودر برگ گیاه آلوئه‌ورا جایگزین سبوس جیره و عصاره آن به همراه آب آشامیدنی به جوجه‌ها برای مدت ۴۲ روز داده شد. تیمارها شامل: جیره پایه (کنترل)، جیره پایه+۰/۵٪ پودر آلوئه‌ورا، جیره پایه+۱٪ پودر آلوئه‌ورا، جیره پایه+۱۵mL/L عصاره آلوئه‌ورا و جیره-پایه+۳۰mL/L عصاره آلوئه‌ورا بودند. در سن ۱۴ روزگی تست ازدیاد حساسیت برای ۲ پرنده از هر پن انجام شد. برای ارزیابی تیترا آنتی‌بادی علیه SRBC میزان 0.5mL محلول ۱۰ درصد SRBC در روزهای ۲۸ و ۳۵ آزمایش به عضله سینه دو قطعه جوجه از هر تکرار تزریق گردید و سپس خونگیری در روزهای ۳۵ و ۴۲ انجام شد. همچنین در روز ۴۲، اندامهای ایمنی بدن بعد از کشتار توزین شدند. میزان کل ایمنوگلوبولین های خون در ۳۵ روزگی در تیمارهای دریافت کننده آلوئه‌ورا (پودر و عصاره) نسبت به تیمار کنترل افزایش نشان داد. در ۸ ساعت اول، دوم و سوم تست ازدیاد حساسیت، تیمارهای دریافت کننده آلوئه‌ورا (پودر و عصاره) افزایش معناداری را نسبت به تیمار کنترل نشان دادند. وزن اندام های ایمنی تفاوت معناداری را نشان نداد. به طور کلی مصرف آلوئه‌ورا سبب بهبود ایمنی در جوجه‌های گوشتی گردید.

واژگان کلیدی: جوجه های گوشتی - آلوئه‌ورا - SRBC - ازدیاد حساسیت - اندام های ایمنی

مقدمه

پلی ساکاریدهای که از منابع گیاهی مختلف از جمله آلوئه‌ورا استخراج می شوند خواص درمانی سودمندی همچون بهبود زخم، تحریک ایمنی و فعالیت های ضد توموری را دارا می‌باشند (۱۲). تعدادی از پلی ساکاریدهای موجود در ژل آلوئه‌ورا دارای فعالیت محرک ایمنی می باشد، ولی هویت، اندازه و ترکیب آنها کاملاً شناخته شده نیست (۱). آسمانان به عنوان اصلی ترین کربوهیدرات استخراج شده از ژل گیاه آلوئه‌ورا فعالیت های ضد ویروسی، ضد توموری و محرک ایمنی دارد (۹). همچنین مشخص شده است که غلظت نسبتاً بالایی از آسمانان در مقایسه با عصاره خالص آلوئه‌ورا برای فعالیت تحریک کنندگی ایمنی لازم است، که اهمیت دیگر اجزاء سازنده در عصاره آلوئه‌ور در تحریک ایمنی را مشخص می کند (۱۵). پیشنهاد شده است که آلوئه‌ورا اثر تحریک کننده ایمنی خود را بوسیله تحریک فعالیت فاگوسیتی و ماکروفاژها انجام می دهد (۱۰). برخی از عکس العمل های ایمنی که به نظر می رسد مختص آسمانان در مقایسه با سایر پلی ساکاریدها است، شامل تحریک پاسخ آنتی ژنی در لنفوسیت های انسانی به همراه شکل گیری انوای توکوسیت ها از بخش طحال و مغز استخوان در موش می باشد (۱۱). اضافه

نمودن پلی ساکاریدهای آلوئه به خوراک پرندگان می تواند شاخص ارگانهای ایمنی و شاخص فاگوسیتوز را بهبود بخشد (۵). پیشنهاد شده است که پلی ساکارید آلوئه به عنوان یک نوع جدید از افزایش دهنده های ایمنی با منشاء گیاهی می توانند همراه با واکسیناسیون در پرندگان استفاده شود (۱۳). آسمانان می تواند به عنوان یک یاور در واکسیناسیون بر علیه برخی از بیماری های پرندگان بکار گرفته شود (۶). در مقایسه بین مکمل آلوئه ورا و آنتی بیوتیک در جیره پرندگان، سلولهای قرمز و سفید خون در تیمار دارای مکمل آلوئه ورا بیشتر بود (۸). همچنین افزایش قابل توجهی در تعداد مونوسیت ها، لنفوسیت ها و هتروفیل ها نیز در پرندگان دریافت کننده آلوئه ورا دیده شد (۱۴). ضمن اینکه پودر آلوئه ورا ارزش تتر ممانعت از هماگلوتیناسیون بر علیه بیماری نیوکاسل بالاتری را در مقایسه با تیمار کنترل نشان دادند (۷). بطور کلی آلوئه ورا می تواند توانایی فاگوسیتوزی ماکروفاژها را بهبود داده و تعداد کل سلولهای سفید خون را نیز افزایش دهد (۴). بنابراین این آزمایش به منظور بررسی بیشتر اثر آلوئه ورا بر عملکرد ایمنی بدن جوجه های گوشتی با استفاده از تست SRBC، تست ازدیاد حساسیت و همچنین وزن اندام های ایمنی بورس و طحال تنظیم گردید.

مواد و روشها

این آزمایش با تعداد ۱۲۵ قطعه جوجه نر گوشتی یکروزه، سویه تجاری راس ۳۰۸ از انجام شد. جوجه ها پس از ورود به سالن و توزین به ۲۵ گروه ۵ قطعه ای تقسیم شدند. جوجه ها به طور تصادفی به ۵ تیمار و با ۵ تکرار (۵ قطعه/تکرار) در پن ها تقسیم شدند. برای تغذیه جوجه ها به ترتیب از جیره های آغازین، رشد و پایانی در روزهای ۱-۱۰، ۱۰-۲۴ و ۲۴-۴۲ استفاده شد. احتیاجات غذایی جوجه های گوشتی بر اساس توصیه های شرکت راس ۲۰۰۷ تأمین گردید. ترکیب اقلام خوراکی مورد استفاده بر اساس جداول NRC (۱۹۹۴) به دست آمد. این آزمایش شامل ۵ تیمار بود که یک تیمار به عنوان کنترل و چهار تیمار دیگر به ترتیب شامل: ۰/۵٪ و ۱٪ پودر برگ آلوئه ورا (جایگزین سبوس جیره پایه) و ۱۵ و ۳۰ میلی لیتر عصاره آبی برگ آلوئه ورا (افزوده به آب آشامیدنی) بودند. در سن ۱۴ روزگی تست ازدیاد حساسیت برای ۲ پرندۀ از هر پن انجام شد (۳). برای ارزیابی تیترا آنتی بادی علیه SRBC میزان 0.5mL محلول ۱۰ درصد SRBC در روزهای ۲۸ و ۳۵ آزمایش به عضله سینه دو قطعه جوجه از هر تکرار تزریق گردید و سپس خونگیری در روزهای ۳۵ و ۴۲ انجام شد (۲). همچنین در روز ۴۲، اندامهای ایمنی بدن بعد از کشتار توزین شدند. این مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. آزمایش دارای ۵ تیمار و ۵ تکرار بود (۲۵ واحد آزمایشی). مدل آماری آزمایش بصورت $Y_{ij} = \mu + A_i + e_{ij}$ در نظر گرفته شد. یافته های حاصل از آزمایش با استفاده از روش مدل های خطی (GLM) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و میانگینها از طریق آزمون توکی با هم در سطح ($P < 0.05$) مقایسه شدند.

نتایج

در تست SRBC، میزان تیترا کل ایمنو گلوبولینهای (IgT: IgM+IgG) خون جوجه های گوشتی در سن ۳۵ روزگی در تیمارهای دریافت کننده پودر و عصاره آلوئه ورا نسبت به تیمار کنترل بیشتر شد و به نظر می رسد که عصاره آلوئه ورا همانگونه که محققین قبلاً اشاره کرده اند (۱۵)، تأثیر بیشتری در رابطه با تحریک ایمنی دارد. تیترا IgG و IgM تفاوت معناداری را در بین هیچ یک از تیمارها نشان ندادند. پیش از این نیز ارزش تیترا بالاتر در برابر بیماری نیوکاسل با مصرف آلوئه ورا به اثبات رسیده بود (۷). همچنین در سن ۴۲ روزگی تفاوت معناداری میان گروه ها دیده نشد.



جدول ۱- اثر پودر و عصاره آلوئه ورا بر ایمنوگلوبولین‌های خون در جوجه های گوشتی (میلی گرم / دسی لیتر)^۱

دوره (روز)	کنترل	۰/۵٪ پودر	۱٪ پودر	۱۵ml/L عصاره	۳۰ml/L عصاره	SEM	P
در ۳۵ روزگی							
IgG	۵/۶	۷/۲	۶/۲	۶/۸	۶/۶	۷۵	۰/۶۳۰
IgM	۱/۸	۲/۲	۳/۶	۲/۶	۲/۸	۰/۸۱	۰/۶۰۸
IgT	۶/۰ ^b	۹/۳ ^a	۹/۰ ^a	۹/۴ ^a	۹/۸ ^a	۰/۶۷	۰/۰۲۰
در ۴۲ روزگی							
IgG	۸/۶	۷/۱	۷/۰	۶/۲	۶/۱	۰/۴۳	۰/۳۶۸
IgM	۱/۱	۱/۱	۱/۵	۰/۹	۱/۴	۰/۲۱	۰/۳۱۱
IgT	۷/۹	۸/۴	۸/۸	۷/۵	۷/۵	۰/۴۳	۰/۱۶۴

^۱ در هر ردیف میانگین‌ها با حروف غیر مشابه، اختلاف معنی دار ($P < 0/05$) دارند.

انجام تست ازدیاد حساسیت مشخص کرد که آلوئه‌ورا یک پتانسیل بالایی را در افزایش حساسیت ایجاد شده توسط تست ازدیاد حساسیت به عنوان یک فاکتور بررسی ایمنی دارد. بطوریکه در ۸ ساعت اول و دوم و سوم پس از تزریق اختلاف معناداری زیادی بین تیمارهای دریافت کننده آلوئه ورا چه به صورت پودر و چه به صورت عصاره نسبت به کنترل دیده شد.

جدول ۲- اثر سطوح مختلف پودر و عصاره آلوئه ورا بر ضخامت پرده بین انگشتان پا^۲ در جوجه‌های گوشتی^۱

ساعات بعد از تزریق	کنترل	۰/۵٪ پودر	۱٪ پودر	۱۵ml/L عصاره	۳۰ml/L عصاره	SEM	P
۸ ساعت ۱	۲۵۰/۶ ^c	۳۶۴/۸ ^{bc}	۴۳۹/۲ ^{ab}	۴۷۱/۰ ^{ab}	۵۰۹/۰ ^a	۳۱/۰۴	۰/۰۰
۸ ساعت ۲	۲۸۸/۶ ^b	۶۶۲/۵ ^a	۵۴۵/۱ ^a	۵۵۸/۰ ^a	۶۲۸/۸ ^a	۴۱/۱۶	۰/۰۰
۸ ساعت ۳	۳۱۴/۱ ^b	۴۱۵/۰ ^a	۴۱۸/۹ ^a	۴۷۹/۱ ^a	۴۸۰/۳ ^a	۲۳/۵۷	۰/۰۰

^۱ در هر ردیف میانگین‌ها با حروف غیر مشابه، اختلاف معنی دار ($P < 0/05$) دارند.

^۲ ضخامت بین انگشتان ۲ و ۳ پا در جوجه های گوشتی در اثر تزریق محلول فیتوهمماگلوپتین-P به میکرومتر.

اختلاف معنی داری در وزن ارگان های ایمنی مشاهده نشد. هر چند که در مطالعات قبلی افزایش شاخص ارگان های ایمنی گزارش شده بود (۵). البته بیشتر تیمارهای دریافت کننده آلوئه‌ورا روند افزایش وزن را در رابطه با طحال و بورس نشان دادند.

جدول ۳- اثر سطوح مختلف پودر و عصاره آلوئه ورا بر میانگین وزن اعضای داخلی بدن^۱

اجزاء	کنترل	۰/۵٪ پودر	۱٪ پودر	۱۵ml/L عصاره	۳۰ml/L عصاره	SEM	P
بورس	۱/۱۶	۱/۵۳	۱/۳۳	۱/۳۴	۱/۴۸	۰/۲۲	۰/۷۸۰
طحال	۲/۷۱	۳/۱۳	۳/۱۸	۲/۳۳	۲/۴۹	۰/۲۸	۰/۱۸۲

^۱ در هر ردیف میانگین ها با حروف غیر مشابه، اختلاف معنی دار ($P < 0/05$) دارند.

در کل از این آزمایش نتیجه گیری می شود که آلوئه ورا می تواند به افزایش سطح ایمنی در جوجه های گوشتی کمک نماید.

منابع

1. Boudreau, M.D., Beland, F.A. 2006. An evaluation of the biological and toxicological properties of Aloe Barbadensis (Miller), Aloe vera. J. Environ. Sci. Health C, 24:103-154.
2. Cheema, M.A., Quereshi, M.A. and Havestein, G.B., 2003. A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 randomberd broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. Poult. Sci. 82: 1519_1529.
3. Corrier, D.E. and DeLoach, J.R., 1990. Evaluation of cell mediated cutaneous basophil hyper sensitivity in young chickens by an interdigital skin test. Poult. Sci; 69:403-408.
4. Darabighane, B., Zarei, A., Zare Shahneh, A., Mahdavi, A. 2011. Effects of different levels of Aloe vera gel as an alternative to antibiotic on performance and ileum morphology in broilers. Italian Journal of Animal Science, 10:189-194.
5. Deng, Y. Y., Wu, C. R., Hu, F. P., Yang, X. L., Zuo, J. B., Zeng, X. J. 2008. Effect of aloe polysaccharide on immune organ in senile mice. Journal of TCM University of Hunan, 28(2): 25-27.
6. Djeraba, A., Quere, P. 2000. In vivo macrophage activation in chickens with Acemannan, a complex carbohydrate extracted from Aloe vera. International Journal of Immunopharmacology, 22:365-372.
7. Mehala, C., Moorty, M. 2008. Effect of Aloe vera and Curcuma longa (Turmeric) on Carcass Characteristics and Biochemical Parameters of Broilers, International Journal of Poultry Science, 7(9):857-861.
8. Mmereole, F. U. C. 2011. Evaluation of the dietary inclusion of aloe vera as an alternative to antibiotic growth promoter in broiler production Pakistan Journal of Nutrition, 10 (1): 1-5.
9. Ni, Y., Turner, D., Yates, K. M., Tizard, I. 2004. Isolation and characterization of structural components of Aloe vera L. leaf pulp. Citation: Int-Immunopharmacol, 4(14):1745-55.
10. Pugh, N., Ross, S. A., ElSohly, M. A., Pasco, D. S. 2001. Characterization of Aloeride, a new high-molecular-weight polysaccharide from Aloe vera with potent immunostimulatory activity. J Agric Food Chem, 49:1030-1034.
11. Reynolds, T., Dweck, A.C. 1999. Aloe vera leaf gel: a review update. J. Ethnopharmacol, 68: 3-37.
12. Schepetkin, A.I., Quinn, T.M.(2006). Botanical polysaccharides: Macrophage immunomodulation and therapeutic potential. International Immunopharmacology, 6: 317- 333
13. Sun, Z., Wei, K., Yan, Z., Zhu, X., Wang, X., Wang, Hui.,T. 2011. Effect of immunological enhancement of aloe polysaccharide on chickens immunized with Bordetella avium inactivated vaccine. Carbohydrate Polymers, 86 (2): 684-690.

14. Valle-Paraso, M. G. R., Vidamo, P. J. S., Anunciado, R. V. P., Lapitan, A.M. 2005. Effects of Aloe vera (*Aloe barbadensis*) on the white blood cell count and antibody titer of broiler chickens vaccinated against Newcastle disease. *Phillipine J. Vet Med*, 42: 49-52.

15. Zhang, L., Tizard, I.R. 1996. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: The major carbohydrate fraction from Aloe vera. *Immunopharmacology*, 35:119-128.

Effects of Aloe vera leaf powder and extract on immune response in broilers
Mojtaba Besharatian^{1*}, Javad Arshami¹, Reza Valizade¹, Abdolmansoor Tahmasebi¹, Reza Bahari Kashani²

1-Department of Animal Science, College of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

2-Department of Animal Science, College of Agriculture, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

*E-mail address: Besharatian.mojtaba@yahoo.com

Abstract

This experiment was conducted to investigate the effects of different levels of Aloe vera powder and extract on growth performance, immune responses and blood parameters in broiler chicks for 42 days. A total of 125 pieces of one day-old broiler chicks (Ross-308) were randomly allotted equally into five experimental groups with five replicates and 5 chicks per replicate using a completely randomized design. The nutrient requirements of chicks were adjusted according to the diet recommended by Ross Company. Aloe vera powder was replaced by bran diet and aloe vera extract was supplied with drinking water for 42 days. Dietary treatments were included: control or basal diet, basal diet+0.5% Aloe vera powder, basal diet+1% Aloe vera powder and basal diet+15 mL/L Aloe vera extract and basal diet+30 mL/L Aloe vera extract. On 14 days, hypersensitivity test was performed on 2 birds in each pen. For evaluation of antibody titers against SRBC, 0.5mL of SRBC (%10) solution was injected into breast muscle of 2 pieces of chicks in each pen on days 28 and 35, and then blood samples were taken on days 35 and 42. In the 14 day old, hypersensitivity test was performed for two birds from each pen. In the 42-day, immune organs were weighed. Total immunoglobulin levels in 35-day in Aloe Vera receiving treatments (powder and extract) increased compared with the control. In the first, second and third 8 hours after hypersensitivity test, Aloe Vera receiving treatments (powder and extract) showed increase significantly as compared to the control treatment. Weight of immune organs did not show significant differences. Overall, Aloe vera can improve immunity in broiler chickens.

Key words: broiler chickens-Aloe vera-immune response-SRBC-hypersensitivity-immune organs

تاثیر افزودن ژل رویال به رقیق کنندهی تریس برای نگهداری اسپرم قزل در دمای ۴°C

علیرضا مرادی^{۵۷*}، فرهاد فرخی اردبیلی^۲، حسن ملکی نژاد^۳، ایرج برنوسی^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشکدهی کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

۲. استادیار گروه علوم دامی، دانشکدهی کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

۳. دانشیار گروه علوم پایه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

۴. دانشیار گروه اصلاح نباتات، دانشکدهی کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

چکیده:

تحقیق حاضر به منظور ارزیابی اثر اضافه کردن ژل رویال به رقیق کننده زرده تخم مرغ- تریس در نگهداری اسپرم قوچ بصورت مایع و در دمای یخچال انجام گرفت. برای این منظور نمونه منی از ۴ راس قوچ قزل جمع آوری و پس از ارزیابی اولیه و داشتن کیفیت مطلوب، با هم مخلوط شدند. نمونه منی مخلوط به ۵ قسمت تقسیم شده و هر قسمت با رقیق کننده زرده تخم مرغ- تریس بدون ژل رویال (کنترل) و یا حاوی ۰/۵٪، ۱٪، ۱/۵٪ و ۲٪ ژل رویال به نسبت یک به سه رقیق شدند. نمونه های رقیق شده در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شده و در ساعات صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ از لحاظ سلامت غشای پلاسمایی و کیفیت تحرک اسپرم مورد ارزیابی قرار گرفتند. سلامت غشای پلاسمایی با روش HOST و تحرک اسپرم ها نیز توسط سیستم آنالیز کامپیوتری (CASA) تعیین گردید. بر اساس نتایج بدست آمده میزان سلامت غشای پلاسمایی اسپرم های نگهداری شده در حضور ژل رویال ($\alpha \leq 0/05$) بیشتر از گروه کنترل بود. هرچند بین غلظت های مختلف ژل رویال اختلاف معنی داری وجود نداشت. تمامی پارامترهای مربوط به سرعت حرکت اسپرم (VAP، VSL، VCL) در منی رقیق شده حاوی ۰/۵٪، ۱٪ و ۱/۵٪ ژل رویال بطور معنی داری بیشتر از گروه کنترل بود ولی گروه حاوی ۲٪ ژل تفاوت معنی داری با گروه کنترل مشاهده نگردید. بطور کلی با توجه به نتایج این تحقیق اضافه کردن ژل رویال به رقیق کننده زرده تخم مرغ - تریس (تا ۱/۵٪) می تواند باعث بهبود کیفیت اسپرم در هنگام نگهداری بصورت مایع در دمای یخچال گردد.

واژگان کلیدی: اسپرم- رقیق کننده تریس- ژل رویال- قوچ قزل

مقدمه

نگهداری منی قوچ به صورت مایع به عنوان روش جایگزین انجماد مورد توجه بسیار بوده است. میزان آبستنی در تلقیح مصنوعی با استفاده از منی سرد شده در مقایسه با منی منجمد شده بالاتر می باشد. استرس اکسیداتیو یکی از مهمترین عوامل در ارتباط با کاهش باروری در اسپرم میباشد غشا پلاسمایی اسپرم دارای مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع میباشد که حساس به پراکسیداسیون لیپیدها میباشد که بصورت کاهش تحرک، آسیبهای غشایی و اختلالات عملکردی اسپرم بروز پیدا میکند (۵).

سیستم های آنتی اکسیدانی مختلفی در منی وجود دارد که از آنتی اکسدانت های آنزیمی مانند GSH, GSH-PX, GP, CAT, SOD, و آنتی اکسیدانتهای غیر آنزیمی مانند آلفا توکوفرول و ویتامین C تشکیل شده اند. این مکانیسم برای حمایت سلول در برابر استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها میباشد (۴). ژل رویال ماده ایست که بوسیله ی یک جفت غدد هیپوفارنژیال (hypopharyngeal gland) زنبوران عسل کارگر ترشح میشود و به تغذیه ی زنبوران کارگر در ۳ روز اول زندگی و ملکه برای تمام طول مدت زندگی میرسد. (۳ و ۱). اثرات آنتی اکسیدانی ژل رویال در سال های اخیر مورد توجه بیشتری قرار گرفته است (۷ و ۸). هدف از تحقیق حاضر ارزیابی تاثیر غلظت های مختلف ژل رویال بر روی تحرک و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد بود.

مواد و روش ها:

این تحقیق بر روی ۴ راس قوچ بالغ قزل با سن ۴ سال و با وزن متوسط ۶۵ کیلوگرم که این قوچ ها در دامداری گروه علوم دام دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه نگهداری می شدند انجام گرفت. برای استحصال نمونه های منی از واژن مصنوعی استفاده شده است. نمونه های منی بلافاصله بعد از جمع آوری منی از لحاظ حجم (لوله مدرج)، غلظت اسپرم (لام هماسیتومتر)، حرکت توده ای (میکروسکوپ نوری) و درصد اسپرم های مرده (رنگ آمیزی ایوزین نیگروزین) ارزیابی گردیدند. در این مطالعه از نمونه های منی استفاده گردید که در ارزیابی اولیه حجم منی حداقل ۰/۷ سی سی، غلظت اسپرم حداقل $10^9 \times 2$ در هر میلی لیتر، تحرک اسپرم ها بیش از ۸۵٪ و تعداد اسپرم های مرده نیز کمتر از ۱۵٪ بود. برای از بین بردن اثر دام های نر مختلف از هر نمونه حجم مساوی منی برداشته و با یکدیگر مخلوط شدند. برای نگهداری اسپرم ها از رقیق کننده تریس - زرده تخم مرغ (۱۵) با مقادیر مختلف ژل رویال (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد) طبق فرمول (۹۰ سی سی آب مقطر + ۱/۶۳ گرم تریس + ۰/۵ گرم فروکتوز + ۱/۹۹ گرم سیترات و ۱۰ سی سی زرده تخم مرغ) استفاده گردید. برای این منظور ابتدا با اضافه کردن ژل رویال به محلول تریس بدون زرده، غلظت ۱۰٪/درصد تهیه گردیده و سپس با استفاده از این محلول ۱۰ درصد، سایر غلظت ها تهیه گردید. نمونه های مخلوط منی به میزان یک به سه با رقیق کننده های حاوی مقادیر مختلف ژل رقیق شده و سپس به یخچال انتقال یافته و در ساعات صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ و ۱۲۰ پس از رقیق سازی از لحاظ پارامترهای تحرک و سلامت غشای پلاسمایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای ارزیابی تحرک اسپرم ها از سیستم CASA (Sperm 2.1, VideoTest, Russia) و برای تعیین سلامت غشای پلاسمایی از تست HOST (Hypo-osmotic swelling test) استفاده شد. پارامترهای اندازه گیری شده توسط CASA عبارت بودند از: VAP ($\mu\text{m}/\text{S}$), VSL ($\mu\text{m}/\text{S}$), ALH (μm), BCF (Hz), STR(%) و LIN (%). تجزیه داده ها بصورت اسپلیت پلات در زمان (split plot in time) که مقایسه میانگین اثر غلظتها با آزمون توکی و میانگین اثر زمانها با تصحیح بن فرونی (Bonferroni) با استفاده از نرم افزار spss18 انجام گرفت ($p \leq 0.05$).

نتایج

در تجزیه واریانس داده ها، اثر غلظت ژل رویال بر روی HOST positive spermatozoa و تمامی پارامترهای حرکتی بجز تعداد نوسانات سر اسپرم (BCF) معنی دار بود ($P < 0.001$). اثر زمان نگهداری اسپرم نیز بر روی تمامی متغیرهای مورد ارزیابی بجز BCF و STR معنی دار بود ($P < 0.001$). در هیچکدام از متغیرها بین غلظت ژل و زمان نگهداری اسپرم ها اثر متقابل معنی دار وجود نداشت. میانگین کل HOST و پارامترهای حرکتی اسپرم ها در رقیق کننده حاوی غلظت های مختلف ژل رویال و نیز در زمان های مختلف نگهداری اسپرم ها در جداول ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است.



جدول ۱- مقایسه میانگین اثرات غلظت بر پارامترهای حرکتی (CASA) و درصد اسپرمهای با غشاء سالم

HOST	پارامترهای حرکتی اسپرم							غلظت ژل روبال
	STR	LIN	BCF	ALH	VCL	VSL	VAP	
76.4±1.1 ^{ab}	68.9±1 ^a	22.6±1 ^a	8.5±0.04	1.3±0.06	78.9±3.4	16.7±1.2 ^a	24.4±1.6	0
77.0±1.2 ^{ab}	72.2±0.8 ^{ab}	24.8±0.9 ^{ab}	8.3±1.9	1.6±0.04	90.9±2.6	21.7±0.8 ^{ab}	28.4±2.1	0.5
76.7±1 ^{ab}	71.5±2.1 ^{ab}	26.3±0.7 ^{ab}	8.4±0.05	1.5±0.05	90.3±3	22.1±1 ^b	29.0±1.4	1
78.1±0.8 ^b	76.0±2.1 ^b	27.8±0.9 ^b	8.4±0.04	1.5±0.04	88.±2.6	22.2±1 ^b	29.0±1.4	1.5
73.9±1.1 ^a	72.5±1.02 ^{ab}	25.9±1.14 ^{ab}	8.5±0.05	1.4±0.05	83.±2.9	19.9±1.1 ^{ab}	27.6±1.6	2

در هر ستون میانگینهایی که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند دارای اختلاف معنی دار میباشند ($P \leq 0.05$)

جدول ۲- مقایسه میانگین پارامترهای حرکتی اسپرم (CASA) و درصد اسپرمهای با غشاء سالم در زمانهای مختلف نگهداری



پارامترهای حرکتی (CASA)

زمان

HOST	STR	LIN	BCF	ALH	VCL	VSL	VAP	
84.0±0.44 ^a	72.1±0.9 ^a	29.8±1.28 ^a	8.3±0.05 ^a	1.7±0.04 ^a	105.8±1.0 ^a	26.0±1.14 ^a	38.0±1.18 ^a	0
81.5±0.52 ^b	71.1±1.2 ^a	27.0±1.25 ^{ab}	8.5±0.06 ^{ab}	1.6±0.05 ^{ab}	99.0±1.70 ^b	24.2±1.27 ^{ab}	34.2±1.60 ^a	24
78.5±0.47 ^c	71.3±0.82 ^{ab}	23.9±0.71 ^b	8.4±0.07 ^{ab}	1.5±0.06 ^{ab}	92.5±1.93 ^c	21.1±0.70 ^{bc}	27.7±0.71 ^b	48
75.2±0.46 ^d	73.2±1.08 ^a	24.3±0.85 ^b	8.6±0.06 ^b	1.4±0.06 ^b	83.6±1.91 ^d	19.1±0.77 ^c	24.5±1.08 ^{bc}	72
72.1±0.58 ^e	71.4±2.67 ^a	24.4±1.10 ^b	8.3±0.06 ^{ab}	1.5±0.06 ^{ab}	75.1±2.27 ^e	17.4±0.91 ^{cd}	23.0±1.09 ^c	96
67.1±0.75 ^f	74.1±0.96 ^{ac}	23.3±0.89 ^b	8.5±0.04 ^{ab}	1.±0.06 ^{ab}	63.0±2.62 ^f	15.3±0.63 ^d	18.7±0.70 ^d	120

در هر ستون میانگینهایی که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند دارای اختلاف معنی دار میباشند ($P \leq 0.05$)

جدول ۳- اثر زمان و غلظتهای مختلف ژل روبال بر درصد زنده‌مانی اسپرم

میانگین کل	غلظت ژل					زمان
	۲٪	۱/۵٪	۱٪	۰/۵٪	کنترل	
79.6±.62 ^a	81.3±1.38 ^{aA}	83.9±1.38 ^{aA}	78.9±1.38 ^{aAB}	79.9±1.38 ^{aAB}	74.3±1.38 ^{aB}	0
74.6±0.66 ^b	75.9±1.47 ^{bA}	78.3±1.47 ^{bA}	75.1±1.47 ^{aAB}	75.3±1.47 ^{bAB}	68.5±1.47 ^{bB}	24
71.1±0.77 ^c	71.9±1.72 ^c	72.6±1.72 ^c	72.5±1.72 ^a	72.0±1.72 ^b	66.8±1.72 ^b	48
67.0±0.98 ^d	68.5±2.20 ^{cd}	67.2±2.20 ^d	68.4±2.20 ^b	66.4±2.20 ^c	64.7±2.20 ^b	72
64.0±1.03 ^e	65.7±2.30 ^d	64.6±2.30 ^d	65.4±2.30 ^b	64.3±2.30 ^c	60.1±2.30 ^c	96
58.2±1.43 ^f	60.9±3.19 ^d	57.1±3.19 ^e	60.6±3.19 ^b	60.2±3.19 ^c	52.6±3.19 ^c	120
	70.7±1.3	70.6±1.9	70.2±1.02	69.7±1.3	64.5±1.2	میانگین کل

بحث



در تحقیق حاضر اضافه کردن ژل رویال به رقیق کننده زده تخم مرغ-تریس باعث بهبود توانایی آن در حفظ کیفیت اسپرم ها گردید. ژل رویال از هضم ناقص عسل و گرده تولید شده و تقریباً از ۶۶٪ آب، ۱۵٪ شکر، ۵٪ لیپیدها و ۱۳٪ پروتئین با غلظت بالای اسیدهای آمینه و ویتامین ها تشکیل شده‌اند (۶). ژل رویال به دلیل ماهیت طبیعی آن مورد توجه می‌باشد. افزایش درصد اسپرم های دارای غشای پلاسمایی سالم گردید. اثرات فارماکولوژیک متعددی برای ژل رویال در مطالعات تجربی در حیوانات گزارش کرده اند. مطالعه حاضر یکی از معدود گزارش‌های مربوط به استفاده از ژل رویال در رقیق کننده‌های منی دام می‌باشد. جعفری و عطارچی در یک مطالعه تاثیر افزودن مقادیر مختلف ژل رویال به رقیق کننده زده تخم مرغ-تریس را در انجماد اسپرم قوچ ارزیابی کردند (۲). بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در بهبود میزان اسپرم‌های زنده و پیشرونده بین تیمارهای دارای ژله رویال و تیمار شاهد مشاهده شد. در مطالعه فوق درصد اسپرم‌های زنده و پیشرونده با افزایش درصد ژله رویال پس از انجماد و یخ‌گشایی از سطح صفر به سطح چهاردرصد بهبود یافت. در تحقیق حاضر نیز که بر روی اسپرم های نگهداری شده بصورت مایع و در دمای ۴ درجه سانتی گراد بود ژل رویال نقش مثبتی در حفظ اسپرم ها نشان داد هرچند بین گروه های حاوی مقادیر مختلف ژل اختلاف معنی داری وجود نداشت. ژل رویال موجب افزایش میزان سلامت غشای پلاسمایی اسپرم ها گردید. ژل رویال همچنین باعث بهبود پارامترهای سرعتی حرکت اسپرم (VSL, VCL, VAP)، پارامترهای مربوط به الگوی حرکت (LIN و STR) و دامنه نوسان سر اسپرم (ALH) گردید (جدول ۱). بهترین کیفیت اسپرم در غلظت های ۰/۵ و ۱ درصد مشاهده گردید و با افزایش غلظت ژل به ۲ درصد مقادیر عددی متغیر ها کاهش یافت که در مورد پارامتر سرعت حرکت اسپرم در مسیر واقعی (VCL) این کاهش میانگین از لحاظ آماری نیز معنی‌دار بود. این یافته ها برخلاف نتایج گزارش شده توسط جعفری و عطارچی در مورد تاثیر ژل رویال در انجماد اسپرم قوچ بود که افزایش غلظت ژل تا ۴٪ باعث بهبود بیشتر کیفیت اسپرم ها گردید (۲).

عوامل مختلفی را می‌توان برای نقش محافظتی ژل رویال بر روی اسپرم ها موثر دانست. در حیوانات آزمایشگاهی اثرات فارماکولوژیک متعددی را برای ژل رویال گزارش کرده اند. در مطالعات مختلف به اثراتی شامل اتساع عروق و کاهش فشار خون، ضد تومور، کاهش کلسترول خون، اثرات ضد قارچی، فعالیت شبه انسولین، اثرات استروژنیک، فعالیت ضد التهابی و همینطور اثرات آنتی اکسیدانتی اشاره شده است (۷). جعفری و عطارچی علت افزایش در میانگین درصد خصوصیات حیاتی اسپرم را ناشی از وجود ژل رویال بعنوان یک منبع پروتئینی غنی از اسید آمینه هایی همچون اسید آسپارتیک دانستند (۲). با توجه به اینکه در رقیق کننده زده تخم مرغ-تریس، زده تخم مرغ به عنوان منبع غنی پروتئین می‌باشد، بایستی برای توضیح اثرات مثبت ژل رویال به سایر عوامل موجود در آن نیز توجه داشت. در طی چند سال اخیر توجه زیادی به اثرات آنتی اکسیدانتی ژل رویال جلب شده است (۷، ۸، ۹). Nagai و همکاران (۹) اثرات آنتی اکسیدانتی ژل رویال و سایر فراورده های زنبور عسل را از طریق توانایی آن در پاک کردن رادیکال سوپر اکسید ارزیابی کردند. ژل رویال بعد از موم بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در بین فراورده های زنبور عسل نشان داد. Inoue و همکاران (۷) نیز اثر ژل رویال را بر روی صدمات اکسیداتیو DNA و طول عمر موش نشان داده اند. Jamnik و همکاران (۸) نیز در مطالعه ای بر روی مخمر، نشان دادند که ژل رویال اکسیداسیون داخل سلولی را با یک الگوی وابسته به دز کاهش می دهد. در مطالعات مختلف نقش آنتی اکسیدانت ها در تحرک و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم گزارش شده است (۵). با توجه به اثرات آنتی اکسیدانتی قوی ژل رویال، بهبود کیفیت اسپرم قوچ در منی نگهداری شده در رقیق کننده حاوی ژل رویال بصورت مایع و در دمای یخچال را می‌توان ناشی از این اثر آنتی اکسیدانتی دانست. لذا توصیه می‌شود تا توانایی آنتی اکسیدانت رقیق کننده حاوی ژل رویال و فاقد آن در طی نگهداری اسپرم مورد ارزیابی قرار گیرد.

منابع

- ۱- کیان بستان آباد، ر(۱۳۸۸) بررسی فصلی آنتی اکسیدانها، برخی عناصر معدنی و مقادیر پروتئین تام در پلاسمای منی قوچ قزل، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه ارومیه. ۸۴ صفحه
- ۲- جعفری آهنگری، ی- عطارچی، ح، اثر ژل رویال در رقیق کننده تریس بر خصوصیات اسپرم قوچ دالاق، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد پانزدهم، شماره سوم، مرداد- شهریور ۱۳۸۷
- ۳- دکتر شهرستانی، ن(۱۳۸۵) زنبور عسل و پرورش آن- تهران، انتشارات سپهر
- 4- Aitken RJ. (1995) Free radicals, lipid peroxidation and sperm function. *Reprod. Fertil. Devel.*, v.7, p. 659-68.
- 5- Aurich JE., Sch.nherr U, Hoppe H., (1987) Aurich C, Effects of antioxidants on motility and membrane integrity of chilled-stored stallion semen, *Theriogenology*, 48: 185-192.
- 6- Iannuzzi, J., 1990. Royal jelly: mystery food. *Am. Bee J.* 130, 587-589.
- 7- Inoue, S.I., Koya-Miyata, S., Ushio, S., Iwak, K., Ikeda, M., Kurimoto, M., (2003). Royal jelly prolongs the life span of C3H/ H3J mice: correlation with reduced DNA damage. *Exp. Gerontol.* 38, 965-969.
- 8- Jamnik P., Goranovic D., Raspor P., (2007). Antioxidative action of royal jelly in the yeast cell. *Experimental Gerontology* 42: 594-600.
- 9- Nagai, T., Sakai, M., Inoue, R., Inoue, H., Suzuki, N., (2001). Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chem.* 75, 237-240.

The effect of supplementation of egg yolk-tris extender with royal jelly on sperm quality in qezel ram semen during storage at 4°C

^{1*}Moradi AR¹, Farrokhi-Ardabili F, ²Malekinejad H, ³Bernosi I

¹Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, ²Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, ³Department of Cultivation, Faculty of Agriculture

*Corresponding E-mail address: Ar109.m@gmail.com

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of supplementation of egg yolk- Tris extender with royal jelly on the sperm membrane integrity and motility of the ram semen during storage at 4°C. Semen samples were collected from 4 Gezel ram and pooled after initial evaluation. The pooled semen sample divided to 5 aliquots and each aliquots diluted with egg yolk-Tris extender without (control) or with 0.5%, 1%, 1.5% or 2% royal jelly. The extended semen stored at 4°C for 0, 24, 48, 72, 96 and 120 hours and then evaluated for sperm membrane integrity and motility. Plasma membrane integrity evaluated by hypo-osmotic



swelling test (HOST) and CASA was used for evaluation of sperm motility. Spermatozoa diluted in extender with royal jelly have higher HOST than control group. Sperm velocity parameters (VCL, VSL and VAP) were significantly higher in semen diluted with 0.5%, 1% and 1.5% royal jelly but there was no difference between semen diluted with 2% royal jelly and control group. In conclusion supplementation of egg yolk-Tris based extender with royal jelly (up to 1.5%) can improve sperm quality in chilled stored ram semen.

Keywords: Qazel ram, royal jelly ,sperm , Tris extender

تاثیر تزریق گونادوتروپین کوریونیک انسانی پس از قوچ اندازی بر عملکرد تولیدمثلی میش های آمیخته افشاری × مرینو
رحمان حاجی زاده^{۱*}، بهنام رستمی^۲، محمد حسین شهر^۳، داود علیاری^۳، سمیه مقدم^۱، رضا جعفری^۱

۱ - دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

۲ - استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

۳ - کارشناس ارشد مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان

* نویسنده مسئول: رحمان حاجی زاده، rahman.hajizadeh.66@gmail.com

چکیده

تلفات اولیه رویانی یکی از مشکلات اصلی تولیدمثلی دام های مزرعه ای است. تولید ناکافی پروژسترون از جسم زرد در اوایل آبستنی یکی از علل عمده این تلفات است. تزریق هورمون hCG با بهبود عملکرد جسم زرد موجب افزایش ترشح پروژسترون می شود. هدف از انجام این آزمایش تعیین اثرات تزریق عضلانی ۴۰۰ واحد بین المللی hCG، در روز ۱۱ پس از قوچ اندازی روی عملکرد تولیدمثلی میش های آمیخته افشاری × مرینو بود. در مطالعه حاضر، تعداد ۲۴ راس میش آمیخته افشاری × مرینو به صورت تصادفی در دو گروه ۱۲ راسی قرار گرفتند. جهت همزمانی فحلی، تمامی میش ها سیدرهای پروژسترونی را به مدت ۱۲ روز دریافت کردند. در فاصله ۱۷ ساعت پس از برداشت سیدر، تشخیص فحلی با استفاده از قوچ های تیزر انجام شد و به دنبال آن قوچ اندازی صورت گرفت. در روز ۱۱ پس از قوچ اندازی، میش های گروه hCG، ۴۰۰ واحد بین المللی hCG و میش های گروه کنترل حجم یکسان سالین نرمال به صورت عضلانی دریافت کردند. نتایج این آزمایش نشان داد که نرخ آبستنی در میش های دریافت کننده hCG در مقایسه با گروه کنترل ۱۳ درصد بیشتر بود، اگرچه این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود ($P > 0/05$). درصد بره زایی در گروه hCG و گروه کنترل به ترتیب ۳۰۷/۸ و ۲۰۱/۷ درصد بود که تفاوت بین دو گروه معنی دار بود ($P < 0/01$). همچنین درصد چند قلوزایی در گروه hCG در مقایسه با گروه کنترل بالاتر بود ($P < 0/01$). نتایج آزمایش نشان داد که تزریق hCG در دوره پس از قوچ اندازی باعث بهبود عملکرد تولیدمثلی میش ها می شود.

واژه های کلیدی: عملکرد تولیدمثلی - درصد آبستنی - نرخ بره زایی - hCG

مقدمه

مهم ترین و سودآورترین فاکتور برای پرورش دهندگان گوسفند در سیستم های نیمه متمرکز نرخ بره زایی است (۱۳) و از آنجائیکه تولید یک بره در سال، نمی تواند هزینه های دامپروری را تامین کند، می توان آن را با استفاده از درمان های هورمونی بهبود بخشید (۳). روش های مختلفی برای افزایش کارایی تولیدمثلی در میش ها وجود دارد که اغلب به منظور افزایش تعداد تخمک گذاری و افزایش نرخ بره زایی انجام می شود (۸). لانه گزینی رویان ها در میش از روز ۱۴ بعد از لقاح شروع شده و در روز ۲۸ پس از لقاح کامل می شود (۱۴). تلفات رویانی پیش از لانه گزینی یکی از مشکلات اصلی محدودکننده عملکرد بهینه تولیدمثلی در میش است. مشخص شده است در گوسفند ۳۰ تا ۴۰ درصد رویان های ایجاد شده طی سه هفته اول آبستنی از بین می روند که ۷۰ تا ۸۰ درصد این تلفات بین روزهای ۸ تا ۱۶ بعد از لقاح اتفاق می افتد (۲). روز ۱۲ پس از قوچ اندازی دوره بحرانی برای شناسایی آبستنی توسط میش و جلوگیری از تحلیل رفتن جسم زرد آبستنی است که این زمان، منطبق با زمان تحلیل جسم زرد در چرخه فحلی طبیعی می باشد (۴). تزریق hCG، ۱۲ روز پس از قوچ اندازی نه تنها باعث بهبود عملکرد تولیدمثلی میش ها شد بلکه درصد بره زایی و وزن تولد بره ها را نیز افزایش داد (۵). با توجه به اینکه میش های آمیخته افشاری × مرینو به صورت ژنتیکی

دارای نرخ چندقلو زایی و بهره‌زایی بالا می‌باشند و چون با افزایش تعداد رویان‌ها احتمال تلفات پیش از لانه‌گزینی افزایش می‌یابد تحقیق حاضر به منظور بررسی اثرات تزریق عضلانی hCG بر عملکرد تولیدمثلی این میش‌ها انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش تعداد ۲۴ راس میش آمیخته افشاری × مرینو حداقل یک شکم‌زا و ۲/۵ ساله در اوایل آبان ماه سال ۱۳۹۰ انتخاب شدند. میش‌های انتخاب شده به صورت تصادفی در دو گروه کنترل و hCG قرار گرفتند. به منظور همزمان‌سازی فحلی، تمام میش‌ها سیدره‌های پروژسترونی (Eazi-BreedTM, CIDR®, New Zealand) داخل واژن را به مدت ۱۲ روز دریافت کردند و در زمان برداشتن سیدرها، ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG (Folligon®; Intervat; Holland) دریافت کردند. ۱۷ ساعت پس از تزریق eCG تشخیص فحلی و قوچ‌اندازی انجام شد. در روز ۱۱ پس از قوچ‌اندازی به گروه کنترل سالین نرمال و به گروه hCG، ۴۰۰ واحد بین‌المللی hCG به صورت عضلانی تزریق شد. ۳۵ روز پس از جفت‌گیری تشخیص آبدستی با استفاده از دستگاه سونوگرافی (Sonovet 600- Scotland) مجهز به پروب شکمی ۳ مگاهرتز انجام شد. داده‌ها با استفاده از طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS آنالیز شد. مدل آماری به شرح زیر است:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + C_k + e_{ijk}$$

Y_{ijk} مشاهده، μ میانگین جامعه، T_i اثر تیمار، B_j اثر بلوک (شکم‌زایش)، C_k اثر تصادفی میش و e_{ijk} اثر اشتباه تصادفی می‌باشد.

نتایج و بحث

عملکرد تولید مثلی شامل درصد آبدستی، درصد چندقلو زایی و نرخ بهره‌زایی میش‌های گروه کنترل و hCG در جدول ۱ نشان داده شده است. درصد آبدستی در گروه hCG در مقایسه با گروه کنترل به صورت عددی بالاتر بود اما از نظر آماری بین دو گروه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$ ، جدول ۱). تزریق hCG در دوره پس از قوچ‌اندازی، نرخ بهره‌زایی در میش‌های گروه hCG را در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد ($P < 0.01$ ، جدول ۱). همچنین تزریق hCG درصد چندقلو زایی را در گروه hCG نسبت به گروه کنترل افزایش داد ($P < 0.01$ ، جدول ۱). نتایج این مطالعه این فرضیه را که استفاده از مکمل‌های گونادوتروپین در اوایل پس از قوچ‌اندازی موجب افزایش باروری میش می‌شود را تایید می‌کند. چنین فرض شده است که تزریق این هورمون‌ها در اوایل آبدستی از طریق لوتئینه کردن فولیکول‌های غالب روی تخمدان و در نتیجه ایجاد جسم زردهای کمکی و یا با اثر لوتئوتروپیک روی جسم زرد آبدستی موجب افزایش تولید پروژسترون شده که این نیز به نوبه خود منجر به افزایش کارایی تولیدمثلی در دام‌های تحت درمان می‌شود (۱۰، ۱۲). شناسایی آبدستی توسط میش شامل ترشح اینترفرون τ (IFN τ) توسط سلول‌های تروفوبلاستیک بلاستوسیت بین روزهای ۱۳ تا ۲۱ پس از جفت‌گیری است (۱). اینترفرون τ بیان گیرنده‌های اکسی-توسین و استروژن را مهار می‌کند و از این طریق از آزادسازی پالسی $PGF_{2\alpha}$ جلوگیری می‌کند (۷). مطالعات در گوسفند نشان می‌دهد که افزایش پروژسترون در اوایل آبدستی موجب افزایش ترشح IFN τ شده و در نتیجه مانع تحلیل جسم زرد شده و آبدستی ادامه می‌یابد. تزریق hCG در دوره پس از قوچ‌اندازی غلظت پروژسترون و استرادیول سرم را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (۱۱). همچنین در یک مطالعه دیگر، نفیو و همکاران (۱۹۹۴) گزارش دادند که تزریق hCG در روز ۱۱/۵ پس از قوچ‌اندازی غلظت پروژسترون پلازما را افزایش می‌دهد (۹). این افزایش سطح پروژسترون موجب رشد سریع بلاستوسیت شده و در نتیجه رویان IFN τ بیشتری ترشح کرده که این پدیده مانع تحلیل جسم زرد شده و در نهایت منجر به افزایش زنده‌مانی رویان می‌شود (۶). در مطالعه حاضر تزریق hCG نرخ بهره‌زایی را به طور معنی‌داری افزایش داد که با نتایج مطالعات محققین مختلف که نشان از موثر بودن درمان hCG در اوایل پس از قوچ‌اندازی یا تلقیح، بر روی نرخ بهره‌زایی و درصد آبدستی بود مطابقت

داشت (۲،۵). درصد چند قلوزایی در گروه hCG در مقایسه با گروه کنترل افزایش چشمگیری را نشان داد که از این نظر با یافته-های خان و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت داشت (۶). به طور کلی چنین نتیجه گیری می شود که تزریق hCG در روز ۱۱ پس از قوچ اندازی و در دوره بحرانی قبل از شناسایی آبستنی توسط مادر که همزمان با تحلیل جسم زرد می باشد، عملکرد تولیدمثلی میش را افزایش می دهد.

جدول ۱: مقایسه درصد آبستنی و نرخ بره زایی در میش های گروه کنترل و hCG

SEM	hCG	کنترل	
---	۱۲	۱۲	تعداد میش درمان شده
۱۵	۸۵/۷	۷۲/۷	درصد آبستنی
۴۰	*۳۰۷/۸	*۲۰۱/۷	نرخ بره زایی
۱۱	**۷۱	**۱۶	درصد چند قلوزایی

* و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

منابع

1. Abecia, J. A., Forcada, F. & Lozano, J. M. (1999). A preliminary report on the effect of dietary energy on prostaglandin F2 α production in vitro, interferon-tau synthesis by the conceptus, endometrial progesterone concentration on days 9 and 15 of pregnancy and associated rates of embryo wastage in ewes. *Theriogenology*, 52, 1203-1213.
2. Akif-Cam, M. & Kuran, M. (2004). Effects of a single injection of hCG or GnRH agonist on day 12 post mating on fetal growth and reproductive performance of sheep. *Animal Reproduction Science*, 80, 81-90.
3. Atsan, T., Emsen, E., Yaprak, M., Dagdemir, V. & Diaz, C. (2007). An economic assessment of differently managed sheep flocks in eastern Turkey. *Italian Journal of Animal Science*, 6, 407-414.
4. Bazer, F. W., Ott, T. L. & Spencer, T. E. (1998). Maternal recognition of pregnancy: comparative aspects—a review. *Trophoblast Research*, 12, 375-386.

5. Khan, T. H., Beck, N. F. G. & Khalid, M. (2007). The effects of GnRH analogue (buserelin) or hCG (Chorulon) on Day 12 of pregnancy on ovarian function, plasma hormone concentrations, conceptus growth and placentation in ewes and ewe lambs. *Animal Reproduction Science*, 102, 247-257.
6. Martal, J., Chene, N. Camous, S. Huynh, L. Lantier, F. Hermier, P. Haridon, R. Charpigny, G. Charlier, M. & Chaouat, G. (1997). Recent developments and potentialities for reducing embryo mortality in ruminants: the role of IFN and other cytokines in early pregnancy. *Reproduction, Fertility and Development*, 9, 355-380.
7. Moradi-Kor, N., Sadeghi, S. & Ziaei, N. (2012). Comparison reproductive Performance in Kermani ewes Treated with two synchronization methods and Subsequent eCG treatment out of the breeding season. *International Journal of Biological & Medical Research*, 3, 1485-1489.
8. Nephew, K. P., Cardenas, K. E. McClure, T. L. Ott, F. W. Bazer & Pope, W. F. (1994). Effects of administration of human chorionic gonadotropin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep. *Journal of Animal Science*, 72, 453-458.
9. Rajamahendran, R. & Sianangama, P.C. (1992). Effect of human chorionic gonadotrophin on dominant follicles in cows: formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. *Journal of reproduction and Fertility*. 95, 577-584.
10. Redden, R. R., Herron, B. J., Martinez, C. H. & Ross, T. T. (2006). Effects of hCG and Progesterone Administered to Ewes Post Breeding on Serum Concentrations of Progesterone and Estradiol. *American Society of Animal Science*, 57, 32-35.
11. Sianangama, P.C. & Rajamahendran, R. (1992). Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. *Theriogenology*, 38, 85-96.
12. Sirjani, M. A., Shahir, M. H., Kohram, H., Eskandarinasab, M. P. & Kermani Moakhar, H. (2011). The effects of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) injection a day prior or at controlled intravaginal drug-releasing (CIDR) removal on multiple births in Afshari ewes. *African Journal of Biotechnology*, 10, 12363-12367.
13. Spencer, T. E., Johnson, G. A., Bazer, F. W. & Burghardt, R. C. (2004). Implantation mechanisms: insights from the sheep. *Reproduction*, 128, 657-668.

The effect of post-mating hCG administration on reproductive performance of Merino × Afshari crossbred ewes

Rahman Hajizadeh^{1*}, Behnam Rostami¹, Mohammad Hossein Shahir¹, Davoud Aliyari¹,
Somayeh Moghadam¹, Reza Jafari¹

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

* Corresponding E-mail address: rahman.hajizadeh.66@gmail.com

Early embryonic mortality is one of the main reproductive problems in farm animals. Inadequate secretion of progesterone from the corpus luteum at early pregnancy is one of the main reasons for this loss. Administration of hCG with increased secretion of progesterone may improve the corpus luteum function. The purpose of this experiment was to study the effects of IM injection of 400 IU of hCG, at day 11 after mating on reproductive performance of Merino × Afshari

crossbred ewes. 24 Merino $\times$ Afshari crossbred ewes were allocated randomly in two experimental groups (n=12/groups). For synchronization of estrus, all ewes received CIDRs for 12 days. 17 hours following CIDR removal, estrus detection was performed using teaser rams and then proven rams were introduced to the ewes. At day, 11 after mating, ewes in hCG group, received IM injection of 400 IU hCG. Ewes in Control group received the same volume of the normal saline. The results of this experiment showed that the pregnancy rate of ewes in hCG group was 13 percent more than ewes in control group ($P > 0.05$). The Lambing rate in hCG group (307.8 %) was greater than control group (201.7 %, $P < 0.1$). Moreover, percent of multiple births in hCG group was greater than that in control group ($P < 0.01$). The results of this study showed that hCG injection 11 days after mating could improve the reproductive performance of the ewes.

KEY WORDS: Reproductive performance- Pregnancy rate- Lambing rate- hCG

بررسی تاثیر تزریق ویتامین B₁₂ و PMSG بر میزان دوقلو زایی و نرخ بره زایی میش های آمیخته افشاری × مریнос

خدیجه عابدی^۱، محمدحسین شهیر^۲، مرتضی یآوری^۳، مصطفی ملکی^۴، مصطفی خدابنده لو^۳

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه زنجان، ۲. به ترتیب عضو هیئت علمی دانشگاه زنجان، دامپزشکی همدان و دانشگاه

بوعلی سینا، ۳.

دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه بوعلی سینا

khadijeabedi@yahoo.com

چکیده

هدف تحقیق حاضر بررسی صفات تولید مثلی (درصد بره زایی و دوقلو زایی) در میش های افشاری × مریнос بود. ۳۲ راس میش ۱-۲ ساله از نژاد آمیخته افشاری × مریнос در فصل جفت گیری انتخاب و برای همزمانی فحلی به مدت ۱۴ روز سیدر گذاری شدند. تحقیق حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمایش فاکتوریل ۲×۲ با سطوح تزریق و عدم تزریق B₁₂ و PMSG انجام شد. دلیل مقایسه این دو ترکیب اثرات هورمونی و تغذیه ای می باشد. میشها به طور تصادفی به ۴ گروه مساوی از جمله یک گروه شاهد و سه گروه تیمار (n=8) تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از، تیمار ۱: عدم دریافت B₁₂ و دریافت PMSG، تیمار ۲: دریافت B₁₂ و عدم دریافت PMSG، تیمار ۳: دریافت B₁₂ و PMSG. میش ها دو بار در هفته به فاصله ی ۳ روز از هم به مقدار ۴ میلی لیتر طی ۵ نوبت ویتامین B₁₂ را به صورت تزریق عضلانی دریافت کردند. اولین تزریق B₁₂ به گوسفندان ۳ روز قبل از سیدر گذاری و ۱۶ روز قبل از جفت گیری بود. بعد از برداشت سیدر ۴۰۰ واحد هورمون PMSG به صورت عضلانی به نیمی از میشها (تیمارهای یک و سه) تزریق شد. نتایج نشان داد که درصد بره زایی و دوقلو زایی در تیمار ۳ که ویتامین B₁₂ و هورمون PMSG را با هم دریافت کرده بودند (به ترتیب ۱۸۷،۵ و ۷۵ درصد) نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود (P<۰/۰۵). درصد میش هایی که در اولین قوچ اندازی آبستن شده اند در تیمار ۳ بیشتر از سایر تیمارها بود و گوسفند قصری در تیمار ۳ مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: درصد دوقلو زایی - درصد بره زایی - میش - B₁₂ - PMSG

مقدمه

یکی از چالش های اصلی در بخش گله داری کم بودن بهره وری و ظرفیت تولید مثل آنهاست. برای حفظ و تضمین ادامه فعالیت بخش پرورش گوسفند بایستی تولید سرانه هر دام را افزایش دهیم. تولید مثل در گوسفندان تحت تأثیر چندین فاکتور نظیر ژنتیک و فاکتورهای محیطی از جمله تغذیه و فتوپریودیسم می باشد. به دلیل اینکه اکثر نژادهای گوسفندان پتانسیل چند قلو زایی را دارند از روشهای مدیریتی جهت تاثیر گذاشتن بر روی فاکتور های ذکر شده برای بالا بردن نرخ تولید مثلی به میزان زیادی استفاده می شود (۱). تغذیه ی صحیح و کافی میش از لحاظ کیفی و کمی و نحوه ی فعالیت تولید مثل و رشد جنین نقش اساسی دارد (۲). فولیکوژن، فرآیند پاسخگو به تغذیه می باشد که با علائم تغذیه ای که مستقیم و یا غیر مستقیم بر تخمدان اثر گذار هستند، سازگار می باشد. ویتامین ها و ریزمغذی ها وظایف تنظیمی بر روی فولیکوژن را دارا می باشد (۶). ویتامین B₁₂ (سیانو کوبالامین) شامل هسته ی مرکزی عنصر کبالت می باشد به طوریکه ۴٪ ویتامین را تشکیل می دهد (۲) ترکیب مهم جیره ای و تغذیه ای که فولیکوژن را تحریک می کند انرژی می باشد (۶). ویتامین B₁₂ در مسیر تولید انرژی به عنوان کوفاکتور آنزیم متیل مالونیل کوآنزیم موتاز عمل می کند و منجر به تولید اسید پروپیونیک و در نهایت گلوکز و انرژی می شود و فقدان آن مانع از عملکرد

بهینه آن می شود (۵). در این تحقیق برای افزایش صفات تولید مثلی (درصد بهره‌زایی و دوقلو زایی) در میشهای افشاری × مریнос از ویتامین B₁₂ استفاده شد و همچنین با تزریق PMSG به نیمی از میش‌ها، تأثیر افزایش ویتامین و نیز هورمون در صفات تولید مثلی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مرکز تحقیقات علوم دامی دانشگاه زنجان و در آذر ماه سال ۱۳۸۹ انجام شد. در این پژوهش، برای اثر ویتامین B₁₂ و هورمون PMSG بر روی دوقلو زایی و نرخ بهره‌زایی، ۳۲ راس میش ۱-۲ ساله از نژاد آمیخته افشاری × مریнос با وزن زنده تقریباً ۶۰ کیلوگرم در فصل جفت‌گیری انتخاب شد. تحقیق حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمایش فاکتوریل ۲×۲ با سطوح تزریق و عدم تزریق B₁₂ و PMSG انجام شد. میش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه مساوی از جمله یک گروه شاهد و سه گروه تیمار (n=8) تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی عبارتند از تیمار ۱: عدم دریافت B₁₂ و دریافت PMSG، تیمار ۲: دریافت B₁₂ و عدم دریافت PMSG، تیمار ۳: دریافت B₁₂ و PMSG تقسیم شدند. میش‌ها دو بار در هفته به فاصله ۳ روز از هم به مقدار ۴ ml طی ۵ نوبت ویتامین B₁₂ را به صورت تزریق عضلانی دریافت کردند. تزریق ویتامین بعد از خوراک دهی انجام شد فحلی تمام میش‌ها همزمان سازی شد و به مدت ۱۴ روز سیدر (CIDR, Eazi Breed, New Zealand) در واژن تمام میش‌ها گذاشته شد. اولین تزریق B₁₂ به گوسفندان ۳ روز قبل از سیدر گذاری و ۱۶ روز قبل از جفت‌گیری بود. بعد از برداشت سیدر ۴۰۰ واحد هورمون PMSG به صورت عضلانی به میش‌ها تزریق شد. ۲۴ ساعت بعد از تزریق جفت‌گیری طبیعی انجام شد. بعد از ۵ ماه از جفت‌گیری اولین زایمان‌ها در یک بازه زمانی ۱۰ روزه به عنوان زایمان‌های حاصل از همزمانی فحلی در نظر گرفته شد و زایمان‌های بعدی، میش‌هایی بودند که در چرخه‌های فحلی بعدی آبستن شده بودند. داده‌های درصد بهره‌زایی، دوقلو زایی و مرحله اول و دوم زایمان با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند و درصدها با استفاده از آزمون X² محاسبه شدند.

نتایج و بحث

در مطالعه حاضر برای بهبود صفات تولید مثلی از ویتامین B₁₂ استفاده شده است. شواهد نشان می‌دهد که این ویتامین به طور مستقیم و غیر مستقیم از طریق به کار گیری انرژی و ترشح هورمون‌های تولید مثلی روی فیزیولوژی نرمال تولید مثلی تأثیر دارد و باعث افزایش نرخ باروری و نرخ آبستنی، بهبود عملکرد تخمدان و کاهش تعداد سرویس آبستنی می‌شود در این پژوهش درصد بهره‌زایی و درصد دوقلو زایی در گروه شاهد به ترتیب ۱۶۲/۵ درصد و ۳۷/۵ درصد بوده است و بیشترین درصد زایش و دوقلو زایی مربوط به تیمار ۳ بوده به طوریکه درصد بهره‌زایی ۱۸۷/۵ درصد و درصد دوقلو زایی ۷۵ درصد بوده است. بنابراین با تزریق PMSG و مصرف ویتامین B₁₂ کافی درصد دوقلو زایی در این گروه نسبت به شاهد از ۳۷ درصد به ۷۵ درصد و درصد بهره‌زایی از ۱۶۲/۵ درصد به ۱۸۷/۵ درصد افزایش یافته است (P<۰/۰۵). در تیمار ۲ نیز درصد بهره‌زایی افزایش معنی داری داشت (P<۰/۰۵). درصد میش‌هایی که در اولین قوچ اندازی آبستن شده‌اند در تیمار ۳ بیشتر از سایر تیمارها بود و گوسفند قصری در تیمار ۳ مشاهده نشد. طی مطالعه‌ای که از بلوس‌های شکمبه‌ای حاوی برخی ویتامین‌ها بر روی میش‌های بلک‌فیس استفاده شد، دریافتند که درصد دوقلو زایی از ۲۵ درصد به ۴۲ درصد افزایش یافته است (۴). همچنین گزارش شد که نرخ بهره‌زایی از ۱۲۴ درصد به ۱۵۲ درصد در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافته بود. طی تحقیقات انجام شده گزارش شد که کمبود کبالت جیره ۱۶ یا ۵۷ روز قبل از شروع جفت‌گیری میش‌ها کاهش بهره‌زایی را بدنبال داشت (۳). با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه تزریق



توأم ویتامین B12 و هورمون PMSG باعث افزایش درصد بزه‌زایی و دوقلو زایی در گوسفندان آمیخته افشاری* مریнос شده است.

جدول ۱- تأثیر تزریق ویتامین B12 و PMSG بر صفات تولیدمثلی میش‌های آمیخته افشاری × مریнос

تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	شاهد	صفات تولیدمثلی
۱۸۷/۵(۱۵/۸) ^a	۱۸۵/۷۱(۱۳/۷) ^a	۱۶۲/۵(۱۳/۸) ^b	۱۶۲/۵(۱۳/۸) ^b	درصد بزه‌زایی (تعداد بزه/تعداد میش)
۷۵(۶/۸) ^a	۵۷(۴/۷) ^b	۵۰(۴/۸) ^b	۳۷/۵(۳/۸) ^c	درصد میش‌های دوقلوزا (تعداد)
۸۷/۵(۷/۸) ^a	۸۵(۶/۷) ^a	۶۲/۵(۵/۸) ^b	۷۵(۶/۸) ^b	درصد میش‌هایی که در اولین قوچ‌اندازی آبستن شدند (تعداد)
۱۲/۵(۱/۸) ^b	۱۲/۵(۱/۷) ^{ab}	۳۷/۵(۳/۸) ^a	۲۵(۲/۸) ^{ab}	درصد میش‌هایی که در قوچ-اندازی دوم آبستن شدند (تعداد)
۰	۱۲/۵(۱)	۰	۰	درصد میش‌های قصر (تعداد)

^{a,b} نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ردیف است.

تیمار ۱ فقط تزریق PMSG، تیمار ۲ فقط تزریق ویتامین B12 و تیمار ۳ تزریق توأم ویتامین B12 و هورمون PMSG

فهرست منابع

۱. خالداری، م. ۱۳۸۷. اصول پرورش گوسفند و بز. چاپ سوم، انتشارات جهاد دانشگاهی شعبه واحد تهران. ص ۵۶۰.
۲. سعادت نوری، م.، سیاه‌منصور، ص. ۱۳۷۵. اصول نگهداری و پرورش گوسفند. نشر اشرفی. ص ۴۹۴.

3. Fisher, g.e.j., Macpherson, A.1991. Effect of cobalt deficiency in the pregnant ewe on reproductive performance and lamb viability. J Research in Veterinary Science. 50:319-327.
4. Heming Way , R . G., J .J.Parkins and N . S. Ritchie. 2001. Enhanced reproductive performance of ewes given a sustained- release multi-trace element/vitamin ruminal bolus. Elsevier Sci 39(1):25-30.

5. Mitchell, L . M., G .Mccallum,K . Mackie , M .Ewell, A. Ainslie. And T.G.McEroy. 2005. Invitro Development of ovine oocytes from ewes of contrasting vitamin B₁₂ status .J. Rep. Fer. Develop 17(2): 222- 228.
6. Scaramuzzi, R J., Brown, H.M., Dupont, J.2010. Nutritional and Metabolic Mechanisms in the Ovary and Their Role in Mediating the Effects of Diet on Folliculogenesis. Reprod Dom Anim. 45 (Suppl. 3): 32-41.

Effect of vitamin B12 injection on lambing and twining rate in Afshari × Merinos crossbreed ewe's

Kh. Abedi¹, M. H. SHahir¹, M. Yavari², M.Maleki², M. KHodabandelo²

1, Zanzan University, 2 Bu Ali Sina University

khadijeabedi@yahoo.com

Abstract:

The objective of this study was to investigate the effect of b12 reproductive performances (lambing and twining rate) of Afshari × Merinos crossbreed ewe's. Thirty two ewes, 1-2 years old, during breeding season were, selected randomly and were synchronized with CIDR for 14 days and assigned randomly to four groups (n=8). The experimental design was 2×2 factorial arrangement in a completely randomized trial with two level of injection and no injection vitamin B₁₂ and PMSG. In control group, ewes were not received any vitamin and hormone, whereas in group 1,2 and 3 ewes were received eCG , B₁₂ and both of them respectively. Vitamin B₁₂, from 16 days before the start of tugging, twice a week and 4 ML in 5 time injected. On the day CIDR removal, 400 IU of eCG injected into half of ewes (n=16). Results showed that Lambing and twining rate increased in ewes received both vitamin B₁₂ and eCG (group 3). Also Conception rate increased in ewes received both of vitamin B₁₂ and eCG in group 3.

Key words: twining rate-lambing rate-ewe- B₁₂-PMSG

اثر تزریق ویتامین B₁₂ بر روند تغییرات وزن میشهای آمیخته افشاری × مریوس در مراحل مختلف آبستنی

خدیدجه عابدی^۱، محمدحسین شهیر^۲، مرتضی یآوری^۳، مصطفی ملکی^۴، مصطفی خداینده لو^۳

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه زنجان، ۲. به ترتیب عضو هیئت علمی دانشگاه زنجان، دامپزشکی همدان و دانشگاه

بوعلی سینا، ۳.

دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه بوعلی سینا

khadijeabedi@yahoo.com

چکیده

هدف تحقیق حاضر بررسی روند تغییرات وزن میشهای آمیخته افشاری × مریوس در مراحل مختلف آبستنی تحت تیمار تزریق ویتامین B₁₂ بود. ۳۲ راس میش ۱-۲ ساله از نژاد آمیخته افشاری × مریوس در فصل جفت گیری انتخاب و برای همزمانی فحلی به مدت ۱۴ روز سیدرگذاری شدند. تحقیق حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمایش فاکتوریل ۲×۲ با سطوح تزریق و عدم تزریق B₁₂ و PMSG انجام شد و دلیل مقایسه این دو، ترکیب روشهای تغذیه ای و هورمونی می باشد. میشها به طور تصادفی به ۴ گروه مساوی از جمله یک گروه شاهد و سه گروه تیمار هشت راسی تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از گروه شاهد، تیمار ۱: عدم دریافت B₁₂ و دریافت PMSG، تیمار ۲: دریافت B₁₂ و عدم دریافت PMSG، تیمار ۳: دریافت B₁₂ و PMSG. میش ها دو بار در هفته به فاصله ۳ روز از هم به مقدار ۴ میلی لیتر طی ۵ نوبت ویتامین B₁₂ را به صورت تزریق عضلانی دریافت کردند. اولین تزریق B₁₂ به گوسفندان ۳ روز قبل از سیدر گذاری و ۱۶ روز قبل از جفت گیری بود. بعد از برداشت سیدر ۴۰۰ واحد هورمون PMSG به صورت عضلانی به نیمی از میشها تزریق شد. وزن کشی میشها، در روز صفر آزمایش، اوایل (۳۵ روزگی)، اواسط (۴ ماهگی) و اواخر آبستنی (اواخر ماه پنجم) انجام شد. نتایج نشان داد که وزن میشها در طول دوره های مختلف آبستنی افزایش معنی داری دارد ($P < 0.05$). در مقایسه بین تیمارها در مرحله آخر آبستنی، تیمار ۳ بیشترین افزایش وزن و تیمار شاهد کمترین افزایش وزن را داشتند. این در حالی بود که تیمار ۳ بیشترین بره زایی را داشت.

کلمات کلیدی: وزن-میش -B₁₂-PMSG

مقدمه

افزایش نرخ تولید مثلی گله یک فاکتور مهم در افزایش سوددهی و سرمایه گذاری در گوسفند است. تغذیه ی صحیح و کافی میش از لحاظ کیفی و کمی و نحوه ی فعالیت تولید مثل و رشد جنین نقش اساسی دارد (۲). فولیکوژن، فرآیند پاسخگو به تغذیه می باشد که با علائم تغذیه ای که مستقیم و یا غیر مستقیم بر تخمدان اثر گذار هستند، سازگار می باشد. ویتامین ها و ریزمغذی ها وظایف تنظیمی بر روی فولیکوژن را دارا می باشد (۱۰). ویتامین B₁₂ (سیانو کوبالامین) شامل هسته ی مرکزی عنصر کبالت می باشد به طوریکه ۴٪ ویتامین را تشکیل می دهد (۲). انرژی جیره فولیکوژن را تحریک می کند (۱۰). ویتامین B₁₂ در مسیر تولید انرژی به عنوان کوفاکتور آنزیم متیل مالونیل کوآنزیم موتاز عمل می کند و منجر به تولید اسید پروپیونیک و در نهایت گلوکز و انرژی می شود و فقدان آن مانع از عملکرد بهینه می شود (۲).

تزریق ویتامین B₁₂ داخل عضلانی بوده و در تمامی مقالات تزریق B₁₂ به میش در حدود ۴ میلی لیتر است. و تنها در اینجا نقش این ویتامین در متابولیسم انرژی مورد بحث است. در این تحقیق برای و بررسی روند تغییرات وزن میشهای افشاری × مریوس از

ویتامین B₁₂ استفاده شد و همچنین با تزریق PMSG به نیمی از میش‌ها، تأثیر افزایش ویتامین و نیز هورمون در تغییرات وزن میش مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

این پژوهش در مرکز تحقیقات علوم دامی دانشگاه زنجان و در آذر ماه سال ۱۳۸۹ انجام شد. در این پژوهش، برای بررسی اثر ویتامین B₁₂ و هورمون PMSG بر روی دوقلو زایی و نرخ بره زایی، ۳۲ راس میش ۱-۲ ساله از نژاد آمیخته افشاری × مرینوس با وزن زنده تقریباً ۶۰ کیلوگرم در فصل جفت گیری انتخاب شد. تحقیق حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمایش فاکتوریل ۲×۲ با سطوح تزریق و عدم تزریق B₁₂ و PMSG انجام شد. میشها به طور تصادفی به ۴ گروه مساوی از جمله یک گروه شاهد و سه گروه تیمار هشت راسی تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از تیمار ۱: عدم دریافت B₁₂ و دریافت PMSG، تیمار ۲: دریافت B₁₂ و عدم دریافت PMSG، تیمار ۳: دریافت B₁₂ و PMSG تقسیم شدند.

میش‌ها دو بار در هفته به فاصله ۳ روز از هم به مقدار ۴ ml طی ۵ نوبت ۳ روز در میان ویتامین B₁₂ را به صورت تزریق عضلانی دریافت کردند. تزریق ویتامین بعد از خوراک دهی انجام شد. فحلی تمام میشها همزمان سازی شد و به مدت ۱۴ روز سیدر (CIDR, Eazi Breed, New Zealand) در واژن تمام میشها گذاشته شد. اولین تزریق B₁₂ به گوسفندان ۳ روز قبل از سیدر گذاری و ۱۶ روز قبل از جفت گیری بود. بعد از برداشت سیدر ۴۰۰ واحد هورمون PMSG به صورت عضلانی به میشها تزریق شد. ۲۴ ساعت بعد از تزریق جفت گیری طبیعی انجام شد. وزن کشی میشها ناشتا، در روز صفر آزمایش، اوایل (۳۵ روزگی) اواسط (۴ ماهگی) و اواخر آبستنی (اواخر ماه پنجم) با استفاده از باسکول دقیق انجام شد. خوراک تمامی میشها به صورت آزاد بود. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و نرم افزار spss انجام شد.

نتایج و بحث

در این مطالعه از میش‌ها طی ۴ دوره وزن کشی به عمل آمد و مقایسه میانگین وزن میش‌ها در طول دوره‌های مختلف آبستنی (جدول ۴-۵) تفاوت معنی داری را نشان داد ($P < 0.05$). در هر مرحله آبستنی نیز مقایسه بین تیمارها انجام شد و نتایج نشان داد که در اواخر آبستنی بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$). به رغم یکسان بودن وزن دام‌ها در شروع آزمایش تیمار ۳ سنگین‌ترین میش‌ها و تیمار شاهد سبک‌ترین میش‌ها را دارا بودند. تغذیه دام‌ها در سطح احتیاجات نگهداری بود و از تغییر ناگهانی سطح و نوع تغذیه جلوگیری به عمل آمد در نتیجه در اوایل آبستنی (۳۵ روزگی آبستنی) وزن میش‌ها کاهش نداشت.

جدول ۱- روند تغییرات وزن میش‌ها از زمان شروع آزمایش تا ماه آخر آبستنی

گروه (n=8)	شروع آزمایش	اوایل آبستنی	اواسط آبستنی	اواخر آبستنی	SEM (زمان)
گروه شاهد	^a ۶۰/۰۳	^b ۶۳/۸۳	^c ۶۹/۴	^d ۷۶/۱۷	۴/۰۴
گروه ۱	^a ۶۱/۷	^b ۶۲/۷۰	^c ۷۰/۳۰	^d ۷۶/۸۰	۳/۸۷



گروه ۲	^a ۶۰/۸	^b ۶۳/۶۸	^c ۷۰/۲۲	^d ۸۰/۹۷	۴/۰۶
گروه ۳	^a ۶۱/۸	^b ۶۳/۴۴	^c ۷۲/۶۹	^d ۸۲/۶۹	۴/۰۹
SEM(تیمار)	۲/۲۳	۳/۲۳	۳/۲۳	۳/۲۳	

^{a,b,c,d} حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ردیف است ($P < 0.05$).

گروه ۱ می‌شهایی که PMSG دریافت کرده‌اند، گروه ۲ می‌شهایی که ویتامین B12 دریافت کرده‌اند، گروه ۳ می‌شهایی که هم ویتامین و هم هورمون را دریافت کرده‌اند

در این پژوهش می‌ش‌ها از شرایط تغذیه و نمره بدنی تقریباً یکسانی برخوردار بودند لذا در ابتدای آبستنی نه تنها کاهش وزن می‌ش‌ها رخ نداد بلکه می‌ش‌ها افزایش وزن جزئی نیز داشتند. رشد جنین تا اواخر ماه سوم آبستنی کم است به طوری که وزن جنین در ماه سوم حدود ۱۵ درصد وزن تولد بره‌هاست لذا وزن دو جنین در یک می‌ش دوقلوها در ۹۰ روزگی آبستنی حدود ۱/۵ کیلوگرم می‌باشد (۱۲). همچنین تا انتهای ماه سوم رشد جفت کامل شده و به وزن نهایی خود که حدود یک کیلوگرم است می‌رسد، طی این دوره (تا انتهای ماه سوم آبستنی)، محدودیت مواد مغذی (برای مثال ۵۰ درصد) به شدت رشد و مورفولوژی جفت را تحت تأثیر قرار می‌دهد از این رو تغذیه اواخر آبستنی نمی‌تواند تأثیر زیادی روی رشد جفت داشته باشد (۶). در تحقیق ما میزان افزایش وزن تا اواسط آبستنی (۱۵ روزگی ماه چهارم) بیش از ۸ کیلو گرم بوده است. اگر مواد غذایی مورد نیاز برای می‌ش در سه ماه اول آبستنی تأمین نشود، این مقدار افزایش وزن در جنین و پرده‌های جنینی از بافت‌های بدن می‌ش جبران می‌شود و در نتیجه ۰/۵ واحد نمره وضعیت بدن حیوان کاهش می‌یابد (۱). تا دو ماه قبل از زایش، جفت به طور کامل رشد نموده ولی جنین فقط ۱۵ درصد وزن تولد خود را دارد. در این زمان بافت‌ها و اندام‌های عمده جنین تشکیل شده و پس از این مدت اندازه و وزن آن‌ها افزایش می‌یابد. در ماه‌های آخر آبستنی (ماه‌های چهارم و پنجم) وزن رحم و محتویات آن با توجه به اندازه می‌ش و تعداد جنین‌ها بین ۳-۶ کیلوگرم است. این مقدار حدود یک سوم وزن رحم‌های آبستن بلافاصله قبل از زایمان است. حدود ۸۵ درصد از رشد جنین در دو ماه آخر آبستنی و تقریباً ۷۰ درصد رشد جنین در مدت شش هفته آخر آبستنی انجام می‌گیرد (۴).

در مورد سازو کار متابولیکی مادری طی دوران آبستنی، مطالعه‌ای انجام شد که می‌ش‌هایی که در اواخر آبستنی در سطح تغذیه‌ای بالاتری هستند افزایش وزن بهتری دارند (۱۱). در اواخر آبستنی با توجه به بالا رفتن سطح احتیاجات و رشد جنین و افزایش نیاز بیشتر به دسترسی مواد گلوکوکورتیک پروپیونات در کبد نسبت به اوایل و اواسط آبستنی، نشخوارکنندگان خوراک مصرفی (جیره-های با کیفیت) خود را افزایش می‌دهند (۵). اما دیده شده که گلوکوکورتیز در می‌ش‌ها در اواخر آبستنی حتی در زمانی که خوراک مصرفی بالاتر از احتیاجات می‌ش‌های غیرآبستن نبوده، افزایش پیدا کرده است که این تا اندازه‌ای می‌تواند در ارتباط با تعداد جنین و نیازهای جنینی باشد. بخشی از این افزایش گلوکوکورتیز به برداشت لاکتات توسط کبد برمی‌گردد که در نتیجه متابولیسم بافت-های رحمی-جفت و افزایش گلیکولیز بافت‌های مادری ایجاد شده است (۳). در مطالعه‌ای که دو گروه جیره‌ای- با مقدار کافی ویتامین B12 و جیره‌ی MD (جیره‌هایی که از لحاظ گروه‌های دهنده متیل کمبود دارند) به می‌ش‌ها خوراندند که تفاوت معنی-داری در افزایش وزن می‌ش‌ها گزارش نکردند (۷). محققان گزارش کردند وزن زنده می‌ش‌هایی که مکمل کبالت و ویتامین B12 دریافت کرده‌اند تفاوت معنی‌داری با وزن می‌ش‌هایی که این مکمل را دریافت نکرده بودند، نداشت (۹).

فهرست منابع

۱. خالداری، م. ۱۳۸۴. اصول پرورش گوسفند و بز. چاپ دوم، انتشارات جهاد دانشگاهی شعبه واحد تهران.

۲. سعادت نوری، م.، سیاه منصور، ص. ۱۳۷۵. اصول نگهداری و پرورش گوسفند. نشر اشرفی. ص ۴۹۴.

3. Bell, A.W., Ehrhardt, R. A. 2000. Regulation of placental nutrient transport and implications for fetal growth. Nutrient research reviews. 15:211-230.
4. Brink, D.R. 1990. Effects of body weight gain in early pregnancy on feed intake, gain, body condition in late pregnancy and lamb weights. J Small Rumin Res. 3:421-44.
5. Forbes, J.M. 1986. The effect of hormones, pregnancy and lactation on digestion, metabolism and voluntary intake. New jersey. pp:420-435.
6. Heasman, L., Clarke, L., Frith, k., Stephenson, T., Symonds, M.E. 1998. Influence of restricted maternal nutrition in early to mid gestation on placental and fetal development at term in sheep. Pediatric research. 44:546-551.
7. Kanakkaparambil, R., Singh, R., Li, D., Webb, R., Sinclair, K.D. 2009. B-Vitamin and Homocysteine Status Determines Ovarian Response to Gonadotropin Treatment in Sheep J Biol. Reprod. 80: 743-752.
8. Mitchell, L. M., G. McCallum, K. Mackie, M. Ewell, A. Ainslie. And T.G. McEroy. 2005. In vitro Development of ovine oocytes from ewes of contrasting vitamin B₁₂ status. J. Rep. Fer. Develop 17(2): 222- 228.
9. Mitchell, L.M, Robinson, J.J., Watt, R.G., McEvoy, T.G., Ashworth, C.J., Rooke, J.A., Dwyer, C.M. 2007. Effects of cobalt/vitamin B₁₂ status in ewes on ovum development and lamb viability at birth. J.Reprod. Fert. Develop. 19: 553-562.
10. Scaramuzzi, R J., Brown, H.M., Dupont, J. 2010. Nutritional and Metabolic Mechanisms in the Ovary and Their Role in Mediating the Effects of Diet on Folliculogenesis. Reprod Dom Anim. 45 (Suppl. 3): 32-41
11. Treacher, T.T. 1971. Effect of nutrition in pregnancy and in lactation on milk yield in ewes. J Anim Prod. 13:493-501.
12. Wallace, H.M., Bourke, D.A., Aitken, R.P. 1999. Nutrition and fetal growth: paradoxical effects in the overnourished adolescent sheep. J Reprod Fertil Suppl. 54:385-399.

Effect of vitamin B₁₂ in jection on change of weight in Afshari × Merinos crossbreed ewes at various stages of pregnancy

Kh. Abedi¹, M. Yavari², M. H. SHahir¹, M. Maleki², M. KHodabandelo²

1, Zanjan University, 2 Bu Ali Sina University

khadijeabedi@yahoo.com

Abstract:

The objective was to study change of weight in Afshari × Merinos crossbreed ewes at various stages of pregnancy. Thirty two ewes, 1-2 years old, during the breeding season, selected randomly. The ewes synchronized with CIDR for 14 days and assigned randomly to four equally groups (n=8). The experimental design was 2×2 factorial arrangement in a completely random trial with two level of injection and no injection vitamin B₁₂ and PMSG. In control group, ewes were not received any vitamin and hormone, whereas in group 1, 2 and 3 ewes were received eCG, B₁₂ and both of them respectively. Vitamin B₁₂, from 16 days before the start of tupping, twice a week and 4 ML in 5 time injected. On the day CIDR removal, 400 IU of eCG injected into half of ewes (n=16). Ewes weighted



in 1, thirty five, 4th month and 5th month of pregnancy. Result showed that ewe live weight increase in various stage pregnancy ($P < 0.05$). In contrast, between the experimental groups, treatment 3 has highest increase in live weight gain and control group has lowest increase in live weight gain whereas treatment 3 has highest lambing rate.

Key words: weight-ewe-B12-PMSG

اثر نانوذرات نقره بر واکنش اسپرم-غشای پری ویتلین داخلی بلدرچین ژاپنی در شرایط آزمایشگاهی

ناصر کارشی^{۱*}، امجد فرزین پور^۲، اسعد وزیری^۳ و عباس فرشاد^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه کردستان، ^۲ استادیار و ^۳ دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه کردستان

naserk006@yahoo.com

*نویسنده مسئول: ناصر کارشی

چکیده

سمیت سلولی نانوذرات زمینه پژوهشی برجسته‌ای در سال‌های اخیر بوده است. کاربرد نانوسیلور به عنوان ضد عفونی کننده قوی در مزارع پرورشی اخیراً رایج شده است. با ظهور پاتوژن‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها، استفاده از نانوذرات نقره اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است، با این وجود اثرات سمی نیز بر روی سلامت انسان و محیط زیست نشان می‌دهد. هدف از این مطالعه بررسی اثر نانوسیلور بر واکنش اسپرم-تخمک از طریق تست نفوذپذیری اسپرم به غشای پری ویتلین داخلی^{۵۸} (IPVL) بلدرچین ژاپنی در شرایط آزمایشگاهی است. توانایی اسپرم برای انجام واکنش آکروزومی می‌تواند به وسیله شمارش تعداد نقاط هیدرولیز (سوراخ) در IPVL ارزیابی شود. اسپرم در محلول حاوی غلظت‌های صفر، ۰/۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ ppm نانوذرات نقره رقیق شد. سپس سوسپانسیون‌های اسپرم به همراه IPVL در انکوباسیون قرار داده شد. تعداد سوراخ‌های قابل رؤیت در ۲ mm² سطح غشاء شمارش و آنالیز شدند (p<0.05). نتایج نشان می‌دهد که تعداد سوراخ‌ها در غلظت‌های ۱ و ۱۰ ppm نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت. غشای آکروزم حساس‌ترین نقطه به آسیب است، بنابراین این احتمال وجود دارد که با توجه به افزایش تعداد سوراخ‌ها، نانوذرات نقره توانسته‌اند غشای آکروزومی را تخریب کنند.

کلمات کلیدی: نانوذرات نقره-اسپرم-غشای پری ویتلین داخلی-واکنش آکروزومی-بلدرچین ژاپنی

مقدمه

امروزه نانو تکنولوژی و نانوذرات به طور وسیعی در رشته‌های مهندسی هوا فضا، الکترونیک، بیوسنسجش، تکنیک‌های تعیین جنسیتی، فلوسیتومتری، پوشاک، صنعت غذا، رنگ، ضد آفتاب، لوازم آرایشی، برجسب‌های فلئوئورسنت، تجهیزات پزشکی و محصولات مصرفی استفاده می‌شوند. نانومواد زیستی در محدوده ۱۰۰-۱ nm تعریف شده‌اند^(۲). در این میان، تمایل به استفاده از نقره بعنوان عامل ضد میکروبی به دلیل ظهور مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها در میان جمعیت‌های میکروبی و عدم وجود مقاومت به نقره رو به افزایش است^(۱). تخمین زده شده است که نسبت به همه نانوذرات در محصولات مصرفی، نانوذرات نقره^(۹) (Ag NPs) اخیراً بالاترین درجه تجارتي را دارند^(۱۱). نانوسیلور فعالیت ضد میکروبی بالقوه‌ای نسبت به بیشتر میکروب‌های بیماری‌زا دارد. نقره به خاطر طیف گسترده عملکردش بر علیه تقریباً ۶۵۰ نوع متفاوت ارگانیسم‌های بیماری‌زا منحصر به فرد است^(۷). به علاوه، کاربرد نانوذرات نقره به عنوان ضد عفونی کننده قوی در مزارع پرورشی طیور اخیراً رایج شده است. چون یون‌های نقره، به تعداد زیادی از پروتئین‌های مختلف در سلول‌ها حمله می‌کنند، میکروارگانیسم‌ها قادر به ایجاد مقاومت در برابر نقره به وسیله جهش نخواهند بود^(۵). اگرچه نانوسیلور فعالیت ضد میکروبی دارد، اما اثرات سمی نیز بر روی سلامت انسان و محیط زیست نشان می‌دهد. مواد در مقیاس نانو می‌توانند با عبور از غشاهای سلولی که برای ذرات بزرگتر غیر قابل دسترس هستند، به فضاهای بیولوژیکی دسترسی پیدا کنند^(۸). به تازگی سمیت سلولی نانوذرات نسبت به سلول‌های بنیادی زایشی نگرانی زیادی در مورد

⁵⁸ Inner Perivitelline Layer

⁵⁹ Ag nanoparticle

ایمنی زیستی نانومواد ایجاد کرده است. تجویز داخل پریتونیم نانوذرات به موش‌ها موجب جمع شدن آنها در سلول بافت‌هایی از جمله مغز و بیضه می‌شود، براساس این گزارشات این ذرات به آسانی از عرض سدهای خونی-مغزی و خونی-بیضه‌ای عبور می‌کنند (۴). اسپرماتوزن فرایند بیولوژیکی پیچیده‌ای است که به عوامل استرس‌زای فیزیولوژیکی و شیمیایی بسیار حساس است. سم‌های مؤثر بر دستگاه تولیدمثلی که سلول‌های زایا را هدف قرار می‌دهند پتانسیل ایجاد تغییراتی را دارند که می‌توانند با مکانیسم‌های ژنتیکی یا اپی ژنتیکی به نسل‌های آینده انتقال یابند. در پرندگان، غشای پری‌ویتلین از نظر عملکرد، همتای زوناپلوسیدای پستانداران است و به عنوان جایگاه اولیه اتصال اسپرم و القا کننده واکنش آکروزومی عمل می‌کند (۹). غشای پری‌ویتلین داخلی^{۶۰} (IPVL) جدا شده از تخم، به عنوان ماده‌ای که به آسانی قابل دسترس است، برای مطالعه واکنش اسپرم-تخمک در شرایط *in vitro* مورد استفاده قرار می‌گیرد. اسپرم برای رسیدن به تخمک باید غشای پری‌ویتلین را هیدرولیز کند، سپس از این غشاء گذشته و به تخمک می‌رسد (۶). در شرایط *in vitro* اسپرم می‌تواند به یک تکه IPVL نفوذ کند که منجر به ایجاد سوراخ در IPVL می‌شود. توانایی اسپرم بلدرچین برای واکنش با تخم می‌تواند به وسیله شمارش تعداد سوراخ‌ها در IPVL ارزیابی شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر نانوسیلور بر واکنش اسپرم-تخمک از طریق روش تست نفوذپذیری اسپرم به غشای پری‌ویتلین داخلی بلدرچین در شرایط آزمایشگاهی است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق اسپرم مورد نیاز از ۱۵ قطعه بلدرچین نر ژاپنی با سن ۳۰ هفته تهیه گردید. بعد از کشتار، واژدفرنس جدا شده و در میکروتیوب حاوی سوسپانسیون قرار داده شد. غشای پری‌ویتلین نیز از تخم تازه تهیه شد. گروه‌های آزمایشی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی شامل پنج تیمار صفر، ۰/۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ ppm نانوسیلور در میلی لیتر اسپرم رقیق شده با ۳ تکرار، مورد مطالعه قرار گرفتند. برای آزمایش اثر نانوذرات نقره بر قابلیت نفوذپذیری اسپرم، اسپرم در محلول رینگر حاوی رقت‌های نانوسیلور رقیق شده^{۶۱} (۴×۱۰^۶ اسپرم در میلی لیتر) و به همراه IPVL در دمای ۳۹ °C به مدت ۴۰ دقیقه در انکوباسیون قرار داده شدند. بعد از انکوباسیون، میکروتیوب در آب حمام ۴°C قرار داده شده، IPVL چندین بار در PBS سرد برای حذف اسپرم‌هایی که بطور ضعیف چسبیده‌اند، شسته شده و سپس روی اسلاید شیشه‌ای گسترده شد. در نهایت با فرمالین ۲۰٪ به مدت ۲۰ ثانیه تثبیت شده و سپس با معرف Schiff به مدت ۱۰ دقیقه رنگ‌آمیزی گردید. تعداد سوراخ‌های قابل رؤیت در ۲ mm² سطح IPVL زیر میکروسکوپ نوری شمارش شده و داده‌های بدست آمده توسط نرم‌افزار SAS با رویه GLM در قالب طرح کامل تصادفی آنالیز شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد (P<0.05).

مدل آماری به صورت زیر خواهد بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

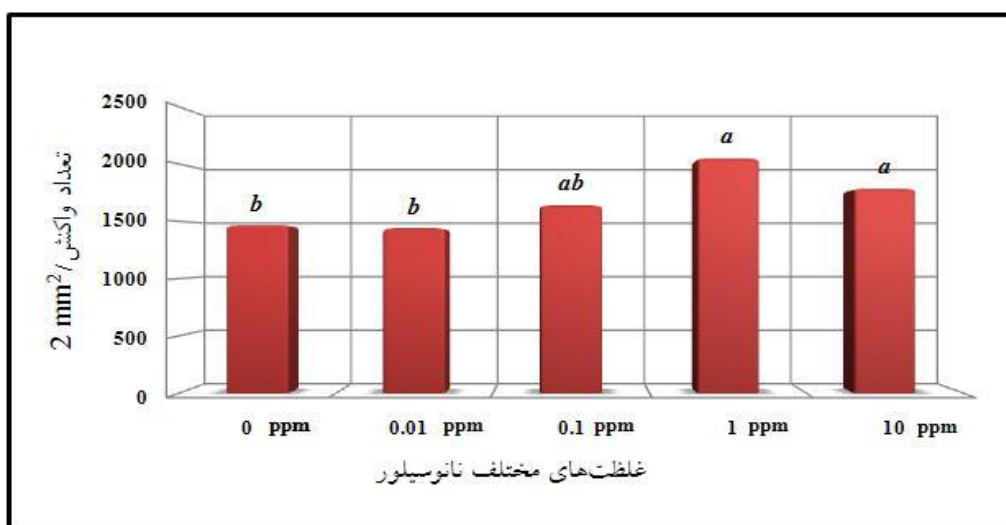
نتایج و بحث

نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات نقره در غلظت‌های ۱ و ۱۰ ppm اثر معنی‌داری بر افزایش تعداد سوراخ‌ها نسبت به شاهد دارند (P<0.05) (تصویر ۱). تعداد نقاط هیدرولیز در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۱ ppm تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت. این

⁶⁰ Inner perivitelline layer



آزمایش نشان می‌دهد که اثرات سمی نانوذرات نقره در غلظت ۱ ppm شروع شده است. نانوذرات طلا توانسته‌اند به سلول‌های اسپرم نفوذ کنند که ممکن است منجر به تکه تکه شدن اسپرم شوند (۱۰). تغییر پذیرترین غشای اسپرم، غشای آکروزومی است. این بدین معنی است که غشای آکروزوم حساس‌ترین نقطه به آسیب است. بنابراین احتمال دارد که نانوذرات نقره بتوانند غشای آکروزومی را تخریب کنند. معنی‌داری واکنش‌ها در ۱ و ۱۰ ppm می‌تواند نشان‌دهنده اثر تخریبی نانوذرات نقره بر غشای آکروزومی اسپرم باشد. گزارش شده است که نانوذرات نقره بر روی سلول‌های اسپرماتوگونی موش اثرات سمی نشان می‌دهند. این اثرات در غلظت‌های ۵ و ۱۰ $\mu\text{g/ml}$ شروع شده است (۲). باید توجه داشت که هیچ مکانیسم محافظتی در بیضه وجود ندارد، بنابراین حتی یک دوز کوچک نانوذرات نقره می‌تواند برای سیستم تولیدمثلی سمی باشد. در حالی که انتظار می‌رود اثرات زیست محیطی نانومواد افزایش قابل ملاحظه‌ای در آینده داشته باشد، رفتار این ذرات بسیار ریز در داخل سلول‌ها هنوز یک معما است. از این رو سمیت سلولی نانوذرات یک زمینه پژوهشی قوی در سال‌های آینده خواهد بود.



تصویر ۱: اثر غلظت‌های مختلف نانوسیلور بر واکنش اسپرم-تخمک. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد ($P < 0.05$).

منابع

1. Arora, S., J. Jain, J.M. Rajwade, and K.M. Paknikar. 2008. Cellular responses induced by silver nanoparticles: in vitro studies. *Journal of Toxicology Letters*. 179: 93-100.
2. Braydich-stolle, L., S. Hussain, J.J. Schlager, and M.C. Hofmann. 2005. In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. *Journal of Toxicology Science*. 88. 412-419.
3. Graham, J.K. 2001. Assessment of sperm quality. *American Association of Equine Practitioners*. 47:302-305.
4. Kim, J.S., T.J. Yoon, K.N. Yu, B.G. Kim, S.J. Park, H.W. Kim, K.H. Lee, S.B. Park, J.K. Lee, and M.H. Cho. 2006. Toxicity and tissue distribution of magnetic nanoparticles in mice. *Toxicological Science*. 89: 338-347.

5. Krutyakov, Y.A., A.A. Kudrinskiy, A.Y. Olenin, and G.V. Lisichkin. 2008. Synthesis and properties of silver nanoparticles: advances and prospects. *Russian Chemical Reviews*. 77: 233-257.
6. Robertson, L., H.L. Brown, H.J. Staines, and G.J. Wishart. 1997. Characterization and application of an avian in vitro spermatozoa-egg interaction assay using the inner perivitelline layer from laid chicken eggs. *Journal of Reproduction and Fertility*. 110: 205-211.
7. Singh, M., S. Singh, S. Prasad, and I.S. Gambhir. 2008. Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 3: 115-122.
8. Stratmeyer, M.E, P.L. Goering, V.M. Hitchins, and T.H. Umbreit. 2010. What we know and don't know about the bioeffects of nanoparticles: developing experimental approaches for safety assessment. *Biomedical Microdevices*. 12: 569-573.
9. Win, M.M., H. Tatemoto, K. Ashizawa, and T. Nakada. 2006. Effects of diethylstilbestrol administration on sperm penetration into the inner perivitelline layer of Japanese quail, *Coturnix japonica*. *Poultry Science*. 43: 67-74.
10. Wiwanitkit, V., A. Sereemasapun, R. Rojanathanes. 2007. Effect of gold nanoparticles on spermatozoa: the first world report. *Fertility and sterility*. 91: 7-8
11. www.nanotechproject.org/consumerproducts

In vitro effects of silver nanoparticle on sperm-inner perivitelline membrane interaction of Japanese quail

Naser karashi*, amjad farzinpour, asaad vaziry and abbas farshad

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

Corresponding Email address: naserk006@yahoo.com

Abstract

Cytotoxicity of nanoparticles has been a robust research area in recent years. The application of silver nanoparticles as a powerful disinfection agent in the poultry farm has recently been recommended. There is a growing concern about the emergence of drug-resistant pathogens, so the use of nanosilver has special dimension; however, silver nanoparticle also has toxicity effects on human and environment health. The purpose of this study is evaluation of the effect of nanosilver in sperm-egg interaction through the sperm membrane penetration test to inner perivitelline layer (IPVL) of Japanese quail in vitro. The Ability of sperm to acrosome reaction can be assessed by counting of number of points of hydrolysis (holes) in IPVL. The sperm was diluted in medium containing 0, 0.01, 0.1, 1, 10ppm of nanosilver. The sperm suspensions were then incubated with IPVL. The number of all visible holes per 2mm² of IPVL was counted and analyzed (p<0.05). The results indicated that the number of holes in concentration of 1 and 10ppm were significantly increased compared to control. The acrosomal membranes are the most susceptible to damage, therefore there is likely that with regard to increased holes, silver nanoparticle have been able to destruction of acrosome membrane.

Keyword: silver nanoparticle- sperm- inner perivitelline layer- acosome reaction- Japanese quail

اثر مکمل روی-متیونین خوراکی بر میزان هورمون های GH، IGF-I و تستوسترون در میش های نژاد نائینی

ندا جعفرپور*، حمیدرضا رحمانی، محمد خوروش و محمدعلی ادریس

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

* ندا جعفرپور، n.jafarpour@ag.iut.ac.ir

چکیده

این مطالعه به بررسی پاسخ های عملکردی مربوط به رشد میش های نژاد نائینی نسبت به استفاده از سطوح مختلف مکمل روی-متیونین می پردازد. در این آزمایش ۱۶ رأس میش بالغ (حدود ۲-۵ ساله) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار در هر تیمار اجرا شد. تیمارها به صورت گروه شاهد، گروه دریافت کننده ۴/۰ گرم مکمل روی-متیونین، گروه دریافت کننده ۸/۰ گرم مکمل روی-متیونین و گروه دریافت کننده ۲/۱ گرم مکمل روی-متیونین بودند. میزان مکمل مورد استفاده برای هر تیمار با ۳۰۰ cc آب مخلوط شده و به مدت دو هفته به صورت اجباری به تک تک میش ها بوسیله دستگاه شربت خوری خورانده شد. نتایج بدست آمده از این بخش اثرگذار بودن سطوح ۸/۰ و ۲/۱ گرم مکمل روی-متیونین را بر کاهش GH ($p < 0.05$) و افزایش IGF-I نشان دادند ($p < 0.02$). با توجه به نتایج بدست آمده، اثرگذاری مکمل روی-متیونین بر مسیر چگونگی در دسترس قرار گرفتن هورمون رشد در سلول های کبدی بوده و با افزایش جذب GH در کبد میزان آن در خون کاهش یافته و از آنجاییکه IGF-I تحت تأثیر این هورمون در کبد ساخته می شود، میزان آن در خون افزایش یافت. میزان تستوسترون در خون میش ها نیز با افزایش سطوح مکمل روی-متیونین افزایش یافت ($p < 0.02$). تمام نتایج بدست آمده از این آزمایش حاکی از اثرگذاری عنصر روی بر رشد از طریق هورمون های درگیر می باشد.

واژگان کلیدی: مکمل روی-متیونین، رشد، هورمون، میش

مقدمه

مبحث رشد و تکامل یکی از مسائل مهم و قابل توجه در صنعت دامپروری به شمار می آید. در تحقیقاتی که حدود ۶۸ سال پیش انجام گرفت، برای اولین بار مشخص شد که عنصر روی یک فاکتور مهم برای رشد موش ها می باشد و پس از آن بود که نقش وسیع این عنصر در تمام حیوانات از جمله طیور، خوک و نشخوارکنندگان به اثبات رسید (۱۱). یکی از علائم کمبود روی به صورت توقف در رشد نمایان می شود (۴). رشد از طریق تقسیم سلولی انجام می گیرد و عنصر روی دارای نقش های بسیار وسیع و متعددی در فرآیند رونویسی و بیان ژن به عنوان یک کوفاکتور برای بسیاری از آنزیم های درگیر در این فرآیندها می باشد. هورمون ها نیز از عوامل مهم برای رشد و همئوستاز بدن می باشند. بسیاری از هورمون ها در مراحل ستنز، نسخه برداری از ژن و بسته بندی، نیازمند فلزات و نافلزات اختصاصی از جمله عنصر روی می باشند. از جمله هورمون هایی که نقش عمده ای در فرآیند رشد دارند، GH و IGF-I می باشند. تحقیقات بسیار وسیعی در رابطه با ارتباط بین عنصر روی و این هورمون ها روی موش انجام گرفته و دیده شده که استفاده از جیره های دارای کمبود روی منجر به کاهش در ترشح هورمون های فوق می گردد (۱، ۴، ۷). چگونگی تأثیرگذاری این کاتیون بر ترشح این هورمون ها به طور کامل شناخته نشده است. این مطالعه به منظور بررسی آثار

عنصر روی هنگامی که به صورت کیلاته شده همراه با میتونین و در میزان های مختلف مورد استفاده قرار گیرد بر روند ترشح هورمون های GH، IGF-I و تستوسترون طراحی شده است.

مواد و روش ها

در این تحقیق از تعداد تعداد ۱۶ راس میش نائینی با سن تقریبی ۲/۵-۲ سال و وزن تقریبی 45 ± 5 کیلوگرم استفاده شد. طرح به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار در داخل هر تیمار اجرا گردید. برنامه ی تغذیه به همان صورت قبل از ورود به طرح اجرا شد. تغذیه ی تمام میش به صورت یکسان در طی دو وعده انجام می گرفت. جیره فقط یونجه ی خشک بود که به صورت آزاد در اختیار آن ها قرار می گرفت. میزان مصرف خوراک توسط هر تیمار روزانه به صورت میانگین اندازه گیری می شد که میش های هر تیمار حدود ۱-۲ کیلوگرم ماده خشک روزانه مصرف می کردند که معادل دریافت روزانه حدود ۲۳-۲۸ میلی گرم عنصر روی توسط هر میش بود. ۷ روز به عنوان دوره ی عادت پذیری به جایگاه جدید و شرایط آزمایش در نظر گرفته شد. مدت اجرای طرح ۱۴ روز بود. به دلیل کم بودن میزان Zn-Meth مورد استفاده به ازاء هر راس میش و مشکل بودن مخلوط کردن آن با جیره ی غذایی آن ها، Zn-Meth با ۳۰ cc آب مخلوط شده و به صورت اجباری به تک تک گوسفندا بعد از نوبت خوراک دهی وعده ی صبح بوسیله ی دستگاه شربت خوری خورانده شد. تیمارهای اعمال شده به صورت تیمار شاهد: ۳۰ cc آب، تیمار ۱: ۳۰ cc آب + ۴/۰ gr مکمل Zn-Meth، تیمار ۲: ۳۰ cc آب + ۸/۰ gr مکمل Zn-Meth، تیمار ۳: ۳۰ cc آب + ۲/۱ gr مکمل Zn-Meth بودند. خونگیری در روزهای ۲ و ۸ و ۱۴ آزمایش انجام شد. تمام داده های به دست آمده با استفاده از رویه ی GLM نرم افزار SAS تجزیه شدند. سطح معنی داری ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد. مقایسه ی میانگین برای تمام صفات مورد نظر با روش آزمون چند دامنه ای دانکن صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این بخش حاکی از اثرگذاری سطوح متفاوت مکمل Zn-Meth در روز ۱۴ آزمایش بود. نتایج حاصل در جدول ۱ قابل مشاهده است. استفاده از تیمارهای مختلف باعث بروز تغییرات معنی دار در میزان هورمون های GH ($p < 0.05$) و IGF-I ($p < 0.02$) به عنوان فاکتورهای اصلی کنترل رشد گردید. این تغییرات بدین صورت بود که میزان هورمون رشد در هر سه تیمار مصرف کننده ی این مکمل در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته بود و این در حالی است که اکثر منابع علمی، افزایش این هورمون را در اثر استفاده از انواع مکمل روی گزارش کرده اند (۶،۹،۱۰). در صورتیکه Drop و همکاران (۲) ثابت کردند که مسیر ترشح هورمون رشد از هیپوفیز پیشین در پاسخ به فاکتورهای تأثیرگذار بر ترشح آن در موش های دارای کمبود Zn و گروهی که Zn کافی دریافت کرده بودند کاملاً مشابه بود. با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعات اخیر و آزمایش انجام شده روی میش ها می توان گفت که احتمالاً بیشترین اثرگذاری مکمل Zn-Meth بر مسیر چگونگی در دسترس قرار گرفتن این هورمون در سلول های کبدی باشد و با توجه به اینکه McNall و همکاران (۵) ثابت کردند که کمبود Zn منجر به کاهش در میزان بیان ژن گیرنده های کبدی هورمون رشد و پروتئین های باند شونده با این هورمون می گردد، می توان تأثیر این مکمل استفاده شده در این آزمایش را با اثر Zn بر میزان بیان ژن گیرنده های کبدی این هورمون و همچنین پروتئین های باند شونده با آن تفسیر کرد. بنابراین GH موجود در خون به سرعت جذب سلول های کبدی شده و در نتیجه میزان GH در حال گردش کاهش یافته است. البته برای اثبات صد درصدی این فرضیه نیاز به آزمایشات ژنی و بررسی های بیشتری می باشد.

از آنجاییکه IGF-I مسئول بروز بخش عمده‌ی آثار پیش‌برنده‌ی هورمون رشد می‌باشد و تحت تأثیر این هورمون در کبد ساخته می‌شود، بنابراین با افزایش جذب GH در کبد باید میزان IGF-I در خون افزایش یابد. در این آزمایش نیز با افزایش مکمل روی جیره، میزان IGF-I نیز افزایش پیدا کرد.

میزان تستوسترون در خون میش‌های مورد آزمایش شدیداً تحت تأثیر مکمل استفاده شده قرار گرفته بود ($p < 0.02$). در جنس ماده علاوه بر تستوسترون که در سلولی تکای تخمدان ساخته می‌شود مقداری تستوسترون در ناحیه رتیکولاریس بخش قشری غدد فوق کلیه نیز ساخته می‌شود که در رشد و بلوغ جنسی نقش دارد. مطالعات قبلی انجام شده در زمینه‌ی نقش روی بر میزان این هورمون نشان دادند که کاهش در میزان Zn جیره منجر به کاهش تستوسترون و افزایش استروژن خون موش‌های ماده می‌شود (۳۸) که این نتایج با نتایج حاصل از آزمایش ما مطابقت داشت. دلیل افزایش و کاهش میزان تستوسترون خون در اثر کم و زیاد شدن میزان روی جیره می‌تواند مربوط به نقش این عنصر در فعالیت آنزیم ۵-آلفا-ردوکتاز باشد. مطالعات انجام شده نشان دادند که این آنزیم برای فعالیت به عنصر روی نیاز دارد. در صورت کمبود روی فعالیت آروماتازی در سلول‌های هپاتوسیتی کبد افزایش یافته که منجر به تبدیل تستوسترون به استروژن می‌گردد اما در صورت کافی بودن میزان Zn، آنزیم ۵-آلفا-ردوکتاز واکنش را به سمت تولید بیشتر ۵-آلفا دی هیدروکسی تستوسترون (DHT) که یک آندروژن غیرقابل آرومانیزه هست پیش می‌برد. بنابراین با توجه به نتایج حاصل می‌توان گفت که عنصر روی یک فاکتور تأثیرگذار در فیزیولوژی رشد می‌باشد.

جدول ۱- تأثیر افزودن سطوح مختلف مکمل روی-متیونین بر فراسنجه‌های خونی در میش

p-value	خطای استاندارد	تیمارها				فراسنجه
		۲/۱ گرم	۸/۰ گرم	۰۴/۰ گرم	کنترل	
۰۵/۰	۳۵۹۴/۰	b ۴/۱۰	b ۱/۱۰	ab ۹/۱۰	a ۷/۱۱	GH(ng/ml)
۰۲/۰	۶۱۰۵/۱	a ۷۹	ab ۲۵/۷۴	b ۵/۷۱	ab ۷۴	IGF-I(ng/ml)
۰۲/۰	۰۸۷۳/۰	a ۹۲/۰	ab ۱۵/۱	b ۷۰۵/۰	b ۸۰۵/۰	Testosterone(ng/ml)

* a و b نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪

** هر میانگین حاصل ۴ تکرار است

منابع

1. Dicks, D., A. Rojhani, and Z. T. Cossack. 1993. The effect of growth hormone treatment on growth in zinc deficient rats. Nutr. Res. 13: 701-713.

2. Dorup, I., A. Flyvbjerg, M. E. Everts, and T. Clausen .1991 .Role of insulin-like growth factor-1 and growth hormone in growth inhibition induced by magnesium and zinc deficiencies .Br. J. Nutr. 66: 505–521.
3. Mandal¹, G. P., R. S .Dass. A. K. Garg, V. P. Varshney, and A. B .Mondal. 2008. Effect of zinc supplementation from inorganic and organic sources on growth and blood biochemical profile in crossbred calves. Anim. Feed Sci. Technol. 17: 147–156.
4. MacDonald, R. S. 2000. The role of zinc in growth and cell proliferation. J .Nutr. 130: 1500–1508.
5. McNall, A .D., T .D .Etherton, and G .J .Fosmire .1995 .The impaired growth induced by zinc deficiency in rats is associated with decreased expression of the hepatic insulin-like growth factor I and growth hormone receptor genes. J. Nutr. 125: 874–879.
6. [Nishi](#), Y. 1996. Zinc and growth. J. Am. Coll Nutr. 15: 4 340–344.
7. O'Dell, B. L. 1969 .Effect of dietary components upon zinc bioavailability. Am. Clin. Nutr . 22: 1315–1322.
8. Om, A. S., and Chung, k. w. 1996. Dietary Zinc Deficiency Alters 5 α -Reduction and Aromatization of Testosterone and Esterogen Reseptors in Rat Liver. J. Nutr. 126: 842–848
9. Root, A. W., G. Duckett, M. Sweetland, and E. O. Reiter. 1979. Effects of zinc deficiency upon pituitary function in sexually mature and immature male rats. J. Nutr. 109: 958–964.
10. Roth, H. P., and M. Kirchgessner. 1997. Course of concentration changes of growth hormone, IGF-1, insulin and C-peptide in serum, pituitary and liver of zinc-deficient rats. J. Anim. Phys. Anim. Nutr. 77: 91–101.
11. Underwood, L. E. 1996. Nutritional regulation of IGF-I and IGFBPs. J. Pediatr .Endocr . Metab. 9: 303–312.

Oral effect of Zn-Methionine on GH, IGF, Insulin and Testosterone hormone levels in Naeini ewes
Neda Jafarpour^{*}, Hamid Reza Rahmani, Mohamad Khorvash, Mohamad Ali Edriss
Esfahan University of Technology
n.jafarpour@ag.iut.ac.ir^{*}

Abstract

This study examined the effect of different levels of zinc-methionine on functional response to growth in Naini ewes. 16 ewes of 45 $\pm$ 5 kg mean body weight (2-2.5 years old) were divided into four groups with four replicates per each treatment and Experiments were performed in a completely randomized design. Treatments were control group, the group receiving 0.4 g Zinc-Methionine, the group receiving 0.8 g Zinc-Methionine and the group receiving the 1.2 g of Zinc-Methionine. Ewes received the supplement as mixed with 30 cc water for 14 days. The



results of the analysis of blood samples showed the effect of the levels of 0.8, and especially the 1.2 g of Zinc-Methionine on reduction in growth hormone ($p < 0.05$), and Increased in IGF-I ($p < 0.02$). According to the results, the effect of zinc supplementation might be the path of liver cells for acces to GH and an increase in GH absorbtion in liver cells caused the GH reduction in serum. Then I-IGF is stimulated under the influence of growth hormone in the liver, and IGF-I increased in serum. Blood Testosterone levels also by increasing the amount of Zinc-Methionine increased. ($p < 0.02$). These results confirm the positive effect of Zinc-Methionin on growth physiology.

Key words: zinc methionin, growth, hormones, ewe

- اثر سطوح مختلف ویتامین E بر انجماد پذیری اسپرم بز مهابادی
حمیدرضا نائیجیان^{۱*}، حمید کهرام^۲، احمد زارع شحنه^۲، ایرج اشرفی^۱، مولا محمدی آرخلو^۱
۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه تهران، تهران، ایران
۲-عضو هیات علمی گروه علوم دامی دانشگاه تهران، تهران، ایران
۳-عضو هیات علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

Email: hamid.naijian@gmail.com

چکیده

هدف از این آزمایش ارزیابی تأثیر سطوح مختلف ویتامین E (۳، ۵ و ۸ میلی گرم) بر جنبایی، جنبایی پیشرونده، زنده ماندی و یکپارچگی غشاء پس از انجماد و یخ‌گشایی بود. نمونه‌های منی از چهار رأس بز نر مهابادی، هفته‌ای ۲ بار توسط واژن مصنوعی جمع‌آوری شد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که سطوح مختلف ویتامین E باعث افزایش جنبایی، جنبایی پیشرونده و درصد اسپرم‌های زنده بز مهابادی شده و سطوح ۵ و ۸ میلی گرم ویتامین E با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0.05$). سطوح مختلف ویتامین E با اینکه باعث بهبود یکپارچگی غشاء اسپرم ذوب شده در مقایسه با شاهد شدند اما این تأثیر معنی‌دار نبوده است ($p > 0.05$). بر اساس نتایج این تحقیق استفاده از ویتامین E به میزان ۸ میلی گرم در میلی‌لیتر از رقیق‌کننده تریس بهترین اثر محافظتی را روی اسپرم یخ‌گشایی شده بز مهابادی دارا می‌باشد.

کلمات کلیدی: ویتامین E- بز مهابادی- انجماد- اسپرم

مقدمه

اسپرم به تغییرات دمایی بسیار حساس بوده و شوک سرمایی باعث کاهش فعالیت و حرکت متابولیکی اسپرم می‌شود. همچنین شوک سرمایی منجر به افزایش نفوذ پذیری اسپرم‌ها نسبت به آلودگی‌ها، یون‌ها، کلسیم و آنزیم‌ها می‌شود (۴). سلول‌های اسپرم دارای مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشند و نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع در غشای اسپرم نشخوارکنندگان کوچک نسبت به دیگر گونه‌ها بالاتر بوده که همین امر غشاء آن‌ها را به آسیب‌های پراکسیداتیو در حضور ROS مستعد می‌سازد. در نتیجه یکپارچگی غشاء و ناحیه آکروزومی از بین رفته، عملکرد سلولی مختل شده و تحرک اسپرم کاهش می‌یابد (۵). عملکرد ویتامین E به عنوان یک آنتی اکسیدان بدین شکل می‌باشد که مانع از آسیب رادیکال‌های اکسیژن به غشای سلول می‌شود. ویتامین E یک ممانعت‌کننده شناخته شده پرکسیداسیون لیپید و یک آنتی اکسیدان عمده در غشاءهای بیولوژیکی است و به عنوان پاک‌کننده رادیکال‌های لیپید پراکسیل و آلکوکسیل عمل کرده و از آسیب اکسیداتیو در منی حیوانات جلوگیری می‌نماید (۳ و ۱۰). همچنین به غشاءهای سلولی یک پایداری کلی می‌بخشد که می‌تواند از خصوصیات آنتی اکسیدانی آن مستقل باشد. اثر پایداری بخشی این ویتامین به اعمال متابولیکی مختلف آن شامل جلوگیری از اثر منفی ممانعت‌کننده بر فعالیت

فسفولیپاز A₂ و تشکیل کمپلکس با اسیدهای چرب آزاد و جلوگیری از عمل آسیب رسانی آن‌ها و تسهیل استقرار اسیدهای چرب غیراشباع در ساختارهای غشا معطوف می‌گردد (۳). در تحقیقی که با مکمل نمودن ویتامین E در منی قوچ همراه بود نشان داده شد که ویتامین E تأثیر مثبتی در تحرک و یکپارچگی غشاء اسپرم در منی منجمد شده داشت. در یک آزمایش اثر مکمل ویتامین E بر کیفیت منی، غشاء سلول‌های بیضه و توانایی آنتی اکسیدانی میتوکندری‌ها در گوسفند مورد بررسی قرار گرفت، آن‌ها به این نتیجه رسیدند که مکمل ویتامین E به مقدار ۲۰۰ واحد بین‌المللی اثر مثبت معنی‌داری بر کمیت و کیفیت اسپرم تولیدی دارد (۱۰). هدف از این آزمایش بررسی اثر حفظ کیفیت اسپرم در زمان انجماد-یخ‌گشایی از طریق افزودن سطوح مختلف ویتامین E به منی رقیق شده بز مهابادی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مرکز اصلاح نژاد دام کشور واقع در مشکین دشت کرج با استفاده از چهار رأس بز نر مهابادی ۳-۵ ساله در طول فصل تولید مثل انجام شد. منی پس از عادت دهی بزها به وسیله مهبل مصنوعی هفته‌ای ۲ بار و به مدت ۵ هفته جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در معرض ۲۵ دقیقه به آزمایشگاه منتقل و در داخل آب گرم ۳۷ درجه قرار گرفتند و سپس برای ارزیابی مورد آنالیز قرار گرفتند و تنها نمونه‌هایی که دارای حجم بین ۲-۰/۷۵ میلی‌لیتر، غلظت بیشتر از $10^9 \times 2/5$ اسپرم در میلی‌لیتر، تحرک بیشتر از ۷۰ درصد و مورفولوژی اسپرم غیرطبیعی کمتر از ۱۰ درصد، در هر انزال بودند به عنوان اسپرم طبیعی در نظر گرفته شده و منجمد شدند. در این آزمایش از رقیق کننده تریس، فروکتوز و اسید سیتریک به ترتیب به مقدار ۳/۷۸، ۱ و ۲/۱۷ گرم، گلیسرول ۵ درصد (V/V)، پنی سیلین ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی، استرپتومایسین ۰/۱ گرم و آب مقطر تا حجم ۱۰۰ میلی لیتر (۶) به همراه سطوح مختلف ویتامین E (۰، ۳، ۵ و ۸ میلی گرم) به عنوان تیمارهای آزمایشی استفاده شد. نمونه‌ها در پایوت-های ۰/۲۵ میلی‌لیتری پر شده و به مدت ۲ ساعت در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس پایوت‌ها در فاصله ۴ سانتی-متری به مدت ۶ دقیقه در معرض بخار ازت مایع منجمد و برای نگه داری به تانک ازت منتقل شدند. بلافاصله پس از یخ‌گشایی صفات مربوط به ارزیابی اسپرم شامل جنبایی، جنبایی پیشرونده، یکپارچگی غشاء و زنده‌مانی مورد ارزیابی قرار گرفت. برای ارزیابی جنبایی و جنبایی پیشرونده از نرم افزار آنالیز کامپیوتری آنالیز اسپرم (CASA)، برای ارزیابی یکپارچگی غشاء از محیط هاست (HOST) و برای ارزیابی زنده‌مانی از رنگ‌آمیزی ائوزین-نیگروزین استفاده شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و داده‌ها بعد از تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS، میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه گردید.

نتایج و بحث

همانطور که نتایج این تحقیق در جدول شماره ۱ نشان داده شده است سطوح مختلف ویتامین E باعث افزایش جنبایی، جنبایی پیشرونده و درصد اسپرم‌های زنده بز مهابادی شده و سطوح ۵ و ۸ میلی گرم ویتامین E با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشته است ($P < 0/05$). رقیق کننده‌ای که حاوی ۸ میلی گرم ویتامین E بود دارای بیشترین درصد اسپرم‌های جنبا و زنده بود. سطوح مختلف ویتامین E با اینکه باعث بهبود یکپارچگی غشای اسپرم ذوب شده در مقایسه با شاهد شدند اما این تأثیر معنی‌دار نبوده است ($p > 0/05$). رقیق کننده‌ای که حاوی ۸ میلی گرم ویتامین E بود دارای غشای یکپارچه‌تر و سالم‌تر نسبت به بقیه سطوح ویتامین E و همچنین شاهد بود. در داخل سیستم آنتی اکسیدانی اسپرم، ویتامین E اصلی‌ترین آنتی اکسیدان طبیعی و قابل حل در چربی موجود در غشای سلولی می‌باشد که نقش حیاتی در شکستن واکنش‌های زنجیره‌ای پرکسیداسیون دارد که با رادیکال‌های فعال اکسیژنی آغاز می‌شوند (۳). ویتامین E همچنین در ثبات و استقرار غشاها آن هم از طریق ارتباط متقابل با فسفولیپیدها دارای

نقش مهمی است و در تنظیم چندین عملکرد مهم فیزیولوژیک شرکت می‌کند. اما در هر حال این ظرفیت آنتی اکسیدانی موجود در سلول‌های اسپرم در جلوگیری از پرکسیداسیون لیپیدها طی فرآیند انجماد- ذوب ناکافی به نظر می‌رسد، زیرا که غلظت آنتی اکسیدان‌ها بطور قابل توجهی طی فرآیند رقیق سازی کاهش می‌یابد (۸). در این تحقیق افزودن ویتامین E به منی ذخیره شده اثرات مطلوبی را در کیفیت اسپرم داشت و سطوح ویتامین E روی کیفیت اسپرم‌ها دارای تاثیر معنی دار بوده است. در تحقیقی که توسط خردمند و همکاران (۲۰۰۶) صورت گرفت، ویتامین E تاثیر نگهدارنده در میزان جنبایی و یکپارچگی غشا داشت. اضافه کردن ویتامین E به عنوان یک آنتی اکسیدان باعث کاهش تولید پرکسیدهای اکسیژنی تا مقدار ۶۲ درصد می‌شود (۲). با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش می‌توان چنین نتیجه گرفت که افزودن ۸ میلی‌گرم ویتامین E به منی بز در حفظ قدرت جنبایی، جنبایی پیشرونده و زنده‌مانی اسپرم پس از انجماد- یخ گشایی بیشترین اثر را داشته است.

جدول ۱- اثر ویتامین E (میلی‌گرم) بر ویژگی‌های کیفی منی بز مهابادی پس از انجماد- یخ گشایی

صفات (%)	شاهد	۳ میلی گرم	۵ میلی گرم	۸ میلی گرم	سطح معنی داری	S.E.M
جنبایی	۴۷/۷۹ ^c	۵۱/۲۴ ^{bc}	۵۶/۴۲ ^{ab}	۶۰/۷۸ ^a	۰/۰۵	۲/۴۴
پیشرونده	۲۵/۶۲ ^c	۲۹/۴۶ ^{bc}	۳۱/۲۲ ^{ab}	۳۵/۴۲ ^a	۰/۰۴	۱/۶۹
زنده‌مانی	۵۶/۳۰ ^b	۵۸/۷۲ ^b	۶۲/۳۲ ^a	۶۵/۲۱ ^a	۰/۰۳	۱/۳۴
یکپارچگی غشا	۵۳/۱۱ ^a	۵۳/۴۳ ^a	۵۵/۹۸ ^a	۵۷/۳۲ ^a	۰/۲۴	۲/۲۰

حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت میانگین سطوح (با سطح احتمال ۵ درصد) می‌باشد.

منابع

1. Aguero, A., M.H.Miragaya, N.G.Mora, M.G.Chaves, D.M.Neild and M.T.Beconi. 1995. Effect of vitamin E addition on equine sperm preservation. *Comm. Biol.* 13: 343-356.
2. Brinsko, S.P., D.D.Varner, C.C.Love, T.L.Blanchard, B.C.Day and M.E.Wilson. 2005. Effect of feeding a DHA-enriched nutraceutical on the quality of fresh, cooled and frozen stallion semen. *Theriogenology* 63: 1519-1527.
3. Cerolini, S., A.Maldjian, F.Pizzi and T.M.Gliozzi. 2001. Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. *Reproduction* 121: 395-401.
4. Holt W.V. 2000. Basic aspects of frozen storage of semen. *Animreprodscie*. 62: 3-22.
5. Kheradmand, A., H.Babaei and J.Abshenas. 2006. Comparative evaluation of the effect of antioxidant on the chilled-stored ram semen. *Iranian J. Vet. Res.* 7: 40-45.
6. Leboeuf, B., B.Restalland S.Salamon. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *AnimReprod Sci.* 62: 113-141.
7. Mustafa, S. and D. Esref. 2004. The effect of Ascorbic Acid on the freezability of ram semen diluted with extenders containing different proportions of glycerol. *Turk Journal. Vet. Anim. Sci.* 28: 893-899.
8. Sharma, R.K. and A.Agarwal. 1996. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology* 48: 835-50.

9. Storey, B.T., E.E.Noiles and K.A.Thompson.1998. Comparison of Glycerol, Other Polyols, Trehalose, and Raffinose to Provide a Defined Cryoprotectant Medium for Mouse Sperm Cryopreservation. *Cryobiology*. 37: 46-58.
10. Yue, D., L.Yan, H.Luo, X.Xu and X.Jin. 2009. Effect of Vitamin E supplementation on semen quality and the testicular cell membranal and mitochondrial antioxidant abilities in Aohan fine-wool sheep. *Animal Reproduction Science*; In Press, Corrected Proof.

The effects of various surface of vitamin E on Freezability of Mahabadi Goat Spermatozoa
Hamid Reza Najjian^{*1}, Hamid Kohram^{1,2}, Ahmad Zare Shahneh¹, Iraj Ashrafi¹, Mola Mohammadi Arekhlo¹

¹ Department of Animal Science, Faculty College of Agriculture and Natural Resources,
University of Tehran, Karaj, Iran

² Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University,
Ahvaz, Iran

* Corresponding E-mail address : Hamid.Najjian@gmail.com

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of various concentrations vitamin E (3, 5 and 8 mg) on motility, progressive motility, Viability and membrane integrity after freezing-thawing. Semen samples were collected by an artificial vagina, twice a week from four matured goat. The highest ($P < 0.05$) motility, progressive motility and viability of spermatozoa was achieved by addition of 5 and 8 mg vitamin E to semen extender. However various surface of vitamin E can improve membrane integrity thawing spermatozoa but not significant ($P > 0.05$). Therefore, we conclude that the optimum concentration of vitamin E for cryopreservation of mahabadi goat thawing semen is 8 mg to ml tris extender.

Key Words: vitamin E- Mahabadi Goat-freezing- sperm.

اثر تغذیه روی رفتارهای جنسی و صفات تولیدمثلی در گوسفند قزل
آصف احمدفاصل^۱، حسین دقیق کیا^{۲*}، علی حسین خانی^۲، صادق علیجانی^۲
^۱دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام گروه علوم دامی دانشگاه تبریز
^۲اعضای هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه تبریز
*نویسنده مسئول: daghighkia@tabrizu.ac.ir

چکیده

هدف این تحقیق بررسی اثر استفاده از مکمل‌های مواد مغذی حاوی ویتامین‌ها، مواد معدنی، اسیدهای آمینه و سوربیتول روی رفتارهای جنسی و عملکرد تولیدمثلی در گوسفند قزل می‌باشد. تعداد ۲۸ راس میش ۳/۵ ساله با وزن 50 ± 3 کیلوگرم (با سابقه دو شکم زایش و چهار راس قوچ سه ساله با وزن $90 \pm 3/5$ کیلوگرم) مورد استفاده قرار گرفتند. میش‌ها در دو گروه ۱۴ راسی (گروه A دریافت کننده مکمل و گروه B کنترل) قرار گرفتند. میش‌های گروه دریافت کننده مکمل، ۷ روز قبل و ۷ روز بعد از جفت گیری روزانه ۳۰ گرم از مکمل مواد مغذی دریافت کردند. میش‌های دریافت کننده مکمل‌های مواد مغذی نسبت به گروه کنترل، زودتر رفتار فحلی نشان داده و طول رفتار فحلی نیز در گروه تیمار کمتر از گروه شاهد بود؛ همچنین نرخ بره زایی در گروه تیمار بیشتر از گروه کنترل بود ($P < 0/05$). قدرت پذیرندگی (تعداد اجازه پرش موفقیت آمیز) و وزن تولد بره‌ها تفاوت معنی داری نداشتند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که دادن مکمل‌های مواد مغذی باعث بهبود سلامت دام و رفتار جنسی شده و همچنین روی نرخ بره زایی اثر مثبت دارد.

کلمات کلیدی: مکمل مواد مغذی- رفتار جنسی - عملکرد تولید مثلی - گوسفند قزل

مقدمه

تولیدمثل و باروری یکی از صفات بسیار مهم اقتصادی در دامپروری بوده و مهمترین عامل تعیین کننده بازده پرورش دام، بقای گونه‌ها و پیشرفت ژنتیکی است. یکی از مشکلات پرورش گوسفند، کم بودن بهره وری و ظرفیت تولیدمثل آنهاست. پیشرفت‌های بدست آمده در فیزیولوژی تولیدمثل به ایجاد روش‌های نوینی در تولید مثل انجامیده است که به کمک آنها می‌توان فرآیندهای تولید مثلی را بهبود بخشید. مطالعه در رفتارهای جنسی حیوانات اهلی بیشتر بر روی گاو، بز و عمدتاً گوسفند انجام شده است (۱۰). رفتار جنسی عمدتاً مربوط به قدرت جذب کنندگی و پذیرندگی حیوان ماده می‌باشد (۱) که فاکتورهای محیطی و فیزیولوژیکی می‌تواند آن را در هر دو جنس نر و ماده متأثر سازد (۸). جذب کنندگی حیوان ماده مربوط به قدرت جذب و تحریک کردن حیوان نر بوسیله حیوان ماده می‌باشد و پذیرندگی حیوان ماده نیز مربوط به اجازه دادن حیوان ماده به حیوان نر برای پرش و انزال به داخل واژن می‌باشد (۱۴). هورمونهای تولیدمثلی هر دو جنس باعث تحریک رفتارهای جنسی شده و در نتیجه باعث می‌شود هر دو جنس در کنار یکدیگر قرار گرفته و عمل جفت‌گیری را انجام دهند (۹). در بیشتر پستانداران رفتار جنسی جنس ماده در یک زمان محدود و در نزدیکی زمان تخم‌ریزی رخ می‌دهد که از دوره غیر فعال جنسی کاملاً مجزا می‌باشد (۱۲و۲). در رفتار جنسی جذابیت و پذیرندگی دو فاکتور مهم برای یک جفت گیری موفقیت‌آمیز می‌باشند. تحقیقات زیادی نشان می‌دهند که مواد مغذی زیادی در عملکرد تولیدمثلی نقش دارند (۴، ۶، ۱۱ و ۱۳). بسیاری از مواد مغذی از قبیل کبالت، سلنیوم، منگنز، روی و بتا- کاروتن با متاثر ساختن سنتز استروئیدهای تخمدانی نقش بزرگی روی رفتار جنسی بازی می‌کنند (۳، ۵، ۶ و ۱۵). هدف ما در این تحقیق بررسی بهبود رفتار و عملکرد تولیدمثلی در نتیجه استفاده از مکمل‌ها می‌باشد.

مواد و روشها

تحقیق حاضر در فاصله زمانی مرداد تا مهر ماه ۱۳۹۰ در ایستگاه تحقیقاتی و اصلاح نژاد گوسفند قزل واقع در شهرستان میاندوآب انجام شد. برای این مطالعه ۲۸ راس گوسفند ماده ۳/۵ ساله با شکم زایش، وزن 50 ± 3 کیلوگرم، وضعیت نمره بدنی تقریباً ۳ با شرایط محیطی یکسان و در ۲ گروه ۱۴ راسی مورد استفاده قرار گرفتند. گوسفندان هر گروه روزانه ۴ مرتبه و به میزان ۱/۳ کیلوگرم ماده خشک به ازای هر حیوان؛ جیره کاملاً مخلوط (TMR) دریافت می‌کردند. میش‌های گروه A روزانه ۳۰ گرم از مکمل مواد مغذی با ترکیبات عنوان شده در جدول ۱- همراه با جیره پایه دریافت می‌کردند در حالیکه میش‌های گروه B (شاهد) فقط جیره پایه را دریافت می‌کردند. جیره‌ها بر اساس پیشنهادات جدول NRC (۱۹۸۵) فرموله شده بودند. گوسفندان به مدت ۱۴ روز با سیدر (CIDR) همزمان سازی فحلی شده و ۴۸ ساعت پس از سیدربرداری، قوچ اندازی در گله صورت گرفت. آزمایش در محدوده یک هفته قبل از تلقیح و تا یک هفته بعد از تلقیح انجام شد. زمان مشاهده بروز اولین رفتار فحلی در اولین حیوان تا زمانی که آخرین رفتار فحلی نشان داده شد و بازه زمانی بین این دو در دو گروه به دقت ثبت گردید. همچنین در صد بره زایی و وزن تولد در زمان زایش نیز اندازه گیری شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS و رویه Freq و GLM استفاده شده و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی-کرامر انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش نشان می‌دهد که استفاده از ترکیب مواد مغذی در زمان قبل از فحلی می‌تواند باعث بهبود بروز رفتار فحلی گردد. چنانچه نتایج این تحقیق نشان می‌دهد استفاده از این مکمل‌ها باعث شد که حیوانات دریافت کننده نسبت به گروه کنترل زودتر رفتار فحلی را نشان دهند ($P < 0.05$) که می‌تواند احتمالاً ناشی از رشد و توسعه سریع فولیکولی و همچنین افزایش بموقع سطح هورمونهای مرتبط بخصوص استروژن باشد؛ زیرا هورمونهای استروئیدی نقش مهمی در کنترل رفتارهای جنسی دارد (۱۲). افزایش غلظت استرادیول باعث بروز رفتار فحلی در مدت ۱ الی ۲ روز می‌شود (۱). از آنجائیکه ویتامین‌ها و مواد معدنی روی سنتز استروئید اثر می‌گذارند فرض ما بر این است که این مکمل‌ها از طریق اثر روی سنتز استروئیدها می‌توانند روی رفتار جنسی موثر باشند. همچنین مدت زمان فحلی در گروه A نسبت به کنترل کمتر بود ($P < 0.05$) که این هم به نوبه خود می‌تواند باعث افزایش شانس لقاح و در نتیجه بالا رفتن نرخ آبستنی گردد (جدول ۲). نتایج دیگر تحقیق نشان می‌دهد تغذیه با ترکیب مواد مغذی می‌تواند باعث افزایش نرخ بره زایی شود ($P < 0.05$)؛ این میتواند ناشی از افزایش تعداد فولیکولهای رشد و تخمک ریزی کرده باشد. با این حال نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تغذیه مکمل مواد مغذی در این دوره روی قدرت پذیرندگی میش‌ها و وزن تولد تاثیر معنی داری ندارد که در راستای این تحقیق چاغدش کارا و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که دادن ترکیب مواد مغذی ۵ روز قبل از جفت گیری و ۵ روز در ماه آخر آبستنی باعث افزایش وزن تولد بره‌ها می‌شود.

جدول ۱- ترکیبات مکمل مواد مغذی مورد استفاده (بر حسب as fed)

۹۴/۰۲	ماده خشک، %
۲۰۰۰	نیاسین (mg/kg)
۳۰	بتا-کاروتن (mg/kg)
۲۰۰۰	بتائین (mg/kg)

۷۰۰۰	کولین کلراید (mg/kg)
۵۵۰۰۰	متیونین (mg/kg)
۴۴۰۰	لایزین (mg/kg)
۶۵۰۰۰	سوربیتول (mg/kg)
۸۰۰۰۰ ۰۰	ویتامین A (IU/kg)
۲۰۰۰۰ ۰	ویتامین D ₃ (IU/kg)
۸۵۰۰	ویتامین E (mg/kg)
۱۵۰	ویتامین C (mg/kg)
۷۵۰	ویتامین B ₁ (mg/kg)
۳۰۰	مس (سولفات) (mg/kg)
۱۵۰۰	آهن (سولفات) (mg/kg)
۴۰۰۰	منگنز (اکسید) (mg/kg)
۶۵۰۰	روی (اکسید) (mg/kg)
۹۰	ید (یدات) (mg/kg)
۲۵	کبالت (کربنات) (mg/kg)
۴۰	سلنیوم (سلنیت) (mg/kg)
۲/۵	فسفر محلول %
۳	منیزیم %
۳	سدیم %
۳	کلسیم %

جدول ۲- تاثیر مکمل مواد مغذی روی رفتار و عملکرد تولید مثلی



وزن تولد بره (kg)	تعداد نتاج	زمان شروع فحلی *	طول دوره فحلی (ساعت)
گروه شاهد	۱۵ ^b	۳۳/۰۹ ^a	۳۷/۶۹ ^a
گروه تیمار	۱۸ ^a	۳۱/۷۹ ^b	۳۶/۲۶ ^b

*تعداد ساعت بعد از سیدربرداری، حروف لاتین غیر مشابه در هر سطر بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ($P < 0.05$) می باشد.

منابع

1. Çağdaş K, A Orman, E Topal and E Çarkungöz. 2010. Effects of Supplementary Nutrition in Awassi Ewes on Sexual Behaviors and Reproductive Traits. J Biol Enviro Sci, 4(10): 15-21.
2. Carter CS 1992. Neuroendocrinology of sexual behavior in the female. In: Behavioral Endocrinology, (Eds.: J.B. Becker, S.M. Breedlove and D. Crews). MIT Press, Cambridge, pp. 71– 96.
3. Harrison JH, DD Hancock and HR Conrad. 1984. Vitamin E and selenium for reproduction of the Dairy cow. J Dairy Sci, 67: 123–132.
4. Hidirolou M 1979a. Trace element deficiencies and fertility in ruminants: a review. J Dairy Sci, 62: 1195–1206.
5. Hidirolou M 1979b. Manganese in ruminant nutrition. Can J Anim Sci, 59: 217–236.
6. Hurley, LS and CL Keen 1987. Manganese. In: Trace Elements in Human and Animal Nutrition, 5th ed., (Ed.: W. Mertz). Academic Press, San Diego, pp. 185–223.
7. Hurley WL, and RM Doane. 1989. Recent development in the role of vitamins and minerals in reproduction. J Dairy Sci, 72: 784–804.
8. Katz LS and TJ McDonald. 1992. Sexual behavior of farm animals. Theriogenology, 38: 239–253.
9. Margaret M, MMC Carthy, B Jill and R Becker. 2002. Neuroendocrinology of sexual behavior in the females. Pp 117-140.
10. Meschy F 2000. Recent progress in the assessment of mineral requirements of goats. Livest Prod Sci, 64: 9–14.
11. Pfaff DW. 1999. Hormone-Controlled Drives. In: Drive: Neurobiological and Molecular Mechanisms of Sexual Motivation, (Ed.: D.W. Pfaff). MIT Press, Cambridge, pp. 48–51.
12. Smith OB and OO Akinbami. 2000. Micronutrients and reproduction in farm animals. Anim Rep Sci, 60–61: 549–560.
13. Tilbrook AJ, PH Hemsworth, JS Topp and AWN Cameron. 1990. Parallel changes in the proceptive and receptive behaviour of the ewe. Appl Anim Beh Sci, 27: 73–92.
14. Whaley SL, VS Hedgpeth and JH Britt. 1997. Evidence that injection of vitamin A before mating may improve embryo survival in gilts fed normal or high energy diets. J Anim Sci, 75: 1071–1077.

Effect of nutrition on sexual behavior and reproductive traits in Ghezel sheep

A. Ahmad Fazel¹, H. Daghigh kia^{1*}, A. Hossein Khani¹ and S. Alijani¹

¹ Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

*Corresponding author: daghighkia@tabrizu.ac.ir

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of nutrient supplements containing vitamins, minerals, amino acids and sorbitol on sexual behavior and reproductive performance in Ghezel sheep. 28 ewes having 3.5 years old, weight (50 ± 3 kg), experience twice birth along with 4 rams having three-year and body weight (90 ± 3.5 kg) were used. Ewes allocated in two groups having 14 animals in each group (group A, received supplement nutrient and group B as a control group). Ewes in group A received 30 g of nutrient supplements daily 7 days before and after mating. Ewes in group A showed earlier estrus behavior than the control group also estrus duration was shorter in Group A compare to control group; furthermore the lambing rate was higher in group A than the control group ($P < 0.05$). Receptivity to the ram (the number allowed successful jump) and lamb birth weight were not significantly different. The survey results show that nutrient supplementation can lead to improve animal health and sexual behavior also has a positive effect on lambing rate.

Keywords: Nutrient supplements-Sexual behavior-Reproductive performance–Ghezel sheep

اثر عصاره رزماری بر کیفیت اسپرم بز بعد از فرایند ذوب-یخ‌گشایی
زینب زنگانه، مهدی ژندی^{*}، احمد زارع شحنه، ابوذر نجفی
گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
^{*} مسئول مکاتبات: mzhandi@ut.ac.ir

چکیده

هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی توانایی عصاره رزماری در محافظت از اسپرم بز طی فرایند انجماد-یخ‌گشایی بود. در این مطالعه از ۴ رأس بز نمونه اسپرم جمع‌آوری شد و پس از مخلوط کردن، نمونه‌ها با رقیق کننده حاوی سطوح ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ درصد عصاره رزماری رقیق شدند. نمونه‌ها پس از طی گامه سردسازی، به روش دستی و با قرار گیری در معرض بخار ازت و غوطه‌ور شدن در آن منجمد شده و تا زمان ارزیابی در داخل ازت مایع نگهداری شد. پس از یخ‌گشایی، جنبایی کل و حرکت پیشرونده، میزان ناهنجاری‌ها و یکپارچگی غشای اسپرم ارزیابی شد. نتایج حاصل نشان داد که عصاره رزماری به طور معنی‌داری در سطوح ۲ و ۴ درصد سبب بهبود جنبایی کل، حرکت پیشرونده، یکپارچگی غشاء و زنده‌مانی شد و میزان ناهنجاری‌های اسپرم را کاهش داد ($p < 0.05$).

کلمات کلیدی: عصاره رزماری - انجماد - منی - بز

مقدمه

در سیستم‌های صنعتی پرورش بز، تلقیح مصنوعی نقش مهمی در کنترل تولیدمثل دارد. انجماد و ذخیره اسپرم، شامل قرار دادن اسپرم در ازت مایع و در نتیجه توقف واکنش‌های متابولیکی آن است. با کاهش و یا توقف متابولیسم اسپرم‌ها طول عمر باروری آنها افزایش می‌یابد و در نتیجه می‌توان از آنها برای مدت زمان طولانی‌تری استفاده نمود. حفظ اسپرم به صورت منجمد، تغییرات فراساختاری، بیوشیمیایی و عملکردی را در غشای اسپرم به وجود می‌آورد که در نتیجه آن زنده‌مانی اسپرم را بعد از فرایند انجماد-ذوب تحت تاثیر قرار می‌دهد [۱]. غشای پلاسمایی اسپرم دارای اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند دوگانه زیادی است، که از این لحاظ آنها را به آسیب‌های پراکسیداتیو بسیار حساس می‌کند. بنابراین، برای جلوگیری از آسیب‌های پراکسیداسیون، استفاده از آنتی اکسیدان‌ها در رقیق کننده مفید به نظر می‌رسد. این آسیب‌های پراکسیداتیو موجب کاهش یکپارچگی غشاء، آسیب به عملکرد سلول، کاهش جنبایی و کاهش توانایی باروری اسپرم برای لقاح می‌شود. یکی از عواملی که می‌تواند موجب تخریب غشای پلاسمایی، اختلال در حرکت و دیگر فعالیت‌های اسپرماتوزو شود، وجود رادیکال‌های آزاد است. آنتی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که فعالیت رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهند [۲-۳]. مواد زیادی می‌توانند نقش آنتی اکسیدانی داشته باشند که در این پژوهش از گیاه رزماری که خواص آنتی اکسیدانی آن در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی بررسی شده است و در برخی از این موارد، آثارش با آثار آنتی اکسیدان‌ها سنتتیک برابری می‌نماید [۴]، به عنوان یک آنتی اکسیدان در محیط رقیق‌کننده برای انجماد اسپرم بز استفاده شد.

مواد و روش‌ها

محیط رقیق کننده پایه برگرفته از محیط پیشنهاد شده توسط بوکاک (۲۰۰۹) می‌باشد که شامل ۸۰٪ بافر تریس (۲۵۴ میلی‌مول تریس، ۷۸ میلی‌مول اسید سیتریک و ۷۰ میلی‌مول فروکتوز)، زرده تخم مرغ به میزان ۱۵٪ (حجمی/حجمی) و ۵٪ گلیسرول (حجمی/حجمی) می‌باشد [۵]. عصاره آبی رزماری به میزان ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ درصد به ترتیب به تیمارهای یک تا پنج اختصاص داده شد. نمونه‌های منی از چهار رأس بز نر نژاد کردی تأمین شد. مخلوط منی به تیمارها اختصاص داده شد و به مدت ۲ ساعت در

دمای ۵ درجه سانتیگراد در یخچال، مرحله سردسازی را طی نمود و سپس در پایوت‌های ۰/۲۵ میلی‌لیتری کشیده شد و انجامد آنها به صورت دستی و بدین نحو انجام شد که پایوت‌ها به مدت ۱۲ دقیقه در فاصله ۵ سانتی متری از ازت مایع نگه داشته شد و سپس در ازت مایع غوطه‌ور شدند. نمونه‌ها تا زمان انجام تست‌های مورد نظر در داخل ازت مایع نگهداری شدند. یخ‌گشایی با قرار دادن پایوت‌ها در حمام آبگرم ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ ثانیه انجام شد [۶]. جنبایی کل و پیش‌رونده و سایر خصوصیات مرتبط با جنبایی با استفاده از نرم‌افزار CASA صورت گرفت (جدول ۱). میزان ناهنجاری‌های اسپرم به وسیله محلول هانکوک تعیین شد [۷]. یکپارچگی غشای اسپرم توسط تست HOST بر اساس میزان حلقوی و خمیده شدن دم اسپرم تعیین شد [۸]. زنده‌مانی اسپرماتوزوا با استفاده از رنگ آمیزی نگروزین-ئوزین تعیین شد [۶]. داده‌ها با نرم‌افزار SAS و با استفاده از رویه GLM آنالیز شدند.

نتایج

جنبایی کل با افزایش میزان عصاره رزماری در محیط رقیق‌کننده تا سطح ۴٪ به تدریج افزایش یافت اما در سطوح بالاتر کاهش یافته است (جدول ۱). جنبایی پیش‌رونده در تیماری که حاوی ۴ درصد عصاره رزماری بود به طور معنی داری در مقایسه با سایر تیمارها افزایش یافت (جدول ۱). سایر فراسنجه‌ها در تیمارهای مختلف با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشتند (جدول ۱).

جدول ۱: میانگین حداقل مربعات $\pm$ خطای استاندارد فراسنجه‌های مختلف جنبایی در تیمارهای مختلف

درصد‌های مختلف عصاره رزماری افزوده شده در هر تیمار					فراسنجه
۸	۶	۴	۲	۰	
$29/38 \pm 1/15^c$	$30/75 \pm 1/15^c$	$45/5 \pm 1/15^a$	$42 \pm 1/25^a$	$36/38 \pm 1/15^b$	TM ^{۶۱}
$14/75 \pm 0/75^d$	$16/5 \pm 0/75^{cd}$	$24/38 \pm 0/75^a$	$21/78 \pm 0/82^b$	$18/5 \pm 0/75^c$	PM ^{۶۲}
$60/38 \pm 2/49$	$60/95 \pm 2/49$	$63/86 \pm 2/49$	$65/93 \pm 2/71$	$65/34 \pm 2/49$	VAP ^{۶۳}
$47/25 \pm 2/16$	$46/65 \pm 2/16$	$49/78 \pm 2/16$	$52/56 \pm 2/35$	$50/76 \pm 2/16$	VSL ^{۶۴}
$91/30 \pm 4/31$	$95/64 \pm 4/31$	$96/59 \pm 4/31$	$99/84 \pm 4/68$	$102/21 \pm 4/31$	VCL ^{۶۵}
$6/38 \pm 0/33$	$5/91 \pm 0/33$	$5/86 \pm 0/33$	$6/65 \pm 0/36$	$6/18 \pm 0/33$	ALH ^{۶۶}
$23/40 \pm 0/86$	$22/25 \pm 0/86$	$22/98 \pm 0/86$	$25/15 \pm 0/93$	$22/88 \pm 0/86$	BCF ^{۶۷}
$51/81 \pm 2/41$	$49/94 \pm 2/41$	$52/40 \pm 2/41$	$52/76 \pm 2/62$	$50/22 \pm 2/41$	LIN ^{۶۸}
$78/27 \pm 1/80$	$77/13 \pm 1/80$	$78/07 \pm 1/80$	$79/85 \pm 1/95$	$77/65 \pm 1/80$	STR ^{۶۹}
$66/13 \pm 1/62$	$64/31 \pm 1/62$	$66/78 \pm 1/62$	$66/04 \pm 1/76$	$64/32 \pm 1/62$	WOB ^{۷۰}

⁶¹- Total Motility

⁶²- Progressive Motility

⁶³- Average path velocity

⁶⁴-Straight-line velocity

⁶⁵-Curvilinear velocity

⁶⁶-The amplitude of lateral head displacement

⁶⁷ Beat Frequency

⁶⁸-Linearity

⁶⁹-Straightness

⁷⁰-Wobble

^{c, b, a} حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار ($p < 0.05$) در هر ردیف می باشد.

تیمار حاوی ۴ درصد عصاره رزماری در مقایسه با سایر تیمارها به طور معنی داری زنده ماننی اسپرمها را افزایش داد (جدول ۲). میزان یکپارچگی غشاء و ناهنجاری های اسپرم در تیمار حاوی ۴ درصد عصاره رزماری نسبت به سایر تیمارها به غیر از تیمار حاوی ۲ درصد عصاره رزماری به طور معنی داری کاهش یافت (جدول ۲).

جدول ۲: میانگین حداقل مربعات $\pm$ خطای استاندارد یکپارچگی غشاء، زنده ماننی و ناهنجاری های اسپرم در تیمارهای مختلف

درصد های مختلف عصاره رزماری افزوده شده در هر تیمار					فراسنجه
۸	۶	۴	۲	۰	
$34/25 \pm 0.99^c$	$34/69 \pm 0.99^c$	$46/69 \pm 0.99^a$	$43/65 \pm 1.08^a$	$39/38 \pm 0.99^b$	یکپارچگی غشاء
$35/59 \pm 0.89^d$	$36/41 \pm 0.89^d$	$48/66 \pm 0.89^a$	$45/35 \pm 0.97^b$	$41/56 \pm 0.89^c$	زنده ماننی
$24/09 \pm 0.74^a$	$22/34 \pm 0.74^a$	$16/09 \pm 0.74^c$	$17/43 \pm 0.81^{bc}$	$20/34 \pm 0.74^{ab}$	ناهنجاری های اسپرم

^{c, b, a} حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار ($p < 0.05$) در هر ردیف می باشد.

بحث

نتایجی که از این مطالعه بدست آمد نشان داد که عصاره رزماری سبب بهبود جنبایی کل و پیشرونده، زنده ماننی و یکپارچگی غشاء و کاهش میزان ناهنجاری های مورفولوژیکی در اسپرم بز می گردد. در مطالعه ی مالو و همکاران (۲۰۱۰ و ۲۰۱۱) بر اسپرم خوک، نشان داده شد که عصاره رزماری باعث بهبود جنبایی کل و پیشرونده، زنده ماننی و یکپارچگی آکروزوم در نمونه های مورد بررسی می شود [۹-۱۰]. البته مطالعات زیادی در زمینه بررسی عصاره رزماری وجود ندارد تا بتوان با نتایج حاصل مقایسه کرد اما ژاا و همکاران (۲۰۰۹) اثر آنتی اکسیدانی عصاره آبی گیاه *Rhodiola sacra*، بر خصوصیات منی خوک بعد از انجماد را مطالعه کردند و نشان دادند که عصاره فوق فعالیت مهاری قویی علیه رادیکال سوپر اکسید دارد [۱۱]. سازوکار اساسی عمل رزماری بر انجماد اسپرماتوزو هنوز روشن نیست. این نتایج نشان داد که عصاره رزماری می تواند اثر محافظتی را در مقابل عوامل تنشزا اعمال کند.

منابع

- Holt, W.V., Basic aspects of frozen storage of semen. Animal Reproduction Science, 2000. 62(1-3): p. 3-22.
- Leboeuf, B., B. Restall, and S. Salamon, Production and storage of goat semen for artificial insemination. Anim Reprod Sci, 2000. 62(1-3): p. 113-41.
- Purdy, P.H., A review on goat sperm cryopreservation. Small Ruminant Research, 2006. 63(3): p. 215-225.
- Sebranek, J.G., V.J.H. Sewalt, K.L. Robbins, and T.A. Houser, Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. Meat Science, 2005. 69(2): p. 289-296.
- Bucak, M.N., S. Sarıözkan, P.B. Tuncer, P.A. Ulutaş, and H.İ. Akçadağ, Effect of antioxidants on microscopic semen parameters, lipid peroxidation and antioxidant activities in Angora goat semen following cryopreservation. Small Ruminant Research, 2009. 81(2-3): p. 90-95.
- Bucak, M.N., A. Ateşşahin, Ö. Varışlı, A. Yüce, N. Tekin, and A. Akçay, The influence of trehalose, taurine, cysteamine and hyaluronan on ram semen: Microscopic and

- oxidative stress parameters after freeze-thawing process. *Theriogenology*, 2007. 67(5): p. 1060-1067.
7. Schäfer, S. and A. Holzmann, The use of transmigration and SpermacTM stain to evaluate epididymal cat spermatozoa. *Animal Reproduction Science*, 2000. 59(3-4): p. 201-211.
 8. Revell, S.G. and R.A. Mrode, An osmotic resistance test for bovine semen. *Animal Reproduction Science*, 1994. 36(1-2): p. 77-86.
 9. Malo, C., L. Gil, N. Gonzalez, F. Martínez, R. Cano, I. de Blas, and E. Espinosa, Anti-oxidant supplementation improves boar sperm characteristics and fertility after cryopreservation: Comparison between cysteine and rosemary (*Rosmarinus officinalis*). *Cryobiology*, 2010. 61(1): p. 142-147.
 10. Malo, C., L. Gil, R. Cano, F. Martinez, and I. Gale, Antioxidant effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on boar epididymal spermatozoa during cryopreservation. *Theriogenology*, 2011. 75(9): p. 7p.
 11. Zhao, H.w., Q.w. Li, G.z. Ning, Z.s. Han, Z.l. Jiang, and Y.f. Duan, *Rhodiola sacra* aqueous extract (RSAE) improves biochemical and sperm characteristics in cryopreserved boar semen. *Theriogenology*, 2009. 71(5): p. 849-857.

Effect of rosemary extract on goat semen quality following cryopreservation
Zeinab Zanganneh, Mehdi Zhandi *, Ahmad Zare Shahneh, Abozar Najafi
Animal Sciences Department, College of Agriculture, Tehran University, Karaj, Iran

* Corresponding E-mail address: mzhandi@ut.ac.ir

Abstract

The objective of the present study is to evaluate the ability of rosemary extract to protect goat sperm from freeze-thaw damages. In this study, ejaculates were collected from 4 goats and after pooling the samples together, the samples were diluted with extender containing 0, 2, 4, 6 and 8 % of rosemary extract. The samples after cooling stage were frozen manually and with exposure to nitrogen vapor and immersion in liquid nitrogen and were stored until evaluation within it. After thawing, total and progressive motility, abnormalities and sperm membrane integrity were assessed. The results showed that rosemary extract significantly improved total and progressive motility, sperm membrane integrity and viability, and decreased sperm abnormalities at levels 2 and 4 percent ($p < 0.05$).

Keywords: Rosemary extract- Cryopreservation- Semen- goat

اثرات پودر ریشه کاسنی بر صفات لاشه و اندام‌های داخلی در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های بر پایه‌ی گندم

زهره حاج ابول لو*^۱، علی میرزا آقازاده^۲، النابی یار^۱ و مجتبی ایمانی^۱

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشگاه ارومیه

۲. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه ارومیه

*زهره حاج ابول لو، zohrehaji@yahoo.com

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف پودر ریشه کاسنی بر خصوصیات دستگاه گوارش تا ۳۵ روزگی در جوجه های گوشتی با استفاده از جیره بر پایه گندم انجام شد. تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه نر یک روزه سویه راس ۳۰۸ به ۸ تیمار، ۳ تکرار و ۱۰ مشاهده در هر تکرار اختصاص یافتند. داده ها به صورت آزمایش فاکتوریل 3×8 در قالب یک طرح کاملاً تصادفی مقایسه شد. تیمارها شامل چهار سطح از پودر ریشه کاسنی یا CRP (صفر، ۲ درصد، ۴ درصد، ۶ درصد) و دو فرم گندم کامل (WW) و گندم آرد شده (GW) بود. نتایج نشان داد که هیچ تفاوت معنی داری از نظر آماری در بین وزن نسبی لاشه قابل طبخ، پیش معده، قلب، پانکراس و چربی محوطه بطني وجود ندارد ($p > 0.05$). نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که هیچ تفاوت معنی داری از نظر آماری برای سطوح کاسنی در بین گروه های آزمایشی برای قلب و کبد وجود ندارد ($p > 0.05$). اما افزایش معنی دار در درصد نسبی وزن سنگدان در جیره های حاوی ۶ درصد کاسنی نسبت به سایر سطوح کاسنی مشاهده شد ($p < 0.05$). نتایج بدست آمده از آنالیز داده های حاصل از هفته پنجم حاکی از معنی دار بودن افزایش درصد وزن نسبی سنگدان و کبد در جیره های حاوی گندم کامل بود ($p < 0.05$).

واژه های کلیدی: پودر ریشه کاسنی - صفات لاشه - اندام های داخلی - جوجه های گوشتی - گندم

مقدمه:

با توجه به رشد روز افزون جمعیت و به دنبال آن افزایش تقاضا برای مواد غذایی، استفاده از روش های مدرن با بازدهی بیشتر در صنعت کشاورزی که بتواند محصول بیشتری تولید کند اجتناب ناپذیر است. تا سال ۲۰۰۶ آنتی بیوتیک ها به عنوان محرک رشد استفاده می شدند، به علت ایجاد مقاومت باکتریایی و تقاضا برای محصولات عاری از آنتی بیوتیک مصرف این مواد از سوی اتحادیه اروپا ممنوع اعلام شد (۵). از جمله منابع گیاهی محرک رشد به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک، می توان به کاسنی اشاره کرد، کاسنی حاوی ماده زیست فعال اینولین می باشد که امروزه به عنوان پری بیوتیک در تغذیه اهمیت پیدا کرده است. پری بیوتیک به عنوان ترکیبات غذایی غیر قابل هضم تعریف می شوند که از طریق تحریک رشد یک یا تعداد محدودی از گونه های باکتریای مفید که هدف آنها بهبود سلامت میزبان است، به طور موثر بر ارتقا سلامتی میزبان تاثیر می گذارند. اینولین حاوی هر دوی فروکتان ها و الیگوفروکتوزها است. اینولین یا الیگوفروکتوز موجود در گیاه کاسنی باعث بهبود وزن لاشه و کاهش چربی بطني در جوجه ها شد (۹). ذرت یکی از منابع عمده انرژی در جیره های طیور است که استفاده از آن برای فرموله کردن جیره های با حداقل هزینه در پرورش طیور در کشور ایران به سبب ناپایداری بازار جهانی ذرت و ناکافی بودن تولید آن امکان پذیر نمی باشد (۸). گندم در بعضی از کشورها به عنوان منبع اصلی انرژی در جیره های طیور مورد استفاده قرار می گیرد و نتیجه رضایت بخشی در پرورش

طیور به همراه داشته است (□). هدف این مطالعه بررسی اثرات سطوح مختلف پودر ریشه کاسنی بر صفات لاشه و اندام‌های داخلی در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های بر پایه‌ی گندم بود.

مواد و روش‌ها:

در این آزمایش ۲۴۰ قطعه جوجه نر گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸ بر اساس طرح فاکتوریل با آرایش کاملاً تصادفی، در ۸ تیمار مختلف (۴ تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ جوجه) توزیع گردید. آزمایش در یک دوره‌ی (۱-۳۵ روزگی) انجام گرفت. جیره پایه بر اساس گندم-سویا بوده و تیمارها شامل ۱-جیره بر پایه گندم کامل-سویا ۲-جیره بر پایه گندم کامل-سویا + ۲ درصد کاسنی ۳-جیره بر پایه گندم کامل-سویا + ۴ درصد کاسنی ۴-جیره بر پایه گندم کامل-سویا + ۶ درصد کاسنی ۵-جیره بر پایه گندم آرد شده-سویا ۶-جیره بر پایه گندم آرد شده-سویا + ۲ درصد کاسنی ۷-جیره بر پایه گندم آرد شده-سویا + ۴ درصد کاسنی ۸-جیره بر پایه گندم آرد شده-سویا + ۶ درصد کاسنی بود. ریشه گیاه به صورت پودر به جیره اضافه شد. جوجه‌های تحت مطالعه دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. در پایان دوره‌ی ۳۵ روزه از هر واحد آزمایشی ۲ جوجه انتخاب شده و کشتار شدند. وزن اندام‌های داخلی اندازه‌گیری و ثبت شد. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS (۱۹۹۶) تجزیه واریانس شد و مقایسه میانگین‌ها برای هر یک از صفات به روش توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث:

نتایج حاصل از مقایسه میانگین درصد وزن نسبی لاشه قابل طبخ، پیش معده، سنگدان خالی، سنگدان پر، قلب، پانکراس، کبد، چربی محوطه بطنی در بین گروه‌های آزمایشی در پایان هفته پنجم در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از سطوح مختلف پودر ریشه کاسنی و فرم دانه گندم استفاده شده منجر به اختلاف معنی‌داری در درصد وزن لاشه، وزن چربی محوطه‌ی شکمی، قلب، وزن پانکراس و پیش‌معده نشد. نتایج این مطالعه با گزارش محققین در مورد عدم تأثیر فروکتوالیگوساکارید در درصد وزن لاشه و درصد چربی حفره‌ی بطنی وقتی که در جیره‌های جوجه-های گوشتی تا سطح ۳۷۵ گرم در کیلوگرم استفاده می‌شود، مطابقت دارد (۷). در مقابل گزارش کردند که استفاده از اینولین و الیگوفروکتوز تا سطح یک درصد باعث افزایش درصد لاشه و چربی حفره‌ی شکمی جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه شاهد شد (۹). پژوهشگران کاهش معنی‌داری در وزن نسبی چربی حفره‌ی بطنی را در جوجه‌هایی که در جیره‌شان تا سطح ۳۷۵/۰ درصد از فروکتوالیگوساکارید استفاده شده بود، مشاهده کردند (۱). مکمل‌سازی کاسنی به جیره‌های غذایی باعث افزایش عددی وزن نسبی سنگدان در سطح ۶ درصد در مقایسه با پرنده‌های گروه شاهد بود لیکن تفاوت معنی‌داری یافت نشد ($p > \square/\square$). وزن نسبی سنگدان متأثر از فرم دانه گندم بود که در سطح دانه کامل بیشتر از آرد شده بود. بیشترین درصد سنگدان خالی مربوط به سطح ۶ درصد کاسنی (۲/۷۸) بود که با تیمارهای ۲ و ۴ درصد کاسنی اختلاف معنی‌داری داشت ($p < \square/\square$).

جدول ۱- اثر پودر ریشه کاسنی و دانه گندم بر صفات لاشه و اندام‌های داخلی در جوجه‌های گوشتی.

راندامان (درصد)	پیش	سنگدان	سنگدان	کبد	پانکراس	چربی	قلب	لاشه

سطوح کاسنی							
معده	خالی	پر	بطنی				
۰/۵۵۲	ab _{۲/۴}	ab _{۳/۲۲}	۲/۵۸	۰/۲۹۹	۰/۹۶۶	۰/۶۱۹	۶۷/۶۷
۰/۴۸۷	b _{۲/۲۶}	b _{۲/۸۸}	۲/۳۶	۰/۲۹۷	۰/۹۶۷	۰/۵۲۴	۶۶/۲۷
۰/۴۸۷	b _{۲/۱۹}	b _{۲/۷۹}	۲/۴۵	۰/۲۶۰	۰/۸۰۸	۰/۵۲۹	۶۴/۴۱
۰/۵۱۲	a _{۲/۷۸}	a _{۳/۵۷}	۲/۴	۰/۲۹۷	۱/۲۱	۰/۵۳۷	۶۴/۷۹
فرم دانه							
۰/۵۱۴	a _{۲/۶۱}	a _{۳/۳۸}	a _{۲/۵۵}	۰/۲۹۵	۰/۹۳۴	۰/۵۷۱	۶۵/۴۶
۰/۴۹۰	b _{۲/۲۱}	b _{۲/۸۵}	b _{۲/۴۵}	۰/۲۸۱	۱/۰۴	۰/۵۴۱	۶۶/۱۱
۰/۰۱۳	۰/۰۸۱	۰/۱۱۴	۰/۰۴۶	۰/۰۰۱	۰/۰۷	۰/۰۱۵	۰/۵۴
خطای استاندارد							
سطح احتمال							
NS	*	*	NS	NS	NS	NS	NS
NS	*	*	*	NS	NS	NS	NS
NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS
کاسنی × گندم							

۱. در هر ردیف اعداد دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی دار دارند ($p < 0.05$).

۲. *: اختلاف معنی دار ($p < 0.05$). NS: اختلاف غیر معنی دار ($p > 0.05$). ۴. واحد بر حسب نسبت

یا گرم/گرم.

مطابق جدول ۱ درصد وزن کبد و سنگدان به طور معنی داری ($p < 0.05$) در پرندهای تغذیه شده از جیره های حاوی گندم به فرم دانه کامل بیشتر از گندم آرد شده است. در پژوهش های قبلی انجام شده در تغذیه از گندم دانه کامل در جیره طیور گوشتی سبب افزایش درصد وزن سنگدان شده بود (۲). به توصیه ی محققین اندازه ی کبد متأثر از میکروفلورای دستگاه گوارش و یا محصولات تخمیری است (۳). تغذیه از دانه کامل گندم با تغییرات فرآیندهای هضمی و به تبع آن افزایش ترشحات کبدی همراه بوده است (۶). اثرات متقابل سطح کاسنی و فرم دانه (جدول ۱) بیانگر بیشترین درصد وزن سنگدان در جوجه های تغذیه شده با جیره های حاوی پودر ریشه کاسنی در سطح ۶ درصد در هر دو فرم گندم کامل و آرد شده است. نتایج کلی این مطالعه نشان داد سطوح ۶ درصد کاسنی در جیره های فرموله شده بر پایه ی گندم (وارپته ی سرداری) به فرم دانه کامل و آرد شده موجب افزایش وزن نسبی سنگدان می گردد.

منابع:

1. Ammerman EQ. Broiler response to the addition of dietary fructooligosaccharides. Poult Sci. 1988; 67: 46.

2. Banfield, M.J., Kwakkel, R.P., and Forbes, J.M. 2002. Effects of wheat structure and viscosity on coccidiosis in broiler chickens. Elsevier. Anim. Feed Sci. and Tech., 98: 37-48.
3. Brenes, A., M. Smith., W. Guenter and T. T. Marquardt. 1993. Effect of beta-glucanase and pentosanase enzyme supplementation of chickens and laying hens fed wheat, barley, naked oats and rye diets. Can. J. Anim. Sci. 73:941-651.
4. Golian, A., and Salarmoini, M. 1999. Commercial poultry nutrition. Saseman egtesadi couter. Second Edition. 516p. (Translated in Persian).
5. Mathivanan, R., Edwin, S.C., Amutha, R. and Viswanathan, K. 2006. Panchagavya and Androgaphis panicuiata as alternatives to antibiotic growth promoter on broiler production and carcass characteristics. International Journal of Poultry Science, 5: 1144-1150.
6. Svihus, B., and Hetland, H. 2001. Ileal starch digestibility in growing broiler chickens fed on wheat-based diets improved by mash feeding, dilution with cellulose or whole wheat inclusion, Br. Poult. Sci., 42: 633-637.
7. Waldroup, A. L., J. T. Skinner, R. E. Hierholzer and P.W. Waldroup, ۱۹۹۳. An evaluation of fructooligosaccharide in diets for broiler chickens and effects on salmonella contamination of carcasses. Poult. Sci. ۷۲:۶۴۳-۶۵۰.
8. Xu, Z. R., Hu, C. H., Xia, M.S., Zhan, X. A., and Wang, M. Q., 2003. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. poultry science 82:1030-1036.
9. Yusrizal and T. C. Chen. (2003). Effect of adding chicory fructons in feed on broiler growth performance, serum cholesterol and intestinal length. Int. J. Poult. Sci.; 2:214219.

The Effects of Chicory Root Powder on Carcass Traits and Internal Organ Size of Broilers on Wheat Based Diets

Zohreh Hajaboullou, Ali Mirza Aghazadeh, Elena Nabiyar and Mojtaba Imani
Department of Animal Science, Urmia University, Urmia, Iran
Corresponding Email address: zohrehaji@yahoo.com

Abstract

The aim of this study to determine the effects of chicory root powder (CRP) added to the wheat based diets on carcass characteristics and internal organ weights of broiler chickens. Two hundred and forty day old Ross (308) broiler chicks in a completely randomized design (with 4×2) factorial arrangement, allocated to 8 treatments 3 replicate pen per treatment of and 1 D birds per pen. The dietary treatments were a combination of 4 levels of CRP (0, 2%, 4%, 6%) and 2 forms of wheat grain (whole vs. ground). At of age 35 d two broilers from each pen were selected (based on the average weight of the group), weighted, and slaughtered for carcass and internal organ measurements. The data were subjected to SAS (1996) using the GLM procedure. The results showed that CRP supplementation and wheat form had no effect on the dressing percentage, relative weight of proventriculus, heart, pancreas and abdominal fat pad content. It was concluded that CRP at 6 % irrespective of wheat form significantly increased ($p < 0.05$) relative gizzard weight on both whole or ground wheat based diets.

Keywords: Chicory Root Powder - Carcass Traits- Internal Organ Size- Broilers- Wheat

اثر پودر کنگرفرنگی بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی مسموم شده با تتراکلریدکربن

سجاد گوهری^{۱*}، فیروز صمدی^۲، فرزانه گنجی^۳، یوسف جعفری آهنگری^۲، سعید حسینی^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام و طیور، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی

۳- هیئت علمی گروه زیست شناسی، دانشگاه گلستان

* نویسنده مسئول: سجاد گوهری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی. goharisajad80@yahoo.com

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی اثر گیاه کنگر فرنگی بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی مسموم شده با تتراکلریدکربن انجام شد. این آزمایش با تعداد ۶۰ جوجه‌ی گوشتی سویه راس در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. جوجه‌ها به چهار گروه ۱۵ تایی تقسیم شدند. گروه‌های آزمایشی شامل: گروه اول: گروه شاهد (تغذیه شده با جیره توصیه شده NRC)، گروه دوم: تغذیه شده با جیره توصیه شده NRC + دریافت پودر کنگرفرنگی به میزان ۳ درصد در جیره، گروه سوم: (تغذیه شده با جیره توصیه شده با NRC + خوراندن تتراکلرید کربن به میزان یک میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و گروه چهارم: (تغذیه با جیره توصیه شده NRC + دریافت پودر کنگرفرنگی به میزان ۳ درصد در جیره + خوراندن تتراکلرید کربن همانند گروه سوم). نتایج نشان داد که پودر کنگرفرنگی باعث کاهش معنی‌دار ($P < 0.05$) کلسترول سرم خون شد ولی از نظر آماری تاثیری بر میزان تری-گلیسرید، پروتئین تام و آلبومین نداشت.

کلمات کلیدی: جوجه‌گوشتی - تتراکلریدکربن - تری‌گلیسرید - کلسترول - کنگرفرنگی

مقدمه

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه دام و طیور بدلیل تاثیر سوء آنها بر انسان (مقاومت دارویی و غیره) با محدودیت و در برخی کشورها ممنوع می‌باشد. بنابراین، تلاش‌ها به سمت جایگزین کردن افزودنی خوراکی در پرورش دام و طیور می‌باشد (۷). افزودنی‌های با منشأ گیاهی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها تاثیر سوء کمتری بر سلامت انسان دارند. خیلی از گیاهان و عصاره‌های گیاهی فعالیت ضد میکروبی و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی دارند که می‌توانند به صورت افزودنی در تغذیه دام و طیور استفاده شوند (۲). کنگرفرنگی یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی جهان است که در طول هزاران سال کشت می‌شده است. این گیاه در زبان انگلیسی آرتیشو و در زبان فارسی کنگرفرنگی، آرتیشو، انگنار و ارده‌شاهی خوانده می‌شود. این گیاه بومی جنوب اروپا، مدیترانه، شمال آفریقا و جزایر قناری است. در ایران به صورت خودرو مشاهده نمی‌شود و تنها در برخی از مناطق کشور از جمله قزوین و اندیمشک به صورت محدود کشت می‌شود. قسمت مورد استفاده کنگرفرنگی ریشه و اندام هوایی آن است. مطالعات نشان داده که عصاره این گیاه باعث افزایش ترشح صفرا شده و میزان کلسترول و چربی خون را کاهش می‌دهد همچنین این گیاه دارای ترکیبات فنولی می‌باشد که اثر ضد میکروبی دارد (۱). به خوبی ثابت شده که تتراکلریدکربن یک عامل سمی برای کبد است که

فعالیت‌های متابولیکی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بنابراین به طور اختیاری به وسیله این ماده سمی می‌توان اعمال متابولیکی را تحت تاثیر قرار داد (۳). از طرفی فقدان داروهای مناسب برای درمان بیماری‌های کبدی و همچنین مضرات داروهایی سنتتیک توجه محققین را به سمت داروهای گیاهی سوق داده است (۶) با توجه به مطالب گفته شده و نیز با توجه به اینکه در خصوص تاثیر حفاظتی کنگر فرنگی در جوجه‌های گوشتی مسموم شده با تتراکلریدکربن بسیار کمتر مطالعه شده است، لذا در این مطالعه تاثیر پودر کنگر فرنگی بر برخی فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های مسموم شده با تتراکلریدکربن مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۶۰ قطعه جوجه‌ی گوشتی یک روزه سویه تجاری راس، در ایستگاه تحقیقاتی طیور دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به طور تصادفی در چهار گروه مساوی ۱۵ تایی در داخل قفس پرورش یافتند. گروه‌های آزمایشی شامل: گروه اول: گروه شاهد (تغذیه شده با جیره توصیه شده NRC تا آخر دوره)، گروه دوم: تغذیه با جیره توصیه شده NRC تا آخر دوره + دریافت پودر کنگر فرنگی به میزان ۳ درصد در جیره)، گروه سوم: (تغذیه شده با جیره توصیه شده با NRC تا آخر دوره + خوراندن تتراکلرید کربن به میزان یک میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، گروه چهارم: (تغذیه با جیره توصیه شده NRC تا آخر دوره + دریافت پودر کنگر فرنگی به میزان ۳ درصد در جیره + خوراندن تتراکلرید کربن به میزان یک میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن همانند گروه سوم). طول دوره آزمایش ۳۵ روز بود و در پایان دوره عمل خون‌گیری از سیاهرگ بال جوجه‌ها صورت گرفت. خوراندن تتراکلرید کربن به میزان یک میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن از روز ۲۲ پرورش به بعد هر سه روز یک بار تا پایان دوره صورت گرفت. غلظت‌های سرمی پروتئین تام و آلبومین که از شاخص‌های آسیب کبدی هستند (۵) و نیز سطح کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون اندازه‌گیری شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به صفات اندازه‌گیری شده از نرم افزار آماری SAS و رویه GLM و برای مقایسه میانگین گروه‌ها از آزمون دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج این مطالعه نشان داد کنگر فرنگی باعث کاهش معنی‌دار غلظت کلسترول سرم خون شد، از طرفی تتراکلریدکربن باعث کاهش معنی‌داری در غلظت سرمی پروتئین تام و آلبومین شد ($P < 0.05$). در گروه چهارم که اثر متقابل میان کنگر فرنگی و تتراکلریدکربن است اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت که نشان دهنده تعدیل اثر تتراکلریدکربن (کاهش غلظت سرمی آلبومین و پروتئین) می‌باشد (جدول ۱). در بررسی انجام شده توسط سون‌کازال و همکاران (۲۰۱۱) مشخص شد که تتراکلریدکربن باعث افزایش معنی‌دار کلسترول و تری‌گلیسرید سرم می‌شود در حالی که تفاوتی در میزان پروتئین و آلبومین مشاهده نشد. زینب و همکاران (۲۰۰۷) نیز گزارش کردند که سطوح مختلف کنگر فرنگی تاثیر معنی‌داری بر اجزا خون نداشته و فقط سطح ۴ درصد کنگر فرنگی باعث افزایش عددی پروتئین خون و کاهش لیپید کل خون در ۲۸ روزگی جوجه‌های گوشتی می‌شود. پیتلر و همکاران (۲۰۰۵) نتیجه گرفتند که سینارین که یک ترکیب فعال در عصاره برگ کنگر فرنگی است، از اتصال استات با قسمت غیر قابل صابونی لیپید جلوگیری می‌کند و در نتیجه سبب کاهش بیوسنتز کلسترول می‌شود. به نظر می‌رسد با مهار آنزیم HMGCoA reductase که یک آنزیم کلیدی در بیوسنتز کلسترول است، به صورت غیر مستقیم سنتز کلسترول کاهش می‌یابد. با توجه نتیجه تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که کنگر فرنگی کلسترول خون را کاهش داده و در کاهش اثرات سمی تتراکلریدکربن موثر است.

جدول ۱- تاثیر پودر کنگر فرنگی بر برخی فراسنجه های خونی جوجه های گوشتی

تیمارهای آزمایشی	آلبومین (گرم/دسی لیتر)	پروتئین تام (گرم/دسی لیتر)	کلسترول (میلی گرم/دسی- لیتر)	تری گلیسرید (میلی گرم/دسی- لیتر)
گروه شاهد	ab ۱/۴۰	۳/۸۲ ^a	۱۳۵/۳۰ ^{ab}	۹۵/۷۰ ^a
کنگر فرنگی	۱/۵۷ ^a	۳/۹۰ ^a	۱۲۸/۱۰ ^{b*}	۹۴/۵۰ ^a
CCl4	۱/۲۴ ^{b*}	۲/۸۰ ^{b*}	۱۵۸/۰۰ ^a	۱۰۶/۷۰ ^a
کنگر فرنگی + CCl4	۱/۴۲ ^{ab}	۳/۲۲ ^{ab}	۱۵۵/۶۰ ^a	۱۰۲/۹۰ ^a
SEM	۰/۰۹۱	۰/۲۷	۸/۴۲	۸/۵۹

حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

* : به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

منابع

۱. احمدی محمودآبادی، ن.، مدنی، س. ح.، محزونی، پ و وحدتی، ا. ۱۳۸۵. اثر پیشگیری کننده عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی در بروز دیابت نوع یک در موش های صحرایی نر بالغ. مجله دیابت و لیپید ایران. دوره ۶ (شماره ۱): ۳۷-۴۴.
2. Faixova Z, and Faix, S. 2008. Biological effects of rosemary essential oil (Review). Folia Veterinaria. 52: 135-139.
3. Mujumddar, A. K., Upadhyay A. S and Pradhan, A. M. 1998. Effect of Azadirachta indica leaf extract on CCl₄ induced hepatic damage in albino rats. Indian Journal of Pharmacology Science. 60: 363.
4. Pittler, M. H., Thompson C. J, and Ernst, E. 2005. Artichoke leaf extract for treating hypercholesterolaemia. (Review). The Cochrane Library, Issue 2. The Cochrane Collaboration. Published by John Wiley & Sons, Ltd.
5. Sathesh Kumar, S., Ravi Kumar, B., Krishna Mohan, G. Hepatoprotective effect of Trichosanthes cucumerina Var cucumerina L. on carbon tetrachloride induced liver damage in rats. Journal of Ethnopharmacology. 123: 347-350
6. Sonkusale, P., Bhandarker, A. G., Kurkare, N. V., Ravikanth, K. Maini, S and Sood, D. 2011. Hepatoprotective Activity of Superliv Liquid and Repchol in CCl₄ Induced FLKS Syndrome in Broilers. International Journal of Poultry Science 10: 49-55.
7. William, P, and Losa, R. 2001. The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. World Poultry. 17: 14-15.
8. Zeinab, M., Abdo, A., Nadia, L., Radwan, and Nessrin, A. 2007. The Effect of Artichoke Leaves Meal on the Utilization of Dietary Energy for Broiler Chicks. International Journal of Poultry Science 6: 973-982.

Effect of artichoke powder on blood parameter in broiler chickens poisoned with CCl₄

S. Gohari^{1*}, F. Samadi², F. Ganji³, S. Hasani², Y. Jafari Ahangari²

1. Msc student, Department of animal science, University of agriculture and natural resource of gorgan, Iran

2. academic associate, Department of animal science, University of agriculture and natural resource of gorgan, Iran

3. assistant professor, Department of biology, University of agriculture and natural resource of gorgan, Iran

* Corresponding E-mail address: goharisajad80@yahoo.com

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of artichoke powder on some blood parameters of broiler chickens poisoned with CCl₄. A total of 60 Ross day old broilers were divided into four equal groups and assigned in randomizes completed designed. Experimental treatments were included: Group 1) control, group 2) received artichoke powder (%3 of diet), group 3) received 1 ml/kg/BW of CCl₄ orally and group 4) received both artichoke and CCl₄, as much as other groups. CCl₄ administered every 3rd day during 21-35 days of experimental period. In day 35, blood samples were taken and some biochemical blood parameter such as total protein, albumin, cholesterol, and triglyceride were measured. The result showed the significant decrease in cholesterol level in group receiving artichoke compared to other groups but no significant differences in levels of triglyceride, albumin and total protein were shown.

Keywords: artichoke- broiler- CCl₄ – cholesterol- triglyceride

اثر ال-آرژنین بر بروز رفتار فحلی در گوسفند نژاد نائینی

جعفر کریمی حبیب آباد^{۱*}، حمیدرضا رحمانی^۲، احمد ریاسی^۳، محمدعلی ادریس^۴، حمید کهرام^۳ و نیلوفر مجیدی^۴
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد علوم دامی دانشگاه صنعتی اصفهان، ۲-اعضای هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان،

۳-عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، ۴-دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم دامی دانشگاه صنعتی اصفهان
*نویسنده مسئول: جعفر کریمی حبیب آباد، دانشگاه صنعتی اصفهان، j.karimi64@yahoo.com

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی تاثیر ال-آرژنین بر رفتار فحلی در فصل تولید مثلی گوسفند نژاد نائینی بود. تعداد ۳۰ رأس میش نائینی بر اساس سن و وزن به دو گروه آزمایشی تقسیم شدند که عبارت بودند از گروه ال-آرژنین (۲۰ رأس) و گروه شاهد (۱۰ رأس). به منظور همزمان سازی فحلی تمام میش‌ها با استفاده از سیدر گوسفندی (۳۰۰ میلی گرم پروژسترون طبیعی) به مدت ۱۴ روز تحت درمان قرار گرفتند. گروه ال-آرژنین همزمان با برداشت سیدر به میزان ۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده ال-آرژنین دریافت کردند. پس از استقرار قوچ در گله، مشاهده‌ی مداوم میش‌ها به منظور تعیین زمان شروع فحلی، شدت بروز علائم فحلی و طول دوره فحلی صورت پذیرفت. میزان فحلی در گروه ال-آرژنین (۱۸ از ۲۰ رأس) نسبت به گروه شاهد (۸ از ۱۰ رأس) بیشتر بود، البته این تفاوت معنی دار نبود ($P > 0.05$). تفاوت فاصله زمانی سیدر برداری تا بروز اولین علائم فحلی در گروه ال-آرژنین و گروه شاهد تمایل به معنی داری داشت (۳۱/۶ ساعت در مقابل ۳۶/۶ ساعت) ($P < 0.07$). طول دوره فحلی (۳۷/۱ ساعت در مقابل ۲۶/۸) و شدت بروز علائم فحلی در گروه ال-آرژنین به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود ($P < 0.01$). به طور کلی این مطالعه نشان داد که ال-آرژنین منجر به تشدید علائم فحلی در گوسفند نژاد نائینی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: میش نائینی - ال-آرژنین - رفتار فحلی - علائم فحلی - اکسیدنیتريك

مقدمه

عملکرد تولیدمثلی بزرگترین عامل تعیین‌کننده‌ی میزان درآمد در گله‌های پرورش گوسفند می‌باشد (۹). در طول دهه‌های گذشته تکنیک‌های پیشرفته‌ی زیادی به منظور بهبود عملکرد تولیدمثلی در پستانداران توسعه یافته است. تلقیح مصنوعی، سوپراوولاسیون، همزمان سازی فحلی، انتقال جنین و لقاح درون آزمایشگاهی به عنوان نمونه‌هایی بارز از این تکنیک‌ها بوده‌اند. اخیراً "مواد مغذی خاص که نقش مهمی در رشد، تکامل، تولید مثل و ایمنی بازی می‌کنند به منظور بهبود این تکنیک‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (۵). ال-آرژنین یک آمینواسید نیمه ضروری برای بیشتر پستانداران است و دارای طیف گسترده‌ای از عملکردها می‌باشد. ال-آرژنین نقطه‌ی شروع برای سنتز اوره و اورنیتین می‌باشد. همچنین به عنوان یک سیگنال متابولیک نقش مهمی را در فعالسازی مسیرهای مهم بیولوژیکی در بدن ایفا می‌کند و می‌تواند در تحریک سیستم ایمنی، هورمون رشد، آزاد سازی $GnRH^{۷۱}$ و $LH^{۷۲}$

⁷¹ . Gonadotrophin releasing hormone

⁷² . Luteinizing hormone

نقش داشته باشد (۴). همچنین آرژنین به عنوان پیش ساز اکسیدنیتریک (NO)^{۷۳}، گلوتامات، پلی آمین ها و پروتئین ها در و تولیدمثل مطرح است (۱۰).

NO در پاسخ های ایمنی، به عنوان یک نوروترانسمیتر، رادیکال آزاد و یک سیگنال مولکولی با قابلیت انتشار در همه جای بدن مطرح است (۶). علاوه بر آن NO در عملکردهای مربوط به محور هیپوتالاموس-هیپوفیز - تخمدان دارای نقش تنظیمی است. در تحقیقات اخیر پیشنهاد شد که NO ممکن است به عنوان یک انتقال دهنده ی جدید در هیپوتالاموس، هیپوفیز و تخمدان عمل کند (۸). NO آزادسازی $LHRH^{۷۴}$ را تحریک کرده و $LHRH$ نقش حیاتی در بروز رفتار جنسی در جنس ماده دارد (۷). تشخیص فحلی و مدیریت زمان فحلی با توجه به محدود بودن زمان فحلی در نشخوارکنندگان امری ضروری است و هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر ال-آرژنین بر بروز رفتار فحلی در گوسفند نژاد نائینی می باشد.

مواد و روش ها

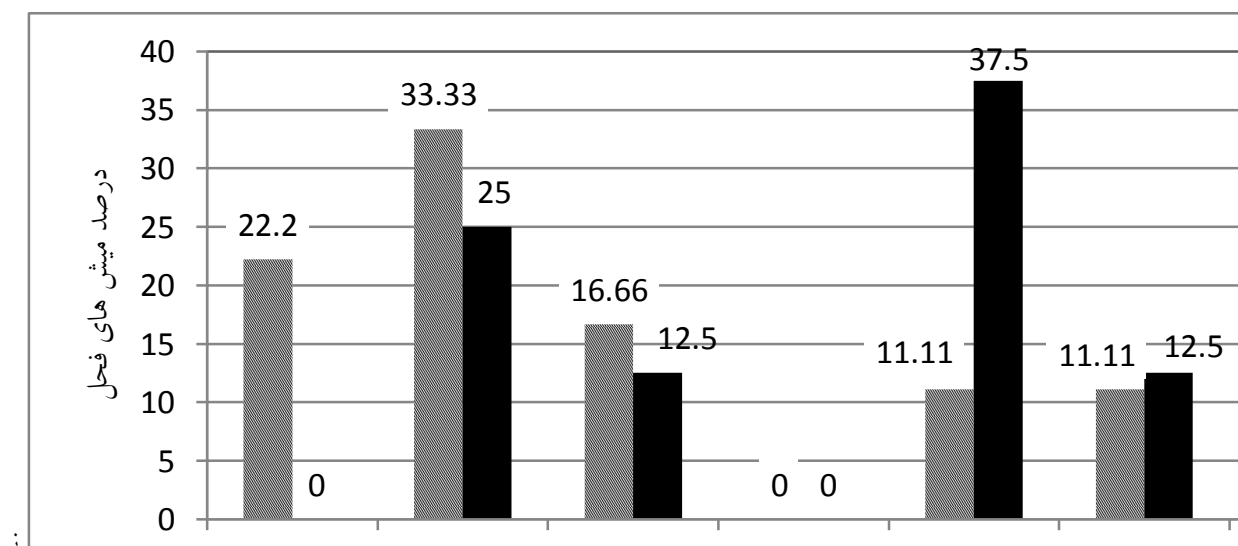
آزمایش حاضر در نیمه دوم آبان ماه ۱۳۹۰ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان (لورک) و بر روی ۳۰ رأس میش نژاد نائینی با سابقه تولید مثلی مطلوب انجام شد. گروه های آزمایشی در این مطالعه شامل گروه ال-آرژنین (۲۰ رأس) و گروه شاهد (۱۰ رأس) با سن ۲ تا ۴ سال و میانگین وزنی 47 ± 3 کیلوگرم بودند. میش ها از جیره مشابهی شامل ۴۵٪ یونجه، ۳۶/۹۰٪ جو، ۷/۶۱٪ کاه، ۶/۲۵٪ سبوس گندم، ۳/۸۷٪ کنجاله سویا و ۰/۳۷٪ نمک تغذیه کردند. به منظور همزمان سازی فحلی از سیدر گوسفندی (۳۰۰ میلی گرم پروژسترون طبیعی، ایزی برید، نیوزیلند) به مدت ۱۴ روز استفاده شد. همزمان با برداشت سیدر به گروه ال-آرژنین به میزان ۳۰ میلی گرم ال-آرژنین (سیگما-آلد ریچ، ژاپن) به ازای هر کیلوگرم وزن زنده در محل سیاهرگ و داج گردنی تزریق شد. ۱۲ ساعت بعد از تزریق ال-آرژنین ۶ رأس قوچ (۵ میش به ازای هر قوچ) به گله معرفی شد. پس از استقرار میش در گله مشاهده مداوم میش ها به منظور تعیین زمان شروع فحلی، طول ساعات فحلی و شدت بروز علائم فحلی که تابعی از تعداد پرش ها، ترشحات فرج، تورم و قرمزی فرج بود، صورت پذیرفت. در مورد شدت بروز علائم فحلی با توجه به مشاهدات بدست آمده میش ها در سه دسته بندی قرار گرفتند امتیاز ۱ به میش هایی با شدت بروز علائم فحلی ضعیف، امتیاز ۲ به میش هایی با شدت بروز علائم فحلی متوسط و امتیاز ۳ به میش هایی که شدت بروز علائم فحلی بیشتر از دو گروه دیگر بود، تعلق گرفت. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و رویه GLM انجام شد.

نتایج و بحث

میانگین فاصله ی زمانی بعد از سیدربرداری تا بروز علائم فحلی در گروه ال-آرژنین (۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده) (۲۰ رأس) و گروه شاهد (۱۰ رأس) به ترتیب برابر با ۳۱/۶ و ۳۷/۱ ساعت بود. آنالیز داده ها نشان داد که تفاوت بین گروه ال-آرژنین و گروه شاهد تمایل به سمت معنی داری دارد ($p < 0.07$). بنابراین ال-آرژنین توانست زمان شروع فحلی را به میزان ۵ ساعت کاهش دهد. همچنین مطالعه حاضر نشان داد که بیش از ۵۰ درصد میش هایی که تیمار ال-آرژنین دریافت کرده اند در فاصله ی $30 \geq$ ساعت علائم فحلی را نشان دادند (نمودار ۱).

⁷³ . Nitric oxide [NO]

⁷⁴ . Luteinizing hormone-releasing hormone



مودار ۱- فراوانی بروز فحلی (ساعت) بعد از سیدر برداری در گروه آل-آرژنین و گروه شاهد علائم

این اطلاعات با نتایج حاصل از مشاهدات محققین همخوانی دارد (۱). همچنین در رابطه با شدت بروز علائم فحلی تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و گروه آل-آرژنین مشاهده شد ($p < 0.002$). نتایج این مطالعه نشان داد که آل-آرژنین می‌تواند شدت بروز علائم فحلی را افزایش دهد (۲/۶۱ در مقابل ۱/۷). مطالعات در زمینه‌ی هم‌زمان‌سازی فحلی نشان می‌دهد که فاکتورهایی از جمله: جذب هورمون پروژسترون به وسیله‌ی بافت پوششی رحم، کاربرد eCG و پاسخ‌های سیستم ایمنی در زمان بروز علائم فحلی موثر هستند (۲).

کمتر بودن زمان بروز علائم فحلی و افزایش شدت بروز علائم فحلی در گروه آل-آرژنین با تاثیر آل-آرژنین بر سیستم ایمنی، بافت پوششی رحم و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تخمدان ارتباط دارد. در رابطه با طول دوره فحلی نیز تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و گروه آل-آرژنین مشاهده شد ($p < 0.002$). به طوری که تزریق آل-آرژنین حدود ۱۰ ساعت طول دوره فحلی را افزایش داد. افزایش طول دوره فحلی با تاثیر آل-آرژنین بر خاصیت اتساع عروقی، افزایش رشد و توسعه فولیکولی و افزایش اولیه استروئیدهای تخمدانی از طریق NO قابل توجیه است. اگرچه تاثیر مستقیم NO بر استروئیدهای جنسی تاکنون مشخص نشده است و بیشتر گزارش‌ها حاکی از کاهش استروئیدها در نتیجه تیمار با NO می‌باشد (۳). میزان فحلی در گروه آل-آرژنین (۱۸ از ۲۰ رأس)، (۹۰٪) نسبت به گروه شاهد (۸ از ۱۰ رأس)، (۸۰٪) بیشتر بود، البته این تفاوت معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). این نتایج با یافته‌های سایر محققین همخوانی دارد (۱ و ۲). به طور خلاصه نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که آل-آرژنین می‌تواند منجر به بهبود برخی از پارامترهای مربوط به بروز رفتار فحلی در گوسفند شود.

منابع

۱. ممویی، م. یعقوبی، ج. کرمی، ح. روشنفکر، ه. بررسی اثر سیدر در القاء، هم‌زمان‌سازی فحلی و میزان باروری میش‌های نژاد سنجابی در فصل غیر تولید مثلی. مجله دامپزشکی ایران. دور پنجم شماره ۱. بهار ۱۳۸۸.

2. Bulbarela-Garcia, G., A. Pro-Martinez, C.M. Becerril-Perez, P. Diaz-Rivera, A. Rosendo-Ponce, J. Gallegos-Sanchez. 2009. Effect of L-Arginine and fish oil on the reproductive performance of hair sheep synchronization with a progestagen. *J. Agrociencia*. 43(4): 371-377.
3. Dixit, V.D and N. Parvizi. 2001. Nitric oxide and the control of reproduction. *Anim. Reprod. Sci.* 65:1-16.
4. Graf, P., U. Foresterman and E.I. Closs. 2001. The transport activity of the human cationic amino acid transporter hCAT-1 is down regulated by activation of protein kinase C. *Br J Pharmacol*. 132: 1193-1200.
5. Hamra, A., F.M.A. Al-Dabas and F.T. Awawdeh. 2003. Effect of arginine supplementation on puberty and some reproductive traits in female Awassi sheep. *J. Agric.* 20: 82-85.
6. Ignarro, L.J., G. Cirino, A. Casini and C. Napoli. 1999. Nitric oxide as a signaling molecule in the vascular system: an overview. *J. Cardiovasc Pharmacol*. 34: 879-886.
7. McCann, S.M., C. Mastronardi, A. Walczewska, S. Karanth, V. Rettori and W.H. Yu. 1999. The role of nitric oxide in reproduction. *J. Medical and Biological Research*. 32: 1367-1379.
8. Rettori, V., N. Belova, W. Dees, C. Nyberg, M. Gimeno and S.M. McCann. 1993. Role of nitric oxide in the control of luteinising hormone releasing hormone release in vivo and in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90: 10130-10134.
9. Saevre, C.B., A.M. Meyer, M.L. Van Emon, D.A Redmer, J.S. Caton, J.D. Kirsch, J.S. Luther and C.S. Schauer. 2011. Impacts of arginine on ovarian function and reproductive performance at the time of maternal recognition of pregnancy in ewes. *J. Sheep Research Report*. 52: 13-16.
10. Wu, G. and S.M. Morris. 1998. Arginine metabolism: Nitric oxide and beyond. *J. Biochem.* 336: 1-17.

Effect of L-arginine on estrous behavior in Naeini sheep

Jafar karimihabibabad^{1*}, Hamidreza Rahmani¹, Ahmad riasi¹, Mohammad Ali Edriss¹,
Hamid Kohram² and Niloufar Majidi¹

1- Department of Animal Sciences, College of Agriculture, Isfahan University of Technology

2- Department of Animal Sciences, College of Agriculture, University of Tehran

* Corresponding E-mail address: j.karimi64@yahoo.com

Abstract

The objective of this study was to test the effect of L-arginine on estrus behavior in Naeini sheep during the breeding season. Thirty ewes of the same age and weight were divided into two groups included L-arginine (ARG; n=20) and control (CON; n=10) groups. In order to synchronize estrus all ewes received a CIDR device (300 mg of natural progesterone) for 14 days. Concurrent with CIDR removal groups of ARG received L-arginine (equivalent to 30 mg of L-arginine/kg of BW). Thereafter ewes were exposed to fertile rams and at the same time continuous observation was carried out to identify standing estrus, signs of estrus and duration of estrus. Estrus in groups of ARG (18 of 20) was higher than the CON groups (8 of 10), although this difference was not significant ($p>0.05$). The time of first signs of estrus in ARG groups was lower than the control group (31.6 h vs. 36.6) and this difference was a tendency towards



significant ($p < 0.07$). Duration of estrus (37/1 h vs. 26/8 h) and signs of estrus in ARG groups was significantly higher than the CON groups. Overall, this study showed that L-arginine can lead to exacerbation of estrus in Naeini sheep.

Keywords: Naeini sheep - L-arginine - estrus behavior - signs of estrus - Nitric oxide

بررسی تاثیر سطوح مختلف گیاه نعناع بر روی کیفیت گوشت در بلدرچین ژاپنی

بابک امین زاده^۱، بهزاد کرمی^۱، یوسف جعفری آهنگری^۲، الیاس لطفی^۳

۱- دانشجویان کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانشیار دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، باشگاه پژوهشگران جوان، گرگان، ایران.

نویسنده مسئول: بابک امین زاده، اردبیل-شهرک سبلان- فاز ۱-قطعه ۲۲۷، babak_aminzade@yahoo.com

چکیده:

از جمله مزایای گوشت بلدرچین از لحاظ تغذیه ای می توان به درصد بالای پروتئین، اسیدهای چرب غیر اشباع ضروری و مواد معدنی و مقدار کم چربی اشاره کرد. میزان ذخیره گلیکوژن در ماهیچه ای این پرنده به خاطر فعالیت و تحرک این پرنده افزایش یافته و در نتیجه از کیفیت بالایی برخوردار است. به منظور تعیین اثرات سطوح مختلف نعناع بر روی پارامترهای مربوط به کیفیت گوشت، تعداد ۱۸۰ قطعه بلدرچین ژاپنی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۴ تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح (صفر، ۱/۵ و ۲/۵ درصد نعناع به صورت افزودنی) بودند. جهت تعیین پارامترهای کیفیت گوشت پس از ذبح و پرکنی، عضله سینه جدا شد. شاخص های رنگ شامل روشنایی، زردی و قرمزی، ظرفیت نگهداری آب، اسیدیته، مالون دی آلدئید گوشت (MDA) و چربی داخل ماهیچه ای اندازه گیری شد. نتایج آزمایش نشان داد اختلاف معنی داری در شاخص های رنگ (زردی و قرمزی) و مالون دی آلدئید گوشت (MDA) وجود داشت ($p \leq 0.05$) و برای صفات مربوط به ظرفیت نگهداری آب (whc)، اسیدیته (pH)، چربی داخل ماهیچه ای و یکی از شاخص های رنگ (روشنایی) اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایشی وجود نداشت ($p > 0.05$). از نتایج این تحقیق این چنین استنتاج می شود که افزودن گیاه نعناع در جیره دوره رشد بلدرچین های ژاپنی بر روی بعضی فاکتورهای کیفیت گوشت تاثیر معنی داری خواهد گذاشت. کلمات کلیدی: کیفیت گوشت- مالون دی آلدئید گوشت - چربی داخل ماهیچه ای-

مقدمه:

گوشت بلدرچین به علت داشتن پروتئین زیاد و درصد چربی کم بسیار مطلوب بوده و برای درمان بعضی از بیماری ها مانند ضعف اعصاب، ناراحتی های روانی و بی خوابی موثر است و در افراد مسن قوای از دست رفته جوانی را تقویت می کند (شکوه مند ۱۳۸۷). همچنین از آنجایی که فعالیت و تحرک این پرنده باعث افزایش میزان ذخیره گلیکوژن در ماهیچه ها می شود بنابراین از کیفیت بالایی برخوردار است. نعناع از جمله گیاهان دارویی است که از ارزش و اهمیت خاصی در تغذیه، تأمین بهداشت و سلامتی هم به لحاظ تاثیر در کیفیت گوشت و درمان و پیشگیری از بیماریها برخوردار می باشد و یکی از مهمترین منابع تأمین غذایی و دارویی بشر در طول نسلها بوده اند... نام علمی گیاه نعناع *MenthaL piperita* می باشد و از خانواده لب شکافته ها به عنوان داروهای گیاهی شناخته شده اند. بسیاری از اعضای جنس نعناع وحشی جهت درمانهای گیاهی مورد استفاده قرار گرفته، به ویژه به واسطه خواص ضد عفونتی و اثرات سودمندی که بر روی فرآوردهای هضم دارند. همچنین ترکیبات روغن های ضروری استخراجی از نعناع دارای خواص ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی می باشند و همچنین نقش بسزایی در کیفیت گوشت خواهد داشت (زرگری، ۱۳۶۹). هدف از اجرای طرح حاضر، بررسی تأثیر سطوح مختلف نعناع بر روی صفات کیفیت گوشت در بلدرچین ژاپنی می باشد.

مواد و روش‌ها:

این آزمایش با استفاده از ۱۸۰ قطعه بلدرچین نژاد کوترنیکس ژاپنیکا در مرکز پرورش طیور دانشگاه کشاورزی گرگان انجام شد. طرح آزمایشی مورد استفاده طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۴ تکرار و هر تکرار شامل ۱۵ قطعه جوجه بود. تیمارهای آزمایشی سطوح مختلف نعنای به صورت افزودنی در جیره غذایی بود (صفر، ۱/۵ و ۲/۵ درصد). مدت آزمایش شش هفته و شروع آزمایش از هنگام تولد بود. جیره‌ی آزمایشی مورد استفاده با استفاده از نرم افزار UFFDA و بر اساس جداول احتیاجات بلدرچین (NRC، ۱۹۹۴) تنظیم شدند. بلدرچین‌ها به روش آزاد تغذیه شدند و در طول دوره رشد به طور کامل روشنایی دریافت کردند. جهت تعیین پارامترهای کیفیت گوشت، تعداد ۲ قطعه بلدرچین نراز هر واحد آزمایشی (۸ بلدرچین به ازای هر تیمار) انتخاب شدند و پس از ذبح و پرکنی، عضله سینه و ران آنها جدا شد و درون پاکت‌های پلاستیکی زیپ‌دار قرار گرفت. نمونه‌های گوشت بلافاصله بعد کشتار به صورت کامل به فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد منتقل شد. پارامترهای کیفیت گوشت روز بعد از کشتار اندازه‌گیری شد. این پارامترها عبارت بودند از: شاخص‌های رنگ (روشنایی، زردی و قرمزی)، ظرفیت نگهداری آب، اسیدیته، مالون‌دی‌آلدهید گوشت (MDA)^{۷۵} و چربی داخل ماهیچه‌ای. داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری SAS (۲۰۰۱) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام پذیرفت.

نتایج و بحث:

نتایج جدول شماره یک نشان داد که فقط دو شاخص رنگ (قرمزی و زردی) و مالون‌دی‌آلدهید اسیدیته از فاکتورهای کیفیت گوشت تحت تأثیر سطوح مختلف نعنای قرار گرفت ($P < 0.05$). بر اساس نتایج بدست آمده، گوشت سینه بلدرچین‌های تغذیه شده با جیره‌های فاقد نعنای دارای pH بالاتر و ظرفیت نگهداری آب کمتری بود (به ترتیب ۶/۱۷ و ۵۷/۸۸). همچنین تیمار شاهد مقادیر مالون‌دی‌آلدهید بیشتری در قیاس با تیمارهای ۱/۵ و ۳ درصد داشت که این اختلافات معنی‌دار بودند ($P < 0.05$). به نظر می‌رسد این تفاوت معنی‌دار احتمالاً ناشی از وجود روغن غیر اشباع‌تر در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای حاوی سطوح نعنای باشد. سطوح بالای این اسیدهای چرب غیر اشباع میزان فساد پذیری در گوشت سینه را بالا برده و از قدرت ماندگاری آن کاسته- اند (کیم و همکاران ۲۰۱۰). با افزودن نعنای در جیره، افزایش هضم و جذب چربی‌ها که به صورت کاهش در اسیدهای چرب غیر اشباع در گوشت مشاهده می‌شود شاخص فساد پذیری گوشت نیز کاهش می‌یابد. بدیهی است در جیره‌های حاوی سطوح ۱/۵ و ۳ درصد نعنای که باعث کاهش ذخیره چربی (میزان بالای اسیدهای چرب غیر اشباع) در گوشت سینه شده‌اند، میزان مالون‌دی‌آلدهید کمتری مشاهده شود. با توجه به تحقیقات اندکی که در زمینه کیفیت گوشت در بلدرچین ژاپنی انجام شده است، نتایج حاصله از این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده از نعنای در جیره غذایی بلدرچین ژاپنی، تأثیر معنی‌داری بر روی کیفیت گوشت از جمله کاهش شاخص فساد پذیری گوشت خواهد داشت.

⁷⁵ Malondialdehyde



مقایسه میانگین فاکتورهای کیفیت گوشت در تیمارهای مختلف

تیمار	pH	a* (شاخص قرمزی)	b* (شاخص زردی)	L* (شاخص روشنایی)	WHC ^۱	TBA ^۲	IMF ^۳
صفر	۶/۱۹±۰/۲۶	b ^۵ /۵۶±۰/۲۴۴	b ^۵ -۱/۹۳±۰/۰۵	۶۱/۹۲±۰/۲۵۹	۵۷/۳۳±۰/۴۷	a ^۷ ۵/۴۳±۰/۶۳	۶/۸۱±۰/۵۳
۱/۵ درصد	۶/۰۷±۰/۳۶	a ^۷ /۱۷±۰/۱۹۶	a ^۷ -۱/۱۷±۰/۰۶	۶۱/۲۴±۰/۷۱۴	۵۸/۸۲±۰/۶۲	b ^۵ ۶/۱۹±۰/۵۹	۶/۷۹±۰/۳۴
۳ درصد	۶/۱۰±۰/۱۷	a ^۷ /۴۷±۰/۳۲۸	a ^۷ -۱/۰۳±۰/۰۵	۶۲/۰۱±۰/۶۲۴	۵۷/۸۸±۰/۲۹	b ^۵ ۳/۲۶±۰/۶۹	۶/۵۵±۰/۲۳
سطح احتمال	۰/۴۹	۰/۰۱۹	۰/۰۳۶	۰/۰۵۷	۰/۴۹	۰/۰۰۲	۰/۶۲

حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده ی اختلاف معنی دار بین تیمارهاست ($p < 0.05$)

۱-ظرفیت نگهداری آب (درصد)

۲-مالون دی آلدید (میکروگرم در گرم)

۳-چربی داخل ماهیجه ای

منابع:

شکوهمند، م. ۱۳۸۷. پرورش بلدرچین، تهران: انتشارات نور بخش. ۱۶۰ ص (تألیف).

زرگری ع. گیاهان داروئی، انتشارات دانشگاه تهران جلد اول، چاپ چهارم، ص: ۳۱۲-۱۵

SAS Institute. 2001. SAS User's Guide, Version 8.2. SAS Institute, Cary, NC

Kim, Y.J., Park, W.Y. and Choi, I.H. 2010. Effects of dietary α -tocopherol, selenium, and their different combinations on growth performance and meat quality of broiler chickens. Journal of Poultry Science. 89:603-608.

Investigation on effects of *Mentha piperita* plant on meat quality traits in Japanese quail

The benefit of meat quail is including high protein, polyunsaturated fatty acids and essential trace minerals and fat. Because the high activity in this bird, the amount of glycogen stored in muscles increased and resulting in high quality. In current study, the effect of different levels of *Mentha piperita* plant on meat quality characteristics in Japanese quail was investigated. 180



quails were carried out in completely randomized design with three levels of of *Mentha piperita* plant (0, 1.5 and 3 percentage). Four replicates with 15 quails were allocated to each experimental treatment. Determination of meat quality parameters measured after slaughter and filling and then breast muscle was isolated. Meat quality parameters including the brightness, yellowness and redness of colors, water holding capacity, acidity, Malondialdehyde (MDA) and intramuscular fat. The results showed that yellowness and redness of colors and (MDA) affected by levels of *Mentha piperita* plant ($p<0.05$). There was no significantly difference for the rest of meat quality traits such as brightness of colors, water holding capacity, acidity, and intramuscular fat.. The result showed adding levels of *Mentha piperita* plant was improved some of meat quality traits.

Keywords: Malondialdehyde –Intramuscular fat- Meat quality characteristics

تاثیر استفاده از دانه های روغنی در جیره های فلاشینگ در خارج از فصل تولید مثلی بر سطوح هورمونها مرتبط با تولیدمثلی

میش های مغانی

غلامرضا اصلانی کردکندی^۱ - حسین دقیق کیا^۲ - غلامعلی مقدم^۲ - صادق علیجانی^۲ - بهرام رهبر^۱

^۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی دام - عضو هیات علمی گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

*نویسنده مسئول: غلامرضا اصلانی کردکندی G.Asalani@yahoo.com

مقدمه

یکی از مولفه های مهم و موثر در تولیدمثل، سطح انرژی بکار رفته در جیره می باشد. استفاده از مکمل های چربی در جیره موجب افزایش چگالی انرژی می شود. استفاده از چربی در جیره علاوه بر کاهش بالانس منفی انرژی می تواند اندازه فولیکول های تخمدانی را افزایش داده و طول عمر جسم زرد را بهبود بخشد (۲). مقایسه اثرات منابع مختلف چربی بر روی رشد فولیکول ها نشان داد که استفاده از جیره های با مکمل چربی غنی از امگا-۶ (اسید لینولئیک) و یا امگا-۳ (اسید لینولئیک) یا اسیدهای آیکوزاپنتانوئیک و دکوهگزانوئیک در مقایسه با منابع چربی غنی از اسید اولئیک، با تحریک رشد فولیکول ها باعث افزایش اندازه فولیکول های غالب می شود. در گاوهای گوشتی، تغذیه جیره های حاوی اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع نسبت به جیره های کنترل، موجب افزایش انسولین سرم شد (۳). آمبروس و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که در گاوهای تغذیه شده با دانه بذرک در مقایسه با گاوهای تغذیه شده با دانه آفتابگردان احتمال آبستنی تا دو برابر افزایش یافته و مرگ و میر جنینی از روز ۳۲ پس از تلقیح تا زمان گوساله زایی کاهش یافت (۹/۸ در برابر ۲۷/۳٪). هدف از انجام این پژوهش تاثیر استفاده از دانه های روغنی به عنوان منابع چربی غیر اشباع در جیره فلاشینگ بر روی میزان باروری، تعداد نتاج ودوقلو زایی بوده و همچنین تغییرات غلظت هورمون های مرتبط با تولیدمثل در طی دوره فلاشینگ و مشاهده ارتباط بین غلظت هورمون های تولیدمثلی با عملکرد تولیدمثلی میشهای مغانی در خارج از فصل تولیدمثلی می باشد.

۱- مواد و روشها

این تحقیق در ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند مغانی جعفرآباد واقع در استان اردبیل انجام شد. ۳۶ راس میش نژاد مغانی ۳/۵ ساله با میانگین وزن 55 ± 5 کیلوگرم در ۳ گروه ۱۲ راسی با استفاده از منابع مختلف انرژی در جیره فلاشینگ تغذیه شدند. تاثیر دانه های روغنی بر هورمونهای خونی و عملکرد تولیدمثلی مورد بررسی قرار گرفتند. گروههای آزمایشی شامل دانه بذرک (F) (۵٪ ماده خشک جیره؛ دانه سویا (S) (۵٪ ماده خشک جیره) و شاهد (C) (فاقد دانه روغنی) مورد مطالعه قرار گرفتند. جیره های غذایی طبق جدول NRC تنظیم شده و به صورت کاملاً مخلوط در سه وعده غذایی در اختیار میش ها قرار گرفتند (جدول ۱). میش ها آزادانه به آب دسترسی داشتند دوره فلاشینگ سه هفته قبل از جفتگیری و دو هفته بعد از جفتگیری ادامه داشت. میش های انتخاب شده دارای امتیاز وضعیت بدنی (BCS) ۲/۵ بودند که تا زمان جفتگیری به ۳ رسید. چرخه فحلی میش ها بوسیله سیدر (Eazi-Breed نیوزلند) به مدت ۱۴ روز همزمان سازی شده بلافاصله بعد از برداشتن سیدر ۴۰۰ واحد بین المللی هورمون PMSG تزریق و ۲۴ ساعت پس از سیدربرداری میش ها با قوچ های موجود در ایستگاه بصورت تصادفی جفتگیری داده شدند. جفتگیری در روز اول خرداد ماه (خارج از فصل تولید مثلی) انجام گرفت. نمونه های خونی در روز شروع آزمایش، ۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری و ۱۰ روز بعد از جفتگیری از طریق ورید وداچ گرفته شدند. سپس سرم آنها توسط

سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه جدا شده و تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- سانتیگراد نگهداری شدند. برای اندازه گیری هورمون‌ها از دستگاه الایزا ریدر مدل اورانس ۳۲۰۰ آمریکا و کیت های (ELA-۲۴۲۵-۳۰۰) برای انسولین، (۳۰۰-ELA-۴۹۲۵) برای استروژن و (ELA-۴۸۲۵-۳۰۰) برای پروژسترون استفاده شد. کیت های هورمونی همگی متعلق به شرکت Monobind آمریکا بودند.

۲- مدل آماری

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. برای تجزیه و تحلیل داده هایی که بصورت متغیر پیوسته بودند، نرم افزار SAS ۹/۱ (۲۰۰۳) و رویه MIXED و برای سایر صفات از رویه، Freq استفاده شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون - توکی کرامر استفاده گردید.

۳- نتیجه و بحث

۳-۱- تعداد نتاج و دوقلوزایی

تعداد نتاج و دوقلوزایی در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از جدول ۱ بیانگر بالا بودن درصد بره زایی و زایش در تیمارهای حاوی دانه های روغنی نسبت به گروه شاهد می باشد ($P < 0.05$). این نتایج با داده های تاییدی و اواد (۲۰۰۷)، استفان و باتلر (۱۹۹۷) توماس و همکاران (۱۹۹۷) دقیق کیا و همکاران (۲۰۱۱) که با تغذیه منابع چربی میزان باروری بالایی را نسبت به گروه شاهد مشاهده نمودند، مطابقت دارد.

جدول ۱- آمار توصیفی تعداد نتاج و درصد های باروری در گروه های آزمایشی

تیمار	تعداد نتاج	تعداد زایش	بره زایی (%)	چند قلوزایی (%)	
				تک قلو	دوقلو
F (دانه بذری)	۱۲ ^a	۱۰ ^a	۱۲۰ ^a	۸۰	۲۰ ^a
S (دانه سویا)	۱۲ ^a	۱۰ ^a	۱۲۰ ^a	۸۰	۲۰ ^a
C (شاهد)	۱۰ ^b	۹ ^b	۱۱۱ ^b	۸۹	۱۱ ^b

حروف لاتین غیر مشابه در هر ستون مربوط به تیمارها بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ($P < 0.05$) می باشد.

۳-۲- هورمون ها

روند تغییرات هورمونهای استروژن، پروژسترون و انسولین از شروع آزمایش تا ۱۰ روز پس از جفتگیری در جدول ۲ گزارش شده است. مصرف دانه های روغنی (بذری و سویا) در جیره، سطوح استروژن، انسولین، خون را افزایش داد ($P < 0.01$). در حالیکه پروژسترون تحت تاثیر قرار نگرفت (جدول ۲).

جدول ۲- تاثیر استفاده از دانه های روغنی بر هورمونهای مرتبط با تولید مثل

تیمارها					Pr
> F					
هورمون ها	F	S	C	تیمار	زمان
				تیمار* زمان	

استروژن (pg/ml)					
شروع آزمایش	۶۲/۱۳±۱/۶۳	۶۲/۰۲±۱/۵۸	۶۱/۵۸±۴/۸۱		
۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری	۱۲۰/۱۹±۱/۶۳ ^a	۱۲۰/۰۳±۱/۵۸ ^a	۱۱۰/۹۲±۱/۶۲ ^b	۰/۰۱	۰/۰۱
۱۰ روز بعد از جفتگیری	-	-	-	۰/۰۱	۰/۰۱
پروژسترون (ng/ml)					
شروع آزمایش	۱/۵۵±۲/۲۰	۱/۴۷±۲/۲۰	۱/۵۴±۲/۲		
۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری	۱/۷۲±۲/۲	۱/۷۷±۲/۲	۱/۵۵±۲/۲	۰/۷۱	۰/۰۱
۱۰ روز بعد از جفتگیری	۴/۲۹±۲/۲	۴/۳۳±۲/۲	۴/۰۸±۲/۲	۰/۴۳	۰/۰۱
انسولین (ng/ml)					
شروع آزمایش	۴۱/۹۱±۱/۱۵	۴۱/۶۶±۱/۱۵	۳۹/۹±۱/۱۵		
۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری	۵۹/۰۸±۱/۱۵ ^a	۵۸±۱/۱۵ ^a	۴۸/۵۸±۱/۱۵ ^b	۰/۰۱	۰/۰۱
۱۰ روز بعد از جفتگیری	۶۰/۵۰±۱/۱۵ ^a	۵۹/۵۰±۱/۱۵ ^a	۴۹/۲۵±۱/۱۵ ^b	۰/۰۱	۰/۰۴

F دانه بزرگ؛ S دانه سویا و C شاهد

حروف لاتین غیر مشابه در هر سطر بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح (P<۰/۰۱) می باشد

غلظت استروژن سرم خون در زمان استروس بین تیمارها تفاوت معنی داری داشت (P<۰/۰۱). تیمار F با ۱۲۰/۱۹ پیکوگرم در میلی لیتر، بیشترین میزان استروژن را در بین تیمارها داشت. افزایش میزان استروژن در نتیجه استفاده از منابع چربی با نتایج زاگوت و همکاران (۲۰۰۸) و دقیق کیا و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد. بالا بودن استروژن با بزرگتر بودن فولیکولها در ارتباط است (۹). آمبروس و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که استفاده از دانه بزرگ در مقایسه با گروه شاهد تاثیر معنی داری روی اندازه فولیکول گذاشت (۱۶/۹mm در مقابل ۱۴/۱). همچنین نتایج مطالعه رابینسون و همکاران (۲۰۰۲) بر روی گاو شیری حاکی از افزایش اندازه فولیکول در تیمار دانه سویا بود (۱۶/۹mm در مقابل ۱۳/۳). در مطالعه دیگری هر چند که گروه های آزمایشی انرژی یکسانی دریافت کرده بودند، استفاده از مکمل چربی در مقایسه با گروه شاهد، فولیکولهای بزرگتری را ایجاد نمود، که نشان دهنده نقش ویژه چربی در رشد سلولهای گرانولوزای فولیکول می باشد (۱۱).

دانه های روغنی بزرگ و سویا با فراهم نمودن مقادیر کافی کلسترول و به تبع آن افزایش هورمون انسولین می توانند رشد قطری فولیکولها را بهبود بخشیده و با افزایش سطح استروژن، باعث تخمکریزی بیشتری شوند (۹).

غلظت انسولین در بین گروه های آزمایشی متفاوت بود (P<۰/۰۱) (جدول ۲). بالاترین غلظت هورمون انسولین در تیمار F با ۶۰/۵ (ng/ml) مشاهده گردید، اگرچه تفاوتی بین گروه های مصرف کننده دانه های روغنی وجود نداشت. مصرف دانه های روغنی سطوح انسولین سرم را در مقایسه با گروه شاهد افزایش دارد (P<۰/۰۱) که می تواند در افزایش بره زایی موثر باشد. افزایش در میزان انسولین با مشاهدات چارلز و همکاران (۲۰۰۷)، لاموگلیا و همکاران (۱۹۹۷) و رهبر (۱۳۹۰) که اظهار داشتند

مصرف منابع چربی موجب افزایش انسولین می شود مطابقت دارد. این افزایش در غلظت انسولین تحت تاثیر افزایش میزان پروپیونات (پیش ماده گلوکز) در شکمبه ناشی از اسیدهای چرب غیر اشباع جیره می باشد (۳). انسولین سرم نشان دهنده میزان انرژی مصرفی در دام است (۱۴) و میزان پایین انسولین در سرم نشان دهنده بالانس منفی انرژی در دام می باشد (۱۵). بهبود باروری دام در گرو تولید مقادیر کافی از هورمون های استروئیدی در سطح تخمدان می باشد و انسولین نقش مهمی را در فرآیند ساخت هورمون های استروئیدی بعهده دارد (۱۶). انسولین موجب افزایش میزان استروژن در فولیکول شده (۱۷) و افزایش قطر فولیکول را سبب می شود.

غلظت پروژسترون سرم خون تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت و تفاوت معنی داری بین گروه ها مشاهده نشد (جدول ۲). اثر زمان بر روی غلظت پروژسترون معنی دار بود ($P < 0.01$). این پدیده کاملاً طبیعی است چرا که جسم زرد در این مرحله کاملاً فعال بوده و تولید پروژسترون می نماید.

۴-نتیجه گیری

یافته های این تحقیق نشان دهنده تاثیر دانه های روغنی در دوره فلاشینگ و در خارج از فصل تولید مثلی در میزان باروری و بره زایی گردید. گروه های تغذیه شده با دانه های روغنی میزان استروژن، انسولین، بیشتری را نسبت به گروه شاهد داشتند، هر چند تغییرات پروژسترون در بین گروه ها تحت تاثیر جیره قرار نگرفت، ولی به نظر میرسد با توجه به سیر صعودی آن در تیمار دانه های روغنی با افزایش سطوح دانه های روغنی احتمال افزایش معنی دار پروژسترون وجود دارد افزایش در میزان باروری و تعداد نتاج در گروه های تغذیه شده با دانه های روغنی احتمالاً به دلیل افزایش میزان استروژن در زمان استروس و همچنین بالا بودن میزان انسولین در سرم خون (که نشان دهنده بالا بودن آن در فولیکول است) می باشد.

منابع :

(۱) رهبر ب، ۱۳۹۰. تاثیر استفاده از مکمل های چربی در جیره های فلاشینگ بر عملکرد تولیدمثلی میش های قزل پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز. ۱۱۰ صفحه.

[2] Funston RN. , 2004; Fat supplementation and reproduction in beef females. J Anim Sci 82: 154-161.

[3] Thomas, M.G. Bao, B. and Williams. G.L. 1997; Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. J. Anim Sci. 75:2512-2519.

[4] Ambrose JD, Kastelic JP, Corbett R, Pitney PA, Petit HV, Small JA, 2006; Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed diet enriched in a-linolenic acid. J Dairy Sci 89: 3066-3074.

[5] Titi HH, Awad R, 2007; Effect of dietary fat Supplementation on reproductive performance of goat. Anim. Reprod 4: 23-30.

- [6] Stephen WB, Butler WR , 1997; Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Bio of Reprod*, 56: 133-142.
- [7] Daghighkia H, Mohamadi Chapdareh W, HosseinKhani A, Moghaddam G, Rashidi A, Sadri H, Alijani S. 2011; Effects of flushing and hormonal treatment on reproductive performance of Iranian Markhoz goats, *J Animal Physiology and Animal Nutrition*, , (in press)
- [8] Zachut M, Arieli A, Lehrer H, Argov N, Moallem U. 2008; Dietary unsaturated fatty acids influence preovulatory follicle characteristics in dairy cows. *J Reproduction*, 135: 683-692
- [9] Robinson JJ. 1990; Nutrition in the reproduction of farm animals. *Nutrition Res Rev* , 3: 253-276.
- [10] Robinson RS, Pushpakumara PGA, Cheng Z, Peters AR, Abayasekara DRE, Wathes DC. 2002; Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows. *Reproduction*, 124:119-131.
- [11] Lucy MC, Beck J, Staples CR, Head HH, De La Sota RL, Thatcher WW,. 1992; Follicular dynamic, plasma metabolites, hormones and insulin-like growth factor I (IGF-I) in lactating cows with positive or negative energy balance during the preovulatory period. *Reprod Nutr Dev* 32: 331-341.
- [12] Charles RS, Bruno A, Albert de V, William W,. 2007; Using fat Supplementation to improve the chances of pregnancy of lactation dairy cows. Western dairy management conference. Reno, nv march 7-9. 249 – 263.
- [13] Lammoglia MA, Willard ST, Hallford DM, Randel RD,. 1997; Effects of dietary fat on follicular development and circulating concentrations of lipids, insulin, progesterone, estradiol-17b, 13, 14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2a and growth hormone in estrous cyclic Brahman cows. *J Anim Sci* 75:1591-1600.
- [14] Staples, C.R. and Thatcher, W. W. and Burke, J.M. 1997; Influences of dietary energy fat, and protein on reproductive performance of lactating dairy cows. Page 204-221 in *Proc. IX Int. Conf. on Prod. Dis. Farm Anim.* Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, Germany;.
- [15] Confield RW, Butler WR. 1991; Energy balance first ovulation and the effects of Naloxene on LH secretion in early postpartum dairy cows. *J Anim Sci*, 69:740
- [16] Staples CR, Burke JM, Thatcher WW., 1998; Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J Dairy Sci* 81:856-71.
- [17] Butler ST, Pelton SH, Butler WR,. 2004; Insulin Increases 17BEstradiol production by the dominant follicle of the first postpartum follicle wave in dairy cows. *J Reproduction* 127: 537-545.

تاثیر استفاده از دانه های روغنی در جیره های فلاشینگ در خارج از فصل تولید مثلی بر سطوح متابولیت های خونی مرتبط با تولیدمثل میش های مغانی

غلامرضا اصلانی کردکندی^۱ - حسین دقیق کیا^۲ - غلامعلی مقدم^۲ - صادق علیجانی^۲ - بهرام رهبر^۱

^۱ کارشناس ارشد فیزیولوژی دام - عضو هیات علمی گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

* نویسنده مسئول: غلامرضا اصلانی کردکندی G.Asiani@yahoo.com

مقدمه

تغذیه نقش کلیدی در تنظیم عملکرد فعالیت های تولیدمثلی دام های مزرعه ای ایفا می کند. محدودیت در مصرف انرژی یکی از عوامل اصلی در افزایش مدت زمان عدم فحلی پس از زایمان در گله گاوها و گوسفندان است (۱). دی فیرس و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند که افزودن مکمل چربی به جیره دام های نشخوارکننده موجب بهبود عملکرد تخمدان ها، افزایش رشد و توسعه فولیکول های کوچک شده و در نهایت موجب افزایش نرخ تخمکریزی می شود مقایسه اثرات منابع مختلف چربی بر روی رشد فولیکول ها نشان داد که استفاده از جیره های با مکمل چربی غنی از امگا-۶ (اسید لینولئیک) و یا امگا-۳ (اسید لینولئیک) یا اسیدهای آیکوزاپنتانوئیک و دکوهگزانوئیک در مقایسه با منابع چربی غنی از اسید اولئیک، با تحریک رشد فولیکول ها باعث افزایش اندازه فولیکول های غالب می شود (۳). بررسی های انجام گرفته روی گاوهای شیری نشان داد که مصرف منابع چربی در جیره می تواند گلوکز خون را افزایش دهد (۴). گلوکز منبع اصلی انرژی برای تخمدان بوده و در روند تولیدمثل نقش بسزایی دارد (۵). استفاده از دانه های روغنی با پروفایل متفاوت اسیدهای چرب، علاوه بر تامین انرژی برای نشخوارکنندگان می تواند اسیدهای چرب موثر در تولید مثل را نیز برای دام فراهم نماید. آمبروس و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که در گاوهای تغذیه شده با دانه بذرك در مقایسه با گاوهای تغذیه شده با دانه آفتابگردان احتمال آبستنی تا دو برابر افزایش یافته و مرگ و میر جنینی از روز ۳۲ پس از تلقیح تا زمان گوساله زایی کاهش یافت (۹/۸ در برابر ۲۷/۳٪). هدف از انجام این پژوهش تاثیر استفاده از دانه های روغنی به عنوان منابع چربی غیر اشباع در جیره فلاشینگ بر روی میزان باروری، تعداد نتاج ودوقلو زایی بوده و همچنین تغییرات غلظت متابولیت های مرتبط با تولیدمثل در طی دوره فلاشینگ و مشاهده ارتباط بین غلظت متابولیت ها و عملکرد تولیدمثلی میش های مغانی در خارج از فصل تولیدمثلی می باشد.

۱- مواد و روشها

این تحقیق در ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند مغانی جعفرآباد واقع در استان اردبیل انجام شد. ۳۶ راس میش نژاد مغانی ۳/۵ ساله با میانگین وزن 55 ± 5 کیلوگرم در ۳ گروه ۱۲ راسی با استفاده از منابع مختلف انرژی در جیره فلاشینگ تغذیه شدند. گروه های آزمایشی شامل دانه بذرك (F) (۵٪ ماده خشک جیره)؛ دانه سویا (S) (۵٪ ماده خشک جیره) و شاهد (C) (فاقد دانه روغنی) مورد مطالعه قرار گرفتند. جیره های غذایی طبق جدول NRC تنظیم شده و به صورت کاملاً مخلوط در سه وعده غذایی در اختیار میش ها قرار گرفتند. میش ها آزادانه به آب دسترسی داشتند دوره فلاشینگ سه هفته قبل از جفتگیری و دو هفته بعد از جفتگیری ادامه داشت. میش های انتخاب شده دارای امتیاز وضعیت بدنی (BCS) ۲/۵ بودند که تا زمان جفتگیری به ۳ رسید. چرخه فحلی میش ها بوسیله سیدر (Eazi-Breed نیوزلند) به مدت ۱۴ روز همزمان سازی شده بلافاصله بعد از برداشتن سیدر ۴۰۰ واحد بین المللی هورمون PMSG تزریق و ۲۴ ساعت پس از سیدر برداری میش ها با قوچ های موجود در ایستگاه بصورت تصادفی جفتگیری داده شدند. جفتگیری در روز اول خرداد ماه (خارج از فصل تولید مثلی) انجام گرفت. نمونه های

خونی در روز شروع آزمایش، ۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری و ۱۰ روز بعد از جفتگیری از طریق ورید و داج گرفته شدند. سپس سرم آنها توسط سانتیفریوژ با دور ۳۰۰۰ در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه جدا شده و تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- سانتیگراد نگهداری شدند. برای اندازه گیری گلوکز، BUN و کلسترول از دستگاه اسپکتوفتومتری مدل Stat faz-2100 و کیت های شرکت زیست شیمی (ایران- تهران) استفاده گردید.

۲- مدل آماری

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. برای تجزیه و تحلیل داده هایی که بصورت متغیر پیوسته بودند ، نرم افزار SAS ۹/۱ (۲۰۰۳) و رویه MIXED و برای سایر صفات از رویه، Freq استفاده شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون - توکی کرامر استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تعداد نتاج و دوقلوزایی

تعداد نتاج و دوقلوزایی در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از جدول ۱ بیانگر بالا بودن درصد برهزایی و زایش در تیمارهای حاوی دانه های روغنی نسبت به گروه شاهد می باشد ($P < 0/05$). این نتایج با داده های تایتی و اواد (۲۰۰۷)، استفان و باتلر (۱۹۹۷) توماس و همکاران (۱۹۹۷) دقیق کیا و همکاران (۲۰۱۱) که با تغذیه منابع چربی میزان باروری بالایی را نسبت به گروه شاهد مشاهده نمودند، مطابقت دارد.

جدول ۱- آمار توصیفی تعداد نتاج و درصد های باروری در گروه های آزمایشی

تیمار	تعداد نتاج	تعداد زایش	برهزایی (%)	چند قلوزایی (%)
				تک قلو دوقلو
F (دانه بذرک)	۱۲ ^a	۱۰ ^a	۱۲۰ ^a	۸۰ ۲۰ ^a
S (دانه سویا)	۱۲ ^a	۱۰ ^a	۱۲۰ ^a	۸۰ ۲۰ ^a
C (شاهد)	۱۰ ^b	۹ ^b	۱۱۱ ^b	۸۹ ۱۱ ^b

حروف لاتین غیر مشابه در هر ستون مربوط به تیمارها بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ($P < 0/05$) می باشد.

۳-۲- متابولیتها

روند تغییرات غلظت متابولیت های خونی شامل گلوکز، کلسترول و BUN در گروه های آزمایشی در جدول ۱ گزارش شده است. بیشترین میزان افزایش گلوکز در بین تیمارها در تیمار F مشاهده شد. ۲۴ ساعت بعد از سیدر برداری، گلوکز سرم در گروه های مصرف کننده دانه های روغنی غلظت بالایی داشت که بدلیل تداوم مصرف دانه های روغنی در این گروه ها، بعد از جفتگیری نیز افزایش یافت. چنین افزایشی در میزان گلوکز در نتیجه استفاده از منابع چربی با نتایج ویتنی و همکاران (۲۰۰۰) و توماس و همکاران (۱۹۹۷) مطابقت دارد. در صورت ناکافی بودن دسترسی به گلوکز قابل استفاده، آزاد سازی GnRH از



هیپوتالاموس کاهش می‌یابد (۱۳ و ۱۲) مطالعات نشان داده است که اسیدهای چرب در شکمبه بیوهیدروژنه شده و با تغییر الگوی تخمیر در شکمبه موجب افزایش پروپیونات نسبت به استات می‌شوند (۴). پروپیونات پیش ماده اصلی برای فعالیت گلوکونئوژنزی در کبد بوده و موجب سنتز گلوکز می‌شود. همچنین گلیسرول حاصل از هیدرولیز چربی در دانه های روغنی به پروپیونات تبدیل می‌شود که از طریق فرآیند گلوکونئوژنز باعث افزایش گلوکز سرم می‌گردد (۱۴ و ۱۵). افزایش گلوکز خون افزایش غلظت انسولین خون را بدنبال دارد (۱۶)، غلظت کلسترول سرم خون در بین تیمارها تفاوت معنی داری داشت ($P < 0.01$) (جدول ۱). بیشترین میزان کلسترول مربوط به تیمار F با $48/68$ (mg/dl) بوده که تفاوت معنی داری با سایر تیمارها نشان داد ($P < 0.01$). غلظت کلسترول تا ۱۰ روز بعد از جفتگیری هم به خاطر ماهیت دانه های روغنی و تداوم مصرف آنها باعث افزایش در غلظت سرمی کلسترول گردید. این افزایش در کلسترول خون در نتیجه استفاده از منابع چربی با نتایج، کارول و همکاران (۱۹۹۲)، آراندا و همکاران (۲۰۱۰) و رایان و همکاران (۱۹۹۲) مطابقت دارد.

جدول ۱- اثر افزودن دانه های روغنی بر روی متابولیت های خونی مرتبط با تولیدمثل

Pr > F			تیمار			
تیمار	زمان	تیمار	C	S	F	متابولیت ها
*زمان						
گلوکز (mg/dl)						
			۲۶/۵۳±۳/۸۲	۳۰/۳۷±۳/۸۳	۲۸/۹۱±۳/۷۵	شروع آزمایش
۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۵۷/۱۱±۳/۸۲ ^b	۶۷/۰۴±۳/۸۳ ^a	۶۵/۳۳±۳/۷۵ ^a	۲۴ ساعت بعد از
						سیدربرداری
۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۸۰/۹۵±۳/۸۲ ^b	۱۲۵/۱۳±۳/۸۳ ^a	۱۲۴/۳۴±۳/۷۵ ^a	۱۰ روز بعد از جفتگیری
کلسترول (mg/dl)						
			۱۹/۵±۱/۴۴	۲۱/۳۷±۱/۴۴	۱۹/۵۸±۱/۴۴	شروع آزمایش
۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۲۴/۴۵±۱/۴۴ ^c	۳۰/۶۸±۱/۴۴ ^b	۳۵/۶۶±۱/۴۴ ^a	۲۴ ساعت بعد از
						سیدربرداری
۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۲۷/۵۴±۱/۴۴ ^c	۴۲±۱/۴۴ ^b	۴۸/۶۸±۱/۵ ^a	۱۰ روز بعد از جفتگیری
BUN(mg/dl)						
			۴۵/۷۳±۱/۳۱	۴۳/۶۸±۱/۳۲	۴۳/۷۳±۱/۲۹	شروع آزمایش
۰/۱۵	۰/۰۱	۰/۰۴۷	۴۵/۷۳±۱/۳۱	۳۸/۳۵±۱/۳۲	۴۸/۱۵±۱/۲۹	۲۴ ساعت بعد از
						سیدربرداری
۰/۱۰	۰/۵۷	۰/۹۰	۴۷/۴۸±۱/۳۱	۵۰/۸۵±۱/۳۲	۵۰/۳۲±۱/۲۹	۱۰ روز بعد از جفتگیری

F (دانه بزرگ)؛ S (دانه سویا) و C (فاقد دانه روغنی)

حروف لاتین غیر مشابه در هر سطر بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ($P < 0.01$) می باشد.

ماتوس (۲۰۰۴) نشان داد که استفاده از مکمل چربی در جیره می تواند غلظت کلسترول در مایع فولیکولی را افزایش دهد. پتیت و همکاران (۲۰۰۱) و چیلد و همکاران (۲۰۰۸) افزایش سطوح کلسترول سرم را هنگام استفاده از دانه های روغنی بذرك و سویا در گاو، گزارش نمودند. جذب کلسترول و گلوکز توسط تخمدان در حضور هورمونهای مانند انسولین و IGF-1 انجام می گیرد (۱۲). تحقیقات نشان داده که همبستگی مثبتی بین جذب گلوکز و کلسترول توسط سلولهای تخمدان وجود دارد به این مفهوم که با افزایش جذب کلسترول و افزایش میزان هورمون انسولین جذب گلوکز نیز افزایش می یابد (۱۲). جذب همزمان گلوکز و کلسترول با تاثیر بر هورمون های گونادوتروپیکی موجب آزاد سازی LH می شود (۲۲). افزایش در میزان LH نیز منجر به بوجود آمدن فولیکولهای بزرگ و افزایش سطوح استروژن در مرحله استروس شده و همچنین موجب بوجود آمدن جسم زرد بزرگ جهت حفظ آبستنی می شود.

تفاوت معنی داری در میزان BUN در بین تیمارهای مصرفی مشاهده نگردید (جدول ۱).

۴-نتیجه گیری

یافته های این تحقیق نشان دهنده تاثیر دانه های روغنی بر روی میزان باروری و بره زایی در میشهای مغانی می باشد. دانه های روغنی به عنوان یک منبع انرژی و تامین کننده اسیدهای چرب ضروری در دوره فلاشینگ و در خارج از فصل تولید مثلی موجب بهبود در میزان باروری و بره زایی گردید. گروه های تغذیه شده با دانه های روغنی میزان گلوکز و کلسترول، بیشتری را نسبت به گروه شاهد داشتند، هر چند تغییرات BUN در بین گروه ها تحت تاثیر جیره قرار نگرفت، افزایش در میزان باروری و تعداد نتاج در گروه های تغذیه شده با دانه های روغنی احتمالاً به دلیل افزایش میزان گلوکز در زمان استروس و افزایش دسترسی فولیکولها به کلسترول می باشد.

منابع :

- [1] Schillo, K.K. . 1992; Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. J. Anim Sci; 70, 1271–1282.
- [2] De Fries, C.A. Neuendorff, D.A., Randel, R.D. 1998; Fat supplementation influences postpartum reproductive performance in Brahman cows. J. Anim. Sci; 76, 864–870.
- [3] Thangavelu G, Colazo MG, Ambrose DJ, Oba M, Okine EK, Dyck MK, 2007; Diet enriched in unsaturated fatty acid enhances early embryonic development in lactation Holstein cows. Theriogenology; 68: 949- 957.
- [4] Byers FM, Schelling GT. 1988; Lipids in ruminant nutrition. In: D.C. Church (Ed.) The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition,; pp 298-310. Prentice-Hall, Inglewood Cliffs, NJ
- [5] Titi HH, Awad R, 2007; Effect of dietary fat Supplementation on reproductive performance of goat. Anim. Reprod; 4: 23-30.
- [6] Ambrose JD, Kastelic JP, Corbett R, Pitney PA, Petit HV, Small JA, 2006; Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed diet enriched in a-linolenic acid. J Dairy Sci 89: 3066–3074.

- [7] Titi HH, Awad R. 2007; Effect of dietary fat Supplementation on reproductive performance of goat. *Anim. Reprod.*; 4: 23-30.
- [8] Stephen WB, Butler WR, 1997; Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Bio of Reprod.*; 56: 133-142.
- [9] Thomas, M.G. Bao, B. and Williams. G.L. 1997; Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. *J. Anim Sci.*; 75: 2512-2519.
- [10] Daghighkia H, Mohamadi Chapdareh W, HosseinKhani A, Moghaddam G, Rashidi A, Sadri H, Alijani S., 2011; Effects of flushing and hormonal treatment on reproductive performance of Iranian Markhoz goats, *J Animal Physiology and Animal Nutrition*, (in press)
- [11] Whitney, M.B. Hess, B.W. Burgwald-Balstad, L.A. Sayer, J.L. Tsopito, C.M. Talbott, C.T. and Hallford, D.M. 2000; Effect of supplemental soybean oil level on in vitro digestion and performance of pubertal beef heifers. *J. Anim Sci.* 78: 504-514.
- [12] Rabiee AR, Lean IJ., 2000; Uptake of glucose and cholesterol by the ovary of sheep and cattle and the influence of arterial LH concentrations. *Anim Reprod Sci.* 64: 199-209.
- [13] Rabiee, A.R. Lean, I.J. Gooden, J.M. and Miller, B.G. 1999; Relationships among metabolites influencing ovarian function in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 82: 39-44.
- [14] Jenkins TC, Adams CS., 2002; The biohydrogenation of linoleamide in vitro and its effects on linoleic acid concentration in duodenal contents of sheep. *J Anim Sci* 80: 533-540.
- [15] Hess BW, Moss GE, Rule DC., 2008; A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. *J Anim Sci* 86: 188-204.
- [16] Ryan DP, Bao B, Griffith MK, Williams GL., 1995; Metabolic and luteal Sequelae to heightened dietary fat intake in undernourished, anestrus beef cows induced to ovulate. *J Anim Sci* 73: 2086-2093.
- [17] Aranda-Avila I, Herrera-Camacho J, Ake-Lopez JR, Delgado-Leon RA, Ku-Vera JC. 2010; Effect of supplementation with corn oil on postpartum ovarian activity, pregnancy rate, and serum concentration of progesterone and lipid metabolites in F1 (*Bos taurus* × *Bos indicus*) cows. *J Trop Anim Health Prod* 42: 1435-1440
- [18] Ryan DP, Spoon RA, Williams GL, 1992; Ovarian follicular characteristics, embryo recovery, and embryo viability in heifers fed high-fat diets and treated with follicle stimulating hormone. *J Anim Sci* 70: 3505-3513.
- [19] Mattos R, Staples CR, Arteche A, Wiltbank MC, Diaz FJ, Jenkins TC, Thatcher WW., 2004; The effects of feeding fish oil on uterine Secretion of PGF2a, milk composition, and metabolic Status of peri parturient Holstein cows. *J Dairy Sci* 87: 921-932.



- [20] Petit HV, Dewhurst RJ, Proulx JG, Khalid M, HareSign W, Twagiramungu H,. 2001;Milk production, milk composition, and reproductive function of dairy cows fed different fats. *J Anim Sci* 81: 263–371.
- [21] Childs S, Lynch CO, Hennessy AA, Stanton C, Wathes DC, Sreenan JM, Diskin MG, Kenny DA,. 2008; Effect of dietary enrichment with either n-3 or n-6 fatty acids on systemic metabolite and hormone concentration and ovarian function in Heifers. *J Anim Sci* 86, p 883–893.
- [22] Flint APF, Denton RM,. 1969;Glucose metabolism in the super ovulated rat ovary in vitro. *J Biochem* 112: 243–254.

اثرات استرس دمایی و تغییرات آب و هوایی بر عملکرد تولیدی گاوهای شیری اثرات تنش گرمایی بر عملکرد گاوهای شیری
هلشتاین

مجتبی بخشی^۱، مسعود دیدارخواه^۲، فرشته جمیلی^۳، جواد بزرگمهر^۴، سید حسین هاشمی فره^۵، عباسعلی امینی^۶
۵،۴،۳،۲،۱- مدرس دانشگاه علمی کاربردی صنعت غذای تربت جام ۲- کارشناس بانک کشاورزی تربت جام

نویسنده مسئول: مسعود دیدارخواه. آدرس مکاتباتی و پست الکترونیکی: تربت جام دانشگاه علمی کاربردی صنعت غذای تربت

جام ۰۹۱۵۳۲۸۶۹۳۸- masooddidar@yahoo.com

چکیده

استرس گرمایی از جمله عواملی است که اثرات متفاوتی روی دام می گذارد (۱) دمای محیطی ایده آل و مناسب برای یک گاو شیری در محدوده ۵ تا ۲۵ درجه سانتی گراد می باشد. در این تحقیق به منظور اثرات دما در طی ماههای مختلف سال بر عملکرد گاوهای شیری هلشتاین بر روی ۴۱۲۵ راس گاو شیرده در ۱۲ گله صنعتی استان گیلان طی ۱۲ ماه سال در طی یک دوره ۵ ساله از سال ۱۳۷۸ تا ۱۳۸۲ انجام شد. میزان شیر تولیدی، در صد چربی، مقدار چربی در بین ماه های مختلف سال معنی دار ($p < 0.05$) بود در بین متغیر های مورد بررسی در صد چربی شیر بیشترین تغییرات را در طول ماههای سال داشت که اثرات آب و هوایی را نشان می دهد.

واژگان کلیدی: تولید شیر، در صد چربی، ماه های سال، استرس دمایی

مقدمه

استرس گرمایی از جمله عواملی است که اثرات متفاوتی روی دام می گذارد (۱) دمای محیطی ایده آل و مناسب برای یک گاو شیری در محدوده ۵ تا ۲۵ درجه سانتی گراد می باشد. فعالیت های متابولیکی و مصرف خوراک در درجه حرارت های پایین و بالای درجه های عنوان شده تغییر می کند (۳و۴) نشخوار کنندگان در محیط سرمایی با افزایش متابولیسم پایه و افزایش ماده خشک مصرفی می توانند خود را سازش دهند (۲و۱). اما در سرما و گرمای شدید با همان سرعتی که متابولیسم تغییر میکند مقدار ماده خشک مصرفی تغییر نمی کند. لذا حیوانات در توازن نامناسب انرژی قرار گرفته و از انرژی به جای استفاده برای اهداف تولیدی به منظور تولید حرارت و یا دفع آن استفاده می کنند. با توجه به اینکه دقت کمی به تنظیم دما در گاوها می شود این پژوهش جهت بررسی امکان وجود یا عدم وجود تنش سرمایی و گرمایی در گاوهای شیری استان گیلان انجام گرفت.

مواد و روش ها

داده های مربوط به ۴۱۲۵ راس گاو شیری در ۱۲ گله گاو داری استان گیلان طی ۱۲ ماه سال در یک دوره ۵ ساله ۱۳۷۸ تا ۱۳۸۴ جمع آوری گردید. داده های مربوط به عوامل دمایی هم با استفاده از سازمان هوا شناسی استان جمع آوری گردید. داده های

جمع آوری شده با استفاده از طرح بلوکهای کامل تصادفی در چند سال با استفاده از روش CLM در نرم افزار SAS آنالیز گردید و مقایسات میانگین با استفاده از آزمون توکی دار سطح احتمال ۵ درصد انجام شد (۲، ۴).

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داده که اوج تولید شیر در تیر ماه (۲۵/۳۱ کیلو گرم در روز) بود (جدول ۱) ولی از لحاظ آماری از بهمن ماه تا مرداد ماه هیچ گونه تفاوت آماری مشاهده نشد. کاهش تولید شیر با کاهش دمای محیط همبستگی مثبتی داشت که در ماه آذر به کمترین میزان خود رسید. بیشترین درصد چربی شیر در دی ماه (۳/۴۶ درصد) و کمترین درصد چربی شیر در تیرماه (۲/۸۵) بود. از طرفی بیشترین تغییرات دمایی در تیرماه انجام شد (۲۳/۶۲) که نتیجه آن کاهش معنی دار چربی شیر بود (۲/۸۵). با بهبود جایگاههای نگهداری دام و تنظیم دقیق چرخه های غذایی و همچنین تأمین انرژی در درجه حرارتهای بحرانی می توان از بروز تنش سرمایی جلوگیری گردد همچنین می توان جهت جلوگیری از کاهش درصد چربی شیر راهکارهایی همچون احداث آبپاش و مه پاش در سطح جایگاهها و احداث سایبان و تهویه و همچنین خوراک دهی در ساعات خنک تر شبانه روز بکار بود.

جدول ۱. عملکرد گاوهای شیری در ماههای مختلف سال در استان گیلان

ماه	شیر تولیدی	چربی شیر (درصد)	چربی شیر (Kg در روز)	دمای محیط
فروردین	۲۴/۵۸A	۳/۳۶AB	۸۵AB	۹/۴۶ G
اردیبهشت	۲۴/۷۲ A	۳/۱۵ D	۸۱۴ BCDE	۱۳/۵۰ F
خرداد	۲۴/۸۲A	۳/۲۰ CD	۸۳۰ ABCD	۱۸/۰۲d
تیر	۲۵/۳۱A	۲/۸۵D	۸۱۳CDE	۲۳/۶۲b
مرداد	۲۳/۸۴AB	۳/۱۷E	۷۲۳G	۲۲/۵۴A
شهریور	۲۳/۳۰BC	۳/۱۹CD	۷۷۶EF	۲۰/۶۰c
مهر	۲۲/۴۴CD	۳/۲۶BCD	۷۶۷F	۱۵/۴۰E
آبان	۲۲/۲۷D	۳/۳۵BC	۷۷۶EF	۸/۴۸h
آذر	۲۲/۵۳D	۳/۵۰A	۸۰۶DEF	۲/۲j
دی	۲۳/۳۱BC	۳/۴۶A	۸۵۴ABC	۰/۲k
بهمن	۲۳/۸۷AB	۳/۳۰BCD	۸۲۷ABCD	-۱/۶۲l
اسفند	۲۳/۷۸AB	۳/۵۰A	۸۶۶A	۴/۹۲I

A و B و....؛ در هر ستون و در هر زیر گروه، میانگین هایی که واژه های همانند دارند، تفاوت آماری معنی داری ندارند

- 1- Barash, H., N. Silanikove, A. Shamay, and E. Ezre. 2001. Interrelationships among ambient temperature, day length, and milk yield of cows under a Mediterranean climate. *J. Dairy Sci.* 84:2314-2320.
- 2- Collier, R. J., G. E. Dahl, and M. J. VanBaale. 2006. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:1244-1253.
- 3- Kadzere, C. T., M. R. Murphy, N. Silanikove, E. Maltz. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livest. Prod. Sci.* 77:59-91.
- 4- Narfene, A., B. Ronchi, N. Lacetera, and U. Bernabucci. 2006. Climatic effects on productive traits in livestock. *Veterinary Research Communications*, 30(Suppl. 1):75-81.

Effect of thermal stress and weather variation stress on production performance of milk cows
Thermal stress is one of the factors which has various effects on livestock (1). 5 to 25 degrees centigrade is a suitable and ideal environmental temperature for a milk cow. In this research temperature effect during various months of the year on 4125 Holstein milk cows performance in 12 industrial flocks in Gilan province during 12 months of a year in a 5 years period from 1378 to 1382 were reviewed. Milk production rate, fat percent, fat rate between various months of the year were significant ($P < 5\%$). Between reviewed variables, milk fat percent has the most variations during year months which shows the weather effects.

Keywords): milk production- fat percent- year months-temperature stress.

اثر تزریق ویتامین C بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون گوسفندان بلوچی تحت استرس گرمایی و بررسی ارتباط بین هورمون های تری یدوتیرونین (T₃)، تیروکسین (T₄)، تری یدوتیرونین آزاد (ft₃) و تیروکسین آزاد (ft₄) معصومه خیریه^۱، آرش امید^۲، هادی سریر^۲ و حسین نعیمی پور یونسی^۳

۱- کارشناس ارشد گروه علوم دامی گرایش فیزیولوژی دام دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند ۲- استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند ۳- کارشناس ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

*معصومه خیریه khairieh2010@gmail.com

۰۹۱۵۳۶۲۱۵۳۵

چکیده

هورمون های تیروئیدی از مهمترین هورمون های اندوکرین هستند. این هورمون ها باعث تنظیم متابولیسم پایه در بافت های مختلف حیوانات اهلی می شوند. در تحقیق حاضر تاثیر تزریق ویتامین C و استرس گرمایی بر پارامتر های بیوشیمیایی خون گوسفندان و همبستگی آن با هورمون های تری یدوتیرونین (T₃) و تری یدوتیرونین آزاد (ft₃) و تیروکسین (T₄) و تیروکسین آزاد (ft₄) مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش از ۸ راس گوسفند نر بلوچی به ظاهر سالم استفاده گردید. این گوسفندان به دو گروه آزمایشی تقسیم شدند. گروه شاهد؛ در این گروه ۴ راس گوسفند و در گروه تیمار؛ ۴ راس گوسفند نر که به آنها ۲۰ میلی گرم ویتامین C به ازای هر کیلو گرم وزن بدن به صورت عضلانی تزریق شد، قرار گرفتند. کلیه گوسفندان در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. نمونه های خونی از سیاهرگ و داج گردنی در روزهای ۷، ۵، ۳، ۱، ۰ در شرایط دمایی تعیین شده جمع آوری گردید. مقدار کلسترول، تری گلیسرید، گلوکز و هورمون های تیروئیدی اندازه گیری شد. با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ همبستگی رتبه ای (پیرسون) داده های حاصله آنالیز گردید. نتایج نشان داد که همبستگی معنی داری بین گلوکز و تیروکسین (T₄) و همبستگی معنی داری بین تری یدوتیرونین (T₃) و تری یدوتیرونین آزاد (ft₃) و تیروکسین (T₄) و تیروکسین آزاد (ft₄) مشاهده شد ($P < 0/05$). نتایج حاصل از این آزمایش نشان می دهد که شرایط استرس گرمایی بر میزان پارامتر های بیوشیمیایی خون تاثیر دارد و تزریق ویتامین C در کاهش این اثرات موثر است.

واژگان کلیدی: هورمون تیروئیدی، پارامتر خونی، ویتامین C، استرس گرمایی، گوسفند

مقدمه

سطوح پلاسمایی هورمون های تیروئیدی در حیوانات اهلی بوسیله بسیاری از فاکتورهای خارجی (سن، دما، تغذیه، دارو و...) تحت تاثیر قرار می گیرند (۵). در خراسان جنوبی میانگین دما در تابستان ها در روز بین 40 ± 5 درجه متغیر است و این دما در شب ها با تفاوت $10 \pm$ درجه به 25 ± 5 درجه می رسد. این تنش گرمایی روی پارامتر های حیاتی گوسفند تاثیر گذار است. ویتامین C از ویتامین های محلول در آب است. در شرایط تنش (شرایط نامطلوب محیطی) نیاز به ویتامین C افزایش می یابد. ویتامین C یک عامل احیا کننده قوی است و به عنوان یک آنتی اکسیدان، بسیاری از واکنش های اکسیداسیون و احیاء را در سیستم های بیولوژیک متاثر می سازد (۲). در استرس گرمایی متابولیسم حیوان کاهش یافته و در این حالت ترشح هورمون تیروکسین کاهش

می‌باشد، کاهش مصرف خوراک باعث کاهش فعالیت غده تیروئید می‌شود (۱). امروزه در تشخیص عملکرد دام فعالیت تعداد محدودی هورمون‌ها موجود در سرم مورد سنجش قرار می‌گیرد. هدف از انجام این مطالعه بررسی سودمندی تجویز ویتامین C در کاهش استرس گرمائی حاد در گوسفندان است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۸ راس بره نژاد مخلوط بلوچی استفاده شد. این تحقیق در تابستان ۱۳۸۹ در واحد دامپروری دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند انجام گرفت. قبل از شروع آزمایش بره‌ها برای عادت‌پذیری به مدت دو هفته به سالن آزمایش منتقل شدند. عملیات شماره‌زنی و پشم‌چینی و خوراندن و تزریق داروهای ضد انگل (آلبندازول و آیورمکتین) انجام گرفت. حمام ضد کت به توسط داروی ضد کت مک‌تومیل انجام گرفت. وزن بره‌ها در گروه تیمار $3/60 \pm 29/63$ کیلوگرم و در گروه شاهد $3/17 \pm 28/13$ کیلوگرم بود. استرس گرمائی بدین نحو اعمال گردید که دما از ساعت ۷ صبح تا ۵ بعد از ظهر 40 ± 1 درجه سانتی‌گراد و از ۵ بعد از ظهر به بعد 36 ± 2 درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. گروه تیمار شامل گوسفندان نر که به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ۲۰ میلی گرم ویتامین C در روزهای ۱، ۳ و ۵ به صورت متوالی در ساعت ۱۰ صبح به صورت عضلانی در عضله ران تزریق شد. در گروه شاهد ۴ راس گوسفند قرار داشت که به آنها پلاسبو (آب مقطر) به میزان ۴ سی‌سی تزریق شد (۳). دمای سالن در روز از ساعت ۷ صبح تا ۱۷/۳۰ بعد از ظهر به میزان 40 ± 2 درجه سانتی‌گراد ثابت بود. بعد از آن دمای سالن حدود 27 ± 2 درجه سانتی‌گراد تنظیم می‌شد. در روزهای ۱، ۳ و ۵ دوره آزمایش از سیاهرگ وادج ۱۰ میلی لیتر خون گرفته می‌شد و بلافاصله به لوله‌های مخصوص سانتریفیوژ آغشته به محلول ضد انعقاد EDTA ریخته می‌شد (۳). سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰-۲۵۰۰ دور قرار داده می‌شد تا پلاسما جدا گردد. پلاسماهای اخذ شده تا زمان انجام آزمایش در دمای -20 درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد. میزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و هورمون‌های تری‌یدوتیرونین (T_3) و تیروکسین (T_4) و تری‌یدوتیرونین آزاد (ft_3) و تیروکسین آزاد (ft_4) با روش‌های استاندارد آزمایشگاهی اندازه‌گیری شدند. با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ همبستگی رتبه‌ای پیرسون داده‌های حاصله آنالیز گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصله نشان دادند که همبستگی معنی‌داری در میزان گلوکز (جدول ۱) و تیروکسین (T_4) و هورمون‌های تری‌یدوتیرونین (T_3) با تری‌یدوتیرونین آزاد (ft_3) و تیروکسین (T_4) با تیروکسین آزاد (ft_4) مشاهده شد. همچنین همبستگی منفی بین تری‌گلیسرید با تری‌یدوتیرونین (T_3) و تری‌یدوتیرونین آزاد (ft_3) مشاهده شد ($P < 0/05$). اما از لحاظ آماری همبستگی معنی‌داری بین گلوکز با هورمون‌های تری‌یدوتیرونین (T_3) و با تری‌یدوتیرونین آزاد (ft_3) مشاهده نشد. همبستگی بین کلسترول با گلوکز و تیروکسین (T_4) با تیروکسین آزاد (ft_4) نیز مشاهده نشد. همچنین همبستگی بین تری‌گلیسرید با تیروکسین (T_4) و گلوکز و کلسترول مشاهده نشد ($P > 0/05$). سطوح پلاسمایی هورمون‌های تیروئیدی در حیوانات اهلی بوسیله بسیاری از فاکتورهای اگزوژنوس تحت تاثیر قرار می‌گیرند. از فاکتورهای موثر می‌توان سن، فصل، تغذیه، محدوده دما و داروها را نام برد. در این مطالعه، مشخص شد که محدوده دمای و تزریق ویتامین C، ارتباط فیزیولوژیکی با تغییرات اندوکرینی هورمون‌های تیروئیدی دارند (۴). بنابراین نتایج حاصله حاکی از آن است، که تزریق ویتامین C در شرایط استرس گرمائی بر این پارامترها موثر است.

جدول ۱- همبستگی بین هورمون های تیروئیدی با گلوکز، کلسترول و تری گلیسرید در گوسفندان تحت شرایط استرس گرمائی و تزریق ویتامین C

	T ₃	T ₄	ft ₃	ft ₄	Glucose	Cholesterol	Triglycerid
T ₃	1						
T ₄	+0.337	1					
ft ₃	+0.360*	+0.01	1				
ft ₄	+0.310	*+0.358	+0.193	1			
Glucose	+0.072	*+0.160	+0.298	+0.117	1		
Cholesterol	+0.373	+0.127	+0.288	+0.161		1	
Triglycerid	*+0.118	+0.321	*+0.176	+0.110	+0.181	+0.180	1

منابع

۱. فقیهی، س. م. ۱۳۷۶. فارماکولوژی دامپزشکی، موسسه نشر جهاد وابسته به جهاد دانشگاهی

2. Kaneko, J.J. 1989. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4th end., Academic Press., New York: 814-816.
3. Marai, I. F. M., A. A. El-Darawany, A. Fadiel, and M. A. M. Abdel-Hafez. 2008. Reproductive performance traits as affected by heat stress and its alleviation in sheep. Tropical and subtropical Agroecosystems. 8:209-234
4. Sevi, A., G. Annicchiarico, M. Albenzio, L. Taibi, A. Musico, and S. Dell'Aquila. 2001. Effects of solar radiation and feeding time on behavior, Immune response and production of lactating ewes under high ambient temperature. J. Dairy Sci. 84:629-640.
5. Eshratkhah, B., Sarabi Nahand, M. R., Pour Rasoul, Sh. Comp Clin Pathol (2012). Relation between plasma thyroid hormones and some biochemical parameters in Iranian sarabi calves. Comp Clin Pathol 21;167-171.

Effect of injection vitamin C on some blood biochemical parameters of Baluchi sheep under heat stress, and evaluation of relationship between plasma thyroid hormones triiodothyronine (T₃), free triiodothyronine (ft₃), thyroxine (T₄), free thyroxine (ft₄).

M. Khairieh^{1*}, A. Omid², H. Sarir², H. Naemipor yonesi¹

1. MSc in Animal Sciences, University of Birjand, 2. Faculty of Animal Sciences, University of Birjand,

* khairieh2010@gmail.com

Abstract: The thyroid hormone regulates basal metabolism in various tissues of domestic animals. In order to study the effect of injection vitamin C on some blood biochemical parameters of sheep in heat stress and evaluation of relationship between plasma thyroid hormones; triiodothyronine(T3), free triiodothyronine(fT3), thyroxine(T4) , free thyroxine (ft4) this study was conducted. Eight clinically healthy male Baluchi sheep were used. These animals were divided into two experimental groups: group I, Four sheep injected placebo, group II, Four sheep injected vit C 20 mg/kg (IM) at 40°C. Blood samples were taken from the jugular vein of all animals in 0,1,3,5,7 days exposure to the appropriate environmental temperature. The results analysis were done with SPSS(ver 18). The concentrations of glucose, with thyroxine(T4); and thyroid hormones triiodothyronine(T3) with free triiodothyronine (fT3); thyroxine (T4) with, free thyroxine (ft4) were significant differences ($p < 0/05$). In contrast, there were no significant differences in the concentrations of triglyceride with triiodothyronine (T3) and free triiodothyronine (fT3) with triglyceride. These results revealed that very hot condition had a profound effect on blood biochemical parameters, and injection vit C can decrease the side effects.

Keywords: thyroid hormones; biochemical parameters; vitamin c; heat stress; sheep

اثرات Retained Placenta بر عملکرد تولید مثلی گاوهای شیری

مسعود دیدارخواه^۱، مهرداد محمدی^۲، متین قلی نیا^۳، فرشته جمیلی^۴

۱- مدرس دانشگاه علمی کاربردی صنعت غذای تربت جام ۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان

۳- دانش آموخته دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان

نویسنده مسئول: مسعود دیدارخواه. آدرس مکاتباتی و پست الکترونیکی: تربت جام دانشگاه علمی کاربردی صنعت غذای تربت

جام ۰۹۱۵۳۲۸۶۹۳۸- masooddidar@yahoo.com

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی عوامل موثر بر وقوع Retained Placenta ا جفت ماندگی و نیز اثرات زیان بار آن بر عملکرد تولیدی و تولید مثلی بود. داده های مورد مطالعه مربوط به گاوداریهای حومه استان گیلان در سالهای ۷۹ تا ۸۳ بود. آنالیز داده ها به روش رگرسیون لجستیک و مدل خطی صورت گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که سال و گله اثر معنی داری بر روی بروز R.P داشتند بطوری که بیشترین میزان بروز در سال ۱۳۸۲ و در گله شماره ۱ مشاهده شد. اما دو عامل جنس و فصل تاثیر معنی داری بر روی بروز جفت ماندگی نداشت. جفت ماندگی تاثیر معنی داری بر روی برخی معیارهای تولید مثلی مانند طول روزهای باز، فاصله دو زایش و فاصله زایش تا اولین تلقیح داشت. بیشترین تاثیر معنی دار جفت ماندگی بر روی میانگین تولید شیر تا ۵ ماهگی بود. آنالیزی مشابه هم بر رو اثرات R.P بررسی شد که بین بروز بیماری R.P و بیماری جفت ماندگی همبستگی مستقیمی مشاهده شد و بین این دو بیماری اختلاف معنی داری مشاهده نشد. ($P < 0.1$).

واژگان کلیدی: هورمون - تولید شیر - Retained Placenta - گاو شیر

مقدمه

پیشرفتهای اخیر در بیولوژی مولکولی امکانات جدیدی را جهت کنترل بیماری در دام و طیور فراهم کرده است (۲،۳). جفت معمولاً در فاصله ۱۲ ساعت پس از تولد گوساله از رحم خارج می شود اما در برخی از گاوها غشاهای جنینی به طور طبیعی خارج نشده و ممکن است برای مدتی از رحم جدا نشوند. احتمال بروز جفت ماندگی در زایشهای طبیعی ۵ تا ۱۵ درصد گزارش شده است. درصد شایان توجهی از جفت ماندگی ها پس از آبستنیهای کوتاه مدت بروز می کند. اگر جفت گاو در فاصله ۲۴ ساعت خارج نشود احتمال می رود که برای ۵ تا ۶ روز در رحم باقی بماند محیط مناسبی برای رشد میکروبها خواهد بود (۱،۴،۵). بیماریهای منبعث شده از این اختلال پس از زایش قادرند حیات دام را به مخاطره اندازند و باعث کاهش عملکرد تولید مثلی و تولیدی شده که نهایتاً منجر به حذف دام می گردد. علاوه بر این جفت ماندگی به همراه R.P تاثیر معنی داری روی برخی معیارهای تولید مثلی مانند طول روزهای باز، فاصله دو زایش و فاصله زایش تا اولین تلقیح دارد. هدف از این تحقیق بررسی اثرات زیان بار جفت ماندگی به منظور تغییر تولید شیر و استفاده از سیتوکین ها ی نو ترکیب جهت جلوگیری از بیماریها بود.

مواد و روشها

در این تحقیق تعداد گاوهای زایش کرده از اول سال ۷۹ تا پایان سال ۸۳ در بین دو گله مورد بررسی قرار گرفتند. تعداد ۴۵۱۶ رأس با میانگین تولید روزانه شیر ۸۶/۲۱ کیلوگرم به ازاء هر رأس گاو در روز بود. اطلاعات در دسترس برای انجام این تحقیق شامل: شماره گاو، شماره گله، R.P، شکم زایش، تاریخ زایش (روز، ماه و سال)، جنس گوساله، وزن گوساله، طول دوره آبستنی، دوقلوزایی تک قلوزایی، فاصله زایش تا اولین تلقیح، تعداد تلقیح به ازاء هر آبستنی و تعداد روزهای باز بود. در روشهای آنالیز این تحقیق سه موضوع دنبال شد، یکی بررسی تأثیر عواملی که در بروز R.P نقش داشتند. دوم اینکه R.P چه تأثیری روی صفات تولید مثلی و تولید شیر گاوهای شیری داشت. سوم شناسایی گاوهای برتر گله جهت اهداف اصلاح نژادی آنالیز داده ها به روش رگرسیون لجستیک صورت گرفت. برای بررسی تأثیر R.P روی صفات تولید مثلی و تولید شیر، داده ها با GLM PROC در نرم افزار SAS آنالیز شدند. متغیرهای وابسته شامل: فاصله زایش تا اولین تلقیح، تعداد تلقیح به ازاء هر آبستنی، تعداد روزهای باز، فاصله دو زایش و تولید شیر تا ۵ ماهگی بود. حضور یا عدم حضور جفت، جنس گوساله (نر یا ماده)، تک قلو یا دوقلوزایی، فصل، شکم، سال و گله بعنوان متغیرهای مستقل از نوع گسسته بودند. برای انتخاب متغیرهای مستقل، روش پیش رونده مورد استفاده قرار گرفت. همچنین برای هر متغیر وابسته مدلی انتخاب شد که بیشترین R^2 تصحیح شده را دارا بود. سرانجام مدل کلی که برای آنالیز واریانس مورد استفاده قرار گرفت به شرح زیر بود:

$$Y_{ijlmg} = M + R.P_i + HERD_j + YEAR_l + SEASON_n + SEX_g + e_{ijlmg}$$

که در آن: Y_{ijlmg} = متغیر وابسته، M = میانگین متغیر، $R.P = R.P$ یا عدم جفت ماندگ، $HERD_j$ = اثر گله، $YEAR_l$ = اثر سال، $SEASON_n$ = اثر فصل، SEX_g = اثر جنس و e_{ijlmg} = اثر خطاهای آزمایشی

نتایج و بحث

در این تحقیق میزان بروز R.P در کل دو گله در طول چهار سال ۷/۱ درصد بود. نتایج نشان داد که سال (جدول ۳) و گله (جدول ۱) اثر معنی داری ($P < 0.01$) روی بروز R.P داشت بطوریکه بیشترین میزان بروز در سال ۱۳۸۲ با ۲۷/۰۲ درصد و در گله شماره ۱ با ۴۶/۸۲ درصد مشاهده شد که باروری پایین در سطح گله معمولاً ناشی از مدیریت ضعیف است. اما دو عامل جنس و فصل تأثیر معنی داری روی بروز R.P نداشتند. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که R.P تأثیر معنی داری ($P < 0.01$) روی میانگین تولید شیر داشت (جدول ۵)، به طوریکه میانگین تولید شیر تا ۵ ماهگی در گاوهایی که دچار R.P بودند و گاوهایی که R.P نداشتند به ترتیب ۲۰/۷۳ و ۲۱/۷۶ کیلوگرم در روز بود. علاوه بر این R.P تأثیر معنی داری روی برخی معیارهای تولید مثلی داشت، بطوریکه طول روزهای باز در گاوهای مبتلا به R.P ۱۷/۸۲ روز بیشتر از گاوهایی بود که دچار R.P نبودند همچنین فاصله دو زایش در گاوهای مبتلا به R.P ۲۴/۱۵ روز و فاصله زایش تا اولین تلقیح ۶/۳۳ روز طولانی تر از گاوهایی بود که دچار R.P نبودند اما R.P بر تعداد تلقیح به ازاء آبستنی اثر معنی داری نداشت (جدول ۶). آرتور و همکاران بیان داشتند که جفت ماندگی باعث افزایش تعداد تلقیح ها به ازاء هر آبستنی می شود (۱). نتیجه کلی اینکه عفونتهای رحمی که غالباً پس از R.P به وجود می آیند، با تأخیر در جمع شدن رحم و گردن رحم و کاهش رشد فولیکولی در روزهای اولیه پس از زایش، باعث کاهش میزان آبستنی در اولین تلقیح، افزایش تعداد تلقیح، افزایش روزهای باز، افزایش هزینه دارو و درمان، افزایش فاصله دو زایش، افزایش میزان حذف و کاهش تولید شیر شده و حتی ممکن است پس از این عفونت ها برخی از گاوها هرگز آبستن نشوند (۴). در مجموع اینکه R.P تأثیر معنی داری بر عملکرد تولید مثل و تولید شیر داشت.



جدول ۱- مقایسه میزان بروز R.P در گله‌های مختلف

معیار	گله شماره ۱	گله شماره ۲
بروز R.P (درصد)	۴۶/۸۲ ^a	۴۰/۰۲ ^b

جدول ۲- مقایسه میزان بروز R.P در فصول مختلف

معیار		فصول	
بهار	تابستان	پاییز	زمستان
بروز R.P (درصد)	۱۲/۶۶ ^a	۲۱/۴ ^a	۲۴/۶۵ ^a
			۲۱/۱ ^a

جدول ۳- مقایسه میزان بروز R.P در سالهای مختلف

معیار					سال
۱۳۷۹	۱۳۸۰	۱۳۸۱	۱۳۸۲	۱۳۸۳	
۱۱/۸۸۰ ^b	۱۵/۰۳ ^a	۲۱/۳۴ ^b	۲۷/۰۲ ^a	۱۴/۷۱ ^a	
بروز R.P (درصد)					

جدول ۴- اثر جنس بر میزان بروز R.P

معیار	جنس نر	جنس ماده
بروز R.P (درصد)	۵۴/۳ ^a	۴۶/۷ ^a

جدول ۵- اثر R.P بر میانگین تولید شیر

معیار	R.P	بدون R.P
میانگین تولید شیر (کیلوگرم)	۲۰/۷۳ ^a	۲۱/۷۶ ^b

جدول ۶- تاثیر متريت روی صفات توليد مثلي

معیار	R.P	بدون R.P
فاصله زایش تا اولین تلقیح	۱۰۰/۳۲ ^a	۹۳/۹۹ ^b
نرخ تلقیح به ازا هر آبستنی	۲/۵۲ ^a	۲/۲۷ ^a
طول روزهای باز	۱۶۱/۰۲ ^a	۱۴۳/۲ ^b
فاصله دو زایش	۴۲۶/۸۱ ^a	۴۰۲/۶۶ ^b

حروف غیر مشابه در هر ستون به مفهوم اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد می باشد.

منابع

۱- محمدی، م. م، دیدارخواه. ۱۳۸۷. تاثیر متريت بر عملکرد توليدمثل يك گله گاو شيري در استان گيلان. سومين کنگره علوم دامی و آبزيان کشور. ص ۳۰۴.

- 1.Arthur, G. H., D. E. Noakes, and H. Pearson. 1996. Veterinary reproduction and obstetrics. Saunders Company Limited, London. 7:356-374.
- 2.Grohn, Y. T., and P. J. Rajala-schultz. 2000. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. Animal Reproduction, 61:605-614.
- 3.Labernia, J., F. Lopez-gatiue, P. Santolaria, C. Hanzen, and J. Y. Houtain. 2000. Influence of calving season on the interactions among reproductive disorders of dairy cows. Journal of Dairy Science, 41:177-185.
- 4.Palmer, C. 2003. Postpartum metritis in cattle. Canadian Veterinary Medicine, 8(3):117-128.
- 5.Werven, T., Y. H. Schuken, J. Lloyd, A. Brand, H. T. J. Heeringa, and M. Shea. 1992. The effect of retained placenta on reproduction, milk production, postpartum disease and culling rate, Theriogenology, 37:1191-1203.

The effects of retained placenta on milk cows reproduction performance

This research aim is to review effective factor on retained placenta occurrence and also its harmful effects on reproduction and output performance. The research data were collected from Gilan province suburb dairy farms in 1973 till 1979. the data analysis were conducted by logistic regression and linear model. The research results show that year and flock have a significant effect on R.P occurrence, so that the most occurrence rates in 1382 was observed in flock number 1. However both gender and season factors have not a significant effect on retained. Placenta occurrence. Retained placenta has a significant effect on some reproduction criteria as open days, the interval between two deliveries and the interval between delivery till first inoculation. Retained placenta most significant effect was on milk output average till the fifth month. A similar analysis was conducted on R.P effects which there was not a direct correlation between R.P occurrences and retained placenta disease and there was not any significant difference between both diseases. ($P < 0.01$)

Keywords): hormone – retained placenta-milk production-milk cow

بررسی اثر سطوح مختلف یونجه بر روی کیفیت گوشت در بلدرچین ژاپنی

بهزاد کرمی^۱، بابک امین زاده^۱، یوسف جعفری آهنگری^۲، الیاس لطفی^۳

۱- دانشجویان کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانشیار دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، باشگاه پژوهشگران جوان، گرگان، ایران.

نویسنده مسئول: بهزاد کرمی، کرمانشاه-مسکن-خیابان نسترن-پلاک ۲۷، behzadkarami1363@yahoo. Com

چکیده:

به منظور تعیین اثرات سطوح مختلف یونجه بر روی صفات مربوط به کیفیت گوشت، آزمایشی با استفاده از ۱۸۰ قطعه بلدرچین ژاپنی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۴ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح (صفر، ۱/۵ و ۲/۵ درصد یونجه به صورت افزودنی) بودند. جهت تعیین پارامترهای کیفیت گوشت پس از ذبح و پرکنی، عضله سینه جدا و شاخص های رنگ شامل روشنایی، زردی و قرمزی، ظرفیت نگهداری آب، اسیدیته، مالون دی آلدیید گوشت (MDA) و چربی داخل ماهیچه ای اندازه گیری شد. نتایج آزمایش نشان داد اختلاف معنی داری در شاخص های رنگ، ظرفیت نگهداری آب و اسیدیته وجود داشت ($p \leq 0/05$). و برای صفات مربوط به مالون دی آلدیید گوشت (MDA) و چربی داخل ماهیچه ای اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایشی وجود نداشت ($p > 0/05$). از نتایج این تحقیق این چنین استنتاج می شود که افزودن یونجه در جیره دوره رشد بلدرچین های ژاپنی بر روی بعضی فاکتورهای کیفیت گوشت تاثیر معنی داری خواهد گذاشت. کلمات کلیدی: مالون دی آلدیید گوشت- چربی داخل ماهیچه ای- فاکتورهای کیفیت گوشت

مقدمه:

کیفیت گوشت اصطلاحی است که برای توضیح خصوصیات کلی گوشت شامل مشخصات فیزیکی، شیمیایی، مورفولوژیکی، بیوشیمیایی، میکروبی، حسی، تکنولوژیکی، بهداشتی، تغذیه ای و طبخی گوشت استفاده می شود (اینگر، ۱۹۸۹). ظاهر بافت، آبداری، نرمی، تردی، بو و طعم از مهمترین ویژگی های گوشت هستند که بر قضاوت اولیه و نهایی مشتریان پیش و پس از خرید یک فرآورده گوشتی تأثیر می گذارند. علاوه بر این، ویژگی های قابل تعیین کیفی گوشت از قبیل ظرفیت نگهداری آب^{۷۶} (WHC)، کشش پذیری گوشت^{۷۷}، از دست دادن آب^{۷۸}، آب خروجی در زمان طبخ^{۷۹}، اسیدیته، نیمه عمر^{۸۰}، میزان کلاژن، قابلیت انحلال پروتئین^{۸۱}، چسبناکی^{۸۲} و ظرفیت اتصال چربی^{۸۳} برای صنایع تبدیلی در زمان تولید محصولات درجه بندی شده از ارزش فوق العاده ای برخوردار هستند. تاکنون این سیستم درجه بندی برای صنعت فرآوری گوشت که بیش از همه به خصوصیات کیفی گوشت

⁷⁶ - Water Holding Capacity

⁷⁷ - Shear Force

⁷⁸ - Drip Loss

⁷⁹ - Cooke Loss

⁸⁰ - Shelf Life

⁸¹ - Protein Break up Ability

⁸² - Cohesiveness

⁸³ - Fat Binding Capacity

توجه دارد، سودمند نبوده است. از نظر تغذیه ای وجود بعضی از مواد در جیره غذایی می تواند بر روی بعضی از فاکتورهای کیفیت گوشت تأثیرگذار باشد. یونجه از جمله گیاهان دارویی است که بر روی کیفیت گوشت تأثیرگذار می باشد. ساپونین موجود در یونجه منبع خوبی از ترکیبات کاهش دهنده کلسترول و لیپیدهای گوشت می باشد. به طوری که حتی نقش بازدارنده در مسیر بیوسنتز کلسترول و چربی برای این ترکیب یونجه گزارش شده است. (مقدم، ۱۳۸۸) هدف از اجرای طرح حاضر بررسی تأثیر سطوح مختلف یونجه بر روی صفات کیفیت گوشت در بلدرچین ژاپنی می باشد.

مواد و روش ها:

این آزمایش با استفاده از ۱۸۰ قطعه بلدرچین، در ایستگاه تحقیقاتی پرورش طیور دانشگاه کشاورزی گرگان انجام شد. طرح آزمایشی مورد استفاده طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۴ تکرار و هر تکرار شامل ۱۵ قطعه جوجه بود. تیمارهای آزمایشی سطوح مختلف یونجه به صورت افزودنی در جیره غذایی (صفر، ۱/۵ و ۲/۵ درصد) بود. مدت آزمایش شش هفته و شروع آزمایش از هنگام تولد بود. جیره ی آزمایشی مورد استفاده با استفاده از نرم افزار UFFDA و بر اساس جداول احتیاجات بلدرچین ژاپنی (NRC، ۱۹۹۴) تنظیم شدند. جهت تعیین پارامترهای کیفیت گوشت تعداد ۲ قطعه بلدرچین نر از هر واحد آزمایشی (۸ بلدرچین به ازای هر تیمار) انتخاب شدند و پس از ذبح و پرکنی، عضله سینه و ران آنها جدا شد و درون پاکت های پلاستیکی زیپ دار قرار گرفت. پارامترهای کیفیت گوشت روز بعد از کشتار اندازه گیری شد.

pH گوشت توسط دستگاه pH متر و رنگ گوشت توسط دستگاه رنگ سنج کامپیوتری اندازه گیری شد. برای تعیین ظرفیت نگهداری آب ابتدا یک گرم گوشت درون کاغذ صافی قرار گرفت و به مدت ۴ دقیقه در دور ۱۵۰۰ سانتریفوژ شد. نمونه گوشت بعد از سانتریفوژ کردن به مدت ۲۴ ساعت درون آون در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. ظرفیت نگهداری آب با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (بوتون و همکاران، ۱۹۷۱)

$100 \times (\text{وزن نمونه گوشت قبل از سانتریفوژ} - \text{وزن نمونه گوشت بعد از آون} - \text{وزن نمونه گوشت بعد از سانتریفوژ})$
برای محاسبه مالون دی آلدیید ابتدا ۱۰ گرم گوشت چرخ شده با ۵۰ سی سی آب مقطر به مدت ۲ دقیقه همزده شد. سپس در یک فلاسک تقطیر به آن ۴۷/۵ سی سی آب مقطر، ۲/۵ سی سی اسید کلریدریک ۴ مولار، چند قطره ضد کف و چند عدد سنگ جوش اضافه گردید. سپس ۵ سی سی از محلول تقطیر شده و ۵ سی سی معرف TBA^{84} درون لوله های درب دار ریخته شد و به مدت ۳۵ دقیقه در آب در حال جوش حرارت داده شد. یک نمونه محلول بلانک (شاهد) هم با استفاده از ۵ سی سی آب مقطر و ۵ سی سی معرف TBA تهیه گردید. در نهایت لوله ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب سرد قرار گرفتند و جذب آنها با دستگاه اسپکتوفتومتری در طول موج ۵۳۸ اندازه گیری شد. مقدار مالون دی آلدیید تولید شده طبق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\frac{7}{8} \times \text{جذب محلول مرحله نهایی در طول موج } 538 = \text{مقدار مالون دی آلدیید}$$

لازم به ذکر است تهیه معرف TBA به روش کی و همکاران (۱۹۹۷) و درصد چربی داخل ماهیچه ای با روش (AOAC) محاسبه شد. داده های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری SAS (۲۰۰۱) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن انجام پذیرفت.

⁸⁴ Thiobar Bituric Acid

نتایج و بحث:

داده‌های مربوط به کیفیت گوشت سینه در جدول شماره ۱ گزارش شده است. نتایج نشان داد که اثر یونجه بر مقدار شاخص مالون‌دی‌آلدئید و چربی داخل ماهیچه ای معنی‌دار نبود ($P>0/05$). گوشت سینه بلدرچین‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی یونجه کمترین میزان مالون‌دی‌آلدئید و چربی داخل ماهیچه ای را داشتند. به طور کلی پیشرفت اکسیداسیون گوشت بعد از کشتار به عوامل زیادی از قبیل مقدار پرواکسیدان‌های گوشت (میوگلوبین، آهن و فلزات دیگر)، سطوح آنتی‌اکسیدان‌های گوشت (آلفاتوکوفرول، دی‌پپتیدهای حاوی هیستیدین و آنزیم‌هایی از قبیل گلوکاتایون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز)، مقدار چربی گوشت و پروفیل اسیدهای چرب آن، نحوه و میزان عمل‌آوری گوشت (قطعه قطعه شده، چرخ شده و حرارت دیده) و شرایط بسته بندی (نور، مدت زمان نگهداری، دما و نحوه ذخیره‌سازی) بستگی دارد (جنسن و همکاران، ۱۹۹۸).

مقایسه میزان شاخص مالون‌دی‌آلدئید در مطالعات گوناگون به دلیل تفاوت در نوع مدل آماری بکار رفته، شرایط پخت یا فرآوری گوشت (زمان، دما و یا بسته‌بندی)، سطح ویتامین E و پروفیل اسیدهای چرب گوشت مشکل است. هر چند میزان بیشتر چربی و اسیدهای چرب غیر اشباع در گوشت دلیلی قانع کننده مبنی بر بیشتر بودن مقادیر مالون‌دی‌آلدئید می‌باشد (کورتیناس و همکاران، ۲۰۰۴).

جدول شماره ۱- مقایسه میانگین فاکتورهای کیفیت گوشت در تیمارهای مختلف							
تیمار	PH	a* (شاخص قرمزی)	b* (شاخص زردی)	L* (شاخص روشنایی)	WHC ^۱	MDA ^۲	IMF ^۳
صفر	$6/20 \pm 0/27$	$5/66 \pm 0/264$	$-1/82 \pm 0/05$ b	$60/72 \pm 0/209$	$57/01 \pm 0/47$	$74/83 \pm 0/63$	$6/41 \pm 0/53$
۱/۵ درصد	$6/05 \pm 0/30$	$6/13 \pm 0/296$	$-1/88 \pm 0/05$ ab	$58/93 \pm 0/34$	$47/52 \pm 0/55$	$67/19 \pm 0/44$	$6/13 \pm 0/24$
۳ درصد	$6/52 \pm 0/31$	$5/05 \pm 0/328$	$-2/17 \pm 0/05$ a	$53/19 \pm 0/41$	$47/09$ $50/39$	$68/26$ $50/55$	$6/09 \pm 0/37$
سطح احتمال	۰/۰۴۱	۰/۰۲	۰/۰۳۶	۰/۰۱۷	۰/۰۳۹	۰/۰۵۲	۰/۰۴۱

حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده ی اختلاف معنی دار بین تیمارهاست ($p<0/05$)

۱- ظرفیت نگهداری آب (درصد)

۲- مالون دی‌آلدئید (میکروگرم در گرم)

۳- چربی داخل ماهیچه‌ای

منابع:

شکوهمند، م. ۱۳۸۷. پرورش بلدرچین، تهران: انتشارات نور بخش. ۱۶۰ ص (تألیف).

مقدم، ع. ۱۳۸۸. گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران

SAS Institute. 2001. SASUser's Guide, Version 8.2. SAS Institute, Cary, NC.

Bouton, P.E., Harris, P.V. and Shorthose, W.R. 1971. Effect of ultimate pH upon the water holding and tenderness of mutton. Journal of Food science. 36:435-439.

Ke, P.J., Ackman, R.G., Linke, B.H. and Nash, D.M. 1977. Differential lipid oxidation products in various parts of frozen mackerel. Journal of Food Technology. 12:37-47.

Ingr, I. 1989. Meat quality: Defining the term by modern standards. Fleisch. 69:1268-1277.

Jensen, C., Lauridsen, C. and Bertelsen, G. 1998. Dietary vitamin E: quality and storage stability of pork and poultry. Trends in Food Science and Technology. 9:62-72.

Cortinas, L., Villaverde, C., Galobart, J., Baucells, D. and Barroeta, A. 2004. Fatty acid content in chicken thigh and breast as affected by dietary polyunsaturated level. Poultry Science. 83: 1155-1164.

Effect of different levels of Alfalfa on meat quality in Japanese quail
Behzad karami¹, babak aminzade¹, yosef jafari ahangari², elias lotfi³

Corresponding E.mail address: behzadkarami1363@yahoo.com

In current study, the effect of different levels of Alfalfa plant on meat quality characteristics in Japanese quail was investigated. 180 quails were carried out in completely randomized design with three levels of Alfalfa plant (0, 1.5 and 3 percentage), Four replicates with 15 quails were allocated to each experimental treatment. Determination of meat quality parameters measured after slaughter and filling and then breast muscle was isolated. Meat quality parameters including the brightness, yellowness and redness of colors, water holding capacity, acidity, Malondialdehyde (MDA) and intramuscular fat. The results showed that brightness, yellowness and redness of colors, water holding capacity and acidity affected by levels of Alfalfa plant ($p < 0.05$). There was no significantly difference for MDA and intramuscular fat ($p < 0.05$). The result showed adding levels of Alfalfa plant was improved some of meat quality traits.

Keywords: Malondialdehyde - Intramuscular fat - Meat quality characteristics

اثر پروبیوتیک، پری بیوتیک و سین بیوتیک بر پاسخ ایمنی همورال جوجه‌های گوشتی

مژگان کوکبی مقدم^{*} ۱، حمیدرضا طاهری^۲، محمد طاهر هرکی نژاد^۲ و محمد کاکه باوه^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه زنجان

۲- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه زنجان

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد تغذیه دام دانشگاه زنجان

* نویسنده مسئول: مژگان کوکبی مقدم (mozghan_kb@yahoo.com)

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی جایگزینی آنتی بیوتیک با مکمل‌های پروبیوتیک، پری بیوتیک و سین بیوتیک به صورت مجزا و ترکیب با یکدیگر روی پاسخ ایمنی همورال جوجه‌های گوشتی است. به این منظور ۱۱ تیمار با ۶ تکرار و ۱۶ قطعه در هر تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی از ۱ تا ۴۲ روزگی در جوجه‌های گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ بررسی شدند. تیمارها شامل ۱- کنترل، ۲- آنتی بیوتیک ویرجینامایسین ۳- پروبیوتیک پریمالاک، ۴- پروبیوتیک باکتوسل، ۵- پری بیوتیک تکنوموس، ۶- پری بیوتیک فرمکتو، ۷- پروبیوتیک پریمالاک + پری بیوتیک تکنوموس، ۸- پروبیوتیک باکتوسل + پری بیوتیک تکنوموس، ۹- پروبیوتیک پریمالاک + پری بیوتیک فرمکتو ۱۰- پروبیوتیک باکتوسل + پری بیوتیک فرمکتو، ۱۱- سینبیوتیک بیومین بودند. در سن ۱۰ روزگی واکسن نیوکاسل تزریق شد، و در ۲۲ روزگی از ۳ پرندۀ هر تکرار برای تعیین تیتراژ آنتی بادی علیه آن خون‌گیری شد. همچنین در روزهای ۲۲ به ۳ پرندۀ از هر تکرار سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) تزریق و در ۲۸ روزگی تیتراژ آنتی بادی علیه آن اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تیتراژ آنتی بادی علیه نیوکاسل در تیمار حاوی پری بیوتیک فرمکتو نسبت به گروه دریافت کننده آنتی بیوتیک به طور معنی داری افزایش داشت ($p < 0.05$). اگر چه تیتراژ آنتی بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی در تیمارهای حاوی جایگزین آنتی بیوتیک به طور خطی افزایش نشان داد ولی این افزایش معنی دار نبود.

واژگان کلیدی: پروبیوتیک - پری بیوتیک - سین بیوتیک - پاسخ ایمنی - جوجه گوشتی

مقدمه

امروزه به دلیل محدودیت مصرف آنتی بیوتیک‌ها، استفاده از افزودنی‌هایی مثل پروبیوتیک، پری بیوتیک و سین بیوتیک جایگاه ویژه‌ای را در تغذیه طیور به خود اختصاص داده است (۷). پروبیوتیک‌ها مکمل میکروبی مفید زنده‌ای هستند که باعث بهبود توازن میکروبی دستگاه گوارش می‌شوند (۸). پری بیوتیک‌ها مواد خوراکی غیر قابل هضم اند که به عنوان سوبسترای رشد باکتری‌های مفید دستگاه گوارش اهمیت دارند (۱۰). ترکیب پروبیوتیک و پری بیوتیک سین بیوتیک نام دارد (۳). از آنجایی که یک پرندۀ در طول پرورش خود با بیماری‌های خطرناکی روبرو است، افزایش تولید آنتی بادی علیه میکروب‌های مضر می‌تواند در کاهش تلفات موثر باشد. دراین راستا تحقیقات نشان داده است که برخی از باکتری‌های مفید قادر به تحریک سیستم ایمنی بدن هستند. تحقیقات مختلف از افزایش پاسخ ایمنی همورال با استفاده از پروبیوتیک (۱)، پری بیوتیک (۶)

و سینبیوتیک (۲) گزارش داده اند. هدف این تحقیق بررسی مکمل های مطرح در زمینه پروبیوتیک، پری بیوتیک و سین بیوتیک به صورت مجزا و ترکیب با یکدیگر در مقایسه با آنتی بیوتیک است.

مواد و روش ها

برای انجام این آزمایش تعداد ۱۰۵۶ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه از سویه تجاری راس ۳۰۸ بر اساس طرح آماری کاملاً تصادفی به ۱۱ گروه و هر گروه به ۶ تکرار شامل ۱۶ قطعه جوجه تقسیم شد. جوجه ها از ۱ تا ۴۲ روزگی جیره های حاوی تیمارهای مختلف را بر پایه ذرت و کنجاله سویا و بر طبق احتیاجات راس ۳۰۸ دریافت نمودند.

تیمارها شامل ۱- کنترل، ۲- آنتی بیوتیک ویرجینیامایسین ۳- پروبیوتیک پریمالاک، ۴- پروبیوتیک باکتوسل، ۵- پری بیوتیک تکنوموس، ۶- پری بیوتیک فرمکتو، ۷- پروبیوتیک پریمالاک + پری بیوتیک تکنوموس، ۸- پروبیوتیک باکتوسل + پری بیوتیک تکنوموس، ۹- پروبیوتیک پریمالاک + پری بیوتیک فرمکتو ۱۰- پروبیوتیک باکتوسل + پری بیوتیک فرمکتو، ۱۱- سین بیوتیک بیومین بودند. مقدار مصرف مکمل ها بر اساس توصیه شرکت تولید کننده بود.

آنتی بیوتیک ویرجینیامایسین، پروبیوتیک باکتوسل و سین بیوتیک بیومین هر کدام به میزان ۱۰۰ گرم در تن جیره در کل دوره به جیره تیمارهای مربوطه افزوده شدند. پروبیوتیک پریمالاک در ۳ دوره ۱-۱۰، ۱۱-۲۸ و ۲۸-۴۲ روزگی به ترتیب ۹۰۰، ۴۵۰ و ۲۲۵ گرم در تن، پری بیوتیک تکنوموس در ۲ دوره ۱-۲۱ و ۲۲-۴۲ روزگی به ترتیب ۱۰۰۰ و ۵۰۰ گرم در تن و پری بیوتیک فرمکتو در ۲ دوره ۱-۲۱ و ۲۲-۴۲ روزگی به ترتیب ۲۰۰۰ و ۱۰۰۰ گرم در تن به جیره تیمارهای مربوطه افزوده شدند. در ۲۲ روزگی، سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) به ۳ قطعه پرندۀ از هر تکرار تزریق شد و تیتراژ آنتی بادی علیه آن در روز ۲۸ اندازه گیری شد. تیتراژ آنتی بادی علیه واکسن نیوکاسل (که به روش قطره چشمی و تزریقی در روز ۱۰ صورت پذیرفت) نیز در روز ۲۲ از ۳ پرندۀ هر تکرار برآورد گردید. اندازه گیری تیتراژ به روش HI انجام شد. نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل شد و مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن صورت گرفت.

نتایج و بحث

همانطور که در جدول ۱ - نشان داده شده است استفاده از مکمل های جایگزین آنتی بیوتیک تنها توانسته است تیتراژ آنتی بادی علیه نیوکاسل را در تیمار حاوی پری بیوتیک فرمکتو در مقایسه با تیمار حاوی آنتی بیوتیک افزایش دهد. هر چند از لحاظ عددی تمام تیمارها نسبت به کنترل و تیمار حاوی آنتی بیوتیک افزایش تیتراژ آنتی بادی علیه SRBC را نشان دادند اما تفاوت معنی دار بین تیمارها مشاهده نشد. این وضعیت نشان می دهد که مکمل های مختلف چندان تفاوتی در این زمینه نداشته اند و پری بیوتیک فرمکتو احتمالاً به دلیل مقدار مصرف بالاتر آن نسبت به پری بیوتیک تکنوموس توانسته است نسبت به تیمار حاوی آنتی بیوتیک اختلاف معنی داری را نشان دهد. نکته جالب توجه کاهش تیتراژ آنتی بادی در تیمار حاوی آنتی بیوتیک است. این نتیجه نشان می دهد که کاهش میزان میکروب های دستگاه گوارش باعث شده است میزان تاثیرات آنها بر دیواره روده کمتر شده و در نتیجه سیتوکین های کمتری ترشح گشته و تحریک سیستماتیک سیستم ایمنی کاهش یابد (۵). باکتری های روده باعث تحریک سلول های دندریتی موجود در مخاط روده باریک می شوند، که در نتیجه موجب فعال شدن Th1 و Th2 و Th3 شده و ترشح سیتوکین ها را در پی خواهد داشت که برخی از آنها در تولید آنتی بادی و ایزوتایپ های آنها مهم هستند (۴ و ۹). پری بیوتیک علاوه بر افزایش باکتری های مفید به خصوص بیفیدوباکترها با اتصال به دیواره نیز باعث تحریک می گردد (۱۰ و ۱۱).

جدول ۱- تیتراژ آنتی بادی علیه نیوکاسل و SRBC

تیتراژ آنتی بادی علیه SRBC	تیتراژ آنتی بادی علیه نیوکاسل	تیمار ^۱
۴/۷۳	۱/۰۵ ^{bc}	۱ (جیره کنترل)
۴/۷۷	۰/۷۲ ^c	۲ (حاوی آنتی بیوتیک ویرجینیا مایسین)
۴/۸۷	۱/۵۵ ^{ab}	۳ (حاوی پروبیوتیک پریمالاک)
۵/۰۸	۱/۵۵ ^{ab}	۴ (حاوی پروبیوتیک باکتوسل)
۵/۰۴	۱/۷۲ ^{ab}	۵ (حاوی پری بیوتیک تکنوموس)
۵/۷۰	۱/۸۳ ^a	۶ (حاوی پری بیوتیک فرمکتو)
۵/۱۱	۱/۶۱ ^{ab}	۷ (حاوی پروبیوتیک پریمالاک + پری بیوتیک تکنوموس)
۵/۶۶	۱/۴۴ ^{ab}	۸ (حاوی پروبیوتیک باکتوسل + پری بیوتیک تکنوموس)
۴/۸۶	۱/۶۶ ^{ab}	۹ (حاوی پروبیوتیک پریمالاک + پری بیوتیک فرمکتو)
۵/۰۲	۱/۳۳ ^{abc}	۱۰ (حاوی پروبیوتیک باکتوسل + پری بیوتیک فرمکتو)
۴/۹۴	۱/۲۲ ^{abc}	۱۱ (حاوی سین بیوتیک بیومین)
۰/۳۹۴	۰/۲۱۴	SEM
۰/۷۵	۰/۰۱	P Value

توجه: معنی داری در سطح ۵ درصد است.

منابع

1. Alkhalf, A., M. Alhaj and I. Al-Homidan. 2010. Influence of probiotic supplementaiton on immune response on broiler chickens. Egypt. Poult. Sci. Vol 30 (I): 271-280.
2. Awad, W. A., K.Ghareeb, S.Abdel-Raheem and J. Böhm. 2009. Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. Poultry Science. 88:49-55.
3. Bengmark, S. 2002. Gut microbial ecology in critical illness: is there a role for prebiotics. Current Opinion Critical Care. 8:145-51.
4. Christensen, H. R., H. Frokiaer, and J. J. Pestka (2002): Lactobacilli differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells. Journal of immunology. 186:171-178.
5. Kabir, S. M. L., M. M. Rahman, M. B. Raman and S. U. Ahmed. 2004. The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. International Journal of Poultry Science. 3: 361-364.
6. Khalaji, S., M. Zaghari and S. Nezafati. 2011. The effects of mannan-oligosaccharides on cecal microbial populations, blood parameters, immune response and performance of broiler chicks under controlled condition. African Journal of Biochemistry Research Vol. 5(5), Pp: 160-164.
7. Khovidhunkit, W., M. Kim, R.A. Memon, J.K. Shigenaga, A.H. Moser, K.R. Feinold and C. Grunfeld. 2004. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism mechanism. Thematic review series; the pathogenesis of atherosclerosis. J. Lipid Res., 45: 1169-1196.
8. Midilli, M., M. Alp, N. Kocabağlı, Ö.H. Muğlalı, N. Turan, H. Yılmaz and S. Çakır. 2008. Effects of dietary probiotic and prebiotic supplementation on growth performance and serum IgG concentration of broilers. South African Journal of Animal Science. 38 (1): 21-27.
9. Mohan, K.O.R., C.K. Andjams. 1988. The role of lactobacillus sporogenes (probiotics) as feed additives. Poult. Guid. 25:37-39.
10. Rescigno, M., M. Urbano, B. Valzasina, M. Francolini, G. Rotta, R. Bonasio, F. Granucci, J. P. Kraehenbuhl, and P. Ricciardi-Castagnoli (2001) : Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. Nat. Immunol. 2:361-367.
11. Roberfroid, M. B. 2001. Prebiotics: preferential substrates for specific germs? American Journal of Clinical Nutrition. 73:406S-409
12. Spring, P., Wenk, C., Dawson, K. A. and Newman, K.E. (2000). The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. Poultry Science. 79: 205-211.

Effect of probiotic, prebiotic and synbiotic on humoral immune response in broiler chickens

Mozhgan kokabi moghadam^{1*}, Hamidreza Taheri², Taher Harakinezhad² and Mohamad Kakebaveh³

1-MSc Student of animal Physiology of Zanjan University

2-Academic member of Faculty of Agriculture , the University of Zanjan , Iran

3- MSc Student of animal Nutrition of Zanjan University

* Corresponding E-mail address: mozhgan_kb@yahoo.com

Abstract:

This research was conducted to investigate the effect of antibiotic alternatives (probiotic, prebiotic and synbiotic), alone or in combination, on humoral immune response in broiler chickens. Eleven treatments with 6 replicates of 16 birds per each group were compared in a completely randomized design using Ross 308 male broiler chickens from 1 to 42 d of age. Treatments were 1- control (without any supplementation), 2-Virginiamycin, 3- Primalac (a probiotic), 4- Bactocel (a probiotic) 5- Technomoos (a prebiotic), 6- Fermacto (a prebiotic), 7- Primalac + Technomoos, 8- Bactocel + Technomoos, 9- Primalac + Fermacto, 10- Bactocel + Fermacto, 11- Biomin (a synbiotic). The birds were vaccinated against Newcastle Virus in 10 d of age and the antibody titer was measured in 3 birds per replicate on 22 d of age. Also, on d 22, sheep red blood cell suspension was injected into the breast of 3 birds per replicate and the antibody titer was measured on 28 d of age. Results showed that only Fermacto-receiving group had a significant difference with birds received antibiotic ($p < 0.05$). There was no statistically significant difference in antibody titer against sheep red blood cell among treatments.

Keywords : probiotic, prebiotic, synbiotic, immune response, broiler chickens.

تأثیر سطوح مختلف PMSG بر نرخ تخمک گذاری گوسفند بلوچی

مسعود دیدارخواه^۱، مهرداد محمدی^۲، فرشته جمیلی^۳، جواد بزرگمهر^۴

۱، ۴، ۳- مدرس دانشگاه علمی کاربردی صنعت غذای تربت جام ۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان

نویسنده مسئول: مسعود دیدارخواه. آدرس مکاتباتی و پست الکترونیکی: تربت جام دانشگاه علمی کاربردی صنعت غذای تربت

جام ۰۹۱۵۳۲۸۶۹۳۸- masooddidar@yahoo.com-

چکیده

ایران به لحاظ دامپروری و تولید فرآورده های دامی دارای مزیت نسبی است. به طوری که تقریباً دام های ارزشمند در ایران قابل پرورش و نگهداری هستند. در این تحقیق پس از همزمان سازی فحلی با سیدر در فصل غیرتولیدمثلی دوزهای ۱۵۰ و ۲۵۰ و ۳۵۰ و ۴۵۰ واحد بین المللی PMSG به ۱۲۰ راس میش تزریق و ۳۰ راس میش به عنوان گروه شاهد ۱ سی سی سرم فیزیولوژیکی دریافت کردند. ۴۰ ساعت پس از تزریق PMSG ۱۸ قوچ وارد گله شدند. پاسخ به فحلی ۱۰۰ درصد بود. درصد باروری به ترتیب ۶۷، ۶۸، ۷۵، ۸۴ و ۸۸ درصد بود که بین تمامی گروه اختلاف معنی داری مشاهده نشد. ($P > 0.05$). نرخ چند قلوژی به ترتیب ۱/۳۰، ۱/۳۵، ۱/۹۴، ۲/۰۱ و ۲/۱۵ بود که بیم گروه های دریافت کننده دوزهای ۴۵۰ و ۳۵۰ با بقیه گروه ها اختلاف معنی داری مشاهده شد ($P > 0.05$). تزریق دوز ۴۵۰ واحد هورمون PMSG باعث افزایش چندقلوژی و دوزهای کمتر از ۴۵۰ واحد باعث بهبود صفات تولیدمثلی میش بلوچی گشت.

واژگان کلیدی: هورمون -PMSG- فصل غیرتولیدمثلی - میش بلوچی

مقدمه

مطالعات صورت گرفته بر روی استفاده از هورمون PMSG در نژادهای مختلف بر افزایش دوقلوژی تأکید دارد که البته فاکتورهایی مانند دوز پروژسترون برای همزمان سازی فحلی، شیوه تزریق، نژاد، فصل مورد استفاده از این هورمون در پاسخ گویی آن اثر دارد (۱ و ۳). رشد فولیکول ها و رسیدن آنها به مرحله پیش از تخمک گذاری توسط هورمون FSH صورت می گیرد. هنگامی که یک فولیکول به مرحله بلوغ می رسد مقدار زیادی اینهیبین و استرادیول ترشح می کند که باعث سرکوب ترشح هورمون FSH میشود و هورمون PMSG به عنوان جایگزین FSH عمل کرده و باعث افزایش تخمک گذاری در نشخوارکنندگان می گردد (۳ و ۲) و PMSG علاوه بر اثری که در تسریع القاء همزمان سازی فحلی دارد موجب افزایش میزان تخمک گذاری می شود. به لحاظ اقتصادی تیمار با PMSG ارزان بوده و به دلیل نیمه عمر طولانی آن فقط در یک تزریق بکار می رود البته استفاده از دوزهای افراطی این هورمون اثرات نامطلوبی بر پروفیل هورمونهای خونی، تخمک گذاری، باروری و قابلیت زنده ماندن رویان ها دارد. به منظور جلوگیری از این آثار زیان بار هورمون PMSG باید دوزهای مطلوب تزریق شود. با شناسایی بهترین دوز PMSG جهت ایجاد سوپراولاسیون و ایجاد چند قلوژی در میش می توان این نژاد و مقدار دوز را جهت اهداف اصلاح نژادی بکار برد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در ارتفاعات بزد واقع در ۴۰ کیلومتری مشهد روی گوسفندان نژاد بلوچی در فصل غیر تولیدمثل صورت گرفت تعداد ۱۵۰ راس میش که از نظر تولیدمثلی سالم بودند جهت انجام این تحقیق انتخاب و به طور تصادفی به پنج گروه مساوی تقسیم شدند. جهت همزمان سازی فحلی از سیدر حاوی ۰/۳ گرم پروژسترون به مدت ۱۴ روز استفاده شد. به گروه اول ۱ سی سی سرم نمکی، به گروه دوم ۱۵۰، گروه سوم ۲۵۰، گروه چهارم ۳۵۰ و به گروه پنجم ۴۵۰ واحد بین المللی PMSG تزریق شد. ۴۰ ساعت پس از خروج سیدر و تزریق PMSG ۱۸ راس قوچ وارد گله گردید. جهت ثبت زمان بروز فحلی و جفت گیری، گله به مدت ۴۸ ساعت تحت نظر بود و مشاهده مستقیم صورت گرفت. داده های فاصله آغاز فحلی و طول فحلی و نرخ باروری و نرخ چندقلوایی با استفاده از مدل یک طرفه و دوطرفه آزمون کای اسکور در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

در این تحقیق تمامی میش ها در فاصله زمانی ۲۴-۲۰ ساعت پس از خروج سیدر فحل شدند. فاصله تا آغاز فحلی ۲۴/۳۲، ۲۱/۴۵، ۲۰/۲، ۲۰/۱۵، ۲۱/۱۲ ساعت و طول دوره فحلی ۱۹/۶۴، ۱۸/۰۵، ۱۸/۹۰، ۲۰/۴۳ و ۱۸/۱۱ ساعت به ترتیب بدون اختلاف معنی دار حاصل شد ($P < 0.05$). نتایج حاصل در مورد باروری (جدول ۱) نشان داد که تمامی میش های بلوچی قابلیت باروری نسبتاً بالایی دارند ولی تزریق PMSG باعث بهبود این نرخ می شود ولی اختلاف معنی داری ندارد ($P < 0.05$). اما در مورد نرخ چند قلوایی (جدول ۱) نتایج حاصله نشان داد که دو گروهی که ۳۵۰ و ۴۵۰ واحد PMSG دریافت کرده بودند به طور معنی داری نرخ بالاتری داشتند و این اختلاف از لحاظ آماری با بقیه گروه ها معنی دار بود. ($P < 0.05$). نتایج حاصله از این تحقیق نشان داد که برای القا و همزمان سازی فحلی بین دوزهای ۱۵۰ و ۲۵۰ واحد بین المللی از PMSG اختلاف معنی داری وجود ندارد ولی بین دوزهای ۳۵۰ و ۴۵۰ واحد اختلاف معنی داری وجود دارد و باعث بهبود عملکرد تولیدمثلی و ایجاد چند قلوایی می شود. جهت اهداف نانو تکنولوژی و اصلاح نژادی دوز ۴۵۰ واحد از PMSG پیشنهاد می شود.

جدول شماره ۱- عملکرد تولید مثلی میش های بلوچی با دوزهای مختلف PMSG

گروه	درصد فحلی	آغاز فحلی پس از سیدرگذاری (ساعت)	طول دوره فحلی (ساعت)	درصد باروری (درصد)	نرخ چند قلوایی
P ₀	۱۰۰	۲۴/۳۲±۰/۸۶	۱۹/۶۴±۱۲	۶۷	۳۰/۱ ^a
P ₁₅₀	۱۰۰	۲۱/۱۵±۰/۹۱	۱۸/۰۵±۱۸	۶۸	۳۵/۱ ^a
P ₂₅₀	۱۰۰	۲۰/۲±۰/۹۱	۱۸/۹۰±۱۷	۷۵	۹۴/۱ ^a
P ₃₅₀	۱۰۰	۲۰/۱۵±۸۷	۲۰/۴۳±۴۱	۸۴	۰۱/۲ ^b
P ₄₅₀	۱۰۰	۲۱/۱۲±۰/۸۶	۱۸/۱۱±۵۰	۸۸	۱۵/۲ ^b

a,b) میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$) * و ns غیر معنی‌دار)

منابع

۱- بدخشان، ی. و ی. آهنگری. ۱۳۸۷. پاسخ به دوزهای مختلف هورمون ECG در بز کرکی رائینی، سومین کنگره علوم دامی و آبزیان کشور، ص ۳۱۱.

2- Godfery, R.R., M.L. Gary, and J.R. Collins. 1996. A Comparison of two methods of estrous synchronization of hair sheep in the tropics. Anim. Reprod. Sci. 47: 99-106.

3- Riesenberg. S, S. Meincke- Jillmanna and Meincke 2001, ultrasonic survey of follicular development following super ovulation with a single application of pfsh, ecG or huG in goats. Small Ruminant resurch. 40, 85, 93.

4- Zeleke, M., J. Greyling, L. Schwalbach, T. Muller, and, J. Erasmus. 2005. Effect of progestagen and pmsu oestrus synchronization and fertility in proper ewe during the transition period. Small. Rum. Res. 56: 47-53.

The effect of various levels of PMSG on Baloochian sheep superovulation

Iran in terms of stockbreeding and farm animals products, enjoys a relative merit, so that more or less valuable farm animals can be kept and bred in Iran. In this research after estrous synchronization with CIDR in non-reproducing season, 120 head of ewes injected by 150, 250, 350, and 450 international does age of PMSG and 30 head of ewes received 1ce physiology serum as a control group 40 hours after PMSG injection 18 rams joined to the flock the response to the estrous was 100 percent. Impregnation percents were 67, 68, 75, 84 and 88 respectively, which between all groups. There was not any significant difference. ($p < 5\%$). Multipartite rates were 130, 125, 1094, 2.01 and 2.15 respectively which there was not any significant difference between groups that received 450 and 350 dosage. ($p < 5\%$) injection of PMSG hormone 450 dosage increased multiparous rates and less doses than 450 dosage improved Baloochian ewe reproducing traits.

Keywords): PMSG- hormone – non reproducing season- Baloochian ewe

بررسی اختلاف غلظت برخی مواد معدنی پلاسمای منی قوچ عربی بین فصل و خارج فصل تولید مثلی
مهرداد سرشار^۱، صالح طباطبائی وکیلی^۲، خلیل میرزاده^۳، مرتضی ممویی^۴، علی آقائی^۵

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۲. اساتید گروه علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

* نویسنده مسئول: مهرداد سرشار، mrdarsarshar2000@yahoo.com

چکیده

مواد معدنی از جمله ترکیبات بیوشیمیایی بدن هستند که در روند تولید مثلی دام ماده دارای نقش مهمی می باشند. اهمیت مواد معدنی بر سلامتی تولید مثلی دام‌های نر کمتر مورد توجه قرار گرفته است. در این تحقیق، تعداد ۸ رأس قوچ نژاد عربی (۲-۳ ساله)، تحت جیره‌ی غذایی یکسان، بصورت تصادفی انتخاب شدند. جمع‌آوری نمونه‌های منی با استفاده از دستگاه الکترواجاکولاتور^۱، یکبار در هفته و به مدت ۳ هفته در فصل تولیدمثلی (پاییز) و ۳ هفته در خارج فصل تولیدمثلی (زمستان) انجام شد. غلظت مواد معدنی (کلسیم، فسفر، مس، روی و آهن) پلاسمای منی در دو فصل تولید مثلی و خارج فصل تولید مثلی تعیین گردید. بین غلظت کلسیم و فسفر پلاسمای منی در فصل تولیدمثلی (بترتیب، $9/62 \pm 0/31$ و $4/34 \pm 0/35$ میلی گرم در دسی لیتر) و خارج فصل تولید مثلی (بترتیب، $7/63 \pm 0/48$ و $3/48 \pm 0/25$ میلی گرم در دسی لیتر)، تفاوت معنی داری وجود داشت ($p < 0/05$). درحالیکه بین غلظت مس، روی و آهن پلاسمای منی در فصل تولیدمثلی (بترتیب، $162/31 \pm 8/11$ ، $128/06 \pm 11/3$ و $124/62 \pm 5/40$ میلی گرم در دسی لیتر) و خارج فصل تولیدمثلی (بترتیب، $150 \pm 10/68$ ، $133/88 \pm 5/88$ و $123/88 \pm 4/70$ میلی گرم در دسی لیتر)، اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت ($p < 0/05$).

واژگان کلیدی: فصل - قوچ - مواد معدنی - منی

مقدمه

قوچ عضو مهم گله گوسفند می باشد. برای آنکه میزان باروری و تولید نتاج در گله بالا رود، حتما باید از سلامت تولید مثلی قوچ های گله اطمینان حاصل نمود (7). پلاسمای منی یک مخلوط پیچیده مترشحه از اپیدیدیم و غدد جنسی ضمیمه است که می تواند بر مورفولوژی، تحرک، واکنش آکروزومی اسپرم و باروری تاثیر داشته باشد. امروزه ارزیابی بیوشیمیایی پلاسمای منی در کنار ارزیابی های روتین فراسنجه های کیفی منی به منظور اطمینان از سلامتی تولید مثلی دام های نر مورد توجه قرار گرفته است (6). مواد معدنی از جمله ترکیبات بیوشیمیایی بدن هستند که از زمان های قدیم نقش آنها در روندهای تولید مثلی دام ماده کاملاً مشخص شده است. اهمیت مواد معدنی بر سلامتی تولید مثلی دام های نر کمتر مورد توجه قرار گرفته است (۱۲). مطالعات نشان داده است که منی چندین گونه از پستانداران حاوی مقادیر بالایی از کلسیم، روی، مس و برخی عناصر دیگر می باشد. کمبود

¹Electroejaculator

کلسیم، روی و آهن در جیره غذایی دام های نر عامل کاهش کیفیت منی مثل کاهش غلظت اسپرم و تحرک ضعیف اسپرم ها می تواند باشد که نتیجه آن کاهش باروری در گله است (۱۳، ۱۰). مکانیسم دقیق اثر مواد معدنی بر کیفیت منی بطور دقیق مشخص نشده است. ردیابی این عناصر در پلاسمای منی و بررسی غلظت آنها می تواند اطلاعات مفید بیشتری در زمینه اهمیت آنها بر فعالیت تولید مثلی دام نر ارائه دهد. هدف از این مطالعه، بررسی اختلاف غلظت برخی مواد معدنی پلاسمای منی (کلسیم، فسفر، مس، روی، آهن) قوچ نژاد عربی در فصل و خارج فصل تولید مثلی می باشد.

مواد و روش ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۰، در ایستگاه دامپروری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین (خوزستان)، واقع در شهر ملاثانی، ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز انجام شد. این مکان دارای طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۲ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۶ دقیقه می باشد. حداقل دمای سالیانه این ناحیه ۳- درجه و حداکثر درجه حرارت آن ۵۱ درجه سانتی گراد بوده و ارتفاع آن از سطح دریا ۳۰ متر می باشد. برای این مطالعه، تعداد ۸ راس قوچ نژاد عربی با متوسط سن ۲ تا ۳ سال، بکار گرفته شد. جیره غذایی آنها برابر جیره های استاندارد طبق جدول NRC بود. اسپرم گیری از قوچ ها بطور هفتگی (هر هفته یکبار)، به مدت ۳ هفته در فصل تولید مثلی (پائیز-مهر ماه) و ۳ هفته در خارج فصل تولید مثلی (زمستان-بهمن ماه)، به وسیله ی دستگاه الکترواجاکولاتور، انجام گردید. پلاسمای منی توسط سانتریفیوژ کردن منی به مدت ۱۵ دقیقه جدا شده و تا زمان آنالیز مواد معدنی، در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید. آنالیز غلظت مواد معدنی (کلسیم، فسفر، مس، روی و آهن) پلاسمای منی به وسیله ی دستگاه فتومتر ۵۰۱۰ انجام شد. آنالیز آماری داده ها با استفاده از آزمون دانکن در برنامه نرم افزاری SPSS (ویرایش ۱۶) انجام گرفت.

نتایج و بحث

در جدول ۱، میانگین غلظت مواد معدنی پلاسمای منی در فصل و خارج فصل تولید مثلی قوچ عربی مشاهده می شود.

جدول ۱: مقایسه غلظت مواد معدنی (mg/dl) منی بین فصل و خارج فصل تولید مثلی قوچ عربی

کلسیم	فسفر	مس	روی	آهن	
۹/۶۲±۰/۳ ^{۱a}	۴/۳۴±۰/۳۵ ^a	۱۶۲/۳۱±۸/۱۱	۱۲۸/۰۶±۱۱/۳	۱۲۴/۶۲±۵/۴۰	فصل تولید مثل
۷/۶۳±۰/۴۸ ^b	۳/۴۸±۰/۲۵ ^b	۱۵۰±۱۰/۶۸	۱۳۳/۸۸±۵/۸۸	۱۲۳/۸۸±۴/۷۰	خارج فصل تولید مثل

__ میانگین های با حروف مختلف در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی داری می باشند ($p < 0.05$).

__ داده ها بر حسب $SE \pm$ میانگین نوشته شده اند.

همانطور که در جدول نشان داده شده است، غلظت کلسیم و فسفر پلاسمای منی بین فصل و خارج فصل تولیدمثلی، دارای اختلاف آماری معنی داری می باشد. بطوریکه، غلظت کلسیم و فسفر پلاسمای منی در فصل تولیدمثلی (پاییز)، بطور معنی داری بیشتر از غلظت آنها در خارج فصل تولیدمثلی بود ($p < 0.05$). غلظت مس، روی و آهن پلاسمای منی بین فصل و خارج فصل تولیدمثلی، اختلاف آماری معنی داری نداشتند ($p < 0.05$)؛ هرچند که در فصل تولید مثلی بصورت عددی، غلظت مس و آهن بیشتر و غلظت روی کمتر از مقدار آن در خارج فصل تولید مثلی بود. غلظت این مواد در پلاسمای منی قوچ عربی در هر دو فصل پاییز (فصل تولیدمثلی) و زمستان (خارج فصل تولیدمثلی) بترتیب از بیشترین به کمترین مربوط به مس، روی، آهن، کلسیم و فسفر بود. بدلیل افزایش عملکرد تولیدمثلی و بهبود فراسنجه‌های منی قوچ عربی در فصل تولیدمثلی (پاییز) و کاهش آنها در خارج فصل تولیدمثلی (۱) و همچنین با توجه به مشاهده افزایش غلظت کلسیم و فسفر پلاسمای منی قوچ عربی در فصل تولیدمثلی و عدم تغییر غلظت مس، روی و آهن پلاسمای منی قوچ عربی در فصل و خارج فصل تولیدمثلی، می‌توان فرض کرد که بین کلسیم و فسفر پلاسمای منی و فراسنجه‌های کمی و کیفی منی و نیز قابلیت باروری قوچ عربی، همبستگی مثبتی وجود دارد و ازطرفی، احتمالاً بین غلظت مس، روی و آهن پلاسمای منی قوچ عربی با فراسنجه‌های کمی و کیفی منی و قابلیت باروری آن همبستگی چندانی وجود ندارد. کلسیم در ترشحات پروستات و وزیکول سمینال وجود داشته و به عنوان فعال کننده واکنش آکروزومی اسپرم پستانداران در زمان لقاح آن با تخمک می‌باشد. بین غلظت کلسیم پلاسمای منی و درصد اسپرم‌های با تحرک پیش‌رونده ارتباط مثبتی یافت شده است (۲). کمبود کلسیم، روی و مس در پلاسمای منی مرتبط با کاهش باروری مردان می‌باشد (۱۳). این محققین همچنین نشان دادند که همبستگی مثبت معنی داری بین نسبت کلسیم به فسفر پلاسمای خون و فراسنجه‌های کیفی منی وجود دارد. برعکس، این همبستگی در پلاسمای منی منفی بود. در مطالعه‌ی آنها ارتباط مثبت معنی داری بین غلظت کلسیم و مس پلاسمای منی و فراسنجه‌های کیفی اسپرم‌ها در خوک یافت شد. برعکس، در مطالعه‌ی دیگر، فیل‌هایی که تحرک ضعیف اسپرم‌ها را در نمونه‌های منی خود داشتند، دارای مقادیر بالاتری کلسیم در پلاسمای منی بودند (۱۰). در گاومیش ارتباط مثبت معنی داری بین غلظت کلسیم پلاسمای منی با حرکت پیش‌رونده اسپرم‌ها و نیز درصد اسپرم‌های زنده گزارش شده است (۳). بالا بودن میزان کلسیم در پلاسمای منی مرد اثر مثبت معنی داری بر میزان تحرک اسپرم دارد (۱۱). فکی و همکاران (۵)، نمونه منی انسان را با محلول ۱ میلی‌مول کلسیم آنکوبه کردند و یافتند که افزودن کلسیم به منی موجب افزایش تحرک اسپرم می‌شود. در تحقیق صورت گرفته توسط مکال و همکاران (۸)، در خوک نر، همبستگی منفی معنی داری بین غلظت فسفر پلاسمای منی و خون با فراسنجه‌های کیفی منی یعنی حجم منی انزالی، تعداد کل اسپرم و تعداد اسپرم‌های متحرک وجود داشت. به عبارتی در مطالعه آنها با افزایش غلظت فسفر پلاسمای خون در خوک، کیفیت اسپرم پایین آمد. اقبالی و همکاران (۳)، نشان دادند که ارتباط مثبت معنی داری بین غلظت مس پلاسمای منی و کیفیت منی (تحرک اسپرم و درصد اسپرم‌های زنده) در گاومیش وجود دارد. وانگ و همکاران (۱۳)، گزارش کردند که ارتباط مثبت معنی دار، هرچند ضعیف، بین غلظت مس خون و تحرک اسپرم مرد وجود دارد. بین میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم (بخصوص ناهنجاری‌های دم اسپرم) و غلظت مس پلاسمای منی ارتباط مثبت معنی داری وجود داشت. ری و همکاران (۹)، با افزودن روی به منی گاومیش بطور آزمایشگاهی ۸۶، هیچگونه اثری بر شکل ظاهری اسپرم‌ها (از نظر میزان اسپرم‌های با آکروزوم سالم) نیافت. در بزهای نر، کمبود روی در جیره غذایی باعث کوچک شدن

بیضه‌ها و کاهش میل جنسی و تولید اسپرم می‌شود (۱۲). آهن نیز بر فعالیت‌های تولیدمثلی دام نر اثرگذار است. ارتباط مثبت معنی‌داری بین غلظت آهن و مس با غلظت اسپرم در قوچ وجود دارد (۱۳). اگرچه غلظت کلسیم و فسفر پلاسمای منی قوچ عربی در فصل تولیدمثل بیشتر است، اما می‌توان با اضافه کردن آنها به منی با روش‌های درون آزمایشگاهی، کیفیت اسپرم‌ها را افزایش داد.

منابع

۱. حمیدی، ع. ۱۳۸۸. بررسی تغییرات غلظت هورمون رشد (GH) و IGF-I سرم خون و ارتباط آنها با برخی فراسنجه‌های تولیدمثلی قوچ نژاد عربی در فصل تولیدمثلی و غیر تولید مثلی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، ۸۶ صفحه.
۲. Cevik, M., Tuncer, P.B., Tasdemir, U. and Ozgurtas, T. 2007. Comparison of spermatological characteristics and biochemical seminal plasma parameters of normozoospermic and oligoasthenozoospermic bulls of two breeds. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 31(6): 381-387
۳. Eghbali, M., Alavi-Shoushtari, S.M. and Asri rezaii, S. 2008. Effects of Copper and Superoxide Dismutase content of seminal plasma on buffalo semen characteristics. *Pakistan J. Biol. Sci.* 11(15): 1964-1968.
۴. Eghbali, M., Alavi-Shoushtari, S.M., Asri-Rezaei, S. and Khadem-Ansari, M.H. 2010. Calcium, Magnesium and Total Antioxidant Capacity (TAC) in Seminal Plasma of Water Buffalo (*Bubalus Bubalis*) Bulls and their Relationships with Semen Characteristics. *Veterinary Research Forum* 1(1): 12-20
۵. Fakih, H., MacLustky, N. and DeCherney, A. 1986. Enhancement of human sperm motility and velocity in vitro: effects of calcium and creatine phosphate. *Fertil. Steril.* 46(5): 938-944.
۶. Gundogan, M. 2006. Some reproductive parameters and seminal plasma constituents in relation to season in Akkaraman and Awassi rams. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 30: 95-100.
۷. Hafez, B. and Hafez, E.S.E. 2000. *Reproduction in farm animals*, 7th edn., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
۸. Machal, L., Hosek, M., Reckova, Z. and Krivanek, I. 2007. Semen quality parameters and content of selected minerals in boar blood and seminal plasma. *Pol. J. Natur. Sci.* 22(4): 608-619.
۹. Roy, B., Nagpaul, P.K., Pankaj, T.K., Mohanty, V.S. and S. Ghosh., 2010. Effect of Zn supplementation (ZnSO₄) on sperm morphometry of murrah buffalo bulls (*Bubalus Bubalis*). *Buffalo Bulletin* 29: 21-25.
۱۰. Sivilaikul, S., Jitprom, A., Kularb, A., Kornkaewrut, K., Suthanmaphinuth, P., Mahasawangkul, S., Saikhun, K., Wajjwalku, W. and Thongtipsiridech, S. 2010.

- Relationship between seminal and serum calcium concentration with semen quality in the asian elephant (*Elephas maximus*). *Thai J. Vet. Med.* 40(3): 251-255.
۱۱. Sorensen, M.B., Bergdahl, I.A., Hjollund, N.H.I., Bonde, J.P.E., Stoltenberg, M. and Ernst, E. 1999. Zinc, magnesium and calcium in human seminal fluid: relations to other semen parameters and fertility. *Mol. Hum. Reprod.* 5: 331-337.
۱۲. Vázquez-Armijo, J.F., Rojo, R., Salem, A.Z.M., López¹, D.I.A., Tinoco¹, J.L., González, A., Pescador, N. and Domínguez-Vara. 2011. Trace elements in sheep and goats reproduction: A review. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14: 1-13.
۱۳. Wong, W.Y., FliK, G., Groenen, P.M.W., Swinkels, D.W., Thomas, C.M.G., Copius-Peereboom, J.H.J., Merkush, M.W.M. and Steegers-Theunissen R.P.M. 2001 The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men. *Reprod. Toxicol.* 15:131-136.

The study of differences in seminal plasma mineral concentrations of Arabic rams between breeding and non-breeding seasons

M. Sarshar^{1*}, S. Tabatabaei², Kh. Mirzade², M. Mamouei², A. Aghaei²

1. M.Sc. Student of Animal Physiology, Ramin agricultural and natural resources university, Khouzestan, Iran

2. Department of Animal science, Ramin agricultural and natural resources university, Khouzestan, Iran

mrdsarshar2000@yahoo.com

Abstract

The minerals are major compositions of the body that play important role in female reproductive activities. The function of minerals in male reproduction is not well known. In this study, 8 Arabic rams (2-3 years old) under the same feeding were randomly selected. Semen samples were collected using an electro-ejaculator once a week for 3 weeks in breeding season (autumn) and 3 weeks in non-breeding season (winter). Seminal plasma mineral (calcium, phosphorus, copper, zinc and iron) concentrations were determined by photometer device. The presented results of this study indicated that seminal plasma calcium and phosphorus concentrations between breeding (9.62 ± 0.31 and 4.34 ± 0.35 ml/dl, respectively), and non-breeding seasons (7.63 ± 0.48 and 3.48 ± 0.25 ml/dl, respectively), were significantly different ($p < 0.05$). Whereas, seminal plasma copper, zinc and iron concentrations in breeding (162.31 ± 8.11 , 128.06 ± 11.3 and 124.62 ± 5.40 ml/dl, respectively), and non-breeding seasons (150 ± 10.68 , 133.88 ± 5.88 and 123.88 ± 4.70 ml/dl, respectively), had no significant differences ($p < 0.05$). In fact, seminal plasma Calcium and Phosphorus concentrations in non-breeding season, was significantly lower than breeding season ($p < 0.05$).

Key words: Season-Ram-Mineral-Semen

اثرات تنش گرمایی بر عملکرد گاوهای شیری هلشتاین

فرشته جمیلی^۱، مسعود دیدارخواه^۲، محمد رازده^۳، عباسعلی امینی^۴، منصور متقی مقدم^۵

۲،۱- مدرس دانشگاه علمی کاربردی صنعت غذای تربت جام ۳- دامپزشک صندوق بیمه محصولات کشاورزی ۴- کارشناس

بانک کشاورزی تربت جام ۵- کارشناس جهاد کشاورزی تربت جام

نویسنده مسئول: مسعود دیدارخواه. آدرس مکاتباتی و پست الکترونیکی: تربت جام دانشگاه علمی کاربردی صنعت غذای تربت

جام ۰۹۱۵۳۲۸۶۹۳۸- masooddidar@yahoo.com

چکیده

این پژوهش به منظور اثرات دما و رطوبت محیط در طی فصول سال بر توان تولیدی گاوهای شیری هلشتاین انجام شد. از ۵ واحد گاوداری و از هر گاو داری ۵ راس گاو انتخاب شدند و از نمونه شیر آنها جهت تعیین ترکیبات آن در فصول مختلف سال رکورد برداری شد. میانگین شاخص دما رطوبت در طی ماههای خرداد، شهریور، آذر، اسفند به ترتیب ۵۲، ۵۵، ۸۱، ۷۷ بود درجه حرارت محیط با دمای اندازه گیری شده رکتوم همبستگی بالایی داشت و مقدار آن ($r = 0.75$, $p < 0.01$) بود تولید شیر در ماههای خرداد و شهریور در تمامی گاوداریها که گاوها تحت استرس گرمایی قرار داشتند که با شاخص دما- رطوبت رابطه معنی داری داشت اما این رابطه با دمای محیط معنی دار نبود. (۱)

واژگان کلیدی: تولید شیر- استرس گرمایی- شاخص دما- رطوبت

مقدمه

کلیه حیوانات خون گرم در محدوده ای از تغییرات درجه محیط می توانند گرمای تولید ناشی از متابولیسم برخی نشان را به محیط پس دهند ولی چنانچه حرارت محیطی افزایش یابد این تبادل حرارتی صورت نمی گیرد و حیوان دچار استرس گرمایی خواهد شد اهمیت استرس گرمایی در صنعت دامپروری روز به روز در حال افزایش است چون حیواناتی که ژنوتیپ بهتری دارند بواسطه فعالیت متابولیکی بیشتری، حرارت بدنی بیشتری تولید می کنند (۳،۲) و اولین اثر منفی کاهش مصرف خوراک در هوای گرم، کاهش تولید شیر و تغییرات نامطلوب اجزاء شیر است که بطور معمول بسته به شدت تنفس حرارتی، ۲۰-۱۰ درصد از مقدار تولید کاسته می شود (۳،۱) تاکنون پژوهش های بسیاری جهت بررسی تأثیر عوامل آب و هوایی و محیطی روی توان تولیدی گاوهای شیری انجام گردیده است (۱)، هدف از انجام این آزمایش، بررسی رابطه دما و رطوبت و شاخص دما- رطوبت بر عملکرد تولیدی گاوهای شیری هلشتاین بود.

مواد و روش ها

این آزمایش از سال ۸۷ در ۵ گاوداری بر روی ۲۵ راس گاو آغاز شود و تا پایان سال ادامه یافت دماسنج در محل سایه زیر بهاربند نصب شد وبا اطلاعات بدست آمده منحنی شاخص دما- رطوبت ترسیم شد.

$$\frac{RH \times 0.55}{100}$$

$$THI = Td - (0.55 - RH) \times (Td - 55)$$

که در اینجا فرمول $THI = Td - (0.55 - RH) \times (Td - 55)$ = رطوبت نسبی می باشد (۱)

$$RH, Td = \frac{T_{mpx} + 17.778}{.556}$$

محل نگهداری گاوها در جایگاه های باز و بدون استفاده از وسائل خنک کننده بود و نمونه شیر همه گاوها پس از دوش بطور هفتگی در ماههای خرداد، شهریور، آذر، اسفند جمع آوری شدند و جهت آنالیز مقدار چربی، پروتئین و لاکتوز و مواد جامد بدون چربی به آزمایشگاه ارسال گردیدند. میزان تولید شیر هم با استفاده از ظرف مدرج شیر دوشی اندازه گیری شد. درجه حرارت رکتوم هم که معیار مناسبی برای درجه حرارت بدن می باشد بصورت هفتگی در هنگام شیردوشی تعیین گردید. داده های آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل گردید و جهت محاسبه ضرایب همبستگی (۷) از Proc corr استفاده شد (۱، ۲).

نتایج و بحث

نتایج حاصله از این تحقیق نشان داد که میانگین شاخص دما، رطوبت طی ماههای خرداد، شهریور، آذر و اسفند به ترتیب برابر با ۵۲،۵۵،۸۱،۷۷ بود و با توجه با اینکه شروع استرس گرمایی را از $p=72$ شاخص دما- رطوبت در نظر می گیرند (۲) بنابراین در ماههای خرداد و شهریور گاوها تحت اثر گرمایی قرار داشتند. ضریب همبستگی دمای محیط با دمای رکتوم ۷۵٪ بدست آمد. نتایج حاصله نشان داد که بین عوامل آب و هوایی، تولید و ترکیبات شیر گاوهای هلشتاین در دوره استرس گرمایی همبستگی ساده ای وجود دارد. که در گاوهای هلشتاین همبستگی بالایی بین دمای رکتوم با درجه حرارت محیط و نیز بین تولید شیر با شاخص دما- رطوبت- مشاهده شد. در بقیه ماههای سال گاوها تحت استرس دمایی قرار نگرفتند و تولید شیر کاهش پیدا نکرد. رطوبت هوا و دمای محیط تأثیر بسیار زیادی بر کاهش تولید شیر دارد و باعث شدت بخشیدن اثرات استرس گرمایی بر گاوهای شیری می شود. که می توان با راهکارهای مناسبی نظیر نصب تهویه، آب پاش و مه پاش وسایبانهای مناسب این مشکل را حل نمود. جدول ۱ همبستگی ساده بین عوامل آب و هوایی، تولید و ترکیبات شیر گاوهای هلشتاین در دوره استرس گرمایی (ماه های خرداد و شهریور)

۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	
-۰/۷۴۱	---	---	---		-۰/۶۱۸	-۰/۹۰۰	---	۱	۱ تولید شیر
---	---	۰/۷۳۸	۰/۹۵۳	---	---	---	۱	---	۲ چربی٪
۰/۸۲۱	۰/۷۷۳		---	---	-۰/۸۶۹	۱	---	-۰/۹۰۴	۳ پروتئین٪
-۰/۶۸۹	-۰/۸۷۰				۱	-۰/۸۶۵		۰/۶۹۱	۴ لاکتوز
				۱					۵ SNF
		۰/۷۱۹	۱				۰/۹۵۳		۶ TS
۰/۹۱۲	۰/۸۰۳	۱	۰/۷۲۹				۰/۷۳۹		۷ دمای محیط
۰/۷۵۴	۱	۰/۸۰۳			-۰/۸۶۹	۰/۷۷۰			۸ دمای رکتوم

۱	۰/۷۶۴	۰/۹۱۲			-۰/۶۸۹	۰/۸۰۱		-۰/۷۵۴	THI ۹ ^۳

منابع

- ۵ - بیرجندی رم. مهران ابادری، محمد نوروزی. ۱۳۸۷. اثرات تنش گرمایی بر عملکرد گاوهای شیری در منطقه گرم و خشک. مجموعه مقالات سومین کنگره علوم دهی و آبرزیان کشور.
- 6- Young , B . A . 1983 . Ruminant cold stress : effect on production . J . Anim . Sci . 57:1601-1607
- 7- Gerald , M. J ,and G . C . Stallings . 1999. Reducing heat stress dor dairy cattle . virginal cooperative extensiov . p. 4.4.200,

Effects of Thermal tension on Holeshtine cows

This research is conducted to review thermal and environmental effects during gears seasons on the productive Holestine milk COWS ability. 5 heads of cow were selected from 5 dairy farmings (5 heads of cattle from each dairy farmings (5 heads of cattle from each dairy farming), and their milk sample was recorded for determining its composition in various seasons of the year. Thermal humidity index mean during Khordad, Shahrivar, Azar and Isphand months were 77, 81, 55 and 52 respectively. There was a high correlation between environmental temperature according to rectal measured temperature and its rare was $r = 75\%$ $p < 1\%$. milk output was under the influence of termal stress in all dairy fourmings on khordad and shahrivar months which had a significant relationship with humidity-temperature index but this relationship was not significant for environmental temperature. (1)

Keywords): milk output-termal stress- termal index - humidity

مقایسه‌ی فراسنجه‌های کیفی منی قوچ عربی بین فصل و خارج فصل تولیدمثلی
مهرداد سرشار*^۱، صالح طباطبائی وکیلی^۲، خلیل میرزاده^۲، مرتضی ممویی^۲، علی آقائی^۲
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
۴. اساتید گروه علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
* نویسنده مسئول: mrd sarshar2000@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق، ۸ رأس قوچ نژاد عربی (۲-۳ ساله)، تحت جیره‌ی غذایی یکسان، بصورت تصادفی انتخاب شدند. اسپرم‌گیری با استفاده از دستگاه الکترواکولاتور ۸۷، یکبار در هفته و به مدت ۳ هفته در فصل تولیدمثلی (پاییز) و ۳ هفته در خارج فصل تولیدمثلی (زمستان) انجام شد. تراکم اسپرم، جنبانی اسپرم، درصد اسپرم‌های ناهنجار و اسپرم‌های زنده، فراسنجه‌هایی بودند که برای ارزیابی کیفیت منی استفاده شدند. تعیین غلظت اسپرم با استفاده از لام هموسایتومتر انجام شد. برای ارزیابی تحرک اسپرم، از میانگین ۳ میدان دید میکروسکوپی در هر نمونه، توسط میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی $400\times$ مورد استفاده قرار گرفت. ناهنجاری اسپرم‌ها و اسپرم‌های زنده بوسیله‌ی رنگ‌آمیزی اتوزین-نگروزین مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که فراسنجه‌های کیفی اسپرم، بین فصل و خارج فصل تولیدمثلی، شامل تحرک اسپرم (بترتیب، $77/75 \pm 1/28$ و $71/9 \pm 1/53$ درصد)، غلظت اسپرم (بترتیب، $3/01 \pm 0/14 \times 10^9$ و $2/42 \pm 0/21 \times 10^9$ اسپرم در هر میلی‌لیتر)، ناهنجاری اسپرم‌ها (بترتیب، $9/22 \pm 0/37$ و $12/96 \pm 0/34$ درصد) و اسپرم‌های زنده (بترتیب، $83/36 \pm 1/14$ و $77/61 \pm 1/16$ درصد)، دارای تفاوت معنی‌داری بودند ($p < 0/05$). تغییرات نژاد، فصل و اقلیم (طول روز، دما و رطوبت)، بر فراسنجه‌های منی و عملکرد تولیدمثلی قوچ‌ها تاثیر می‌گذارد؛ به طوری که بهترین کیفیت منی قوچ نژاد عربی در فصل پاییز تولید می‌شود.

واژگان کلیدی: کیفیت اسپرم-فصل-قوچ عربی

مقدمه:

عوامل مختلف از قبیل تغذیه، شرایط محیطی، حضور جنس ماده، دمای محیط، سن، وزن، موقعیت جغرافیایی و سیستم مدیریت می‌توانند ویژگی‌های آندروژیک حیوانات دارای تولیدمثلی فصلی را تغییر دهند (۱، ۱۸، ۱۹). رفتار جنسی و کیفیت منی، پارامترهای اصلی محدودکننده‌ی بهره‌وری باروری جنس نر هستند که تحت تاثیر نژاد، موقعیت جغرافیایی و فصل سال (۱۰) و اندازه بیضه (۱۸) می‌باشند. فصل و چرخه‌ی نوری بر تراوش هورمون‌های جنسی (۱۱، ۱۳)، فعالیت غده پینه‌آل و ترشح ملاتونین (۴) و فعالیت غده تیروئید (۱۴) و در نتیجه بر فعالیت جنسی حتی در نژادهای اصلاح شده نیز اثرگذار است. اگرچه اسپرماتوزنریس در قوچ، در طول سال فعال است، اما تغییرات قابل توجه فصلی، در مناطق مختلف گزارش شده است. در گوسفندان ترکی (۷)، دنبه‌دار ایرانی (۹، ۱۸، ۵)، تکسل، سافولک و آیلد فرانس (۱۲)، فصل تولیدمثلی طبیعی بوسیله‌ی افزایش

سطوح هورمون‌های LH و تستوسترون خون متقدم است؛ پیرو این، رفتار جنسی، سائز بیضه‌ها و تولید اسپرم افزایش می‌یابد. درک فصل تولیدمثل طبیعی دام‌ها، برای مدیریت عمومی گله مهم است و به‌منظور تعیین پتانسیل تولیدی و تولیدمثلی قوچ، از طریق معلومات فیزیولوژی تولیدمثل ضروری است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تاثیر تغییر فصل در تولید و ویژگی‌های اسپرم قوچ نژاد عربی بود.

مواد و روش‌ها:

این پژوهش در سال ۱۳۹۰، در ایستگاه دامپروری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین (خوزستان)، واقع در شهر ملاثانی، ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز انجام شد. این مکان دارای طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۲ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۶ دقیقه می‌باشد. حداقل دمای سالیانه این ناحیه ۳- درجه و حداکثر درجه حرارت آن ۵۱ درجه سانتی‌گراد بوده و ارتفاع آن از سطح دریا ۳۰ متر می‌باشد. برای این مطالعه، تعداد ۸ راس قوچ نژاد عربی با متوسط سن ۲ تا ۳ سال، بکار گرفته شدند. جیره غذایی آنها برابر جیره‌های استاندارد طبق جدول NRC بود. اسپرم‌گیری از قوچ‌ها بطور هفتگی (هر هفته یکبار)، به مدت ۳ هفته در فصل تولید مثلی (پائیز- مهر ماه) و ۳ هفته در خارج فصل تولیدمثلی (زمستان- بهمن ماه)، به‌وسیله‌ی دستگاه الکترواجاکولاتور، انجام گردید. منی جمع‌آوری شده تحت ارزیابی‌های کیفی شامل میزان غلظت اسپرم‌ها، تحرک اسپرم‌ها، درصد ناهنجاری اسپرم‌ها و درصد اسپرم‌های زنده قرار گرفت. غلظت اسپرم‌ها با استفاده از لام هموسایتومتر اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی تحرک اسپرم‌ها، یک میکروسکوپ نوری به‌همراه هات پلیت قابل تنظیم، جهت هم‌دم کردن لام و لامل با منی، برای جلوگیری از وارد شدن شوک سرمایی به اسپرم‌ها، استفاده گردید. درصد اسپرم‌های زنده و ناهنجاری، با رنگ‌آمیزی اتوزین- نیگروزین و در بزرگ‌نمایی $\times 400$ میکروسکوپ نوری ارزیابی شدند. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS (ویرایش ۱۶) تجزیه و تحلیل گردید.

نتایج و بحث:

در جدول ۱، تفاوت میزان فراسنجه‌های کیفی منی بین فصل و خارج فصل تولید مثلی قوچ عربی خوزستان مشاهده می‌شود.

جدول ۱: مقایسه فراسنجه‌های منی بین فصل و خارج فصل تولیدمثلی قوچ عربی

جنبانی اسپرم (%)	تراکم اسپرم ($\times 10^9/ml$)	اسپرم‌های زنده (%)	اسپرم‌های ناهنجار (%)
$77/75 \pm 1/28^a$	$3/01 \pm 0/14^a$	$83/36 \pm 1/14^a$	$9/22 \pm 0/37^b$
فصل تولید مثل			

۱۲/۹۶±۰/۳۴^a

۷۷/۶۱±۱/۱۶^b

۲/۴۲±۰/۲۱^b

۷۱/۹±۱/۵۳^b

خارج فصل تولیدمثل

__ میانگین‌های با حروف مختلف در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی‌داری می‌باشند ($p < 0.05$).

__ داده‌ها بر حسب $SE \pm$ میانگین نوشته شده‌اند.

همانگونه که در جدول نشان داده شده است، درصد اسپرم‌های با ناهنجاری مورفولوژیکی در فصل تولیدمثل (پاییز)، کمتر و دارای تفاوت معنی‌داری با خارج فصل تولیدمثل (زمستان) بود ($p < 0.05$). درصد اسپرم‌های زنده نیز در خارج فصل تولیدمثل، کمتر از فصل تولیدمثل بود ($p < 0.05$). غلظت اسپرم‌ها در فصل تولیدمثل، بیشتر از خارج فصل تولیدمثل بود ($p < 0.05$). تحرک اسپرم‌ها در خارج فصل تولیدمثل، کاهش معنی‌داری را نسبت به فصل تولیدمثل نشان داد ($p < 0.05$). درواقع بجز درصد ناهنجاری اسپرم، غلظت، تحرک و درصد اسپرم‌های زنده در خارج فصل تولیدمثل، به‌طور معنی‌داری کمتر از فصل تولیدمثل بود ($p < 0.05$). اثر فصل بر خصوصیات تولیدمثل چند نژاد قوچ قبلاً گزارش شده است (۹، ۱۸، ۵). زمان سال بطور معنی‌داری بر خصوصیات منی تأثیر می‌گذارد (۱۵). اثر تغییر فصل بر کیفیت و کمیت منی، عمدتاً بدلیل تغییر طول روشنایی روز در طول سال بوده (۳)، و عاملی است که باروری را محدود می‌کند (۱۶، ۲). تاکنون طیف گسترده‌ای از خصوصیات منی قوچ برای غلظت اسپرم ($2/6-5/5 \times 10^9$ اسپرم در میلی‌لیتر)، اسپرم‌های غیرطبیعی (۲۹-۴ درصد) و اسپرم‌های زنده (۹۰-۶۰ درصد) گزارش شده است (۱۰، ۹، ۱۸، ۵، ۷). در مطالعه حاضر، میانگین تحرک، ناهنجاری، اسپرم‌های زنده و غلظت اسپرم قوچ عربی در فصل تولیدمثل (پاییز)، بترتیب، $77/75 \pm 1/28$ درصد، $9/22 \pm 0/37$ درصد، $83/36 \pm 1/14$ درصد و $3/01 \pm 0/14 \times 10^9$ اسپرم در هر میلی‌لیتر، و در خارج فصل تولیدمثل (زمستان)، بترتیب، $71/9 \pm 1/53$ درصد، $12/96 \pm 0/34$ درصد، $77/61 \pm 1/16$ درصد و $10^9 \times (2/42 \pm 0/21)$ اسپرم در هر میلی‌لیتر بود. ضمیری و خدایی (۲۰۰۵)، گزارش کردند که میانگین درصد اسپرم‌های زنده، در نژادهای قزل و مهربان در طول دوره‌ی نمونه‌گیری، بترتیب بین ۷۰ و ۳۵ درصد متفاوت می‌باشد. قوچ‌های چویس و فریزین در یونان، بطور میانگین، بترتیب $4/01$ و $4/04 \times 10^9$ اسپرم در میلی‌لیتر، ۷ و $6/7$ درصد اسپرم غیرطبیعی، $72/2$ و $72/4$ درصد اسپرم متحرک تولید کرده‌اند (۱۰). میانگین تحرک پیش‌رونده‌ی اسپرم، اسپرم غیرطبیعی و غلظت اسپرم قوچ مغانی، بترتیب، ۸۷-۶۸ درصد، $7/5-14$ درصد و $3/2-4/9 \times 10^9$ در هر میلی‌لیتر بودند (۱۷). تغییرات بین خصوصیات منی در نژادهای مختلف می‌تواند بازتاب فاکتورهای مختلف شامل شرایط محیطی و تغذیه‌ای، که تولید اسپرم را تحت تأثیر قرار می‌دهند، باشد. تحرک پیش‌رونده‌ی اسپرم، بجز دوره‌ی اواسط زمستان تا اوایل بهار، نسبتاً بالا بود (۱۰)؛ این یافته‌ها با یافته‌های چند نژاد گوسفند مثل قوچ-های چویس و فریزین در یونان، قره‌گل در ایران (۹) و سه نژاد دنبه‌دار ایرانی (۵)، موافق بود. ایبراهیم (۱۹۹۷)، کیفیت بالاتر منی را در طول زمستان در یک نژاد محلی ثبت کرده است. ضمیری و همکارانش (۲۰۱۰)، گزارش کردند که کل اسپرم‌های غیرطبیعی در قوچ‌های مغانی، از قوچ‌های اکارمن و آواسی ($3-4/5$ درصد) در ترکیه (۷)، چویس و فریزین در یونان (۱۰)، بالاتر بود؛ همچنین بیان کردند که منی قوچ‌های مغانی، در زمستان، کمترین مقدار غلظت اسپرم را دارا بود. کاراگیندیس و همکارانش (۲۰۰۰) و کافی و همکارانش (۲۰۰۴)، غلظت بالاتر اسپرم را در طول فصول پاییز و زمستان بدست آوردند. با این حال دلداری (۲۰۰۷)، گزارش کردند که غلظت اسپرم در طول زمستان کم، و در طول تابستان و پاییز افزایش می‌یابد. تغییرات در درصد اسپرم‌های طبیعی و زنده، در طول دوره‌ی تحقیق یکسان بودند (۶). اگرچه فراسنجه‌های کمی و کیفی منی قوچ

عربی مانند برخی نژادهای دیگر در مناطق مختلف در طول سال تغییر می‌نماید، اما قدرت باروری آن در تمام فصول در حد قابل قبول و مطلوبی است.

منابع:

- characteristics and A.M., Tabbaa, M.J., Kridli, R.T., 2004. Factors affecting semen AlGhalban, ۱.
141–149. Rumin. Res. 53, scrotal circumference in Damascus bucks. Small
semen in Barkawi, A.H., Elsayed, E.H., Ashour, G., Shehata, E., 2006. Seasonal changes ۲.
Rumin. Zaraibi goats. Small characteristics, hormonal profiles and testicular activity in
Res. 66, 209–213.
and estrus Chemineau, P., Daveau, A., Maurice, F., Delgadillo, J.A., 1992. Seasonality of ۳.
photoperiod. to a tropical ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats
Small Rumin. Res. 8, 299–312.
seasonal of Colas, G., Lefebvre, J., Guerin, J., 1990. Father–male offspring transmission ۴.
rams: France Ilede sperm in the variations in testis diameter and percentage of abnormal
Reprod. Nutr. Dev. 30, 589–603.. male offspring born in February
2007. Shakeri, M., Deldar Tajangookeh, H., Zare Shahneh, A., Moradi Shahrehabak, M., ۵.
and testosterone and thyroid hormones Monthly variation of plasma concentrations of
year. rams throughout one in three breeds of Iranian fattailed reproductive characteristics
Biol. Sci. 10, 3420–3424. Pak. J.
blocks Duan, C., Goldberg, E., 2003. Inhibition of lactate dehydrogenase C4 (LDHC4) ۶.
Res. 103, 352–359. capacitation of mouse sperm in vitro. Cytogenet. Genome
parameters andrological Gundogan, M., 2007. Seasonal variation in serum testosterone, T3 and ۷.
Res. 67, 312–316. of two Turkish sheep breeds. Small Rumin.
raised in rams Ibrahim, S.A., 1997. Seasonal variations in semen quality of local and crossbred ۸.
161–167. the United Arab Emirates. Anim. Reprod. Sci. 49,
characteristics, Kafi, M., Safdarian, M., Hashemi, M., 2004. Seasonal variation in semen ۹.
rams: technical note. Small Rumin. scrotal circumference and libido of Persian Karakul
Res. 53, 133–139.
variation in Karagiannidis, A., Varsakeli, S., Alexopoulos, C., Amarantidis, I., 2000. Seasonal ۱۰.
Res. 37, 125– Greece. Small Rumin. semen characteristics of Chios and Friesian rams in
130.
plasm Lincoln, G.A., Lincoln, C.E., McNeilly, A.S., 1990. Seasonal cycles in the blood ۱۱.
feral and domesticated concentration of FSH, inhibin and testicle size in rams of wild,
breeds of sheep. J. Reprod. Fertil. 88, 623–633.
age on and Mandiki, S.N.M., Derycke, G., Bister, J.L., Paquay, R., 1998. Influence of season ۱۲.
Testicular size, rams. 1. IledeFrance sexual maturation parameters of Texel, Suffolk and
.capacity. Small Rumin. Res. 28, 67–79 semen quality and reproductive

- production in Ortavant, R. 1985. Seasonal variation in rate testis fluid secretion and sperm
breed of ram. J. Reprod. Fert. 61:363-371. different
testicular cycle os Parkinson, T.J., and Follett, B.K. 1995. Thyroidectomy abolishes seasonal
B., Biological science. rams. Proceeding of the Royal Society of London, series soay
259:1-6
- D., Queirolo, Perez, C., Lopez, A., Castrillejo, A., Bielli, Laborde, D., Gastel, T., Tagle, R.,
Reproductive seasonality of H., 1997. Franco, J., Forsberg, M., RodriguezMartinez,
conditions. Acta Vet. Scand. 38, 109–117. Corriedale rams under extensive rearing
bucks quality in Pérez, B., Mateos, E., 1996. Effect of photoperiod on semen production and
22, 163–168. of Verata and Malaguena breeds. Small Rumin. Res.
Zamiri, M.J., Khalili, B., Jafaroghli, M., Farshad, A., 2010. Seasonal variation in seminal
parameters, testicular size, and plasma testosterone concentration in Iranian Moghani rams.
Small Rumin. Res. 94, 132–136.
characteristics Zamiri, M.J., Khodaei, H.R., 2005. Seasonal thyroidal activity and reproductive
88, 245–255. rams. Anim. Reprod. Sci. of Iranian fattailed
plane Effect of Zarazaga, L.A., Guzman, J.L., Dominguez, C., Pérez, M.C., Prieto, R., 2005.
Reprod. Sci. goats. Anim. Payoya of nutrition on seasonality of reproduction in Spanish
87, 253–267.

Comparison of semen quality parameters of Arabic rams between breeding and non-breeding seasons

M. Sarshar^{1*}, S. Tabatabaei², Kh. Mirzade², M. Mamouei², A. Aghaei²

M.Sc. Student of Animal Physiology, Ramin agricultural and natural resources
university, Khouzestan, Iran

Department of Animal science, Ramin agricultural and natural resources university,
Khouzestan, Iran

mrdsarshar2000@yahoo.com

Abstract

In this study, 8 Arabic rams (2-3 years old) under the same feeding were randomly selected. Semen samples were collected using an electro-ejaculator once a week for 3 weeks in breeding season (autumn) and 3 weeks in non-breeding season (winter). Sperm concentration, motility, percentage of abnormal and live sperm, were parameters that used to evaluate the semen quality. Determination the sperm concentration was performed with a hemocytometer. For assessing the progressive motility of sperm, the mean of the 3 microscopic fields was used in each sample under a light microscope at 400× magnification. Percentage of live and abnormal sperm was evaluated by nigrosin-eosin-stained slides. The presented results of this study indicated that semen parameters between breeding and non-breeding season, include sperm progressive motility (77.75 ± 1.28 and $71.9 \pm 1.53\%$, respectively), Sperm concentration ($3.01 \pm 0.14 \times 10^9$ and $2.42 \pm 0.21 \times 10^9/\text{ml}$, respectively), abnormal sperm (9.22 ± 0.37 and $12.96 \pm 0.34\%$, respectively)



and live sperm (83.36 ± 1.14 and $77.61 \pm 1.16\%$, respectively), were significantly different ($p < 0.05$). It can be inferred that a change in the breed, season and climate (day length, temperature and humidity), effect on semen parameters and reproductive performance of rams.

semen quality of Arabic rams is produced during the autumn. So that, better

Key words: Sperm quality-Season-Arabic ram

ارزیابی کیفیت منی رقیق شده قوچ با رقیق کننده‌های مختلف بعد از فرآیند انجماد- ذوب
مجتبی امام وردی^۱، مهدی ژندی^۲، احمد زارع شهنه^۳، محسن شرفی^۴
^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
^۲ استادیار فیزیولوژی دام، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
^۳ استاد فیزیولوژی دام، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
^۴ دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی دام، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
^۱ مسئول مکاتبات: emamverdi@ut.ac.ir

چکیده

استفاده از منابع گیاهی مانند لسیتین سویا به عنوان یک محافظ انجمادی در رقیق کننده‌ی منی برای انجماد اسپرم قوچ، به علت مشکلات رقیق کننده‌های با منشأ حیوانی (مانند زرده تخم مرغ و شیر) توسعه‌ی زیادی یافته است. بنابراین در این مطالعه، اثر رقیق کننده‌های مختلف منی روی پارامترهای کیفیت اسپرم قوچ بعد از فرآیند انجماد- ذوب ارزیابی شد. هفت انزال از هر چهار قوچ بالغ نژاد زندی در طول فصل تولید مثلی جمع آوری و سپس با هم مخلوط و با رقیق کننده‌های بر پایه تریس حاوی ۲۰ درصد زرده تخم مرغ و ۱/۵ درصد لسیتین سویا و رقیق کننده‌ی تجاری بایوکسل رقیق شدند. بعد از سرد سازی به مدت ۲ الی ۳ ساعت و تعادل دردمای ۵ درجه سانتی گراد، منی رقیق شده در پایوت‌های ۰/۲۵ بسته بندی و در بخار نیتروژن مایع برای ۱۲ دقیقه منجمد و سپس به داخل نیتروژن مایع ریخته و در آن ذخیره شدند. پارامترهای ارزیابی اسپرم بعد از فرآیند انجماد- ذوب شامل جنبایی و پارامترهای حرکتی، یکپارچگی غشای پلاسمایی و ناهنجاری‌های اسپرم بودند. کلیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و رویه‌ی GLM، در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز و نتایج به صورت میانگین بیان شد. نتایج نشان داد که میانگین درصد تحرک کل و پیش رونده در رقیق کننده‌ی منی دارای ۱/۵ درصد لسیتین سویا، به طور معنی داری ($P < 0/05$) بالاتر از رقیق کننده‌های بایوکسل و ۲۰ درصد زرده تخم مرغ بود. علاوه بر این ناهنجاری‌های کل اسپرم نیز برای این تیمار، به طور معنی داری ($P < 0/05$) پایین تر از سایر تیمارها بود. هم‌چنین کلیه‌ی پارامترهای حرکتی ارزیابی شده‌ی اسپرم به وسیله‌ی سیستم آنالیز کامپیوتری (CASA) به استثنای LIN، بین رقیق کننده‌های مختلف معنی دار بودند ($P < 0/05$). بنابراین نتایج نشان داد که ۱/۵ درصد لسیتین سویا در رقیق کننده‌ی منی، انجمادپذیری اسپرم قوچ را بهبود داده و توانایی بیشتری در محافظت کیفیت اسپرم در طی فرآیند انجماد و ذوب را داشته است.

واژه‌های کلیدی: رقیق کننده - بایوکسل - حفظ انجمادی - جنبایی - یکپارچگی غشا

مقدمه

حفظ انجماد منی و تلقیح مصنوعی فواید زیادی را برای صنعت پرورش حیوانات اهلی، به ویژه برای بهبود تولید مثلی و ژنتیکی ارائه می کنند، اما بزرگترین مانع در حفظ انجماد منی، آسیبی است که به ساختمان اسپرم در طول فرآیند انجماد و ذوب وارد می شود که منجر به باروری ضعیف اسپرم منجمد می گردد (۱). رقیق کننده‌های مختلفی در طی سال‌های اخیر، برای محافظت اسپرم در طول فرآیند انجماد و ذوب استفاده شده است. ترکیبات موجود در رقیق کننده‌ها باید بتوانند اسپرم را نسبت به شرایط متغیر بوجود آمده حفاظت نموده و حتی الامکان دچار صدمات کمتری کنند (۲). استفاده از رقیق کننده‌های با منشأ حیوانی از قبیل

زرده تخم مرغ و شیر، دارای مشکلاتی هستند که در چند سال اخیر محققین و تولید کنندگان منی را به فکر حذف و جایگزین نمودن آن‌ها با رقیق کننده‌های بر پایه گیاهی مانند لستین سویا انداخته است. به عنوان مثال، اضافه نمودن زرده تخم مرغ به رقیق کننده منی، یکپارچگی آکروزوم اسپرم بز (۹) و غلظت‌های بالای آن، زنده مانی بعد از ذوب اسپرم را در بز (۱۰) کاهش داده است. آلودگی‌های میکروبی و انتقال بیماری، تغییرات زیاد در ترکیبات آن‌ها، دشواری مشاهدات میکروسکوپی و ظرفیت دارشدن زود هنگام اسپرم‌ها، از دیگر مشکلات این رقیق کننده‌ها می‌باشند (۱۰، ۱۲ و ۱۳). در حال حاضر رقیق کننده‌های بر پایه ی لستین سویا برای حفظ انجماد منی حیوانات اهلی از قبیل اسب (۱۱)، گاو (۵) و قوچ (۳ و ۶) به طور موفقیت آمیزی تست شده‌اند. بنابراین این مطالعه در جهت بررسی و مقایسه‌ی اثر رقیق کننده‌های مختلف منی روی پارامترهای کیفیت باروری اسپرم و در نتیجه انتخاب بهترین آن‌ها برای انجماد منی قوچ و گسترش تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی در صنعت گوسفند انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

هفت انزال از هر چهار قوچ بالغ نژاد زندی (۳ تا ۵ ساله) با استفاده از واژن مصنوعی، دوبار در هفته در طول فصل تولید مثلی جمع آوری شد. قوچ‌ها در مرکز اصلاح نژاد گوسفند زندی (ورامین، تهران، ایران)، تحت شرایط یکنواخت و متعادل تغذیه ای نگهداری می‌شدند. حجم، غلظت و تحرک نمونه‌ها بلافاصله بعد از جمع آوری ارزیابی شد. انزال‌های دارای حجم ۲-۰/۵ میلی لیتر؛ غلظت بیشتر از $10^9 \times 3$ اسپرم در میلی لیتر؛ تحرک بالای ۸۰ درصد و کمتر از ۱۰ درصد اسپرم ناهنجار برای آزمایش استفاده شدند. بلافاصله بعد از جمع آوری و ارزیابی اولیه منی، انزال‌های جمع آوری شده همه با هم به دلیل جلوگیری از اثرات و پراکنش فردی قوچ‌ها مخلوط شده و برای آزمایش استفاده شدند. یک رقیق کننده بر پایه‌ی تریس (حاوی تریس، فروکتوز، سیتریک اسید و گلیسرول) با PH ۷ و اسمولاریته ۳۲۰ میلی اسمول، به عنوان رقیق کننده پایه منی استفاده شد. از سه نوع رقیق کننده که دو رقیق کننده لستین سویا و زرده تخم مرغ، به ترتیب با اضافه کردن ۱/۵ درصد (حجمی/ وزنی) لستین سویا و ۲۰ درصد (حجمی/ حجمی) زرده تخم مرغ به رقیق کننده پایه منی و رقیق کننده‌ی تجاری بایوکسل برای آزمایش استفاده شد. منی مخلوط شده به سه قسمت مساوی تقسیم و سپس با سه رقیق کننده‌ی مختلف رقیق شد. منی رقیق شده به تدریج تا ۵ درجه سانتی گراد برای مدت ۲ تا ۳ ساعت سرد و سپس به داخل پایوت‌های ۰/۲۵ میلی لیتر (IMV, France) کشیده شد. پایوت‌ها بلافاصله در فاصله‌ی ۵ سانتی متری بخار نیتروژن مایع به مدت ۱۲ دقیقه قرار داده شدند و سپس به داخل نیتروژن مایع غوطه ور و تا زمان ذوب ذخیره شدند. بعد از ذخیره سازی به مدت یک ماه، پایوت‌ها در حمام آب گرم (۳۷ درجه به مدت ۳۰ ثانیه) ذوب شدند. برای هر ارزیابی، ۳ پایوت ذوب و بلافاصله در یک لوله‌ی آزمایش مخلوط شدند. برای ارزیابی پارامترهای حرکتی اسپرم از سیستم CASA موجود در مرکز اصلاح نژاد (کرج، ایران) استفاده شد. پارامترهای حرکتی ارزیابی شده شامل درصد جنبایی کل و پیش رونده، VAP (میانگین سرعت در مسیر منحنی الخط بر حسب میکرومتر بر ثانیه)، VSL (سرعت مستقیم الخط اسپرم‌ها بر حسب میکرومتر بر ثانیه)، VCL (سرعت واقعی اسپرم‌ها در مسیر واقعی طی شده بر حسب میکرومتر بر ثانیه)، ALH (حداکثر دامنه حرکات جانبی بر حسب میکرومتر)، BCF (فرکانس حرکات جانبی بر حسب هرتز)، STR (معیار مستقیم الخط بودن بر حسب درصد) و برابر نسبت سرعت VSL به سرعت VAP بر حسب درصد، LIN (معیار خطی بودن حرکت بر حسب درصد) و برابر نسبت سرعت VSL به سرعت VCL بر حسب درصد بودند. برای ارزیابی یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم از تست محلول هایپواسموتیک هاست استفاده شد (۷). برای این منظور ۱۰ میکرولیتر از سیمن به ۱۰۰ میکرولیتر از محیط هایپواسموتیک هاست که حاوی ۹ گرم فروکتوز، ۴/۹ گرم سترات سدیم، ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر با



اسمولاریته ۱۰۰ میلی اسمول بود، اضافه شد. سپس ۳۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد انکوبه شد. پس از گذشت این زمان و با تهیه حداقل سه قطره (۱۰ میکرولیتر) از نمونه‌ی انکوبه شده، ارزیابی و شمارش اسپرم با استفاده از میکروسکوپ نوری فازکنتراست و یک هات استیج در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و با بزرگنمایی $\times 400$ صورت گرفت. در هر لام حداقل ۲۰۰ اسپرم شمارش و درصد اسپرم‌های با دم گره خورده (زنده) نسبت به گره نخورده (مرده) محاسبه شد. از تست محلول هانکوک نیز برای ارزیابی ناهنجاری‌های اسپرم استفاده شد (۸). برای ارزیابی حداقل ۳ قطره از هر نمونه سیمن به لوله‌های اپندورف حاوی یک میلی لیتر از محلول هانکوک اضافه شد. یک قطره از این محلول را روی لام تمیزی قرار داده و لامل را به آرامی روی آن قرار دادیم. توسط میکروسکوپ فازکنتراست و با بزرگنمایی $\times 400$ تعداد ۲۰۰ اسپرم را شمارش کرده و به صورت درصد کل اسپرم‌های غیر طبیعی (آکروزوم غیرطبیعی، سر جدا شده، نقص‌های دم و میانه اسپرم) به کل اسپرم شمارش شده، گزارش شد. کلیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و رویه‌ی GLM، در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز و نتایج به صورت میانگین بیان شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که میانگین درصد جنبایی کل و پیش رونده (به ترتیب $1/01 \pm 0/43$ و $0/7 \pm 25/43$ درصد) در رقیق کننده‌ی منی دارای $1/5$ درصد لستین سویا، به طور معنی داری ($P < 0/05$) بالاتر از رقیق کننده‌های بایوکسل (به ترتیب $2/16 \pm 36$ و $1/32 \pm 15/75$ درصد) و 20 درصد زرده تخم مرغ (به ترتیب $1/63 \pm 48/43$ و $1 \pm 20/86$ درصد) بود. علاوه براین ناهنجاری‌های کل اسپرم نیز برای این تیمار، به طور معنی داری ($P < 0/05$) پایین تر ($19/53 \pm 0/38$ درصد) از سایر تیمارها بود. کلیه‌ی پارامترهای حرکتی ارزیابی شده‌ی اسپرم به وسیله‌ی سیستم آنالیز کامپیوتری (CASA) به استثنای LIN، بین رقیق کننده‌های مختلف معنی دار بودند ($P < 0/05$). نتایج مطالعات ما نشان داد که $1/5$ درصد لستین سویا در رقیق کننده‌ی منی، انجمادپذیری اسپرم قوچ را بهبود داده و توانایی بیشتری در محافظت کیفیت اسپرم در طی فرآیند انجماد و ذوب را داشته است. در سال‌های اخیر، استفاده از رقیق کننده‌های منی با منشا گیاهی دارای لستین سویا (از قبیل آندرومید، بیوسیفسوس و بایوکسل) به عنوان یک محافظ انجمادی در رقیق کننده‌ی منی برای انجماد اسپرم قوچ، به علت مشکلات رقیق کننده‌های با منشا حیوانی (زرده تخم مرغ و شیر) گسترش زیادی پیدا کرده است. گیل و همکاران در مطالعه‌ای روی انجماد اسپرم قوچ با بایوکسل گزارش کردند که درصد جنبایی کل برای بایوکسل کمی بالاتر از رقیق کننده دارای شیر بود (۴). آیرس و همکاران نشان دادند که اسپرم‌های موجود در نمونه منی رقیق شده به وسیله‌ی لستین سویا، دارای تحرک بالاتری در مقایسه با اسپرم‌های موجود در نمونه منی رقیق شده به وسیله‌ی زرده تخم مرغ بود. همچنین فراسنجه‌های آزمایشگاهی مانند حالت آکروزومی، زنده‌مانی و ظرفیت اتصال به زوناپلوسیدا در بین دو گروه تفاوت معنی داری نداشت (۵). پاپا و همکاران اثر جایگزینی لستین سویا با زرده‌ی تخم مرغ در رقیق کننده‌ی مورد استفاده برای انجماد اسپرم اسب را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که لستین سویا می‌تواند کارآمدتر از زرده تخم مرغ در انجماد اسپرم اسب سانان باشد (۱۱). فوکویی و همکاران مطالعه‌ای روی باروری گوسفندان تلقیح شده با اسپرم منجمد شده با رقیق کننده‌ی بر پایه‌ی لستین سویا (آندرومید) و بر پایه‌ی زرده‌ی تخم مرغ انجام دادند. آن‌ها گزارش کردند که اختلاف معنی داری بین رقیق کننده دارای زرده‌ی تخم مرغ و رقیق کننده‌ی آندرومید وجود نداشت (۳). در نتیجه، با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه، رقیق کننده‌ی دارای $1/5$ درصد لستین سویا می‌تواند به عنوان جایگزین و با عملکرد بهتر نسبت به زرده تخم مرغ و بایوکسل در حفظ انجمادی منی قوچ با توانایی بالای حفظ کیفیت اسپرم در طول فرآیندهای انجماد و ذوب استفاده شود.

1. Watson, P.F. 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science*. 61, 481-492.
2. Salamon, S. Maxwell, W.M.C. 2000. Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*. 62: 77-111.
3. Fukui, Y., Kohno, H., Togari, T., Hiwasa, M. and Okabe, K. 2008. Fertility after artificial insemination using a soybean-based semen extender in sheep. *Journal of Reproduction and Development*. 54: 286-289.
4. Gil, J., Lundeheim, N., Rodriguez-Irazaqui M., Soderquist, L. and Rodriguez-Martinez, H. 2003. Fertility of ram semen frozen in Bioexcell and used for artificial insemination. *Theriogenology*. 59: 1157-1170.
5. Aires, V.A., Hinsch, K.D., Mueller-Schloesser, F., Bogner, K., Mueller-Schloesser, S. and Hinsch, E. 2003. In vitro and in vivo comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology*. 60: 269-27.
6. Forouzanfar, M., Sharafi, M., Hosseini, S.M., Ostadhosseini, S., Hajian, M., Hosseini, L., Abedi, P., Nili, N., Rahmani, H.R. and Nasr-Esfahani, M.H. 2010. In vitro comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of ram semen. *Theriogenology*. 73: 480-487.
7. Revel, G., Marode, R.A. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Animal Reproduction Science*. 36:77-86.
8. Schafer, S., Holzmann, A. 2000. The use of transmigrator and spermac stain to evaluate epididymal cat spermatozoa. *Animal Reproduction Science*. 59: 201-211
9. Aboagla, E.M., Terada, T. 2004. Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. *Theriogenology*. 62: 1160-1172.
10. Ritar, A.J., Salamon, S. 1991. Effects of month of collection, method of processing, concentration of egg yolk and duration of frozen storage on viability of Angoras goat spermatozoa. *Small Ruminant Research*. 4: 29-37.
11. Papa, F.O. Felicio, G.B., Melo, C.M., Alvarenga, M.A., Vita, B. De-Avanzi, B.R. and Dell-Aqua Jr, J.A. 2010. Effect of substituting soybean lecithin for egg yolk in an extender used for the cryopreservation of stallion semen. *Animal Reproduction Science*. 1215: 5171-5172.
12. Bousseau, S., Brillard, J.P., Marquant-le, G.B., Guerin, B., Camus, A. and Lechat, M. 1998. Comparison of bacteriological qualities of various egg yolk sources and the in vitro and in vivo fertilizing potential of bovine semen frozen in egg yolk or lecithin-based diluents. *Theriogenology*. 50: 669-706.
13. Amirat, L., Tainturier, D., Jeanneau, L., Thorin, C., Gerard, O., Courtens, J.L., Anton, M. 2004. Bull semen in vitro fertility after cryopreservation using egg yolk LDL: a comparison with Optidyl, a commercial egg yolk extender. *Theriogenology*. 61: 895-907.

Evaluation of post-thaw quality of ram semen diluted with different extenders

Mojtaba Emamverdi ^{1*}, Mahdi Zhandi ², Ahmad Zare Shahneh ³, Mohsen Sharafi ⁴

¹ Masc. student of animal physiology, Agriculture and Natural Resources, University of Tehran

² Assistant Professor of animal physiology, Agriculture and Natural Resources, University of Tehran

³ Professor of animal physiology, Agriculture and Natural Resources, University of Tehran

⁴ PhD student of animal physiology, Agriculture and Natural Resources, University of Tehran

* Corresponding E-mail address: emamverdi@ut.ac.ir

Abstract

The use of plant sources such as soybean lecithin as a cryoprotectant in semen extender for freezing of ram sperm, due to problems of animal origin semen extenders (such as Egg yolk and milk), a lot of development. Therefore, in this study we assessed the quality of frozen ram semen processed with different extenders. Seven ejaculates collected from each 4 Zandi ram in breeding season and then pooled and diluted with Tris-soybean lecithin (1.5% (wt/v) soybean lecithin), commercially Bioexcell® (IMV, Aigle, France) and Tris-egg yolk (20% (v/v) egg yolk) extenders. After cooling and equilibration at 5°C, the diluted semen was packaged into 0.25 ml straws and frozen in liquid nitrogen vapor for 12 min and then plunged into liquid nitrogen (LN2), and stored in LN2. For each evaluation, three straws thawed in a water bath (37 °C for 30 s) and immediately pooled in a test tube. The sperm parameters assessed after thawing were motility and moving characteristics, membrane integrity and abnormalities. The results indicate that total and progressive motility ($54.43 \pm 1.63\%$ and $25.43 \pm 1\%$ respectively) in 1.5% soybean lecithin extender was significantly ($P < 0.05$) higher than 20% egg yolk and Bioexcell extenders. The computer assisted motion characteristics of sperm (CASA), were significantly ($P < 0.05$) higher in 1.5% soybean lecithin except for LIN (linearity). The plasma membrane integrity for the semen extenders that containing 1.5% lecithin and 20% egg yolk was significantly ($P < 0.05$) higher ($48.86 \pm 1.57\%$ and $43.43 \pm 1.57\%$ respectively) than Bioexcell extender but there were no significant difference between two extender. In conclusion, 1.5% soybean lecithin in semen extender improves the freezability of ram sperm and better protects sperm from damage during cryopreservation.

Keywords: extender-Bioexcell-cryopreservation-motility-membrane integrity

اثرات کاهش سطح پروتئین جیره غذایی بر باروری گاوهای شیرده تحت تنش گرمایی

وحید غلامی^{۱*}، حمید امانلو^۲، محمد حسین شهیر^۳، حمید رضا میرزایی الموتی^۳، غلامرضا نوری^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه زنجان، ۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه زنجان، ۳- استادیار گروه علوم دامی

دانشگاه زنجان، ۴- دانشجوی دکتری دانشگاه زنجان

* نویسنده مسئول: وحید غلامی، زنجان- بلوار دانشگاه-دانشگاه زنجان- گروه علوم دامی

آدرس الکترونیکی: vahid49455@yahoo.com

چکیده:

هدف از این پژوهش، بررسی اثرات کاهش پروتئین خام جیره غذایی در شرایط تنش گرمایی بر عملکرد تولید مثلی در گاوهای پر تولید هلشتاین بود. تعداد ۶۳ راس گاو یک و چند بار زایش کرده با روزهای شیردهی $71 \pm 16/5$ پس از گذراندن دوره انتظار اختیاری و احراز سلامت تولید مثلی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی استفاده گردید. گاوها براساس تولید شیر، شکم زایش و روزهای شیردهی به یکی از سه تیمار آزمایشی که دارای ۱۶/۵، ۱۷/۵ و ۱۸/۵ درصد پروتئین خام بودند به ترتیب به گروه ۱، ۲ و ۳ اختصاص داده شدند. کلیه گاوها تحت پروتکل همزمانی هیت سینک قرار گرفته و تلقیح شدند. جهت بررسی اثرات تیمارها روی دینامیسم فولیکولی تخمدان از دستگاه الکتروسونوگرافی استفاده گردید. اندازه و تعداد فولیکول‌ها در تخمدان‌های چپ و راست در دو نوبت در طی پروتکل تعیین گردید. فولیکول‌ها براساس قطر به سه دسته کوچک (< 5 میلی‌متر)، متوسط (۵-۹/۹ میلی‌متر) و بزرگ (بیشتر از ۱۰ میلی‌متر) تقسیم‌بندی شدند. تشخیص آبستنی در روزهای ۳۸ تا ۴۲ بعد از تلقیح انجام گرفت. تعداد تلقیح به ازای آبستنی و اطلاعات مربوط به گاوهای واکل به طور دقیق ثبت گردید. میزان باروری تجمعی تا روز ۲۰۰ پس از زایش در بین ۳ گروه مورد مطالعه به ترتیب ۹۰/۵، ۶۱/۹ و ۶۱/۹ درصد بود همچنین تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۲، ۲/۸۴ و ۲/۸۹ بود. روزهای باز در تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۱۱۷/۱۵، ۱۳۰/۳۶ و ۱۳۲/۵ روز بود. اختلاف معنی دار از لحاظ نرخ آبستنی در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده گردید ($p < 0.05$). با توجه به نتایج این مطالعه افزایش در سطح پروتئین بالاتر از توصیه شورای تحقیقات ملی به علت بالا بردن میزان نیتروژن اوره ای خون و اثرات مضر آن روی سلامت رحم و کاهش باروری در زمان تنش گرمایی توصیه نمی‌شود.

واژگان کلیدی: استرس گرمایی- پروتئین خام- باروری.

مقدمه:

تنش گرمایی صنعت گاو شیری را متحمل خسارت اقتصادی می‌نماید. تحقیقات انجام شده در سال‌های اخیر حاکی از آن است که تنش گرمایی یکی از مهم‌ترین علل کاهش باروری در گله‌های گاو شیری می‌باشد. تنش گرمایی با ارزیابی شاخص رطوبتی حرارتی (THI) محاسبه می‌شود و بالاتر از عدد ۷۲ محدوده تنش گرمایی محسوب می‌شود (۳، ۸). تضعیف علائم فحلی (۴) کاهش دامنه ترشح غلیانی LH پیش از تخمک‌ریزی، کاهش ترشح پروژسترون از بافت جسم زرد اختلال در مراحل رشد و نمو فولیکول، کاهش رشد و نمو رویان و کاهش باروری نمونه‌هایی از اثرات سوء تنش گرمایی بر تولید مثل می‌باشند (۹). تنش

گرمایی با اعمال اثر بر تخمک، رویان و نامساعد کردن محیط داخل رحم برای رشد رویان منجر به از دست رفتن آبستنی می شود. در شرایط تنش گرمایی، خوراک مصرفی، تولید شیر و فعالیت فیزیکی کاهش می یابد. در این شرایط برای حفظ تولید، اقدامات تغذیه ای و مدیریتی متفاوتی انجام می گیرد. از جمله اقدامات تغذیه ای در این شرایط افزایش غلظت انرژی و پروتئین است (۵،۷) از طرف دیگر سال ها است که نقش زیان آور پروتئین خام بیش از نیاز بر روی کاهش باروری به اثبات رسیده است (۲) این اثر منفی بیش تر به دلیل افزایش نیتروژن اوره ای خون در مقادیر بیش تر از ۱۹ میلی گرم در دسی لیتر و اثر آن بر کاهش pH محیط رحم رخ می دهد. در پژوهشی (۶) با بررسی ارتباط نیتروژن اوره ای شیر با نا باروری در گله های شیری فلوریدا گزارش گردید که غلظت های بالای از (MUN) نیتروژن اوره ای شیر ممکن است دارای اثرات سینرژیست (هم افزایی) با اثرات منفی تنش حرارتی باشد که این امر به طور مستقیم اثرات منفی را بر روی عملکرد تولید مثلی به همراه داشته است. در برخی از پژوهش های انجام شده (۱) با کاهش پروتئین جیره و افزودن متیونین محافظت شده به جیره مقدار نیتروژن اوره ای شیر (MUN) کاهش می یابد و شاید چنین مکانیسمی به طور غیر مستقیم در بهبود فراسنجه های تولید مثلی نقش داشته باشد. فزون بر آن، تعدادی از محققان (۴) نشان دادند که گاوهای شیرده پر تولید با در نظر گرفتن مقادیر مناسب از پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه به پروتئین قابل تجزیه در شکمبه و همچنین منابع مناسبی از کربوهیدرات به بیش از ۶۰۰ تا ۶۵۰ گرم نیتروژن در روز (تقریباً معادل با ۱۶-۱۶/۵ درصد پروتئین خام) نیاز ندارند و هم چنین بازده استفاده از نیتروژن با کاهش مقدار نیتروژن در خوراک افزایش می یابد. با توجه به مطالب بیان شده، هدف از این آزمایش بررسی اثر کاهش سطح پروتئین خام همراه با افزایش سهم پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه و نسبت ایده آل در اسید آمینه های محدود کننده در شرایط تنش گرمایی روی باروری و فراسنجه های تولید مثلی می باشد.

مواد و روش ها:

این پژوهش در تابستان ۱۳۹۰ به مدت ۷۵ روز در یکی از واحدهای پرورش گاو شیری استان تهران انجام شد. ۶۳ راس گاو یک و چند بار زایش کرده با روزهای شیردهی 16.5 ± 7.1 پس از گذراندن دوره انتظار اختیاری و احراز سلامت تولید مثلی در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی استفاده گردید. گاوها براساس تولید شیر، شکم زایش و روزهای شیردهی به یکی از سه تیمار آزمایشی که دارای ۱۷/۵، ۱۶/۵ و ۱۸/۵ درصد پروتئین خام بودند به ترتیب به گروه ۱، ۲ و ۳ اختصاص داده شدند. کلیه گاوها تحت پروتکل همزمانی هیت سینک قرار گرفته و تلقیح شدند. جهت بررسی اثرات تیمارها روی دینامیسم فولیکولی تخمدان از دستگاه الکتروسونوگرافی مجهز به پروب راست روده ای با فرکانس ۷/۵ مگاهرتز استفاده گردید. اندازه و تعداد فولیکول ها در تخمدان های چپ و راست در دو نوبت در طی پروتکل تعیین گردید. فولیکول ها براساس قطر به سه دسته کوچک (< ۵ میلی متر)، متوسط (۵-۹/۹ میلی متر) و بزرگ (بیشتر از ۱۰ میلی متر) تقسیم بندی شدند. تشخیص آبستنی در روزهای ۳۸ تا ۴۲ بعد از تلقیح انجام گرفت. نمونه خون در روز ۷ تا ۹ بعد از تلقیح جهت اندازه گیری میزان پروژسترون خون از سیاهرگ دمی اخذ گردید. نمونه خون جهت اندازه گیری میزان نیتروژن اوره ای در آغاز و پایان آزمایش اخذ گردید. تعداد تلقیح به ازای آبستنی و اطلاعات مربوط به گاوهای واکل به طور دقیق ثبت گردید. دمای محیط و رطوبت نسبی از نزدیک ترین ایستگاه هواشناسی منطقه به صورت روزانه دریافت گردید. جهت آنالیز نرخ آبستنی در اولین تلقیح، نرخ آبستنی در اولین و دومین تلقیح و نرخ آبستنی تجمعی در ۲۰۰ روز پس از زایش بین تیمارها از مدل (Logistic regression model) استفاده گردید.

نتایج و بحث:

نتایج اثرات سطوح مختلف پروتئین روی شاخص های تولید مثلی در جدول ۱ نشان داده شده است.
جدول ۱- اثرات سطوح مختلف پروتئین روی شاخص های تولید مثلی.

P-value	SEM	جیره ها			
		۱۸/۵ درصد	۱۷/۵ درصد	۱۶/۵ درصد	
۰/۶۶	۵/۹۱	۱۳۲/۵۰	۱۳۰/۶۳	۱۱۷/۱۵	روزهای باز (روز)
۰/۹۲	۰/۲۰	۲/۸۹	۲/۸۴	۲	تعداد تلقیح به ازای آبستنی
۰/۳۳	۰/۴۴	۲۸/۵۷	۲۸/۵۷	۴۶/۶۱	نرخ آبستنی در اولین تلقیح (درصد)
۰/۸۱	۰/۴۷	۶۱/۹	۶۱/۹	۹۰/۵	نرخ آبستنی تجمعی تا ۲۰۰ روز پس از زایش (درصد)
۰/۸۲	۰/۲۷	۵/۰۲	۴/۸۴	۵/۰۵	تعداد فولیکول کوچک (۵ میلی متر <)
۰/۴۴	۰/۱۸	۱/۲۲	۱/۵۲	۱/۵	تعداد فولیکول متوسط (۵ تا ۹ میلی متر)
۰/۶۹	۰/۱۲	۱/۹۴	۱/۹۲	۱/۸	تعداد فولیکول بزرگ (۱۰ میلی متر >)
۰/۳۲	۰/۵۸	۱۷/۴۴	۱۸/۱۵	۱۶/۶۶	اندازه بزرگترین فولیکول (میلی متر)

با توجه به نتایج این مطالعه افزایش در سطح پروتئین بالاتر از توصیه شورای تحقیقات ملی به علت بالا بردن میزان نیتروژن اوره ای خون و اثرات مضر آن روی سلامت رحم و کاهش باروری در زمان تنش گرمایی توصیه نمی شود.

منابع:

1. Broderick, G. A., M. J. Stevenson, R. A. Patton, N. E. Lobos and J. J. Olmos Colmenero. 2008. Effect of supplementing rumen-protected methionine on production and nitrogen excretion in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 91:1092-1102.
2. Butler, W. R. 1998. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. J. Dairy Sci. 81:2533-2539.
3. De Rensis, F., R. Scaramuzzi. 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow. Theriogenology. 60:1139-1151.
4. Ipharraguerre, I. R. and Clark, J. H. 2005. Varying protein and starch in the diet of dairy cows.
5. Kadzere, C.T., M.R. Murphy, N. Silanikove and E. Maltz. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: a review. Livestock Prod. Sci. 77:59-91.
6. Melendez, P., A. Donovan, and J. Hernandez. 1999. Milk Urea Nitrogen and Infertility in Florida Holstein Cows. J Dairy Sci 83:459-463
7. West, J.W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. J. Dairy Sci. 86:2131-2144.

8. Wolfenson, D., Z.Roth, R. Meidan. 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspect. Anim. Reprod. Sci. 61:535-547.
9. Wolfenson, D., W. W.Thatcher, L.Bading, J.D. Savio, R. Meidan, and B. J .Lew. 1995. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. Biol. Reprod. 52:1106-1113.

Effects of decrease dietary protein content on the fertility of lactating dairy cows during heat stress

Vahid Gholami^{*1}, Hamid Amanlou², Mohamad hosein shahir³,
Hamidreza Mirzaei alamoti³, Gholamreza nori⁴

1- MSc Student, 2-Assistant Prof, 3- Associate Professor, 4- Ph.D Student, Dept. of animal Science of Zanzan University

* Corresponding E-mail address: vahid49455@yahoo.com

Abstract:

The aim of this research is study of the effects of decrease in dietary crude protein in heat stress on the reproduction performance of high producing lactating dairy cows. This study used 63 primiparous and multiparous Holstein dairy cows with average of 71 ± 16.5 days in milk based on randomized complete block design. Randomly, cows devoted to the one of three experimental rations(16.5,17.5,18.5% CP).all cows were inseminated using a protocol Heat-synch. ovarian structure defined by ultrasound twice in protocol. Data collected by ultrasound included the total number of follicles in each class size[class1(< 5 mm), class2 (5 to 9.9 mm), and class 3(> 10 mm)].pregnancy status determined by using rectal palpation at 38 to 42 d post AI. cumulative pregnancy rate was 90.5, 61.9 and 61.9 % for treatments 1,2 and 3 respectively. services per conception was 2, 2.84, 2.89 and days open 117.15, 130.63 and 132.5 d for treatments 1,2 and 3 respectively. In conclusion increase in the level of crude protein of diet above recommended NRC because increase blood urea nitrogen and harmful effects uterine health and decrease in fertility during heat stress not recommended.

Keywords: fertility - Crude protein- Heat stress.

تاثیر ال-کارنیتین بر زنده مانی و پارامترهای حرکتی اسپرم اپیدیدیمی قوچ در محیط آزمایشگاهی

مرتضی یآوری^{۱*}، ایرج امیری^۲، حمید الیاسی^۳

۱- عضو هیئت علمی دانشکده پرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا، ۲- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات اندومتر و اندومتریوزیس

دانشگاه علوم پزشکی ۳ - دانشجوی کارشناسی دانشگاه بوعلی سینا، همدان

* نویسنده مسئول: مرتضی یآوری، همدان، میدان فلسطین، دانشکده پرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا، کدپستی ۶۵۱۷۵-۴۱۶۱

Morteza.yavari@gmail.com

چکیده

در این مطالعه تاثیر غلظت/زمان ال-کارنیتین بر زنده مانی و پارامترهای حرکتی اسپرم اپیدیدیمی قوچ در محیط آزمایشگاهی بررسی شد. تعداد ۲۰ عدد بیضه از کشتارگاه تهیه و در کنار یخ آزمایشگاه منتقل شدند. قسمت دم اپی دیدیم ها در پتری دیش حاوی ۳ میلی لیتر بافر سیترات سدیم ۲/۹٪ قرار داده شدند. سپس بوسیله اسکالپل ۳ برش عمیق روی اپی دیدیم ایجاد شده و پس از ۵ دقیقه اپی دیدیم از محیط خارج و سوسپانسیون اسپرم جمع آوری گردید. سوسپانسیون اسپرم جمع آوری شده به ۴ گروه تقسیم شده و در دمای ۳۷ درجه با استفاده از یک رقیق کننده بر پایه بافر سیترات سدیم ۲/۹٪ حاوی به ترتیب ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی مولار ال کارنیتین رقیق سازی شدند تا به غلظت $10^{-4} \times 4$ اسپرم در هر میلی لیتر برسد. نمونه های اسپرم رقیق شده در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۹۰ دقیقه نگهداری شدند. پارامترهای حرکتی و زنده مانی اسپرم ها پس از ۴۵ و ۹۰ دقیقه انکوباسیون ارزیابی شد. مقایسه درصد اسپرم زنده متحرک، زنده غیرمتحرک و مرده در دوره های زمانی ۴۵ و ۹۰ دقیقه بیانگر عدم وجود اختلاف آماری معنی دار ($P > 0.05$) بین گروه های مورد مطالعه بود. بر اساس نتایج بدست آمده هیچیک از پارامترهای حرکتی بررسی شده تفاوت آماری معنی داری نشان ندادند ($P > 0.05$). آنالیز آماری نتایج درصد زنده مانی اسپرم ها پس از ۴۵ و ۹۰ دقیقه نگهداری از عدم وجود اختلاف آماری بین سه غلظت ال کارنیتین با گروه شاهد حکایت داشت ($P > 0.05$). یافته های مطالعه حاضر نشان داد که افزودن ال-کارنیتین به رقیق کننده اسپرم اپی دیدیمی قوچ تاثیر معنی داری روی پارامترهای حرکتی و زنده مانی در شرایط آزمایشگاهی ندارد، بنابراین بنظر می رسد ال-کارنیتین در قوچ نورمواسپرمیک بی تاثیر باشد. واژه های کلیدی: اسپرم، کارنیتین، پارامترهای حرکتی، زنده مانی، قوچ.

مقدمه

درمان های دارویی متعددی از جمله تجویز ال کارنیتین برای افزایش تعداد و تحرک اسپرم معرفی شده اند. کارنیتین در مواد غذایی وجود دارد و از اسید آمینه لیزین و متیونین مشتق می شود (۱، ۴). ال کارنیتین که در اپیدیدیم متمرکز شده سبب انتقال اسید های چرب به درون میتوکندری شده و در اکسیداسیون اسید های چرب به عنوان منبع اصلی انرژی اسپرم ها دخالت دارد (۴). کارنیتین سبب حفاظت غشای سلول در برابر صدمات ناشی از رادیکال های آزاد اکسیژن نیز می شود. ال-کارنیتین و استیل ال-کارنیتین بدلیل تاثیر در متابولیسم انرژی و نیز خاصیت آنتی اکسیدانی بر روی فعالیت متابولسمی و واکنش های تامین انرژی برای تحرک اسپرم تاثیر گذاشته و منجر به افزایش پارامترهای کیفی اسپرم از قبیل شاخص های حرکتی اسپرم و کاهش صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو و تولید گونه های واکنش پذیر اکسیژن پس از انجماد و ذوب می شوند که در موفقیت باروری و

تولیدمثل موثر است (۴). با توجه به تأثیر کارنیتین در متابولیسم سلولی و تأثیر آن بر تحرک اسپرم، این مطالعه با هدف بررسی اثر ال کارنیتین بر پارامترهای حرکتی و زنده مانی اسپرم در محیط آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش ها

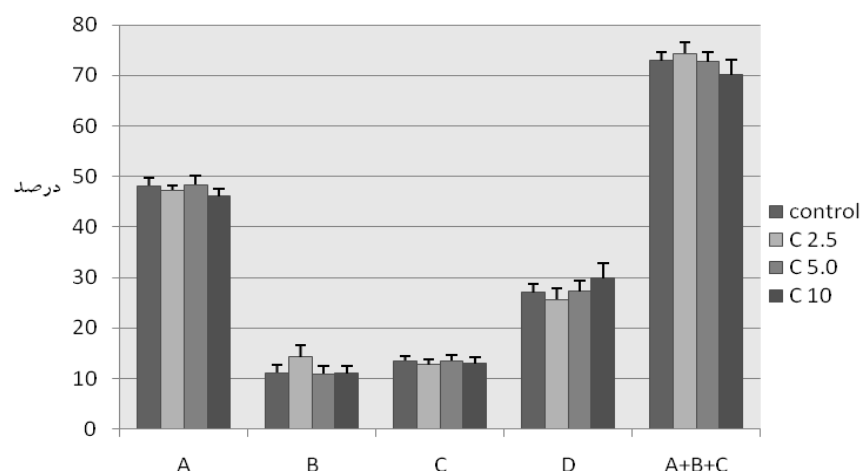
تعداد ۲۰ عدد بیضه از قوچ های به ظاهر سالم بالغ در کشتارگاه تهیه و در کنار یخ در کمترین زمان به آزمایشگاه منتقل شدند. قسمت دم اپی دیدیم ها پس از ضد عفونی با الکل و جداسازی عروق خونی سطحی با دقت از بیضه جدا شده و در پتری دیش حاوی ۳ میلی لیتر بافر سیترات سدیم ۲/۹٪ در دمای ۳۷ درجه قرار داده شدند. سپس بوسیله اسکالپل در ناحیه بدون عروق خونی ۳ برش عمیق روی اپی دیدیم ایجاد شده و پس از ۵ دقیقه اپی دیدیم از محیط خارج و سوسپانسیون اسپرم جمع آوری گردید. تمام نمونه ها با استفاده از نرم افزار کاسا ارزیابی شد و نمونه های با حرکت پیشرونده بالای ۶۰٪ در آزمایش استفاده شدند. سوسپانسیون اسپرم جمع آوری شده به ۴ گروه تقسیم شده و با استفاده از یک رقیق کننده بر پایه بافر سیترات سدیم ۲/۹٪ حاوی به ترتیب ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی مولار ال کارنیتین رقیق سازی شدند تا به غلظت 4×10^8 اسپرم در هر میلی لیتر برسد. نمونه های اسپرم رقیق شده داخل میکروتیوب ۱/۵ سی سی در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۹۰ دقیقه نگهداری شدند. پارامترهای حرکتی با استفاده از نرم افزار کاسا و زنده مانی اسپرم ها با استفاده از رنگ آمیزی اتوزین-نگروزین پس از ۴۵ و ۹۰ دقیقه انکوباسیون ارزیابی شده و با نمونه کنترل مقایسه گردید. برای مطالعه تحرک اسپرم چهار کلاس به صورت حرکت پیشرونده سریع (A)، حرکت پیشرونده کند (B)، حرکت غیر پیشرونده (C) و بدون حرکت (D) در نظر گرفته شد. نتایج بدست آمده در هر گروه به کمک نرم افزار آماری SPSS و با روش آماری آزمون آنوای یک طرفه با سطح اطمینان $P < 0.05$ با یکدیگر از نظر آماری مقایسه و تجزیه و تحلیل شد.

نتایج و بحث

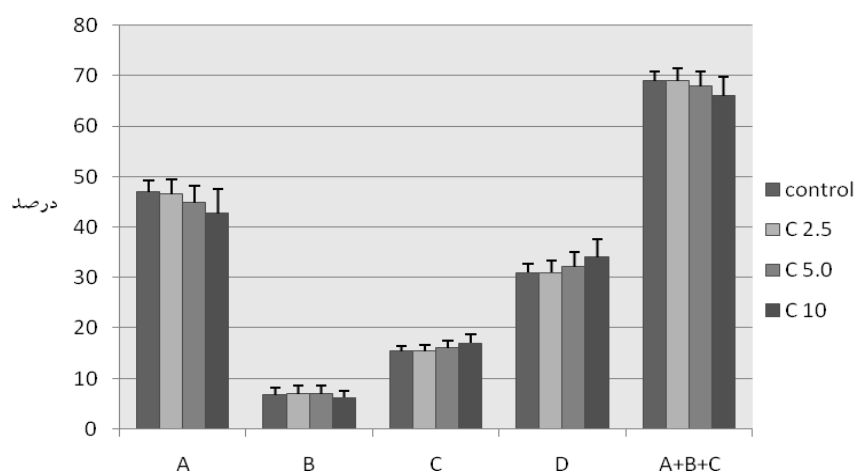
در این مطالعه مقایسه درصد اسپرم زنده متحرک، زنده غیرمتحرک و مرده در دوره های زمانی ۴۵ و ۹۰ دقیقه بیانگر عدم وجود اختلاف آماری معنی دار ($P > 0.05$) بین گروه های مورد مطالعه بود (نمودار شماره ۱ و ۲). نتایج تأثیر ال کارنیتین بر پارامترهای حرکتی اسپرم در جدول شماره یک نشان داده شده است. بر اساس نتایج بدست آمده هیچیک از پارامترهای حرکتی بررسی شده تفاوت آماری معنی داری نشان ندادند ($P > 0.05$). نتایج درصد زنده مانی اسپرم ها پس از ۴۵ و ۹۰ دقیقه نگهداری در ۳۷ درجه در جدول شماره ۲ ارائه شده است، آنالیز آماری از عدم وجود اختلاف آماری بین سه غلظت ال کارنیتین با گروه شاهد حکایت داشت ($P > 0.05$).

در مطالعه‌ی علی آبادی و همکاران (۲۰۱۲) استفاده از ال کارنیتین و استیل کارنیتین در محیط آزمایشگاهی به نمونه اسپرم بیضه ای موش باعث بهبود حرکت و کیفیت کروماتین اسپرم شده است. آنها این تأثیر را تقلید از شرایط طبیعی تولید اسپرم در طی مرحله نهایی اسپرماتوزن می دانند. در پستانداران ال کارنیتین از پلاسمای خون گرفته شده و به اپی دیدیم و سپس اسپرم انتقال می یابد و به دو صورت آزاد و استیل شده ذخیره می گردد. شروع حرکت اسپرم به موازات افزایش ال کارنیتین در لومن اپی دیدیم اتفاق می افتد. اختلاف نظر هایی در مورد قسمتی از اپیدیدیم که افزایش غلظت ال کارنیتین مایع منی در آن اتفاق می افتد وجود دارد (۴). در انسان منشا ال کارنیتین احتمالاً از قسمت آمپولار و در قوچ از قسمت انتهایی اپی دیدیم است (۴). تأثیر ال- کارنیتین خوراکی بر بافت بیضه، پارامترهای اسپرم و تولید روزانه اسپرم موش سوری بالغ بررسی شده است (۳). یافته های

این مطالعه نشان داد که تجویز خوراکی ال-کارنیتین به موش های دارای اسپرماتوژنیز طبیعی تاثیر معنی داری روی سیستم تولید مثل ندارد. ال کارنیتین خوراکی در مردان نابارور مبتلا به آستنوزواسپرمی افزایش تحرک اسپرم و فعالیت آنزیم هیدروپراکسد گلو تاتیون پراکسیداز را بدنال داشته است (۳). همچنین مصرف مکمل کارنیتین در افراد سیگاری و غیر سیگاری مبتلا به اشکال غیرطبیعی اسپرم موثر و کارآمد ارزیابی شده است (۵). یافته های مطالعه حاضر نشان داد که افزودن ال-کارنیتین به رقیق کننده اسپرم اپی دیدیمی قوچ تاثیر معنی داری روی پارامترهای حرکتی و زنده مانی در شرایط آزمایشگاهی ندارد، بنابراین به نظر می رسد که ال-کارنیتین در قوچ نورمواسپرمیک بی تاثیر باشد.



نمودار ۱: میانگین $\pm$ انحراف معیار داده های حرکتی اسپرم در غلظت های مختلف ال کارنیتین پس از ۴۵ دقیقه انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه



نمودار ۲: میانگین $\pm$ انحراف معیار داده های حرکتی اسپرم در غلظت های مختلف ال کارنیتین پس از ۹۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه

جدول ۱: میانگین $\pm$ انحراف معیار پارامترهای حرکتی اسپرم در غلظت های مختلف ال کارنیتین

زمان	غلظت کارنیتین	VAP	VSL	VCL	ALH	BCF	STR	LIN
۴۵ دقیقه	0	9.6 $\pm$ 0.4	9.0 $\pm$ 0.6	24.5 $\pm$ 1.9	0.5 $\pm$ 0.04	7.6 $\pm$ 0.1	94.7 $\pm$ 0.8	48.7 $\pm$ 1.9
	2.5	9.7 $\pm$ 0.7	10.0 $\pm$ 1.5	28.2 $\pm$ 4.4	0.6 $\pm$ 0.05	7.6 $\pm$ 0.2	93.8 $\pm$ 0.7	47.1 $\pm$ 1.0
	5.0	11.0 $\pm$ 1.7	8.5 $\pm$ 0.4	23.0 $\pm$ 1.3	0.5 $\pm$ 0.02	7.5 $\pm$ 0.09	93.8 $\pm$ 0.9	48.5 $\pm$ 1.5
	10	9.3 $\pm$ 0.4	8.9 $\pm$ 0.4	24.2 $\pm$ 1.4	0.5 $\pm$ 0.02	7.5 $\pm$ 0.04	94.8 $\pm$ 0.9	48.2 $\pm$ 0.8
۹۰ دقیقه	0	10.8 $\pm$ 0.5	9.4 $\pm$ 0.7	29.9 $\pm$ 2.1	0.6 $\pm$ 0.02	8.0 $\pm$ 0.2	88.3 $\pm$ 4.0	34.7 $\pm$ 3.5
	2.5	10.3 $\pm$ 0.8	9.3 $\pm$ 0.7	25.6 $\pm$ 2.4	0.5 $\pm$ 0.05	7.7 $\pm$ 0.2	91.2 $\pm$ 2.0	40.9 $\pm$ 2.5
	5.0	10.7 $\pm$ 1.3	9.6 $\pm$ 1.2	29.3 $\pm$ 4.7	0.6 $\pm$ 0.07	7.8 $\pm$ 0.1	90.4 $\pm$ 1.6	36.3 $\pm$ 2.8
	10	11.1 $\pm$ 0.5	10.0 $\pm$ 0.4	28.5 $\pm$ 1.7	0.6 $\pm$ 0.03	7.8 $\pm$ 0.1	90.6 $\pm$ 1.6	39.4 $\pm$ 1.8

جدول ۲: میانگین $\pm$ انحراف معیار درصد زنده مانی اسپرم ها در غلظت های مختلف ال کارنیتین

زمان	گروه شاهد	کارنیتین (میلی مولار)		
		۱۰	۵	۲,۵
۴۵ دقیقه		84.8 $\pm$ 2.1	86.3 $\pm$ 3.4	83.7 $\pm$ 5.4
۹۰ دقیقه		83.9 $\pm$ 3.8	85.2 $\pm$ 1.9	79.5 $\pm$ 4.0

منابع

۱. زارع ز، ایمانی، ح، محمدی، م، مفید، م، دشت نورد، ح. تاثیر ال- کارنیتین خوراکی بر بافت بیضه، پارامترهای اسپرم و تولید روزانه اسپرم موش سوری بالغ. فصلنامه پزشکی یاخته، شماره ۴۴، ۱۳۸۸.
2. Aliabad, E., Mehranjani, M.S., Borzoei, Z., Talaie-Khozani, T., Mirkhani, H., Tabesh, H., 2012. Effects of L-carnitine and L-acetyl-carnitine on testicular sperm motility and chromatin quality. Iranian Journal of Reproductive Medicine 10, 77-82.
3. Garolla, A., Maiorino, M., Roverato, A., Roveri, A., Ursini, F., Foresta, C., 2005. Oral carnitine supplementation increases sperm motility in asthenozoospermic men with normal sperm phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase levels. Fertil Steril 83, 355-361.
4. Jeulin, C. and L. Lewin, Role of free L-carnitine and acetyl-L-carnitine in post-gonadal maturation of mammalian spermatozoa. Human Reproduction Update, 1996. 2(2): p. 87-102.

5. Khademi, A., Alleyassin, A., Safdarian, L., Hamed, E.A., Rabiee, E., Haghanezhad, H. 2005. The effects of L-carnitine on sperm parameters in smoker and non-smoker patients with idiopathic sperm abnormalities. *J Assist Reprod Genet* 22, 395-399.
6. Wang, Y.X., Yang, S.W., Qu, C.B., Huo, H.X., Li, W., Li, J.D., Chang, X.L., Cai, G.Z. 2010. L-carnitine: safe and effective for asthenozoospermia. *National journal of andrology* 16, 420-422.

Effect of L-carnitine on ram epididymal sperm viability and motility in vitro

Morteza Yavari^{1*}, Iraj Amiri², Hamid Elyasi¹

¹Department of Veterinary Medicine, Faculty of Paraveterinary Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan,

Iran, ²Endometr and Endometriosis Research center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.

*Corresponding E-mail address: Morteza.yavari@gmail.com

Abstract

This study investigated concentration/time dependent effects of L-carnitine on motion parameters and viability of epididymal ram sperm in vitro. Testes used for this study were collected from twenty rams just after slaughter in the abattoir and transported to the laboratory. Each cauda epididymidis was transferred into the 35 mm Petri dish containing 3 ml of 2.9% sodium citrate buffer. Several longitudinal incisions were made by means of a scalpel blade on the distal end of the cauda and sperm suspensions were obtained after 5 min incubation. After incubation of epididymal sperm samples for 45 and 90 min in the presence of L- carnitine (2.5, 5.0 and 10 mM), motion parameters by computer-aided sperm analysis and sperm viability by eosin-nigrosin staining were evaluated. Comparing the percentage of motile alive, immotile alive and immotile sperm in periods 45 and 90 minutes showed no statistically significant differences ($P > 0.05$) between studied groups. Based on the results, none of the studied motion parameters showed statistically significant differences ($P > 0.05$). Statistical analysis of results of percentage of sperm viability after 45 and 90 min incubation showed no significant differences between groups. The findings of this study indicated that addition of L-carnitine to ram epididymal sperm has no significant effect on the viability and motility sperm parameters in vitro; therefore, it seems that L-carnitine in normospermic rams may be ineffective.

Keywords: Sperm, Carnitine, Motility parameters, Viability, Ram.

اثر سطوح مختلف لستین سویا در رقیق کننده ی منی بر کیفیت اسپرم قوچ بعد از فرآیند انجماد- ذوب

مجتبی امام وردی^{۱*}، مهدی ژندی^۲، احمد زارع شهنه^۳، محسن شرفی^۴، ابوذر نجفی^۱

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

^۲ استادیار فیزیولوژی دام، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

^۳ استاد فیزیولوژی دام، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

^۴ دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی دام، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

* مسئول مکاتبات: emamverdi@ut.ac.ir

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی سطوح مختلف لستین سویا در رقیق کننده منی بر فراسنجه‌های کیفیت اسپرم قوچ بعد از فرآیند انجماد-ذوب بود. در این آزمایش، هفت انزال از هر چهار قوچ بالغ نژاد زندی در طول فصل تولید مثلی جمع آوری و سپس با هم مخلوط شدند. منی مخلوط شده به شش قسمت مساوی تقسیم و با رقیق کننده‌های بر پایه تریس حاوی زرده تخم مرغ (۲۰ درصد (حجمی/حجمی) زرده) و سطوح مختلف لستین سویا (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ درصد (وزنی/حجمی) لستین سویا رقیق شدند، به طوریکه غلظت نهایی اسپرم به ۲۰۰ میلیون در هر میلی لیتر برسد. بعد از سرد سازی و تعادل به مدت ۲ ساعت در دمای ۵ درجه سانتیگراد، منی رقیق شده در پایوت‌های ۰/۲۵ بسته بندی و در بخار نیتروژن مایع برای ۱۲ دقیقه منجمد و سپس به داخل نیتروژن مایع ریخته و در آن ذخیره شدند، تا زمانیکه ذوب و برای ارزیابی پارامترهای اسپرم استفاده شوند. جنبایی و فراسنجه‌های مرتبط با جنبایی اسپرم، درصد اسپرم ناهنجار، یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم و زنده‌مانی اسپرم، بعد از فرآیند انجماد-ذوب ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که میانگین درصد جنبایی کل و پیش رونده، یکپارچگی غشای پلاسمایی و زنده‌مانی اسپرم در رقیق کننده‌ی منی دارای ۱/۵ درصد لستین سویا، به طور معنی‌داری بالاتر از سایر رقیق کننده‌های دارای سطوح مختلف لستین سویا و ۲۰ درصد زرده تخم مرغ بودند. کلیه‌ی پارامترهای حرکتی ارزیابی شده‌ی اسپرم به وسیله‌ی سیستم آنالیز کامپیوتری (CASA) به استثنای LIN، بین رقیق کننده‌های مختلف معنی‌دار بودند ($P < 0/05$). بنابراین نتایج نشان داد که ۱/۵ درصد لستین سویا در رقیق کننده‌ی منی، انجمادپذیری اسپرم قوچ را بهبود داده و توانایی بیشتری در محافظت کیفیت اسپرم در طی فرآیند انجماد و ذوب را داشته است و در نتیجه می‌تواند به عنوان جایگزین زرده تخم مرغ، در حفظ انجمادی منی قوچ استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: منی قوچ- رقیق کننده- حفظ انجمادی- لستین سویا- تحرک- یکپارچگی غشاء

مقدمه

در طول سال‌های اخیر، ابداع و توسعه‌ی انواع رقیق کننده‌های منی برای انجماد اسپرم و در نتیجه افزایش راندمان و موفقیت تلقیح مصنوعی گسترش زیادی پیدا کرده است. لذا محققین مطالعات گسترده‌ای برای تولید مواد و رقیق کننده‌هایی که بتوانند باعث حفظ انجمادی اسپرم شوند انجام دادند. ترکیبات موجود در رقیق کننده‌ها باید بتوانند اسپرم را نسبت به شرایط متغیر بوجود آمده حفاظت نموده و حتی الامکان دچار صدمات کمتری کنند (۱). زرده تخم مرغ جزء معمول تشکیل دهنده‌ی محیط‌های انجماد است و با عمل بر غشاء سلولی، اسپرم را در برابر شوک سرما محافظت می‌کند. به علت مشکلات رقیق کننده‌های با منشاء

حیوانی (مثل زرده تخم مرغ) از قبیل آلودگی‌های میکروبی و انتقال بیماری، تغییرات زیاد در ترکیبات آن‌ها، دشواری مشاهدات میکروسکوپی و ظرفیت دارشدن زود هنگام اسپرم‌ها (۷)، تمایل به حذف زرده تخم مرغ و یا در کل حذف منابع حیوانی از محیط‌های انجماد وجود دارد. تحقیقات مختلف نشان داده که بخش مؤثر زرده تخم مرغ، بخش لیوپروتئین‌های با چگالی پایین (LDL) می‌باشد که به طور عمده حاوی لسیتین (فسفاتیدیل کولین) است (۵). این موضوع سبب شده است که برخی از محققین، استفاده از منابع گیاهی همچون لسیتین سویا را در محیط‌های انجماد اسپرم پیشنهاد نمایند (۲، ۳، ۴ و ۶). اما در هیچ یک از این مطالعات سطوح مختلف لسیتین سویا در رقیق کننده منی به ویژه در قوچ و هم چنین اثر آن بر اغلب فراسنجه‌های مهم کیفیت اسپرم، به طور کامل بررسی نشده است. از این رو هدف این مطالعه، بررسی سطوح مختلف لسیتین سویا در رقیق کننده منی، بر فراسنجه‌های کیفیت اسپرم قوچ بعد از فرآیند انجماد-ذوب بود.

مواد و روش‌ها

هفت انزال از هر چهار قوچ بالغ نژاد زندی (۳ تا ۵ ساله) با استفاده از واژن مصنوعی، دوبار در هفته در طول فصل تولید مثلی جمع آوری شد. بلافاصله بعد از جمع آوری و ارزیابی اولیه منی، انزال‌های جمع آوری شده مخلوط شده و برای آزمایش استفاده شدند. یک رقیق کننده بر پایه‌ی تریس (حاوی تریس، فروکتوز، اسید سیتریک و گلیسرول) به عنوان رقیق کننده پایه منی استفاده شد. شش رقیق کننده مختلف با اضافه کردن سطوح مختلف لسیتین سویا (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ درصد (حجمی/ وزنی) لسیتین) و زرده تخم مرغ (۲۰ درصد (حجمی/حجمی) به رقیق کننده پایه منی، آماده شد (۳). منی رقیق شده به تدریج تا ۵ درجه سانتیگراد برای مدت ۲ ساعت سرد شد و سپس به داخل پایوت‌های ۰/۲۵ میلی‌لیتری کشیده شد. پایوت‌ها بلافاصله در فاصله‌ی ۵ سانتی‌متری بخار نیتروژن مایع به مدت ۱۲ دقیقه قرار داده شدند و سپس به داخل نیتروژن مایع غوطه‌ور و تا زمان ذوب ذخیره شدند. برای ارزیابی فراسنجه‌های مرتبط با جنبایی اسپرم از سیستم CASA، برای ارزیابی زنده‌مانی اسپرم از رنگ-آمیزی ائوزین-نیگروزین (۸)، برای ارزیابی یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم از تست محلول هایپواسموتیک هاست (۹) و از محلول هانکوک برای ارزیابی ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم استفاده شد (۱۰). کلیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و رویه‌ی GLM، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۷ تکرار آنالیز بیان شدند.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که جنبایی کل و پیش‌رونده، یکپارچگی غشای پلاسمایی و زنده‌مانی اسپرم در رقیق کننده‌ی منی دارای ۱/۵ درصد لسیتین سویا، به طور معنی‌داری بالاتر از سایر رقیق کننده‌های دارای سطوح مختلف لسیتین سویا و ۲۰ درصد زرده تخم مرغ بود و همچنین ناهنجاری‌های کل اسپرم نیز برای این تیمار، به طور معنی‌داری پایین تر از سایر تیمارها بود. نتایج مطالعات ما نشان داد که ۱/۵ درصد لسیتین سویا در رقیق کننده‌ی منی، انجمادپذیری اسپرم قوچ را بهبود داده و توانایی بیشتری در محافظت کیفیت اسپرم در طی فرآیند انجماد و ذوب را داشته است. آیرس و همکاران نشان دادند که اسپرم‌های موجود در نمونه منی رقیق شده به‌وسیله‌ی لسیتین سویا، دارای تحرک بالاتری در مقایسه با اسپرم‌های موجود در نمونه منی رقیق شده به‌وسیله‌ی زرده تخم مرغ بود. همچنین فراسنجه‌های آزمایشگاهی مانند حالت آکروزومی، زنده‌مانی و ظرفیت اتصال به زوناپلوسیدا در بین دو گروه تفاوت معنی داری نداشت (۲). رد و همکاران مطالعه‌ای روی جایگزینی زرده‌ی تخم مرغ با لسیتین سویا برای انجماد اسپرم انسان انجام دادند. آن‌ها از ۱٪ لسیتین سویا در محیط رقیق کننده استفاده کردند و نتایج آن‌ها نشان داد که اختلاف معنی-داری در مورفولوژی و سلامت اسپرم بعد از انجماد بین این دو رقیق کننده وجود ندارد (۶). فروزانفر و همکاران در مطالعه‌ای



روی انجماد اسپرم قوچ با جایگزینی زرده تخم مرغ با لسیتین سویا گزارش کردند که ۱٪ لسیتین سویا می‌تواند جایگزین زرده تخم مرغ در رقیق کننده‌ی منی قوچ شود (۳). پاپا و همکاران اثر جایگزینی لسیتین سویا با زرده تخم مرغ در رقیق کننده‌ی مورد استفاده برای انجماد اسپرم اسب را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که لسیتین سویا می‌تواند کارآمدتر از زرده تخم مرغ در انجماد اسپرم اسب سانان باشد (۵). در نتیجه، با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه، رقیق کننده‌ی دارای ۱ درصد لسیتین سویا می‌تواند به عنوان یک جایگزین زرده تخم مرغ و رقیق کننده‌ی دارای ۱/۵ درصد لسیتین سویا می‌تواند کارآمدتر و بهتر از زرده تخم مرغ در حفظ انجمادی منی قوچ با توانایی بالای حفظ کیفیت اسپرم در طول فرآیندهای انجماد و ذوب استفاده شود. جدول ۱. میانگین حداقل مربعات فراسنجه‌های ارزیابی شده اسپرم قوچ در رقیق کننده‌های منی بعد از فرآیند انجماد-ذوب

	رقیق کننده					پارامترها	
	SE	EY	L _{2.5}	L ₂	L _{1.5}	L ₁	L _{0.5}
تحرك كل (%)	۱/۰۱	۴۸/۴۳ ^b	۳۵/۴۳ ^{cd}	۳۹/۵۷ ^c	۵۴/۴۳ ^a	۴۷/۱۴ ^b	۳۴/۶۸ ^d
تحرك پیش رونده (%)	۰/۷	۲۰/۸۶ ^b	۱۶/۲۹ ^d	۱۹/۸۶ ^{bc}	۲۵/۴۳ ^a	۲۱/۷۱ ^b	۱۷ ^{cd}
VAP ^۱ (μm/s)	۱/۱۸	۸۲/۴۷ ^b	۸۰/۳۴ ^b	۸۴/۷ ^b	۹۷/۹۷ ^a	۹۷/۵۴ ^a	۸۳/۴۹ ^b
VSL ^۲ (μm/s)	۱/۰۷	۵۵/۶۳ ^c	۵۸/۲۷ ^c	۵۸/۵۶ ^c	۷۴/۹۷ ^a	۷۱/۶۴ ^a	۶۳/۷۱ ^b
VCL ^۳ (μm/s)	۱/۲۸	۱۴۰/۲۷ ^d	۱۴۱/۳۹ ^d	۱۴۳/۱۱ ^d	۱۷۶/۷ ^a	۱۷۰/۷۴ ^b	۱۵۲/۸۳ ^c
ALH ^۴ (μm)	۰/۲۲	۷/۷۹ ^b	۷/۸۳ ^b	۷/۸۹ ^b	۸/۸۷ ^a	۸/۶۷ ^{ab}	۷/۹۶ ^{ab}
BCF ^۵ (هرتز)	۰/۶۱	۲۷/۲۶ ^{bc}	۲۵/۰۶ ^{cd}	۲۴/۵۷ ^d	۲۹/۹۷ ^a	۲۷/۸۳ ^{ab}	۲۷/۹۹ ^{ab}
STR ^۶ (%)	۱/۳۲	۶۷/۵۷ ^c	۷۲/۱۴ ^{abc}	۶۹/۱۴ ^{bc}	۷۴/۷۱ ^{ab}	۷۳/۴۳ ^{ab}	۷۶/۱۴ ^a
LIN ^۷ (%)	۰/۷۵	۳۹/۵۷	۴۱/۲۹	۴۰/۷۱	۴۲/۱۴	۴۱/۸۶	۴۱/۵۷
یکپارچگی غشای پلاسمایی (%)	۱/۰۶	۴۳/۴۳ ^b	۳۳/۲۹ ^c	۳۵/۸۶ ^c	۴۸/۸۶ ^a	۴۱/۱۴ ^b	۳۲/۷۱ ^c
زنده‌مانی (%)	۱/۱۹	۵۲/۱۴ ^b	۴۳/۵۷ ^{cd}	۴۵/۱۴ ^c	۵۹/۱۴ ^a	۵۰/۲۹ ^b	۳۹/۷۱ ^d
ناهنجاری کل (%)	۰/۳۹	۲۳/۸۷ ^b	۲۷/۹۱ ^a	۲۴/۴۷ ^b	۱۹/۵۳ ^d	۲۲/۰۱ ^c	۲۳/۵۱ ^{bc}

^۱ میانگین سرعت در مسیر منحنی الخط بر حسب میکرومتر بر ثانیه، ^۲ سرعت مستقیم الخط اسپرم‌ها بر حسب میکرومتر بر ثانیه، ^۳ سرعت واقعی اسپرم‌ها در مسیر واقعی طی شده بر حسب میکرومتر بر ثانیه، ^۴ حداکثر دامنه حرکات جانبی بر حسب میکرومتر، ^۵ فرکانس حرکات جانبی بر حسب هرتز، ^۶ معیار مستقیم الخط بودن بر حسب درصد و برابر نسبت سرعت VSL به سرعت VAP، ^۷ معیار خطی بودن حرکت بر حسب درصد و برابر نسبت سرعت VSL به سرعت VCL

منابع

- Holt, W.V. 2000. Basic aspect of frozen storage of semen. Animal Reproduction Science. 62:3-22.
- Aires, V.A., Hinsch, K.D., Mueller-Schloesser, F., Bogner, K., Mueller-Schloesser, S. and Hinsch, E. 2003. In vitro and in vivo comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. Theriogenology. 60: 269-27.

16. Forouzanfar, M., Sharafi, M., Hosseini, S.M., Ostadhosseini, S., Hajian, M., Hosseini, L., Abedi, P., Nili, N., Rahmani, H.R. and Nasr-Esfahani, M.H. 2010. In vitro comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of ram semen. *Theriogenology*. 73: 480-487.
17. Papa, F.O. Felicio, G.B., Melo, C.M., Alvarenga, M.A., Vita, B. De-Avanzi, B.R. and Dell-Aqua Jr, J.A. 2010. Effect of substituting soybean lecithin for egg yolk in an extender used for the cryopreservation of stallion semen. *Animal Reproduction Science*. 1215: 5171-5172.
18. Bergeron, A., Crete, M.H., Brindle, Y. and Manjunath, P. 2004. Low-density lipoprotein fraction from hen's egg yolk decreases the binding of the major proteins of bovine seminal plasma to sperm and prevents lipid efflux from the sperm membrane. *Biology of Reproduction*. 70: 708-717.
19. Reed, M.L., Ezech, P.C., Hamic, A., Thompson, D.J. and Caperton, C.L. 2009. Soy lecithin replaces egg yolk for cryopreservation of human sperm without adversely affecting post thaw motility, morphology, sperm DNA integrity, or sperm binding to hyaluronate. *Fertility and Sterility*. 92: 1787-1790.
20. Vera-Munoz, O., Amirat-Briand, L., Diaz, T., Vasquez, L., Schmidt, E., Desherces, S., Anton, M., Bencharif, D. and Tainturier, D. 2009. Effect of semen dilution to low-sperm number per dose on motility and functionality of cryopreserved bovine spermatozoa using low-density lipoproteins (LDL) extender: comparison to Triladyl and Bioexcell. *Theriogenology*. 71: 895-900.
21. Lu JC, Huang YF, Lu NQ. 2010. [WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen: its applicability to andrology laboratories in China]. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 16: 867-871.
22. Revell G, Marode RA. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Animal Reproduction Science*. 36:77-86.
23. Schafer S, Holzmann A. 2000. The use of transmigration and spermac stain to evaluate epididymal cat spermatozoa. *Animal Reproduction Science*. 59: 201-211.

Effect of different levels of soybean lecithin in semen extender on ram sperm quality after freeze-thawing process

Mojtaba Emamverdi ^{1*}, Mahdi Zhandi ², Ahmad Zare Shahneh ³, Mohsen Sharafi ⁴, Abozar Najafi ¹

¹ Masc. student of animal physiology, Agriculture and Natural Resources, University of Tehran

² Assistant Professor of animal physiology, Agriculture and Natural Resources, University of Tehran

³ Professor of animal physiology, Agriculture and Natural Resources, University of Tehran

⁴ PhD student of animal physiology, Agriculture and Natural Resources, University of Tehran

* Corresponding E-mail address: emamverdi@ut.ac.ir

Abstract

The objective of the present study was to investigate the effect of different levels of soybean lecithin in semen extender on ram sperm quality after freeze-thawing process. In this experiment, seven ejaculates collected from each 4 Zandi rams in breeding season and were pooled together. The pooled semen was split into six equal aliquots and diluted with different levels of Tris-soybean lecithin (L_{0/5}, 0.5% (w/v) lecithin; L₁, 1% (w/v) lecithin; L_{1.5}, 1.5% (w/v) lecithin; L₂, 2% (w/v) lecithin; L_{2.5}, 2.5% (w/v) lecithin) and Tris-egg yolk (E20, 20% (v/v) egg yolk)

extenders to a final concentration of 200×10^6 spermatozoa/ml. After cooling and equilibration at 5°C , the diluted semen was packaged into 0.25 ml straws and frozen in liquid nitrogen vapor for 12 min and then plunged into liquid nitrogen (LN2), and stored in LN2 until thawed and used for evaluation of sperm parameters. The sperm motility and moving characteristics, percentage of abnormal sperm, plasma membrane intact sperm, and sperm viability were determined after freeze-thawing process. Results of our investigation indicated that Sperm total and progressive motility, plasma membrane integrity and viability in the semen extender containing 1.5% soybean lecithin ($L_{1.5}$) were significantly ($P < 0.05$) higher than other concentrations of soybean lecithin and 20% egg yolk (E20) and also total abnormalities was significantly ($P < 0.05$) lower than other extenders. The computer assisted motion characteristics of sperm (CASA) were significantly ($P < 0.05$) different between the extenders, except for LIN (linearity). The results suggest that 1.5% soybean lecithin ($L_{1.5}$) in semen extender improves the freezability of ram sperm and had more ability to preserve sperm quality during the freezing and thawing process. In conclusion, it can be used as an alternate to egg yolk and better than it in cryopreservation of ram semen.

Keywords: ram semen- extender- cryopreservation- soybean lecithin- motility- membrane integrity

بررسی اثر سیدر وهورمون PMSG بر صفات تولید مثلی گوسفند کردی خارج از فصل تولید مثل

هادی اسلامی مقدم، اسماعیل فاضلی کیا و رضا اشکانی فر

ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند کردی شیروان

نویسنده مسئول: اسماعیل فاضلی کیا ekhash@gmail.com

چکیده:

به منظور بررسی اثر مدت زمان سیدر وهورمون PMSG بر راندمان تولید مثل گوسفندان کردی تعداد ۶۰ راس میش نژاد کردی ۲ تا ۵ سال که دارای بره و شیروار بودند در ۳ گروه ۲۰ راسی تحت مطالعه قرار گرفتند در اواسط فروردین ماه ۹۰ به سه گروه سیدر تلقیح شد و سیدرها به مدت ۱۰، ۱۱ و ۱۲ روز در مهبل میش ها باقی ماند و پس از زمان های یاد شده از بدن آنها خارج گردید و با تزریق ۴۰۰ واحد بین المللی هورمون PMSG با قوچ های نژاد کردی همراه شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. زایش در گروه اول، دوم و سوم به ترتیب ۶۵، ۲۰ و ۲۵ درصد بود که تفاوت بین گروه اول (۱۰ روز) با دو گروه دیگر معنی دار بود ($p < 0/05$). تفاوت بین وزن تولد بره ها ی دوقلو گروه اول با دو گروه دیگر تفاوت معنی دار داشت ($p < 0/05$). استفاده از سیدر به مدت ۱۰ روز و هورمون PMSG روی زایش خارج از فصل نسبت به دو گروه دیگر با راندمان بالایی همراه بود.

کلمات کلیدی: سیدر- هورمون PMSG- نژاد کردی.

مقدمه:

امروزه دانش استفاده از هورمون ها در کنترل فعالیت تولید مثل، توجه زیاد به روش های دارد که در آنها، آزاد شدن هورمون به کندی انجام می شود زیرا تامین میزان هورمون در بدن مشابه حالت طبیعی آن بوده و تاثیر آن نیز بیشتر است (۱) چون فعالیت دستگاه تولید مثل دام ها تحت تاثیر هورمون ها می باشد می توان با استفاده از هورمون های سنتتیک، فرایند تولید مثل را کنترل کرده و در کوتاه مدت از ظرفیت تولید مثل آنها حداکثر استفاده شود.

استفاده از ترکیبات پروژسترونی طبیعی یا مصنوعی داخل مهبل همراه با گنادوتروپین ها برای جفت گیری میش ها ابتدا به وسیله رایبسون توصیف شد و سپس بطور وسیعی در گله های تحقیقاتی تجاری مورد استفاده قرار گرفت (۵)

یکی از روش های که طی آن پروژسترون به آرامی جذب بافت مخاطی می گردد شیاف های داخل مهبل نظیر سیدر CIDR است این روش در نیوزلند و سایر کشورهای جهان به دفعات در گوسفند بکار رفته است (۴) سیدر از سیلیکون قابل ارتجاع که حاوی پروژسترون با یک نخ نایلونی است تشکیل شده است و به هنگام خارج کردن آن ترشحات چرکی که در استفاده از اسفنج دیده می شود همراه نیست (۴)

افزایش تولید تخمک با استفاده از هورمون ها، یک روش مناسب برای استفاده از ظرفیت بالقوه تولید مثل است زیرا تخمدان یک گوسفند ماده در زمان تولد دارای چند صد هزار اووسیت است و اگر در طول عمر خود نیز ۲۵ نوبت زایش نماید کمتر از یک هشت هزارم آن ها گاهش می یابد (۲) فعالیت تولید مثل در حالت طبیعی توسط دو هورمون تنظیم می شود ابتدا هورمون تحریک فولیکول (FSH) سبب رشد سریع فولیکول در ۴-۵ روز قبل از تخمک گذاری می شود، سپس هورمون بازدارنده ۳ توسط فولیکول رشد کرده تولید و از ترشح FSH جلوگیری می کند. در حیوانات چند قلو زا میزان کمتری هورمون بازدارنده تولید می شود و در هر نوبت تعداد زیادی فولیکول بطور همزمان رشد کرده و تخمک تولید می نماید. افزایش تولید تخمک در گوسفند با کنترل نمودن این فرایند طبیعی ترشح هورمون ها از طریق تزریق هورمون هایی نظیر هورمون PMSG انجام می شود.

هدف از اجرای این آزمایش فحل شدن و تخمک گذاری میش ها در خارج از فصل آمیزش ، امکان افزایش دو قلو زایی و فراهم کردن استفاده از تلقیح مصنوعی جهت بهبود ژنتیکی گله ، و اجرای برنامه دو بار زایش در سال می باشد.

مواد و روش ها:

این طرح در ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند کردی حسین آباد شیروان وابسته به جهاد کشاورزی شیروان بر روی میش های نژاد کردی انجام گرفت. تعداد ۶۰ راس میش نژاد کردی ۲ تا ۵ سال مورد مطالعه قرار گرفت این میش ها بره داشته و شیروار بودند و گوسفندان مورد مطالعه در آغل نگهداری می شدند و در بهار و تابستان به چراگاه برده می شوند در زمان اجرای طرح روز ها در چراگاه اطراف و شب ها با جیره دستی یکنواخت تغذیه می شدند.

میش ها بطور تصادفی به سه گروه تقسیم و برای همزمان نمودن فحلی به مدت ۱۰، ۱۱ و ۱۲ روز سیدر در داخل مهبل قرار داده شد و پس از پایان روز های یادشده به هر گروه هورمون PMSG به میزان ۴۰۰ واحد بین المللی بصورت عضلانی تزریق شد و سپس با قوچ های موجود در ایستگاه همراه شدند . تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از برنامه آماری sas انجام شد.

نتایج و بحث:

براساس نتایج بدست آمده از این تحقیق از ۲۰ راس گوسفند کردی موجود در گروه ۱۰ روز تیمار شده با سیدر ۶۵ در صد زایش داشتند که از نظر آماری اختلاف معنی داری با دو گروه دیگر ۱۱ و ۱۲ روز تیمار با سیدر داشت که این امر نشان دهنده آن است که اثر سیدر بر القا و همزمان سازی فحلی در گوسفند کردی در فصل غیر تولید مثلی موثر می باشد با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق به نظر می رسد راندمان تولید مثلی این نژاد در خارج از فصل تولید مثل بالا باشد. وزن تولد در بره های نر ، ماده و تک قلو در سه گروه مورد آزمایش با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشتند فقط بره های دو قلو گروه اول (۱۰ روز) با دو گروه دیگر تفاوت معنی داری داشت.

متغیر مورد مطالعه	گروه اول (۱۰ روز)	گروه دوم (۱۱ روز)	گروه سوم (۱۲ روز)
تعداد (راس)	۲۰	۲۰	۲۰
زایش (درصد)	۶۵ (a)	۲۰ (b)	۲۵ (b)
تعداد بره های تک قلو	۱۲	۲	۴
تعداد بره های دو قلو	۲	۴	۲
بره دهی (درصد)	۱۰۱	۱۵۰	۱۲۰
تیپ تولد			
تک قلو	4.5±0.7	4.7±0.45	4.7±0.61
دو قلو	2.15±0.48	4.05±0.46	3.4±0.14
جنس			
نر	4.5±0.7	4.7±0.65	4.9±0.65
ماده	3.9±0.9	4.05±0.46	3.9±0.45

جدول میانگین حداقل مربعات و انحراف معیار متغیر های مورد مطالعه

نتایج یک تحقیق که بر روی میش های نژاد آواسی در ماه مارس در سوریه نشان می دهد که ۸۲ درصد از میش ها علایم فحلی در ۳۶-۴۸ ساعت پس از خارج نمودن اسفنج آغشته به پروژسترون نشان دادند(۵). تحقیقی که بر روی میش های نژاد سنجابی در فصل غیر تولید مثلی انجام گرفت نشان داد که استفاده از سیدر در بروز فحلی در فصل غیر تولید مثلی به مدت ۱۰، ۱۲ و ۱۴ روز با بروز فحلی مناسب همراه می باشد و استفاده از GNRH در گروه های درمانی تاثیر مناسبی در باروری دارد(۱). تحقیقی که بر روی گوسفندان کردی در فصل جفت گیری انجام گرفت نشان داد که استفاده از سیدر و دوز ۶۰۰ واحد هورمون PMSG در گروه تیمار شده در مقایسه با شاهد بر روی نرخ باروری و درصد دو قلوزایی بطور معنی داری تاثیر گذار می باشد و نتایج کلی نشان داد که استفاده از تیمار پروژسترون همراه با تزریق PMSG می تواند در افزایش سطح تولید مثل در گوسفندان کردی موثر باشد (۲).

توسعه گیرنده های گنآدوتروپین تحت تاثیر غلظت موضعی هورمون های استروئیدی است استرادیول حساسیت سلول های گرانولوزا را به FSH افزایش می دهد و این دو (استروژن و FSH) باعث افزایش حساسیت گیرنده های LH به هورمون می شود بنابراین تزریق GNRH و همراه کردن قوچ با گله از طریق هورمون های گنآدوتروپین سبب افزایش تخمک گذاری می شود(۳).

منابع:

- ۱ - مموی، م. ۱۳۸۸. بررسی اثر سیدر بر القا و همزمان سازی فحلی و میزان باروری میش های نژاد سنجابی در فصل غیر تولید مثلی. مجله دامپزشکی شماره ۱.
- ۲ - نصرتی، م. ۱۳۸۹. اثر تیمار پروژسترون و سطوح مختلف هورمون PMSG بر پارامترهای تولید مثلی گوسفند کردی در فصل جفت گیری. چهارمین کنگره علوم دامی.

- 3- MacDonald H.F. and Crawley G.P. (1978). The effect of progesterone impregnated sponges on fertility in anestrus ewes. Veterinary Science
- 4- Communications. 2:115-130. Robinson T.J. (1982). The time of ovulation and efficiency of fertilization following progesterone and PMSG treatment in the cycle ewe. Journal of Agricultural Science. 57:129-135.

5-Thomason. E. F, Bahhady, F. A., 1988. A note on the effect of liveweight at mating on fertility of Awassi ewes in semi arid North West Syria. Anim. Prod, 47: 505-508

Effect of CIDR and PMSG on reproduction trait in kordi breed during out of breeding season
Hadi eslamimoghadam, esmaeel fazelikia , reza ashkanifar
Kori breeding station in shirvan ekhash@gmail.com

Summary

In this study 60 ewes with 2-5 years old were divided into 3 groups. In order to synchronize estrous group 1 treated for 10 days, group 2 treated for 11 days and group 3 treated for 12 days with CIDR. followed 400 IU PMSG were injected to ewes of all groups Then rams kordi breed were introduced to all groups. The percentage of parturition was 65, 20 and 25 in group 1, 2 and 3 respectively and differences were significant ($p < 0.05$). The birth weight of twin born lambs in



group 1 were significant ($P<0.05$). The result of this study indicated that using treated for 10 days CIDR caused the percentage of parturition increased.

Keyword: PMSG, CIDR, kordi breed,

اثر مقادیر مختلف زرده تخم مرغ در پوشش دار کردن اسپرم قوچ تالشی طی نگهداری در دمای محیط

محمد روستائی علی مهر^۱، رسول معتمدی مژدهی^۲ و رضا رجبی توستانی^{۳*}

۱- استادیار گروه علوم دامی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، ۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه

گیلان

* نویسنده مسئول: رضا رجبی توستانی، E-mail: Rezarajabi.t@gmail.com

چکیده

این آزمایش با استفاده از چهار رأس قوچ نژاد تالشی با میانگین وزن ۵۰ کیلوگرم و سن ۳-۵ سال در فصل تولیدمثل انجام شد. جهت تهیه اسپرم پوشش دار شده، انزال دوم هر قوچ درون لوله حاوی ۱ میلی لیتر بافر پوشش دهنده (تریس- فرکتوز) دارای ۱۰، ۱۵ یا ۲۰ درصد زرده تخم مرغ با استفاده از مهبل مصنوعی جمع آوری شد. نمونه ها به آزمایشگاه منتقل شده و پس از ارزیابی اولیه جمع شدند. نمونه های تجمیع شده در دمای محیط سانتیفریژ و مایع رویی (مایع منی) آن حذف شد. اسپرم حاصل از سانتیفریژ به چهار بخش تقسیم و با رقیق کننده تریس- گلوکز محتوی زرده تخم مرغ برابر با غلظت آن در بافر پوشش دهنده، رقیق شد. تحرک پیش رونده و سلامت غشای پلاسمایی (آزمایش تورم هایپواسموتیک) نمونه ها بلافاصله پس رقیق سازی و پس از ۱۲، ۲۴ و ۳۶ ساعت ذخیره سازی در دمای محیط (۲۳-۲۱ درجه سانتی گراد) ارزیابی شد. نتایج نشان داد اسپرم پوشش دار شده با ۲۰ درصد زرده تخم مرغ پس از ۳۶ ساعت کمترین تحرک پیش رونده را داشت ($P < 0/05$). سلامت غشای پلاسمایی اسپرم تیمارها تا ۲۴ ساعت بعد از ذخیره سازی تفاوتی را نشان نداد ($P > 0/05$). پس از ۳۶ ساعت سلامت غشای پلاسمایی اسپرم پوشش دار شده با ۲۰ درصد زرده تخم مرغ به طور معنی داری بیشتر از اسپرم پوشش دار شده با ۱۰ درصد زرده تخم مرغ بود ($P < 0/05$). بنابراین جهت حفظ اسپرم پوشش دار شده در دمای محیط استفاده از ۱۵ درصد زرده تخم مرغ مفید است.

واژگان کلیدی: زرده تخم مرغ- دمای محیط- اسپرم پوشش دار شده- قوچ تالشی

مقدمه

تاکنون مطالعات زیادی در زمینه بهبود باروری با استفاده از منی منجمد در گوسفند انجام شده ولی نتایج رضایت بخشی به دست نیامده است. هم اکنون کاربرد منی منجمد در تلقیح مصنوعی گوسفند تنها زمانی با نتایج قابل قبول همراه است که تلقیح به صورت داخل رحمی با لاپاروسکوپ انجام شود که خود نیازمند افراد متخصص و صرف هزینه و وقت زیاد است (۶). علاوه بر این مشکل باروری کم حاصل از تلقیح منی قوچ نگهداری شده به صورت مایع در دمای ۵ درجه سانتی گراد نیز هنوز رفع نشده است (۶). منی تازه رقیق شده در دمای محیط می تواند جایگزین منی سرد و یا منجمد قوچ شود (۵). در شرایط کنونی ایران که گله داری به صورت سنتی است و به علت عدم وجود قوچ برتر در تمام گله ها و همچنین به دلیل نبود مراکز اصلاح نژاد گوسفند در اغلب استان های کشور، برای تلقیح مصنوعی متمرکز تمام گله ها استفاده از منی قوچ نگهداری شده در دمای محیط (۲۳-۲۱ درجه سانتی گراد) می تواند بسیار مناسب باشد. بدین ترتیب می توان به راحتی از منی قوچ مناسب یک گله برای تلقیح چند گله دیگر حداقل طی یک روز استفاده نمود.



ترکیب رقیق کننده، دما و سایر شرایط نگهداری بر توانایی باروری اسپرم اثر می‌گذارند. از طرف دیگر تولید رادیکال‌های آزاد بیشتر در دمای محیط به دلیل سرعت واکنش‌های اکسیداتیو، مدت ذخیره‌سازی اسپرم را کوتاه می‌کند (۱۱). اثر مایع منی بر اسپرم نسبتاً مبهم و تا حدی متناقض است. مایع منی محیطی را برای تحرک اسپرم فراهم می‌کند، در ظرفیت‌پذیری نقش دارد (۱۰) و دارای فعالیت ضدباکتری زیادی نیز است (۹). پروتئین‌هایی که اثر ضدباکتری دارند می‌توانند با مهار تحرک اسپرم اثرات مضر بر باروری داشته باشند و نیز باعث ایجاد نقص در ظرفیت‌پذیری، واکنش آکروزومی و نفوذ اسپرم به تخمک شوند (۸). پپتیدهای کاتیونی (با وزن مولکولی کمتر از ۵ کیلودالتون) مایع منی بازیابی تحرک و زنده‌مانی اسپرم قوچ را پس از یخ‌گشایی (۷) و تحرک اسپرم گاو نگهداری شده در دمای محیط را کاهش می‌دهند (۱). بنابراین اثرات مضر اجزای مایع منی به خصوص پپتیدهای کاتیونی نقش مهمی در نگهداری اسپرم در دمای محیط دارند. برای کاهش مدت زمان مجاورت مایع منی و آسیب‌های ناشی از آن می‌توان از روش پوشش‌دار کردن اسپرم‌ها با رقیق کننده‌های حاوی زرده تخم مرغ استفاده کرد (۲).

این پژوهش به منظور بررسی اثر پوشش‌دار کردن اسپرم قوچ تالشی با سطوح مختلف زرده تخم مرغ طی نگهداری در دمای محیط انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان با استفاده از ۴ رأس قوچ نژاد تالشی با میانگین وزن ۵۰ کیلوگرم و سن ۳-۵ سال انجام شد. نمونه‌های منی با استفاده از مهبل مصنوعی دو بار در هفته و در فصل تولیدمثل جمع‌آوری شدند. جهت تهیه اسپرم پوشش‌دار شده، انزال دوم هر قوچ درون لوله حاوی ۱ میلی‌لیتر بافر پوشش دهنده (تریس ۳/۲۵۹ گرم تریس- (هیدروکسی متیل)-آمینومتان، ۱/۸۷۰ گرم سیتریک اسید مونوهیدرات، ۰/۹۳۷ گرم فروکتوز، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی پنی‌سیلین جی و ۱۰۰ میلی‌گرم استرپتومایسین سولفات در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) دارای ۱۰، ۱۵ یا ۲۰ درصد زرده تخم مرغ با استفاده از مهبل مصنوعی جمع‌آوری شد. علت استفاده از انزال دوم، وجود مایع منی کمتر در آن بود. برای بررسی هر سطح از زرده تخم مرغ، از هر ۴ قوچ به صورت جداگانه ۴ بار منی جمع‌آوری شد. در این تحقیق در مجموع ۴۸ انزال (دوم) مورد بررسی قرار گرفت. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه و ارزیابی اولیه، نمونه‌های با تحرک بیشتر از ۷۰ درصد و غلظت بیشتر از $2/5 \times 10^9$ اسپرم در هر میلی‌لیتر تجمع شدند و با سرعت $720 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط سانتریفیوژ و مایع رویی (مایع منی) آن حذف شد. اسپرم حاصل از مرحله سانتریفیوژ به چهار بخش تقسیم و با رقیق کننده تریس (۳/۶۳۴ گرم تریس- (هیدروکسی متیل)-آمینومتان، ۱/۹۹۶ گرم سیتریک اسید مونوهیدرات، ۰/۵۰۴ گرم گلوکز، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی پنی‌سیلین جی و ۱۰۰ میلی‌گرم استرپتومایسین سولفات در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) محتوی زرده تخم مرغ برابر با غلظت استفاده شده در محلول پوشش دهنده، تا غلظت 600×10^6 سلول در هر میلی‌لیتر رقیق شد. نمونه‌های رقیق شده به مدت ۳۶ ساعت در دمای محیط (۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. تحرک پیش‌رونده و سلامت غشای پلاسمایی نمونه‌ها بلافاصله پس از رقیق‌سازی و نیز پس از ۱۲، ۲۴ و ۳۶ ساعت نگهداری در این دما ارزیابی شد.

ارزیابی تحرک نمونه‌ها با استفاده از لام با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و میکروسکوپ اختلاف فاز با بزرگنمایی $\times 400$ انجام شد. برای بررسی سلامت غشای پلاسمایی، ۵ میکرولیتر منی با ۵۰۰ میکرولیتر از محلول هایپواسموتیک (۰/۷۳۵ گرم سترات سدیم و ۱/۳۵۱ گرم فروکتوز در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، $pH=7$) مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه



سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس ۲۰۰ عدد اسپرم زیر میکروسکوپ اختلاف فاز با بزرگنمایی $\times 400$ بررسی و تعداد اسپرم‌های دارای دم متورم ثبت شد.

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۴ تکرار و به صورت داده‌های تکرار شده در زمان انجام شد. جهت تجزیه داده‌ها از رویه GLM نرم‌افزار SAS و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که پس از ۱۲، ۲۴ و ۳۶ ساعت نگهداری نمونه‌ها در دمای محیط، اسپرم پوشش‌دار شده با ۲۰ درصد زرده تخم‌مرغ کمترین تحرک پیش‌رونده را داشت ($P < 0.05$; جدول ۱). زرده تخم‌مرغ از ۶۸ درصد لیوپروتئین با چگالی پایین، ۱۶ درصد لیوپروتئین با چگالی بالا، ۱۰ درصد لیوتین و ۴ درصد فسفوتین تشکیل شده است (۳). وجود لیوپروتئین زیاد در رقیق‌کننده به عنوان ماده اولیه واکنش‌های اکسیداسیونی عمل می‌کند و باعث افزایش پراکسیداسیون و آسیب به اسپرم می‌شود (۱۱).

تفاوتی در سلامت غشای پلاسمایی تیمارها تا ۲۴ ساعت نگهداری در دمای محیط مشاهده نشد ($P > 0.05$) اما پس از ۳۶ ساعت سلامت غشای پلاسمایی اسپرم پوشش‌دار شده با ۲۰ درصد زرده تخم‌مرغ به طور معنی‌داری بیشتر از اسپرم پوشش‌دار شده با ۱۰ درصد زرده تخم‌مرغ بود ($P < 0.05$; جدول ۱). پروتئین‌های موجود در مایع منی سبب خروج کلاسترول از غشای اسپرم شده و بدین ترتیب استحکام غشای پلاسمایی اسپرم را کاهش می‌دهند، از طرفی حضور مایع منی برای انجام واکنش آکروزومی و ظرفیت‌پذیری اسپرم ضروری به نظر می‌رسد (۴). وجود لیوپروتئین‌های با چگالی پایین در زرده تخم‌مرغ موجب کاهش جریان خروجی فسفولیپیدها و کلاسترول از سطح غشای پلاسمایی اسپرم می‌شود و از ظرفیت‌پذیری و واکنش آکروزومی زودهنگام جلوگیری می‌کند (۱۳). در واقع فسفولیپیدها و لیوپروتئین‌های با چگالی پایین زرده تخم‌مرغ با ترکیبات مضر مایع منی یعنی پپتیدهای کاتیونی (با وزن مولکولی کمتر از ۵ کیلوالتون) برای ایجاد پیوند با غشای اسپرم رقابت کرده و بنابراین از اسپرم محافظت می‌کنند (۱۲). مشخص شده است تحرک، زنده‌مانی و سایر خصوصیات منی قوچ نگهداری شده در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای محیط کمتر تحت تاثیر قرار می‌گیرد. همچنین بهترین نتایج ذخیره‌سازی منی قوچ در دمای محیط با استفاده از رقیق‌کننده تریس به دست آمده است (۵).

بنابراین استفاده از ۱۵ درصد زرده تخم‌مرغ جهت عمل‌آوری و حفظ اسپرم پوشش‌دار شده قوچ در دمای محیط مفید است.

جدول ۱- تحرک پیش‌رونده و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ پوشش‌دار شده با سطوح مختلف زرده تخم‌مرغ ($\text{Means} \pm \text{SE}$).

تخم‌مرغ (درصد)	تحرک پیش‌رونده				سلامت غشای پلاسمایی			
	زمان ذخیره‌سازی در دمای محیط (ساعت)				زمان ذخیره‌سازی در دمای محیط (ساعت)			
	صفر	۱۲	۲۴	۳۶	صفر	۱۲	۲۴	۳۶
۱۰	$84/4 \pm 1/6^a$	$70/6 \pm 2/3^a$	$48/8 \pm 3/3^a$	$17/5 \pm 3/2^a$	$84/7 \pm 1/1^a$	$70/8 \pm 2/4^a$	$52/4 \pm 3/7^a$	$33/1 \pm 2/6^b$
۱۵	$86/0 \pm 1/3^a$	$72/0 \pm 2/2^a$	$42/0 \pm 3/7^a$	$16/0 \pm 1/6^a$	$84/1 \pm 1/0^a$	$71/7 \pm 2/6^a$	$53/3 \pm 2/4^a$	$38/0 \pm 2/4^{ab}$
۲۰	$85/4 \pm 1/4^a$	$48/5 \pm 3/6^b$	$10/8 \pm 1/8^b$	$0/8 \pm 0/8^b$	$87/2 \pm 1/5^a$	$77/5 \pm 1/2^a$	$60/5 \pm 3/9^a$	$42/8 \pm 4/3^a$

^{ab} حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است ($P < 0.05$).

منابع

1. Al-Somai, N., R. Vishwanath, P. Shannon, P.C. Molan. 1994. Low molecular weight components in bovine semen diffusate and their effects on motility of bull sperm. *Reproduction, Fertility and Development*, 6: 165-171.
2. De Pauw, I.M.C., A. Van Soom, D. Maes, S. Verberckmoes, A. de Kruif. 2003. Effect of sperm coating on survival and penetrating ability of in vitro stored bovine spermatozoa. *Theriogenology*, 59: 1109-1122.
3. Guilmineau, F., I. Krause, U. Kulozik. 2005. Efficient analysis of egg yolk proteins and their thermal sensitivity using sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis under reducing and nonreducing conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 9329-9336.
4. Heise, A., W. Kähn, D.H. Volkmann, P.N. Thompson, D. Gerber. 2010. Influence of seminal plasma on fertility of fresh and frozen-thawed stallion epididymal spermatozoa. *Animal Reproduction Science*, 118: 48-53.
5. Paulenz, H., L. Söderquist, R. Pérez-Pé, K.A. Berg. 2002. Effect of different extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. *Theriogenology*, 57: 823-836.
6. Salamon, S., W.M.C. Maxwell. 2000. Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*, 62: 77-111.
7. Schmehl, M.K., S.P. Anderson, I.A. Vazquez, E.F. Graham. 1986. The effect of dialysis of extended ram semen prior to freezing on post thaw survival and fertility. *Cryobiology*, 23: 406-414.
8. Shivaji, S., P.M. Bhargava. 1987. Antifertility factors of mammalian seminal fluid. *BioEssays*, 7: 13-17.
9. Theil, R., K.H. Scheit. 1983. Purification and spectral characterisation of seminal plasmin, an antimicrobial protein from bull semen. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie*, 364: 1003-1009.
10. Varisli, O., C. Uguz, C. Agca, Y. Agca. 2009. Motility and acrosomal integrity comparisons between electro-ejaculated and epididymal ram sperm after exposure to a range of anisotonic solutions, cryoprotective agents and low temperatures. *Animal Reproduction Science*, 110: 256-268.
11. Vishwanath, R., P. Shannon. 1997. Do sperm cells age? A review of the physiological changes in sperm during storage at ambient temperature. *Reproduction, Fertility and Development*, 9: 321-231.
12. Vishwanath, R., P. Shannon, B. Curson. 1992. Cationic extracts of egg yolk and their effects on motility, survival and fertilizing ability of bull sperm. *Animal Reproduction Science*, 29: 185-194.
13. Witte, T.S., S. Schafer-Somi. 2007. Involvement of cholesterol, calcium and progesterone in the induction of capacitation and acrosome reaction of mammalian spermatozoa. *Animal Reproduction Science*, 102: 181-193.

Effect of different levels of egg yolk on coating of Taleshi ram spermatozoa during storage at ambient temperature

Roostaei Ali Mehr, M.¹, R. Motamedi-Mojdehi² and R. Rajabi-Toustani^{2*}

1- Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

2- M.Sc. graduated student of Animal Physiology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

* Corresponding E-mail address: Rezarajabi.t@gmail.com

Abstract

Experiment conducted by four Taleshi rams with an average weight of 50 kg and 3 to 5 years old during the breeding season. To prepare coated spermatozoa the second ejaculate was collected by artificial vagina in a tube containing 1 ml of coating buffer (Tris- fructose) supplemented with 10, 15 or 20% egg yolk. The samples were transferred to laboratory and pooled after initial evaluation. Pooled samples were centrifuged at room temperature to remove supernatant (seminal plasma). The sperm pellet was split into four fractions and diluted with Tris- glucose diluent containing equal concentration of egg yolk in coating buffer. Progressive motility and functional membrane integrity (Hypo-osmotic swelling test) were evaluated immediately after dilution, 12, 24 and 36 h storage at ambient temperature (21-23 °C). The results indicated that coated spermatozoa with 20% egg yolk had the lowest progressive motility ($P<0.05$). Functional membrane integrity of treatments hasn't shown significant difference until 24 h after storage ($P>0.05$). Functional membrane integrity in coated spermatozoa with 20% egg yolk significantly was higher than coated spermatozoa by 10% egg yolk ($P<0.05$). In conclusion, to preserve coated spermatozoa in ambient temperature using 15% egg yolk is useful.

Keywords: Egg yolk- Ambient temperature- Coated spermatozoa- Taleshi ram

عملکرد تولیدمثلی میش‌های قره‌گل استان فارس پس از همزمان‌سازی فحلی با استفاده از هورمون‌های تاریخ گذشته

مجید هاشمی^{*}، محمدرضا هاشمی^۱، حسین نوراللهی^۱، بهمن ایلامی^۱، امان‌اله صلح‌جو^۱، محمد صالحی دیندارلو^۲

۱- مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه زابل

* نویسنده مسئول: پست الکترونیکی Hashemi@farsagres.ir

چکیده

همزمان‌سازی فحلی و متمرکز ساختن زایش‌ها در مدت زمان محدود و معین این امکان را ایجاد می‌کند که زمان دقیق زایش بر اساس فصل مطلوب از نظر بازاریابی گوشت، کاهش تلفات، جلوگیری از کاهش وزن بدن میش و سهولت تامین خوراک تعیین شود. هزینه‌های زیاد برنامه‌های همزمانی فحلی یکی از مشکلات استفاده از آن می‌باشد. در این پژوهش پاسخ فحلی و نرخ زایش میش‌های قره‌گل استان فارس پس از همزمان‌سازی فحلی با استفاده از هورمون‌های تاریخ گذشته با نتایج حاصل از مصرف هورمون‌های تاریخ‌دار مورد مقایسه قرار گرفت. تیمارهای مورد آزمایش شامل همزمان‌سازی فحلی با استفاده از سیدر تاریخ گذشته به همراه eCG تاریخ‌دار، استفاده از سیدر تاریخ‌دار به همراه eCG تاریخ‌دار و استفاده از سیدر تاریخ گذشته به همراه eCG تاریخ گذشته بود. سیدرها پس از ۱۴ روز از واژن خارج شده و eCG هم‌زمان با کشیدن سیدر، به مقدار ۲۰۰ واحد بین‌الملل در داخل ماهیچه ران تزریق شد. زمان شروع فحلی، طول دوره فحلی، تاریخ زایش و تعداد بچه زاییده شده توسط هر راس میش پس از انجام قوچ اندازی، فحلی‌یابی و زایش میش‌ها در هر گروه ثبت شد. پس از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، مشخص شد که درصد فحلی، نرخ زایش و نرخ دوقلو‌زایی در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشتند. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که به‌منظور کاهش هزینه‌ها و جلوگیری از خسارت‌های اقتصادی در برنامه‌های همزمان‌سازی فحلی در گوسفند، می‌توان از سیدر و eCG تاریخ گذشته بدون تاثیر در پاسخ فحلی و زایش استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: عملکرد تولیدمثلی - همزمان‌سازی فحلی - هورمون تاریخ گذشته - میش قره‌گل - استان فارس

مقدمه

با توجه به وسعت و پهناور بودن استان فارس و به‌دلیل برخورداری از تنوع آب و هوایی، از زمان‌های گذشته تاکنون پرورش گوسفند در تمام مناطق استان فارس وجود داشته است. پراکندگی زایش به‌دلیل وجود دائمی قوچ در گله، همزمان بودن بیشتر زایش‌ها با فصل سرما و کمبود مواد غذایی، بالا بودن نرخ تلفات بچه در گله، پایین بودن وزن تولد بچه و کاهش وضعیت بدنی مادر بدلیل عدم استفاده از تغذیه تکمیلی و تخریب مراتع بدلیل جمعیت زیاد گوسفند و بز از دشواری‌های موجود در پرورش گوسفند در استان است. همزمان‌سازی فحلی و متمرکز ساختن زایش‌ها در مدت زمان محدود و معین این امکان را ایجاد می‌کند که زمان دقیق زایش بر اساس فصل مطلوب از جهت بازاریابی گوشت، کاهش تلفات، جلوگیری از کاهش وزن بدن میش و سهولت تامین خوراک تعیین شود. اما وجود هزینه‌ها در اجرای این برنامه یکی از مشکلات آن می‌باشد. به‌منظور کاهش هزینه‌ها،

برخی راهکارها همچون استفاده از سیدر مورد تحقیق قرار گرفته و نتایج موید آن بوده که نرخ فحلی و آبستنی با استفاده از مجدد از سیدر کاهش می‌یابد (۵ و ۶). در برخی موارد دامداران هورمون‌های مورد نیاز را بیش از مقدار لازم تهیه کرده که با نگهداری طولانی مدت آن، تاریخ مصرف آن‌ها منقضی می‌شود که سبب زیان به دامدار می‌شود. در بعضی موارد نیز هورمون‌های تاریخ گذشته به مبلغ ارزان‌تری به دامداران پیشنهاد می‌شود که در صورت داشتن کارائی لازم می‌تواند به نفع دامدار باشد. به‌منظور کاهش هزینه‌ها، استفاده از سیدرهای تاریخ گذشته به‌عنوان یک راه‌کار می‌تواند مورد بررسی قرار گیرد. از آنجا که تاکنون بر روی کارائی هورمون‌هایی تاریخ گذشته و تاثیر آن بر راندمان زایش گوسفند تحقیقی انجام نشده است، در این پژوهش پاسخ فحلی و نرخ زایش میش‌های قره‌گل استان فارس پس از همزمان سازی فحلی با استفاده از هورمون‌های تاریخ گذشته با نتایج حاصل از مصرف هورمون‌های تاریخ‌دار مورد مقایسه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش با استفاده از ۶۰ راس میش کبوده که حداقل یک شکم زایش داشتند، در شهرستان فسا و در فصل تولید مثلی انجام شد. پیش از شروع آزمایش میش‌ها از نظر ظاهری و مشکلات خاص تولیدمثلی مورد معاینه قرار گرفتند. واکسن‌های لازم و داروهای ضد انگل معمول برای آن‌ها تجویز شد. برای از بین بردن اثر سن میش در آزمایش ابتدا تمامی دام‌های مورد آزمایش به گروه‌های سنی مختلف تقسیم و سپس از تمام گروه‌های سنی به‌تصادف، ۲۰ راس دام به هر یک از ۳ گروه مورد آزمایش اختصاص داده شد به‌طوری که میانگین سنی تمامی گروه‌ها تقریباً یکسان شد. برای همزمان سازی فحلی میش‌ها از سیدر (CIDR, inter Ag, New Zealand) و هورمون eCG (Chronogest PMSG, Intervet, Holland) استفاده شد. تیمارهای مورد آزمایش شامل همزمان‌سازی فحلی با استفاده از سیدر تاریخ گذشته به‌همراه eCG تاریخ‌دار، استفاده از سیدر تاریخ‌دار به‌همراه eCG تاریخ‌دار و استفاده از سیدر تاریخ گذشته به‌همراه eCG تاریخ گذشته بود. از تاریخ مصرف حک شده بر روی جعبه سیدر و eCG تاریخ گذشته مورد استفاده در این آزمایش ۶ سال گذشته بود. از تاریخ برای جاگذاری سیدر در داخل واژن از اپلیکاتور مخصوص استفاده شد و پس از هر بار استفاده کاملاً شسته و ضدعفونی می‌شد. سیدرها پس از ۱۴ روز خارج شده و eCG هم‌زمان با کشیدن سیدر، به مقدار ۲۰۰ واحد بین‌الملل در داخل ماهیچه ران تزریق شد. قوچ اندازی با استفاده از ۳ راس قوچ با توان جنسی بالا برای هر گروه از یک روز بعد از کشیدن سیدر انجام شد و فحلیابی به مدت ۴ روز ادامه یافت. در هر روز میش‌ها صبح و عصر به مدت ۲ ساعت مورد مشاهده قرار گرفتند. به منظور حذف اثر قوچ، دام‌های نر بصورت چرخشی در تمام گروه‌ها استفاده شدند. وقایعی همچون بروز فحلی، ساعت شروع فحلی و ساعت خاتمه فحلی توسط افراد فحلی‌یاب ثبت گردید. متأسفانه بدلیل وجود برخی مشکلات، زمان‌های ثبت شده در تیمار ۳ از دست رفت. درصد فحلی با استفاده از آزمون کای اسکور و ساعت شروع فحلی و طول مدت فحلی با استفاده از آزمون تی و با نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج و بحث

تعداد (درصد) میش‌های فحل آمده، زایش کرده و دوقلو زاییده و میانگین و انحراف معیار زمان شروع فحلی و طول مدت فحلی در تیمارهای مختلف آزمایشی به ترتیب در جدول‌های شماره ۱ و ۲ ارائه شده است. همان‌طور که از اعداد جدول‌ها مشاهده می‌شود، اختلاف معنی‌داری در بین تیمارهای آزمایشی از نظر پارامترهای مورد بررسی، مشاهده نشد.

پاسخ فحلی بدست آمده در هر ۳ تیمار آزمایشی از نتایج قبلی که توسط هاشمی و همکاران (۲۰۰۶) ارائه شده و درصد پاسخ فحلی را با استفاده از سیدر و ۵۰۰ واحد بین المللی eCG ۹۳/۳ درصد گزارش کردند، کمتر است (۱). وجود تفاوت در پارامترهای مدیریتی مشخصی که می‌توانند تلقیح مصنوعی و باروری میش را تحت تاثیر قرار دهند می‌تواند علت احتمالی این موضوع باشد. فاصله بین به‌زایی، فصل، سن میش، استرس حرارتی، وضعیت تغذیه و نمره بدنی اثر زیادی روی باروری پس از تلقیح مصنوعی میش دارند (۳). صفدریان و همکاران (۲۰۰۶) در تحقیق خود تعداد میش‌های زایش کرده به‌زای تعداد میش جفت‌گیری کرده را در میش‌های قره‌گل هم‌زمان شده با سیدر و ۵۰۰ واحد بین المللی eCG، ۶۴ درصد گزارش کردند که بالاتر از یافته‌های این تحقیق می‌باشد. علت این امر نیز می‌تواند ناشی از تفاوت‌های مدیریتی در گله‌های مورد بررسی باشد (۲).

فاصله زمانی کشیدن سیدر تا شروع علائم فحلی و طول مدت فحلی پارامترهای مهمی در تخمین زمان تخمک‌ریزی بخصوص در برنامه‌های تلقیح مصنوعی در زمان مشخص هستند. هاشمی و همکاران (۲۰۰۶) فاصله زمانی کشیدن سیدر تا شروع علائم فحلی و طول مدت فحلی در گوسفند قره‌گل در استان فارس را پس از هم‌زمانی با سیدر و تزریق ۵۰۰ واحد بین‌المللی eCG در زمان خروج سیدر به ترتیب $30/1 \pm 7/6$ و $31/87 \pm 11$ ساعت به‌دست آوردند (۱). متوسط طول دوره فحلی در گوسفند قره‌گل در حالت طبیعی ۳۵/۲ ساعت گزارش شده که بطور معنی‌داری ($p < 0.05$) در ماه‌های مختلف متفاوت بوده است (۴). با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که به‌منظور کاهش هزینه‌ها و جلوگیری از خسارت‌های اقتصادی در برنامه‌های هم‌زمان سازی فحلی در گوسفند، در صورت موجود بودن می‌توان از سیدر و eCG تاریخ گذشته بدون تاثیر در پاسخ فحلی و زایش استفاده کرد.

جدول ۱- تعداد (درصد) میش‌های فحل شده، زایش کرده و دوقلوزاییده در تیمارهای مختلف آزمایشی

تیمار	تعداد میش	فحلی	زایش	دوقلوزایی
سیدر تاریخ گذشته به همراه eCG	۲۰	۱۵ (۷۵)	۱۱ (۵۵)	۰ (۰)
تاریخ‌دار				
سیدر تاریخ‌دار به همراه eCG تاریخ‌دار	۲۰	۱۴ (۷۰)	۱۲ (۶۰)	۰ (۰)
سیدر تاریخ گذشته به همراه eCG تاریخ گذشته	۲۰	۱۶ (۸۰)	۱۱ (۵۵)	۱ (۵)

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار زمان شروع فحلی و طول مدت فحلی در تیمارهای مختلف آزمایشی (ساعت)

تیمارهای آزمایشی	فاصله زمانی کشیدن سیدر تا شروع علائم فحلی	طول مدت فحلی
سیدر تاریخ گذشته به همراه eCG تاریخ دار	$47/84 \pm 18/42$	$26/36 \pm 13/82$
سیدر تاریخ دار به همراه eCG تاریخ دار	$35/62 \pm 12/36$	$39/26 \pm 12/8$
سیدر تاریخ گذشته به همراه eCG تاریخ گذشته	-	-

منابع

1. Hashemi, M., M. Safdarian and M. Kafi. 2006. Estrous response to Synchronization of Estrus using Different Progesterone Treatments outside the Natural Breeding Season in Ewes. Small Ruminant Research. 65: 279-283.
2. Safdarian, M., M. Kafi and M. Hashemi. 2006. Reproductive performance of Karakul ewes following different oestrous synchronisation treatments outside the natural breeding season. South African journal of Animal Science. 36: 229-234.
3. Santolaria, P., I. Palacin and J. Yániz. 2011. Management Factors Affecting Fertility in Sheep. In: Manafi, M. (Ed.), Artificial insemination in farm animals. InTech, Rijeka, Croatia. 167-190.
4. Sefidbakht, N., M.S. Mostafavi, and A., Farid. 1978. Annual reproductive rhythm and ovulation rate in four fat-tailed sheep breeds. Animal Production. 26, 177-184.
5. Smith, J.F., J.A. Konlechner and J. Parr. 1991. The efficacy of used CIDR devices for synchronization of oestrus and post-mating treatment. Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production. 51: 111-116.
6. Vilariño M, E. Rubianes and A. Menchaca. 2011. Re-use of intravaginal progesterone devices associated with the Short-term Protocol for timed artificial insemination in goats. Theriogenology. 75: 1195-1200.

Reproductive performance of Karakul ewes following estrous synchronization using expired hormones

Hashemi, M.^{1*}, M. R. Hashemi¹, H. Noorollahi¹, B. Eilami¹, A. Solhjoo¹, M. Salehi Dindarloo²

1- Fars research center for agriculture and natural resource, 2- M.S. student of Zabol University

* Corresponding E-mail address: Hashemi@farsagres.ir

Abstract:

Estrus synchronization can compact the parturition of ewes in flock in a limited time. It allows controlling the time of parturition in a favorite interval. The cost of estrus synchronization programs is a problem and solutions can help farmers economically. Estrus response and lambing rate were studied in Karakul ewes after estrus synchronization with expired or normal(valid) hormones. Sixty multiparous Karakul ewes were randomly assigned to one of three treatment groups (n = 20/group): expired CIDR and normal eCG, normal CIDR and normal eCG and normal CIDR and expired eCG. CIDR pulled out after 14 days and injected i.m. with 200 IU eCG at withdrawal. Onset of estrus, estrus duration, lambing date and the number of lambs born by each ewe were recorded after ram introduction, heat detection and lambing. The results showed that estrus response, lambing rate and twinning rate were not different between treatments. In conclusion, application of expired CIDR and eCG in this study did not have any significant effects on reproductive parameters in synchronized Karakul ewes.

Key words: Reproductive performance - estrous synchronization - expired hormones - Karakul ewes

بررسی دو روش خنک کنندگی طی تنش گرما در گاومیشهای استان خوزستان

مجید همتی

موسسه آموزش عالی علمی کاربردی وزارت جهاد کشاورزی، مجتمع آموزش خوزستان، مدرس گروه علوم دامی

مرکز دزفول

Hemati_m@yahoo.com

چکیده

در این آزمایش جهت مقایسه دو روش خنک نمودن و تاثیر آنها بر تغییرات فیزیولوژیکی و تولیدی گاومیشهای خوزستان، ۱۲ گاومیش تازه زای ۷۰-۵۰ روز پس از زایش که در یکی از گاومیش داریهای شهرستان دزفول بصورت آزاد نگهداری می شدند انتخاب گردید. ۶ راس از گاومیشها در یک دوره ۳۰ روزه، در تیرماه و شهریورماه با استفاده از دوش آب خود را خنک می نمودند (گروه اول) در حالیکه گروه دیگر از ساعت ۱۱ صبح تا ۵ عصر در رودخانه شنا می کردند (گروه دوم). برای اندازه گیری تغییرات هورمونهای تیروکسین (T4)، تری یدوتیرونین (T3)، کورتیزول و انسولین از هر دو گروه در روزهای ۱، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۱، ۲۴، ۲۷ و ۳۰ خونگیری صورت گرفت. شاخص رطوبتی حرارتی (THI) در طی روزهای گرم و خشک (تیرماه) و روزهای گرم و مرطوب (شهریور ماه) به ترتیب برابر ۸۵/۷ و ۸۹/۳ بود. نتایج نشان داد میانگین غلظت پلاسمایی هورمونهای تیروکسین و انسولین طی روزهای گرم و خشک در گروه دوم در مقایسه با گروه اول به میزان معنی داری ($P<0.01$) بیشتر بود. غلظت پلاسمایی تری یدوتیرونین در هر دو گروه تفاوت معنی داری نداشت. غلظت پلاسمایی هورمون کورتیزول در گروه اول در مقایسه با گروه دوم به اندازه معنی داری ($P<0.01$) بیشتر بود (۴/۸ ng/ml در مقایسه با ۲/۶ ng/ml). میانگین غلظت پلاسمایی هورمونهای تیروکسین، تری یدوتیرونین و انسولین طی روزهای گرم و مرطوب در گروه دوم در مقایسه با گروه اول به اندازه معنی داری ($P<0.01$) بیشتر بود. به طور کلی در گروه دوم مصرف ماده خشک و تولید شیر، هم در روزهای گرم و خشک و هم در روزهای گرم و مرطوب به میزان معنی داری ($P<0.01$) بیشتر بود که نشان دهنده مزیت آب تنی نسبت به دوش آب می باشد.

واژه های کلیدی: گاومیش - تنش گرمایی - فراسنجه های تولیدی - فراسنجه های متابولیکی - استان خوزستان

مقدمه

تنش های محیطی از طریق تغییرات هورمونی و تاثیر بر متابولیسم بدن تولید شیر را تحت تاثیر قرار می دهد. تغییر در هورمونهای متابولیکی مانند تیروکسین، تری یدوتیرونین و انسولین می توانند سبب تغییر در خوراک مصرفی شوند. افزایش غلظت پلاسمایی کورتیزول یکی از نشانه های تنش می باشد (۷). تنش گرمایی در گاوهای شیری سبب کاهش ترشح انسولین شده و به تبع آن کاهش تولید شیر را به دنبال دارد (۶). همچنین افزایش حرارت محیط، ترشح هورمونهای تیروئیدی و خوراک مصرفی را کاهش می دهد (۴). نتایج نشان داده است که دما و رطوبت به طور مستقیم بر فعالیت غده تیروئید اثر می گذارد (۴). با توجه به فقدان تحقیقات در مورد اثر روش خنک کردن گاومیشهای استان خوزستان بر فراسنجه های تولیدی و متابولیکی تحقیق حاضر به این منظور انجام گردیده است.

مواد و روشها



برای انجام این تحقیق ۱۲ گاومیش تازه زای (۷۰-۵۰ روز پس از زایش) یکی از گله های گاومیش شهرستان دزفول در استان خوزستان که به صورت آزاد نگهداری می شدند انتخاب گردید. در این گله، گاومیشها آزادانه به سیلوی ذرت و آب دسترسی داشتند. مصرف کنسانتره بر مبنای تولید شیر (یک کیلوگرم به ازای ۲/۵ کیلوگرم شیر) در زمانهای شیردوشی (۶ صبح و ۷ عصر) صورت می گرفت. آزمایش مذکور در دو دوره ۳۰ روزه در ماههای تیر (ماه گرم و خشک) و شهریور (ماه گرم و مرطوب) سال ۱۳۸۹ انجام گردید. گاومیشها در هر کدام از ماههای مورد نظر به دو گروه ۶ تایی تقسیم گردیدند. گروه اول تحت شرایط دوش نگهداری گردید و گروه دوم هر روز از ساعت ۱۱ صبح تا ۵ عصر در آب رودخانه شنا می کرد. گاومیشها توسط فردی با تجربه در زمانهای معین شیردوشی شده و رکوردبرداری می شدند. میزان خوراک مصرفی و باقیمانده هر گروه به صورت هفتگی رکوردبرداری می شد. در زمان انجام آزمایش دمای رکتوم و میزان تنفس هر دو گروه روزانه ساعتی ۸ صبح و ۵ عصر ثبت می گردید. نمونه ها خونی هر دو گروه در روزهای ۱، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۱، ۲۴، ۲۷ و ۳۰ آزمایش از رگ و داج گاومیشها گرفته و غلظت پلاسمایی هورمونهای تیروئیدی، انسولین و کورتیزول با استفاده از کیت های رادیو ایمنو اسی (RIA) (تابشیار نور-تهران-ایران) اندازه گیری شد.

نتایج و بحث

میانگین حداکثر دمای هوا در تیر و شهریور ماه دزفول در سال ۱۳۸۹ به ترتیب برابر $46/6^{\circ}\text{C}$ و $42/9^{\circ}\text{C}$ بود. در شهریور ماه رطوبت نسبی بیشتر از ۹۰ درصد رسید. شاخص رطوبتی حرارتی (THI) شهریور ماه بیشتر از تیرماه بود (۸۳/۶ در مقابل ۸۰/۷) که نشانه افزایش میزان تنش در شهریور نسبت به تیر می باشد. نتایج حاصل از آزمایش در جداول شماره ۱ تا ۳ ارائه گردیده است. میانگین غلظت پلاسمایی هورمونهای تیروکسین، تری یدوتیرونین، انسولین و کورتیزول در گروه اول و گروه دوم گاومیشها طی ماههای تیر و شهریور در جدول شماره ۱ ارائه شده است. غلظت پلاسمایی تیروکسین بین دوره های آزمایش در هر دو گروه تفاوت معنی داری ($P<0.01$) داشت. بیشترین میانگین غلظت پلاسمایی تیروکسین ($52/57 \pm 0/67 \text{ ng/ml}$) در تیر ماه مربوط به گاومیشهای گروه دوم بود. غلظت پلاسمایی تری یدوتیرونین در بین دو گروه در هر دوره آزمایش تفاوت چندانی نداشت. بر عکس نتایج این تحقیق در تحقیقی غلظت پلاسمایی تیروکسین گاومیشها در فصل گرم و خشک نسبت به فصل گرم و مرطوب کاهش یافته است ($39/1 \text{ ng/ml}$ در مقابل $41/44 \text{ ng/ml}$) (۳). در شرایط تنش گرما فعالیت غده تیروئید گاومیش در مقایسه با گاو کاهش فعالیت قابل ملاحظه ای دارد (۳). غلظت پلاسمایی انسولین بین دوره های آزمایش در هر دو گروه تفاوت معنی داری ($P<0.01$) داشت ($10/86 \mu\text{U/ml}$ در گروه دوم در مقایسه با $8/30 \mu\text{U/ml}$ در گروه اول). افزایش غلظت پلاسمایی هورمونهای تیروئیدی سبب افزایش غلظت پلاسمایی هورمون انسولین شده که در نهایت سبب افزایش خوراک مصرفی و افزایش تولید شیر می شود (۵). غلظت پلاسمایی کورتیزول بین دوره های آزمایش در هر دو گروه تفاوت معنی داری ($P<0.01$) داشت بطوریکه در هر دو دوره غلظت پلاسمایی کورتیزول در گروه اول بیشتر از گروه دوم بود که نشان دهنده افزایش تنش گرمایی در گروه اول می باشد. همانطور که در جدول شماره ۲ مشاهده می شود در تیر و شهریور تولید شیر و خوراک مصرفی گروه دوم در مقایسه با گروه اول بیشتر بوده است ($4/80 \text{ ng/ml}$ در مقابل $2/60 \text{ ng/ml}$ و $4/33 \text{ ng/ml}$ در مقابل $2/64 \text{ ng/ml}$). که با نتایج تحقیقات دیگر مطابقت دارد (۱). دمای رکتوم و نسبت تنفس در صبح بین هر دو گروه تفاوت معنی داری وجود نداشت. اما همانطور که در



جدول شماره ۳ مشاهده می گردد دمای رکتوم و میزان تنفس در عصر، در گاومیشهایی که در آب شنا می کردند کمتر بوده است. که در تحقیق دیگری گاومیشهایی که در آب شنا می کردند در مقایسه با گاومیشهایی که با دوش آب خود را خنک می نمودند دمای بدن و میزان تنفس کمتری داشته اند (۲). به طور کلی همانطور که از نتایج این تحقیق استنباط می شود احتمالاً شنای در آب در مقایسه با دوش آب اثرات منفی ناشی از تنش گرمایی را در

جدول ۱- میانگین ($\pm$ خطای معیار) غلظت پلاسمایی هورمونهای تیروکسین، تری یدوتیرونین، انسولین و کورتیزول گروه اول و گروه دوم گاومیشها طی ماههای تیر و شهریور

فراسنجه	تیر ماه		شهریور ماه	
	گروه اول	گروه دوم	گروه اول	گروه دوم
(ng/ml تیروکسین)	۵۰/۶۵ $\pm$ ۰/۵۰	۵۲/۵۷ $\pm$ ۰/۶۷	۴۸/۲۵ $\pm$ ۰/۵۴	۵۰/۵۷ $\pm$ ۰/۶۱
(ng/ml تری یدوتیرونین)	۱/۹۷ $\pm$ ۰/۰۳	۱/۸۸ $\pm$ ۰/۰۳	۱/۸۳ $\pm$ ۰/۰۴	۱/۹۹ $\pm$ ۰/۰۳

جدول ۲- میانگین ($\pm$ خطای معیار) تولید شیر و خوراک مصرفی گروه اول و گروه دوم گاومیشها طی ماههای تیر و شهریور

(ng/ml کورتیزول)	۴/۸۰ $\pm$ ۰/۱۴	۲/۶۰ $\pm$ ۰/۰۸	۴/۳۳ $\pm$ ۰/۱۶	۲/۶۴ $\pm$ ۰/۳۲

جدول ۳- میانگین ($\pm$ خطای معیار) نسبت تنفس و دمای رکتوم صبح و عصر در گروه اول و گروه دوم گاومیشها طی ماههای تیر و شهریور

فراسنجه	تیر ماه		شهریور ماه	
	گروه اول	گروه دوم	گروه اول	گروه دوم
(Kg تولید شیر)	۷/۶ $\pm$ ۰/۱	۸/۶ $\pm$ ۰/۱	۶/۹ $\pm$ ۰/۲	۷/۸ $\pm$ ۰/۲
(Kg خوراک مصرفی)	۳۹/۳ $\pm$ ۰/۵	۴۳/۹ $\pm$ ۰/۸	۴۰/۸ $\pm$ ۰/۸	۴۵/۰ $\pm$ ۰/۵

نسبت تنفس در صبح / دقیقه		دمای رکتوم در صبح ($^{\circ}$ C)	
تیر	شهریور	تیر	شهریور
a۲۴/۱ $\pm$ ۰/۴	a۲۰/۹ $\pm$ ۰/۲	c۳۸/۵۶ $\pm$ ۰/۱	c۳۸/۵۰ $\pm$ ۰/۱
a۲۳/۳ $\pm$ ۰/۲	b۱۹/۲ $\pm$ ۰/۲	c۳۸/۵۰ $\pm$ ۰/۱	c۳۸/۴۴ $\pm$ ۰/۱
نسبت تنفس در عصر / دقیقه		دمای رکتوم در عصر ($^{\circ}$ C)	
تیر	شهریور	تیر	شهریور
a۲۱/۲ $\pm$ ۰/۲	a۱۷/۸ $\pm$ ۰/۲	c۳۸/۴۴ $\pm$ ۰/۱	c۳۹/۰۶ $\pm$ ۰/۱
b۱۶/۳ $\pm$ ۰/۲	b۱۵/۲ $\pm$ ۰/۲	d۳۸/۰۶ $\pm$ ۰/۱	d۳۸/۱۷ $\pm$ ۰/۱

منابع

1. Chauhan, T.R. 2004. Feeding strategies for sustainable buffalo production, p. 74-83. In Proceedings of XI Animal Nutrition Conference, Jabalpur, India.

2. Chikamune, T. 1986. Effect of environmental temperature on thermoregulatory responses and oxygen consumption in swamp buffaloes and Holstein cattle. *Buffalo Journal*, 2: 151-160.
3. Hassan, G.A. and F.D. El-Nouty. 1985. Thyroidal activity in relation to reproductive status, seasonal variations and milk production in buffalo and cow heifers during their first lactation. *Indian J. Dairy Sci.*, 38: 129-135.
4. Khurana, M.L. 1983. Studies on T3 and T4 of dairy animals as influenced by climate. Ph. D. Thesis, Kurukshetra University, Kurukshetra, India.
5. Malik, V.S., M.L. Kakkar and R.K. Malik. 2003. Thyroid hormone levels of post partum anoestrus buffaloes induced to cyclicity with crestar - folligon treatment during winter and summer seasons. *SARAS J. Livestock and Poultry Prod.*, 19: 60-64.
6. Sartin, J.L., K.A. Cummins, R.J. Kemppainen, D.N. Marple, C.H. Rahe and J.C. Williams. 1985. Glucagon, insulin and growth hormone responses to glucose infusion in lactating dairy cows. *Am. J. Physiol.*, 248: E108-E114.
7. Stott, G.H. and F. Wiersma. 1971. Plasma corticosteroids as indicators of gonadotrophin secretion and infertility in stressed bovine. *J. Dairy Sci.*, 53: 652 (Abstr.).

Evaluation of Two Methods of Cooling During Heat Stress in Buffaloes in Khouzeestan Province

Majid Hemati

Instructor of Animal Sciences Center Dezfool, Agricultural Training Center of Khouzeestan, Institute of Technical and Vocational Higher Education of Jahade Keshavarzi, Iran.

hemati_m@yahoo.com

Abstract

In this experiment to compare of two methods of cooling and their effects on physiological changes and production on buffaloes of Khuzestan province, twelve lactating buffaloes during early lactation of 50-70 days in cattle yard were selected from the herd of city of Dezfool. Six buffaloes were kept under water showers in July and September (Group 1) while another group of buffaloes were allowed to wallow in a water pond from 11.00 A.M. to 5.00 P.M. daily for a period of 30 days. Blood samples were collected from buffaloes of both the groups at 3 day interval on day 1, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 and 30 of the experiment and analyzed for plasma thyroxine (T4), triiodothyronine (T3), cortisol and insulin hormones. The thermal humidity index (THI)s was 80.3 and 83.6 during the hot-dry and hot-humid seasons, respectively. During the hot-dry season, average plasma T4 and insulin levels were significantly ($P<0.01$) higher in Group 2 as compared to Group 1. Plasma T3 levels did not vary significantly in Groups 1 or 2. Plasma cortisol concentration in Group 1 was higher ($P<0.01$) in comparison to Group 2 buffaloes (4.80 vs. 2.60 ng/ml). During the hot-humid season, average T4, T3 and insulin concentrations were significantly higher ($P<0.01$) in Groups 2 buffaloes than in Group 1 buffaloes. The overall average value of cortisol was higher in Group 1 when compared to Group 2 buffaloes. Feed intake and milk yield was significantly higher in Group 2 than Group 1 buffaloes during the hot-dry and hot-humid seasons, indicating the beneficial effects of wallowing as opposed to water showers.



Keywords: Buffalo-Heat Stress-Yield Factors-Metabolic Factors-Khouzestan Province

نواحی مختلف بیده بررسی اثر سن و جنس بر خصوصیات کمی و کیفی الیاف بز مرخز و ویژگیهای آن در
نصرت ... طاهرپوردری^{۱*}، محمد بابائی^۱ و ملیحه کمالپور^۲

۱- عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور ۲- کارشناس آزمایشگاه الیاف موسسه تحقیقات علوم دامی

* نصرت ... طاهرپوردری، کرج، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور n_taherpour@asri.ir

چکیده:

این تحقیق بر روی ۱۳۷ بز مرخز ۵-۱ ساله اجرا شد و تعداد ۴۱۰ نمونه الیاف بز، نر و ماده از سه ناحیه بدن جمع آوری گردید و فاکتورهای طول، قطر، راندمان و درصد الیاف ظریفتر از ۳۰ میکرون با روشهای استاندارد اندازه گیری شد. داده ها با رویه GLM در برنامه SAS 9.1 آنالیز شدند. نتایج نشان داد میانگین قطر الیاف ۲۸/۶۸ میکرون بود که تحت تاثیر سن قرار داشت و بزهای جوان کوتاهترین طول الیاف را داشتند (۴۹/۹۳ میلیمتر). انحراف معیار و ضریب تغییرات قطر الیاف بزهای در پنج ساله ها بیشتر بود که حاکی از نایکخواختی قطر است که از راندمان عمل آوری در مراحل مختلف می کاهد. اثر جنس معنی دار بود و بزهای نر طول الیافشان بلند تر و راندمان بیشتری داشتند (۵۸/۶۳ میلیمتر و ۷۷/۷۹٪). طول الیاف در ناحیه شانه بیش از سایر نواحی بود و اختلاف معنی داری بین نواحی بدن مشاهده شد ($P < 0.05$). با افزایش سن بر قطر و طول الیاف افزوده شد که به تبع آن وزن بیده نیز بیشتر میشود. کمترین راندمان شستشو هم متعلق به گروه یکساله ها بود. با توجه به نتایج بهترین ویژگی در الیاف بز مرخز در سنین ۳-۲ ساله بوده و ظریفترین الیاف در سن یکسالگی بدست آمد. واژگان کلیدی: بز مرخز - الیاف - قطر - طول - راندمان - سن - جنس.

مقدمه

در دهه اخیر جمعیت بز رو به افزایش گذاشته است که در آسیا، بیشتر بوده است (۱۷). محاسن اقتصادی پرورش بز می توان به مواردی همچون نیاز به سرمایه کم، تولید گوشت کم چربی، تولید کرک، تولید شیر سهل الهضم، بالا بودن درصد دوقلو زایی را نام برد. جمعیت بز مرخز در چند سال اخیر سیر نزولی داشته که در مجاورت خاک عراق پراکنده هستند. جایگزینی بز موئی برای تولید گوشت و شیر بیش تر نیز موثر بوده است هم اکنون با توجه به کمبود اعتبار حمایتها با کاهش اقدامات مؤثر برای این توده ژنتیکی در شرف تعطیلی است. با کمبود الیاف و سن بالای نساجان سنتی و استفاده از تکنولوژی قدیمی، مشکلات فروش و بازاریابی الیاف مشهود است. تنوع الیاف و وجود منسوجات مصنوعی لزوم افزایش تولید با حفظ کیفیت آن مهمترین هدف در بز مرخز است (۱).

طاهرپور و همکاران برتری خصوصیات الیاف بز مرخز را در مقایسه با الیاف بز آنقوره در قطر کم، درصد کم الیاف مدولایی، راندمان بالا، طول دسته الیاف و مرگ و میر کم نوزادان و مقاومت به شرایط سخت محیطی و تغذیه ای دانسته ولی علیرغم برتری های بز مرخز در مقایسه با بزهای تولید کننده الیاف موهر وزن بیده آنها به مراتب کمتر از بزهای آنقوره است. واریانس زیاد بین عوامل آزمایشی در الیاف بز مرخز حاکی از ظرفیت بالای اصلاح نژادی است و اکثر صفات مطلوب در جنس نر و رنگ سفید برتری داشته که از نظر پرورش و نگهداری در شرایط نیمه صنعتی و صنعتی قابل توجه است (۸). این الیاف در منطقه مصارف زیادی دارد و در اقتصاد دامداران و صنایع نساجی محلی در کردستان نقش مهمی ایفا میکند. با حفظ و اصلاح نژاد این بز میتواند در فعال کردن دامپروری و صنایع نساجی محلی و اشتغال زایی و جلوگیری از مهاجرت روستاییان و رونق اقتصادی منطقه نقش مؤثری داشته باشد.

مواد و روشها :

از دوره رشد یکساله نمونه‌ای از پهلوی راست دام به میزان ۲۰ گرم برداشت گردید که پس از ثبت مشخصات حیوان در برگه نمونه‌برداری، طبق روش معمول در آزمایشگاه (۸، ۱۱، ۹۰) اندازه‌گیریهای ذیل به عمل آمد: نمونه‌های تمیز شده ابتدا توسط دست یکنواخت شده و سپس موازی شدند و سپس این الیاف وارد دستگاه آلمیتر گردید و طول الیاف به دو روش بارب و اوتور اندازه‌گیری شد. پس از شستشوی نمونه و استخراج مواد گیاهی و غوطه‌ور کردن در دی‌کلرومتان، از الیاف موی بزها با مقطع گیر هاردی برش تهیه شد و پس از قرار دادن بر روی لام با پارافین مایع مخلوط و توسط دستگاه میکروپروژکتور که تصویری به بزرگنمایی ۵۰۰ برابر ایجاد میکند با خط کشهای مخصوص در تاریکخانه، حداقل قطر ۳۰۰ تار اندازه‌گیری و میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات هر نمونه محاسبه شد. درصد الیاف ظریف نیز محاسبه شد. مقدار ۵ گرم الیاف ناشور را پس از جدا سازی ناخالصیهای گیاهی، درون کیسه‌های توری شماره گذاری شده قرار داده شد سپس در ۴ حوضچه با شوینده غیر یونی شسته شدند در پایان درون اتو ۱۰۵ درجه خشک گردید توزین نمونه‌ها تا حصول وزن ثابت بفاصله هر ۱۰ دقیقه انجام شد و راندمان محاسبه گردید. داده‌ها با رویه GLM در برنامه SAS 9.1 آنالیز گردید و میانگین‌ها با روش حد اقل مربعات مقایسه گردیدند. نمودارها با نرم افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث:

صرف نظر از درخشندگی و طول بلنددسته الیاف در بز مرخز، قطر آن نسبت به بزهای آنقوره که تولید کننده موهر هستند پائین تر بوده و به عبارت دیگر بز مرخز الیاف ظریفتری تولید میکند این امر موید تحقیقات پیشین نیز میباشد. قطر مهمترین عامل در تعیین قیمت الیاف است ولی میانگین به تنهایی بیانگر تمام واقعیت نیست زیرا انحراف معیار و ضریب تغییرات قطر الیاف بز مرخز بیشتر از بزهای اصلاح شده است (جدول ۱) که حاکی از ناپیکنواختی قطر است که از راندمان عمل آوری در مراحل مختلف می‌کاهد. میانگین قطر الیاف در بزهای آنقوره نر بیش از ماده‌ها است (۱۲). قطر الیاف از ۲۴ میکرون در بزغاله‌ها تا ۴۶ میکرون در بالغین میرسد. موهر بزغاله با ارزش ترین این الیاف است (۱۳). مولم (۱۹۸۸) متوسط قطر موهر را ۳۶ میکرون، شلتون (۱۹۸۱) و دوندرا و بارنز (۱۹۸۲) متوسط قطر موهر را بر حسب سن دام دسته‌بندی کردند. اثر سن بر متوسط قطر (۱۳، ۱۵، ۱۷، ۱۶) و ضریب تغییرات (۷) در بز مرخز معنی دار گزارش گردید. یافته‌های این بررسی در رابطه با اثر سن و جنس بر درصد الیاف ظریف، طول و ضریب تغییرات قطر الیاف نواحی بدن با نتایج بدست آمده از بزهای مرخز ایستگاه مهرگان کرمانشاه مطابقت دارد ولی با اثر سن و جنس بر راندمان شستشو و قطر الیاف یکسان نیست (۵).

جدول ۱- اطلاعات آمار توصیفی صفات الیاف بز مرخز

صفات	میانگین	انحراف معیار	خطای معیار	کمینه	بیشینه

۱۱۹/۷۰	۱۹/۳۰	۰/۸۶	۱۷/۵۲	۵۲/۲۷	طول بارب (میلیمتر)
۹۷/۵۰	۱۴/۴۰	۰/۵۶	۱۱/۳۹	۳۳/۰۱	طول اتور (میلیمتر)
۵۰/۲۴	۱۶/۹۲	۰/۲۲	۴/۴۵	۲۸/۶۸	قطر (میکرون)
۲۹/۸۷	۵/۶۷	۰/۱۵	-	۱۱/۸۱	انحراف معیا قطر (میکرون)
۹۱/۵۸	۲۴/۶۳	۰/۵۰	-	۴۱/۵۶	ضریب تغییرات قطر (%)
۹۸/۷۳	۱۶/۷۶	۰/۸۱	۱۶/۶۲	۶۴/۵۴	نسبت الیاف ظریف (%)
۹۴/۵۴	۳۵/۱۹	۰/۴۵	۸/۹۶	۷۶/۰۵	راندمان (درصد)

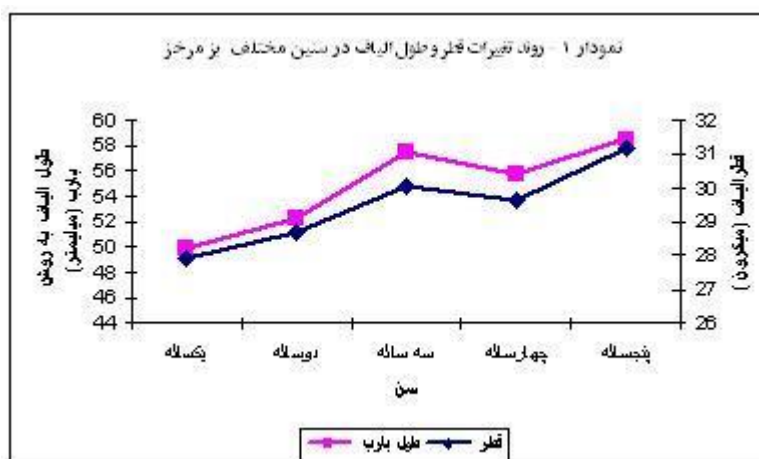
رزاق زاده (۱۳۷۳) اثر سن بر قطر الیاف بز مرخز کردستان را معنی دار دانسته و قطر در نرها بیش از جنس ماده بود (۲). در تحقیق دیگری اثر سن بزها بر قطر الیاف معنی دار شد و تا ۶ سالگی افزایش یافت و به ۳۶/۴۱ میکرون رسید. اثر جنس بر قطر معنی دار بود و ۱/۴۲ میکرون در بزهای نر ضخیم تر بود (۳). در بز مرخز اثر سن بر درصد چربی و راندمان معنی دار بود. در بررسی دیگری اثر جنس بر درصد چربی الیاف بز مرخز کردستان معنی دار شد (۵، ۶). طاهرپور و همکاران (۱۳۷۷) اثر سن بر راندمان و درصد چربی الیاف بز مرخز ایستگاه سنج معنی دار گزارش کردند. راندمان در بزهای نر بیش از جنس ماده بود. طول الیاف بر خصوصیات ریسندگی و کیفیت نخ و پارچه اثر میگذارد. طاهرپور و همکاران (۱۳۷۷) بیشترین طول دسته الیاف را در سن ۱ و ۲ سالگی و در نرها بیش از جنس ماده بود (۶). تغییرات طول دسته الیاف در بزهای تولید کننده موهر کم است (۱۳). اثر سن بر طول الیاف بز مرخز معنی دار نبود (۲). رشیدی و همکاران (۱۳۷۸) اثر جنس را بر طول دسته الیاف را معنی دار دانستند که در نرها ۹ میلیمتر بیشتر بود. قطر الیاف بین دو جنس اختلاف معنی داری داشت ($p < 0/01$) در تحقیق حاضر در بزهای ماده الیاف ظریفتری تولید شد و ضریب تغییرات قطرشان بیشتر بود این بدان دلیل است که دامهای ماده تحت تاثیر استرس آبستنی و شیردهی قرار داشته و مواد مغذی را بیشتر صرف سایر احتیاجات خود کرده اند بعلاوه هورمونهای جنس ماده نیز اثرات مثبتی بر این صفت داشته اند، این عوامل بر میزان تولید الیاف ظریفتر موثرند. بزهای نر طول الیافشان بلند تر است و وزن بیده بیشتری دارند و ضریب تغییرات قطرشان یکنواخت تر است. طول الیاف در ناحیه شانه بیش از سایر نواحی بود و اختلاف معنی داری بین نواحی بدن بود ($p < 0/05$). اگر چه قطر الیاف و ضریب تغییرات آن از نظر آماری معنی دار بود ولی میانگین قطر در نواحی مختلف بدن پائین بود اما بر خلاف پشم گوسفند الیاف ناحیه کپل، ظریفتر از شانه بودند. راندمان شستشو در ناحیه شانه بیش از سایر نواحی بود زیرا دام در هنگام استراحت و نشخوار بیشتر بر پهلو و کپل تکیه میکند لذا در تماس بیشتری با انواع آلودگیهاست. کمترین قطر الیاف در بزهای جوان (یکساله) بود و با افزایش سن بر قطر و طول الیاف افزوده شد (نمودار ۱ و ۲) که به تبع آن وزن بیده نیز بیشتر میشود. نایکخواختی در قطر (و انحراف معیار و ضریب تغییرات قطر) در دامهای پنجساله بیش از سایر سنین بود. کمترین راندمان شستشو هم متعلق به گروه ۱ و ۳ ساله بود (جدول ۲). با توجه به جداول و نمودارها بهترین ویژگی در الیاف بز مرخز در سنین ۲-۳ ساله بوده و برای ظرافت به تنهایی تا سن یکسالگی پیشنهاد میشود.

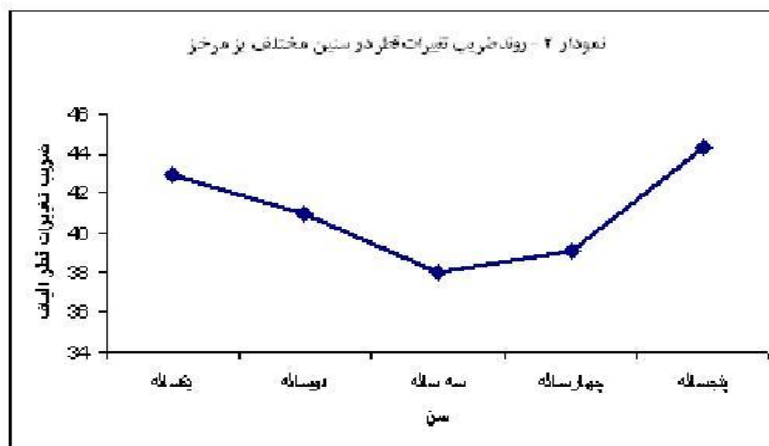
جدول ۲- مقایسه میانگین صفات الیاف بز مرخز به تفکیک ناحیه بدن، جنس و سن

متغیر	طول	طول اتور	قطر	انحراف	ضریب	نسبت الیاف	راندمان
	بارب	(میلیمتر)	(میکرون)	معیار قطر	تغییرات قطر	ظریف	(درصد)

	(درصد)	(درصد)	(میکرون)			(میلیمتر)	
شانه	۸۰/۷۱ ^a	۵۷/۶۵ ^b	۳۹/۳۹ ^b	۱۲/۰۷ ^a	۳۰/۳۸ ^a	۳۶/۰۴ ^a	۶۰/۶۰ ^a
پهلوی	۷۵/۱۱ ^b	۵۷/۰۹ ^{ab}	۳۹/۱۲ ^{ab}	۱۱/۷۸ ^a	۲۹/۹۷ ^{ab}	۳۵/۷۴ ^{ab}	۵۳/۹۵ ^b
کپل	۷۴/۰۱ ^b	۷۳/۸۲ ^a	۴۴/۷۹ ^a	۱۲/۴۳ ^a	۲۸/۱۱ ^b	۳۱/۲۲ ^b	۴۹/۸۲ ^c
اشتباه معیار	۰/۸۰	۱/۳۶	۰/۹۲	۰/۲۹	۰/۴۰	۱/۰۳	۱/۵۵
میانگین							
ماده	۷۵/۷۳ ^b	۶۴/۷۴ ^a	۴۲/۱۰ ^a	۱۲/۱۱ ^a	۲۸/۸۷ ^b	۳۲/۰۷ ^b	۵۰/۹۵ ^b
نر	۷۷/۷۹ ^a	۶۰/۹۵ ^b	۴۰/۱۰ ^b	۱۲/۰۹ ^a	۳۰/۱۰ ^a	۳۶/۵۹ ^a	۵۸/۶۳ ^a
اشتباه معیار	۰/۷۱	۱/۱۸	۰/۸۱	۰/۲۵	۰/۳۴	۰/۹۱	۱/۳۵
میانگین							
یکساله	۷۵/۳۱ ^b	۶۶/۷۸ ^a	۴۲/۹۸ ^a	۱۱/۸۶ ^b	۲۷/۹۱ ^b	۳۱/۸۵ ^b	۴۹/۹۳ ^b
دوساله	۷۷/۰۷ ^{ab}	۶۲/۲۸ ^b	۴۰/۹۸ ^a	۱۱/۶۵ ^b	۲۸/۶۶ ^{ab}	۳۲/۸۱ ^{ab}	۵۲/۲۴ ^{ab}
سه ساله	۷۵/۶۳ ^b	۶۱/۶۷ ^{ab}	۳۸/۰۷ ^b	۱۱/۴۵ ^b	۳۰/۰۱ ^a	۳۵/۲۳ ^{ab}	۵۷/۵۰ ^a
چهارساله	۷۸/۵۶ ^a	۶۲/۰۴ ^b	۳۹/۰۸ ^{ab}	۱۱/۶۵ ^b	۲۹/۶۶ ^{ab}	۳۵/۹۴ ^a	۵۵/۸۱ ^a
پنجساله	۷۶/۴۸ ^{ab}	۶۱/۵۳ ^b	۴۴/۳۹ ^a	۱۳/۹۴ ^a	۳۱/۱۷ ^a	۳۳/۵۸ ^{ab}	۵۸/۴۷ ^a
اشتباه معیار	۱/۳۴	۲/۰۱	۱/۳۵	۰/۴۱	۰/۶۱	۱/۶۵	۲/۱۵
میانگین							

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار حد اقل در سطح ۰.۰۵ می باشد.





منابع:

- ۱- انصاری، ح، ر.ن، طاهرپور دری و م، صالحی. ۱۳۹۰. برنامه راهبردی تحقیقات محصولی پوست، چرم و الیاف دامی کشور موسسه تحقیقات علوم دامی کشور. کرج.
- ۲ - رزاق زاده، س. ۱۳۷۳. تعیین خصوصیات کمی و کیفی الیاف بز مرغز. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.
- ۳ - رشیدی، ا. ۱۳۷۸. ارزیابی ژنتیکی صفات اقتصادی در بزهای مرخز (آنقوره ایران). رساله دوره دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.
- ۴- رشیدی، ا، و م، عسکری. ۱۳۸۴. ارزیابی خصوصیات کمی و کیفی الیاف موهر در بزهای مرخز. دومین سمینار پژوهشی گوسفند و بز. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور. کرج.
- ۵ - طاهرپور دری، ن ح، ر. انصاری رنانی، م، صالحی و، م. بهشتی کورنگ. ۱۳۸۶. افزایش و بهبود کمی و کیفی الیاف بزهای کرکی ایران. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور. کرج.
- ۶ - طاهرپور دری، ن و ا. م. ا. حسنی نژاد ۱۳۷۶. ویژگی های الیاف پوششی بزهای مرخز ایستگاه تحقیقات دامپروری سنندج. فصلنامه پژوهش و سازندگی، شماره ۳۴، صفحات ۱۷۹-۱۷۶.
- ۷- طاهرپور، ن. م. ا. حسنی نژاد و و، امیری. ۱۳۷۷. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی بررسی کمی و کیفی الیاف پوششی بزهای مرخز ایستگاه تحقیقات دامپروری سنندج و ایستگاه مهرگان کرمانشاه. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور. کرج.
- ۸- کمیسیون ملی استاندارد. ۱۳۵۶. روش اندازه گیری قطر الیاف پشم بوسیله میکروپروژکتور. شماره استاندارد ۱۴۵۵. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- ۹- کمیسیون ملی استاندارد. ۱۳۵۱. تعیین مقدار پشم شسته ناشور چرب (راندمان پشم). شماره استاندارد ۷۸۲. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
- 10- Devendra. C and M.Burns. 1970. Goat and sheep production in tropics. C.A.B. Edingburg. UK.

- 11- ASTM.1987. Test method for diameter of wool and other animal fibres microprojection D21300. Annual book of ASTM standards. Vol 07. 02.
- 12- Epplston,J and N,W,Moore.1990.Fleece characteristics of selected Australia Angora goats.Small Ruminant Research.3: 397-402.
- 13- FAOSTAT- FAO statistics Division - 26 February 2008.
- 14- FAO.1995.Harvesting of textile animal fibers .FAO Agricultural Service Bultin.No.122.pp 8-13.
- 15- Lupton, C.J.A. Pfeiffer and N.E. Bladmad 1991. Medulation in mohair. Small Rumin. Res. 5:357-365.
- 16- Mowlem.A.1988. Goat farming. Farming Books .UK.
- Shelton.M.1981. Fibre production.(Ed Gall.C) .AP.London.- 17

Effect of age and sex on fiber characteristics of Markhoze goat at different parts of fleece
N. Taherpour^{1*} - M.Babaei¹ -M.Kamalpour²

1. Scientific members of Animal Science Research Institute of Iran, 2. Expert of animal fiber lab

* N. Taherpour, Animal science Research Institute, Karaj, Iran. n_taherpour@asri.ir

Abstract:

This study was conducted by 137 heads of Markhoze goat and 410 fiber samples obtained from shoulder, mid side and rump. Experimental factors were fiber diameter, length, yield and fine fiber percentage that determined by standard procedures. SAS soft ware was used for data analysis by GLM. Results indicated, mean fiber diameter was $28.68 \mu m$, Mean fiber diameter was significantly affected by age, so the yearling goats produced the shortest length fiber (44.39mm), five years had the highest coefficient of variation of diameter (45.39 %),that affects on fiber processing. There was a significant difference ($P<0.05$) between sexes, Males had the highest length and yield (58.63mm and 77.79%). Shoulder fiber length was longer than, mid side and rump ($P<0.05$).Fiber diameter and length of fiber increased by age that increases fleece weight. The least yield percentage attributed to 1 year old goats. As a result the best characteristics belongs to 2-3 year's old goats and the finest fiber was at 1 year.

Key words: Markhoze(marghoz) goat, diameter, length, yield, goat fiber.

مطالعه بافتی کبد گوساله های سقطی و مرده زایی از لحاظ ذخیره گلیکوژن و بافت کبد
محسن رحیمی اندانی^{*}، سید امیرحسین مهدوی^۲، حمیدرضا رحمانی^۱، بهاره دولتشواه^۱ و علی کهیانی^۱
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد علوم دامی دانشگاه صنعتی اصفهان ۲-هیئت علمی دانشگاه صنعتی اصفهان
^{*}نویسنده مسئول: محسن رحیمی اندانی، اصفهان- دانشگاه صنعتی اصفهان- دانشکده کشاورزی- گروه علوم دامی
پست الکترونیک: M.rahimiandani@ag.iut.ac.ir

چکیده:

وظیفه اصلی کبد به عنوان حیاتی ترین ارگان بدن، تامین گلوکز خون است. برخی مطالعات نشان داده که گلیکوژن کبد گوساله های نارس با نرخ مرگ و میر بالا، در مقایسه با گوساله های معمولی بسیار کم می باشد. لذا بررسی کبد گوساله های سقطی و مرده زایی از لحاظ بافت شناسی و ذخیره گلیکوژن می تواند کمک شایانی به درک چگونگی این عارضه داشته باشد. کبدها از ۲۲ گوساله (۱۵ عدد مرده زایی و ۷ عدد سقط جنین) طی ۷ ماه (مرداد تا اسفند ماه سال ۱۳۹۰) از بیمارستان و زایشگاه گاوداری فکا، جمع آوری گردید. صفات مورد مطالعه، ذخیره گلیکوژن کبد و وضعیت سلامت بافت کبد بود. داده ها ابتدا بوسیله نرم افزار آماری SAS(9.2) و رویه GLM آنالیز شد. میانگین ها نیز بوسیله تست حداقل میانگین مورد مقایسه قرار گرفت. در مرحله بعد داده ها به کمک مرجع نرمال فیزیولوژیک ($Means \pm Sd$) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج گلیکوژن کبد ($Means \pm SEM$) برای گوساله های مرده متولد شده و سقطی به ترتیب $1/24 \pm 0/28$ و $1/0 \pm 0/76$ برحسب میلی گرم بر گرم بافت کبد تازه محاسبه گردید. برای بافت کبد هم به همین ترتیب نتایج گزارش شد. میانگین اسکور بافت برای مرده زایی $1/89 \pm 0/36$ و سقط $0/43 \pm 0/25$ بدست آمد. بررسی بین گروه ها نشان داد که تفاوتی بین گوساله مرده و سقطی از لحاظ ذخیره گلیکوژن ($P > 0/05$) و بافت کبد ($P > 0/05$) وجود ندارد. مقایسه مرجع نرمال و نتایج حاصل طرح نشان می دهد که در کل ذخیره گلیکوژن کبدی گوساله های سقطی و مرده زایی کمتر از دامنه نرمال می باشد. از طرفی هردو گروه از لحاظ بافت کبد شرایط نامطلوبی دارند.

واژه های کلیدی: گلیکوژن کبد- مرده زایی- سقط جنین- بافت شناسی

مقدمه:

اصطلاح مرده زایی به معنی تولد گوساله مرده بعد از روز ۲۶۰م آبهستی و یا مرگ نوزاد کمی قبل، حین و یا کمی بعد از تولد می باشد (۵). سقط جنین نیز به خروج جنین مرده و یا جنین زنده به صورت نارس، از روز ۱۰۰ تا ۲۶۰ آبهستی اطلاق می شود (۴). از حدود ۱۰ سال پیش تاکنون، میزان مرده زایی در اکثر کشور های جهان افزایش یافته است. در سالهای ۲۰۰۵ و ۲۰۰۶ در امریکا مرده زایی ۶/۵٪ بوده است (۵). ایران نیز از این قاعده مستثنی نبوده و میزان مرده زایی در آن به حدود ۸ تا ۱۴ درصد رسیده است (۹). مرده زایی علاوه بر خسارت تلف شدن گوساله، موجب کاهش تولید شیر به میزان ۱/۱ کیلوگرم در روز می شود که با مشکلات موثر بر تولید شیر مثل ورم پستان و لنگش برابری می کند. بررسی فیزیولوژیک سقط جنین و مرده زایی موجب افزایش اطلاعات پس زمینه ای می شود که برای مدیریت و اصلاح نژاد مهم می باشد (۶). کبد به طور مورب روی سطح شکمی دیافراگم در طرف راست خط میانی بدن قرار دارد. به علت اهمیت کبد در دستگاه گوارش و ارتباط نزدیک آن با سایر دستگاه های بدن و وظایف متعدد و پیچیده این ارگان بررسی بافت شناسی و ذخیره گلیکوژن کبد

می‌تواند راهگشای، بررسی شرایط قبل از مرگ حیوان باشد. وظیفه اصلی کبد به عنوان حیاتی ترین ارگان بدن، تامین گلوکز خون است. قند خون گوساله موقع تولد $2/5 \pm 1/0$ میلی مول بر لیتر است که تا $1/5$ ساعت بعد تولد باید به $3/05$ میلی مول بر لیتر برسد (۶). کمبود قند خون در تولد منجر به درست عمل نکردن سیستم ترموستات بدن و در نتیجه افزایش مرگ نوزاد می شود (۷ و ۸). تامین سریع گلوکز خون نوزاد از طریق فرآیند تجزیه گلیکوژن کبد و نوسازی گلوکز می باشد. این فرآیند توسط دو آنزیم فسفو انول پیروات کربوکسیلاز و پیروات کربوکسیلاز انجام می شود که در کبد بیشترین فعالیت را دارند. مطالعات نشان داده که گلیکوژن کبد گوساله های نارس که مرگ و میر بالایی دارند در مقایسه با گوساله های معمولی بسیار کم می باشد (۲). لذا بررسی کبد گوساله های سقطی و مرده زایی از لحاظ بافت شناسی و ذخیره گلیکوژن می تواند کمک شایانی به درک چگونگی این عارضه داشته باشد.

مواد و روش ها:

این تحقیق در بازه زمانی مرداد تا اسفند ماه سال ۱۳۹۰ در دامداری فکا، واقع در ۲۰ کیلومتری جنوب شرق اصفهان، انجام شد. نمونه های کبد از ۲۲ گوساله (۱۵ عدد مرده زایی و ۷ عدد سقط شده) جمع آوری گردید. صفات مورد مطالعه ذخیره گلیکوژن و وضعیت سلامت بافت کبد بود. نمونه بدین صورت انجام گرفت که به محض وقوع سقط و مرده زایی با حضور در محل و باز کردن لاشه گوساله ها دو نمونه به وزن ۱۰ گرم و ابعاد ۵ در ۵ سانتی متر از کبد هر گوساله گرفته شد. یک نمونه جهت اندازه گیری گلیکوژن، در دمای -20°C درجه سانتی گراد فریز و نگهداری شد. نمونه دیگر ۲۴ ساعت در فرمالین ۲۰٪ به مقدار ۳ برابر حجم نمونه و بعد از آن در فرمالین ۱۴٪ تا زمان تکمیل تعداد نمونه ها در یخچال نگهداری شد.

بررسی بافت شناسی کبد:

نمونه فرمالینه بوسیله دستگاه میکروتوم برش داده شد و به روش هماتوکسین-ئوزین رنگ آمیزی گردید. جهت مطالعه و تشخیص تفاوت نمونه های بافت کبد، از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ استفاده شد (۱). جهت بررسی بهتر بافت کبد از لحاظ سازماندهی سلولی، نمونه ها از ۱ تا ۳ اسکوربندی شد؛ اسکور یک برای بافت خوب که سازماندهی هپاتوسیت ها و ساختار شعاعی آنها کاملاً حفظ شده بود. اسکور سه، بافت کاملاً دژنره و تخریب بافتی کاملاً مشهود بود و سینوزوئیدهای کبد به علت آسیب شدید به هپاتوسیت ها در کبد محو شده بود. اسکور دو نیز برای متوسط این دودر نظر گرفته شد (۳).

استخراج گلیکوژن:

برای اندازه گیری گلیکوژن از روش باتلر و همکاران با کمی تغییر استفاده شد. که در پایان ذخیره گلیکوژن را برحسب میلی گرم، بر گرم کبد تازه گزارش گردید. لازم به ذکر است که میزان بازیافت گلیکوژن کبد در روش باتلر 86 ± 6 ٪ بوده است (۲).

آنالیز آماری:

داده ها ابتدا بوسیله نرم افزار آماری SAS(9.2) و به کمک رویه GLM آنالیز شد و میانگین ها نیز بوسیله تست حداقل میانگین مورد مقایسه قرار گرفت. و در مرحله بعد به کمک مرجع نرمال فیزیولوژیک ($\text{Means} \pm \text{Sd}$) مورد بررسی قرار گرفت (۸).

نتایج:

نتایج به صورت (Mean $\pm$ SEM) برای گاو مرده زا و سقطی به ترتیب $1/24 \pm 0/28$ و $1/00 \pm 0/64$ برحسب میلی گرم بر گرم بافت کبد تازه محاسبه گردید و برای شاخص بافت هم به همین ترتیب نتایج گزارش شد. میانگین اسکور بافت برای مرده زایی $1/89 \pm 0/36$ و سقط $2/25 \pm 0/43$ بدست آمد. بررسی گروهی بین گوساله ها نشان داد که تفاوتی بین گاو مرده زا ($n=13$) و سقطی ($n=3$) از لحاظ ذخیره گلیکوژن ($P<0/05$) و بافت کبد (تعداد مرده زا ۶ عدد و سقط ۴ عدد) ($P<0/05$) وجود ندارد. (جدول ۱).

جدول ۱- اسکور بافت و گلیکوژن کبد (خطای معیار $\pm$ میانگین)

تیمار	اسکور بافت کبد	گلیکوژن کبد (mg/gr)
سقط	$2/25 \pm 0/43$	$1/00 \pm 0/64$
مرده زایی	$1/89 \pm 0/36$	$1/24 \pm 0/28$
p value	0/05	0/74

نتیجه گیری:

نتایج نشان داد تفاوت آماری از نظر گلیکوژن کبد بین دو گروه سقط و مرده زایی وجود نداشت. برای نتیجه گیری، مرجع نرمال موجود در مطالعه (Schmidt and et al., 2004) البته با تغییر واحد استفاده شد (۲) که بیان می کند گلیکوژن کبد گوساله سالم در بدو تولد $3/5 \pm 1$ (Mean $\pm$ sd) باید باشد تا احتمال مرگ کاهش یابد. مقایسه مرجع نرمال و نتایج حاصل طرح نشان می دهد که در کل گلیکوژن کبدی گوساله های سقطی و مرده زایی کمتر از حداقل می باشند و از طرفی اسکور مطلوب بافت کبد ۱ می باشد که باز هم هردو گروه انحراف چشم گیری از مقدار نرمال دارند. مطالعه موردی نیز نشان داد که در بین گوساله های سقطی ۳ از ۴ (۷۵٪) و مرده زایی ۵ از ۶ (۸۳٪) بافت کبد تخریب شده دارند و از لحاظ ذخیره گلیکوژن کبد نیز ۱۱ از ۱۳ (۸۴٪) در گوساله مرده زایی و ۳ از ۳ (۱۰۰٪) گوساله سقطی کمتر از حد اقل نرمال بودند. نتیجه اینکه عامل مرده زایی و سقط هرچه که باشد بیشترین اثر خود را بر کبد می گذارد و کبد نقش اساسی در زنده ماندن بعد تولد نوزاد دارد. لذا بررسی موادی که بتواند موجب افزایش ذخیره گلیکوژن کبد گوساله شود می تواند در زنده ماندن بعد تولد نوزاد را تضمین کند. به عنوان پیشنهاد استفاده از گلوکوکورتیکوئیدها می تواند گزینه مناسبی جهت مطالعات بعدی باشد (۲).

منابع:

۱. ادیب مرادی، م، مطالعه هیستولوژی و هیستوشیمی کبد اسبچه خزاز نظر میزان گلیکوژن کبدی، فصل نامه پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، دوره ۱۹، شماره ۲، صص ۷۵-۱۳۸۵.
۲. زاهدی اصل، ص، اثر عصاره کلروفومی گندی تلخه (*Securigera securidaca*) روی قند خون سرم و گلیکوژن کبدی موش سوری مجله علوم پزشکی کرمان، دوره ۱۲، شماره ۱، صص ۳۸-۳۲، ۱۳۸۳.

۳. عسکری حصنی، م، تاثیر ماده شوینده برگلوکز خون گلیکوژن وساختار کبد ماهی کپور معمولی (Cyprinus carpio) دوازدهمین همایش بهداشت محیط ایران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده بهداشت سال ۱۳۸۸.

4. Berglund, B., L. Steinbock and M. Elvander.2003. Causes of Stillbirth and Time of Death in Swedish Holstein Calves Examined Post Mortem. Acta vet. scand. 44: 111-120.
5. Bicalho, R.C., K.N. Galvao, L.D. Warnick And C.L. Guard.2008. Stillbirth parturition reduces milk production in Holstein cows. Preventive Veterinary Medicine. 84: 112-120.
6. Danijela, K., M. Lazarevi, V. Stoji, H. Amanc, I. Vujanac, O. Nedi and R. Masnikosa.2011. Hormonal status and regulation of glycemia in neonatal calves during the first hours of postnatal life. Acta Veterinaria (Beograd), Vol. 61, No. 4, 349-361.
7. Hammon, H.M., S. N. Sauter, M. Reist, Y. Zbinden, C. Philipona, C. Morel and J. W. Blum.2003. Dexamethasone and colostrum feeding affect hepatic gluconeogenic enzymes differently in neonatal calves. J ANIM SCI. 81:3095-3106.
8. Schmidt, M., P.T. Sangild, W. Blum, J.B. Andersen and T. Greve.2004. Combined ACTH and glucocorticoid treatment improves survival and organ maturation in premature newborn calves. Theriogenology. 61:1729-1744.
9. Rafati, N., H. Mehrabani-Yeganeh, H. Timothy E. 2010. Risk factors for abortion in dairy cows from commercial Holstein dairy herds in the Tehran region. Preventive Veterinary Medicine 96: 170-178.

The study of glycogen storage and liver tissue of stillborn calves and aborted fetus
Mohsen Rahimi andani^{1*}, Seyed Amir Hosein Mahdavi², Hamid Reza Rahmani², Bahareh Dolatkhan¹ and Ali Kahiyan¹

* Corresponding E-mail address: mohsen rahimi andani: m.rahimiandani@ag.iut.ac.ir

Abstract:

The main function of the liver as the most vital body's organs is supply of blood glucose. Some studies have shown that liver glycogen of premature calves with high mortality rate, is very low compared with normal calves. Therefore, the study of histological characteristics of stillborn calves or aborted fetus is so useful to understand this alteration. Twenty two calves' Livers were collected from farm's hospital during 7 months (15 stillbirth and 7 abortion) Study of glycogen storage and health of liver tissue was our experimental traits Data were analyzed by the statistical software of SAS (9.2) and GLM procedures and the averages were compared by testing LS Means. In the next stage, data were studied with normal physiological Reference (Means $\pm$ Sd). The Results for liver glycogen of stillborn calves and aborted fetus were $1/24 \pm 2/8$ and $1/00 \pm 0/64$ (mg/gr liver), respectively. Furthermore, average score of liver tissue were reported for each group $1/89 \pm 0/36$ and $2/25 \pm 0/43$ for stillbirth and abortion respectively. Results did not show significant differences for liver's glycogen and tissue ($p > 0/05$) between two groups. All the result of the present study were lower than reported normal ranges.

Key words: liver glycogen - stillbirths - abortion - Histology



همبستگی مابین پروتئین پلاسمای منی و بعضی پارامترهای تولید مثلی قوچ مغانی در فصل و خارج فصل تولید مثلی
سجاد فاطمی سید بگلو^{۱*}، صالح طباطبائی وکیلی^۲، مرتضی ممویی^۳، سیامک قضایی^۳، طاهره محمدآبادی^۲، سولماز فتحی^۴
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، ۲- اعضاء هیئت علمی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ۳- عضو هیئت علمی
دانشگاه محقق اردبیلی، ۴- کارشناس ارشد مامایی

Email: sjd.fatemi@gmail.com

چکیده:

هدف از مطالعه حاضر، بررسی تغییرات فصلی غلظت اختلاف غلظت پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین سرم خون و پلاسمای منی و ارتباط آن با برخی فراسنجه‌های تولیدمثلی در قوچ نژاد مغانی بود. تعداد ۸ راس قوچ ۲-۳ ساله به ظاهر سالم نژاد مغانی برای این تحقیق بکار رفت. خونگیری از ورید وداج و اسپرم‌گیری توسط واژن مصنوعی از قوچها هر دو هفته یکبار برای سه بار در دو فصل تولید مثلی (پاییز) و غیر تولید مثلی (زمستان و بهار) انجام گرفت. اختلاف غلظت پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین سرم خون، پروتئین کل و گلوبولین پلاسمای منی با تمام فراسنجه‌های تولید مثلی شامل حجم بیضه، مقادیر انزال، درصد تحرک پیش رونده اسپرمها، درصد اسپرم‌های زنده بین فصل تولید مثل و خارج تولید مثل معنی‌دار بود. بین غلظت پروتئین کل و آلبومین سرم خون و همچنین مابین پروتئین کل و غلظت گلوبولین پلاسمای منی با حجم انزال، درصد اسپرم‌های زنده و درصد تحرک پیش‌رونده اسپرم در هر دو فصل تولید مثلی و خارج تولید مثلی همبستگی مثبت معنی‌داری وجود داشت. این مطالعه نشان داد که تغییرات فصلی غلظت پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین پلاسمای منی از عواملی است که با توجه به فصل و ویژگیهای کمی و کیفی اسپرم قوچ نژاد مغانی تغییر کرده و می‌توان از آن به عنوان مارکر بیوشیمیایی تولید مثل جهت ارزیابی پیشرفته اسپرم در پلاسمای منی کمک گرفت.

واژگان کلیدی: فصل-پروتئین کل-پارامترهای تولید مثلی.

مقدمه:

الگوی فعالیت تولید مثلی نشخوارکنندگان کوچک با تغییرات فصلی در منطقه بومی که ساکن هستند شکل می‌گیرد (گون دوغان، ۲۰۰۵). در فصل تولید مثلی، از قوچ‌های ممتاز به‌طور وسیعی برای جفت‌گیری یا به عنوان دهنده اسپرم برای بهبود ژنتیکی استفاده می‌گردد. دوره‌های نوری به عنوان سیگنال اصلی جهت تنظیم سیکل تولید مثلی در چندین گونه پستان‌داران می‌باشد، تغییرات فصلی منجر به مجموعه تغییراتی از نظر سایز بیضه، وزن و ترشح، تولید اسپرم، فعالیت جفت‌گیری و باروری در نرها می‌گردد (ینی، ۲۰۱۰). فصل تولید مثل برخی گونه‌ها (مانند گوسفند و بز)، با کوتاه شدن دوره روشنایی روزانه، آغاز می‌شود و از این رو، آنها را Short-day breeder نامیده‌اند. بیشترین فعالیت تولید مثلی قوچ و بز در پاییز دیده می‌شود. اندازه بیضه‌ها تغییرات فصلی نشان می‌دهد؛ به‌ویژه در نژادهای وحشی مانند گوسفند بربری. (ضمیری، ۱۳۸۵). پلاسمای منی یک مایع خارج سلولی است و محیط مناسبی جهت انتقال اسپرم‌ها را فراهم می‌کند و همچنین می‌تواند بر مورفولوژی اسپرم‌ها، تحرک، واکنش آکروزومی و باروری آنها اثر بگذارد (ینی، ۲۰۱۰). ارزیابی اثر تغییرات فصل بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی پلاسمای منی و نیز ارتباط ترکیبات پلاسمای منی با ویژگی کیفی اسپرم‌ها خیلی کمتر مورد توجه قرار گرفته است. با تحقیقات و آگاهی بیشتر درباره فیزیولوژی تولید مثل قوچ منجر به بهبود ضریب تولید مثل، برنامه‌های اصلاح نژادی و نرخ اصلاح نژاد می‌گردد (گون دوغان، ۲۰۰۵). بسیاری از متابولیت‌ها و آنزیم‌های پلاسمای منی شناسایی شده‌اند که نقش فیزیولوژیکی بسیاری از آنها در حال حاضر نیز درهاله‌ای از ابهام



قرار دارد (ماتسوکو، ۲۰۰۶). سطح کربونیل پروتئین (PCO) پلاسمای منی قوچ در پاییز و زمستان تفاوت معنی داری با هم دارند، درصد اکسیداسیون پروتئین آن در فصل تولید مثلی بالا می‌باشد که حاکی از این قضیه می‌باشد که اکسیداسیون پروتئین منی می‌تواند برای کارکرد اسپرم مهم باشد (ینی و همکاران، ۲۰۱۰).

مواد و روش‌ها:

آزمایش حاضر در ایستگاه اصلاح نژاد گوسفند مغانی جعفرآبادمغان واقع در شمال استان اردبیل، به طول جغرافیایی ۲۶°، ۵'، ۴۸° و به عرض جغرافیایی ۲۰°، ۲۶'، ۳۹°، به ارتفاع ۶۰ متر از سطح دریا واقع می‌باشد انجام شد. در این مطالعه از هشت قوچ بالغ بارور با سنین مابین ۲-۳ سال و با یک وزن زنده ۶۵-۶۰ کیلوگرم استفاده گردید. در طول مدت آزمایش حیوانات با دوره‌های نوری طبیعی نگهداری شده‌اند، قوچ‌ها بطور جداگانه از میش‌ها نگهداری و پرورش می‌یابند و در طول آزمایش قوچ‌ها از تغذیه و مدیریت یکسانی برخوردار بودند. جمع‌آوری منی با استفاده از واژن مصنوعی نوع گوسفندی انجام گرفت، لوله‌های جمع‌آوری اسپرم پس از کشیدن سلفون بر روی آن (برای جلوگیری از ورود گرد و خاک) در فلاسکی دارای آب ۳۷ درجه سانتی گراد گذاشته شدند و در کمترین زمان ممکن به آزمایشگاه ایستگاه دامپروری انتقال یافتند. همه انزال‌ها برای مقدار (ml) به‌طور مستقیم در لوله منی مدرج انجام می‌شد، ارزیابی اسپرم برای تحرک پیش رونده، یک نمونه رقیق شده اسپرم را روی لام گرم با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و با استفاده از میکروسکوپ (400 magnification ×) بصورت تخمین چشمی ارزیابی می‌شد، درصد اسپرم زنده (پس از رنگ آمیزی اتوزین-نگروزین) با یک میکروسکوپ ساده (1000 magnification ×)، پس از ارزیابی کیفی منی، نمونه‌های منی سانتریفیوژ و پلاسمای منی جدا شده تا زمان آنالیز متابولیت‌ها و آنزیم‌ها آنها در دمای ۲۰°C- ذخیره شدند. خون‌گیری از سیاهرگ و داج گردن انجام شد. نمونه‌های خون در آزمایشگاه سانتریفیوژ و سرم خون جدا شده تا زمان آنالیز متابولیت‌ها و آنزیم‌ها در دمای ۲۰°C- ذخیره شد. داده‌های حاصل از این طرح با استفاده از برنامه نرم افزاری SAS مورد آنالیز قرار گرفت. همبستگی بین غلظت تستوسترون سرم خون و فراسنجه‌های کمی و کیفی اسپرم در فصل تولید مثل و خارج تولید مثل توسط آزمون همبستگی دو متغیره پیرسون مورد آنالیز قرار گرفت. تفاوت غلظت تستوسترون سرم خون و فراسنجه‌های کمی و کیفی اسپرم بین فصل تولید مثل و غیر تولید مثل با استفاده از آزمون t جفت نمونه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج:

اختلاف غلظت پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین سرم خون و غلظت پروتئین کل و گلوبولین پلاسمای منی، همچنین تمام فراسنجه‌های تولید مثلی شامل حجم بیضه، مقدار انزال، تحرک پیش‌رونده اسپرم‌ها، درصد اسپرم‌های زنده و بین فصل تولید مثل و خارج فصل تولید مثل در قوچ نژاد مغانی، بسیار معنی دار بوده است ($P < 0.01$) جداول شماره‌های (۲، ۳). همبستگی مثبت معنی داری بین غلظت پروتئین کل سرم خون و حجم بیضه ($P < 0.01$, $r = 0.51$)، حجم انزال ($P < 0.01$, $r = 0.7$)، تحرک پیش‌رونده ($P < 0.01$, $r = 0.76$) و اسپرم زنده ($P < 0.01$, $r = 0.55$) وجود داشت. همبستگی مثبت معنی داری بین غلظت آلبومین سرم خون و حجم انزال ($P < 0.01$, $r = 0.62$)، تحرک پیش‌رونده ($P < 0.01$, $r = 0.49$) و اسپرم زنده ($P < 0.01$)، $r = 0.37$ وجود داشته است. همبستگی منفی معنی داری بین غلظت گلوبولین سرم خون و حجم بیضه ($P < 0.01$, $r = -0.50$)

مشاهده گردید. همبستگی مثبت معنی داری بین غلظت پروتئین کل پلاسما می و حجم انزال ($P < 0.01$, $r = 0.61$)، تحرک پیش‌رونده ($P < 0.01$, $r = 0.51$) و اسپرم زنده ($P < 0.01$, $r = 0.46$) وجود داشته است. همبستگی مثبت معنی داری بین غلظت گلوبولین پلاسما می و حجم انزال ($P < 0.01$, $r = 0.75$)، تحرک پیش‌رونده ($P < 0.01$, $r = 0.50$) و اسپرم زنده ($P < 0.01$, $r = 0.51$) مشاهده گردید.

جدول ۱: مقایسه تغییرات حجم بیضه، مقدار انزال، تحرک جلو رونده اسپرم، اسپرم زنده در فصل و خارج فصل تولید مثلی قوچ مغانی.

a-b: اختلاف بین ستون ها را در سطح ($P < 0.01$) نشان می‌دهند.

جدول ۲: مقایسه تغییرات پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین و آلبومین/گلوبولین خون قوچ مغانی در فصل و خارج فصل تولید مثلی.

فصل	n	پروتئین کل (g/dl)	آلبومین (g/dl)	گلوبولین (g/dl)	گلوبولین/آلبومین
فصل تولید مثلی	۲۴	0.051 ± 0.007	0.063 ± 0.004	0.093 ± 0.003	0.052 ± 0.002
غیر فصل تولید مثلی	۲۴	0.051 ± 0.006	0.063 ± 0.003	0.093 ± 0.003	0.052 ± 0.002

a-b: اختلاف بین ستون ها را در سطح ($P < 0.01$) نشان می‌دهند.

بحث:

اثر فصل بر ویژگی تولید مثلی چندین نژاد قوچ قبل از گزارش شده است (ضمیری و همکاران، ۲۰۱۰: ۲۰۱۰: گون دوغان، ۲۰۰۶: دوغان، ۲۰۰۹). بهر حال این گزارش اولین مطالعه همبستگی مابین تغییرات منی و ویژگی‌های بیضه نژاد مغانی موجود در ایران با پروتئین کل آلبومین و گلوبولین سرم خون و پلاسما می در فصل و خارج فصل تولید مثلی می‌باشد. سایز بیضه یک ویژگی کاملاً ارثی می‌باشد و به عنوان شاخص مهمی تولید اسژرم در قوچ در نظر گرفته می‌باشد. حرارت محیط، طول روز، کیفیت خوراک و افزایش میانگین وزن روزانه پامترهای اصلی تاثیر گذار روی اندازه بیضه می‌باشند (ضمیری و همکاران، ۲۰۱۰). در مطالعه حاضر از

فصل	n	حجم بیضه (میلی لیتر)	مقدار انزال (میلی لیتر)	تحرک جلورونده (%)	اسپرم زنده
فصل تولید مثلی	۲۴	45.046 ± 11.91	0.028 ± 0.003	1.236 ± 0.083	0.0746 ± 0.006
غیر فصل تولید مثلی	۲۴	45.046 ± 9.86	0.028 ± 0.004	1.210 ± 0.070	0.0730 ± 0.005

قوچ‌های بالغ با سن ۳-۴ سال استفاده و تغییرات وزن ناچیزی در طول آزمایش وجود داشت، بنابراین تغییرات وزن روی حجم بیضه بنظر نمی‌رسد موثر باشد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد، به‌طور قابل توجهی غلظت پروتئین کل آلبومین و گلوبولین خون در قوچ‌های نژاد مغانی تابع تغییرات فصلی بوده که بین فصل تولید مثلی و خارج فصل تولید مثلی از لحاظ سطوح خونی این پارامتر مهم تفاوت‌های معنی‌داری مشاهده شده است ($P < 0.01$). بین تغییرات فصلی غلظت پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین خون و ویژگی‌های کمی و کیفی منی در دو فصل همبستگی بسیار معنی‌داری مشاهده شده است ($P < 0.01$). پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین ترکیب اصلی در پلاسما می است. در مطالعه حال حاضر بیشترین و کمترین غلظت پروتئین کل،

آلبومین و گلوبولین در فصل و خارج فصل تولید مثل مشاهده گردید که در پروتئین کل و گلوبولین کاملاً معنی‌دار ولی در مقدار آلبومین معنی‌دار نمی‌باشند، همچنین نرخ آلبومین به گلوبولین مابین فصل‌ها معنی‌دار نمی‌باشند. و نتایج موجود نشان می‌دهد که روند تغییرات سطوح پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین در پلاسمای منی و سرم خون قوچهای نژاد مغانی در دو فصل ارتباط و همبستگی بسیار نزدیکی با ویژگی‌های کمی و کیفی منی دارد. بنابراین افزایش سطوح پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین در فصل تولید مثلی با افزایش حجم بیضه، مقادیر انزال، افزایش درصد تحرک پیش رونده اسپرمها، افزایش درصد اسپرم‌های زنده همراه خواهد بود؛ و این مسئله می‌تواند پتانسیل بارورکنندگی قوچها را در فصل تولید مثلی در مقایسه با فصل غیر تولید مثلی افزایش دهد. در مطالعه مارتیا، ۲۰۰۷ روی قوچ نشان داده شد که پروتئین پلاسمای منی در طی فصل تولید مثل بالا می‌باشد و پروتئین پلاسمای منی ظرفیت بالایی در رکاوری و پیشگیری از شوک سرمایی و آسیب غشا سطح سلول‌های اسپرم را دارد.

جدول ۳: مقایسه تغییرات پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین و آلبومین/گلوبولین منی قوچ مغانی در فصل و خارج فصل تولید مثلی.

فصل	n	(g/dl) پروتئین کل	(g/dl) آلبومین	(g/dl) گلوبولین	گلوبولین/آلبومین
فصل تولید مثلی	۲۴	$^{a}0.93 \pm 0.057$	$^{a}0.64 \pm 0.055$	$^{a}0.64 \pm 0.0302$	$^{a}0.64 \pm 0.084$
غیر فصل تولید مثلی	۲۴	$^{b}0.91 \pm 0.069$	$^{a}0.63 \pm 0.052$	$^{b}0.63 \pm 0.0217$	$^{a}0.63 \pm 0.119$

a-b: اختلاف بین ستون‌ها را در سطح ($P < 0.01$) نشان می‌دهند.

منابع:

۱. ضمیری، م.ج. ۱۳۸۵. فیزیولوژی تولید مثل. چاپ اول، انتشارات حق شناس، رشت. ص ۳۱.
2. Dogan, I., Polat, U., and Nur, Z. 2009. Correlations between seminal plasma enzyme activities and semen parameters in seminal fluid of Arabian horses. Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University. 10(2): 119-124.
3. Gundogan, M. 2006. Some reproductive parameters and seminal plasma constituents in relation to season in Akkaraman and Awassi rams. Turk. J. V. Anim. Sci. 30: 95-100.
4. Martia, E., Marab, L., Martic, J.I., Muino-blanco, T., and Cebrian-pereza, J.A. 2007. Seasonal variations in antioxidant enzyme activity in ram seminal plasma. International Journal of animal reproduction. 67(9): 1446-1445.
5. Matsuoko, T., Imai, H., Asakuma, S., Kohno, H., and Fukui, Y. 2006. Change of fructose concentration in seminal plasma and glucose and testosterone concentration in blood plasma in rams over the course of a year. Journal of reproduction and development. 52(6): 805-810.
6. Yeni, D., Gondogan, M., Cigerici, I.H., Avdatek, F., and Fidan, f. 2010. Seasonal variation of oxidative stress parameters in ram seminal plasma. Medwell journals. 9(1): 49-54. Zamiri, M.J., Khalili, B., Jafaroghli, M., Farshad, A. 2010. Seasonal variation in seminal parameters, testicular size, and plasma testosterone concentration in Iranian Moghani rams. Small Ruminant Research 94: 132-136.

Correlations between proteins concentration in blood and Seminal plasma with semen parameters in out-off and in-breeding season of

Moghani rams

S . Fatemei seyed baglu^{1*}, S. Tabatabaei vakili², M. Mamouei², S. Ghazaei³, T. Mohammad abadi² and S. Fathi⁴

1,2-Department of Animal Sciences, Ramin Agricultural and Natural Resources University, Mollasani, Khuzestan, Iran, 3- Department of Animal Sciences, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran, 4- Msc of midwifery

Email: sjd.fatemi@gmail.com

Abstract

The aim of this study was to evaluate the seasonal changes of Total Protein, Albomin and Glubolin concentration in blood serum and Semen Plasma its association with some of reproductive parameters in Moghani breed rams. Total of 8 rams with 2-3 years old were used for this research. Blood collection from jugular vain and semen collection with were Artificial vagina performed from all rams every 2 weeks for 3 series in breeding (Autumn) and non breeding (Winter and spring) seasons. The difference of blood serum Total Protein, Albomin and Glubolin concentration, Total Protein and Glubolin all reproduction parameters include spermatozoa progressive motility, Semen volume, live spermatozoa percent and volume testis between breeding and non breeding seasons were significant. There was positive correlation between blood serum Total Protein, Albomin and as well as between Total Protein and Glubolin plasma semen concentration and Semen volume, spermatozoa progressive motility and live spermatozoa percent in breeding and non breeding seasons. This study showed that the seasonal variation concentrations of total protein, albumin and globulin changes in semen of which according to season and trait RAM sperm race can change and it moghani as biochemical markers for advanced topics assessment of reproductive sperm in semen plasma.

Keywords: Season-Total protein- Rreproductive parameters.

بررسی هورمونهای تیروئیدی در گاوهای هلشتاین بعد از سقط و مرده‌زایی

محسن رحیمی اندانی^{۱*}، سید امیرحسین مهدوی^۲، حمیدرضا رحمانی^۳، بهاره دولتنخواه^۴ و علی کهبانی^۱

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد علوم دامی دانشگاه صنعتی اصفهان ۲-هیئت علمی دانشگاه صنعتی اصفهان

^{*}نویسنده مسئول: محسن رحیمی اندانی، اصفهان- دانشگاه صنعتی اصفهان- دانشکده کشاورزی- گروه علوم دامی

پست الکترونیک: M.rahimiandani@ag.iut.ac.ir

چکیده:

تیروئید مهمترین غده تنظیم کننده سوخت و ساز بدن می باشد. تیروکسین و تری یدوتیرونین از اصلی ترین هورمونهای تیروئیدی اند. تیروکسین قابلیت تبدیل شدن به تری یدو تیرونین را دارد. ۸۰٪ تری یدوتیرونین موجود در بدن از تیروکسین حاصل شده است. T₃ فرم فعال T₄ می باشد. به علت ارتباط تنگاتنگ این دو، در مطالعات هردو هورمون با هم اندازه گیری می شوند. در این تحقیق میزان هورمونهای تیروئیدی در گاوهای سقطی و مرده زا مورد بررسی قرار گرفت. نمونه های خون از گاوهای سقطی و مرده زای، گاوداری فکا جمع آوری شد. بعد از استخراج پلاسما نمونه ها جهت اندازه گیری T₃ و T₄ به آزمایشگاه فرستاده شد. داده ها بوسیله نرم افزار آماری SAS(9.2) و به کمک رویه GLM آنالیز شد. میانگین ها نیز بوسیله تست حداقل میانگین مورد مقایسه قرار گرفت. در مرحله بعد داده ها به کمک مرجع نرمال فیزیولوژیک (Means±Sd) مورد بررسی قرار گرفت. غلظت T₄ به صورت (Mean±SEM) برای گاو مرده زا و سقطی به ترتیب ۵۵/۴۸±۶۷/۰۷ و ۳۲/۰۷±۶۷/۰۷ و T₃ نیز به ترتیب ۱/۵۹±۰/۲۴ و ۱/۶۶±۰/۲۹ برحسب نانومول برلیتر بود. بررسی گروهی بین گاوها نشان داد که تفاوتی بین گاو مرده زا (n=۶) و سقطی (n=۴) از لحاظ T₃ (P<۰/۵۸) وجود ندارد. T₄ نتوانست تفاوت آشکاری بین گروه ها نشان دهد (P<۰/۰۸). تنها نسبت بین دو هورمون T₃ و T₄، نتوانست تفاوت بین گروه ها را به وضوح نشان دهد (P<۰/۰۳). بررسی موردی نیز کمبود هورمونهای تیروئیدی در هر دو گروه نسبت به مرجع نرمال را نشان داد.

واژه های کلیدی: هورمونهای تیروئیدی- تیروکسین- تری یدوتیرونین- سقط جنین-مرده زایی

مقدمه:

اصطلاح مرده زایی به معنی تولد گوساله مرده بعد از ۲۶۰ روز آبدستی و یا مرگ نوزاد کمی قبل، حین و یا کمی بعد تولد می باشد (۳). سقط جنین نیز به خروج جنین مرده و یا جنین زنده به صورت نارس، از روز ۲۶۰-۱۰۰ آبدستی اطلاق می شود (۲). از حدود ۱۰ سال پیش تا کنون، میزان مرده زایی در اکثر کشور های جهان افزایش یافته است. در سالهای ۲۰۰۵ و ۲۰۰۶ در امریکا مرده زایی ۶،۵٪ بوده است (۳). ایران نیز از این قاعده مستثنی نبوده و مرده زایی در آن به حدود ۸ تا ۱۴ درصد رسیده است (۱۰). مرده زایی علاوه بر خسارت تلف شدن گوساله موجب کاهش تولید شیر ۱/۱ کیلوگرم در روز می شود که با مشکلات موثر بر تولید مثل ورم پستان و لنگش برابری می کند. بررسی فیزیولوژیک سقط جنین و مرده زایی موجب افزایش اطلاعات پس زمینه ای می شود که برای مدیریت و اصلاح نژاد مهم می باشد (۶). مهمترین بافت از نظر فیزیولوژی، بافت خون است به عنوان مثال شمار گلبول سفید و به ویژه نوتروفیل، هورمون تیروکسین، پروتئین خون بالا برای مشکلات تولید مثلی شاخص

خوبی است (۱). هورمونهای تیروئیدی به علت نقش فراوان در متابولیسم و رشد بیشتر از هرهورمونی مورد توجه بوده اند. این هورمونها از قبل تولد در نوزاد فعالیت دارند بدین صورت که بعد از تحریک غده تیروئید توسط گلوکوکورتیکوئیدها و تولید T_3 ، این هورمون در اثر مکانیسم خودتنظیمی مثبت موجب افزایش کورتیزول می شود که این فرآیند موجب بلوغ ارگانها و شروع زایمان می شود. در بعد تولد نیز کمبود اکسیژن و کمبود قند به همراه T_4 زیاد ناشی از عدم تبدیل به T_3 (۵) موجب درست عمل نکردن سیستم ترموستات بدن و مستعد بیماری و مرگ بودن نوزاد می شود. بعد تولد متابولیسم ۳ برابر دوران جنینی باید باشد که این متابولیسم را هورمون T_3 می تواند هدایت کند. T_4 بالا و کورتیزول کم در گوساله هایی که در روز اول تولد مرده اند گزارش شده است. بنابراین بررسی هورمونهای تیروئیدی درمواقع سقط ومرده زایی می تواند چگونگی این اتفاق را روشن سازد.

مواد و روش ها:

نمونه های این طرح از دامداری فکا واقع در ۲۰ کیلومتری جنوب شرق اصفهان جمع آوری شد این دامداری دارای ۶۸۰۰ راس گاو شامل ۲۸۰۰ راس دوشا می باشد. تعداد نوبت های غذایی و شیردوشی ۳ بار در طی شبانه روز و مصرف جیره به صورت TMR است. در این تحقیق از تعداد ۱۰ راس گاو (۶ راس مرده زایی و ۴ راس سقطی) که طی ۵ ماه (مرداد تا آبان ماه سال ۱۳۹۰) استفاده شد. بدین صورت که به محض وقوع مرده زایی یا تشخیص سقط توسط دامپزشک اطلاع رسانی می شد و در اولین فرصت با مراجعه به گاو داری نمونه گیری انجام گردید. در هر مورد از سیاهرگ دمی مادر بوسیله سوزن یکبار مصرف با دهانه ۲۱ به همراه نگهدارنده ۲ نمونه خون داخل لوله خلاء آغشته به هپارین جمع آوری شد. (۱۱). یک نمونه به صورت خون کامل جهت آزمایش CBC (complete blood count) در دمای ۵ درجه و نمونه دیگر در محل آزمایشگاه دامداری فکا جهت جدا سازی پلاسما، سانتریفوژ (با دور ۴۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه) گردید. پلاسما حاصل بوسیله نمونه گیر داخل دو اپندرف جمع آوری و در دمای ۲۰- فریزرو نگهداری شد (۴). تا بعد از اتمام طرح جهت آزمایش هورمونهای T_3 و T_4 استفاده گردد.

آنالیز آماری:

داده ها بوسیله نرم افزار آماری SAS (9.2) و رویه GLM آنالیز شد. میانگین ها نیز بوسیله تست حداقل میانگین مورد مقایسه قرار گرفت. و برای هورمون های تیروئیدی از دامنه نرمال فیزیولوژیکی موجود در منابع به عنوان مرجع مقایسه استفاده گردید ($Mean \pm Sd$). دامنه نرمال T_4 برای گاو سقطی و مرده زایی به ترتیب ۲۶-۳۲ و ۶۰-۳۱/۴۸ و دامنه نرمال T_3 نیز به ترتیب ۲/۳۰-۲/۰۷ و ۲/۹۶-۱/۴۸ از منابع استخراج شد (۹ و ۷).

نتایج:

نتایج T_4 به صورت ($Mean \pm SEM$) برای گاو مرده زا و سقطی به ترتیب ۳۲/۰۰ $\pm$ ۷/۵ و ۵۵/۴۸ $\pm$ ۸/۷ و T_3 نیز به همین ترتیب ۱/۵۹ $\pm$ ۰/۲۴ و ۱/۶۶ $\pm$ ۰/۲۹ برحسب نانومول برلیتر بود. اندازه گیری هورمونهای تیروئیدی نشان داد که هورمون تری یدوتیرونین بین دو گروه سقط (۴ راس) و مرده زایی (۶ راس) تفاوت معنی داری ندارد. هورمون تیروکسین نیز نتوانست تفاوت آشکاری بین گروه ها نشان دهد. اما نسبت بین این دو هورمون بین دو گروه معنی دار بود. نتایج این بررسی به طور خلاصه در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- بررسی ارتباط بین هورمونهای تیروئیدی در گاو های سقطی (n=۴) و مرده زایی (n=۶) (خطای معیار میانگین)

تیما	T4 (nmol/ dl)	T3 (nmol/ dl)	نسبت T3 به T4 (nmol/dl)
سقط	۷±۵۵/۴۸ ۸/	۶۶±۰/۲۹ ۱/	a. ۰/۰۳۲±۰/۰۰۳
مرده زایی	۵±۳۲/۰۰ ۷/	۵۹±۰/۲۴ ۱/	b. ۰/۰۴۵±۰/۰۰۳
p value	۰/۰۸	۰/۵۸	۰/۰۳

ab حروف غیرمشابه در هر ستون برای میانگین ها، نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح (p<0.05) می باشد

نتیجه گیری:

همانطور که ملاحظه شد تنها فقط نسبت بین هورمونهای تیروئیدی توانست تفاوت آشکاری را بین دو گروه سقط و مرده زایی نشان دهد. این نسبت بیان می کند که در گاو های سقطی اختلالی در تبدیل T4 به T3 وجود دارد که نتیجه آن افزایش T4 نسبت به T3 است. این کمبود T3 می تواند موجب خسارت به گاو و وقوع سقط شود. شایان ذکر است به طور معمول هورمونهای تیروئیدی آخر بارداری کم می شوند ولی در این تحقیق دیدیم که در گاو های سقطی که معمولا زمان بارداری ۷ ماه دارند، نسبت T3 به T4 کمتری در برابر گاو های مرده زا با حد اقل ۹ ماه بارداری، دارند. مطالعه موردی بوسیله مرجع نرمال فیزیولوژیک نشان داد که در گاو مرده زا تعداد ۳ راس از ۶ راس T4 و ۳ کمتر از نرمال و ۳ راس T3 و ۴ نرمال دارند در مورد گاوهای سقطی نیز همگی (۴ راس) T4 نرمال دارند و T3 نیز جز در یک مورد (۷۵٪) کمتر از نرمال می باشد. بررسی موردی به وضوح نشان داد که در هر دو گروه گاو سقطی و مرده زا کمبود هورمونهای تیروئیدی وجود دارد و اثر این امر در گاو بار دار از طریق سقط و مرده زایی و تولد نوزاد ضعیف نمایان می شود لذا توصیه می شود جهت بررسی صفات تولید مثلی هورمونهای تیروئیدی بیش از پیش مدنظر قرار گیرد.

Reference:

1. A, A., M. Tharwat and F.A. Al-sobayil. 2010. Hormonal, biochemical, and hematological profiles in female camels (*Camelus dromedarius*) affected with reproductive disorders. *Animal Reproduction Science*. 118 : 372–376.
2. Berglund, B., L. Steinbock and M. Elvander. 2003. Causes of Stillbirth and Time of Death in Swedish Holstein Calves Examined Post Mortem. *Acta vet. scand.* 44: 111-120.
3. Bicalho, R.C., K.N. Galvao, L.D. Warnick And C.L. Guard. 2008. Stillbirth parturition reduces milk production in Holstein cows. *Preventive Veterinary Medicine*. 84 : 112–120.

4. Chassagne, m., J.barnouin and j.p.Chacornac.1999.Risk factor stillbirth in holestien heifer under field condition infrance:a prespectiv survey.Thriogenology 56:1477-1488.
5. Contreras,P.A., R.Matamoros, R.Monroy, J.Kruze, V.Leyan, M.Andaur, Bohmvald and F.Wittwer.2002. Effect of a Selenium-Deficient Diet on Blood Values of T3 andT4 in Cows. Comp Clin Path.11:65-70.
6. Danijela,K.,M. Lazarevi, V. Stoji, H. Amanc,I. Vujanac,O. Nedi and R. Masnikosa.2011. Hormonal statuse And regulation of glycemia In neonatal calves during The first hours of postnatal life. Acta Veterinaria (Beograd), Vol. 61, No. 4, 349-361.
7. Djokovic,R., H. Samanc, M. Jovanovic and Z. Nikolic.2007. Blood Concentrations of Thyroid Hormones and lipids and Content of Lipids in the Liver in Dairy Cows in Transitional Period. Acta Vet. BRNO. 76: 525-532.
8. Hammon, H.M., S. N. Sauter, M. Reist, Y. Zbinden, C. Philipona, C. Morel and J. W. Blum.2003. Dexamethasone and colostrum feeding affect hepatic gluconeogenic enzymes differently in neonatal calves. J ANIM SCI. 81:3095-3106.
9. Iveta,H.,H.Seidel,O. Nagy,C. Tothova and G.Kovac.2010. Concentration of Thyroid Hormones in Variuse Age Categories of Ruminants And Swine. Acta Veterinaria (Beograd), Vol. 61, No. 5-6, 489-503.
10. Rafati, N., H. Mehrabani-Yeganeh, H. Timothy E. 2010. Risk factors for abortion in dairy cows from commercial Holstein dairy herds in the Tehran region. Preventive Veterinary Medicine 96 : 170–178.
11. Zhang,W.C., T. Nakao, M. Moriyoshi, K. Nakada, T. Ohtaki, A.Y. Ribadu and Y. Tanaka.1999.The relationship between plasma oestrone sulphate concentrations in pregnant dairy cattle and calf birth weight, calf viability, placental weight and placental expulsion. Animal Reproduction Science. 54:169–178.

Evaluation of thyroid hormones after abortion and stillbirths in Holstein cattle

Mohsen Rahimi andani^{1*}, Seyed Amir Hosein Mahdavi², Hamid Reza Rahmani², Bahareh Dolatkah¹ and Ali Kahiyani¹

* Corresponding E-mail address:mohsen rahimi andani: m.rahimiandani@ag.iut.ac.ir

Abstrac:

The thyroid gland is the most important regulating metabolism gland. Thyroxine and triiodotyronine are the main thyroid hormones. Thyroxine canbe converted to triiodotyronine potentially. Eighty percent of all Triiodotyronine is made by thyroxine, i.e. T₃ is the active form of T₄. Due to the close relationship between these hormones, both T₄ and T₃ were measured in this study. In this study we measured thyroid hormone concentration in stillborn and aborted cow. Blood samples of stillborn and aborted cow were collected and centrifuged, After extraction of plasma, samples were sent to the laboratory for measuring T₃ and T₄. Data were analyzed by the statistical software of SAS (9.2) using GLM procedure. The means were compared by Lsmeans test . Data were compered with normal physiological Reference value (Means ± Sd). Blood concentration of T₄ (Meanse ± SEM) for stillborn and aborted cow, were



55/48±8/7 and 32/07±6.7 and of T₃ were 1/59±0/24 and 1/66±0/29(nmol/L) respectively. Blood T₃ and T₄(p>0/05) did not show significant difference between the groups. Only the ratio between T₃ and T₄, clearly showed the difference between the groups (p<0/05). Case study showed deficiency of thyroid hormone in both groups compared with the normal reference values.

Keywords:thyroid-thyroxine-triiodotyronine-abortion-Stillbirth

بررسی اثر ملاتونین روی شاخص‌های باروری در قوچ نژاد مغانی درخارج فصل تولیدمثلی

سجاد فاطمی سید بگلو^{۱*}، صالح طباطبائی وکیلی^۲، مسعود والی^۳، پوریا دادور^۴، ناصر روشنی علی بنه سی^۵، سولماز فتحی^۶
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، ۲- عضو هیئت علمی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ۳- کارشناسی ارشد
اصلاح دام، ۴- دانشجوی دکتری تغذیه دام، ۵- کارشناس ارشد مامایی

Email: sjd.fatemi@gmail.com

چکیده:

این مطالعه برای ارزیابی اثرات ملاتونین روی دور بیضه و پارامترهای منی بر روی تعداد ۱۰ راس قوچ نژاد مغانی با نرخ باروری مطلوب در اسفند (خارج فصل تولید مثل) در دو گروه که به شکل کاملاً تصادفی انتخاب شده بودند انجام گرفت. از اول اسفند ماه به هر یک از گروه‌های تیمار (۵ راس) بودند، پس از ضد عفونی قاعده گوش، سه عدد قرص کاشتنی ملاتونین (۱۸ میلی گرمی، ملوین) دریافت نمودند و گروه شاهد (۵ راس) هیچگونه درمانی دریافت نداشتند. در روزهای ۰، ۴۵ و ۷۰ آزمایش اندازه گیری محیط بیضه و ارزیابی منی صورت گرفت. میانگین نتایج در گروه‌های درمان و شاهد به ترتیب برای پارامترهای، دور بیضه ۳۳،۳۲ و ۳۴،۰۴ سانتی متر، اسپرم‌های غیرطبیعی ۱۳،۰۹ و ۱۵،۸۷ درصد، حجم انزال ۰،۹۲ و ۰،۸۸ میلی لیتر، غلظت اسپرماتوزوآ ۳،۱۹ و ۲،۸۳ $10^9/mL$ همچنین برای تحرک پیش رونده اسپرم‌ها ۷۶،۴ و ۷۳،۳۳ درصد بدست آمد. نتایج اندازه گیری‌ها براساس آزمایش فاکتوریل اختلاف معنی داری را در سطوح ($p < 0.01$) و ($p < 0.05$) برای دور بیضه و اسپرم‌های غیرطبیعی نشان داد و در سایر پارامترها با نبود اختلاف معنی دار، استفاده از ملاتونین بهبودی را نشان داده است. بنابراین می توان اعلام نمود که استفاده از ملاتونین در خارج فصل تولید مثل اثر مثبتی روی پارامترهای تولیدمثلی قوچ مغانی داشته است.

واژگان کلیدی: ملاتونین-قوچ مغانی- ارزیابی منی- دور بیضه

مقدمه:

الگوی فعالیت تولید مثلی نشخوارکنندگان کوچک با تغییرات فصلی در منطقه بومی که ساکن هستند شکل می گیرد (گون دوغان^۸، ۲۰۰۵). دوره‌های نوری به عنوان سیگنال اصلی جهت تنظیم سیکل تولید مثلی در چندین گونه پستانداران (ینی و همکاران، ۲۰۱۰) با تغییرات نوری که در طی فصول رخ می دهد، که یک فاکتور محدود کننده در تولید مثل گوسفند می باشد (پالاسین و همکاران، ۲۰۰۸)، تغییرات فصلی منجر به مجموعه تغییراتی از نظر ساینز بیضه، وزن و ترشح، تولید اسپرم، فعالیت جفت گیری و باروری در نرها می گردد (ینی و همکاران، ۲۰۱۰) فعالیت تولیدمثلی گوسفند در طول سال تابع عامل فتوپریود و طول روشنایی بوده و در این رابطه ترشح و غلظت هورمون ملاتونین بیشترین نقش را دارا می باشد (موسوی و سوخته زاری، ۱۳۹۰). ملاتونین که یکی از ترشحات غده اپی فیز است در تنظیم برخی پدیده های فیزیولوژی مؤثر می باشد (محمد قاسمی و همکاران، ۱۳۸۹) و با افزایش طول مدت تاریکی غلظت ملاتونین به تدریج افزایش یافته و در این زمان است که فعالیت جنسی گوسفند شروع می گردد (موسوی و سوخته زاری، ۱۳۹۰). ملاتونین دارای عملکرد نورو-هورمونی، تنظیم کننده تولید مثل، ایمنی و دما است. علاوه بر این موارد ملاتونین روی تکثیر و تزاید و تمایز سلولی اثر دارد. ضمن این که نشان داده شده که ملاتونین دارای خاصیت آنتی اکسیدانی ضعیفی روی اسپرم انسان است. گیرنده های ملاتونین روی بافت های مختلف از

جمله پروستات، سلول های پوشش اپیدیدیم و به میزان کمی روی اسپرم بیان می شوند (محمد قاسمی و همکاران، ۱۳۸۹). کاشت زیر جلدی ملاتونین برای القای رویه روز کوتاه جهت کنترل تخمک گذاری استفاده می شود. در چندین کشور اروپایی از ملاتونین از ملاتونین بصورت تجاری برای اولین بار روی میش ها استفاده گردید، کوشش هایی نیز برای بهبود کیفیت منی و باروری در قوچ ها انجام شده است (پالاسین و همکاران، ۲۰۰۸). با توجه به اینکه فصل تولید مثل گوسفند تحت تاثیر ترشح هورمون ملاتونین است، موضوع این مطالعه ارزیابی اثرات سطح معنی داری ایمپلنت های ملاتونین روی باروری قوچ های مغانی در خارج فصل تولید مثلی می باشد.

مواد و روش ها:

آزمایش حاضر در ایستگاه اصلاح نژاد گوسفند مغانی جعفرآبادمغان واقع در شمال استان اردبیل، به طول جغرافیایی $36^{\circ} 26'$ ، 48° و به عرض جغرافیایی $20^{\circ} 26'$ ، 39° ، به ارتفاع ۶۰ متر از سطح دریا واقع می باشد انجام شد. دشت مغان به عنوان مرکز اصلی برای اصلاح نژاد گوسفند مغانی در ایران می باشد. در این مطالعه از ده قوچ بالغ بارور با سنین مابین ۲-۳ سال و با یک وزن زنده ۶۵-۶۰ کیلوگرم استفاده گردید. گروهها بشکل کاملاً تصادفی انتخاب شدند. گروه تیمار و شاهد هر کدام شامل ۵ راس قوچ بودند. قوچ های گروه تیمار پس از ضد عفونی قاعده گوش به تعداد سه قرص ۱۸ میلی گرمی ملاتونین (ملووین، ۱۸ میلی گرمی، ساخت شرکت سوا فرانسه) به صورت زیر جلدی دریافت داشتند. ایمپلنت های ملووین دارای فعالیت بلند مدت، و خاصیت آزاد سازی به آهستگی ملاتونین به پلاسما در طول سه ماه را دارا می باشند. در طول مدت آزمایش حیوانات با دوره های نوری طبیعی نگهداری شده اند، قوچ ها بطور جداگانه از میش ها نگهداری و پرورش می یابند و هر دو گروه تیمار و شاهد از تغذیه و مدیریت یکسانی برخوردار بودند. در روزهای ۰، ۴۵، ۷۰ محیط بیضه ها با استفاده از نوار متر مخصوص قابل انعطاف و طول بیضه در کیسه بیضه ها را با استفاده از کولیس در هر دو گروه اندازه گیری می گردید. جمع آوری منی با استفاده از واژن مصنوعی نوع گوسفندی انجام گرفت، لوله های جمع آوری اسپرم پس از کشیدن سلفون بر روی آن (برای جلوگیری از ورود گرد و خاک) در فلاسکی دارای آب ۳۷ درجه سانتی گراد گذاشته شدند و در کمترین زمان ممکن به آزمایشگاه دامپرووری انتقال یافتند. همه انزال ها برای مقدار (ml) به طور مستقیم در لوله منی مدرج انجام می شد، ارزیابی اسپرم برای تحرک پیش رونده، یک نمونه رقیق شده اسپرم را روی لام گرم با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و با استفاده از میکروسکوپ ($400 \times magnification$) بصورت تخمین چشمی ارزیابی می شد، غلظت اسپرم ($109 \times sperm/mL$) در هموسیتومتر نوبار با رقیق سازی ($1:200$) از نمونه اسپرم انجام گرفت، درصد اسپرم مرده و مورفولوژی توسط شمارش ۲۰۰ اسپرم/نمونه منی انجام گردید (پس از رنگ آمیزی ائوزین-نگروزین) با یک میکروسکوپ ساده ($1000 \times magnification$). داده های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار آماری SAS (9.1) در مدل آماری فاکتوریل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و میانگین داده ها با روش LSD مقایسه شد.

نتایج:

طبق جدول شماره ۱ میانگین دور بیضه در گروه تیمار ۳۳،۳۲ سانتی متر و در گروه شاهد ۳۴،۰۴ سانتی متر مشاهده گردید که به طور معنی داری ($p < 0.01$) اختلاف داشتند. میانگین اسپرم های غیرطبیعی در گروه تیمار و شاهد به ترتیب ۱۳،۰۹ و ۱۵،۸۷

درصد که در سطح ($p < 0.01$) کاملاً معنی‌دار بود. میانگین حجم انزال در گروه تیمار و شاهد به ترتیب ۰٫۸۸ و ۰٫۹۲ میلی لیتر، میانگین غلظت اسپرماتوزوآ در گروه تیمار و شاهد به ترتیب ۳٫۱۹ و ۲٫۸۳ $10^9/mL$ و همچنین میانگین تحرک پیش‌رونده اسپرم‌ها در گروه تیمار و شاهد به ترتیب ۷۶٫۴ و ۷۳٫۳۳ درصد بود که از نظر آماری هیچ کدام معنی‌دار نبودند.

جدول ۱: میانگین تغییرات پارامترهای تولید مثلی در روزهای نمونه‌برداری

روزهای آزمایش	گروه‌های آزمایشی	تعداد (راس)	دور بیضه (Cm)	حجم انزال (ml)	تحرک پیش‌رونده (%)	غلظت اسپرم ($10^9/mL$)	اسپرم‌های غیرطبیعی (%)
صفر	شاهد	۵	34.18 ± 4.19	0.1 ± 0.91	6.87 ± 70.6	0.79 ± 3.04	1.95 ± 15.31
	تیمار	۵	2.41 ± 29.1	0.08 ± 0.89	3.19 ± 72.2	0.72 ± 2.92	1.51 ± 15.08
۴۵	شاهد	۵	4.17 ± 34.78	0.09 ± 0.89	7.07 ± 75	0.27 ± 2.72	3.34 ± 16.39
	تیمار	۵	2.14 ± 34.68	0.05 ± 0.89	2.77 ± 76.8	0.53 ± 3.17	1.72 ± 12.98
۷۰	شاهد	۵	4.14 ± 33.76	0.06 ± 0.86	7.19 ± 74.4	0.49 ± 2.74	2.27 ± 15.09
	تیمار	۵	1.96 ± 36.18	0.04 ± 0.98	1.92 ± 80.2	0.52 ± 3.49	1.77 ± 11.2

بحث:

فعالیت تولید مثلی قوچ‌ها تحت تاثیر عواملی از قبیل طول روشنایی، نژاد، سن، تغذیه، میزان بارندگی، رطوبت، درجه حرارت محیط و مدیریت قرار دارد. به‌طور کلی اثر عوامل فتوپریود بر روی فعالیت تولید مثلی قوچ‌ها مانند میش‌ها بوده ولی میزان این اثر به‌مراتب کمتر از میش‌ها می‌باشد، به‌طوری که فعالیت تولید مثلی آنها هرگز متوقف نمی‌شود، گرچه پارامترهای تولید مثلی در فصل تولید مثلی حداکثر و غیرفصل تولید مثلی در حداقل قرار دارد (سوخته‌زاری و همکاران، ۱۳۸۷). گوندوغان و همکاران در سال ۲۰۰۵ در مطالعه‌ای روی قوچ‌های آکارمان و آواسی مشخص شد که قوچ‌ها دارای فعالیت تولید مثلی فصلی می‌باشند. از ملاتونین به عنوان ابزاری در جلو اندازی و شروع زود هنگام فصل جفت‌گیری در گوسفند در سطح وسیعی استفاده شده است. کاشتن زیر پوستی ملاتونین می‌تواند غلظت ملاتونین را در طی ۲۴ ساعت افزایش داده و بدون اینکه مانع ترشح داخلی ملاتونین شود، باعث ایجاد شرایط روز کوتاه می‌گردد (موسوی و سوخته‌زاری، ۱۳۹۰). در این بررسی از نظر حجم بیضه و به‌ترتیب در سطح ۹۹٪ کاملاً اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید، که با نتایج کارهای مشابهی که روزا و همکاران در ۲۰۱۱ روی دور بیضه قوچ‌های تکسل و شارولیس انجام کردند مطابقت دارد و در این مطالعه از نظر اسپرم‌های غیر طبیعی در سطح ۹۵٪ اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید که با نتایج کایا و همکاران در سال ۲۰۰۰ مطابقت دارد و همچنین با نتایج سوخته‌زاری و همکاران در سال ۱۳۸۷ پس از تزریق ملاتونین کاملاً مغایرت دارد. در این مطالعه که روی حجم انزال و غلظت اسپرماتوزوآ نیز بررسی شدند هیچ گونه اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید که با نتایج سوخته‌زاری و همکاران در سال ۱۳۸۷ و همچنین با نتایج کایا و همکاران در سال ۲۰۰۰ مطابقت دارد. اگرچه روی پارامترهای تحرک پیش‌رونده اسپرم، حجم انزال و غلظت اسپرماتوزوآ اختلاف معنی‌داری از نظر آماری مشاهده نگردید اما ظاهراً گروه تیمار بیشتر از گروه شاهد می‌باشد. لذا از این مشاهدات نتیجه‌گیری شد که در قوچ نژاد مغانی با تجویز ملاتونین در خارج فصل تولید مثلی، پارامترهای تولید مثلی بهبود می‌یابد.

منابع:

- ۱ - موسوی، س. م. و سوخته زاری، ع. ۱۳۹۰. اثر استفاده از ملاتونین همراه با پروژستازنها روی شاخص های باروری میش در فصل غیر تولیدمثلی. نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران جلد ۳، شماره ۱، ص ۸۴-۸۸
- ۲ - محمد قاسمی، ف.، فغانی، ف. و خواجه جهرمی، س.، ۱۳۸۹. اثر محافظتی ملاتونین بر تغییرات هیستولوژیک بیضه موش بالغ تحت درمان با بوسولفان. فصلنامه باروری و ناباروری، دوره ۱۱، شماره ۲ صفحات ۶۷-۷۶.
- ۳ - سوخته زاری، ع.، وجگانی، م.، نیاسری نسلجی، ا.، باهنر، ع. و غلامی، غ. ۱۳۸۷. بررسی تاثیر ملاتونین روی قطر بیضه و پارامترهای منی در فصل غیرجفت گیری در قوچ نژاد شال. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۳، شماره ۵، ۲۹۷-۳۰۰.
- 4- Gundogan, M. 2005. Some reproductive parameters and seminal plasma constituents in relation to season in Akkaraman and Awassi rams. Turk. J. V. Anim. Sci. 30: 95-100.
- 5- Yeni, D., Gondogan, M., Cigerci, I.H., Avdatek, F., and Fidan, f. 2010. Seasonal variation of oxidative stress parameters in ram seminal plasma. Medwell journals. 9(1): 49-54.
- 6- Casao, A., Cebrián, I., Eoda Asumpção, M., Pérez-Pé1, R., A Abecia4, J., Forcada4, F., A Cebrián-Pérez, J., and Muiño-Blanco, T. Seasonal variations of melatonin in ram seminal plasma are correlated to those of testosterone and antioxidant enzymes. Reproductive Biology and Endocrinology 2010, 8:59.
- 7- Palacín1, I., Abecia1, J., Forcada1, F., Casao1, A., Cebrián2, J., Muiño2, T., Palacios3, C., Miguel Pontes., J. Effects of exogenous melatonin treatment on out-of-season ram fertility. 2008. Ital.J.Anim.Sci. vol. 7, 199-206.
- 8- Rosa, H.J.D., Silva, C.C., and Bryant, M.J. 2011. The effect of melatonin treatment in rams on seasonal variation of testicular size and semen production parameters. Small Ruminant Research. RUMIN-4044; page 5.
- 9- Kaya, A., Baspinar, N., Yildiz, C., Kurtoglu, F., Ataman, M.B., and Haliloglu, S. 2000. Influence of melatonin implantation on sperm quality, biochemical composition of the seminal plasma and plasma testosterone levels in rams. Revue Méd. Vét., 151, 12, 1143-1146.

Influence of Melatonin implants on reproductive parameters of Moghani rams in non-breeding season

S . Fatemei seyed baglu^{1*}, S. Tabatabaei vakili², M. Vali³, P. Dadvar², N. Roshani ali binasi² and S. Fathi⁴

1,2-Department of Animal Sciences, Ramin Agricultural and Natural Resources University, Mollasani, Khuzestan, Iran, 3- Msc, 4- Msc of midwifery

Email: sjd.fatemi@gmail.com

Abstract

An experiment was conducted to evaluate the impact of melatonin on scrotal circumference and semen parameters using 10 Moghani rams in February until May 2012 (out of season). In the February, the rams were randomly allocated in two groups. Five animal received 3 implants of melatonin tablets (totally 54 mg/ram) at the base of ear and the other Five rams were considered as control group and kept at the identical circumstances. The scrotal circumference and semen parameters were to 0, 45 and 70 days recorded over of a period of 70 days and the data on each variable were compared base on Factorial. There was significant differences between treatment and control group for scrotal circumference (33.32 vs 34.04) and sperm abnormal (13.09 vs 15.87 percent) ($p > 0.01$) vs ($p > 0.05$) respectively. There was no significant differences between treatment and control group for semen volume (0.092 vs 0.88 ml/ejaculation), individual motility (76.4 vs 73.33 percent), sperm concentration (3.19 vs $2.83 \times 10^9/\text{mL}$) ($p > 0.05$). It was concluded that to use of melatonin would improve the semen parameters in out of season reproduction assessment of Moghani rams.

Key words: Melatonin -Semen evaluation-Scrotal circumference.

اثر رگولین روی کیفیت اسپرم قوچ تالشی در خارج از فصل تولید مثل

سمیه قیامی^۱، مهرداد محمدی^{۲*}، فریدون طالبی^۳، عارفه رسولی خواه^۱

۱- دانش آموخته دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، ۲- عضو هیات علمی دانشگاه گیلان، ۳- کارشناس ارشد سازمان جهاد کشاورزی استان گیلان

*نویسنده مسئول: مهرداد محمدی، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، mohammadi@guilan.ac.ir

چکیده

در این تحقیق به منظور بررسی اثر رگولین (ملاتونین) روی کیفیت اسپرم قوچ تالشی خارج از فصل تولید مثل، ۹ راس قوچ تالشی با میانگین سنی ۳ سال و میانگین وزنی $55/6 \pm 1/57$ کیلوگرم به طور تصادفی انتخاب و به ۳ تیمار تقسیم شدند. قوچهای تیمار اول (شاهد) رگولین دریافت نکردند، قوچهای تیمار دوم یک عدد رگولین و تیمار سوم همزمان دو عدد رگولین به صورت زیر جلدی دریافت کردند. در روز صفر آزمایش (روز کاشت رگولین) حجم و غلظت منی، تحرک و زنده ماندن اسپرم قوچهای تیمارها اندازه گیری شد. حجم و غلظت منی همچنین تحرک پیشرونده و زنده ماندن اسپرم در روزهای ۴۶، ۵۰، ۵۴ و ۵۸ بعد از کاشت رگولین مجدداً اندازه گیری شد. نتایج نشان داد، کارگذاری دو عدد رگولین در خارج فصل تولید مثل سبب افزایش تحرک پیشرونده اسپرم شد ($P < 0/05$) در حالیکه استفاده از رگولین اثر معنی داری روی حجم منی و غلظت اسپرم نداشت ($P > 0/05$). بر اساس نتایج این تحقیق می توان گفت به کار بردن همزمان دو عدد رگولین خارج از فصل تولید مثل باعث بهبود کیفیت منی قوچ تالشی از نظر تحرک پیشرونده اسپرم شد.

واژگان کلیدی: ملاتونین - رگولین - قوچ تالشی - خارج از فصل تولید مثل

مقدمه

در عرض های جغرافیایی متوسط مانند ایران (۲)، تغییرات فصلی فعالیت های تولید مثلی، عامل محدود کننده ی مهم برای صنعت تولید و پرورش گوسفند محسوب می شود (۷). گر چه عوامل تولید مثلی قوچ نسبت به میش کمتر تحت تاثیر تغییرات فصلی قرار می گیرد، اما در مطالعات مختلف تغییرات فصلی در حجم بیضه، ترشح هورمونها، رفتارهای جنسی و کیفیت منی گزارش شده است که این تغییرات عملکرد تولید مثلی قوچها را تحت تاثیر قرار می دهد (۵). تغییرات فصلی تولید مثل به واسطه تغییرات هورمونی، تحت تاثیر اثرات محیطی قرار می گیرد. اثر محیطی که بیشترین اهمیت را در گوسفند دارد، فتوپریود است. فتوپریود از طریق یک مسیر عصبی-هورمونی سبب تنظیم سطح ملاتونین خون میشود (۷). تغییرات فصلی ترشح ملاتونین، سبب ایجاد تفاوت های کیفیت منی و باروری مشاهده شده بین داخل و خارج فصل تولید مثل می شود (۵). بطوریکه عملکرد تولید مثلی قوچ در فصل تولید مثل حداکثر و خارج فصل تولید مثل در حداقل است (۱). در واقع اثرات تحرکی روزهای کوتاه یا ملاتونین درمانی خارج فصل تولید مثل روی عملکرد تولید مثلی قوچ، بعلاوه اثر تنظیم کنندگی ملاتونین روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بیضه ای، تشدید ترشح ضربان دار GnRH، گونادوتروپین ها و تستوسترون است (۴). خارج از فصل تولید مثل شاید بتوان با استفاده از ملاتونین عملکرد جنس نر را بهبود بخشید به همین دلیل بعضی از محققین ملاتونین کاشتنی را خارج از فصل



تولید مثل برای افزایش توان تولید مثل قوچ توصیه می‌کنند (۱). ملاتونین درمانی داخل فصل تولید مثل نیز به منظور بهبود بیشتر عملکرد تولید مثلی قوچ بکار برده می‌شود (۱۰). از آنجائیکه تا کنون هیچگونه تحقیقی در این زمینه روی قوچ نژاد تالشی صورت نگرفته، لذا این تحقیق به منظور بررسی اثر استفاده از ملاتونین بر کیفیت و کمیت اسپرم تولیدی خارج از فصل تولید مثل قوچ نژاد تالشی انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق، در اواخر زمستان و اوایل بهار (خارج فصل تولید مثل) روی ۹ راس قوچ بالغ نژاد تالشی (با میانگین سن ۳ سال و میانگین وزن $55/6 \pm 2$ کیلوگرم) انجام شد. قوچها به شکل کاملاً تصادفی انتخاب و در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۳ تیمار تقسیم شدند. برای قوچهای گروه اول (شاهد) ملاتونین استفاده نشد، برای قوچهای گروه دوم یک عدد رگولین حاوی ۱۸ میلی گرم ملاتونین (Sava Pars, Iran) و برای قوچهای گروه سوم همزمان دو عدد رگولین پس از ضدعفونی پوست در ناحیه قاعده گوش کار گذاشته شد. هر سه گروه از تغذیه و مدیریت یکسان برخوردار بودند. در روز صفر آزمایش (روز کاشت رگولین)، شاخصهای اسپرم صورت گرفت (اندازه گیری مرحله اول). بعد از کاشت هورمون، قوچهای تحت مطالعه، در شرایط طبیعی روشنایی روز و شب نگهداری شدند و تا پایان مراحل آزمایش بجز زمان اسپرم گیری به دور از میش بودند. آنها به آب و لیسیدنی های معدنی بصورت آزادانه دسترسی داشتند و به طور جداگانه جیره استاندارد (NRC 1985) دریافت کردند (۹). در زمان اسپرم گیری قوچها علاوه بر جیره معمولی، روزانه ۳۰۰ گرم دانه جو دریافت کردند. حجم و غلظت منی همچنین تحرک پیشرونده و زنده ماننی اسپرم در روزهای ۴۶، ۵۰، ۵۴ و ۵۸ بعد از کاشت رگولین مجدداً اندازه گیری شد (اندازه گیری مرحله دوم). جهت تعیین غلظت اسپرم از لام هموسایتومتر استفاده شد. بدین منظور، با استفاده از پیپت مخصوص، اسپرم اخذ شده با آب به نسبت ۱ به ۲۰۰ رقیق شد و بعد از آن یک قطره از اسپرم رقیق شده روی لام قرار گرفت. برای اندازه گیری حرکت پیش رونده اسپرم، یک قطره منی رقیق شده با سرم فیزیولوژی را روی لام گرم ۳۷ درجه سانتیگراد گذاشته و با قرار دادن لامل روی آن، در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰۰ ارزیابی صورت گرفت (۶). برای مشخص نمودن درصد اسپرمهای زنده و مرده، رنگ آمیزی اتوزین- نگرزین انجام شد که پس از تهیه گسترش و مشاهده در زیر میکروسکوپ اسپرمهای زنده بدون رنگ و اسپرم های مرده به رنگ قرمز یا صورتی دیده شدند (۵). جهت آنالیز داده های طرح از Proc GLM نرم افزار SAS (۱۱) و برای مقایسه میانگین ها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج این تحقیق نشان داد، خارج فصل تولید مثل استفاده از دو عدد رگولین تحرک پیشرونده اسپرم رابه طور معنی داری نسبت به گروه شاهد افزایش داد ($P < 0/05$). گزارش شده استفاده از سه عدد ملاتونین کاشتنی خارج فصل تولید مثل اثر معنی داری روی زنده ماننی اسپرم قوچهای نژاد شال نداشت (۱). تحقیقات نشان داده است استفاده از دو عدد رگولین خارج فصل تولید مثل باعث افزایش معنی دار تحرک پیشرونده اسپرم نسبت به گروه شاهد شد که علت افزایش تحرک پیش رونده اسپرم را اثر مستقیم ملاتونین روی اسپرماتوزوای قوچ و تغییرات ترشح گونادوتروپین ها (افزایش ترشح FSH) بعد از کاشت ملاتونین عنوان نمودند (۵ و ۸). استفاده از ملاتونین کاشتنی غلظت تستوسترون را افزایش می دهد. تستوسترون تولید شده، توسط آنزیم آروماتاز به استروژن متابولیزه می شود. به نظر می رسد استروژن، تحرک اسپرم انزالی را تنظیم کند (۸). بنابراین این احتمال وجود دارد که

تغییرات مشاهده شده در تحرک اسپرم قوچهای تحت درمان با ملاتونین کاشتنی، بعلاوه افزایش مقطعی تولید استروژن از تستوسترون بوسیله آنزیم آروماتاز باشد (۳). بعضی محققین نیز طی استفاده از ملاتونین در خارج فصل تولید مثل اثر معنی داری روی تحرک اسپرم مشاهده نکردند (۶، ۱۰). گزارش شده که کاشت ملاتونین توانایی انجماد منی قوچ را به سبب خصوصیت آنتی اکسیدانی و اثر حفاظتی آن در برابر آسیب های اکسیداتیو بهبود می بخشد (۱۰). بنابراین علاوه بر اثر ملاتونین در تولید و تنظیم فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی این هورمون توانایی بالایی در کاهش استرس های اکسیداتیو داشته و می تواند از اثرات سمی راکتیوهای اکسیژن در سمینال پلاسما جلوگیری کند. در نتیجه می توان گفت که تفاوت در کیفیت اسپرم قوچ ممکن است بوسیله حضور ملاتونین در سمینال پلاسما به همراه فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی تنظیم شود که این عوامل مانع آسیب های اکسیداتیو اسپرماتوزوآ می شوند (۳).

خارج فصل تولید مثل استفاده از یک و دو عدد ملاتونین کاشتنی اثر معنی داری روی حجم منی و غلظت اسپرم نداشت که با نتایج مطالعات دیگران (۱، ۷، ۸ و ۱۰) همخوانی دارد. مطالعات دیگران نشان می دهد استفاده از سه عدد ملاتونین کاشتنی خارج فصل تولید مثل اثر معنی داری روی حجم و غلظت اسپرم بزهای مدیریت شده داشت که دو دلیل برای آن ذکر کردند، دلیل اول اینکه دوره زمانی که بیضه ی بزهای تحت درمان، حداکثر اسپرم را تولید می کنند طولانی تر می شود و دلیل دوم اینکه ملاتونین کاشتنی تبدیل اسپرماتوگونی A0 را به اسپرماتوگونی A1 در نتیجه افزایش ترشح FSH و افزایش حساسیت سلولهای لیدیگ به LH تحریک می کند (۱۲).

بر اساس این تحقیق بطور کلی می توان گفت استفاده از دو عدد رگولین کاشتنی خارج از فصل تولید مثل باعث بهبود تحرک پیش رونده اسپرم قوچ های نژاد تالشی شد ولی بر حجم منی و غلظت اسپرم تاثیری نداشت.

منابع

۱. سوخته زاری، ع.، وجگانی، م. و نیاسری نسلجی، ا. ۱۳۸۷. بررسی تاثیر ملاتونین روی قطر بیضه و پارامترهای منی در فصل غیر جفت گیری در قوچ نژاد شال. مجله تحقیقات دامپزشکی، شماره ۵: صفحه ۲۹۷ تا ۳۰۰.
۲. علیجانی، ب. ۱۳۷۴. آب و هوای ایران. انتشارات دانشگاه پیام نور. ۲۲۸ ص.
3. Casao, A., Cebrian, I., Asumpcao, M. E., Perez-Pe, R., Abecia, J. A., Forcada, F., Cebrian-Perez, J. A. & Muino-Blanco, T. 2010. Seasonal variations of melatonin in ram seminal plasma are correlated to those of testosterone and antioxidant enzymes. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 8:59-68.
4. Casao, A., Mendoza, N., Perez-Pe, R., Grasa, A., Abecia, J. A., Forcada, F., Cebrian-Perez, J.A. & Muino-Blanco, T. 2010. Melatonin prevents capacitating and apoptotic-like changes of ram spermatozoa and increases fertility rate. *Journal Pineal Research*, 48: 39-46.
5. Casao, A., Vega, S., Palacin, I., Perez-Pe, R., Lavina, A., Quintin, F. J., Seville, E., Abecia, J. A., Cebrian-Perez, J. A., Forcada, F. & Muino-Blanco, T. 2010. Effects of melatonin implants during non-breeding season on sperm motility and reproductive parameters in Rasa Aragonesa Rams. *Reproduction Domestic Animals*, 45: 425-432.
6. Evans, G. & Maxwell, W. M. C. 1987. *Salmon's artificial insemination of sheep and goats*. Butterworth's, Sydney.

7. Faigl, V., Keresztes, M., Kulcsar, M., Nagy, S., Keresztes, Z., Amiridis, G. S., Solti, L., Huszenicza, G. & Cseh, S. 2009. Testicular function and semen characteristics of awassi rams treated with melatonin out of the breeding season. *Acta Veterinary Hung*, 57: 531-540.
8. Kaya, A., Baspinar, N., Yildiz, C., Kurtoglu, F., Ataman, M. B. & Haliloglu, S. 2000. Influence of melatonin implantation on sperm quality, biochemical composition of the seminal plasma and plasma testosterone levels in ram. *Revue Medicine Veterinaire*, 12: 1143-1146.
9. NRC. 1985. Nutrient Requirements of Sheep. 6th. ed. National Academy Press. Washington, D.C.
10. Ramadan, T. A., Taha, T. A., Samak, M. A. & Hassan, A. 2009. Effectiveness of exposure to longday followed by melatonin treatment on semen characteristics of Damascus male goats during breeding and non-breeding seasons. *Theriogenology*, 71: 458-468.
11. SAS.1996. SAS/STAT User's Guide (Release 6.12). SAS Inst. INC., Cary, Nc.
12. Zarazaga, L. A., Gatica, M. C., Celi, I., Guzman, G. I. & Malpaux, B. 2009. Effect of melatonin implants on sexual activity in Mediterranean goat females without separation from males. *Theriogenology*, 72: 910-918.

The effect of regulin on sperm quality of Taleshi rams in non-breeding season

S. Ghiami¹, M. Mohammadi^{2*}, F. Talebi³, A. Rasoolikhah¹

1 Graduated from the Faculty of Agriculture, University of Guilan, 2 University of Guilan, 3 Agriculture Organization of Guilan Province

*Corresponding E-mail address: mohammadi@guilan.ac.ir

Abstract

In this study, nine Taleshi rams (approximately 3 years old and BW 55.6±1.57 kg) were selected randomly and allocated into three groups for investigating the effect of regulin (melatonin) on sperm in non-breeding season. The first group (control) did not receive any regulin, the rams of second group received one regulin and finally, third group received in the same time two regulins subcutaneously. Semen volume, sperm concentration, sperm motility and sperm viability of all rams were measured on day zero (regulin implantation day) and days 46, 50, 54 and 58 days after regulin implantation. In comparison to control group the progressive motility increased significantly by using of two regulins in non breeding season and this improved sperm viability in comparison with control group. Whereas, using of regulin did not have any significant effect on semen volume and sperm concentration. According on these results, using 2 regulin in nonbreeding season indicated that improvement of ram semen quality (progressive motility).

Keywords: Melatonin- regulin-Taleshi ram- non-breeding season

اثرات هورمون‌های مختلف فولیکولوژنیک بر افزایش درصد آبستنی و بره‌زایی در میش‌های افشاری

سمیه مقدم^{۱*}، حمید کهرام^۲، محمد حسین شهیر^۳ و بهنام رستمی^۴، داوود علیاری^۵، رضا جعفری^۱ و رحمان حاجی‌زاده^۱

۱- دانشجوی مقطع کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه زنجان، ۲- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی

دانشگاه تهران، ۳- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه زنجان، ۴- کارشناس مزرعه آموزشی گروه علوم دامی دانشگاه

زنجان

*نویسنده مسئول: سیمیه مقدم، moghadam.S64@Gmail.Com

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات هورمون‌های فولیکولوژنیک بر شاخص‌های عملکرد تولیدمثل میش‌های افشاری بود. به این منظور ۴۰ راس میش نژاد افشاری در فصل تولیدمثل انتخاب و در ۴ گروه ۱۰ تایی قرار داده شدند. میش‌ها به مدت ۱۴ روز سیدرگذاری شدند. تیمار ۱: دریافت ۱۰ میلی‌گرم هورمون FSH-P ۲۴ ساعت پس از سیدربرداری، تیمار ۲: دریافت ۴۰۰ واحد هورمون eCG در زمان سیدربرداری و ۱۰ میلی‌گرم هورمون FSH-P ۲۴ ساعت پس از سیدربرداری، تیمار ۳: دریافت ۱۰ میلی‌گرم هورمون FSH-P ۲۴ ساعت پس از سیدربرداری و ۵۰ میکروگرم هورمون GnRH در زمان قوچ‌اندازی و گروه شاهد: بدون دریافت هورمون بودند. نتایج این مطالعه نشان داد که درصد بره‌زایی در گروه شاهد، تیمار ۱، تیمار ۲ و تیمار ۳ به ترتیب ۲۱٪، ۲۱، ۱۵۰±٪، ۲۱، ۲۲۰±٪ و ۲۱٪، ۱۷۱±٪ درصد بود. تزریق هورمون eCG در زمان سیدربرداری و هورمون FSH-P ۲۴ ساعت پس از سیدربرداری باعث افزایش درصد دوقلو زایی (۱۸٪ ± ۱۰۰) و در نهایت درصد بره‌زایی (۲۱٪ ± ۲۲۰) شد. درصد گیری در میش‌هایی که هورمون FSH-P ۲۴ ساعت پس از سیدربرداری و هورمون GnRH در زمان قوچ‌اندازی دریافت کرده بودند نسبت به سایر گروه‌های تیماری بالاتر (۱۴٪ ± ۷۸) بود. در کل می‌توان نتیجه‌گیری نمود که با ترکیب هورمونهای فولیکولوژنیک می‌توان بازده تولید مثلی میش را به نحو چشمگیری بهبود داد.

کلمات کلیدی: بره‌زایی - eCG - FSH - GnRH - میش افشاری

مقدمه

شناخت فعالیت تخمدان و تغییرات هورمونی و تاثیر آن بر زمان فحلی و تخم‌کری لازم به بهبود عملکرد تولیدمثلی در گوسفند است (۱). رشد فولیکول‌ها و رسیدن آن‌ها به مرحله پیش از تخم‌کری تحت تاثیر هورمون FSH صورت می‌گیرد. افزایش غلظت‌های FSH محرک ایجاد موج‌های فولیکولی و افزایش تخم‌کری در میش است (۶) و برای رشد فولیکول در میش به بیش از ۲/۵ میلی‌متر به FSH مورد نیاز است (۸). استفاده از روش‌های درمانی با هورمون FSH در روش‌های همزمان‌سازی با پروژسترون قابل انجام است (۱۱ و ۷). گنادوتروپین‌ها برای رشد فولیکولی مورد نیاز بوده (۳) و یک بار تزریق GnRH می‌تواند باعث تخم‌کری فولیکول‌های بزرگ شود. درمان با eCG از نظر اقتصادی ارزان است و به دلیل نیمه‌عمر طولانی می‌تواند یک بار تزریق شود. با این حال، زمانی که دوزهای بیشتری از آن استفاده شود اثر زیان‌آوری بر روی پروفایل‌های هورمونی، تخم‌کری، لقاح، بازده جنینی و درصد زنده‌مانی رویان‌ها دارد. برای اجتناب از مشکلات eCG، ترکیبات تجاری مختلف FSH استفاده می‌شود (۱۰ و ۱۱). هدف این تحقیق مطالعه اثرات FSH و GnRH به تنهایی یا در ترکیب با eCG برای افزایش درصد باروری، بره‌زایی و دوقلو زایی در میش‌های افشاری بود.

مواد و روش‌ها



۴۰ راس میش حداقل یک شکم زایش از نژاد افشاری در فصل جفت‌گیری به طور تصادفی انتخاب و به ترتیب به ۴ گروه (یک گروه شاهد و سه گروه تیمار) به طور مساوی ($n=10$) و تصادفی تقسیم شدند. گروه شاهد: بدون دریافت هورمون، تیمار FSH / 24h: دریافت ۱۰ میلی‌گرم هورمون FSH-P (Folltropin; Vetrepharm 20 ml, 400 mg NIH-FSH-P1, Bioniche; Australia) ۲۴ ساعت پس از سیدربرداری، تیمار FSH / 24h+eCG: ۴۰۰ واحد هورمون eCG (Bioniche; Australia) به صورت عضلانی و دریافت ۱۰ میلی‌گرم هورمون FSH-P ۲۴ ساعت پس از سیدربرداری و، تیمار FSH / 24h+GnRH: دریافت ۱۰ میلی‌گرم هورمون FSH-P ۲۴ ساعت پس از سیدربرداری و ۵۰ میکروگرم هورمون GnRH (CYSTORELIN; CEVA; sante animale; France) در زمان قوچ‌اندازی بودند. برای همزمان‌سازی فحلی در واژن تمامی میش‌ها به مدت ۱۴ روز سیدر (CIDR, (Eazi Breed, New Zealand) گذاشته شد. روز ۱۴ سیدر تمام میش‌ها برداشته شد. برای آنالیز داده‌ها از رویه MIXED و GENMOD نرم‌افزار SAS استفاده شد و مقایسه نسبت‌ها با آزمون کای اسکور انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج این پژوهش در جدول ۱ منعکس شده است. بیشترین میزان درصد بره‌زایی (21 ± 220) و درصد دوقلو زایی (18 ± 100) مربوط به میش‌های تیماری است که FSH / 24h+eCG را دریافت کرده بودند ($P < 0.05$), این فرایند می‌تواند ناشی از تولید فولیکول‌های درشت‌تر و نرخ تخم‌کریزی بیشتر در میش‌های این تیمار باشد که این داده‌ها با نتایج حاصل از پژوهشی که بلانکو و همکاران (2003) جهت رسیدن به موثرترین ترکیب FSH-P و eCG برای سوپراوولاسیون و تولید رویان در میش انجام دادند، مطابقت داشت (۴). در میش‌های تیمار شده با FSH / 24h+GnRH درصد گیرایی نسبت به گروه‌های دیگر بالاتر بود که نشان‌دهنده سودمندی تیمار هورمونی در میش‌های افشاری برای رسیدن به حداکثر بازده تولیدمثلی است. استفاده از GnRH اثر مثبتی بر همزمان‌سازی تخم‌کریزی دارد (۱۱). تزریق این هورمون ۲۰ و ۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری باعث افزایش ناگهانی سرژ LH در عرض ۲ ساعت پس از تزریق GnRH شده و اثر مطلوبی بر روی تخم‌کریزی در فصل تولیدمثلی و خارج از فصل دارد (۹).

جدول ۱: اثرات هورمون‌های فولیکولوژنیک بر عملکرد تولید مثلی میش‌های افشاری

صفات مورد اندازه‌گیری	شاهد	FSH / 24h	FSH / 24h+eCG	FSH / 24h+GnRH	SEM
درصد بره‌زایی	125^b	150^b	220^a	171^{ab}	۲۱
درصد دوو سه قلو زایی	25^b	50^{ab}	100^a	71^{ab}	۱۸
درصد گیرایی	۴۰	۶۰	۵۰	۷۸	۱۴

1. Ali, A. 2007. Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. *Small Ruminant Research*, 72: 33-37.
2. Ali, A., M, Hayder. and E. O. H, Saifelnaser. 2009. Ultrasonographic and Endocrine Evaluation of Three Regimes for Oestrus and Ovulation Synchronization for Sheep in the Subtropics. *Reproduction Domestic Animal*, 44: 873-878.
3. Barrett, D. M., P. M, Bartlewski., M, Batista-Arteaga., A, Symington., & N. C, Rawlings. 2004. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 IU of eCG following a 12-day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding seasons in ewes. *Theriogenology*, 61: 311-327.
4. Blanco, M. R., L, Simonetti. & O. E, Rivera. 2003. Embryo production and progesterone profiles in ewes superovulated with different hormonal treatments. *Small Ruminant Research*, 47: 183-191.
5. Evans, A. C. O., P, Duffy., N, Hynes. & M. P, Boland. 2000. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology*, 53: 699-715.
6. Evans, A. C., J. D, Flynn., P, Duffy., P. G, Knight. & M. P, Boland. 2002. Effects of ovarian follicle ablation on FSH, oestradiol and inhibin concentrations and growth of other follicles in sheep. *Journal Reproduction science*, 123: 59-66.
7. Knights, M., T, Hoehn., P. E, Lewis. & E. K, Inskeep. 2001. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewes. *Journal Animal Science*, 79: 1120-1131.
8. McNatty, K. P., D. A, Heath., N, Hudson. & I. J, Clarke. 1990. Effect of long-term hypophysectomy on ovarian follicle populations and gonadotrophin-induced adenosine cyclic 3',5'-monophosphate output by follicles from Booroola ewes with or without the F gene. *Journal Reproduction Fertility*, 90: 515-522.
9. Reyna, J., P. C, Thomson., G, Evans. & W. M, Maxwell. 2007. Synchrony of ovulation and follicular dynamics in merino ewes treated with GnRH in the breeding and non-breeding seasons. *Reproduction Domestic Animal*, 42: 410-417.
10. Simonetti, L., F, Forcada., O. E, Rivera., N, Carou., R. H, Alberio., J. A, Abecia. & I, Palacin. 2008. Simplified superovulatory treatments in Corriedale ewes. *Animal Reproduction Science*, 104:227-237.
11. Sirjani, M., H, Kohram. & M, Shahr. 2012. Effects of eCG injection combined with FSH and GnRH treatment on the lambing rate in synchronized Afshari ewes. *Small Ruminant Research*.

Effects of different folliculogenic hormones on reproductive performance of Afshari ewes
Somayeh Moghadam^{1*}, Hamid Kohram², Mohammad Hossein Shahr³, Behnam Rostami³,

Davoud Aliyari⁴, Reza Jafari¹, Rahman Hajizadeh¹

*Corresponding E-mail address: Moghadam.S64@Gmail.Com

^{1,3,4}Department of animal science, university of Zanjan and ²Department of animal science, university of Tehran

Abstract

This study was conducted to survey the effects of different gonadotropines on reproductive performance of Afshari ewes. The estrous cycle of 40 Afshari ewes was synchronized using CIDR's, inserted for 14 days. The ewes were allocated randomly and equally to 1 of 4 groups (n = 10/group). In FSH / 24h group: ewes received 10 mg FSH at 24 h after CIDR removal, in FSH /24h+eCG group: ewes received 400 IU eCG at CIDR removal and 10 mg FSH at 24 h after CIDR removal , in FSH / 24h+GnRH group: ewes received GnRH (50 µg) at time mating and 10 mg FSH at 24 h after CIDR removal and Control group did not receive any hormone. The results of the present experiment showed that the Litter size in the control group (125 ± 0.21) was less than that of groups 1 (150 ± 0.21), 2 (220 ± 0.21) and 3 (171 ± 0.21), ($p < 0.05$). Multiple birth rate was higher ($p < 0.05$) in FSH+eCG relative to other groups. Although there was no significant difference in conception rate between groups but higher conception was attributed to FSH+GnRH. In conclusion, combination of different folliculogenic hormones could markedly improve the reproductive performance of ewes.

Keywords: Litter size, eCG, FSH, GnRH, Afshari ewe

اثر تره‌هالوز بر انجماد اسپرم قوچ تالشی

ژیلا بهلول^۱، مهرداد محمدی^{۲*}، محمد روستایی علیمهر^۲، فریدون طالبی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، ۲- عضو هیات علمی دانشگاه گیلان، ۳- کارشناس ارشد

سازمان جهاد کشاورزی استان گیلان

*نویسنده مسئول: مهرداد محمدی، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، mohammadi@guilan.ac.ir

چکیده

در این تحقیق اثر تره‌هالوز بر انجماد اسپرم قوچ تالشی در رقیق کننده بر پایه لستین بررسی شد. نمونه‌های منی جمع‌آوری شده از ۴ قوچ، پس از ارزیابی اولیه و تجمع با رقیق کننده تریس- لستین مخلوط و به سه قسمت مساوی تقسیم شدند و به هر قسمت تره‌هالوز ۵۰، ۱۰۰ میلی‌مولار با گلیسرول ۷ درصد افزوده شد. نمونه‌ها داخل پایوت‌های ۰/۲۵ میلی‌لیتری به دمای ۵ درجه سلسیوس رسیدند و با بخار نیتروژن منجمد شدند. پس از دو هفته، یخ‌گشایی در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۰ ثانیه در حمام آب گرم انجام شد. تحرک پیش رونده، زنده‌مانی، سلامت غشاء و سلامت آکروزام بلافاصله بعد از یخ‌گشایی ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که اثر تره‌هالوز بر تحرک پیش رونده، معنی‌دار بود ($P < 0/05$)، اما اثر آن بر زنده‌مانی، سلامت غشاء، و سلامت آکروزام معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان گفت تره‌هالوز با غلظتهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار باعث بهبود تحرک پیش‌رونده اسپرم شد.

واژگان کلیدی: تره‌هالوز- محافظ سرمایی- سیالیت - زنده‌مانی- تحرک.

مقدمه

در طول فرآیند انجماد و یخ‌گشایی اسپرم در معرض آسیب‌هایی قرار می‌گیرد که باعث کاهش تحرک اسپرم و در نتیجه کاهش میزان باروری نمونه‌های تلقیح شده، می‌شود. برای این منظور بایستی آسیب‌های ناشی از انجماد را با استفاده از مواد محافظ و رقیق کننده‌ها کاهش داد، تا بتوان قدرت باروری اسپرم را بالا برد (۱۵). رقیق کننده‌های توصیه شده برای نگهداری اسپرم رقیق کننده‌های هیپرتونیک هستند (۴). محلولهای هیپرتونیک تأثیرات مخرب کمتری نسبت به محلولهای هیپوتونیک بر اسپرم دارند (۱۴). دلیل آن بالا بودن میزان آب از دست رفته در محیط‌های هیپرتونیک نسبت به محیط‌های هیپوتونیک است که جهت انجماد بهتر اسپرم مناسب‌ترند (۲۰). قندهای مرکب به دلیل داشتن وزن مولکولی بالا، قادر به عبور از غشا نبوده و نقش برون سلولی ایفا می‌کنند و با ایجاد فشار اسمزی، باعث آبکشی سلول پیش از فرایند انجماد می‌شوند و از تشکیل کریستال‌های یخ درون سلولی جلوگیری کرده و یا میزان تشکیل این کریستال‌ها (۲) و آسیب‌های انجماد را کاهش می‌دهند. تره‌هالوز یک دی ساکارید غیراحیا کننده از دو واحد، D گلوکوپیرانوز و یک واحد گلوکوزید است. در طول انجماد و فرآیندهای دهیدراتاسیون و ریدراتاسیون، تره‌هالوز با فسفولیپیدهای غشاء پلاسمایی واکنش نشان داده، موجب حفاظت از غشاء، افزایش سیالیت و کاهش تشکیل کریستال‌های یخی می‌شود (۸). به نظر می‌رسد تره‌هالوز از طریق واکنش با فسفولیپیدها و پروتئین‌های غشاء و تثبیت آنها، سیالیت غشاء را در برابر خطرات انجماد بهبود می‌بخشد (۱۸). همچنین یکی از مهم‌ترین اجزای تشکیل دهنده رقیق کننده‌ها در

انجماد اسپرم، زرده تخم مرغ است (۷). مواد داخل تخم مرغ با تداخل در متابولیسم سلول، تحرک اسپرم را کاهش می‌دهند (۱۳). به علاوه زرده تخم مرغ خطر آلودگی میکروبی را افزایش و ظرفیت پتانسیل باروری اسپرماتوزوا را کاهش می‌دهد. به همین دلیل جایگزینی زرده تخم مرغ با محافظ سرمایی با منشا غیر حیوانی مثل لستین برای انجماد اسپرم مطرح شده است (۱۰). اما تاکنون مطالعه‌ای در قوچ مبنی بر اثر تره‌هالوز با جایگزینی زرده تخم مرغ با لستین انجام نگرفته است، لذا هدف این تحقیق بررسی اثر مقادیر مختلف تره‌هالوز در روند انجماد منی قوچ هنگام استفاده از لستین به عنوان سرما محافظ بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های منی هر سه روز یک بار از ۴ قوچ تالشی سه تا پنج ساله با وزن متوسط $52 \pm 2/5$ کیلوگرم به کمک مهبل مصنوعی جمع آوری شد. پس از جمع آوری، نمونه‌ها با نسبت ۱:۲ با رقیق کننده‌ی پایه تریس - لستین (۲۷/۱ گرم بر لیتر تریس - (هیدروکسی متیل) - آمینواتان، ۱۴ گرم بر لیتر سیتریک اسید مونوهیدرات، ۱۰ گرم بر لیتر فروکتوز، ۰/۵ میلی لیتر جنتامایسین و ۱٪ لستین) رقیق شدند. نمونه‌های انزالی به آزمایشگاه منتقل شده و ارزیابی اولیه انجام شد. به منظور حذف تفاوت بین قوچها، نمونه‌های بارنگ طبیعی (کرم رنگ)، حجم بیشتر از ۰/۵ میلی لیتر، تحرک پیش رونده بیشتر از ۷۰٪، غلظت بیشتر از $10^9 \times 2/5$ اسپرم در میلی لیتر و اشکال غیر طبیعی اسپرم کمتر از ۱۰ درصد، جمع شدند. غلظت نمونه‌ها با لام هموسیتمومتر تعیین شد و با رقیق کننده تریس - لستین تا غلظت $10^6 \times 400$ میلی لیتر/سلول رقیق شد. نمونه‌ها به ۳ قسمت تقسیم شد و به هر بخش مقدار ۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار تره‌هالوز و گلیسرول ۷ درصد اضافه شد. نمونه‌ها در داخل پایوتهای ۲۵۰ میکرولیتری بسته بندی شده و انتهای پایوتهها با پلی وینیل الکل مسدود شد. پایوتهها در دستگاه سرد کننده به مدت ۳ ساعت قرار داده شد تا به دمای ۵ درجه سلسیوس برسد ($0/25^\circ\text{C}/\text{min}$) و یک ساعت در دمای ۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پایوتهها به صورت افقی به فاصله ۴ سانتیمتر از سطح بخار نیتروژن به مدت ۱۳ دقیقه قرار داده شدند و سپس در ازت مایع غوطه ور شدند و برای ذخیره نهایی به تانک نیتروژن مایع انتقال یافتند. نمونه‌ها پس از ۲ هفته جهت یخ گشایی در حمام آب ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۰ ثانیه قرار داده شدند، تا فرایند یخ گشایی صورت گیرد. بلافاصله بعد از یخ گشایی، پارامترهای تحرک پیش رونده، زنده‌مانی، سلامت غشاء و سلامت آکروزوم ارزیابی شد. جهت بررسی تحرک، ۱۰۰ عدد اسپرم با اختلاف ۱۰ درصد در ۵ میدان دید، با استفاده از میکروسکوپ فاز متضاد با بزرگ نمایی $\times 400$ ، ارزیابی شد (۹). جهت ارزیابی سلامت غشا پلاسمایی ۵ میکرولیتر از نمونه‌ها با ۵۰ میکرولیتر از محلول هیپواسمتیک، مخلوط و داخل آون به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس با استفاده از میکروسکوپ فاز متضاد با بزرگ نمایی $\times 400$ ، ۱۰۰ عدد اسپرم در ۵ میدان دید بررسی شد. اسپرم‌های دارای دم متورم به عنوان پاسخ مثبت (غشای پلاسمایی سالم) و اسپرم‌های دارای دم صاف به عنوان پاسخ منفی (غشای پلاسمایی آسیب دیده) در نظر گرفته شدند (۵). زنده مانی اسپرم با استفاده از رنگ هوخست بیس بنزامید ۳۳۲۵۸، بدین صورت بررسی شد؛ ۱۰ میکرولیتر از نمونه‌ها با ۱۰ میکرولیتر گلو تار آلدهید (۲٪)، در بافر فسفات) مخلوط و فیکس شد. بعد از ۵ دقیقه ۲۰ میکرولیتر از رنگ هوخست بیس بنزامید (۱۰ میکروگرم/میلی لیتر)، به آن اضافه شد. سپس در شرایط نور بسیار کم با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت و فیلتر WU، با بزرگ نمایی $\times 400$ ، ۱۰۰ عدد اسپرم در ۵ میدان دید بررسی شد. اسپرم‌های با تالو آب رنگ به عنوان پاسخ منفی (مرده) و اسپرم‌های بدون رنگ به عنوان پاسخ مثبت (زنده) در نظر گرفته شدند (۶). جهت بررسی سلامت غشا آکروزوم، از رنگ آکسافلور ۴۸۸ استفاده شد. بدین منظور، از هر تیمار گسترش تهیه شد. سپس گسترش‌ها با استفاده از متانول مطلق فیکس شدند. پس از خشک شدن گسترش‌ها در هوای اتاق، ۱۰ میکرولیتر از رنگ آکسافلور ۴۸۸ (۱۰ میکروگرم/میلی

لیتر) روی آنها ریخته شد. سپس گسترش‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، در محل تاریک و مرطوب انکوبه شدند. پس از این مرحله گسترش‌ها با استفاده از بافر فسفات شسته شده، در شرایط نور بسیار کم با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت و فیلتر WB، با بزرگنمایی $\times 400$ ، تعداد ۱۰۰ عدد اسپرم در ۵ میدان دید بررسی شد. آکروزوم‌های با رنگ یکدست و شفاف به عنوان پاسخ مثبت (سالم) و آکروزوم‌های با رنگ پراکنده، کدر و با حاشیه نامشخص به عنوان پاسخ منفی (آسیب دیده) در نظر گرفته شدند (۱۹). نتایج این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار شامل سطوح ۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار تره‌هالوز و ۴ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام تجزیه و تحلیل داده‌ها از رویه GLM برنامه SAS.9 استفاده شد (۱۷). به منظور مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تحقیق نشان داد که اثر تره‌هالوز بر تحرک پیش رونده معنی دار بود ($P < 0.05$)، اما اثر آن بر زنده‌مانی، سلامت غشاء و سلامت آکروزوم معنی دار نبود ($P > 0.05$). بهترین تحرک پیش‌رونده را سطح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار تره‌هالوز داشت (جدول ۱). تحرک اسپرم یکی از مهمترین پارامترها جهت ارزیابی کیفیت منی و بررسی میزان توانایی باروری حیوان نر است. تحرک ارتباط با توانایی اسپرماتوزوآ در استفاده بهینه از انرژی است که درصد بالایی از انرژی در اسپرماتوزوآ صرف انقباض در تاژک و حرکت آن می‌شود. اسپرماتوزوآی پستانداران انرژی را از راه گلیکولیز و فسفریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری با مصرف مونوساکاریدهایی مانند گلوکز، فروکتوز، مانوز و گلیسرول بدست می‌آورند (۱۶). اثر هم‌کوشی تره‌هالوز با گلیسرول در شرایط هیپرتونیک باعث افزایش تحرک و زنده‌مانی سلول‌های اسپرم منجمد یا مایع قوچ می‌شود، چون گلیسرول آب سلول را خارج کرده و با جلوگیری از تشکیل کریستال‌های یخی از آب داخل سلولی، روی سلامت سلول اثر کرده و سیالیت غشاء را تثبیت می‌کند (۲). عمل محافظتی تره‌هالوز مرتبط با فشار اسمزی و فعل و انفعالات ویژه با فسفولیپیدهای غشاء است. قندهای غیر نفوذی یک نقش کلیدی در جلوگیری از تغییرات زیان آور در غشاء در طول کاهش آب دارند و از این طریق باعث تثبیت غشاء می‌شوند (۱). اثر تره‌هالوز بر کیفیت اسپرم و استرس اکسیداتیو در منی گاو نشان داد که اثر محافظت بهتر غشاء به وسیله رقیق کننده‌های شامل تره‌هالوز مربوط به عمل آنتی اکسیدانی آن است (۱۱). در حالت طبیعی سیستم‌های آنتی اکسیدانی متنوعی مانند سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتایون ردوکتاز و گلوکاتایون پراکسیداز، در اسپرم و احتمالاً در غشاء وجود دارد که از تجمع رادیکالهای آزاد جلوگیری می‌کند، اما از طرفی در جریان انجماد-یخ‌گشایی بخشی از سیستم‌های آنزیمی که در حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارند، تخریب می‌شوند (۳). آسیب به سیستم آنزیمی یکی از علت‌های مهم از دست دادن فعالیت اسپرم پس از انجماد و یخ‌گشایی است (۱۲). رقیق کننده‌های حاوی تره‌هالوز می‌توانند با کاهش استرس اکسیداتیو میزان تحرک، سلامت غشاء آکروزوم و سلامت غشاء پلاسمایی را بعد از انجماد و یخ‌گشایی بهبود دهند. همچنین افزایش فعالیت اسپرماتوزوآ با وجود اینکه فعالیت GSH و GSH-PK کاهش می‌یابد، مربوط به آنزیمی می‌تواند باشد که از خطر انجماد توسط تره‌هالوز مصون مانده است (۱۱). گزارش شده که انجماد اسپرم قوچ در رقیق کننده‌ی با ۳۷۵ میلی‌مولار تره‌هالوز، تحرک کل و تحرک پیش رونده‌ی بالایی را نسبت به گروه شاهد داشت (۸). همچنین مشخص شده که تره‌هالوز هیچ اثری بر زنده‌مانی بعد از یخ‌گشایی اسپرم خرگوش قهوه‌ای اروپایی نداشت (۱۳). در نهایت بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان گفت تره‌هالوز با غلظتهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار باعث بهبود تحرک پیش‌رونده اسپرم قوچ تالشی شد.

جدول ۱- اثر تره‌هالوز بر تحرک پیش رونده، زنده‌مانی، سلامت غشاء و سلامت آکروزوم

تره‌هالوز (میلی مولار)	تحرك پيش رونده (%)	زنده‌مانی (%)	سلامت غشاء (%)	سلامت آکروزوم (%)
۰	$2/82 \pm^{b} 11/25$	$4/34 \pm^{a} 49/5$	$10/75 \pm^{a} 62/25$	$2/6 \pm^{a} 75/25$
۵۰	$2/82 \pm^{a} 33/75$	$4/34 \pm^{a} 56/25$	$10/75 \pm^{a} 62/5$	$2/6 \pm^{a} 75/25$
۱۰۰	$2/82 \pm^{a} 40$	$4/34 \pm^{a} 58/75$	$10/75 \pm^{a} 62/5$	$2/6 \pm^{a} 75$

حروف غیر مشابه در یک ستون به مفهوم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

منابع

1. Aboagla, E. M. E. & Terada, T. 2004. Effects of egg yolk during the freezing step cryopreservation of goat spermatozoa. *Theriogenology*, 62:1160-1172.
2. Aisen, E. G., Medina, V. H. & Venturino, A. 2002. Cryopreservation and post-thawed fertility of ram semen frozen in different trehalose concentrations. *Theriogenology*, 57: 1801-1808.
3. Alvarez, J. G. & Storey, B. T. 1992. Evidence for increased lipid peroxidation damage and loss of superoxide dismutase activity as a mode of sublethal cryodamage to human sperm during cryopreservation. *Journal Andrology*, 13: 232-241.
4. Bredderman, P. J. & Foote, R. H. 1969. Volume of stressed bull spermatozoa and protoplasmic droplets, and the relationship of cell size to motility and fertility. *Journal Animal Science*, 28: 496-501.
5. Buckett, W. M., Luchas, M. J., Aird, I. A., Farguharson, R. G., Kingland, C. R. & Lewis – Jones, D. I. 1997. The hypo –osmotic swelling test in recurrent miscarriage. *Fertility and Sterility*, 68:506-509.
6. De Leeuw, F. E., De Leeuw, A. M., Den Das, J. H. & Colenbrander, V. 1993. Effects of various cryoprotective agents and membrane stabilizing compounds on bull sperm membrane integrity after cooling and freezing. *Cryobiology*, 30:32-44.
7. Dow, P. D. M. & Bavister, B. D. 1988. Direct contact is required between serum albumin and hamster spermatozoa for capacitation in vitro. *Reproduction Development*, 23:171-180.
8. Eiman, M., Aboagla, E. & Tarada, T. 2003. Trehalose enhanced fluidity of the goat sperm membrane and its protection during freezing. *Biology of Reproduction*, 69:1245-1250.
9. Evans, G. & Maxwell, W. M. C. 1987. Salamon's artificial insemination of sheep and goats. Butterworth Sydney, PP: 194.
10. Forouzanfar, M., Sharafi, M. S., Hosseini, M., Ostadhosseini, S., Hajian, M., Hosseini, L., Abedi, P., Nili, N., Rahmani, H. R. & Nasr-Esfahani, M. H. 2010. In vitro comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of ram semen. *Thriogonology*, 37:480-7.
11. Hu, J. H., Zam, L. S., Zhao, X. L., Li, Q. W., Jiang, Z. L., Li, Y-K & Li, X. 2010. Effects of trehalose supplementation on semen quality and oxidative stress variables in frozen-thawed bovine semen. *Animal Reproduction*, 88:1657-1662.
12. Keel, B.A. 1998. Effects of cryopreservation on motility characteristics of spermatozoa. *Journal of Reproduction and Fertility*, 81:213-220.
13. Kozdrowski, R. 2009. The effects of trehalose on post –thaw viability and fertility of European brown hare. *Animal reproduction Science*, 16:326-334.
14. Mann, T. 1964. The biochemistry of semen and of the male reproductive tract. 2ed. Methuen Press, London, pp: 265-364.

15. Matsuoka, T., Imai, H., Kohno, H. & Fukul, Y. 2006. Effects of bovine serum albumin and trehalose in semen diluents for improvement of frozen -thawed ram spermatozoa. *Reproduction Development*, 52:675-682.
16. Rigau, T., Reverter, J., Piedrafit, J., Canal, M. & Rodriguos- Gil, J.E. 2004. The rate of L-Lactate production a feasible parameter for the fresh diluted boar semen quality analysis. *Animal Reproduction Science*, 43:161-172.
17. SAS. Procedures guide for personal computer. version 9 edition. 2004. SAS Insitute Inc.
18. Shiva Shanker Reddy, N., Jagan Mohanarao, G. & Atreja, S. K. 2010. Effects of adding taurine and terhalose to a tris -based egg- based extender on buffalo (*Bubalus bubalis*) sperm quality following cryopreservation. *Animal Reproduction Science*, 119:183-190.
19. Varisli, O., Uguz, C., Agca, C. & Agca, Y. 2009. Motility and acrosomal integrity comparisons between electro-ejaculated and epididymal ram sperm after exposure to a range of anisotonic solutions, cryoprotective agents and low temperatures. *Animal Reproduction Science*, 110: 256-268.
20. Watson, P. F. 1990. Artificial insemination and the preservation of Semen. In: Marshall's physiology of Reproduction, Vol. 2. Reproduction in the male. Lamming G.E. (ed), Churchill Livingstone, pp: 746-869.

Effect of trehalose on the freezing of Taleshi rams sperm

ZH. Bohlol¹, M. Mohammadi^{1*}, M. Roostaei Alimehr¹, F. Talebi²

1 University of Guilan, 2Agriculture Organization of Guilan Province

*Corresponding E-mail address: mohammadi@guilan.ac.ir

Abstract

This study was conducted to determine the effect of trehalose on the freezing of Taleshi ram sperm using duilent based of lecithin. Semen was collected from 4 rams, was pooled after initial evaluation, diluted with Tris-lecithin, were divided into 3 groups and treated with 0, 50 and 100 mM trehalose and 7% glycerol. Diluted samples were aspirated into 0.25 ml French straws, were cooled to 5°C and being frozen in liquid nitrogen. After two weeks frozen straws were thawed individually at 37°C for 40 S in water bath. Progressive motility, viability, integrity of plasma membrane and acrosome integrity evaluated immediately after thawing. Treatment with trehalose improved progressive motility ($P<0/05$). Effects of trehalose on viability, integrity of plasma membrane and acrosome integrity were not observed ($P>0/05$). It is concluded that trehalose with concentration 50 and 100 mM improved progressive motility of sperm.

Keywords: Trehalose- Cryopreservation- Fluidity- Viability- Motility.

تاثیر استفاده از رقیق‌کننده‌های سیترات سدیم و تریس روی کیفیت اسپرم قوچ تالشی

سمیه عباسی^۱، مهرداد محمدی^{۲*}، علی احمد علو قطبی^۳، عارفه رسولی‌خواه^۴

۱- دانش‌آموخته دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، ۲- عضو هیات علمی دانشگاه گیلان، ۳- عضو هیات علمی دانشگاه

آزاد اسلامی واحد رشت

*نویسنده مسئول: مهرداد محمدی، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، mohammadi@guilan.ac.ir

چکیده

اسپرم با استفاده از واژن مصنوعی از ۴ راس قوچ تالشی بالغ جمع‌آوری شد. اسپرم استخراجی به وسیله ۲ رقیق‌کننده سیترات سدیم و تریس مکمل‌سازی شده با زرده تخم‌مرغ جهت ذخیره‌سازی رقیق شد. سپس اسپرم رقیق‌شده به ترتیب در دو دمای ۵ و ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد. غلظت و pH اسپرم در هر یک از نمونه‌ها برآورد شد. میزان زنده‌مانی اسپرم ۲، ۴ و ۶ ساعت بعد از اسپرم‌گیری مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. جهت تعیین زنده‌مانی اسپرم، از دو روش رنگ‌آمیزی با آنوزین-نگروزین و آزمون تورم هیپواسموتیک استفاده گردید و میزان تحرک اسپرم به وسیله مشاهده با میکروسکوپ اختلاف فاز تعیین شد. تمامی عوامل کیفی اسپرم تحت تأثیر نوع رقیق‌کننده، دمای نگهداری و زمان قرار گرفت ($P < 0.05$). اسپرم ذخیره شده در رقیق‌کننده تریس در طی زمان ۶ ساعت و در دماهای متفاوت خصوصیات کیفی بهتری از جمله تحرک، زنده‌مانی و سلامت غشاء را نشان داد ($P < 0.05$). نتایج آزمایش نشان داد که ذخیره‌سازی اسپرم قوچ تالشی در دمای ۵ درجه سانتیگراد در مقایسه با ذخیره‌سازی در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد سبب شد تا تغییرات صورت گرفته در کیفیت اسپرم کاهش یابد ($P < 0.05$). نتایج نشان داد که استفاده از رقیق‌کننده تریس جهت رقیق‌سازی اسپرم قوچ در مقایسه با رقیق‌کننده سیترات سدیم در طی مدت ذخیره‌سازی ۶ ساعته در دو دمای ۵ و ۲۰ درجه موجب حفظ بالاتر خصوصیات کیفی اسپرم شد ($P < 0.05$). تفاوت‌های مشخص شده بین رقیق‌کننده‌های مختلف که نمود خود را در نتایج حاصل از تلقیح مصنوعی نشان می‌دهد، نیاز به مطالعه بیشتری دارد.

واژگان کلیدی: سیترات سدیم - تریس - تحرک اسپرم - زنده‌مانی اسپرم - قوچ تالشی

مقدمه

تلقیح مصنوعی، استفاده موثر از اسپرم مازاد جنس نر را ممکن می‌سازد (۱). مراحل تلقیح مصنوعی شامل اسپرم‌گیری، ارزیابی نمونه، ذخیره‌سازی و تلقیح است. استفاده از روش مناسب و دقت در انجام هر یک از مراحل، نقش بسزایی در موفقیت تلقیح مصنوعی دارد (۸). ذخیره‌سازی منی مهمترین مرحله در تلقیح مصنوعی است (۹). با توجه به فاصله زمانی بین اسپرم‌گیری و تلقیح، داشتن یک محیط مناسب برای ذخیره‌سازی اسپرم‌ها با استفاده از رقیق‌کننده‌ها امکان‌پذیر می‌شود (۱۴). هر یک از روش‌های جدیدی که جهت فرآوری اسپرم مورد استفاده در تلقیح مصنوعی استفاده می‌شود باید قبل از استفاده گسترده در شرایط مزرعه‌ای، در آزمایشگاه مورد ارزیابی دقیق قرار گیرند که بدین منظور از روش‌های تعیین کیفیت آزمایشگاهی اسپرم استفاده می‌شود و تمرکز این روش‌ها روی برآورد عوامل کیفی اسپرم مانند زنده‌مانی، میزان تحرک و سلامت غشاء سیتوپلاسمی است (۱۰). نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است که نوع رقیق‌کننده مورد استفاده در فرآیند رقیق‌سازی و شرایط نگهداری اسپرم (دما و

زمان) روی کیفیت اسپرم تاثیر زیادی دارد اما در این زمینه بین گونه‌های مختلف حیوانی تفاوت‌هایی وجود دارد که می‌تواند ناشی از تفاوت‌های فیزیولوژی و نیازهای متابولیکی متفاوت اسپرم گونه‌های مختلف باشد. از این رو مطالعه این تاثیرات در گونه‌های مختلف از اهمیت بالایی برخوردار است (۱۲). با توجه به مشکل موجود در تلقیح مصنوعی میش‌های تالشی که بین اسپرم‌گیری و تلقیح مصنوعی یک فاصله زمانی رخ داده و با این عمل کارآیی تلقیح مصنوعی پایین بود این تحقیق انجام شد. لذا هدف از این تحقیق ارزیابی خصوصیات کیفی اسپرم قوچ تالشی در شرایط استفاده از رقیق‌کننده‌های سیترات سدیم و تریس و ذخیره‌سازی در دماهای مختلف جهت حفظ کیفیت آن تا زمان تلقیح مصنوعی بود.

مواد و روش‌ها

در فصل تولید مثل چهار قوچ نژاد تالشی با میانگین سنی ۱/۵ سال و میانگین وزنی $45/5 \pm 4$ کیلوگرم انتخاب و با استفاده از روش واژن مصنوعی اسپرم‌گیری صورت گرفت. منی بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد و تعیین غلظت اسپرم، رقیق‌سازی و سرد کردن صورت گرفت. غلظت اسپرم انزالی از تمامی قوچ‌ها قبل از رقیق‌سازی با استفاده از لام هموسیتمومتر اندازه‌گیری شد و میزان رقیق‌سازی بر حسب مقادیر اندازه‌گیری شده تعیین گردید. pH نمونه‌های اسپرم با استفاده از pH متر الکترونیک اندازه‌گیری شد. برای رسیدن به غلظت مناسب برای دیگر آزمایشات، اسپرم استخراجی با استفاده از رقیق‌کننده‌های تریس مکمل‌سازی شده با گلیسرول و زرده تخم مرغ، سیترات سدیم رقیق‌سازی شد.

گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از: گروه اول اسپرم رقیق شده با رقیق‌کننده سیترات سدیم و ذخیره‌سازی در دمای ۵ درجه سانتیگراد، گروه دوم اسپرم رقیق شده با رقیق‌کننده سیترات سدیم و ذخیره‌سازی در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد، گروه سوم اسپرم رقیق شده با رقیق‌کننده تریس و ذخیره‌سازی در دمای ۵ درجه سانتیگراد، گروه چهارم اسپرم رقیق شده با رقیق‌کننده تریس و ذخیره‌سازی در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد. این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار انجام پذیرفت. فاکتورها عبارت بودند از: ۲ نوع رقیق‌کننده (تریس و سیترات سدیم) و ۲ سطح دما (۵ و ۲۰ درجه سانتیگراد). متغیرهایی که اندازه‌گیری شد شامل میزان تحرک، زنده‌مانی و سلامت غشاء سیتوپلاسمی بود که در ساعتهای ۲، ۴ و ۶ پس از اسپرم‌گیری اندازه‌گیری شدند. جهت تجزیه داده‌های طرح از نرم افزار SAS با استفاده از برنامه proc ANOVA و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح معنی دار ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به pH، غلظت و حجم اسپرم دارای اختلاف معنی‌دار نبودند ($P > 0/05$). نتایج مطالعات نشان می‌دهد که روش اسپرم‌گیری، فصل و تفاوت‌های انفرادی بر خصوصیات کیفی اسپرم می‌تواند موثر باشد (۴). طی آزمایشات متعدد در گوسفند غلظت اولیه اسپرم روی تغییرات صورت گرفته در خصوصیات کیفی اسپرم طی مدت ذخیره‌سازی موثر است (۳). نتایج این تحقیق نشان داد که تاثیر شرایط نگهداری (دما و زمان) و نوع رقیق‌کننده مورد استفاده روی خصوصیات تحرک، زنده‌مانی و سلامت غشاء سیتوپلاسمی اسپرم معنی‌دار بود ($P < 0/05$). بطوریکه بیشترین درصد تحرک و زنده‌مانی اسپرم مربوط به گروه سوم، ۲ ساعت بعد از اسپرم‌گیری و کمترین میزان تحرک و زنده‌مانی اسپرم مربوط به گروه دوم، ۶ ساعت بعد از اسپرم‌گیری بود (جدول ۱). نتایج مطالعات روی اسپرم قوچ و بز کوهی نشان داد که کلیه خصوصیات کیفی اسپرم شامل تحرک، قدرت باروری، زنده‌مانی، فعالیت متابولیکی اسپرم شامل مصرف O_2 و تولید CO_2 و همچنین تبادلات غشاء اسپرم و میزان تعادل یونی اسپرم و



میزان مصرف ATP و تولید مواد دفعی توسط اسپرم تحت تاثیر نوع رقیق کننده و شرایط ذخیره سازی قرار گرفت (۱۱). همچنین نتایج تحقیقات نوع رقیق کننده مورد استفاده و شرایط ذخیره سازی اسپرم شامل دما و زمان را روی خصوصیات کیفی اسپرم موثر دانستند و دلیل این امر را تفاوت های فیزیکی و شیمیایی رقیق کننده های مختلف اعلام نمودند (۷).

جدول ۱- تاثیر شرایط ذخیره سازی اسپرم روی خصوصیات کیفی اسپرم در گروه های آزمایشی

گروه های آزمایشی	درصد زنده مانى			درصد تحرک			درصد سلامت غشاء سیتوپلاسمی		
	ساعت			ساعت			ساعت		
	۶	۴	۲	۶	۴	۲	۶	۴	۲
گروه اول	a _{۷۷}	a _{۷۲}	a _{۶۶}	a _{۶۱}	a _{۵۵}	a _{۶۶}	a _{۷۱}	a _{۶۶}	a _{۶۰}
گروه دوم	b _{۷۴}	b _{۶۹}	b _{۶۳}	b _{۵۸}	b _{۵۲}	b _{۶۳}	b _{۶۸}	b _{۶۳}	b _{۵۷}
گروه سوم	c _{۸۳}	c _{۷۸}	c _{۷۲}	c _{۶۷}	c _{۶۱}	c _{۷۲}	c _{۷۷}	c _{۷۲}	c _{۶۶}
گروه چهارم	d _{۸۰}	d _{۷۵}	d _{۶۹}	d _{۶۴}	d _{۵۸}	d _{۶۹}	d _{۷۴}	d _{۶۹}	d _{۶۳}

حروف غیر مشابه در هر ستون به مفهوم اختلاف معنی دار است ($p < 0.05$).

گروه اول: رقیق شده با رقیق کننده سیترات سدیم و نگهداری در دمای ۵ درجه سانتیگراد، گروه دوم: رقیق شده با رقیق کننده سیترات سدیم و نگهداری در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد، گروه سوم: رقیق شده با رقیق کننده تریس و نگهداری در دمای ۵ درجه سانتیگراد، گروه چهارم: رقیق شده با رقیق کننده تریس و نگهداری در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد.

اثر نوع رقیق کننده روی خصوصیات تحرک، زنده مانى و سلامت غشاء سیتوپلاسمی اسپرم نشان دهنده تاثیر نوع رقیق کننده بر خصوصیات تحرک، زنده مانى و سلامت غشاء سیتوپلاسمی است. جهت حفظ خصوصیات کیفی اسپرم رقیق کننده تریس در اولویت اول و سیترات سدیم در مرتبه دوم قرار داشت. تاثیر نوع رقیق کننده بر توانایی تحرک اسپرم می تواند بوسیله حفظ pH محیط با کمک رقیق کننده مورد استفاده و واکنش های شیمیایی مواد موجود در رقیق کننده با اجزاء غشاء سیتوپلاسمی اسپرم طی مدت ذخیره سازی صورت گیرد. محققین با مطالعه روی اسپرم قوچ همبستگی نزدیک بین pH محیط و توانایی تحرک اسپرم را بیان کردند و pH مناسب جهت محیط نگهداری اسپرم قوچ را ۷/۵-۷ عنوان نمودند (۱۱). به نظر می رسد تاثیر رقیق کننده بر زنده مانى اسپرم ناشی از تاثیر روی فعالیت دینامیکی غشاء است (۱۳). همچنین دلیل تفاوت رقیق کننده های مختلف در حفظ زنده مانى اسپرم را می توان به تفاوت قند موجود در آنها و میزان اسمولاریته محیط نگهداری بیان کرد (۱۵). محققین تاثیر رقیق کننده بر سلامت غشاء سیتوپلاسمی اسپرم را به علت اثر آن بر میزان نفوذ پذیری غشاء ناشی از تفاوت های ساختاری و شیمیایی رقیق کننده های مختلف دانستند (۲). غلظت آدنوزین تری فسفات در محیط نگهداری اسپرم عامل مهمی در حفظ کیفیت اسپرم است و از سوی دیگر غلظت ATP و اسمولاریته محیط نگهداری تاثیر عمده ای روی میزان نفوذ پذیری غشاء اسپرم دارد که عامل اصلی در کنترل سلامت غشاء و زنده مانى اسپرم است (۶). تحقیقات نشان داده است که یونهای معدنی موجود در رقیق کننده با اتصال به قسمت های آبدوست گلیکوپروتئین های غشاء اسپرم موجب حفظ خصوصیات این گلیکوپروتئین ها و باعث جلوگیری از پارگی و اختلال در نفوذ پذیری غشاء اسپرم می شود (۵). سلامت غشاء سیتوپلاسمی اسپرم عاملی حیاتی جهت زنده مانى اسپرم است.

سلامت غشاء موجب حفظ تعادل pH، فعالیت متابولیکی و خصوصیات یونی اسپرم می‌شود و مهمترین اثر رقیق‌کننده بر کیفیت و زنده‌مانی اسپرم از طریق تاثیر آن بر سلامت غشاء طی مدت ذخیره سازی است (۶).
در نهایت می‌توان گفت نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که رقیق‌کننده تریس در مقایسه با رقیق‌کننده سیترات سدیم جهت رقیق‌سازی اسپرم قوچ تالشی همراه با حفظ کیفیت اسپرم ارجحیت دارد. نگهداری اسپرم در دمای ۵ درجه سانتیگراد در مقایسه با دمای ۲۰ درجه سانتیگراد بهتر است و در این دما کیفیت اسپرم بیشتر حفظ می‌شود.

منابع

1. Akcay, E., Bozcort, Y., Secer, S. & Tekin, N. 2004. Cryopreservation of mirror carp semen. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28(4): 837-843.
2. Dorado, J. M., Rodriguez, I., Hidalgo, M. & Sanz, J. 2005. Computer-assisted analysis of goat sperm motility and velocity before and after cryopreservation. *Reproduction in Domestic Animals*, 40: 401-402.
3. Gil, J., Lundeheim, N., Soderquist, L. & Rodriguez-Martinez, H. 2003. Influence of extender, temperature, and addition of glycerol on post-thaw sperm parameters in ram semen. *Theriogenology*, 59:1241-1255.
4. Giuliano, S., Director, A., Gambarotta, M., Trasorras, V. & Miragaya, M. 2008. Collection method, season and individual variation on seminal characteristics in the llama (*Lama glama*). *Animal Reproduction Science*, 104(2): 359-369.
5. Helenius, A. & Simons, K. 1975. Solubilization of membranes by detergents. *Biochimica et Biophysica Acta*, 415: 29-79.
6. Hidalgo, M., Rodriguez, I. & Dorado, J. 2007. The effect of cryopreservation on sperm head morphometry in Florida male goat related to sperm freezability. *Animal Reproduction Science*, 100: 61-72.
7. Li, Y. H., Cai, K.J., Kovacs, A. & Ji, W.Z. 2005. Effects of various extenders and permeating cryoprotectants on cryopreservation of cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) spermatozoa. *Journal of Andrology*, 26: 387-395.
8. Menchaca, A., Pinczak, A. & Queirolo, D. 2005. Storage of ram semen at 5 °C: effects of preservation period and timed artificial insemination on pregnancy rate in ewes. *Animal Reproduction Science*, 2(3): 195-198.
9. Muino, R., Fernandez, M. & Pena, A.I. 2007. Post-thaw survival and longevity of bull spermatozoa frozen with an egg yolk-based or two egg yolk-free extenders after an equilibration period of 18 h. *Reproduction in Domestic Animals*, 42(3): 305-311.
10. Nur, Z., Dogan, I., Soyulu, M. K. & Ak, K. 2003. Effect of different thawing procedures on the quality of bull semen. *Revue de Medecine Veterinaire*, 154(7): 487-490.
11. Ollero, M., Perez-Pe, R., Muino-Blanco, T. & Cebrian-Perez, J. A. 1998. Improvement of ram sperm cryopreservation protocols assessed by sperm quality parameters and heterogeneity analysis. *Cryobiology*, 37(1):1-12.
12. Paulenz, H., Soderquist, L., Perez-Pe, R. & Berg, K. A. 2002. Effect of different extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. *Theriogenology*, 57(2): 823-836.
13. Sato, M. & Ishikawa, A. 2004. Room temperature storage of mouse epididymal spermatozoa: exploration of factors affecting sperm survival. *Theriogenology*, 61(7-8): 1455-1469.

14. Shahiduzzaman, A. K. & Linde-Forsberg, C. 2007. Induced immotility during long-term storage at 5⁰C does not prolong survival of dog spermatozoa. *Theriogenology*, 68(6): 920-933.

15. Silva, L. D. M. & Versteegen, J. P. 1995. Comparisons between three different extenders for canine intrauterine insemination with frozen-thawed spermatozoa. *Theriogenology*, 44(4): 571-579.

Effect of sodium citrate and tris on sperm quality of Taleshi rams
S. Abbasi¹, M. Mohammadi^{2*}, A. A. Olov Ghotbi³, A. Rasoolikhah⁴

1,4 Graduated from the Faculty of Agriculture, University of Guilan, 2 University of Guilan, 3 Islamic Azad University- Rasht branch

*Corresponding E-mail address: mohammadi@guilan.ac.ir

Abstract

Semen was collected with an artificial vagina from four adult Taleshi rams. The ejaculates were pooled and diluted in two different extenders: sodium citrate and tris-based extenders including egg yolk. Thereafter, the diluted semen was stored at 5 and 20⁰ C, respectively. Sperm concentration was determined and pH of each sample was measured. Sperm viability was evaluated after 2, 4, and 6 h of storage. Sperm viability was assessed using Eosin-Nigrosin test and hypo-osmotic resistance test technique. The percentage of total motility was determined by phase-contrast microscope. The results indicated that all sperm viability parameters were influenced by storage time, temperature and extenders ($P<0.05$). Semen that was diluted and stored in the Tris-based extender maintained sperm motility for a longer period of time, and membrane integrity was higher during storage up to 6 h as compared to other extenders independent of storage temperature ($P<0.05$). In general, semen storage at 5⁰ C seemed to influence sperm viability parameters to a lesser extend compared to 20⁰ C ($P<0.05$). In conclusion, the results of the present study indicated that tris-based extenders preserved sperm viability better than the sodium citrate extender when liquid ram semen was stored up to 6 h at 5⁰ and 20⁰ C. Whether the differences found between the extenders will be reflected in the fertility results after artificial insemination needs further studies.

Keywords: Keywords: Sodium citrate-tris- sperm motility- sperm viability- Taleshi ram

بررسی تاثیر حجامت درمانی بر سطح فاکتور های ایمنولوژیک در گوسفند

امین افصیحی^۱، *، زهرا آئینی^۲، حسین رضوان^۳ و مرتضی یآوری^۴

۱- دانشجوی کارشناسی بهداشت مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا همدان، ۲- دانشجوی کارشناسی علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا همدان، ۳- استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا همدان ۴- استادیار، گروه دامپزشکی، دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا همدان

*نویسنده مسئول: امین افصیحی، ایمیل: Amin.afsahi101@gmail.com

چکیده

در این تحقیق ۱۶ راس میش نژاد مهربان با محدوده سنی ۲-۴ سال به صورت تصادفی به ۲ گروه ۸ تایی شاهد و آزمایش تقسیم شدند. در گروه آزمایش، ابتدا پشم ناحیه ساکرا ل گوسفند چیده شد و حجامت در ناحیه ساکرا ل انجام شد. قبل از شروع آزمایش و در روزهای ۳، ۷ و ۱۸ پس از انجام حجامت از دو گروه شاهد و آزمایش خون گیری از سیاهرگ گردنی انجام شد و فاکتورهای C₃ (مهم ترین جز سیستم کمپلمان)، گلبول سفید تام، لنفوسیت و گرانولوسیت اندازه گیری گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده های بدست آمده به وسیله نرم افزار SPSS انجام شد. بررسی ها افزایش معنی داری ($P < 0.05$) در مقدار C₃ بین نمونه روز صفر و ۱۸ پس از حجامت در گروه آزمایش نشان داد. نتایج در سایر فاکتورهای بررسی شده، اختلاف معنی داری را نشان نداد ($P > 0.05$). نتیجه کلی: با توجه به نتایج به دست آمده، به نظر می رسد حجامت می تواند بر روی سیستم ایمنی گوسفند به خصوص سیستم کمپلمان تاثیر مثبت داشته باشد.

کلمات کلیدی: حجامت- گوسفند- فاکتورهای ایمنولوژیک- مدل حیوانی

مقدمه

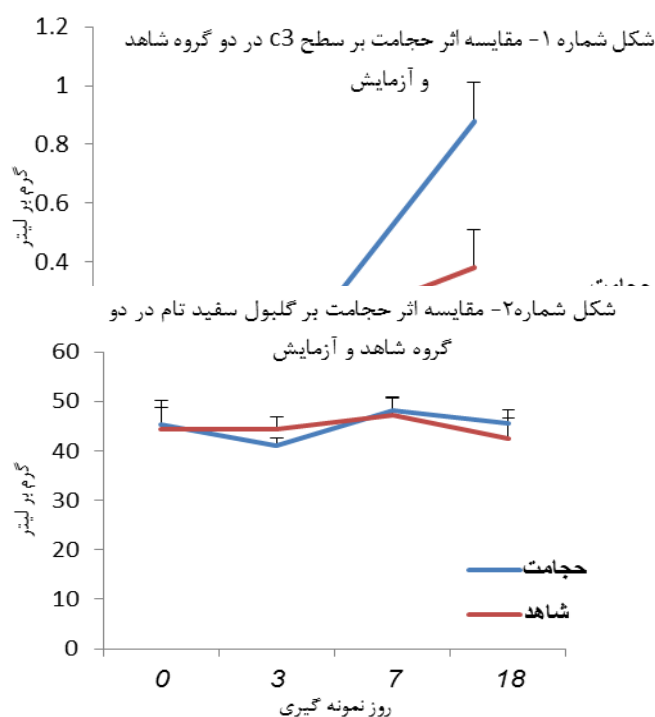
طب سنتی ایرانی- اسلامی یک مکتب طبی جامع و پویا است که ریشه های آن به پیش از ۸۰۰۰ سال قبل از میلاد مسیح باز میگردد (۲). حجامت به عنوان یکی از روش های درمانی طب سنتی، برای بازگرداندن و احیا تعادل در ارگانیسم است که براساس قدیمی ترین سند موجود از ۳۳۰۰ سال قبل از میلاد مسیح به عنوان یک روش درمانی در مقدونیه انجام می شده است (۱،۲). این عمل به صورت ایجاد مکش در مواضع خاصی از بدن و خونگیری از آن مواضع ایجاد می شود. زمانی که بادکش به تنهایی ایجاد شود حجامت گرم و خشک (Dry Cupping) نامیده می شود و زمانی که پس از بادکش بوسیله ایجاد خراش سطحی روی پوست در سطح اپی درم و بادکش مجدد، از بدن خون گرفته شود حجامت تر (Wet Cupping) نامیده می شود (۱،۲،۵). علیرغم تاثیر گذار بودن حجامت در پیشگیری و درمان بیماری های انسانی از گذشته تا به حال، مکانیسم حقیقی و نحوه تاثیر گذاری آن، کاملاً شناخته شده نیست و فرضیات و هیپوتزهای متعددی پیرامون آن مطرح است (۲). شاید یکی از دلایل این مطلب، محدودیت های پیش رو در نمونه گیری و جلب رضایت افراد داوطلب و عدم وجود مدل آزمایشگاهی مناسب برای اثبات نحوه تاثیر گذار بودن حجامت در سیستم ها و ارگان های مختلف بدن از جمله سیستم ایمنی بدن باشد. مطالعه حاضر برای اولین بار به منظور بررسی تاثیر حجامت بر روی برخی فاکتورهای ایمنولوژیک گوسفند، هم به عنوان یک مدل حیوانی حجامت درمانی جهت مطالعات انسانی و هم به عنوان یک روش پیشگیری و درمانی ارزان و بدون عوارض جانبی در درمان بیماری های دام طراحی و اجرا گردید.

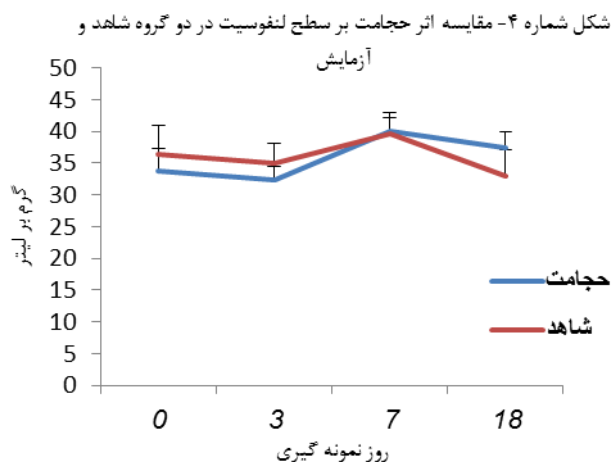
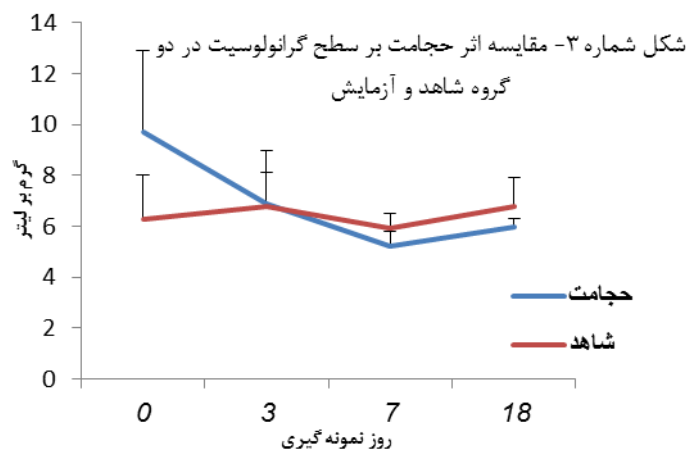
مواد و روش ها

این مطالعه بر روی ۱۶ راس میش نژاد مهربان با حدود سنی ۲-۴ سال در ایستگاه دامپروری تحقیقاتی عباس آباد دانشگاه بوعلی سینا اجرا شد. گوسفندان در طی آزمایش با جیره استاندارد و یکسان تغذیه شدند. قبل از شروع آزمایش از هر یک از گوسفندان یک نمونه خون از ورید و داج گرفته شد. ۱ میلی لیتر از خون گرفته شده بلافاصله به لوله آغشته به ماده ضد انعقاد اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) برای سنجش گلبول سفید تام، لنفوسیت و گرانولوسیت و ۷ میلی لیتر باقی مانده به لوله بدون ماده ضد انعقاد جهت تهیه سرم و سنجش C₃ (مهم ترین جز سیستم کمپلمان) انتقال یافت. برای جداسازی سرم لوله ها با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم آن ها جدا گردید. سپس گوسفندان بر اساس شماره گوش به طور تصادفی در ۲ گروه ۸ تایی شاهد و آزمایش تقسیم شدند. در گروه آزمایش، ابتدا پشم ناحیه ساکral گوسفند به وسیله پشم چین دستی اصلاح گردید. سپس گوسفند را به پهلو خوابانده و پس از ۵ دقیقه بادکش گذاری در ناحیه ساکral، با استفاده از تیغ بیستوری استریل شماره ۱۵ حدود ۴۰ خراش به عمق حداکثر ۳/۵ میلیمتر و طول ۰/۵ سانتی متر در ناحیه نام برده ایجاد شد. پس از ایجاد خراش نیز یک مرحله بادکش به مدت ۳ دقیقه صورت پذیرفت و خون خارج شده پاک گردید. در نهایت نیز محل حجامت پانسمان گردید. ۷،۳ و ۱۸ روز پس از انجام آزمایش مجدداً از هر یک از گوسفندان گروه شاهد و آزمایش به ترتیب قبل، خونگیری از ورید و داج صورت پذیرفت. سنجش C₃ پس از جمع آوری هر سری به روش نفولومتري انجام پذیرفت. سنجش WBC، لنفوسیت ها و گرانولوسیت ها نیز با استفاده از دستگاه سل کانتر دیاترون انجام گرفت. داده های بدست آمده به وسیله نرم افزار SPSS و آزمون تی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. سطح معنی دار داده ها ۵ درصد در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

برای مقایسه، سرم گروه آزمایش و شاهد از نظر فاکتور C₃ از آزمون تی استفاده شد. نتایج، اختلاف معنی داری را در سطح این پروتئین، در روز ۳ پس از حجامت در نمونه پیش آزمون و پس آزمون، در گروه شاهد و آزمایش نشان نداد، اما میزان C₃ در روز ۱۸ پس از حجامت در گروه آزمایش نسبت به نمونه پیش آزمون، به طور معنی داری بالاتر بود ($P < 0.05$) (شکل ۱). برای مقایسه خون گروه شاهد و آزمایش از نظر فاکتورهای WBC، لنفوسیت و گرانولوسیت نیز از آزمون تی استفاده شد. در تجزیه و تحلیل آماری اختلاف معنی داری از نظر افزایش فاکتورهای نام برده در روزهای ۳، ۷ و ۱۸ پس از حجامت بین دو گروه شاهد و آزمایش مشاهده نگردید. (شکل ۲ - ۴).





با وجود قدمت حجامت در طب سنتی، تحقیقات اندکی در خصوص مکانیزم های درگیر در تاثیر این عمل بر بدن انجام گرفته است که این تحقیقات نیز فقط در نمونه های انسانی صورت پذیرفته است. (۶،۵،۴،۱،۲) یکی از فرضیات مطرح در زمینه حجامت، فرضیه تاثیر آن بر سیستم ایمنی است. در این مطالعه برای اولین بار، اثر حجامت بر برخی فاکتورهای ایمونولوژیک گوسفند مورد بررسی قرار گرفت.

سیستم کمپلمان جز اساسی دفاع بدن است که یک سیستم بیوشیمیایی پیچیده و چند جزئی است که به طور کوالان پروتئین های اختصاصی را به سطح میکروبی متصل می کند. این پروتئین ها می توانند ارگانیزم های مهاجم را منهدم کنند (۱). سیستم کمپلمان

یا با حضور آنتی بادی روی سطح ارگانیسم و یا به سادگی توسط ساختمان های کربوهیدراتی روی سطح ارگانیسم ها فعال می شود. به این ترتیب سیستم کمپلمان پلی است بین سیستم ایمنی ذاتی که آنتی ژن بیگانه را بر اساس کربوهیدرات های خارجی می شناسد و سیستم ایمنی اکتسابی که بر اساس تولید آنتی بادی است (۱). C₃ مهم ترین جز سیستم کمپلمان در مسیر آلترناتیو می باشد که تا کنون شناسایی شده است. معمولاً توسط سلول های کبدی و ماکروفاژ ها ساخته می شود و بیشترین غلظت سرمی را در میان اجزای کمپلمان داشته و برای پیشرفت آبشار کمپلمان ، فعال شدن این پروتئین ضروری است (۱). نتایج این تحقیق در مورد C₃ (به عنوان مهم ترین جز سیستم کمپلمان) در گوسفند نشان داد که، سطح این پروتئین در روز ۱۸ پس از حجامت به طور معنی داری در گروه آزمایش نسبت به نمونه پیش آزمون و در مقایسه با گروه شاهد بالاتر است. تحقیقات صورت گرفته بر روی اثرات حجامت بر عملکرد سیستم ایمنی در درمان برونشیت مزمن در انسان ، افزایش معنی دار سطح C₃ در گروه حجامت یافته نسبت به گروه شاهد را نشان داد (۶). در این مطالعه تغییرات معنی داری در میزان WBC، لنفوسیت و گرانولوسیت ، متعاقب انجام حجامت در گروه تست نسبت به گروه کنترل مشاهده نگردید. به طور کلی عدم تاثیر منفی حجامت بر میزان WBC، لنفوسیت ها و گرانولوسیت ها و تاثیر مثبت آن بر سیستم کمپلمان در گوسفند، راه را برای تحقیقات بعدی در مورد این روش درمانی در دامپزشکی و پزشکی با استفاده از حیوانات هموار ساخته است.

منابع

- ۱- ربانی، م. محزونیه، م. (۱۳۸۳). "ایمنی شناسی دامپزشکی". چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران. ۵۰۴-۵۲۴.
- ۲- ظریف کار، ا. امیرغفران، ز. حبیبی، ح. منصوری، ر. (۱۳۸۹). "بررسی اثر حجامت بر سطح سرمی آنتی بادی های علیه آنتی ژن HBS بعد از تزریق واکسن هپاتیت B". طب سنتی اسلام و ایران. ۲۵۹: (۳) ۲۶۳.
- ۳- واعظ مهدوی، م. دانیالی، ف. غضنفری، ط. ناصری، م. (۱۳۸۸). "مقایسه خون وریدی و خون حاصل از حجامت از نظر فاکتورهای بیوشیمیایی و هماتولوژی و پاسخ های ایمنولوژیک". فیزیولوژی و فارماکولوژی. ۱۳ (۱): ۷۸-۸۷.
- ۴- Ahmed, SM. Madbouly, NH. Maklad, SS. Abu-Shady, EA. (2005). "Immunomodulatory effects of blood lettingcuppingtherapy in patients with rheumatoid arthritis". *Egypt J Immunol*.12(2):39-51.
- ۵- Niasari, N. Kosari, F. Ahmadi, A. (2007) "The Effect of Wet Cupping on Serum Lipid Concentrations of Clinically Healthy Young Men: A Randomized Controlled Trial". *ALTERNATIVE AND COMPLEMENTARY MEDICINE*.1:79-82
- ۶- Zhang CQ. Liang TJ. Zhang W (2006). "Effects of drug cuppingtherapy on immune function in chronic asthmatic bronchitis patients during protracted period". *ZhongguoZhong Xi Yi Jie He ZaZhi*.26(11):984-7.

Effect of wet cupping on immunological parameters in sheep
Amin Afsahi^{1*}, Zahra Aeini², Hossein Rezvan³, Morteza Yavari⁴

1.Student of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine ,Bu Ali Sina University in Hamedan. 2.Student Laboratory Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Bu Ali Sina

University in Hamedan. 3. Assistant Professor, Department of Laboratory Medicine, School of Veterinary Medicine, Bu-Ali Sina University in Hamedan 4- Assistant Professor, Department of veterinary, School of Veterinary Medicine, Bu-Ali Sina University in Hamedan

* Corresponding E-mail address : amin afsahi . amin.afsahi101@gmail.com

Abstract

In this study, 16 Mehraban ewes aged 2-4 years old was randomly divided into 2 groups (n=8). In the experiment group, the wool of sacral region was modified firstly, and then cupping has been done. At the start day of the experiment and in 3th, 7th and 18th days after cupping, the blood samples were taken from jugular vein of both groups and immunological factors such as WBC, lymphocytes, granulocytes and C₃ were analysed. The findings showed a significant increase ($P < 0.05$) in C₃ factor between 0 and 18 days of in experiment group. There was no significant difference in other factors between the studied groups ($P > 0.05$).

Keywords: wet cupping - sheep - immunologic factors. Animal Model

بررسی اثرات گلوکاتینون و هایپوتائورین بر روی انجمادپذیری اسپرم بز مرخز

محمد رضا زاده^{۱*} و عباس فرشاد^۲

۱- خراسان شمالی، شهرستان فاروج ۲- دانشگاه کردستان

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mreazadeh1881@yahoo.com

چکیده

هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی اثرات گلوکاتینون (۱، ۳ و ۸ میلی مولار) و هایپوتائورین (۱۰، ۳۰ و ۵۰ میلی مولار) بر روی انجماد پذیری اسپرم بز مرخز می باشد. پس از ۲ هفته عادت دهی بزها به اسپرم گیری، نمونه های منی برای ۸ هفته (هفته ای یکبار) از ۲ بز مرخز گرفته و پس از قرار دادن آنها درون فلاسک حاوی آب ۳۸ درجه سانتی گراد، در کمترین زمان ممکن به آزمایشگاه انتقال داده شدند. نمونه های منی از لحاظ جنمایی بررسی شده و بعد از افزودن رقیق کننده ها، آنها را در تانک ازت قرار داده و بعد از ۴۸ ساعت یخ گشایی شدند. نمونه های یخ گشایی شده از لحاظ جنمایی، جنمایی پیش رونده، زنده مان، سلامت آکروزوم و سلامت غشا با استفاده از میکروسکوپ نوری ارزیابی شدند. داده های بدست آمده در قالب طرح کامل تصادفی و با استفاده از نرم افزار SAS آنالیز شدند. میانگین تیمارها نیز بر اساس آزمون دانکن مقایسه شدند. گلوکاتینون در سطح ۱ میلی مولار باعث افزایش معنی داری در زنده مان و سلامت غشای اسپرم و همچنین در تمام سطوح باعث افزایش معنی داری در سلامت آکروزوم شد ($P < 0.05$). گلوکاتینون در سطح ۸ میلی مولار باعث کاهش معنی داری در جنمایی و جنمایی پیش رونده اسپرم ها شد ($P < 0.05$). تمام غلظت های هایپوتائورین باعث کاهش معنی داری در جنمایی و جنمایی پیش رونده ($P < 0.05$) اسپرم ها شد. هایپوتائورین در غلظت های ۳۰ و ۵۰ میلی مولار باعث کاهش معنی داری در زنده مان و در غلظت ۵۰ میلی مولار باعث کاهش معنی داری در سلامت غشا شد ($P < 0.05$).

واژگان کلیدی: انجمادپذیری - گلوکاتینون - هایپوتائورین - اسپرم - بز مرخز کردستان.

مقدمه

تلقیح مصنوعی اولین تکنولوژی بزرگی است که برای بهبود تولیدمثل و ژنتیک حیوانات مزرعه استفاده می شود. انجماد منی منجر به انواع مختلفی از تغییرات سلولی می شود که در نهایت این تغییرات منجر به کاهش باروری اسپرم در مقایسه با اسپرم تازه می شود. در غشای اسپرم، سطوح بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع به منظور بالا بردن قابلیت انعطاف و سیالیت غشاء وجود دارد (۵). پیوندهای دوگانه این اسیدهای چرب در برابر رادیکال های آزاد، ناپایدار بوده و از همین رو حساسیت غشای اسپرم در برابر پراکسیداسیون لیپیدی بسیار بالاست. بنابراین افزودن آنتی اکسیدان به مایع منی جهت کاهش اکسیداسیون، مفید خواهد بود. آنتی اکسیدانهایی که در این پژوهش استفاده شد، گلوکاتینون و هایپوتائورین است. گلوکاتینون یک تیول تری پتید است که این ظرفیت را دارد تا به آسانی یک الکترون بدهد. گروه سولفیدریل گلوکاتینون (SH) که از باقیمانده سیستمین بوجود می آید، بخش دهنده گلوکاتینون است و از سلول در برابر آسیب اکسیداتیو، محافظت می کند (۷). هایپوتائورین محصول نهایی متابولیسم سیستمین در پستانداران می باشد. هایپوتائورین یک آنتی اکسیدان ممانعت کننده است که رادیکال های هیدروکسیل را خنثی می کند. این رادیکال های هیدروکسیل باعث آسیب های اکسیداتیو می شوند (۴).

مواد و روش‌ها

این پژوهش در ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد بز مرخز معاونت امور دام سنندج صورت گرفت. تعداد ۴ بز ۳-۴ ساله انتخاب شده و به مدت ۲ هفته قبل از اسپرم‌گیری، با مهبل مصنوعی آموزش داده شدند. جمع‌آوری منی به صورت هفته‌ای یکبار و با استفاده از مهبل مصنوعی انجام گرفت. پس از اسپرم‌گیری، نمونه‌های منی بوسیله فلاسک عایق حاوی آب ۳۷ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل و برای جلوگیری از شوک سرمایی، نمونه‌ها تا قبل از انجماد در حمام بن‌ماری (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. پس از ارزیابی اولیه، اسپرم‌هایی که غلظت ۱-۱/۵ میلی‌لیتر و جنبایی بالای ۷۰٪ داشتند، انتخاب شدند. در این آزمایش از رقیق‌کننده بر پایه ایوانس - مکسول (۱۹۸۹) استفاده شد. به رقیق‌کننده پایه به صورت جداگانه مقدار غلظت‌های ۱۰، ۳۰ و ۵۰ میلی‌مولار / میلی‌لیتر هایپوتائورین و ۱، ۳ و ۸ میلی‌مولار / میلی‌لیتر گلوکاتایون افزوده شد. سپس این رقیق‌کننده‌ها با نسبت ۱:۱۲ به نمونه‌های منی افزوده شدند. پس از افزودن رقیق‌کننده به نمونه منی، نمونه‌ها بداخل پایوت‌های ۰/۲۵ میلی‌لیتری مکیده شده سپس در یخچال به مدت ۳-۲/۵ ساعت قرار داده تا دمای آن به ۵ درجه سانتی‌گراد برسد. در مرحله بعد پایوت‌ها را بطور افقی در ارتفاع ۵-۴ سانتی‌متری بخار ازت (۸۰- درجه سانتی‌گراد) بمدت ۱۰ دقیقه قرار داده و در نهایت پایوت‌ها را به داخل تانک ازت مایع (۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) انتقال داده تا منجمد شوند.

پس از ۴۸ ساعت، پایوت‌ها از داخل تانک ازت بیرون آورده و سپس تک‌تک نمونه‌ها از لحاظ زنده‌مانی، جنبایی، جنبایی پیش‌رونده، سلامت آکروزوم و سلامت غشا بررسی شدند. جهت برآورد سلامت آکروزوم از محلول فرمالین سیترات (۱) و جهت برآورد میزان سلامت غشا از محلول HOST^{۸۹} (۹) استفاده شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و طبق رویه GLM انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون دانکن استفاده شد. اطلاعات جمع‌آوری شده در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۸ تکرار و براساس مدل آماری ذیل انجام شد:

$$Y_{ij} = \mu + T_j + e_{ij}$$

Y_{ij} = هر یک از مشاهدات، μ = میانگین کل، T_j = اثر تیمار و e_{ij} = خطای آزمایشی

نتایج و بحث

در جدول ۱، میانگین درصد ویژگی‌های اسپرم تازه بز مرخز آمده است.

جدول ۱- میانگین درصد ویژگی‌های اسپرم تازه بزهای مرخز در ۱۶ تکرار

زنده‌مانی (%)	جنبایی (%)	جنبایی پیش‌رونده (%)	سلامت آکروزوم (%)	سلامت غشا (%)	حجم انزال (ml)	غلظت اسپرم (×10 ⁹ ml ⁻¹)
۸۶/۶۲±۲/۵	۸۴/۸۷±۳/۰۷	۷۵/۰۶±۴/۰۴	۸۲/۵±۲/۳۳	۷۱/۴۳±۱۶/۳۳	۱	۳/۹۸

نتایج اثرات گلوکاتایون و هایپوتائورین در جدول ۲ آمده است. نتایج ما در خصوص گلوکاتایون در محدوده نتایج برخی از محققین است که روی خوک (۱۱) و گاو کار کردند. این محققین علت کاهش جنبایی با افزایش مقدار گلوکاتایون را این گونه بیان کردند که گلوکاتایون ممکن است منجر به اثرات زیان‌آوری بر روی میتوکندری شود. این آسیب‌ها می‌توانند شامل رقیق و تخریب کردن DNA درون میتوکندری و کاهش جنبایی اسپرم مکمل شده با GSH، باشد (۱۱). مشخص شده که گلوکاتایون می‌تواند از

^{۸۹} Hypo-Osmotic Swelling Test .



سر، قطعه میانی و دم اسپرم محافظت کرده و میتوکندری را تثبیت کند (۱۰). شاید به خاطر همین باشد که در تحقیق حاضر، هر سه سطح گلو تاتیون باعث افزایش معنی داری در سلامت آکروزوم و سطح ۱ میلی مولار گلو تاتیون باعث بهبود در سلامت غشای اسپرم بزد شد.

جدول ۲- اثر سه سطح از گلو تاتیون و هایپوتائورین بر روی پارامترهای اسپرم بزد مرخز پس از یخ گشایی در ۸ تکرار

گروه ها	زنده ماننی (%)	جنبایی (%)	جنبایی پیش رونده	سلامت آکروزوم	سلامت غشا (%)
			(%)	(%)	
شاهد	۴۸/۶۲±۸/۲۴	۴۷/۶۲±۸/۷۱	۳۴/۳۷±۴/۲۲	۴۴/۵۰±۱/۳۵	۴۰/۳۷±۲/۲۸
گلو تاتیون (۱ mM)	۶۰/۱۲±۳/۸*	۵۵/۵۰±۱۰/۲۵*	۳۷/۵۰±۱۳/۷۸ ^{ns}	۶۵/۲۵±۱/۷۷*	۵۴/۸۷±۱/۲۲*
گلو تاتیون (۳ mM)	۵۳/۵۰±۵/۲۵ ^{ns}	۴۹/۲۵±۵/۸۱ ^{ns}	۳۱/۱۲±۴/۵۱ ^{ns}	۶۲/۲۵±۱۰/۵۶*	۴۶/۷۵±۷/۷ ^{ns}
گلو تاتیون (۸ mM)	۴۰/۵۰±۸/۹۶ ^{ns}	۳۴/۷۵±۳/۵۹*	۱۸/۳۷±۱/۸۱*	۶۳/۵۰±۱/۲۸*	۳۸±۵/۲۸ ^{ns}
هایپوتائورین (۱۰ mM)	۳۹/۶۲±۲۴/۹۲ ^{ns}	۲۷/۷۵±۲۳/۵۲*	۱۷/۷۵±۱۵/۳۱*	۵۶/۸۷±۴/۵۵*	۴۳/۶۲±۱۳/۹۶ ^{ns}
هایپوتائورین (۳۰ mM)	۱۷±۶/۰۷*	۱۱/۲۵±۰/۴۹*	۶/۳۷±۰/۲۱*	۵۶/۳۷±۶/۳۵*	۳۵/۳۷±۳/۴۲ ^{ns}
هایپوتائورین (۵۰ mM)	۲۱/۷۵±۳/۲۷*	۹/۶۲±۰/۸۵*	۶/۲۵±۰/۳۱*	۶۳/۸۷±۵/۸۳*	۲۴/۶۲±۳/۸۹*

* و ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و عدم معنی دار بودن

در خصوص هایپوتائورین، نتایج ما با نتایج برخی از محققین که روی هامستر کار کردند (۸)، مغایرت دارد که این می تواند به علت مقدار ماده بکارگیری شده، باشد. علاوه بر آن، نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج دانلی و همکاران (۲۰۰۰) که بر روی اسپرم انسان کار کردند و غلظت های ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی مولار را استفاده کردند، هماهنگی دارد (۴). علت کاهش جنبایی نیز می تواند به علت این امر باشد که هایپوتائورین، سوپراکسید دیسموتاز را غیرفعال می کند. این ماده که اولین خط دفاعی سلول نیز است، با جنبایی رابطه نزدیکی دارد (۱). هر چند که مکانیسم مولکولی دقیق اینکه هایپوتائورین چگونه باعث بهبود جنبایی و زنده ماننی اسپرم می شود، مشخص نیست (۵). در مورد سلامت غشاء نیز این نظریه وجود دارد که هایپوتائورین قادر است با آلدئیدهای سمی

که در طی پراکسیداسیون لیپیدی تولید می‌شود، به طور مستقیم واکنش داده و بنابراین از گروه‌های تیولی غشای پلاسمایی اسپرم محافظت کند (۶) و بدین ترتیب باعث محافظت از غشای اسپرم و آکروزوم می‌شود. در پایان پیشنهاد می‌شود که از سطوح پایین گلوپروتئین (برای نمونه سطح ۱ میلی‌مولار) و سطوح خیلی پایین هایپوتائورین در تلقیح مصنوعی جهت برآورد میزان باروری آن استفاده شود.

منابع

1. Alvarez, J.G. and B.T. storey. 1983. Taurine, hypotaurine, epinephrine and albumin inhibit lipid peroxidation in rabbit spermatozoa and protect against loss of motility. *Biology of Reproduction*. 29:548-555.
2. Atessahin, A., M.N. Bucak, P. B. Tuncer, and M. Kizil. 2008. Effect of antioxidant additives on microscopic and oxidative parameters of angora goat semen following the freezing-thawing process. *Small Ruminant Research*. 77: 38-44.
3. Boatman, D.E., B.D. Bavister and E. Cruz. 1990. Addition of hypotaurine can reactivate immotile golden hamster spermatozoa. *Journal of Andrology*. 11:66-72.
4. Donnelly, E.T., N. McMclure and S.E.M. lewis. 2000. Glutathione and hypotaurine in vitro: Effects on human sperm motility, DNA integrity and production reactive oxygen species. *Mutagenesis*. 15:61-68.
5. Khalili, B., M. Jafaroghli., A. Farshad and M. Paresh-khiavi. 2010. The effects of different concentrations of glycine and cysteine on the freezability of Moghani ram spermatozoa. *Animal Science*. 23:318-325.
6. Lopes, S., A. Jurisicova, J.G. Sun and R.F. Casper. 1998. Reactive species oxygen- Potential cause for DNA fragmentation in human spermatozoa. *Human Reproduction*. 13:896-900.
7. Lubarda, Z. 2005. The role of glutathione in mammalian gametes. *Productive Biology*. 5:5-17.
8. Mrsny, R. J., L. Waxman and S. Meizel. 1979. Taurine maintains and stimulates motility of hamster sperm during capacitation in vitro. *Journal of Experimental Zoology*. 210:123-128.
9. Revell, G. and R. A. Mrode. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Animal Reproductive Science*. 36:77-86.
10. Sariozkan, S., P. B. Tuncer, M. N. Bucak and P.A. Ulutaş. 2009. Influence of various antioxidants on microscopic-oxidative stress indicators and fertilizing ability of frozen-thawed bull semen. *Acta Vetrinary Brno*. 78:463-469.
11. Whitaker, B.D., B. Carle, T. Mukai, A. Simpson, L. Vu and J.W. Knight. 2008. Effect of exogenous glutathione supplementation on motility, viability and DNA integrity of frozen-thawed boar semen. *Animal Reproductive*. 5:127-131.

Effects of Glutathione and Hypotaurine on freezability of Markhoz Goat Spermatozoa

Mohammad Rezazadeh^{1*} and Abbas Farshadr²

1- North khorasan, Faruj city 2- Kurdistan univercity

* Corresponding E-mail address: mrezazadeh1881@yahoo.com

Abstract :

The aim of this study was to determine the effects of the addition of 3 level of glutathione (GSH) (1, 3 and 8 mM) and hypotaurine (10, 30 and 50 mM) to freezing media on the post-thawing sperm characteristics, including viability, motility, progressive motility, acrosome and membranes integrity. Semen samples were collected from 2 Markhoz goat of Agricultural Research Center of Iranian Kurdistan. A total number of 16 ejaculates were collected using the artificial vagina and diluted with a Tris-based extender containing additives and no additives as control. These results indicate that supplementation of GSH significantly decreased ($P<0.05$) spermatozoa motility and progressive motility and significantly increased ($P<0.05$) spermatozoa viability, acrosome and membranes integrity. Addition of hypotaurine to the extender decreased ($P<0.05$) spermatozoa viability, motility, progressive motility and membranes integrity and increased ($P<0.05$) acrosome integrity. At the conclusion of the study, it can be said that low levels of glutathione can be successfully employed to store goat semen for long periods.

Keywords : Cryopreservation- Glutathione- Hypotaurine- Markhoz Goat Spermatozoa

بررسی شاخص های سلولی اندومتريت بالینی در گاوهای شیری

بهاره دولت خواه^{*}، حمیدرضا رحمانی، امیرحسین مهدوی، محمدعلی ادریس، محمد خوروش، محسن رحیمی و علی کهبانی

دانشگاه صنعتی اصفهان

^{*} نویسنده مسئول: بهاره دولت خواه، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی.

dolatkah_bahareh@yahoo.com

چکیده

در این آزمایش از ۱۵ راس گاو هلشتاین فحل شکم دوم به ظاهر سالم استفاده شد. این گاوها حداقل ۲ بار بعد از زایش تلقیح شده بودند. نمونه مخاط واژینال از این گاوها اخذ شد. گاوها بر مبنای نمره ترشحات واژنی در دو گروه سالم (۴ راس) و مبتلا (۱۱ راس) تقسیم بندی شدند. نمونه های مخاطی بعد از خشک شدن روی اسلاید شیشه ای در هوای آزاد و رنگ آمیزی به روش پاپ، با استفاده از میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی $\times 400$ بررسی شدند. پردازش آماری داده های مربوط به این مطالعه با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1 و رویه GLM انجام و میانگین ها به روش توکی مقایسه شدند. در بررسی روند تغییرات جمعیت نوتروفیل، باکتری، تریکوموناس و تغییرات سلولی، از BCS و روزهای شیردهی (DIM) به عنوان متغیرهای کمکی استفاده شد و گاوها در دو کلاس $DIM \leq 60$ و $DIM > 60$ طبقه بندی گردیدند. نتایج استفاده از یاخته شناسی مخاط واژن، حاکی از وجود تفاوت معنی داری در زمینه جمعیت نوتروفیل ها ($P < 0.0001$)، میزان تغییرات سلولی ($P = 0.02$) و جمعیت باکتریایی ($P = 0.0001$) بین گاوهای گروه شاهد و مبتلا بود، اما تفاوت معنی داری در مورد جمعیت تریکوموناس مشاهده نشد. نتایج این آزمایش نشان داد استفاده از یاخته شناسی مخاط واژن شاید بتواند در تشخیص وجود و شدت اندومتريت در گاوهای شیری بعد از زایش، روشی کاربردی باشد.

واژگان کلیدی: اندومتريت، مخاط واژینال، یاخته شناسی، گاو شیری

مقدمه

طی ۴۰ سال گذشته عملکرد تولیدمثلی گاوهای شیری به ویژه در نژاد هلشتاین، تحت تاثیر تولید بالا و عواملی چون ناهنجاری های تولیدمثلی و متابولیک کاهش یافته است [۱]. اندومتريت یکی از انواع اختلالات تولیدمثلی تاثیرگذار بر افت عملکرد تولیدمثلی گاوهای شیری می باشد. بعد از زایمان باکتری ها با گذر از واژن و سرویکس، رحم اغلب گاوهای شیری را آلوده می کنند. سه هفته پس از زایش، اکثر باکتری ها به واسطه بازگشت رحم به حالت اولیه و فعالیت سیستم ایمنی مانند فاگوسیتوز باکتری ها به وسیله نوتروفیل ها (یکی از انواع گلبولهای سفید)، از محیط رحم حذف می گردند. پس از گذشت این مدت تنها ۱۵ تا ۳۰ درصد از گاوهای شیری، توانایی حذف موفق باکتری ها از رحم را نداشته و در نتیجه به اندومتريت دچار خواهند شد [۳]. اندومتريت تحت عنوان التهاب محدود به اندومتريوم که حداقل ۲۱ روز بعد از زایش رخ می دهد و با علائم سیستمیک (مانند تب) مرتبط نمی باشد، تعریف شده است. روش های تشخیصی مختلف از جمله واژینوسکوپی، کشت مایعات رحمی، بیوپسی و سائیتولوژی، در کنار زمان های متفاوت نمونه گیری بعد از زایش، موجب تنوع گزینه های تعریفی و درمانی اندومتريت شده است [۱]. در این میان روش سائیتولوژی (یاخته شناسی) به عنوان قابل اعتمادترین روش تشخیصی اندومتريت در بسیاری از

پژوهش‌ها مورد تایید قرار گرفته است [۲]. لذا در مطالعه حاضر از سایتولوژی رحمی علاوه بر تعیین درصد نوتروفیل‌ها، در تعیین سودمندی شاخص تغییرات سلولی در تشخیص اندومتريت، شدت حضور باکتری‌ها، و وجود یا عدم وجود تریکوموناس نیز بهره گرفته شد.

مواد و روش‌ها

داده‌های مربوط به این آزمایش در تابستان سال ۱۳۹۰ در یکی از گاوداری‌های صنعتی اطراف اصفهان جمع‌آوری شد. گاوهای مورد نیاز برای مطالعه، هر روز صبح از میان گاوهایی که توسط فحل یا بهای شب گرد تشخیص فحلی داده شده بودند، انتخاب می‌شدند. قبل از انتخاب گاوها جهت نمونه‌گیری، معاینات راست روده ای جهت تشخیص آبستنی و سلامت رحم و تخمدانها انجام می‌گرفت. سپس گاوهای غیر آبستن شکم دومی (برای حذف اثر شکم بر نتایج آزمایش) که از نظر ظاهری سالم به نظر رسیده و گوساله ماده زاییده بودند، بر مبنای اسکور ترشحات واژن در دو گروه سالم (۴ راس) و مبتلا به اندومتريت (۱۱ راس) انتخاب شدند. گاوهای مذکور در صورت تشخیص قبلی ابتلا به اندومتريت در دوره اخیر زایش، نباید تحت درمان هورمونی یا آنتی بیوتیکی قرار گرفته باشند. میانگین روزهای شیردهی گاوهای انتخاب شده ۱۳۱ روز، میانگین نمره وضعیت بدنی ۲/۹ (در مقیاس ۱ تا ۵) و میانگین تولید شیر روزانه آنها ۴۲ کیلوگرم بود. در ابتدا با استفاده از متریچک (از یک نیمکره سیلیکونی با قطر ۴۰ میلی‌متر که به یک میله استیل ضد زنگ ۵۰ سانتی متری متصل است، تشکیل شده) ترشحات رحمی از انتهای واژن جمع‌آوری می‌گردید و بلافاصله مقداری از آن بر روی لام شیشه‌ای قرار گرفته و از آن گسترشی تهیه می‌شد. اسلایدها بعد از خشک شدن در هوای آزاد، تثبیت و سپس به روش پاپ رنگ آمیزی می‌شد. اسمیرهای تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی $\times 400$ ، توسط یک سایتولوژیست مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش معیار مورد استفاده برای تعیین درصد نوتروفیل‌ها در گاوهای $DIM \leq 60$ ، مطالعه دوبوک و همکاران (۲۰۱۰) بود اما به منظور استفاده از روشی یکسان برای مقایسه نمونه‌های سایتولوژی گاوهای $DIM \leq 60$ و $DIM > 60$ ، نمونه‌ها از نظر جمعیت نوتروفیلی در ۴ رده خفیف، متوسط، شدید و خیلی شدید طبقه‌بندی شدند. نمونه‌ها در مورد جمعیت باکتریایی و تغییرات سلولی نیز مانند مورد پیشین نمره دهی و طبقه‌بندی شده و از نظر وجود یا عدم وجود تریکوموناس نیز بررسی گردیدند.

پردازش آماری تمامی داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1 و رویه GLM انجام شد. در بررسی روند تغییرات جمعیت نوتروفیل، باکتری، تریکوموناس و تغییرات سلولی، از BCS و روزهای شیردهی (DIM) به عنوان متغیرهای کمکی استفاده گردید و گاوها در دو کلاس $DIM \leq 60$ و $DIM > 60$ طبقه‌بندی شدند. مدل آماری استفاده شده برای این آنالیزها به شکل زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + b_1(DIM_i - DIM) + b_2(BCS_i - BCS) + M_l + e_{ij}$$

که در آن Y_{ij} : مقدار عددی هر مشاهده، μ : میانگین کل، T_i : اثر ثابت تیمار i ام، b_1 : ضریب تابعیت مربوط به DIM، b_2 : ضریب تابعیت مربوط به BCS، M_l : طبقه‌بندی گاوها (۱ و ۲) و e_{ij} : خطای آزمایش بودند. مقایسه میانگین‌ها به روش توکی انجام گردید.

نتایج و بحث

تأثیر اندومتريت بر جمعيت نوتروفيلي: در مطالعه حاضر، تفاوت مشاهده شده بين جمعيت نوتروفيل ها در گسترش های تهیه شده از گاوهای سالم ($1/22 \pm 0/24$) و مبتلا به اندومتريت ($3/21 \pm 0/17$) بسيار معنی دار بود ($P < 0/0001$). اين نتیجه با نتایج مطالعات بارلوند و همکاران (۲۰۰۸) و گیلبرت و همکاران (۲۰۰۵) که اظهار می داشتند درصد نوتروفيل ها در فواصل زمانی مختلف بعد از زایش (به ترتيب در روزهای ۴۱-۲۸ و ۶۰-۴۰ پس از زایش) در گاوهای مبتلا به اندومتريت در مقایسه با گاوهای سالم، افزایش می- یابد، مطابقت داشت. اما به منظور استفاده از روشی یکسان برای مقایسه نمونه های سایتولوژی گاوهای $DIM \leq 60$ و $DIM > 60$ ، نمونه ها از نظر تعداد نوتروفيل ها در ۴ رده ی خفیف (نمره ۱)، متوسط (نمره ۲)، شدید (نمره ۳) و خیلی شدید (نمره ۴) طبقه بندی شده و سپس مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱). برای مثال، تعداد غیرقابل شمارش نوتروفيل ها همراه با وجود ترک خوردگی های قابل مشاهده که در واقع تجمعات بسيار متراکمی از PMNs هستند، به عنوان اندومتريت بسيار شدید طبقه بندی گردید. نتایج اين بررسی نشان داد روند بیشتر بودن جمعيت نوتروفيلي در گاوهای مبتلا در مقایسه با گاوهای سالم حتی در $DIM > 60$ نیز حفظ می شود.

تأثیر اندومتريت بر تغییرات سلولی در نمونه های مخاط گاوهای سالم و مبتلا: برخی تغییرات سلولی مانند واکوئلیزه شدن، کوچک یا متلاشی شدن هسته، دو هسته ای شدن، چند رنگی شدن سيتوپلاسم و گرانوله شدن نمای هسته که با وجود و شدت عفونت رابطه مستقیم دارند، به عنوان گزینه های تشخیصی در پاپ اسمیر (آنالیز میکروسکوپی سلولهای جمع آوری شده از واژن یا سرویکس) بانوان مورد استفاده قرار می گیرند اما کاربرد آن در دام هایی مانند گاو، متداول نیست. در مطالعه اخیر، اين تغییرات به عنوان شاخصی برای تشخیص اندومتريت در گاو مورد آزمون قرار گرفت. وجود تفاوت معنی دار ($P = 0/02$) بين میزان تغییرات سلولی در گاوهای سالم ($1/45 \pm 0/36$) و مبتلا به اندومتريت ($2/68 \pm 0/26$)، گواهی بر مفید بودن استفاده از اين شاخص در کنار فراسنجه هایی مانند جمعيت نوتروفيلي، در زمینه تشخیص اندومتريت در گاو بود (جدول ۱).

اثر اندومتريت بر جمعيت باکتریایی در نمونه های مخاط گاوهای مبتلا و سالم: متناسب با شدت حضور باکتری ها، رنگ زمینه گسترش های تهیه شده از خاکستری کمرنگ تا تیره تغییر می نماید که در مطالعه حاضر با استفاده از اين ویژگی، نمره دهی سنجش جمعيت باکتریایی از ۱ تا ۴ انجام پذیرفت. جمعيت باکتریایی در گسترش های تهیه شده از گاوهای سالم و مبتلا به اندومتريت در اين مطالعه، تفاوت معنی داری نشان داد ($P = 0/0001$). خطای معیار $\pm$ میانگین برای گروه سالم و مبتلا به اندومتريت به ترتيب برابر با $1/20 \pm 0/27$ و $3/28 \pm 0/19$ بود (جدول ۱). نتایج مطالعه حاضر با نتایج بررسی های هراث و همکاران در سال ۲۰۰۹ که نشان می داد باکتری ها در رحم حیوانات مبتلا به بیماری رحمی در مقایسه با حیوانات بارور در دوره پس از زایش، جمعيت بیشتری دارند (به طور میانگین $4/5$ در برابر $1/0$)، مطابقت داشت.

جدول ۱- جمعيت نوتروفيلي، باکتریایی و تریکوموناس و میزان تغییرات سلولی (مقیاس ۱ تا ۴) در مخاط واژینال گاوهای شکم دوم سالم ($n=4$) و مبتلا به اندومتريت ($n=11$) در دوره پس از زایش (خطای معیار $\pm$ میانگین)

تیمار	جمعيت نوتروفيل	تغییرات سلولی	جمعيت باکتریایی	جمعيت تریکوموناس
سالم	$1/22 \pm 0/24^a$	$1/45 \pm 0/36^a$	$1/20 \pm 0/27^a$	$0/00 \pm 0/12$
اندومتريت	$3/21 \pm 0/17^b$	$2/68 \pm 0/26^b$	$3/28 \pm 0/19^b$	$0/18 \pm 0/10$
احتمال معنی داری	$< 0/0001$	$0/02$	$0/0001$	$0/39$

ab حرف غیرمشابه در هر ستون برای میانگین ها، نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ($p < 0.05$) می باشد

اثر اندومتریس بر جمعیت تریکوموناس در نمونه های مخاط گاوهای مبتلا و سالم: *Trichomonas foetus* یک انگل تک یاخته ای تاژک دار است که باعث از دست رفتن آبستنی در مراحل اولیه، گاه سقط و پایومترا می شود و در عفونت های رحمی قابل تشخیص می باشد [۵]. تریکوموناس فتوس، به واسطه وجود ۳ تاژک قدامی و پرده غشایی موج در زیر میکروسکوپ قابل شناسایی می باشد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر که در جدول ۱ نشان داده شده است، بین جمعیت تریکوموناس در گاوهای سالم ($0/0 \pm 0/17$) و مبتلا به اندومتریس ($0/18 \pm 0/10$) تفاوت معنی داری وجود نداشته است ($P=0/39$). با توجه به این نتیجه می توان گفت آلودگی تریکومونایی در جمعیت مورد مطالعه تاثیر معنی داری بر بروز عفونت رحمی نداشته است، هرچند بررسی تاثیر این آلودگی بر ناباروری و سقط نیازمند بررسی بیشتر و انتخاب نمونه بزرگتری از جمعیت می باشد.

نتیجه گیری: به طور کلی نتایج استفاده از یاخته شناسی مخاط واژن، حاکی از وجود تفاوت معنی داری در زمینه جمعیت نوتروفیل - ها، میزان تغییرات سلولی و جمعیت باکتریایی بین گاوهای گروه شاهد و مبتلا به اندومتریس بود اما تفاوت معنی داری در مورد جمعیت تریکوموناس مشاهده نشد. با توجه به این نتایج، سایتولوژی روشی موثر و سریع در تشخیص قطعی اندومتریس در گاوهای دارای مشکلات تولیدمثلی پس از زایش، بر مبنای جمعیت نوتروفیلی، باکتریایی و میزان تغییرات سلولی موجود در نمونه های مخاط می - باشد.

منابع

1. Barlund, C. S., Carruthers, T. D., Waldner, C. L. & Palmer, C. W. (2008). A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*. 69, 714-723.
2. Dourey, A., Colazo, M. G., Barajas, P. P. & Ambrose, D. J. (2011). Relationships between endometrial cytology and interval to first ovulation, and pregnancy in postpartum dairy cows in a single herd. *Research in veterinary science*. 91, 149-153.
3. Herath, S., Lilly, S. T., Santos, N. R., Gilbert, R. O., Goetze, L., Bryant, C. E., White, J. O., Cronin, J. & Sheldon, I. M. (2009). Expression of genes associated with immunity in the endometrium of cattle with disparate postpartum uterine disease and fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 7, 55.
4. Rodriguez-Martinez, H., Hultgren, J., Båge, R., Bergqvist, A. S., Svensson, C., Bergsten, C., Lidfors, L. & Gunnarsson, S. (2008). Reproductive performance in high-producing dairy cows: Can we sustain it under current practice? Sustained fertility in dairy cows: problems and suggestions. 1-36.
5. Serin, I., Aldemir, O. S., Ceylan, A. & Serin, G. (2010). Detecting and controlling Trichomoniasis in beef and dairy cattle. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 9, 1175-1178.

Study of clinical endometritis cytology in dairy cattle

Bahareh Dolatkhanh*, Hamid Reza Rahmani, Amir Hossein Mahdavi, Mohammad Ali Edriss, Mohammad Khorvash, Mohsen Rahimi and Ali Kahyani
Isfahan University of Technology

* Corresponding E-mail address: dolatkhanh_bahareh@yahoo.com

Abstract :

In this study, vaginal mucus was collected from 15 oestrus Holstein cows that were in second parity and had healthy appearance and ovaries. They were inseminated at least two times after parturition. Based on vaginal discharge score, Cows were grouped into healthy (4 cows) and endometritic (11 cows). After air drying of vaginal discharge smears on glass slides and Pap procedure staining, slides were assessed by light microscope at $400 \times$ magnifications. Data analyses were conducted with SAS 9.1 software and GLM procedure. In study of diversity in neutrophil population, bacteria and Trichomonas foetus and cell changes, BCS and days in milk (DIM) used as covariates and cows were grouped in two classes; $DIM > 60$ and $DIM \leq 60$. Tukey was used to compare means between two groups. Results of vaginal cytology showed significant differences in neutrophil population ($p < 0.0001$), quantity of cell changes ($p = 0.02$) and bacterial population ($p = 0.0001$) between healthy and endometritic cows, but there was no significant difference in Trichomonas population. This study showed vaginal cytology in postpartum dairy cows might be a useful and accurate procedure for detecting existence and severity of endometritis.

Keywords: endometritis, vaginal discharge, cytology, dairy cattle

تأثیر سطوح مختلف ضایعات قارچ خوراکی آگاریکوس بیسپروس بر برخی پارامترهای خونی جوجه‌های گوشتی

محمد شمسیه*^۱، محمود شمس شرق^۲، بهروز دستار^۳، سعید زره داران^۴، مرضیه فلکی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانشیار دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- دانشجوی دکتری دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

* مسئول مکاتبه: m.shamsieh@yahoo.com

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف ضایعات قارچ خوراکی آگاریکوس بیسپروس بر روی برخی پارامترهای خونی جوجه‌های گوشتی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲۵۶ قطعه جوجه یکروزه در ۴ تیمار و ۴ تکرار ۱۶ قطعه‌ای به مدت ۴۲ روز انجام شد. جیره‌ها حاوی تیمار شاهد (جیره فاقد ضایعات قارچ دکمه‌ای) و همچنین سطوح ۲، ۴ و ۶ درصد ضایعات قارچ در ترکیب جیره بود. تیمارها از روز اول دوره پرورشی تا روز پایانی اعمال شدند. نتایج نشان داد جیره‌های حاوی ضایعات قارچ تأثیر معنی داری بر غلظت تری گلیسرید، کلسترول، HDL و VLDL نداشت ($P > 0.05$). اما سبب کاهش نسبی غلظت تری گلیسرید، HDL و VLDL در تیمارهای حاوی ضایعات قارچ مخصوصاً تیمار حاوی ۴٪ ضایعات در مقایسه با تیمار شاهد گردید. غلظت کلسترول و گلوکز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت به طوری که بالاترین سطح مربوط به استفاده از ۶٪ ضایعات در جیره جوجه‌های گوشتی بود ($P < 0.05$). استفاده از سطوح بالاتر ضایعات در جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش معنی دار غلظت LDL نسبت به تیمار شاهد گردید ($P > 0.05$).

کلمات کلیدی: ضایعات قارچ - پارامترهای خونی - جوجه گوشتی

مقدمه

عمده مواد غذایی تشکیل دهنده جیره طیور را ذرت و کنجاله سویا می‌باشند که بعنوان منبع انرژی و پروتئین مورد استفاده قرار می‌گیرند. ذرت و کنجاله سویا در کشور ایران به اندازه مورد نیاز تولید نشده و به ناچار از خارج وارد می‌شود. در این زمینه استفاده از محصولات گیاهی که در داخل کشور تولید شده و بتوانند به عنوان جایگزینی برای این محصولات در نظر گرفته شوند اهمیت زیادی یافته است. در سالهای اخیر، پرورش دهندگان طیور تمایل زیادی به استفاده از محصولات فرعی زراعی که مورد مصرف انسانی ندارد نشان داده‌اند. در صورت فراوری یا استفاده صحیح از این فراورده‌های جانبی می‌توان خوراک مناسب جهت تغذیه دام و طیور فراهم نموده و با استفاده از این مواد خوراکی سود بیشتری نیز عاید تولیدکننده نمود (۱). از جمله این محصولات فرعی، ضایعات واحدهای تولیدکننده قارچ است که البته در این زمینه تحقیق علمی صورت نگرفته و ارزش تغذیه‌ای این محصول فرعی به طور کامل مشخص نشده است. در موسسات پرورش قارچ روزانه مقادیر زیادی از قارچ‌های صدمه دیده، ریز، بدشکل، پایه بلند و پایه‌های قارچ از محصول بریده شده (دم‌قارچ) به عنوان پس‌ماند بدست می‌آید (۲) که دارای ارزش تغذیه‌ای می‌باشند و بدلیل خاصیت دارویی و پری‌بیوتیکی که دارا می‌باشند می‌توانند سبب سلامت و کارایی بهتر دستگاه گوارش (۴ و ۸) و همچنین کاهش میزان تری گلیسرید و کلسترول خون گردند (۶ و ۷). با توجه به افزایش بیماری‌های قلبی - عروقی در انسان و اهمیت

کاهش ذخیره چربی و کلسترول در بدن، مصرف محصولات حیوانی با مقادیر اندک چربی و کلسترول می‌تواند به سلامت قلب و عروق کمک فراوانی نماید. لذا هدف از این آزمایش بهره‌گیری از خواص احتمالی دارویی و پری‌بیوتیکی ضایعات قارچ دکمه‌ای "آگاریکوس بیسپروس" در ترکیب جیره و بررسی اثرات مصرف آن بر پارامترهای خونی جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۲۵۶ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ به مدت ۴۲ روز بر روی بستر پرورش داده شدند. جوجه‌ها بطور تصادفی به ۴ تیمار و هر تیمار در ۴ تکرار ۱۶ قطعه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. جیره‌ها حاوی تیمار شاهد (جیره فاقد ضایعات قارچ دکمه‌ای) و همچنین سطوح ۲، ۴ و ۶ درصد ضایعات قارچ در ترکیب جیره بود. جیره‌های غذایی براساس نیازهای غذایی ارائه شده توسط شرکت تولیدکننده سویه راس تنظیم و به سه دوره پرورش یعنی دوره‌های آغازین، رشد و پایانی تقسیم گردید. تنظیم جیره‌ها با استفاده از نرم‌افزار UFFDA انجام گرفت. در سن ۴۲ روزگی از هر واحد آزمایشی ۲ قطعه (هر تیمار ۸ قطعه) جوجه نر نزدیک به میانگین وزنی واحد انتخاب و بعد از خونگیری از ورید ناحیه ساق پا، پارامترهای گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL، LDL، VLDL سرم با استفاده از کیت‌های زیست-شیمی مربوطه مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌های از نرم‌افزار SAS استفاده گردید. از آزمون چند دامنه‌ای دانکن نیز برای مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی استفاده شد.

نتایج

نتایج مربوط به این بررسی در جدول زیر ارائه شده است. استفاده از سطوح مختلف ضایعات قارچ در جیره جوجه‌های گوشتی تاثیر معنی‌داری بر غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL و VLDL نداشت ($P > 0.05$). اما سبب کاهش غیرمعنی‌دار تری‌گلیسرید، HDL و VLDL در تیمارهای حاوی ضایعات قارچ، مخصوصاً تیمار حاوی ۴٪ ضایعات در مقایسه با تیمار شاهد گردید. غلظت کلسترول نیز در تیمارهای حاوی ضایعات قارچ افزایش محسوسی نسبت به تیمار شاهد نشان داد. علت اصلی افزایش کلسترول در این آزمایش مشخص نیست اما احتمالاً به علت وجود مقادیر اندک ترکیبات با خاصیت پری‌بیوتیکی در ضایعات مربوطه می‌باشد. استفاده از ۲٪ ضایعات در مقایسه با تیمار حاوی ۴٪ ضایعات سبب افزایش معنی‌دار غلظت گلوکز گردید ($P < 0.05$). همچنین اختلاف غلظت LDL بین تیمار شاهد با تیمارهای حاوی ضایعات قارچ معنی‌دار بود ($P < 0.05$). دانشمند و همکاران (۵) گزارش کردند که افزودن ۰/۲٪ قارچ خوراکی *Pleurotus ostreatus* به جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش نسبی غلظت تری‌گلیسرید، HDL و VLDL و افزایش غلظت کلسترول و LDL می‌گردد ولی این نتایج از نظر آماری معنی‌دار نبود. بویجوم و یامائوچی (۳) طی آزمایشی به میزان صفر، ۵/۲، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد ضایعات قارچ خوراکی *Shiitake* را در جیره جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که تفاوتی بین غلظت گلوکز و کلسترول در میان تیمارهای آزمایشی وجود ندارد، اما غلظت تری‌گلیسرید تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$) بطوریکه کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد و بیشترین مقدار مربوط به تیمار حاوی ۵ درصد ضایعات قارچ بود.

جدول: تاثیر استفاده از سطوح مختلف ضایعات قارچ بر برخی پارامترهای خونی (میلی گرم در دسی لیتر) در جوجه‌های گوشتی

تیما	گلوکز	تری گلیسرید	کلسترول	HDL	LDL
VLDL					
شاهد	$241/625 \pm 4/11^{ab}$	$57/625 \pm 6/42$	$127/000 \pm 5/33$	$72/560 \pm 3/25$	$\pm 6/61^b$
		$42/915$	$11/525 \pm 1/28$		
۲٪ ضایعات قارچ	$236/429 \pm 4/58^b$	$55/571 \pm 4/7$	$134/143 \pm 3/49$	$58/511 \pm 3/72$	$64/517 \pm 3/18^a$
			$11/114 \pm 0/94$		
۴٪ ضایعات قارچ	$241/000 \pm 6/6^{ab}$	$41/750 \pm 5/54$	$134/250 \pm 2/90$	$55/360 \pm 11/42$	$\pm 11/1^a$
		$70/540$	$83/50 \pm 1/11$		
۶٪ ضایعات قارچ	$250/600 \pm 5/15^a$	$55/200 \pm 6/87$	$135/000 \pm 6/33$	$55/488 \pm 3/17$	$68/472 \pm 3/64^a$
			$11/040 \pm 1/37$		
P Value	$0/1754$	$0/2184$	$0/4066$	$0/0896$	$0/0104$
		$0/2184$			

* حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه وجود تفاوت معنی دار بین میانگین های مربوطه است ($P < 0/05$)

** میانگین $\pm$ خطای معیار

منابع

۱. فیضی، ر. قدرت نما، ا و زاهدی فر، م. ۱۳۸۲. تعیین ارزش غذایی دانه و پوست انار و بررسی امکان سیلو نمودن پوست آن. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی ساری.

۲. کاشی، ع. ۱۳۷۵. پرورش قارچ خوراکی (ترجمه). نشر آموزش کشاورزی. چاپ اول. ۴۵۶ص.

3. Buwjoom, T. and K. Yamauchi. 2005. effect of shiitake mushroom stalk meal on growth performance, carcass yield and blood composition in broilers. The Journal of Poultry Science 42: 283-290.
4. Cummings, J.H. and G.T. MacFarlane. 2002. Gastrointestinal effects of prebiotics. British Journal of Nutrition 87: 145-151.
5. Daneshmand, a., GH. Sadeghi, A. Karimi and A. Vaziry. 2011. Effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) with and without probiotic on growth performance and some blood parameters of male broilers. Animal Feed Science and Technology 170 (2011) 91– 96
6. Jenkins, D.J.A., C.W.C. Kendall and V. Vuksan. 1999. Inulin, oligofructose and intestinal function. JNutr 129: 1431S-1433S.
7. Simmering, R. and M. Blaut. 2001. Probiotics and prebiotics, the tasty guardian angels. Appl Microbiol 55:19-28.
8. Verstegen, M.W.A. and G.J. Schaafsma. 1999. Some developments on alternatives for antibiotics as growth promotor. In: Jansman, A.J.M., Huisman, J. (Eds.), Nutrition and Gastrointestinal Physiology- Today and Tomorrow. Wageningen University Press, Wageningen, The Netherlands. 65-73.

Effect of different levels of *Agaricus bisporus* mushroom waste on the some blood parameters of broilers

Mohammad Shamsiye^{*1}, Mahmud Shams Shargh², Behruz Dastar², Saeed Zerehdaran²,
Marziyeh Falaki³

1- M.Sc. student, Dept. of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

2- Associate Prof, Dept. of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

3- Ph.D. Student, Dept. of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

* Corresponding E-mail address: m.shamsieh@yahoo.com

Abstract

This experiment was carried out to investigate the effect of various levels of *Agaricus bisporus* mushroom waste on the blood parameters of broilers in a completely randomized design with 256 one day old broilers, in four treatments with four replications and 16 chicks in each replication during 42 days of age. The dietary treatments were control (without *Agaricus bisporus* mushroom waste) and also levels of 2, 4 and 6% of *Agaricus bisporus* mushroom waste in dietary composition. The results of this experiment showed that the triglyceride, cholesterol, HDL and VLDL were not affected by the use of different levels of mushroom waste on broilers diet ($P>0/05$). The relative decrease showed in triglyceride, HDL and VLDL, particularly in treatments containing 4% of mushroom wastes were compared to the control treatment. Cholesterol and glucose concentrations were affected by treatments so that, the highest level take place when 6% of the lesions were fed ($P<0/05$). Using higher levels of lesions in broilers diet caused a significant increase in LDL concentrations were compared to the control treatment ($P>0/05$).

Keywords: Mushroom waste -Blood parameters- Broiler

بررسی اثرات لیکوپن و تائورین بر روی انجمادپذیری اسپرم بز مرخز

محمد رضا زاده^{۱*} و عباس فرشاد^۲

۱- خراسان شمالی، شهرستان فاروج ۲- دانشگاه کردستان

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mreazadeh1881@yahoo.com

چکیده

هدف از انجام این تحقیق ارزیابی اثرات تائورین (۱۰، ۳۰ و ۵۰ میلی مولار) و لیکوپن (۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم) بر روی انجماد پذیری اسپرم بز مرخز می باشد. ابتدا به مدت ۲ هفته، بزها به اسپرم دهی عادت داده شدند و سپس به مدت ۸ هفته (هفته ای یکبار) اسپرم گیری با استفاده از واژن مصنوعی (در ایستگاه تحقیقاتی سنج) انجام شد. پس از اسپرم گیری، اسپرم ها داخل فلاسک قرار داده شده، به آزمایشگاه بیولوژی تولیدمثل دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان انتقال داده شدند. نمونه های منی تازه از لحاظ جنبایی، بررسی شده و بعد از افزودن رقیق کننده های حاوی تیمارهای مورد نظر، آنها را در تانک ازت (۱۹۶- درجه سانتیگراد) قرار داده تا منجمد شوند. نمونه ها بعد از ۴۸ ساعت یخ گشایی شدند. نمونه های یخ گشایی شده از لحاظ جنبایی، جنبایی پیش- رونده، زنده مانی، سلامت آکروزوم و سلامت غشا با استفاده از میکروسکوپ نوری ارزیابی شدند. داده های بدست آمده در قالب طرح کامل تصادفی و با استفاده از نرم افزار SAS آنالیز شدند. میانگین تیمارها نیز بر اساس آزمون دانکن مقایسه شدند. تمام غلظت های تائورین بطور معنی داری زنده مانی، جنبایی و جنبایی پیش رونده را کاهش دادند ($P < 0.05$). همچنین تائورین در سطح ۵۰ میلی مولار بطور معنی داری سلامت آکروزوم را بهبود بخشیده و سلامت غشا را کاهش داد ($P < 0.05$). لیکوپن در تمام سطوح باعث افزایش معنی داری در زنده مانی و جنبایی اسپرم ها شد. این ماده در سطح ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم نیز باعث افزایش معنی داری در جنبایی پیش رونده، سلامت آکروزوم و سلامت غشا شد ($P < 0.05$). واژگان کلیدی: انجمادپذیری- لیکوپن- تائورین- اسپرم - بز مرخز کردستان.

مقدمه

انجماد منی باعث می شود تا مواد ژنتیکی با ارزش بتوانند بطور وسیعی گسترش یابند (۴). در بیشتر گونه ها، انجماد منی منجر به انواع مختلفی از تغییرات سلولی می شود که در نهایت این تغییرات منجر به کاهش باروری اسپرم در مقایسه با اسپرم تازه می شود. یکی از این تغییرات به علت این است که در غشای اسپرم، سطوح بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع وجود دارد. این نوع اسیدهای چرب به علت تشکیل رادیکال های آزاد، غشای اسپرم را برای پراکسیداسیون لیپیدی مستعد می کنند (۷). همچنین رادیکال های آزاد با ایجاد استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی باعث آسیب به DNA و غشای اسپرم می شوند (۱۵). در مقابل حمله رادیکال های آزاد، سیتوپلاسم سلول های اسپرم به خوبی با یک سیستم دفاع آنتی اکسیدانی مجهز شده اند (۱۳) اما چون سلول های اسپرم در طی اسپرماتوژنز حجم زیادی از سیتوپلاسم و آنتی اکسیدان های خود را از دست می دهند (۱۱) این مقدار کافی نمی باشد. بنابراین افزودن آنتی اکسیدان به مایع منی ضروری است. آنتی اکسیدان هایی که در این پژوهش از آنها استفاده شد، تائورین و لیکوپن است. تائورین (۲- آمینواتان سولفونیک اسید) یکی از بزرگترین آمینواسیدهای آزاد بین سلولی است که در بافت

یا سلول (از جمله اسپرم، نوتروفیل، پلاسمای منی، مایع اپیدیدیمال، مایع رحم و لوله‌های فالوپ) بیشتر پستانداران یافت می‌شود و نقش‌هایی مثل تنظیم اسمزی، تنظیم کلسیم، تکثیر سلول، قابلیت زنده‌مانی و جلوگیری از آسیب‌های وارد شده توسط اکسیداسیون بافتی را برعهده دارد (۸). لیکوپن یک هیدروکربن آلیفاتیک است که بازده آنتی‌اکسیدانی دارد و قادر است رادیکال‌های آزاد را از بین ببرد (۱۴). لیکوپن به گروهی از کاروتنوئیدهای طبیعی تعلق دارد که در خیلی از میوه‌ها، سبزیجات و دیگر گیاهان سبز یافت می‌شود (۹). این کاروتنوئید در غلظت بالایی در بیضه‌ها و پلاسمای منی یافت می‌شود که مشخص شده در مردان نابارور مقدار آن کمتر است (۶). لیکوپن ۱۳ پیوند دوگانه دارد که بیشتر آنها توانایی فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارند (۳). فعالیت آنتی‌اکسیدانی لیکوپن بیشتر به ویژگی خنثی کردن اکسیژن واحد و توانایی به دام انداختن رادیکال‌های پراکسیل مربوط می‌شود (۱۲).

مواد و روش‌ها

این پژوهش در ایستگاه پرورش و اصلاح‌نژاد بز مرکز معاونت امور دام سنندج صورت گرفت. تعداد ۴ رأس بز ۳-۴ ساله انتخاب شده و به مدت ۲ هفته قبل از اسپرم‌گیری، با مهبل مصنوعی آموزش داده شدند. جمع‌آوری منی به صورت هفته‌ای یکبار و به مدت ۸ هفته با استفاده از مهبل مصنوعی انجام گرفت. پس از اسپرم‌گیری، نمونه‌های منی بوسیله فلاسک عایق حاوی آب ۳۷ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل و برای جلوگیری از شوک سرمایی، نمونه‌ها تا قبل از انجماد در حمام بن‌ماری (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. پس از ارزیابی اولیه، اسپرم‌هایی که غلظت ۱/۵-۱ میلی‌لیتر و جنبایی بالای ۷۰٪ داشتند، انتخاب شدند. در این آزمایش از رقیق‌کننده بر پایه ایوانس - مکسول (۱۹۸۹) استفاده شد. به رقیق‌کننده پایه به صورت جداگانه مقدار غلظت‌های ۱۰، ۳۰ و ۵۰ میلی‌مولار/ میلی‌لیتر تائورین و ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر لیکوپن افزوده شد. سپس این رقیق‌کننده‌ها با نسبت ۱:۱۲ به نمونه‌های منی افزوده شدند. در مرحله بعد، نمونه‌ها بداخل پایوت‌های ۰/۲۵ میلی‌لیتری مکیده شده سپس به مدت ۳-۲/۵ در یخچال قرار داده تا دمای آن به ۵ درجه سانتی‌گراد برسد. در مرحله بعد پایوت‌ها را بطور افقی در ارتفاع ۴-۵ سانتی‌متری بخار ازت (۸۰- درجه سانتی‌گراد) بمدت ۱۰ دقیقه قرار داده و در نهایت پایوت‌ها را بداخل تانک ازت مایع (۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) انتقال داده تا منجمد شوند. پس از ۴۸ ساعت، پایوت‌ها از داخل تانک ازت بیرون آورده و سپس تک-تک نمونه‌ها از لحاظ زنده‌مانی، جنبایی، جنبایی پیش‌رونده، سلامت آکروزام و سلامت غشا بررسی شدند. جهت برآورد سلامت آکروزام از محلول فرمالین سترات (۲) و جهت برآورد میزان سلامت غشا از محلول HOST^{۹۰} (۱۰) استفاده شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و طبق رویه GLM انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون دانکن استفاده شد. اطلاعات جمع‌آوری شده در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۸ تکرار و براساس مدل آماری ذیل انجام شد:

$$Y_{ij} = \mu + T_j + e_{ij}$$

Y_{ij} = هر یک از مشاهدات، μ = میانگین کل، T_j = اثر تیمار و e_{ij} = خطای آزمایشی

نتایج و بحث

نتایج ارزیابی اولیه منی بزها در جدول ۱ آمده است.



جدول ۱- میانگین درصد ویژگی‌های اسپرم تازه بزهای مرخز در ۱۶ تکرار

زنده‌مانی (%)	جنبایی (%)	جنبایی پیش-رونده (%)	سلامت آکروزوم (%)	سلامت غشا (%)	حجم انزال (ml)	غلظت اسپرم ($\times 10^9 \text{ ml}^{-1}$)
۸۶/۶۲±۲/۵	۸۴/۸۷±۳/۰۷	۷۵/۰۶±۴/۰۴	۸۲/۵±۲/۳۳	۷۱/۴۳±۱۶/۳۳	۱	۳/۹۸

نتایج لیکوپن و تائورین در جدول ۲ آمده است. در مورد لیکوپن نتایج ما با نتایج دیگر محققین مطابقت داشت (۱۴). این می‌تواند به علت وجود پیوندهای دوگانه زیادی باشد که در لیکوپن وجود دارد. لیکوپن ۱۳ پیوند دوگانه دارد که هر کدام می‌توانند رادیکال‌های آزاد زیادی را خنثی کنند (۱).

جدول ۲- اثر سه سطح از لیکوپن و تائورین بر روی پارامترهای اسپرم بز مرخز پس از یخ‌گشایی در ۸ تکرار

گروه‌ها	زنده‌مانی (%)	جنبایی (%)	جنبایی پیش‌رونده (%)	سلامت آکروزوم (%)	سلامت غشا (%)
شاهد	۴۸/۶۲±۸/۲۴	۴۷/۶۲±۸/۷۱	۳۴/۳۷±۴/۲۲	۴۴/۵۰±۱/۳۵	۴۰/۳۷±۲/۲۸
۲۰۰ µg لیکوپن	۵۹/۵۰±۳/۳۹*	۵۹±۳/۲۸ ^{ns}	۴۵/۳۷±۳/۸۱ ^{ns}	۵۹/۷۵±۱۱/۹۹*	۵۲/۷۵±۲/۸۴ ^{ns}
۴۰۰ µg لیکوپن	۶۱/۷۵±۸/۵۲*	۶۰/۵۰±۸/۳۲*	۵۰/۷۵±۱۰/۰۲*	۵۶/۳۷±۰/۴۹*	۵۲/۵۰±۲/۸۵ ^{ns}
۸۰۰ µg لیکوپن	۶۱/۶۲±۶/۲۱*	۵۸±۵/۹۶*	۴۱/۵۰±۴/۱۷*	۵۰/۷۵±۱۰/۳۴ ^{ns}	۴۴/۷۵±۱۱/۹۹ ^{ns}
۱۰ mM	۳۲/۵۰±۲۷/۴۶*	۱۹/۲۵±۱۳/۵۲*	۱۱/۷۵±۵/۷۴*	۴۰/۷۵±۸/۰۹ ^{ns}	۳۳/۳۷±۲۲/۶۷*
تائورین					
۳۰ mM	۲۹/۷۵±۱۵/۴۱*	۲۲/۸۷±۱۹/۹۴*	۱۸/۱۲±۱۷/۷۲*	۴۹/۱۲±۴/۸۷ ^{ns}	۳۱/۶۲±۲۲/۸۵*
تائورین					
۵۰ mM	۲۹±۲۷/۷۱*	۲۱/۵۰±۲۵/۳۹*	۱۱/۱۲±۶/۵۸*	۵۵/۷۵±۲۳/۸۱*	۲۳/۷۵±۴/۹۱ ^{ns}
تائورین					

* و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و عدم معنی‌دار بودن.

در مورد تائورین نیز نتایج ما با نتایج برخی از محققین که روی خروس (۵) و بز (۴) کار کرده بودند، مطابقت داشت. این محققین گزارش نمودند علت کاهش جنبایی ممکن است ناشی از مقدار کلسیم آزاد داخل سلولی باشد که کاهش می‌یابد (۵). همچنین اینکه با افزودن بیش از حد این آنتی‌اکسیدان می‌توان این انتظار را داشت که عملکرد یکپارچه‌ای آگروزوم، مختل و میتوکندری سلول اسپرم، تخریب شود که این مسئله نیز با جنبایی اسپرم مرتبط است (۴). تائورین باعث بهبود در سلامت آگروزوم می‌شود که این می‌تواند به علت این ویژگی تائورین باشد که قادر است عملکرد غشا را تثبیت کند. با این حال، نتایج ما با نتایج برخی از محققین مغایرت داشت که می‌تواند علت آن مقدار مورد استفاده این ماده باشد. در پایان نیز پیشنهاد می‌شود جهت دستیابی به نتایج بهتر در مورد تائورین، از غلظت‌های خیلی پایین استفاده شود.

منابع

1. Agarwal, S., and V. A. Rao. 2000. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *Canadian Medical Association Journal*. 163:739-744.
2. Alvarez, J.G. and B.T. storey. 1983. Taurine, hypotaurine, epinephrine and albumin inhibit lipid peroxidation in rabbit spermatozoa and protect against loss of motility. *Biology of Reproduction*. 29:548-555.
3. Arab, L., and S. Steck. 2000. Lycopene and cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition*. 71:1691-1695.
4. Atessahin, A., M.N. Bucak, P. B. Tuncer, and M. Kizil. 2008. Effect of antioxidant additives on microscopic and oxidative parameters of angora goat semen following the freeze-thawing process. *Small Ruminant Research*. 77: 38-44.
5. Barna, J., K. Ashizawa, H. Boldizs and M. Inoue. 1998. Effects of taurine on the motility and intracellular free Ca^{2+} concentration of fowl spermatozoa in vitro. *Journal of Reproduction and Fertility*. 114:225-229.
6. Gupta, N.P. and R. Kumar. 2002. Lycopene therapy in idiopathic male infertility - a preliminary report. *International Urology Nephrology*. 34: 369-372.
7. Long, J.A. and M. Kramert. 2003. Effect of vitamin E on lipid peroxidation and fertility after artificial insemination with liquid-stored turkey semen. *Poultry Science*. 82:1802-1807.
8. Militantea J.D. and J.B. Lombardini. 2004. Dietary taurine supplementation: hypolipidemic and antiatherogenic effects. *Nutrition Research*. 24: 787-801.
9. Omoni, A.O. and R.E. Aluko. 2005. The anticarcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene- A review.
10. Revell, G. and R. A. Mrode. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Animal Reproductive Science*. 36:77-86.
11. Sharma, R.k. And A. Agarwal. 1996. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Journal of Urology*. 48: 835-850.
12. Shi, J. 2000. Lycopene in tomatoes- Chemical and physical properties affected by food processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 40:1-42.
13. Sikka, S.C. 1996. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Frontiers in Bioscience*. 1:78-86.
14. Uysal, O., M.N. Bucak. 2007. Effects of oxidized Glutathione, Bovine serum albumin, cysteine and lycopene on the quality of frozen-thawed ram semen. *Acta Vetrinaria Brno*. Pp:383-390.

15. Uysal, O., M.N. Bucak, Yavas and O. Varish. 2007. Effect of various antioxidants on the quality of frozen-thawed bull semen. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 6:1362-1366.

Effects of Lycopene and Taurine on freezability of Markhoz Goat Spermatozoa

Mohammad Rezazadeh^{1*} and Abbas Farshadr²

1- North khorasan, Faruj city 2- Kurdistan univercity

* Corresponding E-mail address: mrezazadeh1881@yahoo.com

Abstract :

The aim of this study was to determine the effects of the addition of 3 levels of Taurine (10, 30 and 50 mM) and Lycopene (200, 400 and 800 µg/ml) to freezing media on the post-thawing sperm characteristics, including viability, motility, progressive motility, acrosome and membranes integrity. Semen samples were collected from 4 Markhoz goat of Agricultural Research Center of Iranian Kurdistan. A total number of 16 ejaculates were collected using the artificial vagina and then diluted with a Tris-based extender containing additives and no additives as control. These results indicate that supplementing taurine to the thawing and culture media significantly decreased ($P<0.05$) spermatozoa viability, motility, progressive motility and membranes integrity and significantly increased ($P<0.05$) acrosome integrity. Lycopene showed more positive effects than other concentrations of the supplements and controls in protecting sperm characteristics after the freezing-thawing process ($P<0.05$). At the conclusion of the study, it can be said that lycopene can be successfully employed to store goat semen for long periods.

Keywords : Cryopreservation- Taurine- Lycopene- Markhoz Goat- Spermatozoa

تاثیر سطوح مختلف ضایعات قارچ خوراکی آگاریکوس بیسپروس بر ریخت‌شناسی روده باریک جوجه‌های گوشتی

محمد شمسیه*^۱، محمود شمس شرق^۲، بهروز دستار^۲، سعید زره داران^۲، مرضیه فلکی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانشیار دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- دانشجوی دکتری دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

* مسئول مکاتبه: m.shamsieh@yahoo.com

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تاثیر سطوح مختلف ضایعات قارچ خوراکی آگاریکوس بیسپروس بر ریخت‌شناسی روده باریک جوجه‌های گوشتی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲۵۶ قطعه جوجه یک‌روزه در ۴ تیمار و ۴ تکرار ۱۶ قطعه‌ای به مدت ۴۲ روز انجام شد. جیره‌ها حاوی تیمار شاهد (جیره فاقد ضایعات قارچ دکمه‌ای) و همچنین سطوح ۲، ۴ و ۶ درصد ضایعات قارچ در ترکیب جیره بود. تیمارها از روز اول دوره پرورش تا روز پایانی اعمال شدند. نتایج نشان داد که ارتفاع پرز در ناحیه ژژنوم تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی مورد نظر قرار گرفت ($P < 0.05$) به طوری که با افزودن سطوح بالاتر ضایعات به جیره جوجه‌های گوشتی ارتفاع پرز کاهش پیدا کرد. ارتفاع پرز در نواحی دئودنوم و ایلئوم در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. بررسی نتایج نشان داد، استفاده از ۶٪ و ۴٪ ضایعات قارچ در جیره جوجه‌های گوشتی به ترتیب سبب کاهش معنی‌دار عرض پرزهای روده در نواحی دئودنوم و ژژنوم می‌گردد ($P < 0.05$). در حالی که اثر سطوح مختلف قارچ بر عرض پرزها در ناحیه ایلئوم از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. استفاده از ۶٪ ضایعات قارچی در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار حاوی ۲٪ ضایعات قارچی، سبب کاهش معنی‌دار عمق کریپت در ناحیه ایلئوم گردید. عمق کریپت در نواحی دئودنوم و ژژنوم تحت تاثیر سطوح مختلف ضایعات قارچی در جیره قرار نگرفت.

کلمات کلیدی: ضایعات قارچ - ریخت‌شناسی روده باریک - جوجه گوشتی

مقدمه

در چند دهه اخیر، اهمیت سلامت دستگاه گوارش در سلامتی و بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی مورد توجه قرار گرفته است (۹). عوامل بیماری‌زای موجود در دستگاه گوارش حیوانات از جمله طیور (اشرشیاکلی، سالمونلا، کلسترییدیوم پرفرینجس و کامپیلوباکتر اسپوتروم) به دلیل رقابت با میزبان در مصرف مواد مغذی، ترشح متابولیت‌های سمی، ایجاد بیماری‌های مختلف (اسهال، سالمونلا، عفونت‌های روده، عدم کارکرد صحیح کبد و پانکراس) باعث کاهش عملکرد و توانایی حیوان، در هضم و جذب مواد مغذی می‌گردند (۷). باکتری‌های روده همچنین سبب ضخیم‌تر شدن دیواره روده و کاهش جذب مواد مغذی می‌گردند (۱۰). از این رو در چند دهه اخیر به منظور کنترل بیماری‌های غیرقابل تشخیص، سلامت روده و تحریک رشد استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت طیور رواج پیدا نمود (۱). با افزایش نگرانی در مورد مقاومت باکتری‌ها و میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از آنها در بسیاری از کشورهای اروپایی و همچنین آمریکایی ممنوع گردید (۳). بنابراین، راه دیگری

برای جلوگیری از ورود باکتری‌های عفونت‌زا و افزایش عملکرد، در صنعت طیور مورد نیاز بود. محصولات دارویی حاصل از قارچ‌ها یا گیاهان به صورت مکمل‌های غذایی به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها معرفی شدند (۸). معمولا قارچ‌های خوراکی دارای خواص محرک رشد و تقویت سیستم ایمنی هستند (۱۱). همچنین بنظر می‌رسد مکانیسم عمل برخی از گیاهان یا قارچ‌ها همانند پری‌بیوتیک‌ها باشد (۴). این خاصیت ناشی از پلی‌ساکاریدهای موجود در ترکیبات حاصل از گیاهان و قارچ‌ها می‌باشد (۸). ترکیبات فعال‌کننده سیستم ایمنی قارچ‌های خوراکی، ممکن است شامل پلی‌ساکاریدها، گلیکوسیدها، آلکالوئیدها، چربی‌های فرار و اسیدهای آلی باشد (۱۲ و ۱۳). پلی‌ساکاریدها و الیگوساکاریدهای قارچ‌ها بعنوان تقویت‌کننده سیستم ایمنی، احتمالا دارای فعالیت‌های آنتی‌باکتریال، ضدویروسی و ضدانگلی در جوجه‌ها می‌باشند. تفاوت زیادی در بین قارچ‌های مناطق مختلف وجود دارد که ممکن است به دلیل تفاوت فیزیوشیمیایی، نوع قند، وزن مولکولی و ساختار پلی‌ساکاریدهای موجود در ساختمان قارچ‌های مورد استفاده باشد (۸).

هدف از این پژوهش، معرفی محصول طبیعی ضایعات قارچ دکمه‌ای "آگاریکوس بیسپروس" در جیره جوجه‌های گوشتی و بررسی اثرات مصرف آن بر ریخت‌شناسی روده باریک بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۲۵۶ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ بر روی بستر پرورش داده شدند. جوجه‌ها بطور تصادفی به ۴ تیمار و هر تیمار در ۴ تکرار ۱۶ قطعه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. جیره‌ها حاوی تیمار شاهد (جیره فاقد ضایعات قارچ دکمه‌ای) و همچنین سطوح ۲، ۴ و ۶ درصد ضایعات قارچ در ترکیب جیره بود. جیره‌های غذایی براساس نیازهای غذایی ارائه شده توسط شرکت تولیدکننده سویه در نظر گرفته شد و به سه دوره پرورش یعنی دوره‌های آغازین، رشد و پایانی تقسیم گردید. تنظیم جیره‌ها با استفاده از نرم‌افزار UFFDA انجام گرفت. طول دوره پرورش ۴۲ روز بود. در انتهای دوره پرورش جهت نمونه برداری از روده کوچک از هر واحد آزمایشی یک پرنده که شامل ۴ پرنده از هر تیمار بود، کشتار گردید. ۳ سانتی متر از هر بخش روده کوچک جدا نموده و به آزمایشگاه منتقل گردید. فاکتورهای مورد اندازه‌گیری جهت بررسی ریخت‌شناسی دستگاه گوارش، شامل ارتفاع، عرض پرزها و عمق کریپت در نواحی دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم روده کوچک بود. داده‌های بدست آمده برای صفات مورد اندازه‌گیری به وسیله نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج بدست آمده از این بررسی در جدول زیر ارائه شده است. همانطور که از نتایج مشهود است ارتفاع پرز در ناحیه ژژنوم تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی مورد نظر قرار گرفت ($P < 0.05$) به طوری که با افزودن سطوح بالاتر ضایعات به جیره جوجه‌های گوشتی ارتفاع پرز کاهش پیدا کرد. ارتفاع پرز در نواحی دئودنوم و ایلئوم در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. بررسی نتایج بدست آمده نشان داد که، افزودن ۶٪ و ۴٪ ضایعات قارچ به جیره جوجه‌های گوشتی به ترتیب سبب کاهش معنی‌دار عرض پرزهای روده در نواحی دئودنوم و ژژنوم گردید ($P < 0.05$). در حالی که افزودن سطوح مختلف قارچ به جیره نتوانست تفاوت معنی‌داری را در عرض پرزها در ناحیه ایلئوم ایجاد نماید. استفاده از ۶٪ ضایعات قارچی در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار حاوی ۲٪ ضایعات قارچی، سبب کاهش معنی‌دار عمق کریپت در ناحیه ایلئوم گردید اما تفاوت معنی‌داری در عمق

کریپت در زمان استفاده از ۰.۴٪ ضایعات در مقایسه با جیره حاوی ۰.۲٪ و ۰.۶٪ ضایعات قارچی در جیره مشاهده نشد. عمق کریپت در نواحی دئودنوم و ژژنوم تحت تاثیر سطوح مختلف ضایعات قارچی در جیره قرار نگرفت. در آزمایش آلوده و همکاران (۲) که از ضایعات قارچ خوراکی *Pleurotus sajor caju* به میزان صفر، ۰.۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد در جیره جوجه‌های گوشتی استفاده کردند، نشان دادند که افزودن ۰.۲٪ ضایعات قارچ به جیره سبب افزایش ارتفاع پرز در روده کوچک جوجه‌های گوشتی می‌شود که با نتایج بدست آمده از این آزمایش مغایرت دارد. گیانناز و همکاران (۵ و ۶) که از قارچ خوراکی آگاریکوس بیسپروس به میزان صفر، ۱ و ۰.۲٪ در جیره جوجه‌های گوشتی و پولت‌های بوقلمون استفاده

کردند، نتیجه گرفتند که جیره‌های حاوی قارچ خوراکی سبب بهبود غیر معنی‌دار عمق کریپت دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم گردید که این نتایج با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. هر چند که بررسی‌های مورفولوژیکی روده در ناحیه ایلئوم تفاوت معنی‌داری در عمق کریپت بین استفاده از ۰.۶٪ ضایعات قارچ با تیمار شاهد و استفاده از ۰.۲٪ ضایعات در جیره جوجه‌های گوشتی نشان داد.



جدول: تأثیر استفاده از سطوح مختلف ضایعات قارچ بر ریخت شناسی روده باریک جوجه های گوشتی
 * حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه وجود تفاوت معنی دار بین میانگین های مربوطه است ($P < 0.05$)
 ** میانگین $\pm$ خطای معیار

شاهد	% ضایعات قارچ	% ضایعات قارچ	% ضایعات قارچ	P
Value				
<u>ارتفاع پرز (میکرومتر)</u>				
دئودنوم	$2129/00 \pm 53/33$	$2091/00 \pm 35/94$	$2199/60 \pm 127/29$	
	$2089/40 \pm$	$1489/00 \pm 68/29^b$	$0/7474$	
ژژونوم	$1798/67 \pm 21/61^a$	$976/00 \pm 116/71$	$1672/00 \pm 36/52^{ab}$	
	$1752/00$		$0/0206$	
ایلئوم	$1122/30 \pm 126/96$	$237/50 \pm 7/03^a$	$960/00 \pm 69/14$	
	$1204/60 \pm$	$182/50 \pm 4/35^b$	$0/3160$	
<u>عرض پرز (میکرومتر)</u>				
دئودنوم	$241/80 \pm 2/75^a$	$177/25 \pm 8/89$	$205/00 \pm 13/11^b$	
	$234/60 \pm$	$236/25 \pm 6/42$	$0/0145$	
ژژونوم	$215/33 \pm 2/85^a$	$236/50 \pm 11/95$	$208/40 \pm 10/11^{ab}$	
	$209/00$	$185/75 \pm 16/07^{ab}$	$0/0732$	
ایلئوم	$197/75 \pm 13/85$		$161/80 \pm 16/08$	
	$198/80$		$0/1285$	
<u>عمق کریپت (میکرومتر)</u>				
دئودنوم	$257/00 \pm 18/61$	$247/40 \pm 5/40$		
	$262/20$	$0/5570$		
ژژونوم	$235/67 \pm 24/23$	$212/60 \pm 9/47$		
	$244/67$	$0/3712$		
ایلئوم	$218/00 \pm 17/68^a$	$159/40 \pm 20/05^b$		
	$201/40$	$0/1288$		

۱. خالقی، پ. ۱۳۸۳. فیتوبیوتیک در تغذیه جوجه‌های گوشتی. چکاوک. دوره سیزدهم. شماره ۱.
2. Azevedo, R.S., C.L.daS. Ávila, E.S. Dias, A.G. Bertechini and R.F. Schwan. 2009. Utilization of the spent substrate of *Pleurotus sajor caju* mushroom in broiler chicks ration and the effect on broiler chicken performance. *Animal Sciences*. 31: 139-144.
3. Chen, Y.C., C. Naklhong and T.C. Chen. 2005. Effect of chicory Fructan on Egg cholesterol in commercial laying Hen. *Poultry Science*. 4: 109-114.
4. Cummings, J.H. and G.T. MacFarlane. 2002. Gastrointestinal effects of prebiotics. *British Journal of Nutrition* 87: 145-151.
5. Giannenas, I., E. Tsalie, E.F. Chronis, S. Mavridis, D. Tontis and I. Kyriazakis. 2011. Consumption of *Agaricus bisporus* mushroom affects the performance, intestinal microbiota composition and morphology, and antioxidant status of turkey poult. *Animal Feed Science And Technology*. 165: 218-229.
6. Giannenas, I., I.S. Pappas, S. Mavridis, G. Kontopidis, J. Skoufos and I. Kyriazakis. 2010. Performance and antioxidant status of broiler chickens supplemented with dried mushrooms (*Agaricus bisporus*) in their diet. *Poultry Science*. 89: 303-311.
7. Gunal, M., G. Yayli, O. Kaya, N. Karahan and O. Sulak. 2006. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *Poultry Science*. 5: 149-155.
8. Guo, F.C. 2003. Mushroom and herb polysaccharides as alternatives for antimicrobial growth promoters in poultry. Ph.D. Thesis, Wageningen University, The Netherlands.
9. Mountzouris, K.C., P. Tsirtsikos, E. Kalamara, S. Nitsch, G. Schatzmayr and K. Fegeros. 2007. Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poultry Science* 86: 309-317.
10. Stropfova, V., M. Marcinakova, S. Gancarikova, Z. Jonecova, L. Scirankova, P. Guba, J. koscova, K. Boldizarova and A. Laukova. 2005. New probiotic strain *Lactobacillus fermentum* ADI and its effect in Japanese guail. *Veterinary Medicine Czech*. 50: 415-420.
11. Verstegen, M.W.A. and G.J. Schaafsma. 1999. Some developments on alternatives for antibiotics as growth promotor. In: Jansman, A.J.M., Huisman, J. (Eds.), *Nutrition and Gastrointestinal Physiology- Today and Tomorrow*. Wageningen University Press, Wageningen, The Netherlands. 65-73.
12. Willis, W.L., O.S. Isikhuemhen and S.A. Ibrahim. 2007. Performance assessment of broiler chickens given mushroom extract alone or in combination with probiotics. *Poultry Science* 86: 1856-1860.
13. Yang, Y. and W.S. Feng. 1998. *Brochures of Isolation and Extraction of Chemical Components from Herbs*. China Chinese Herb Medicine Press, Beijing, China.

Effect of different levels of *Agaricus bisporus* mushroom waste on the intestinal morphology of broilers

Mohammad Shamsiyeh^{*1}, Mahmud Shams Shargh², Behruz Dastar², Saeed Zerehdaran², Marziyeh Falaki³

- 1- M.Sc. student, Dept. of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
- 2- Associate Prof, Dept. of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
- 3- Ph.D. Student, Dept. of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

* Corresponding E-mail address: m.shamsieh@yahoo.com

Abstract

This experiment was carried out to investigate the effect of various levels of *Agaricus bisporus* on the intestinal morphology of broilers in a completely randomized design with 256 one day old broilers, in four treatments with four replications and 16 chicks in each replication during 42 days of age. The dietary treatments were control (without *Agaricus bisporus*) and also levels of 2, 4 and 6% of *Agaricus bisporus* mushroom waste in dietary composition. The results showed that the height of villi in the jejunum case was affected by treatments ($P<0/05$) so that adding higher levels to broilers diet decreased height villi. Duodenum and ileum villi altitude areas showed no significant difference between treatments. Survey results showed that 6% and 4% of mushroom waste in broiler diets were significantly reduced on the duodenum and jejunum villi respectively ($P<0/05$). The effect of various levels of mushroom waste on within the pile in the ileum did not show statistically significant differences. The comparison between 6% with the control and 2% of mushroom waste caused a significant decrease in crypt depth in the ileum. Duodenum and jejunum crypt depth affected by different levels of mushroom waste was not included in the diet.

Keywords: Mushroom waste - Intestinal morphology - Broiler

اثر مقادیر مختلف ال-گلوتامین بر تحرک اسپرم پوشش دار شده قوچ تالشی با زرده تخم مرغ در طی انجماد ساناز حسن پور دیارجان^{۱*}، محمد روستایی علی مهر^۲، مهرداد محمدی^۳ و مختار مهدی زاده اسطوخ کوهی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه گیلان، ۲- استادیار گروه علوم دامی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، ۳- کارشناس ارشد مدیریت امور دام سازمان جهاد کشاورزی استان گیلان

*نویسنده مسئول: ساناز حسن پور دیارجان Sanazhasanpoor.2011@gmail.com

چکیده:

در این تحقیق جهت بررسی اثر ال-گلوتامین بر تحرک پیش رونده اسپرم پوشش دار شده طی انجماد از ۴ راس قوچ تالشی با میانگین سنی ۲/۵ تا ۴ سال و میانگین وزنی ۴۵ کیلوگرم استفاده شد. جهت پوشش دار کردن اسپرم، منی در لوله حاوی ۱ میلی لیتر محلول تریس-فروکتوز حاوی ۱۵٪ زرده تخم مرغ، جمع آوری و پس از ارزیابی اولیه به غلظت نهایی 60×10^6 اسپرم در هر میلی لیتر رسانده شد و سپس به ۵ قسمت تقسیم و هر بخش با حجم مساوی از رقیق کننده تریس-گلوکز حاوی ۴۰٪ زرده تخم مرغ، ۱۰٪ گلیسرول و صفر، ۸۰، ۱۶۰، ۲۴۰، ۳۲۰ میلی مول ال-گلوتامین مخلوط شده تا غلظت نهایی زرده ۲۰٪، ال-گلوتامین ۴۰، ۸۰، ۱۲۰، ۱۶۰ و گلیسرول ۵٪ بشود. تیمارها بعد از رقیق شدن، در دستگاه خنک کننده قرار گرفته و طی ۲ ساعت دمای آنها از 37°C به 4°C رسانده شد و ۲ ساعت دیگر نیز برای رسیدن به تعادل در این دما نگهداری شدند. پس از ارزیابی تحرک قبل از انجماد، تیمارها در بخار ازت منجمد و مدت ۲ هفته در ازت مایع نگهداری شده و ارزیابی بعد از انجماد انجام شد. نتایج نشان داد که تحرک پیش رونده قبل از انجماد در تیمار ۱۶۰ میلی مول $(56 \pm 3/05)$ و بعد از انجماد، در ۱۲۰ $(19/5)$ و ۱۶۰ $(16/5)$ میلی مول کمترین مقدار بود $(P < 0/05)$ و بین سایر تیمارها تفاوت معنی دار نبود $(P > 0/05)$. بین تیمارها از نظر کاهش تحرک طی انجماد تفاوت معنی دار نبود $(P > 0/05)$. بنابراین غلظت های بیش از ۱۲۰ میلی مول ال-گلوتامین برای اسپرم پوشش دار شده دارای آثار مخرب است و افزودن ال-گلوتامین سبب بهبود کیفیت اسپرم پوشش دار شده نمی شود.

واژگان کلیدی: اسپرم قوچ- ال-گلوتامین- گلیسرول- پوشش دار کردن.

مقدمه:

دلیل اصلی عدم استفاده وسیع از تلقیح مصنوعی در گوسفند، مشکلاتی است که در زمینه انجماد اسپرم قوچ وجود دارد و همچنین باروری ناشی از اسپرم منجمد بسیار کم و حدود ۲۰ تا ۳۰ درصد است. ثابت شده که کاهش دما از دمای معمول به ۴ یا ۱۹۶- درجه سانتیگراد، باعث آسیب به قسمت های مختلف سلول خصوصاً غشای اسپرم می شود. طی انجماد، حجم سلول تغییر می کند و چنانچه غشا از استحکام کافی برخوردار نباشد، باعث از هم گسیختن غشای پلاسمایی و مرگ سلول می شود (۱). در حالت طبیعی غشا حاوی آنتی اکسیدان های متنوعی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتیون ردوکتاز و گلوکاتیون پراکسیداز است که از تجمع رادیکال های آزاد جلوگیری می کنند (۵). استرس اکسیداتیو در هنگام سرد کردن و انجماد اسپرم منجر به کاهش تحرک و آسیب به غشا آکروزوم اسپرم می شود. همچنین غشا پلاسمایی اسپرم قوچ در مقایسه با سایر گونه ها مانند گاو، انسان و خرگوش دارای نسبت بالاتری از اسیدهای چرب غیر اشباع به اشباع و نسبت کمتری از کلسترول به فسفولیپید بوده و به همین دلیل به شوک سرمایی حساس تر است (۳). مطالعات ثابت کرده که اسیدهای آمینه با گروه های فسفات موجود در فسفولیپید غشا بر هم کنش الکترواستاتیک ایجاد می کند (۸)، بنابراین لایه ای را تشکیل می دهند که غشا پلاسمایی را پوشانده و از آن در برابر شوک سرمایی محافظت می کند. طی پروسه انجماد-یخ گشایی بخشی از سیستم های آنزیمی که در حذف رادیکال های آزاد اکسیژن

نقش دارند، تخریب می‌شوند که این آسیب به سیستم‌های آنزیمی وارد می‌شود، یکی از علت‌های مهم از دست‌دادن فعالیت اسپرم پس از انجماد است. بعلاوه توانایی آنتی‌اکسیدانی اسپرم، به منظور مقاومت در برابر اثرات پراکسیداسیون چربی و حفظ عملکرد اسپرم طی انجماد-یخ‌گشایی کافی نیست. ثابت شده است که اسیدآمینه قطبی گلوتامین نیز با تشکیل لایه محافظ سبب کاهش آسیب به غشا در روند انجماد می‌شود. این اسید آمینه در سطح خارج سلولی عمل می‌کند، و جنبش اسپرم انسان و اسب را بهبود می‌بخشد (۴). افزودن اسید آمینه آل-گلوتامین به عنوان آنتی‌اکسیدان به رقیق‌کننده انجماد به طور معنی‌داری باعث بهبود تحرک پیش‌رونده اسپرم بز، نریان، گاو، یوفالو، میمون و انسان شده است (۷). پوشش‌دار کردن اسپرم بلافاصله پس از انزال، با رقیق‌کننده حاوی زرده تخم مرغ، روش مناسبی جهت حذف سریع مایع منی و بهبود ذخیره سازی منی است (۱۰). به علاوه، حضور گلیسرول در داخل سلول مانع از تشکیل بلورهای یخ شده و به این ترتیب سلول را در روند انجماد محافظت می‌کند (۹). هدف این مطالعه، تعیین بهترین مقدار آل-گلوتامین، برای اسپرم پوشش‌دار شده قوچ طی سردسازی و انجماد می‌باشد.

مواد و روش‌ها:

این پژوهش در دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان با استفاده از چهار راس قوچ نژاد تالشی، با میانگین وزنی ۴۵ کیلوگرم انجام شد. نمونه‌های منی، دو بار در هفته، به کمک واژن مصنوعی استریل، جمع‌آوری شد. جهت پوشش‌دار کردن اسپرم، انزال دوم در لوله حاوی ۱ میلی لیتر تریس-فروکتوز [۳,۲۵۸ گرم تریس-(هیدروکسی متیل)- آمینومتان، ۱,۸۷۰ گرم اسیدسیتریک مونوهیدرات، ۰,۹۳ گرم فروکتوز و ۰,۵ میلی لیتر جنتامایسین (۵۰ میلی گرم/میلی لیتر) در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر، pH=۷] با ۱۵٪ زرده تخم مرغ (حجم/حجم) جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه بلافاصله تحرک پیش‌رونده با استفاده از میکروسکوپ فاز متضاد بررسی شد. برای ارزیابی تحرک ۱۰۰ عدد اسپرم در ۵ میدان دید میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی $\times 400$ با اختلاف ۱۰ درصد ارزیابی شدند. جهت حذف اثر قوچ، نمونه‌ها تجمیع شد. سپس با سرعت $\times g 700$ و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و مایع رویی حذف شد. جهت حذف کامل مایع منی و زرده تخم مرغ، یک میلی لیتر رقیق‌کننده تریس-گلوکز [۳,۶۳۴ گرم تریس-(هیدروکسی متیل)- آمینومتان، ۱,۹۹۶ گرم اسیدسیتریک مونوهیدرات و ۰,۵ میلی لیتر از جنتامایسین (۵۰ میلی گرم/میلی لیتر) در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر، pH=۷] به رسوب اضافه و به آرامی مخلوط شد و سانتریفوژ دوم با همان شرایط انجام و مایع رویی حذف شد. سپس نمونه‌ها با استفاده از رقیق‌کننده تریس گلوکز تا غلظت $10^6 \times 600$ اسپرم در میلی لیتر رقیق شده و به پنج قسمت مساوی تقسیم شدند. هر بخش با حجم مساوی از رقیق‌کننده تریس گلوکز حاوی ۴۰٪ زرده تخم مرغ، ۱۰٪ گلیسرول و صفر، ۸۰، ۱۶۰، ۲۴۰، ۳۲۰ میلی مول آل-گلوتامین مخلوط شده تا غلظت نهایی زرده ۲۰٪، آل-گلوتامین ۴۰، ۸۰، ۱۲۰، ۱۶۰ و گلیسرول ۵٪ بشود. نمونه‌ها در داخل پایوتهای ۲۵۰ میکرولیتری بسته بندی شده و انتهای پایوتهای با پلی وینیل الکل مسدود شد. پایوته‌ها در دستگاه سرد کننده به مدت ۲ ساعت قرار داده شد تا به دمای ۵ درجه سلسیوس برسد و ۲ ساعت دیگر جهت تعادل در همان دما نگهداری شدند. پایوته‌ها به مدت ۱۳ دقیقه به صورت افقی به فاصله ۴ سانتیمتر از سطح بخار نیتروژن قرار گرفتند و سپس در ازت مایع غوطه‌ور شدند و برای ذخیره نهایی به تانک نیتروژن مایع انتقال یافتند. نمونه‌ها پس از ۲ هفته جهت یخ‌گشایی در حمام آب ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴۰ ثانیه قرار داده شدند و بلافاصله تحرک پیش‌رونده ارزیابی شد. میزان کاهش تحرک طی انجماد با کسر میزان تحرک بعد انجماد از مقدار تحرک قبل انجماد بدست آمد. نتایج این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار (مقادیر ۰، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰، ۱۶۰ آل-گلوتامین) و ۵ تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشی با استفاده از رویه GLM برنامه SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت و تفاوت‌ها در سطح $(P < 0.05)$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث:

نتایج نشان داد قبل از انجماد تحرک پیش‌رونده در تیمار ۱۶۰ میلی‌مول، و بعد از انجماد در تیمار ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی‌مول کمترین مقدار بود ($P < 0.05$) و بین سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$) که با نتایج پژوهش‌های انجام شده روی اسپرم بز، نریان و انسان مطابقت دارد (۶،۲). اسیدآمینه گلوتامین در غلظت‌های بالا با ایجاد اثرات سمی و اختلالات اسمزی باعث کاهش تحرک اسپرم شده و اثرات مثبت و آنتی‌اکسیدانی آن خنثی می‌شود (۶). میزان کاهش تحرک طی انجماد در بین تیمارها معنی‌دار نبود (جدول ۱، $P > 0.05$). پوشش‌دار کردن اسپرم با زرده تخم‌مرغ، از طریق جمع‌آوری اسپرم در لوله حاوی رقیق‌کننده تریس-زرده تخم‌مرغ باعث به حداقل رسیدن مدت زمان مواجهه اسپرم با مایع منی شده و به این ترتیب باعث کاهش خسارت‌های ناشی از مایع منی به اسپرم می‌شود. فسفولیپیدها و ترکیبات لیپوپروتئینی با چگالی پایین موجود در زرده تخم‌مرغ، به غشای سلول اسپرم متصل شده و مانع از خروج فسفاتیدیل کولین و کلسترول از دیواره اسپرم می‌شوند (۱۰). به این ترتیب میتوان بیان کرد که زرده تخم‌مرغ به تنهایی توانایی محافظت از غشای پلاسمایی اسپرم را داشته و اثری غالب بر اثر محافظتی گلوتامین دارد.

جدول ۱- میانگین تحرک پیش‌رونده قبل و بعد از انجماد (LS Means $\pm$ S.E)

تحرک پیش‌رونده اسپرم			
غلظت ال-گلوتامین	قبل از انجماد	بعد از انجماد	کاهش تحرک طی انجماد
۰	69.0 ± 4.0^{a}	31.50 ± 2.08^{a}	28.0 ± 3.74^{a}
۴۰	71.0 ± 3.48^{a}	31.50 ± 2.64^{a}	30.0 ± 7.07^{a}
۸۰	76.0 ± 2.66^{a}	36.0 ± 2.49^{a}	32.0 ± 3.74^{a}
۱۲۰	68.0 ± 3.0^{a}	19.50 ± 1.98^{b}	38.0 ± 3.74^{a}
۱۶۰	56.0 ± 3.05^{b}	16.50 ± 1.81^{b}	32.0 ± 4.89^{a}

^{a-b} حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است ($P < 0.05$).

منابع:

۱. صدرزاده، پ.، اسدی، م. ۱۳۸۹. مقایسه تاثیرات گلوتامین بر پارامترهای اسپرم گوسفند بعد از آب شدن. ماهنامه دام کشت و صنعت. شماره ۱۲۵
2. Aitken RJ, Fischer, H. Reactive oxygen species generation and human spermatozoa: the balance of benefit and risk. *Bioessays* 1994;16:259-67
3. Ali Al Ahmad, M.Z., Chatagnon, G., Amirat-Briand, L., Moussa, M., Tainturier, D. and Anton, M., et al. 2008. Use of glutamine and low density lipoproteins isolated from egg yolk to improve buck semen freezing. *Reproduction of Domestic Animal*, 43(4):429-436.
4. Amirat-Briand, L., D. Bencharif, O. Vera-Munoz, H. Bel Hadj Ali, S. Destrumelle, S. Desherces, E. Schmidt, M. Anton and D. Tainturier. 2009. Effect of glutamin on post-thaw motility of bull spermatozoa after association with LDL (low density lipoproteins) extender: Preliminary results. *Theriogenology*, 71: 1209-121

5. Bucak, MN, Tuncer PB, Sariözkan S, Ulutas, PB. Comparison of the effects of glutamine and an amino acid solution on postthawed ram sperm parameters, lipid peroxidation and anti-oxidant activities. *Small Rumin Res* 2009;81:13-7.
6. Khalifaouia, M., Battuta, I., Bruyasa, J.F., Chatagnona, G., Trimecheb, A, and Tainturiero, D. 2005. Effects of glutamine on post-thaw motility of stallion spermatozoa: an approach of the mechanism of action at spermatozoa level. *Theriogenology*, 63: 138-149
7. Kundu, C.N., Das, K., Majumder, G.C., 2001. Effect of amino acids on goat cauda epididymal sperm cryopreservation using a chemically defined model system. *Cryobiology* 41, 21-27
8. Manjunath P, The'rien I. 2002. Role of seminal plasma phospholipid binding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation. *J Reprod Immunol* 53:109-119
9. Morrier, A. F., Castonguay and J. L. Bailey. 2002. Glycerol addition and conservation of fresh and cryopreserved ram spermatozoa. *Can. J. Anim. Sci.* 82: 347-356
10. Vishwanath R, Shannon P, Curson B. Cationic extracts of egg yolk and their effects on motility, survival and fertilising ability of bull sperm. *Anim Repord Sci* 1992;29:185-94.

Effect of different levels of l-glutamine on the motility of coated sperm of Taleshi rams in the freezing procedure

Hasanpoor Diarjan, S.^{1*}, M. Roostaei Ali Mehr², M. Mohammadi², and M. Mehdizade Estalkh-Koochi³

1- Master of Science Student of Animal Physiology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht,

Iran 2-Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan,

Rasht, Iran 3-Master of Science of Animal Science, Assistant of Animal Production Department, Organization of

Jihad-e-Keshavarzi, Guilan, Rasht, Iran

* Corresponding E-mail address: sanazhasanpoor.2011@gmail.com

Abstract

This study is the evaluation of the effects of different levels of l-glutamine on Taleshi rams spermatozoa. The experiment performed by four Taleshi rams with an average weight of 45 kg and 2.5 to 4 years old. It used a completely randomized design with 5 treatments and 5 replications by using of second ejaculation of four Taleshi rams. Sperm samples were treated by levels of 0, 40, 80, 120 and 160 Mm l-glutamine and 5% glycerol and 20% egg yolk. The first assessment was performed after 4 hours of storage in the 4°C, then the samples were frozen and after 2 weeks, second assessment was performed, the progressive motility percent spermatozoa was evaluated. Results showed that before freezing the lowest motility, related to the treatment with 160 mM l-glutamine and after freezing related to 120 and 160 mM l-glutamine ($P < 0.05$) and there was no significant difference between other treatments ($P > 0.05$). These results indicate that concentrations of more than 120 mM l-glutamine for spermatozoa is destructive and has harmful effects and sperm coating could improve ram spermatozoa without the presence of l-glutamine



Keywords: ram Spermatozoa- L-glutamine- Glycerol- Coating.

تفاوت غلظت استرادیول و پروژسترون مایع فولیکولی فولیکول های با اندازه های مختلف در مراحل مختلف سیکل استروس گاوهای شیری دورگ

مرتضی اصغری مقدم^{۱*}، صالح طباطبایی^۲، مرتضی ممثنی^۲، خلیل میرزاده^۲، علی آقایی^۲، کمال حسن پور^۳، امیر کرم زاده^۴
۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان ۲. عضو هیئت علمی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان ۳. دانش آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان ۴. دانش آموخته کارشناسی علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

m.asghari.moghadam@gmail.com

چکیده

در این تحقیق، دستگاه های تولید مثلی غیر آبستن و سالم ۴۲ رأس گاو دورگ ۲ تا ۳ سال کشتار شده در کشتارگاه اهواز جمع آوری و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. براساس شکل و رنگ ظاهری جسم زرد در تخمدان های جدا شده، سیکل استروس به چهار مرحله مت استروس یا روزهای ۱ تا ۴، اوایل دی استروس یا روزهای ۵ تا ۱۰، اواخر دی استروس یا روزهای ۱۱ تا ۱۷ و پرواستروس بعلاوه استروس یا روزهای ۱۸ تا ۲۱ سیکل استروس تقسیم گردید. فولیکول های کوچک (کمتر از ۵ میلی متر)، متوسط (۶ تا ۹ میلی متر) و بزرگ (۱۰ تا ۲۰ میلی متر) تخمدان های مربوط به مراحل مختلف سیکل استروس تعیین شدند. مایع فولیکولی مربوط به فولیکول های با اندازه های مختلف به طور جداگانه توسط سرنگ انسولین کشیده شده و تا زمان آنالیز هورمون های استروئیدی (استروژن و پروژسترون) در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد ذخیره شدند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که با رشد و افزایش اندازه فولیکول، غلظت استروژن مایع فولیکولی بیشتر شده و رابطه مستقیمی بین افزایش غلظت استروژن و مقدار مایع فولیکول ها یافت شد. غلظت پروژسترون مایع فولیکولی اغلب با افزایش اندازه فولیکول ها کاهش یافت.

کلمات کلیدی: سیکل استروس - اندازه فولیکول - مایع فولیکول - میزان استروئیدها

مقدمه

تولید مثل در گاو از نظر اقتصادی اهمیت فراوانی دارد. بر این اساس، درک صحیح فیزیولوژی تولید مثل می تواند فواید زیادی در جهت ارتقای بازده تولید مثلی این حیوان داشته باشد. هورمون های استروئیدی متعددی توسط تخمدان ترشح می شوند که مهمترین آنها استروژن و پروژسترون است. استروژن اصلی که از لحاظ بیولوژیکی فعال می باشد، ۱۷ بتا استرادیول است. افزایش غلظت استرادیول با افزایش اندازه فولیکول غالب تخمدانی در ارتباط است. به نظر می رسد منبع استروژنی که مسئول بروز نشانه های رفتار فحلی است نیز همین فولیکول غالب باشد. درست قبل از شروع استروس، افزایش ناگهانی در استروژن های پلازما، بخصوص استرادیول دیده می شود. مقدار حداکثر آن در زمان شروع رفتارهای استروس ایجاد می شود و تا زمان تخمک ریزی به میزان پایه کاهش می یابد. پروژسترون توسط سلول های جسم زرد ترشح می شود و تغییر میزان آن کاملاً تابع حالت فیزیکی جسم زرد است. غلظت پلاسمایی پروژسترون در حدود روز ۴ سیکل استروس شروع به افزایش می کند و در حدود روز

۸ به حداکثر میزان خود می رسد و تا روز ۱۷ سیکل در همین میزان ثابت می ماند. همزمان با آغاز تحلیل جسم زرد در روز های ۳ یا ۴ قبل از فحلی، غلظت پروژسترون کاهش و غلظت استروژن افزایش می یابد (۱). مواد و روش

برای انجام این طرح، از ۴۲ دستگاه تناسلی سالم و غیر آبستن از گاوهای کشتار شده در کشتارگاه اهواز استفاده شد. در کشتارگاه، تخمدانهای چپ و راست هر کدام از دام ها با دقت قطع شده و در داخل فالكون های جداگانه گذاشته شدند. جفت تخمدانهای جمع آوری شده در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. تخمدانها در آزمایشگاه شستشوی داده شده و بر اساس ویژگی های جسم زرد شامل، شکل، رنگ ظاهری و قطر، سیکل استروس به ۴ مرحله مت استروس یا روزهای ۱ تا ۴، اوایل دی استروس یا روزهای ۵ تا ۱۰، اواخر دی استروس یا روزهای ۱۱ تا ۱۷ و پرواستروس بعلاوه استروس یا روزهای ۱۸ تا ۲۱ به روشی که علی و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند، تقسیم شدند. پس از انجام تشخیص مراحل مختلف سیکل استروس، اندازه فولیکول ها توسط کولیس تعیین شده و در ۳ گروه کوچک (کمتر از ۵ میلی متر)، متوسط (بین ۶ تا ۹ میلی متر) و بزرگ (۱۰ تا ۲۰ میلی متر) قرار داده شدند. مایع فولیکولی فولیکول های کوچک، متوسط و بزرگ جفت تخمدانهای دام به طور جداگانه در مراحل مختلف سیکل استروس توسط سرنگ های انسولین جداگانه، جمع آوری شده و در داخل میکروتیوپ ها ریخته و پس از شماره گذاری تا زمان ارسال به آزمایشگاه و ارزیابی های هورمون های استروژن و پروژسترون، در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون مقایسه چند دامنه ای دانکن توسط نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۶) استفاده شد.

نتایج و بحث

همانطوریکه در جدول ۱ مشاهده می شود، در اغلب مراحل سیکل استروس، غلظت استرادیول مایع فولیکولی در فولیکول های بزرگتر به طور معنی داری ($p < 0.05$) بیشتر از فولیکول های کوچکتر می باشد که این یافته موافق با نتایج (۱۱، ۱۰، ۵، ۱۳، ۱۴) در گاوهای شیری و در گاومیش بود (۷، ۶) که غلظت استروژن مایع فولیکولی با رشد فولیکول ها بیشتر شده و رابطه مستقیمی بین افزایش غلظت استروژن و مقدار مایع فولیکول ها یافت شد در تحقیق دیگری (۸) نیز بالاترین غلظت استروژن را در فولیکول های با قطر حدود ۱۵ میلی متر گزارش شد. در مطالعه ای دیگر، افزایش ناگهانی استروژن در فولیکول های بزرگتر از ۸ میلی متر گزارش شد که این افزایش با بزرگتر شدن اندازه فولیکول همراه بود (۹). مشابه با این نتایج در تحقیق دیگری (۲) نیز تفاوت معنی داری را بین میانگین غلظت استروژن در اندازه های مختلف دیده شده است. این محققین دریافتند با افزایش اندازه فولیکول بر میانگین غلظت استروژن افزوده می شود. به نظر می رسد که سلولهای گرانولوزا به طور عمده محل فعالیت آروماتازی آندروژن داخل فولیکولی باشد که هورمون FSH این فعالیت آروماتازی سلولهای گرانولوزا را تحریک کرده و در نتیجه باعث افزایش تولید استروژن می شود (۲). با توجه به جدول ۱، در مرحله پرواستروس بعلاوه استروس سیکل جنسی، رابطه معکوس معنی داری بین غلظت پروژسترون مایع فولیکولی و اندازه فولیکول ها دیده شد. به طوریکه در این مرحله غلظت پروژسترون مایع فولیکولی با افزایش اندازه فولیکول به طور معنی داری ($p < 0.05$) کاهش یافت. در این خصوص نتایج این مطالعه با گزارش محقق دیگری (۹) مطابقت داشت، این محققین غلظت های متفاوتی از پروژسترون را در اندازه های مختلف فولیکولی گزارش کردند ولی غلظت پروژسترون با افزایش اندازه فولیکول کاهش یافته بود. در مطالعه ای دیگر، (۱۰) سطح پروژسترون بالاتری را در فولیکول های کوچکتر مشاهده کردند. همچنین همسو با نتایج این مطالعه، کاهش معنی داری در غلظت



پروژسترون فولیکول های بزرگ تر گزارش شده است (۸، ۱۱). بنابراین تفاوت غلظت استروئیدهای مایع فولیکولی در مراحل مختلف رشد فولیکولی نشان می دهد که سلولهای فولیکولی توانایی زیادی برای تغییر در میزان تولید هورمون ها دارند (۸).

جدول ۱: تفاوت غلظت استرادیول (پیکوگرم در میلی لیتر) و پروژسترون (نانوگرم در میلی لیتر) مایع فولیکولی بین فولیکول های کوچک، متوسط و بزرگ مربوط به مراحل مختلف سیکل استروس گاو

مت استروس		اوایل دی		اواخر دی		پرواستروس		اندازه
		استروس		استروس		بعلاوه استروس		
استرادیول	پروژسترون	استرادیول	پروژسترون	استرادیول	پروژسترون	استرادیول	پروژسترون	فولیکول ها
			ترون		سترون	ل		
۳۵ a	۲۳ ± ۸ / ۴۶	۷۹ b	۱۲ab	۳۰ a	۹۷	۷۸b	۰۱ b	فولیکول
۸ ± ۴۲۵	۵۸	± ۷۷۷	۸۲ ± ۵	۵ ± ۳۱۲	± ۱۱	۶۹۹	۶۹ / ۰۰ ±	کوچک
								≤ ۵
۲۲۱۲		۱۱۷۷۶	۴۲	۱۶۸۰	۴۵	۲۸۹۱ ±		میلی متر
					۶۴			
۶۵ b	۶۸ ± ۱۳ / ۹۴	۲ a	a	۵ab	۸۲	۹۱a	۳۸ab	فولیکول
± ۸۹۳	۴۱	۸ ± ۲۶۰۷	± ۷ / ۹۸	± ۳۴۰۷	± ۱۰	۷ ± ۳۸۶	۵۷ / ۱۸ ± ۹	متوسط
			۳۴ / ۸۵					۹ - ۶
۱۱۵۹۶		۶۲۴۳		۶۷۰۳	۶۴	۱۳۵۰		میلی متر
-	-	۱۴ b	۳۵ b	۶۳ b	۰۶	۳۵ c	۶۷ a	فولیکول
							۳۲ / ۲۰ ± ۷	بزرگ
		± ۶۷۱	۸۳ ± ۵	± ۸۰۳	± ۱۰	± ۶۸		۱۰ -
		۱۳۲۰۸	۶۲	۱۱۹۶۸	۵۳	۱۳۰۰۳		۲۰ میلی
					۶۱			متر

* اعداد با حروف نامشابه در هر ستون نشانگر وجود تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشد

منابع

۱. بال، پی. جی. و پیترز، ار. آر. ۱۹۹۵. تولیدمثل در گاو. امیر هوشنگ فلاح‌راد. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۳۴۰ ص.
 ۲. خدایی، ح. قریشی، م. و حجازی، ح. ۱۳۸۶. رابطه اندازه فولیکول‌های سالم و کیستیک تخمدان گاو با میزان نیتریک‌اکساید و استرادیول موجود در مایع فولیکولی. فصلنامه باروری و ناباروری، ص ۱۷-۲۲.
 3. Ali, A., Abdel-Razek, A. K., Abdel-Ghaffar, S. and Glatzel, P. S. 2003. Ovarian follicular dynamics in buffalo cows (*Bubalus bubalis*). *Reproduction in Domestic Animal*. 38: 214-218.
 4. Einspanier, R., Schuster, H. and Schams, D. 1993. A comparison of hormone levels in follicle lutein cyst and in normal bovine ovarian follicles. *Theriogenology*. 40: 181-188.
 5. Ginter, O. J., Beg, M. A., Donaden, F. X. and Bergfelt, D. R. 2003. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Animal Reproduction Science*, 78: 239-257.
 6. Hooda, O. K. and Yadav, P. S. 2002. Concentration of some reproductive hormones in buffalo follicular fluid. *Ind. J. of Anim. Sci.* 72: 971-972.
 7. Kulkarni, B. A., Deshmukh, B. T., Katkam, R. R. and Puri, C. P. 1994. Follicular fluid steroid hormone level of Indian buffaloes. *J. of Buffalo*. 10:71-74.
 8. Klumpp, A. M. 2004. The effect of holding bovine oocytes in follicular fluid on subsequent fertilization and embryonic development. A Thesis Submitted to the Graduate Faculty of the Luisiana State University Agricultural and Mechanical College.
 9. Nishimoto, H., Hamano, S., Hill, G. A., Miyamoto, A. and Tetsuka, M. 2009. Classification of bovine follicle based on the concentrations of steroids, glucose and lactate in follicular fluid and the status of accompanying follicles. *J. of Reprod. and Develop.* 55: 219-224.
 10. Renaville, B., Comin, A., Fazzini, U., Marchini, E., Maiero, S., Marchi, V. and Prandi, A. 2007. Estrogen to progesterone ratio affects hormonal and lipid follicular fluid profiles in dairy cows. *Reprod. Medi. and Bio.* 6:45-51.
 11. Tabatabaei, S., Mamoei, M. and Aghaei, A. 2011. Dynamics of ovarian follicular fluid in cattle. *Springer- Verlag London, Comp. Clin. Pathol.* 20(6): 591-595.
 12. Tsonis, C. G., Carson, R. S. C. and Findlay, J. K. 1984. Relationship between aromatase activity, follicular fluid oestradiol 17β and testosterone concentration and diameter and artesia of individual ovine follicle. *J. of Reprod. Ferti.* 72: 153-163.
 13. Wise, T. 1987. Biochemical analysis of bovine follicular fluid: albumin, total protein, lysosomal enzymes, ions, steroids and ascorbic acid content in relation to follicular size, rank, artesia classification and day of estrous cycle. *J. Anim. Sci.* 64: 1153-1169.
- Concentrations of follicular fluid stradiol and progesterone in different follicular sizes in during the estrous cycle in hybrid cattle
- Morteza asghari moghadam¹, saleh tabatabaei², morteza mamoei², khalil mirzadeh², ali aghaei², kamal hasanpoor¹, amir karam zadeh³

¹Graduate student at Department of Animal Sciences, University of Agricultural Sciences and Natural Resources Ramin Khuzestan. ² Assistant Professor at Department of Animal Sciences, University of Agricultural Sciences and Natural Resources Ramin Khuzestan.. ³Student at Department of Animal Sciences, University of Agricultural Sciences and Natural Resources Ramin Khuzestan.

m.asghari.moghadam@gmail.com

Abstract:

In this research, the non pregnant and health reproductive systems of 42 hybrid cattle with 2-3 ages were collected from Ahwaz abattoir and were transferred to laboratory. After removing the ovaries, estrous cycle was classified in to 4 periods involve: metestrous (days 1-4), early diestrous (days 5-10), late diestrous (days 11-17) and proestrous plus estrous (days 18-21). The small (>5 mm), medium (6-9 mm) and large (10-20 mm) follicles in all stages of estrous cycle were determined. The follicular fluid from various sized follicles was collected with insulin syringes and stored in -20°C. The results showed that with increasing the follicular size, the follicular fluid estrogen concentration increased. The progesterone concentration in follicular fluids decreased with increasing the follicular size.

Key words: estrous cycle – follicular fluid – follicular size – steroids levels.

بررسی تاثیر سطوح مختلف گیاه چویر (*Ferulago angulata*) و ویتامین E بر پاسخ سیستم ایمنی در جوجه های گوشتی

ندا نایب زاده، یوسف جعفری آهنگری، فیروز صمدی و سید رضا هاشمی

به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار، دانشیار و دکتری فیزیولوژی طیور دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

*نویسنده مسئول: ندا نایب زاده، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، Neda.Nayebzade@gmail.com

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر استفاده از گیاه چویر و ویتامین E بر تیترا آنتی بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی و وزن اندام های لنفوی در جوجه های گوشتی انجام گردید. ۳۰۰ قطعه جوجه یک روزه (سویه راس ۳۰۸) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۵ تکرار در هر تیمار به مدت ۴۲ روز پرورش یافتند. که تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) جیره کنترل، (۲) جیره کنترل بعلاوه ۱/۵ درصد پودر چویر، (۳) جیره کنترل بعلاوه ۳ درصد پودر چویر و (۴) جیره کنترل بعلاوه ۳۰۰ میلی گرم ویتامین E بودند. در روزهای ۲۱ و ۲۸ از هر تکرار ۴ پرنده انتخاب گردید و ۰/۲ میلی لیتر گلبول قرمز گوسفندی ۲۵ درصد به عضله سینه تزریق شد. ۷ و ۱۴ روز بعد از تزریق، از سیاهرگ زیر بال جوجه ها خونگیری بعمل آمد و تیترا آنتی بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی از روش هموگلوبیناسیون میکروتیترا اندازه گیری شد. در روز ۴۲ آزمایش ۲ پرنده از هر تکرار به صورت تصادفی انتخاب، جهت بررسی وزن اندام های لنفوی و کبد کشتار گردیدند. آزمایشات نشان داد که کمترین تیترا آنتی بادی در روز ۲۸ مربوط به جوجه های تغذیه شده با تیمار ۳ درصد چویر بود. در روز ۳۵، جیره های مکمل شده با ویتامین E و ۱/۵ درصد چویر بیشترین تیترا آنتی بادی را در مقایسه با سایر تیمارها داشتند. جیره های آزمایشی تاثیری بر وزن اندام های لنفوی و کبد در روز ۴۲ آزمایش نداشتند ($P>0/05$).

واژه های کلیدی: چویر- سیستم ایمنی- جوجه گوشتی- محرک رشد و سلامت

مقدمه

یکی از مشکلات گریبانگیر در صنعت مرغداری، شیوع بیماری های مختلف و خسارت حاصله از آن می باشد. تقاضا برای پروتئین حیوانی و در نتیجه افزایش تراکم جوجه ها در سالن به همراه عدم آشنایی با اصول پرورشی و بهداشتی تاثیر بسزایی در شیوع بیماری های مختلف دارند. توانایی سیستم ایمنی در بروز و شیوع بیماری های مختلف، نقش اساسی را دارد. لذا اطمینان از عملکرد صحیح سیستم ایمنی پرنده موجب کنترل بیماری ها و کاهش تلفات و خسارات مربوطه می شود. به منظور پیشگیری از بیماری های طیور، بالا بردن مقاومت یا افزایش کارایی فعالیت سیستم ایمنی از طریق واکسیناسیون و یا مصرف خوراکی برای سرزندگی و تولید بیشتر ضروری است. استفاده از محرک های رشد و سلامت که بتواند باعث بهبود سیستم ایمنی شود امروزه به عنوان یک اولویت در امر پرورش طیور شناخته شده است. در چند سال اخیر استفاده از گیاهان دارویی به عنوان یک گروه جدید از محرک های رشد و سلامت، در چند سال اخیر، توجه زیادی را به خود معطوف کرده اند (۶). یکی از این گیاهان دارویی چویر می باشد، که از خانواده چتریان بوده و نسبتاً در مناطق ییلاقی فراوان است. به شدت به سرما و یخبندان مقاوم است. این گیاه از گیاهان علوفه ای و دارویی و صنعتی در بسیاری از مراتع ییلاقی بویژه زاگرس است و مناطق کوهستانی با دامنه ارتفاعی ۱۲۵۰ تا ۳۳۰۰ متر عرصه رویش این گیاه است (۱). گیاه چویر دارای روغن های ضروری از جمله آلفا پینن و بتا پینن و پی سیمن و فلاندرین ها است (۵). متأسفانه مطالعات معدودی در مورد خاصیت دارویی این گیاه بویژه در صنعت دام و طیور انجام گرفته است. لذا هدف از این تحقیق بررسی تاثیر سطوح مختلف گیاه چویر به عنوان یک بهبود دهنده سیستم ایمنی در جوجه های گوشتی می باشد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه از سویه تجاری راس ۳۰۸ بر اساس طرح کاملاً تصادفی به چهار تیمار تقسیم شدند، به طوری که هر تیمار شامل ۵ تکرار و هر تکرار مشتمل بر ۱۵ قطعه جوجه بود. جوجه‌ها در شرایط بستر به مدت ۴۲ روز پرورش یافتند. جوجه‌های گروه شاهد با جیره غذایی پایه (فاقد هرگونه محرک رشد، آنتی‌بیوتیک، داروی ضدکوکسیدیوز) تغذیه شدند. تیمارهای دو و سه به ترتیب شامل ۱/۵ و ۳ درصد پودرچویر و تیمار چهارم نیز شامل جیره شاهد به علاوه ۳۰۰ میلی‌گرم ویتامین E بود. جیره‌های آزمایشی با انرژی و پروتئین یکسان و مطابق توصیه انجمن ملی تحقیقات (NRC، ۱۹۹۴) تنظیم شدند. در روزهای ۲۱ و ۲۸ آزمایش از هر تکرار چهار پرنده انتخاب گردید و ۰/۲ میلی لیتر گلوبول قرمز گوسفندی ۲۵ درصد در عضله سینه تزریق شد. ۷ و ۱۴ روز بعد از تزریق، از جوجه‌ها خونگیری به عمل آمد و نمونه‌های سرم برای تعیین تیتراژ آنتی بادی علیه گلوبول قرمز گوسفندی با استفاده از روش هموگلوآگوتیناسیون میکروتیتراژ بررسی شدند. در روز ۴۲ آزمایش از هر تکرار دو پرنده با وزنی نزدیک به میانگین تکرار انتخاب و جهت بررسی وزن اندامهای لنفی و کبد کشتار گردیدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و رویه GLM انجام گردید. از آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی در سطح معنی دار ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به اثرات سطوح مختلف گیاه چویر و ویتامین E بر روی سیستم ایمنی در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که هیچگونه اختلاف معنی داری در وزن نسبی بورس فابرسیوس، کبد و طحال در ۴۲ روزگی وجود ندارد. اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان تیتراژ آنتی بادی علیه گلوبول قرمز گوسفندی در روزهای ۲۸ و ۳۵ معنی دار بوده است ($P < 0/05$). نتایج آزمایشات نشان داد که تغذیه جوجه‌ها با تیمار ۳ درصد چویر باعث کاهش تیتراژ آنتی بادی در روزهای ۲۸ و ۳۵ شد در صورتیکه در روز ۳۵ تغذیه جوجه‌ها با تیمار ۱/۵ درصد چویر باعث افزایش تیتراژ آنتی بادی نسبت به گروه شاهد و تیمار ۳ درصد چویر گردید. ولی اختلاف معنی داری بین تیمار ویتامین E و جوجه‌های تغذیه شده با تیمار ۱/۵ درصد چویر وجود نداشت. اگر چه تاکنون گزارشی در مورد استفاده از گیاه چویر در جوجه‌های گوشتی ارائه نشده است اما گزارش شده است که استفاده از سطوح مختلف سیر در جیره جوجه‌های گوشتی تاثیر معنی داری در وزن بورس فابرسیوس و طحال ندارد (۲). در صورتیکه افزایش وزن طحال جوجه‌های گوشتی در تیمارهایی که یونجه دریافت کردند را نسبت به گروه شاهد گزارش کردند (۴). گزارش شده است که گیاهان دارویی مانند زرد چوبه، گوجه سبز و ... سبب افزایش معنی دار تیتراژ آنتی بادی نسبت به گروه شاهد و در نتیجه افزایش فعالیت سیستم ایمنی می‌گردد (۷). گزارشی وجود دارد که نشان می‌دهد با افزودن ویتامین E به جیره تیتراژ آنتی بادی علیه گلوبول قرمز گوسفندی و تعداد گلوبول سفید افزایش یافته و باعث تقویت سیستم ایمنی می‌شود (۳).

نتیجه گیری کلی

در راستای افزایش تولید، ایجاد مقاومت در برابر بیماریها از طریق بهبود در کارایی سیستم دفاعی بدن، اهمیت زیادی دارد. این مطالعه نشان داد که چویر به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی، موجب افزایش در کارایی سیستم ایمنی طیور از طریق افزایش میزان تیتراژ آنتی‌بادی می‌شود.

جدول ۱. اثرات سطوح مختلف گیاه چویر و ویتامین E بر تیترا آنتی بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی در سنین ۲۸ و ۳۵ روزگی و وزن نسبی کبد، طحال و بورس فابرسیوس جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی.^۱

تیمار	تیترا آنتی بادی (۲۸ روزگی)	تیترا آنتی بادی (۳۵ روزگی)	وزن نسبی کبد	وزن نسبی طحال	وزن نسبی بورس فابرسیوس
شاهد	۳/۴۵±۰/۳۰۳ ^a	۳/۵۵±۰/۲۲۳ ^b	۰/۲۶±۰/۱	۰/۱۲±۰/۰۰۶	۰/۲±۰/۰۱۹
۱/۵٪ چویر	۳/۵۰±۰/۳۵۱ ^a	۴/۲۰±۰/۲۶۷ ^a	۰/۳۰±۰/۱	۰/۱۳±۰/۰۰۷	۰/۲±۰/۰۱۴
۳٪ چویر	۲/۵۵±۰/۳۸۰ ^b	۳/۴۵±۰/۲۱۱ ^b	۰/۲۹±۰/۲	۰/۱۲±۰/۰۱	۰/۲±۰/۰۲۴
ویتامین E	۳/۵۵±۰/۲۹۴ ^a	۴/۶۰±۰/۲۵۵ ^a	۰/۲۴±۰/۲	۰/۱۱±۰/۰۰۶	۰/۲±۰/۰۲۷

^۱ وزن نسبی = عبارتست از درصدی از گرم وزن اندام‌های لفاوی و کبد به ۱۰۰ گرم از وزن بدن.

^{a-b} اعداد دارای حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف در سطح معنی دار ۰/۰۵ می باشند.

فهرست منابع

۱. جوری م. مهدوی م. ۱۳۸۹. شناسایی کاربردی گیاهان مرتعی. نشر آبیژن. ۴۵۶ ص.
۲. هاشمی عطار م. آرشامی ج. اسماعیل زاده ح و مجیدزاده هروی ر. ۱۳۸۸. تاثیر سطوح مختلف سیر بر عملکرد و پاسخ ایمنی همورال در جوجه‌های گوشتی. نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران. جلد دوم شماره ۱، ص: ۵۱-۴۳.
3. Biswas, A., J. Mohan., K.V.H. Sastry and J.S. Tyag. 2008. Effect of higher levels of dietary vitamin E on performance and immune response in growing Japanes quail. Journal of Applied Animal Research. 33: 61-64.
4. Dong, X.F., W.W. Gao., J.M. Tong., H.Q. Jia., R.N. Sa and Q. Zhang. 2007. Effect of polysavone (alfalfa extract) on abdominal fat deposition and immunity in broiler chickens. Poultry Science. 86: 1955-1959.
5. Ghasempour, H., E. Shirinpour and H. Heidari. 2007. The constituent of essential oils of *Ferulago angulata* (schelecht). Iranian. Journal. Science. Technology. Trans A. 31: 309-312.
6. Hashemi, R and H. Davoodi. 2011. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. Veterinary. Research. Community. 35: 169-180.
7. Jung, B.G., J.H. Ko and B.J. Lee. 2010. Dietary supplementation with a probiotic fermented four-herb combination enhances immune activity in broiler chicks and increases survivability against *Salmonella Gallinarum* in experimentally infected broiler chicks. Journal of Veterinary Medical Science. 72: 1565-1573.

The Effect of different levels of Chavir (*Ferulago angulata*) plant and vitamine E on immune response of broiler chickens.

N. Nayebyzade, Y. Jafari Ahangari, F. Samadi and S.R. Hashemi.

Msc student, Academic assosiet and PhD phisiology of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources .

*Corresponding E-mail address: N.Nayebzade, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Neda.Nyebzade@gmail.com

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effect of Chavir plant (*Ferulago angulata*) on immune system response to sheep red blood cells and lymphoid organs weight in broiler chickens. 300 one-day old chicks (Ross 308) were randomly allocated to four treatments with five replicates based on a completely randomized design for 42 days. Dietary treatments were as follows: 1) control diet, 2) control diet supplemented with 1.5 percent Chavir powder, 3) control diet supplemented with 3 percent Chavir powder and 4) control diet supplemented with 300 mg vitamin E per kg diet. On d 21 and 28 four birds/replicate were inoculated with sheep red blood cells with 0.2 mL of 0.25% SRBC suspension. At 7 and 14 d after inoculation, blood samples were obtained from the brachial vein, and total SRBC antibody titers were measured by the microtiter hemagglutination (HA) procedure. On d 42, two birds of each replicate were randomly slaughtered to weigh the immune organs and liver. The lowest antibody titer on d 28 was related to the birds were fed 3% Chavir. On d 35, fed diets supplemented with vitamin E or 1.5% Chavir had significantly higher antibody titers as compared to other compartments. The relative organs weight was not influenced by the treatments.

Keywords: Chavir - immune system- broilers - growth and health promoter

تاثیر روش تزریق eCG بر رشد فولیکول و نرخ بره زایی در میش های افشاری

رضاجعفری^۱، محمدحسین شهیر^۲، بهنام رستمی^۲، داود علیاری^۳، رحمان حاجی زاده^۱، سمیه مقدم^۱

۴ - دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

۳،۲- بترتیب استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان و کارشناس ارشد مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان

آدرس ایمیل: رضاجعفری rezajafari.2012@gmail.com

چکیده

جهت مقایسه تاثیر روش های مختلف تزریق eCG، بر عملکرد تولیدمثلی گوسفند نژاد افشاری در فصل تولیدمثل، تعداد ۳۶ راس میش نژاد افشاری در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۳ گروه ۱۲ راسی تقسیم شدند. جهت ایجاد همزمانی تمامی میش ها به مدت ۱۴ روز سیدرگذاری شدند. در هنگام برداشت سیدر، به منظور تحریک رشد فولیکولی و تخمک گذاری، میش های گروه ۱، ۴۰۰ واحد بین المللی eCG به روش داخل ماهیچه ای و میش های گروه ۲ همین مقدار eCG به روش زیر جلدی دریافت کردند. در گروه کنترل هیچ تزریقی صورت نگرفت. جهت فصل یابی، قوچ های فصل یاب (۱ قوچ به ازای ۱۰ میش)، ۱۶ ساعت پس از تزریق eCG وارد گله شدند و پس از آن قوچ اندازی (۱ قوچ به ازای ۲ میش) صورت گرفت. نتایج مطالعه نشان داد که در میش های دریافت کننده eCG به روش زیرجلدی، تعداد فولیکول های بزرگ بیشتری نسبت به روش داخل ماهیچه ای و نیز گروه کنترل مشاهده شد ($P < 0.05$). همچنین نرخ بره زایی در تیمارهای گروه ۱، ۲ و گروه ۳ به ترتیب 1.1 ± 1.57 ، 1.1 ± 1.78 و 1.1 ± 1.25 بود ($P < 0.05$). بطور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق eCG به صورت زیرجلدی، در مقایسه با گروه داخل ماهیچه ای و گروه کنترل عملکرد تولیدمثلی بهتری داشتند. بنابراین نتیجه گیری می شود که تزریق eCG به صورت زیرجلدی در مقایسه روش داخل ماهیچه ای منجر به عملکرد تولیدمثلی بالاتر در میش های افشاری می شود.

واژه های کلیدی: گوسفند افشاری - تزریق زیرجلدی - تزریق عضلانی - رشد فولیکول - نرخ بره زایی - eCG

مقدمه

عمده ترین صفت اقتصادی در پرورش گوسفند، صفت تولیدمثلی است که می تواند توسط برخی روش ها کنترل شود (۱). همزمان سازی فصلی روشی ارزشمند است که موجب افزایش کارایی تولید مثلی و بهره وری اقتصادی پرورش گوسفند می شود (۳). در نژادهای گوسفندان دنبه دار ایرانی به صورت معمول تزریق گونادوتروپین هایی از قبیل eCG بصورت عضلانی پس از درمان های پروژسترونی، موجب افزایش درصد فصلی، نرخ آبستنی و درصد دوقلو زایی می شود (۴). اما یک ملاحظه اخیر نشان داده است که تزریق eCG به روش زیرجلدی در ۲۴ ساعت پیش از سیدربرداری منجر به نرخ آبستنی و نرخ بره زایی بالاتر در مقایسه با داخل ماهیچه ای این هورمون می شود (۲). لذا هدف تحقیق حاضر مقایسه روشهای داخل ماهیچه ای و زیر جلدی هورمون eCG در نژاد گوسفند افشاری بود.

مواد و روش ها

برای انجام این تحقیق ۳۶ راس میش نژاد افشاری در اوایل آبان ماه سال ۱۳۹۰ مورد استفاده قرار گرفت. در این طرح میش ها به طور تصادفی به ۳ گروه ۱۲ راسی تقسیم شدند. برای همزمان سازی فصلی از CIDR (وسیله داخل مهبل، حاوی ۳ گرم پروژسترون) به مدت ۱۴ روز استفاده شد. در هنگام خارج کردن سیدر به گروه اول و دوم به ترتیب ۴ واحد بین المللی eCG

(Folligon®; Intervat; Holland)، به ترتیب به داخل ماهیچه ای و زیرجلدی تزریق شد و به گروه شاهد تزریقی صورت نگرفت. در فاصله ۱۲ ساعت پس از تزریق eCG، از هر گروه ۸ میش به طور تصادفی برای انجام سونوگرافی انتخاب شدند. تعداد فولیکول ها و اندازه آن ها با استفاده از دستگاه سونوگرافی (Easi Scan; UK) با پراب ۸ مگاهرتز در زمان سیدربرداری ثبت شد. از لحاظ اندازه، فولیکولها به سه دسته کوچک (کوچکتر از ۳ میلی متر)، متوسط (۳ تا ۴/۵ میلی متر) و بزرگ (بزرگتر از ۴/۵) تقسیم بندی شدند. ۱۶ ساعت پس از سیدربرداری و تزریق eCG، ۳ قوچ فحل یاب به نسبت ۱ به ۱۰ وارد گله شد و پس از تعیین میش های فحل یاب، قوچ اندازی (۱ قوچ به ازای ۲ میش) صورت گرفت. نرخ بره زایی در زمان زایش محاسبه شد. داده های حاصل با رویه GLM نرم افزار SAS آنالیز شدند و مقایسه میانگین ها به روش دانکن صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از سونوگرافی جهت بررسی تعداد فولیکول ها، ۱۲ ساعت پس از سیدربرداری در جدول شماره ۲ گزارش شده است. مقایسه آنالیز آماری داده های بدست آمده از نتایج سونوگرافی در روز پس از سیدربرداری نشان داد که در میانگین تعداد فولیکول های کوچک بین تخمدان ها و نیز بین گروه ها تفاوت معنی داری وجود ندارد ($P>0/05$ ، جدول ۲) که از این نظر با نتایج مطالعه دیگر در همین زمینه یکسان است (۳). همچنین میانگین تعداد فولیکول های متوسط در میش های گروه ۱، گروه ۲ و گروه شاهد به ترتیب $1/49 \pm 0/40$ ، $0/25 \pm 0/40$ و $1/25 \pm 0/40$ بود که از نظر آماری اختلاف معنی دار مشاهده می شود ($P<0/05$ ، جدول ۲). میانگین تعداد فولیکول های بزرگ در تخمدان راست و در کل تخمدان در میش های گروه ۲ نسبت به میش های گروه ۱ و گروه شاهد بیشتر بود ($P<0/05$ ، جدول ۲). نتایج حاصل از بررسی تعداد بره های متولد شده در هر گروه در زمان زایش نشان داد که نرخ بره زایی در میش های گروه ۲ ($1/11 \pm 1/78$ درصد) در مقایسه با میش های گروه ۱ ($1/11 \pm 1/57$ درصد) و میش های گروه شاهد ($1/11 \pm 1/25$ درصد) بیشتر بود ($P<0/05$ ، جدول ۱). در کل نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از آن است که میانگین تعداد فولیکول های بزرگ در تخمدان راست و در کل تخمدان و همین طور نرخ بره زایی در تیمارهای گروه ۲ که eCG را به صورت زیر جلدی در یافت کردند در مقایسه با میش های گروه ۱ که eCG را به صورت عضلانی در یافت کردند و نیز گروه شاهد بیشتر است که از این نظر با نتایج مطالعه مشابه قبلی همخوانی دارد (۲). علت کارایی بهتر روش زیر جلدی در مقایسه با داخل ماهیچه ای، کاملاً مشخص نیست ولی به نظر می رسد تفاوت در میزان جذب و متابولیسم هورمون پس از تزریق، به عنوان عامل موثر در این زمینه مطرح باشد (۵).

جدول ۱: مقایسه نرخ بره زایی در میش های گروه ۱، ۲ و کنترل.

SEM	کنترل	۴۰۰ زیرجلدی	۴۰۰ عضلانی	
	۱۲	۱۲	۱۲	تعداد میش درمان شده
۱۱	۱۲۵*	۱۷۸*	۱۵۷*	نرخ بره زایی (درصد)

*: معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد



جدول ۲. تاثیر روش تزریق ۴۰۰ واحد بین المللی eCG بر روی میانگین تعداد فولیکول های میش های افشاری.

عضلانی	زیرجلدی	کنترل	SEM	
فولیکول کوچک				
تخمندان راست	۱/۵۰	۱/۶۲	۱/۷۵	۰/۴۲
تخمندان چپ	۰/۶۲	۱/۵۰	۱/۸۵	۰/۳۵
مجموع	۲/۱۲	۳/۱۲	۳/۶	۰/۵۳
فولیکول متوسط				
تخمندان راست	۰/۸۷	۰/۲۵	۰/۷۵	۰/۳۸
تخمندان چپ	۰/۶۲	۰	۰/۱۲	۰/۲۶
مجموع	۱/۴۹*	۰/۲۵*	۰/۸۷	۰/۴۰
فولیکول بزرگ				
تخمندان راست	۰/۳۵*	۱/۰۰*	۰/۵۰*	۰/۲
تخمندان چپ	۰/۷۵	۰/۶۲	۰/۳۷	۰/۲۸
مجموع	۱/۱۰*	۱/۶۲*	۰/۸۷*	۰/۲۵
*: معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد				

منابع

1. Atsan, T., E. Emsen., M. Yaprak., V. Dagdemir, & CAG. Diaz. 2007. An economic assessment of differently managed sheep flocks in eastern Turkey. Italian Journal Animal Science, 6: 407-414.
2. Koyuncu, M. & S. Ozis Alticekis. 2010. Effect of progestagen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in Kivircik ewes during natural breeding season. Asian-Aust. Journal of Animal science, 23: 308-311.
3. Maracek, I., M. Krajnicakova., I. Dictzova, & M. Kostecly. 2001. Oestrus induction and synchronization sheep during milking and increased occurrence of ewes lambing twins. Actafytotechnica et zootechnica, 4: 163-165.
4. Moeini, M. M., F. Alipoor, & A. A. Moghadam. 2009. The effect of human chorionic gonadotropin on the reproduction performance in Lory sheep synchronized with different doses of pregnant mare serum gonadotrophin outside the breeding season. Asian Journal Animal Veterinary Advanced, 4(1): 9-15.

5. Zeleke, M., J. P. C. Greyling., L. M. J. Schwalbach., T. Muller, & J. A. Erasmus. 2005. Effect of progestagen and PMSG on estrous synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. *Small Ruminant Research*, 56:47-53.

Study of the different injection methods of eCG on the follicular growth and lambing rate of Afshari ewes

Reza jafari, Mohammad Hossein Shahir, Behnam Rostami, Davood Aliari, Rahman Hajizadeh, Somayeh Moghadam

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

E-mail address: rezajafari.2012@gmail.com

Abstract:

To the different methods of eCG administration on reproductive performance of sheep was studied for this purpose 36 Afshari breed ewes in a completely randomized experiment were allocated randomly and equally in 3 experimental groups (n=12 animals/group), within the natural reproductive season. For synchronization of estrus, all ewes received CIDRs for 14 days. At the day of CIDR removal, in order to enhance of follicular growth and ovulation, ewes in group 1 and 2 received 400 IU of eCG intramuscularly (IM) and subcutaneously (SC), respectively. Ewes from group 3 (control group) did not receive any treatment. 16 hours following CIDR removal, estrus detection was performed using teaser rams (1 ram / 10 ewes) and then proven rams (1 ram / 2 ewes) were introduced to the ewes. The results of this study showed that the mean number of large follicles on the ovary, in ewes of group 1 (SC method) was significantly more than those in ewes of group 2 (IM method) and 3 (Control group, $P < 0.05$). Moreover, the lambing rate of ewes in group 2 (178 ± 0.11) was significantly greater than that in ewes of group 1 (157 ± 0.11) and control group (125 ± 0.11 , $P < 0.05$). In conclusion, the results of the present study demonstrated that the SC injection of eCG in comparison to IM injection of this hormone can improve the reproductive performance of Afshari breed ewes.

Keywords: Afshari ewes, eCG, Subcutaneous injection, Intramuscular injection, Follicular growth, Lambing rate

تاثیر عصاره آبی-الکلی آنغوزه بر عملکرد تولید مثلی موش‌های صحرایی ویستار نر

علیرضا ایوبی^۱، جواد آرشامی^۱، رضا ولی زاده^۱، زهرا موسوی^۲، امیر موسائی^{۳*}

۱. به ترتیب، دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشیار فیزیولوژی دام، استاد تغذیه دام و دانشجوی دکتری تغذیه

دام، گروه علوم دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲. استادیار پاتوبیولوژی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

*نویسنده مسئول: moosae.amir@gmail.com

چکیده: صمغ گیاه آنغوزه سابقه مصرف دارویی طولانی در طب سنتی دارد. به منظور بررسی اثرات عصاره آنغوزه بر عملکرد تولید مثلی موش‌های صحرایی نر، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی بر روی ۳۲ سر موش صحرایی با میانگین وزنی ۲۲۰-۲۵۰ گرم و به مدت ۱۴ روز انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد و گروه‌های دریافت‌کننده عصاره با دریافت ۵ درون صفاقی به ترتیب ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده حیوان بود. نتایج این پژوهش نشان داد که غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره سبب افزایش غلظت آنزیم‌های کبدی آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) شد. تعداد سلول‌های لایدیگ و ترشح تستوسترون با افزایش غلظت عصاره کاهش یافت. باتوجه به نتایج بدست آمده غلظت‌های بالا عصاره ایجاد اثرات سمی نموده و عملکرد تولید مثلی را کاهش می‌دهد. واژه‌های کلیدی: آنغوزه، موش صحرایی ویستار، عملکرد تولید مثلی.

۱ - مقدمه

گیاه آنغوزه (*Ferula Asafoetida*) متعلق به خانواده *Apiaceae* است و ارتفاع آن به دو متر می‌رسد. استفاده دارویی از صمغ ریشه آن به قرن‌ها قبل برمی‌گردد. صمغ آنغوزه دارای ترکیبات مختلفی می‌باشد. بخش رزینی آن شامل فرولیک اسید^{۹۳} و استرهای آن، کومارین‌ها^{۹۴}، سزکویی ترپن کومارین‌ها^{۹۵} و سایر ترپنوئیدها می‌باشد. صمغ آن حاوی گلوکز، گالاکتوز، رامنوز، پلی ساکاریدها و گلیکوپروتئین‌ها بوده و روغن‌های فرار آن از ترکیبات سولفور و ترپنوئیدها تشکیل شده است (۵). بو و مزه صمغ آنغوزه بخاطر ترکیبات حاوی سولفور آن است. دی‌سولفیدها به همراه تری و تتراسولفیدها از صمغ آنغوزه جدا گردیده‌اند. آمبلی‌فرون^{۹۶}، فرانسیفرول‌های^{۹۷} A، B و C، فرولیک اسید و مشتقات کومارینی فوئتیدین^{۹۸} و کامولونول^{۹۹} نیز در صمغ آنغوزه وجود دارد (۴).

آنغوزه دارای اثرات دارویی گوناگونیست: اثرات ضد دیابتی، ضد میکروبی و درمان سنگ صفرا و غیره در رابطه با مصرف عصاره آنغوزه گزارش شده است (۲). با توجه به اثرات شناخته شده رادیکال‌های آزاد بر کاهش عملکرد تولیدمثلی، استفاده از گیاهان دارویی بدلیل وجود خواص آنتی اکسیدانی بالا سبب بهبود وضعیت تولیدمثلی می‌شود. اما در برخی موارد وجود برخی ترکیبات خاص، سبب کاهش قوای جنسی در جنس نر و یا ماده می‌شود. در رابطه با اثرات احتمالی عصاره آنغوزه بر عملکرد تولید مثلی

۹۳. Ferulic acid

۹۴. Coumarins

۹۵. Sesquiterpene Coumarins

۹۶. Umbelliferone

۹۷. Franesiferol

۹۸. Foetidin

۹۹. Kamolonol

جنس نر مطالعات اندکی صورت گرفته است اثرات کاهش قوای جنسی مردانه در گونه *F. hermonis* گزارش شده که این اثرات را به ماده فروتین، که در این گونه به وفور یافت می‌شود، نسبت داده‌اند (۷). با توجه به عدم وجود تحقیقات علمی که اثر مستقیم عصاره آنغوزه بر وضعیت تولید مثلی جنس نر بررسی نماید و ناشناخته بودن نوع اثرات، هدف از مطالعه حاضر بررسی مصرف مقادیر مختلف عصاره آنغوزه بر عملکرد تولید مثلی موش‌های صحرایی نر ویستار می‌باشد.

۲- مواد و روشها

۲-۱- تهیه عصاره

برای تهیه عصاره، به ۱۰۰ گرم صمغ آسیاب شده آنغوزه، آب و الکل به نسبت ۱ به ۵ اضافه شد و پس از گذشت ۴۸ ساعت، محلول حاصل به دفعات صاف شد تا محلولی یکنواخت حاصل شود. سپس برای حذف حلال از دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

۲-۲- حیوانات و تیمارها

تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر (متوسط وزن ۲۲۰-۲۵۰ گرم) به صورت تصادفی به یکی از ۴ تیمار آزمایشی اختصاص داده شدند. بطوری که در هر تیمار ۸ حیوان وجود داشت. تیمارهای آزمایش شامل: تیمار شاهد بدون دریافت عصاره و تیمار دوم، سوم و چهارم به ترتیب میزان ۱۵۰، ۷۵ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن عصاره آنغوزه بصورت تزریق درون صفاقی (IP) هر ۲۴ ساعت یک بار و به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. پس از پایان دوره از تمام حیوانات خونگیری بعمل آمد و نمونه‌ها در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سرم خون برای آنالیزفراسنجه‌های خونی استفاده شد. آنالیز هورمون تستوسترون با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر و آنزیم‌های کبدی با دستگاه الایزا انجام شد. برای تهیه نمونه بافت بیضه، در ظرف‌هایی حاوی فیکساتور فرمالین قرار داده تا جهت تهیه بافت آماده شوند. پس از مراحل آماده سازی، نمونه‌های بافتی توسط میکروتوم مقطع‌گیری و قطر هر مقطع ۵ میکرون در نظر گرفته شد. سپس با رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین-ئوزین، اسلایدهای بافتی آماده شد. پارامترهای مورد نظر در مطالعه مقاطع بافتی، طول، عرض، ضخامت و قطر لوله‌های سمینیفروس و تعداد سلولهای لایدیگ و سرتولی بود (۳).

۲-۳- آنالیز آماری

تحلیل نتایج بدست آمده از این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با در نظر گرفتن وزن اولیه بعنوان متغیر کمکی با رویه GLM نرم افزار آماری SAS انجام شد. $P < 0.05$ بعنوان سطح معنی‌داری نتایج در نظر گرفته شد.

۳- نتایج و بحث

برای تعیین اثرات سمی احتمالی عصاره، غلظت آنزیم‌های کبدی ALT و AST اندازه‌گیری شد (جدول ۱). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، غلظت آنزیم‌های مذکور افزایش می‌یابد و سطح ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد داشت. افزایش غلظت این آنزیم‌ها احتمالاً بدلیل افزایش سنتز و یا آسیب بافتی کبد می‌باشد (۶).

جدول ۱- اثر عصاره آنگوزه بر آنزیم‌های آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) در موشهای صحرایی
نر

AST(U/ml)	ALT(U/ml)	گروههای آزمایشی ^۱
^b ۱۵۲/۱۷±۹/۴	^a ۵۱/۶±۳/۹	کنترل
^b ۱۴۳/۷۴±۱۰	^b ۳۹/۳±۴/۱۶	آنگوزه ۷۵
^c ۱۱۵/۱±۱۱/۱۴	^b ۳۱/۱۶±۴/۶۰	آنگوزه ۱۵۰
^a ۱۸۶/۱±۹/۷	^a ۶۰/۶±۴/۰۴	آنگوزه ۳۰۰

۱ - عصاره آنگوزه به مقادیر ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد.
در هر ستون، میانگین‌های با حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی دار به لحاظ آماری ($P < 0.05$) می باشند.

با افزایش غلظت عصاره تعداد سلولهای لایدیگ کاهش یافت (جدول ۲). بطوریکه غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم تفاوت معنی داری با شاهد داشتند ($P < 0.05$). با افزایش غلظت عصاره، میزان تستوسترون سرم کاهش یافت. این کاهش می تواند به دلیل کاهش سلولهای لایدیگ و تاثیر ترکیبات موجود در عصاره بر ترشح تستوسترون باشد. در پژوهش انجام شده توسط زانولی و همکاران (۷)، مصرف فروتنین حاصل از فرولا هرمونیس (f. hermonis) در موشهای صحرایی نر، سبب کاهش عملکرد تولید مثلی شد. اثرات فروتنین بر تولید مثل از طریق کاهش ترشح تستوسترون اعمال می شود. بنظر می رسد اثر فروتنین از طریق محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد باشد. ایرانشاهی و همکاران (۱) وجود فروتنین در عصاره آنگوزه را اثبات نمودند. با افزایش غلظت آنگوزه، شمار سلولهای سرتولی تغییر معنی داری نداشت. ضخامت سمینفروس با افزایش دُز عصاره کاهش یافت که می تواند بر عملکرد تولید مثلی و ترشح اسپرم تاثیر بگذارد. با این وجود، تنها دُز ۷۵ میلی گرم عصاره سبب کاهش معنی دار در طول و عرض لوله های سمینفروس شد. باتوجه به عدم وجود مطالعات در رابطه با تاثیر عصاره آنگوزه بر وضعیت تولید مثلی جنس نر، نمی توان بطور قطع و یقین به تاثیر کاهشی این عصاره بر عملکرد تولید مثلی جنس نر رای داد و انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه ضروری می باشد.

جدول ۲- تاثیر عصاره آنگوزه بر فراسنجه های تولید مثلی موشهای صحرایی ویستار

تیمارهای آزمایشی (غلظت عصاره بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم وزن زنده حیوان)				فراسنجه
آنگوزه ۳۰۰	آنگوزه ۱۵۰	آنگوزه ۷۵	کنترل	
$^{b}147/5 \pm 7/4$	$^{b}147/9 \pm 7/4$	$^{ab}157/9 \pm 6/4$	$^{a}170/8 \pm 7/4$	سلولهای لایدیگ (تعداد)
$^{b}29/4 \pm 0/7$	$^{b}27/6 \pm 0/7$	$^{a}32/1 \pm 0/7$	$^{ab}29/9 \pm 0/7$	سلولهای سرتولی (تعداد)
$^{a}738/4 \pm 166/8$	$712/3 \pm 16/8$	$677/7 \pm 16/8$	$704/9 \pm 16/8$	طول سمنیفرس (μ)
	ab	b	ab	
$^{a}578/6 \pm 15/1$	$^{a}616 \pm 15/1$	$^{b}521 \pm 15/1$	$608/4 \pm 15/1$	عرض سمنیفرس (μ)
			a	
$^{c}119/3 \pm 7/8$	$^{b}173/4 \pm 7/8$	$^{a}199/2 \pm 7/8$	$^{ab}187 \pm 7/8$	ضخامت
$^{b}0/8 \pm 0/7$	$^{b}1/1 \pm 0/8$	$^{b}2/8 \pm 0/7$	$^{a}67 \pm 0/7$	سمنیفرس (μ)
				تستوسترون (ng/l)

در هر ردیف، میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی دار به لحاظ آماری می‌باشند ($P < 0.05$).

منابع

- ۱- ایرانشاهی، م.، فامیلی، ا.، باسارلو، ک.، پیاسته، س. و پیزا، ک. ۱۳۸۸. خالص سازی و تعیین ساختمان ترکیبات موجود در ریشه کما (*Ferula ovina* Boiss). فصلنامه گیاهان دارویی، سال ۹، دوره ۴، شماره ۳۶. ص ۷۲-۸۰.
- ۲- زارع کاریزی، ا. ر.، امیدی، م.، فلاح حسینی، ح.، یزدانی، د.، رضازاده، ش.، ایروانی، ن. و اولادزاد، آ. ۱۳۹۰. مروری بر اثرات فارماکولوژی گیاه دارویی آنگوزه (*Ferula assa- foetida* L.): یک مطالعه مروری نظام مند. فصلنامه گیاهان دارویی، سال ۱۰، دوره ۴. ص ۱۷-۲۵.
- ۳- میر فردی، م.، جوهری، ح.، مختاری، م.، حمایت خواه، و.، جمالی، ه. و اله وردی، ق. ۱۳۹۰. بررسی اثر عصاره هیدروالکلی سیر بر وزن بیضه و اسپرماتوژنز در مو شهای صحرایی نر بالغ تحت شیمی درمانی داروی سیکلو فسفامید. مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا، سال ۱، شماره ۳. ص ۶۷-۷۴.

- 4- Eigner, D. and, D. Scholz, 1999. *Ferula asa-foetida* and *Curcuma longa* in traditional medical treatment and diet in Nepal. *Journal of Ethnopharmacology*, 67, 1-6.
- 5- Iranshahy, M. and, M. Iranshahi, 2012. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of asafetida (*Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin). *Journal of Ethnopharmacology* 134:1-10.
- 6- Yakubu, M.T., M. Akanji, and I.O. Salau. 2001. Protective effect of ascorbic acid on some selected tissues of ranitidine-treated rats. *Nig. J. Biochem. Mol. Biol.* 16(2):177-182.

- 7- Zanolli, P., M. Rivasi, M. Zavatti, F. Brusiani, F. Vezzalini, and M. Barald. 2005. Activity of single components of *Ferula hermonis* on male rat sexual behavior. *International Journal of Impotence Research* 17, 513-518.

Abstract

Effects of Asafoetida extract on reproductive performance of male wistar rats.

¹Ayoubi, A., ¹Arshami, J., ¹Valizadeh, R., ²Mousavi, Z., and ^{1*}Mousaie, A.

1. MSc Student of Animal Physiology, Associated Professor of Animal Physiology, Professor of Animal Nutrition and PhD Student of Animal Nutrition, Department of Animal sciences, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

*Corresponding Author: moosaee.amir@gmail.com

2. Assistant Professor of Pathology, Faculty of Veterinary, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

In order to investigate the Effect of IP injection of aqueous extract of *ferula asafoetida* on reproductive performance of male wistar rats, 32 rats were randomly divided into four (4) groups of eight rats each. Animals were injected by normal saline (control) and 75, 150 and 300 mg/kg body weight of asafoetida extract for 14 days. Our results showed that, 300mg/kg asafoetida extract increased serum AST and ALT concentration. Serum testosterone was reduced by increasing dose of extract to 300mg/kg. Based on these findings, the administration of asafoetida extract caused adverse effects in male reproductive system.

Key words: Asafoetida, reproductive performance, wistar rats.

اثرات وابسته به دُز عصاره آنغوزه بر گلوکز و لیپیدهای خون موش‌های صحرایی نر ویستار

علیرضا ایوبی^۱، جواد آرشامی^۱، رضا ولی زاده^۱، زهرا موسوی^۲، امیر موسائی^{۳*}

۳. به ترتیب، دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشیار فیزیولوژی دام، استاد تغذیه دام و دانشجوی دکتری تغذیه

دام، گروه علوم دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴. استادیار پاتوبیولوژی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

*نویسنده مسئول: moosae.amir@gmail.com

چکیده

آنغوزه بواسطه داشتن ترکیبات زیستی متعدد بویژه سزکویی ترپن کومارین‌ها^{۱۰۰} دارای اثرات درمانی قابل توجهی می‌باشد. وجود ترکیبات مختلف بویژه ترکیبات گوگردی سبب ایجاد خواص آنتی‌اکسیدانی مفیدی در آنغوزه شده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات کاهش‌دهندگی کلسترول عصاره آنغوزه می‌باشد. در این پژوهش تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر ویستار^{۱۰۱} در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم و تیمارهای آزمایشی به مدت ۱۴ روز به آنها اختصاص یافت. گروه‌های آزمایشی شامل گروه شاهد با عدم دریافت عصاره، و گروه‌های بعدی به ترتیب دریافت ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن (mg/kg) عصاره آنغوزه بصورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. نتایج آزمایش نشان داد که سطح ۳۰۰ mg/kg عصاره سبب افزایش میزان گلوکز، کلسترول و فعالیت آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) نسبت به گروه شاهد شد. سطوح ۷۵ و ۱۵۰ آنغوزه سبب کاهش فاکتورهای مذکور گردید. براساس نتایج بدست آمده در این پژوهش، سطح ۷۵ mg/kg عصاره آنغوزه سبب بهبود وضعیت قند و کلسترول خون شد درحالی‌که ۳۰۰ mg/kg عصاره اثرات سمی از خود نشان داد.

واژه‌های کلیدی: آنغوزه، موش صحرایی ویستار، لیپوپروتئین، متابولیسم.

مقدمه

گیاه آنغوزه با اسم علمی *Ferula Asafoetida* متعلق به خانواده *Apiaceae* بوده و ارتفاع آن به دو متر می‌رسد. ترکیبات اصلی واجد خواص دارویی گیاه آنغوزه شامل رزین (۴۰-۶۰٪)، صمغ (۲۵٪) و روغن‌های ضروری (۱۰-۱۷٪) می‌باشد (۶). بخش رزینی آن شامل فرولیک اسید^{۱۰۲} و استرهای آن، کومارین‌ها، سزکویی ترپن کومارین‌ها و سایر ترپنوئیدها می‌باشد. صمغ آن حاوی گلوکز، گالاکتوز، رامنوز، پلی ساکاریدها و گلیکوپروتئین‌ها بوده و روغن‌های فرار آن از ترکیبات سولفوره و ترپنوئیدها تشکیل شده است (۴). گیاهان دارویی بخاطر ساخت برخی ترکیبات بعنوان متابولیت ثانویه از جمله پلی فنولها، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشند (۳). عصاره آنغوزه بواسطه متابولیت‌های ثانویه یاد شده قادر به کاهش رادیکال‌های آزاد می‌باشد. باتوجه به مطالعات اندک در رابطه با اثرات عصاره آنغوزه بر متابولیسم گلوکز و لیپوپروتئین‌های خون، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات احتمالی این عصاره بر متابولیت‌های خون رت‌های نر ویستار است.

۲- مواد و روش‌ها

100. Sesquiterpene Coumarins

101. Wistar

102. Ferulic Acid

۱-۲- تهیه عصاره

برای تهیه عصاره، به ۱۰۰ گرم صمغ آسیاب شده آنگوزه، آب و الکل به نسبت ۱ به ۵ اضافه شد و پس از گذشت ۴۸ ساعت، محلول حاصل به دفعات صاف گردید تا محلولی یکنواخت حاصل شود. سپس برای حذف حلال از دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد و باقیمانده عصاره تغلیظ شده، در ظرف استریل خشک و تا هنگام استفاده در یخچال نگهداری شد. عصاره در محلول نرمال سالین حل و به میزان لازم مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۲- حیوانات و تیمارها

تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر (متوسط وزن ۲۲۰-۲۵۰ گرم) به صورت تصادفی به یکی از ۴ تیمار آزمایشی اختصاص یافت بطوری که در هر تیمار ۸ حیوان وجود داشت. تیمارهای آزمایش شامل: گروه شاهد بدون دریافت عصاره و تیمار دوم، سوم و چهارم به ترتیب میزان ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن عصاره آنگوزه بصورت تزریق درون صفاقی (IP) هر ۲۴ ساعت یک بار و به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. موش‌های صحرایی در طول دوره سازگاری ۷ روزه و همچنین در دوره آزمایش از خوراک‌های تجاری شرکت جوانه خراسان مصرف نموده و آب بصورت آزاد در دسترس‌شان قرار داشت. پس از پایان دوره از تمام حیوانات خون‌گیری از قلب بعمل آمد و نمونه‌ها در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سرم خون برای آنالیز فراسنجه‌های خونی استفاده شد. اندازه‌گیری گلوکز، لیپوپروتئین‌ها و آنزیم‌های کبدی با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر و انسولین با دستگاه الیزا انجام شد.

۳-۲- آنالیز آماری

تحلیل نتایج بدست آمده از این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با در نظر گرفتن وزن اولیه بعنوان متغیر کمکی با رویه GLM نرم افزار آماری SAS انجام شد. مقایسات میانگین با استفاده از آزمون مقایسات چند دامن‌ای دانکن انجام شد و $P < 0.05$ بعنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

۳- نتایج و بحث

نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش سطح عصاره، افزایش وزن روزانه به شکل معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت ($P < 0.05$). باتوجه به کاهش مصرف خوراک با افزایش سطح عصاره، کاهش وزن می‌تواند ناشی از کاهش مصرف خوراک باشد. متأسفانه اطلاعات کافی در زمینه اثرات آنگوزه بر متابولیسم چربی‌ها وجود ندارد. با اینحال برخی مطالعات نشان دادند که غلظت‌های بالای عصاره می‌تواند سبب بروز اثرات سمی شود (۸). برای تشخیص اثرات سمی احتمالی عصاره، غلظت آنزیم‌های کبدی ALT و AST اندازه‌گیری شد. نتایج (جدول ۱) نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، غلظت آنزیم‌های مذکور افزایش می‌یابد و سطح ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره تفاوت معنی‌داری به لحاظ غلظت آنزیم‌های یادشده، با گروه شاهد داشت ($P < 0.05$). افزایش غلظت این آنزیم‌ها احتمالاً بدلیل افزایش ساخت و یا آسیب بافتی کبد می‌باشد (۷). احتمالاً کاهش مصرف خوراک و افزایش وزن کمتر در موش‌های صحرایی مصرف‌کننده عصاره نیز ناشی از اثرات مذکور می‌باشد. با افزایش سطح عصاره، غلظت گلوکز خون افزایش یافت بطوری‌که سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن زنده، تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد داشت ($P < 0.05$). غلظت انسولین خون نیز با افزایش سطح عصاره افزایش یافت، اگرچه اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های دریافت‌کننده عصاره با شاهد وجود نداشت، اما تفاوت بین گروه دریافت‌کننده ۳۰۰ با گروه ۷۵ میلی‌گرم عصاره، بلحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$). عصاره آنگوزه بواسطه داشتن فرولیک اسید، از طریق کاهش رادیکال‌های آزاد و رفع استرس اکسیداتیو سبب بهبود ترشح انسولین از سلول‌های

بتای پانکراس می شود. بنظر می رسد که مقادیر پایین آنغوزه قادر به ایجاد اثرات کاهشی بر گلوکز خون می باشد و در مقادیر بالاتر بعلت وجود ترکیبات دیگر که با اثرات یاد شده تداخل دارند، این اثرات وجود ندارد (۲۱).
غلظت ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم عصاره آنغوزه باعث افزایش میزان کلسترول در مقایسه با گروه شاهد شد. میزان تری گلیسرید سرم موش های صحرایی تیمار شده با ۷۵ میلی گرم عصاره در مقایسه با شاهد بطور معنی داری پایین تر بود ($P < 0.05$). اثرات کاهش دهنده چربی خون عصاره آنغوزه احتمالا بدلیل ترکیبات مختلف فلاونوئیدی و ترپنوئیدی موجود در عصاره است که با تاثیر بر اکسیداسیون چربی ها و دفع کلسترول از صفرا، سبب کاهش کلسترول و چربی خون می شود (۵).

جدول ۱- اثر عصاره آنغوزه بر فراسنجه های خونی موش های صحرایی نر ویستار

فراسنجه ^۱	تیمارهای آزمایشی (غلظت عصاره بر حسب میلی گرم در کیلوگرم وزن زنده حیوان)			
	شاهد	۷۵	۱۵۰	۳۰۰
افزایش وزن	1.68 ± 0.18 ^a	1.22 ± 0.20 ^{ab}	1.40 ± 0.18 ^b	0.89 ± 0.18 ^b
گلوکز	117.7 ± 13.9 ^b	121.45 ± 14.8 ^b	128.44 ± 16.4 ^b	177.24 ± 14.40 ^a
انسولین	0.32 ± 0.04 ^{ab}	0.24 ± 0.04 ^b	0.36 ± 0.04 ^a	0.38 ± 0.04 ^a
کلسترول	53.84 ± 2.69 ^b	57.83 ± 2.87 ^{ab}	57.34 ± 3.18 ^{ab}	62.39 ± 2.79 ^a
TG ^۲	75.16 ± 5.8 ^a	53.36 ± 6.17 ^b	56.47 ± 6.80 ^{ab}	72.5 ± 6.00 ^a
AST ^۲	152.17 ± 9.4 ^b	143.74 ± 1.0 ^b	115.1 ± 11.14 ^c	186.1 ± 9.70 ^a
ALT ^۲	51.6 ± 3.9 ^a	39.3 ± 4.16 ^b	31.16 ± 4.60 ^b	60.6 ± 4.04 ^a

۱-افزایش وزن روزانه به گرم، انسولین نانوگرم در میلی لیتر، آنزیم های AST و ALT واحد در لیتر و برای سایر

میلی گرم در دسی لیتر می باشد

۲- TG ، AST و ALT به ترتیب تری گلیسرید، آسپاراتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز می باشد.

میانگین های هر ردیف با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی دار به لحاظ آماری می باشند ($P < 0.05$).

نتیجه گیری

بر اساس نتایج بدست آمده از این پژوهش، عصاره آنغوزه در غلظت های ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده حیوان، سبب بهبود وضعیت سوخت و ساز قند و چربی ها در موش های صحرایی نر ویستار می شود. در حالیکه غلظت ۳۰۰ میلی گرم به ایجاد اثرات سمی و افزایش چربی خون منجر می شود.

منابع

- 1- Abu-Zaiton, A.S., 2010. Anti-diabetic activity of *Ferula assafoetida* extract in normal and alloxan-induced diabetic rats. Pak. J. Biol. Sci., 13: 97-100.



- 2- Akhlaghi, Z., M. Rajaei, M. Hadjzadeh, M. Iranshahi, and, M. Alizadeh, 2012. antihyperglycemic Effect of Asafoetida (*Ferula assafoetida* Oleo-Gum-Resin) in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *World Applied Sciences Journal* 17 (2): 157-162.
- 3- Dorman, H. J. D., O. Bachmayer, M. Kosar, and R. Hiltunen. 2004. Antioxidant properties of aqueous extracts from selected Lamiaceae species grown in Turkey. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52(4), 762-770.
- 4- Iranshahi, M., and M. Iranshahi. 2012. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of asafoetida (*Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin). *Journal of Ethnopharmacology* 134:1-10.
- 5- Srinivasan, K. 2005. Spices as influencers of body metabolism: an overview of three decades of research. *Food Research International*, vol. 38: 77-86.
- 6- Takeoka, G., 2001. Volatile constituents of Asafoetida. In: Takeoka, G.R., Guntert, M., Engel, K.-H. (Eds.), *Aroma Active Compounds in Foods*. American Chemical society, Washington, DC, pp. 33-44.
- 7- Yakubu, M.T., M. Akanji, and I.O. Salau. 2001. Protective effect of ascorbic acid on some selected tissues of ranitidine-treated rats. *Nig. J. Biochem. Mol. Biol.* 16(2):177-182.
- 8- Zanolli, P., M. Rivasi, M. Zavatti, F. Brusiani, F. Vezzalini, and M. Baraldi, M. 2005. Activity of single components of *Ferula hermonis* on male rat sexual behavior. *International Journal of Impotence Research* 17, 513-518.

Dose-dependent effects of Asafoetida extract on blood glucose and lipids in male Wistar rats

¹Ayoubi, A., ¹Arshami, J., ¹Valizadeh, R., ²Mousavi, Z., and ^{1*}Mousaie, A.

3. MSc Student of Animal Physiology, Associated Professor of Animal Physiology, Professor of Animal Nutrition and PhD Student of Animal Nutrition, Department of Animal sciences, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

4. Assistant Professor of Pathology, Faculty of Veterinary, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Abstract

Ferula Asafoetida has been reported to have a broad range of therapeutic effects. Effect of IP injection of the aqueous extract on glucose and Lipoprotein metabolism was studied in male wistar rats. Thirty two rats were randomly divided into 4 groups of 8 rats each. Animals were injected with normal saline (control), and 75, 150 and 300 mg/kg body weight of Asafoetida extract respectively. Our results indicated that, 300mg/kg asafoetida extract showed adverse effects on blood cholesterol, glucose, AST and ALT concentration, while 75 mg/kg had positive effects on mentioned parameters. Based on these results, therapeutic effects of Asafoetida extract are dose-dependent and due to probable toxicity, its consumption must be done cautiously.

Keywords: Asafoetida, Lipoprotein, metabolism, Wistar rat.

اثرات وابسته به دُز عصاره آنغوزه بر گلوکز و لیپیدهای خون موش‌های صحرایی نر ویستار

علیرضا ایوبی^۱، جواد آرشامی^۱، رضا ولی زاده^۱، زهرا موسوی^۲، امیر موسائی^{۳*}

۵. به ترتیب، دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشیار فیزیولوژی دام، استاد تغذیه دام و دانشجوی دکتری تغذیه

دام، گروه علوم دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۶. استادیار پاتوبیولوژی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

*نویسنده مسئول: moosae.amir@gmail.com

چکیده

آنغوزه بواسطه داشتن ترکیبات زیستی متعدد بویژه سزکویی ترپن کومارین‌ها^{۱۳} دارای اثرات درمانی قابل توجهی می‌باشد. وجود ترکیبات مختلف بویژه ترکیبات گوگردی سبب ایجاد خواص آنتی‌اکسیدانی مفیدی در آنغوزه شده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات کاهش‌دهندگی کلسترول عصاره آنغوزه می‌باشد. در این پژوهش تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر ویستار^{۱۴} در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم و تیمارهای آزمایشی به مدت ۱۴ روز به آنها اختصاص یافت. گروه‌های آزمایشی شامل گروه شاهد با عدم دریافت عصاره، و گروه‌های بعدی به ترتیب دریافت ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن (mg/kg) عصاره آنغوزه بصورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. نتایج آزمایش نشان داد که سطح ۳۰۰ mg/kg عصاره سبب افزایش میزان گلوکز، کلسترول و فعالیت آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) نسبت به گروه شاهد شد. سطوح ۷۵ و ۱۵۰ آنغوزه سبب کاهش فاکتورهای مذکور گردید. براساس نتایج بدست آمده در این پژوهش، سطح ۷۵ mg/kg عصاره آنغوزه سبب بهبود وضعیت قند و کلسترول خون شد درحالی‌که ۳۰۰ mg/kg عصاره اثرات سمی از خود نشان داد.

واژه‌های کلیدی: آنغوزه، موش صحرایی ویستار، لیپوپروتئین، متابولیسم.

مقدمه

گیاه آنغوزه با اسم علمی *Ferula Asafoetida* متعلق به خانواده *Apiaceae* بوده و ارتفاع آن به دو متر می‌رسد. ترکیبات اصلی واجد خواص دارویی گیاه آنغوزه شامل رزین (۴۰-۶۰٪)، صمغ (۲۵٪) و روغن‌های ضروری (۱۰-۱۷٪) می‌باشد (۶). بخش رزینی آن شامل فرولیک اسید^{۱۵} و استرهای آن، کومارین‌ها، سزکویی ترپن کومارین‌ها و سایر ترپنوئیدها می‌باشد. صمغ آن حاوی گلوکز، گالاکتوز، رامنوز، پلی ساکاریدها و گلیکوپروتئین‌ها بوده و روغن‌های فرار آن از ترکیبات سولفوره و ترپنوئیدها تشکیل شده است (۴). گیاهان دارویی بخاطر ساخت برخی ترکیبات بعنوان متابولیت ثانویه از جمله پلی فنولها، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشند (۳). عصاره آنغوزه بواسطه متابولیت‌های ثانویه یاد شده قادر به کاهش رادیکال‌های آزاد می‌باشد. باتوجه به مطالعات اندک در رابطه با اثرات عصاره آنغوزه بر متابولیسم گلوکز و لیپوپروتئین‌های خون، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات احتمالی این عصاره بر متابولیت‌های خون رت‌های نر ویستار است.

۲- مواد و روش‌ها

103. Sesquiterpene Coumarins

104. Wistar

105. Ferulic Acid

۱-۲- تهیه عصاره

برای تهیه عصاره، به ۱۰۰ گرم صمغ آسیاب شده آنگوزه، آب و الکل به نسبت ۱ به ۵ اضافه شد و پس از گذشت ۴۸ ساعت، محلول حاصل به دفعات صاف گردید تا محلولی یکنواخت حاصل شود. سپس برای حذف حلال از دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد و باقیمانده عصاره تغلیظ شده، در ظرف استریل خشک و تا هنگام استفاده در یخچال نگهداری شد. عصاره در محلول نرمال سالین حل و به میزان لازم مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۲- حیوانات و تیمارها

تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر (متوسط وزن ۲۲۰-۲۵۰ گرم) به صورت تصادفی به یکی از ۴ تیمار آزمایشی اختصاص یافت بطوری که در هر تیمار ۸ حیوان وجود داشت. تیمارهای آزمایش شامل: گروه شاهد بدون دریافت عصاره و تیمار دوم، سوم و چهارم به ترتیب میزان ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن عصاره آنگوزه بصورت تزریق درون صفاقی (IP) هر ۲۴ ساعت یک بار و به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. موش‌های صحرایی در طول دوره سازگاری ۷ روزه و همچنین در دوره آزمایش از خوراک‌های تجاری شرکت جوانه خراسان مصرف نموده و آب بصورت آزاد در دسترس‌شان قرار داشت. پس از پایان دوره از تمام حیوانات خون‌گیری از قلب بعمل آمد و نمونه‌ها در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سرم خون برای آنالیز فراسنجه‌های خونی استفاده شد. اندازه‌گیری گلوکز، لیپوپروتئین‌ها و آنزیم‌های کبدی با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر و انسولین با دستگاه الیزا انجام شد.

۳-۲- آنالیز آماری

تحلیل نتایج بدست آمده از این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با در نظر گرفتن وزن اولیه بعنوان متغیر کمکی با رویه GLM نرم افزار آماری SAS انجام شد. مقایسات میانگین با استفاده از آزمون مقایسات چند دامن‌ای دانکن انجام شد و $P < 0.05$ بعنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

۳- نتایج و بحث

نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش سطح عصاره، افزایش وزن روزانه به شکل معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت ($P < 0.05$). باتوجه به کاهش مصرف خوراک با افزایش سطح عصاره، کاهش وزن می‌تواند ناشی از کاهش مصرف خوراک باشد. متأسفانه اطلاعات کافی در زمینه اثرات آنگوزه بر متابولیسم چربی‌ها وجود ندارد. با اینحال برخی مطالعات نشان دادند که غلظت‌های بالای عصاره می‌تواند سبب بروز اثرات سمی شود (۸). برای تشخیص اثرات سمی احتمالی عصاره، غلظت آنزیم‌های کبدی ALT و AST اندازه‌گیری شد. نتایج (جدول ۱) نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، غلظت آنزیم‌های مذکور افزایش می‌یابد و سطح ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره تفاوت معنی‌داری به لحاظ غلظت آنزیم‌های یادشده، با گروه شاهد داشت ($P < 0.05$). افزایش غلظت این آنزیم‌ها احتمالاً بدلیل افزایش ساخت و یا آسیب بافتی کبد می‌باشد (۷). احتمالاً کاهش مصرف خوراک و افزایش وزن کمتر در موش‌های صحرایی مصرف‌کننده عصاره نیز ناشی از اثرات مذکور می‌باشد. با افزایش سطح عصاره، غلظت گلوکز خون افزایش یافت بطوری‌که سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن زنده، تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد داشت ($P < 0.05$). غلظت انسولین خون نیز با افزایش سطح عصاره افزایش یافت، اگرچه اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های دریافت‌کننده عصاره با شاهد وجود نداشت، اما تفاوت بین گروه دریافت‌کننده ۳۰۰ با گروه ۷۵ میلی‌گرم عصاره، بلحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$). عصاره آنگوزه بواسطه داشتن فرولیک اسید، از طریق کاهش رادیکال‌های آزاد و رفع استرس اکسیداتیو سبب بهبود ترشح انسولین از سلول‌های

بتای پانکراس می شود. بنظر می رسد که مقادیر پایین آنغوزه قادر به ایجاد اثرات کاهشی بر گلوکز خون می باشد و در مقادیر بالاتر بعلت وجود ترکیبات دیگر که با اثرات یاد شده تداخل دارند، این اثرات وجود ندارد (۲ و ۱).
غلظت ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم عصاره آنغوزه باعث افزایش میزان کلسترول در مقایسه با گروه شاهد شد. میزان تری گلیسرید سرم موش های صحرایی تیمار شده با ۷۵ میلی گرم عصاره در مقایسه با شاهد بطور معنی داری پایین تر بود ($P < 0.05$). اثرات کاهش دهنده چربی خون عصاره آنغوزه احتمالا بدلیل ترکیبات مختلف فلاونوئیدی و ترپنوئیدی موجود در عصاره است که با تاثیر بر اکسیداسیون چربی ها و دفع کلسترول از صفرا، سبب کاهش کلسترول و چربی خون می شود (۵).

جدول ۱- اثر عصاره آنغوزه بر فراسنجه های خونی موش های صحرایی نر ویستار

فراسنجه ^۱	شاهد	۷۵	۱۵۰	۳۰۰
افزایش وزن	$a_{1/68 \pm 0/18}$	$ab_{1/22 \pm 0/20}$	$b_{1/40 \pm 0/18}$	$b_{0/89 \pm 0/18}$
گلوکز	$b_{117/7 \pm 13/9}$	$b_{121/45 \pm 14/8}$	$b_{128/44 \pm 16/4}$	$a_{177/24 \pm 14/40}$
انسولین	$ab_{0/32 \pm 0/04}$	$b_{0/24 \pm 0/04}$	$a_{0/36 \pm 0/04}$	$a_{0/38 \pm 0/04}$
کلسترول	$b_{53/84 \pm 2/69}$	$ab_{57/83 \pm 2/87}$	$ab_{57/34 \pm 3/18}$	$a_{62/39 \pm 2/79}$
TG ^۲	$a_{75/16 \pm 5/8}$	$b_{53/36 \pm 6/17}$	$ab_{56/47 \pm 6/80}$	$a_{72/5 \pm 6/00}$
AST ^۲	$b_{152/17 \pm 9/4}$	$b_{143/74 \pm 10}$	$c_{115/1 \pm 11/14}$	$a_{186/1 \pm 9/70}$
ALT ^۲	$a_{51/6 \pm 3/9}$	$b_{39/3 \pm 4/16}$	$b_{31/16 \pm 4/60}$	$a_{60/6 \pm 4/04}$

۱-افزایش وزن روزانه به گرم، انسولین نانوگرم در میلی لیتر، آنزیم های AST و ALT واحد در لیتر و برای سایر

میلی گرم در دسی لیتر می باشد

۲- TG ، AST و ALT به ترتیب تری گلیسرید، آسپاراتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز می باشد.
میانگین های هر ردیف با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی دار به لحاظ آماری می باشند ($P < 0.05$).

نتیجه گیری

بر اساس نتایج بدست آمده از این پژوهش، عصاره آنغوزه در غلظت های ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده حیوان، سبب بهبود وضعیت سوخت و ساز قند و چربی ها در موش های صحرایی نر ویستار می شود. در حالیکه غلظت ۳۰۰ میلی گرم به ایجاد اثرات سمی و افزایش چربی خون منجر می شود.

منابع

- 9- Abu-Zaiton, A.S., 2010. Anti-diabetic activity of *Ferula assafoetida* extract in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Pak. J. Biol. Sci.*, 13: 97-100.
- 10- Akhlaghi, Z., M. Rajaei, M. Hadjzadeh, M. Iranshahi, and, M. Alizadeh, 2012. antihyperglycemic Effect of *Asafoetida* (*Ferula assafoetida* Oleo-Gum-Resin) in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *World Applied Sciences Journal* 17 (2): 157-162.
- 11- Dorman, H. J. D., O. Bachmayer, M. Kosar, and R. Hiltunen. 2004. Antioxidant properties of aqueous extracts from selected Lamiaceae species grown in Turkey. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52(4), 762–770.
- 12- Iranshahi, M., and M. Iranshahi. 2012. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *asafoetida* (*Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin). *Journal of Ethnopharmacology* 134:1-10.
- 13- Srinivasan, K. 2005. Spices as influencers of body metabolism: an overview of three decades of research. *Food Research International*, vol. 38: 77-86.
- 14- Takeoka, G., 2001. Volatile constituents of *Asafoetida*. In: Takeoka, G.R., Guntert, M., Engel, K.-H. (Eds.), *Aroma Active Compounds in Foods*. American Chemical society, Washington, DC, pp. 33-44.
- 15- Yakubu, M.T., M. Akanji, and I.O. Salau. 2001. Protective effect of ascorbic acid on some selected tissues of ranitidine-treated rats. *Nig. J. Biochem. Mol. Biol.* 16(2):177-182.
- 16- Zanolli, P., M. Rivasi, M. Zavatti, F. Brusiani, F. Vezzadini, and M. Baraldi, M. 2005. Activity of single components of *Ferula hermonis* on male rat sexual behavior. *International Journal of Impotence Research* 17, 513-518.

Dose-dependent effects of *Asafoetida* extract on blood glucose and lipids in male Wistar rats

¹Ayoubi, A., ¹Arshami, J., ¹Valizadeh, R., ²Mousavi, Z., and ^{1*}Mousaie, A.

Abstract

Ferula Asafoetida has been reported to have a broad range of therapeutic effects. Effect of IP injection of the aqueous extract on glucose and Lipoprotein metabolism was studied in male wistar rats. Thirty two rats were randomly divided into 4 groups of 8 rats each. Animals were injected with normal saline (control), and 75, 150 and 300 mg/kg body weight of *Asafoetida* extract respectively. Our results indicated that, 300mg/kg *asafoetida* extract showed adverse effects on blood cholesterol, glucose, AST and ALT concentration, while 75 mg/kg had positive effects on mentioned parameters. Based on these results, therapeutic effects of *Asafoetida* extract are dose-dependent and due to probable toxicity, its consumption must be done cautiously.

Keywords: *Asafoetida*, Lipoprotein, metabolism, Wistar rat.

کرمانشاه استان هلشتاین ارزیابی طول دوره بعد از زایمان تا اولین فحلی و تعداد تلقیح منجر به آبستنی در گاوهای

سیروس فراستی^{*}، حسین مولانیان

^{*} مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه، ferasati2004@yahoo.com

چکیده: این تحقیق به منظور تعیین تعدادی از پارامترهای تولید مثلی گاوهای هلشتاین استان کرمانشاه انجام گردید. با مراجعه به تمام گاوداری های استان پرسشنامه ای حاوی معیارهای کمی ارزیابی کننده راندمان تولیدمثلی تکمیل گردید. نحوه طراحی پرسشنامه ها طوری بود که در نهایت به سؤالاتی اساسی از قبیل متوسط نسبت تعداد دفعات تلقیح منجر به آبستنی و متوسط طول مدت بعد از زایمان تا اولین فحلی در هر کله پاسخ داده شود. تجزیه و تحلیل داده ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی نامتعادل و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن صورت گرفت. میانگین صفات تولید مثلی مورد ارزیابی شامل طول دوره بعد از زایمان تا اولین فحلی و تعداد تلقیح منجر به آبستنی در گله های گاو هلشتاین شهرستان های مختلف استان تفاوت معنی داری با هم ندارند ($p > 0/05$). میانگین و انحراف معیار طول دوره بعد از زایمان تا اولین فحلی و تعداد تلقیح منجر به آبستنی در کل گله های گاو هلشتاین موجود در استان به ترتیب، $1/61 \pm 48/99$ روز و $0/05 \pm 1/87$ بار بدست آمد. واژه های کلیدی: اولین فحلی بعد از زایمان - تعداد تلقیح منجر به آبستنی - گاو های هلشتاین - استان کرمانشاه

مقدمه

در پیشرفته ترین گاوداری ها تلقیح زود هنگام گاوها بعد از زایش، مد نظر قرار می گیرد و هدف حفظ فاصله زایش ۱۳ - ۱۲ ماه می باشد (۹). فاصله زایش های طولانی به خاطر روزهای باز زیاد و شاید دوره های خشک طولانی می باشد. تغذیه نامناسب و سایر تنش ها می توانند باعث کاهش میزان آبستنی و در نهایت فاصله زایش های طولانی شود (۹). از طرف دیگر عملکرد تولید مثلی گاو تاثیر مهمی روی پیشرفت ژنتیکی گله دارد به طوری که کاهش میزان آبستنی باعث طولانی شدن فاصله نسل و افزایش حذف اجباری گاوها می شود (۱۱). لذا افزایش روزهای باز با طولانی شدن فاصله نسل و کاهش شدت انتخاب باعث کاهش پیشرفت ژنتیکی گله می شود. با افزایش روزهای باز به رغم افزایش تولید شیر در کل دوره ولی از میزان سود خالص گله کاسته می شود. همچنین طولانی شدن روزهای باز باعث افزایش میزان حذف اجباری گاوها می شود و به سبب آن نیاز به تلیسه جایگزین افزایش می یابد (۱۱). هدف از این تحقیق دستیابی به وضعیت موجود برخی صفات تولیدمثلی در واحدهای گاوداری شیری صنعتی استان کرمانشاه و مشخص نمودن نقاط قوت و ضعف این واحدها بود.

مواد و روش ها

به منظور اجرای این پروژه پرسشنامه ای حاوی سؤالات اساسی تهیه گردید تا وضعیت تولید مثلی موجود در واحدهای گاوداری شیری موجود در استان (۲۳۶ واحد) مورد بررسی قرار گیرد. با هماهنگی و مساعدت معاونت بهبود تولیدات دامی استان و کارشناسان سازمان نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی استان از زمستان ۸۸ لغایت یکسال به تک تک این واحدها عزیمت نموده و با استفاده از مشاهدات عینی و اطلاعات موجود در دفاتر ثبت یا رایانه ها، پرسش نامه ها تکمیل گردیدند. صفات تولیدمثلی مورد نظر شامل طول دوره بعد از زایمان تا اولین فحلی^{۱۰۶} و تعداد تلقیح منجر به آبستنی بودند. با مطالعه و استخراج

¹⁰⁶ Interval from calving to first estrus

اطلاعات از پرسشنامه ها و نیز گروه بندی این داده ها، معلوم گردید که جهت ارائه صحیح نتایج و تجزیه و تحلیل داده ها بهتر است استخراج اطلاعات حاصل از این پرسشنامه ها محدود به واحد های پرورش گاو شیری (صرف نظر از شیوه نگهداری) که در زمان اجرای این پروژه حداقل دارای ۱۰ راس گاو شیری مولد اصیل (نژاد هلشتاین) و یا تلیسه های آبستن یا غیر آبستن بالای ۱۲ ماه (از همان نژاد) می باشند، گردد. بنا بر این با انجام این محدودیت ۱۰۸ واحد پرورش گاو شیری اصیل (نژاد هلشتاین) موجود در استان مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. پس از بازبینی و اصلاح پرسش نامه های حاوی اطلاعات ناقص، اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار داده پرداز اکسل ثبت و پردازش گردید. پس از آن صفات مورد نظر کد گذاری و به عدد و رقم تبدیل گردیدند و در نهایت اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS تحت ویندوز مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده های حاصل از پرسشنامه ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی نامتعادل و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن صورت گرفت.

نتایج

جدول ۱- میانگین طول دوره بعد از زایمان تا اولین فحلی و تعداد تلقیح منجر به آبستنی در گاوداری های صنعتی شهرستان های مختلف استان کرمانشاه را نشان می دهد. همانگونه که ملاحظه می شود، میانگین طول دوره اولین فحلی بعد از زایمان و تعداد تلقیح به آبستنی بین شهرستان های مختلف استان تفاوت معنی داری وجود ندارد ($p > 0/05$). میانگین و انحراف معیار طول دوره بعد از زایمان تا اولین فحلی و تعداد تلقیح منجر به آبستنی در کل گله های گاو اصیل هلشتاین موجود در استان به ترتیب $1/61 \pm 48/99$ روز و $1/87 \pm 0/05$ بار بدست آمد.



جدول ۱- برآورد پارامترهای تولید مثلی طول دوره بعد از زایمان تا اولین فحلی (روز) و تعداد تلقیح منجر به آبستنی در گاو های هلشتاین استان کرمانشاه (SEM $\pm$ میانگین).

شهرستان	تعداد گله	تعداد دام *	اولین فحلی بعد از زایمان	تعداد تلقیح به آبستنی
کرمانشاه	۳۲	۱۲۱۳	$47/52 \pm 3/85^a$	$1/92 \pm 0/11^a$
کنگاور	۱۹	۳۴۳۴	$43/84 \pm 2/15^a$	$1/78 \pm 0/13^a$
پاوه، جوانرود، روانسر **	۲۳	۱۴۲۰	$47/91 \pm 1/37^a$	$1/89 \pm 0/12^a$
قصر شیرین، سرپل ذهاب، گیلانغرب	۸	۸۶۹	$59/86 \pm 8/65^a$	$1/76 \pm 0/17^a$
سنقر و کلیایی	۶	۲۹۳	$46/00 \pm 4/11^a$	$1/75 \pm 0/17^a$
صحنه و هرسین	۸	۴۵۶	$59/71 \pm 10/62^a$	$1/80 \pm 0/12^a$
اسلام آباد غرب و دالاهو	۱۲	۶۱۲	$51/67 \pm 2/63^a$	$2/01 \pm 0/13^a$
کل استان	۱۰۸	۸۲۹۷	$48/99 \pm 1/61$	$1/87 \pm 0/05$

* شامل جمعیت گاو های اصیل (هلشتاین) ماده مولد شیرده و خشک و نیز تلیسه های اصیل بالای ۱۲ ماه آبستن و غیر آبستن می باشد.

** اطلاعات حاصل از بررسی وضعیت تولید مثلی در شهرستان ها یی که دارای تعداد واحد گاوداری صنعتی اصیل کمتر از ۵ بودند با شهرستان مجاورش جمع گردیده تا مقایسه میانگین ها با دقت بیشتری انجام گردد.

بحث

تعداد روزهای باز در حقیقت شامل دو مرحله فاصله زایش تا نخستین سرویس و فاصله نخستین سرویس تا آبستنی می باشد. با عنایت به اینکه میانگین اولین فحلی بعد از زایمان در این مطالعه حدود ۴۹ روز بدست آمد، بر اساس این نتایج فاصله نخستین سرویس تا آبستنی در گله های استان نباید بیش از ۲۱ روز باشد. بنابر این به نظر می رسد که بر اساس این نتایج، برقراری دوباره فعالیت تخمدان پس از زایش و بروز فحلی، تشخیص فحلی در زمان مناسب، استفاده از مامور تلقیح با تجربه و نیز استفاده از اسپرم با کیفیت جهت تلقیح گاوهای فحل، در گله های گاو هلشتاین موجود در استان در شرایط خوبی می باشد. لذا با توجه به اینکه اندازه گله در اکثر واحدهای گاوداری شیری در استان کوچک هستند، ممکن است این عامل موجب شده که دامداران راحت تر دام های فحل را مشاهده نموده و با دقت و توجه بیشتری به تشخیص فحلی در ماده گاو ها پرداخته باشند. در بیشتر گزارش های موجود در کشور (۱، ۲، ۳، ۴، ۶، ۷، ۸)، میانگین تعداد تلقیح منجر به آبستنی در گاوهای هلشتاین را در محدوده ۲/۳۴ - ۱/۴۴ گزارش نموده اند. این در حالی است که تعداد تلقیح منجر به آبستنی در حالت مطلوب (استاندارد) در این نژاد بین ۱/۳ تا ۱/۶ می باشد (۵، ۱۲). در مطالعه حاضر، تعداد تلقیح منجر به آبستنی در گله های گاو هلشتاین استان کرمانشاه حدود ۱/۸۷ بدست آمد که در محدوده سایر گزارش های موجود در کشور و نزدیک به حد مطلوب آن می باشد. از نظر اقتصادی، معمولاً در واحدهای گاوداری، باروری را با توجه به فاصله زایش پیاپی دو گوساله ارزیابی می نمایند. به عنوان مثال معلوم شده است که به ازای هریک روز تاخیر در آبستنی در فاصله زایش بین ۳۶۵ تا ۳۹۵ روز، یک دلار خسارت و در صورتیکه این فاصله بیش از ۳۹۵ روز گردد به ازای هر روز اضافه سه دلار زیان به دامدار وارد می شود. که این زیان ناشی از عواملی مانند کاهش تولید شیر، کاهش

فروش گوساله به ازای هر گاو در سال، افزایش تعداد سرویس به ازاء آبستنی، افزایش هزینه های دامپزشکی، افزایش تعداد تلیسه جایگزین و افزایش هزینه های استهلاک در گله می باشد (۱۰).

منابع

- ۱- بهادری، سیروس. ۱۳۷۹. بررسی وضعیت تولید مثل در گاو شیری (هلستاین) در گاوداری های صنعتی استان مرکزی. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. معاونت آموزش و تحقیقات وزارت جهاد سازندگی.
- ۲- خدایی مطلق، مهدی. ۱۳۸۲. تعیین برخی عوامل موثر بر عملکرد تولید مثلی در گاو های هلستاین ایران. پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران.
- ۳- دادار، محسن. ۱۳۸۲. مقایسه عملکرد تولید شیر و صفات تولید مثلی گاو نژاد هلستاین و براون سوئیس در شرایط پرورش صنعتی. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج وزارت جهاد کشاورزی.
- ۴- دالوند، محمد، محمد مهدی معینی و میر حسن بیرانوند. ۱۳۸۹. بررسی عوامل مؤثر بر شدت فحلی و تأثیر آن بر عملکرد تولیدمثل در گاوهای شیری. چهارمین کنگره علوم دامی ایران. پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران (کرج).
- ۵- ضمیری، محمد جواد. ۱۳۷۴. تولیدمثل در گاو، انتشارات دانشگاه شیراز. ۴۴۸ صفحه.
- ۶- قهرمانی، مهدی. ۱۳۸۵. بررسی برخی عوامل مؤثر بر عملکرد تولیدمثل گاوهای هلستاین در استان زنجان. پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران.
- ۷- معتمدی، محمود. ۱۳۸۳. بررسی برخی عوامل مؤثر بر عملکرد تولید مثل در دو گله گاو هلستاین استان اصفهان. پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران.
- ۸- نیک منش، علیرضا. ۱۳۸۳. بررسی خصوصیات تولید و تولید مثل یک گله گاو هلستاین در منطقه ورامین. پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران.
- ۹- Bar-Anan, R. and M. Soller. 1979. The effects of days open on milk yield and on breeding policy post-partum. Anim. prod, 29:109.
- ۱۰- Esselmont, R. J., M. A. Kossaibati, and J. Allcock. 2000. Economics of fertility in dairy cows. Pages 19- 28 in Occasional Publication, No. 26, British Society of Animal Science, UK.
- ۱۱- Jordan, E. R. 2003. Effects of Heat Stress on Reproduction. J Dairy Sci. 86: (E. Suppl.): E104-E114.
- ۱۲- Silva, H. M., Wilcox, C. J, & Thatcher, W. W. 1992. Factors affecting days open, gestation length, and calving interval in Florida dairy cattle. J. Dairy Sci. 75: 288-293

Evaluation of the interval from calving to first estrus and the number of insemination to conception in Holstein cows in Kermanshah province

Cyrus Farasati*, Hossein Mowlaeian

*Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research Center, ferasati2004@yahoo.com

abstract

This study was conducted to evaluate some of reproductive parameters of Holstein cows in Kermanshah province. A questionnaire containing quantitative measures to assess the reproductive efficiency was completed with reference to all of the province Holstein cattle husbandry. Data analysis was performed based on unbalanced completely randomized design and means were compared using multi-range Duncan test. Mean of evaluated reproductive traits including the interval from calving to first estrus and the number of insemination to conception in Holstein dairy herd of various province citis did not show any significant difference ($p>0.05$). Mean and standard deviation of the interval from calving to first estrus and the number of insemination to conception in total Holstein cattle of the province was obtained 48.99 ± 1.61 and 1.87 ± 0.05 Respectively.

Keywords: The interval from calving to first estrus - the number of insemination to conception- Holstein cow - Kermanshah province.

تخمین نرخ گوساله زایی در گاوهای هلشتاین استان کرمانشاه

سیروس فراستی^{*}، حسین مولانیان

^{*} مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه، ferasati2004@yahoo.com

چکیده

این تحقیق به منظور ارزیابی یکی از شاخص های تولیدمثلی گاوهای شیری استان کرمانشاه اجرا گردید. با مراجعه به تمام گاوهای استان پرسش نامه ای حاوی معیارهای کمی ارزیابی کننده پارامتر تولیدمثلی مورد نظر تکمیل گردید. تجزیه و تحلیل داده ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی نامتعادل و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن صورت گرفت. میانگین نرخ گوساله زایی در گله های گاو هلشتاین شهرستان های مختلف استان تفاوت معنی داری با هم ندارند ($p > 0.05$). میانگین و انحراف معیار نرخ گوساله زایی در کل گله های گاو هلشتاین موجود در استان 0.02 ± 0.58 بدست آمد. در این مطالعه معلوم گردید که در صورت توجه بیشتر به تشخیص فحلی به طوری که میزان آن به ۸۰ درصد برسد، میانگین فاصله زایش تا آبستنی به ۸۵ روز کاهش می یابد که نزدیک به رقم لازم برای دستیابی به فاصله گوساله زایی ۳۶۵ روز است.

واژه های کلیدی: نرخ گوساله زایی - گاو هلشتاین - استان کرمانشاه

مقدمه

در واحدهای گاوهای شیری، عملکرد تولیدمثلی یک عامل اساسی در تولید اقتصادی شیر می باشد. زیرا تولید شیر یک صفت ثانویه جنسی بوده و به تولیدمثلی بستگی دارد (۱). هدف اصلی در واحدهای صنعتی پرورش گاو شیری تولید میزان شیر مناسب و تولید گوساله است که هر دو بستگی به الگوی تولید مثلی دارد. به همین دلیل کارایی تولید مثلی ملاک میزان سوددهی گله است (۲). در پیشرفته ترین گاوهای شیری ها تلقیح زود هنگام گاوها بعد از زایش، مد نظر قرار می گیرد و هدف حفظ فاصله زایش ۱۳ - ۱۲ ماه می باشد (۳). فاصله زایش های طولانی به خاطر روزهای باز زیاد و شاید دوره های خشک طولانی می باشد. تغذیه نامناسب و سایر تنش ها می توانند باعث کاهش میزان آبستنی و در نهایت فاصله زایش های طولانی شود (۳). از طرف دیگر عملکرد تولید مثلی گاو تاثیر مهمی روی پیشرفت ژنتیکی گله دارد بطوری که کاهش میزان آبستنی باعث طولانی شدن فاصله نسل و افزایش حذف اجباری گاوها می شود (۶). لذا افزایش روزهای باز با طولانی شدن فاصله نسل و کاهش شدت انتخاب باعث کاهش پیشرفت ژنتیکی گله می شود (۶). هدف از این تحقیق دستیابی به وضعیت موجود برخی صفات تولیدمثلی در واحدهای گاوهای شیری صنعتی استان کرمانشاه و مشخص نمودن نقاط قوت و ضعف این واحدها بود.

مواد و روش ها

به منظور اجرای این پروژه پرسشنامه ای حاوی سوالات اساسی تهیه گردید تا وضعیت تولید مثلی موجود در واحدهای گاوهای شیری موجود در استان (۲۳۶ واحد) مورد بررسی قرار گیرد. با هماهنگی و مساعدت معاونت بهبود تولیدات دامی استان و کارشناسان سازمان نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی استان از زمستان ۸۸ لغایت یکسال به تک تک این واحدها عزیمت نموده و با استفاده از مشاهدات عینی و اطلاعات موجود در دفاتر ثبت یا رایانه ها، پرسشنامه ها تکمیل گردیدند. با مطالعه و



استخراج اطلاعات از پرسشنامه ها و نیز گروه بندی این داده ها، معلوم گردید که جهت ارائه صحیح نتایج و تجزیه و تحلیل داده ها بهتر است استخراج اطلاعات حاصل از این پرسشنامه ها محدود به واحد های پرورش گاو شیری (صرف نظر از شیوه نگهداری) که در زمان اجرای این پروژه حداقل دارای ۱۰ راس گاو شیری مولد اصیل (نژاد هلشتاین) و یا تلیسه های آبستن یا غیر آبستن بالای ۱۲ ماه (از همان نژاد) می باشند، گردد. بنا بر این با انجام این محدودیت ۱۰۸ واحد پرورش گاو شیری اصیل (نژاد هلشتاین) موجود در استان مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. پس از بازبینی و اصلاح پرسش نامه های حاوی اطلاعات ناقص، اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار داده پرداز Excel ثبت و پردازش گردید. پس از آن صفات مورد نظر کد گذاری و به عدد و رقم تبدیل گردیدند و در نهایت اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS تحت ویندوز مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده های حاصل از پرسشنامه ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی نامتعادل و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن صورت گرفت.

نتایج

جدول ۱- میانگین نرخ گوساله زایی در گاوداری های صنعتی شهرستان های مختلف استان کرمانشاه را نشان می دهد. همانگونه که ملاحظه می شود، میانگین نرخ گوساله زایی بین شهرستان های مختلف استان تفاوت معنی داری نشان نمی دهد ($p > 0.05$). میانگین و انحراف معیار نرخ گوساله زایی در کل گله های گاو اصیل هلشتاین موجود در استان 0.02 ± 0.08 درصد بدست آمد.

بحث

از نقطه نظر بیولوژیکی نرخ گوساله زایی، یعنی تعداد گوساله ای که به ازای هر ۱۰۰ بار جفتگیری زاییده می شوند، مناسب ترین معیار باروری در گله می باشد. حتی در شرایط ایده آل و داشتن دام هایی که صددرصد بهنجار هستند و در حالتی که میزان تشخیص فحلی صددرصد باشد، میزان گوساله زایی به صددرصد نمی رسد. در بهترین حالت تنها ۷۰-۶۰ درصد از تمام تلقیح های انجام شده، به تولد گوساله می انجامد که بیشتر تلفات آبستنی، پیش از سه ماهه دوم آبستنی روی می دهد. علت این تلفات، آبستن نشدن حیوان و مرگ و میر تخمک، نطفه یا جنین است. در یک مطالعه، با بررسی تخمک و نطفه در شرایط آزمایشگاه، میزان لقاح اووسیت در ماده گاو بیش از ۹۰ درصد برآورد گردید، در حالی که این رقم در شرایط عادی ممکن است به مراتب کوچکتر باشد (۱). اگر میانگین طول آبستنی در گاوهای هلشتاین ۲۸۰ روز باشد و برای دستیابی به حداکثر بازدهی تولید مثل، فاصله گوساله زایی را نزدیک ۳۶۵ روز در نظر بگیریم، بایستی میانگین فاصله زایش تا نخستین سرویس و میانگین فاصله زمانی لازم تا سرویس بعد به ترتیب ۷۰ و ۱۴ باشند تا تعداد روز های باز نزدیک ۸۵ روز بدست آید (۴، ۷، ۸). بایستی توجه داشت که فاصله زایش تا نخستین سرویس و فاصله نخستین سرویس تا آبستنی، به میزان تشخیص فحلی و میانگین میزان آبستنی در گله بستگی دارد (۵). نتایج یک مطالعه نشان داد که چنانچه فاصله زایش تا نخستین سرویس در گله ۶۵ روز، میانگین میزان آبستنی ۶۰ درصد و فاصله زایش تا آبستنی ۹۳ روز باشد، میزان تشخیص فحلی تنها ۵۰ درصد است (۵). در این مطالعه معلوم گردید که در صورت توجه بیشتر به تشخیص فحلی به طوری که میزان آن به ۸۰ درصد برسد، سبب می شود که میانگین فاصله زایش تا آبستنی به ۸۵ روز کاهش یابد که نزدیک به رقم لازم برای دستیابی به فاصله گوساله زایی ۳۶۵ روز است.

جدول ۱- برآورد میانگین نرخ گوساله زایی در گاوداری های صنعتی استان کرمانشاه (SEM $\pm$ میانگین).

شهرستان	تعداد گله	تعداد دام *	نرخ گوساله زایی
کرمانشاه	۳۲	۱۲۱۳	0.63 ± 0.04^a
کنگاور	۱۹	۳۴۳۴	0.52 ± 0.06^a
پاوه، جوانرود، روانسر **	۲۳	۱۴۲۰	0.51 ± 0.05^a
قصر شیرین، سرپل ذهاب، گیلانغرب	۸	۸۶۹	0.64 ± 0.11^a
سنقر و کلیایی	۶	۲۹۳	0.71 ± 0.14^a
صحنه و هرسین	۸	۴۵۶	0.60 ± 0.08^a
اسلام آباد غرب و دالاهو	۱۲	۶۱۲	0.61 ± 0.06^a
کل استان	۱۰۸	۸۲۹۷	0.58 ± 0.02

* شامل جمعیت گاوهای اصیل (هلشتاین) ماده مولد شیرده و خشک و نیز تلیسه های اصیل بالای ۱۲ ماه آبستن و غیر آبستن می باشد.

** اطلاعات حاصل از بررسی وضعیت تولید مثلی در شهرستان هایی که دارای تعداد واحد گاوداری صنعتی اصیل کمتر از ۵ بودند با شهرستان مجاورش جمع گردیده تا مقایسه میانگین ها با دقت بیشتری انجام گردد.

منابع

- ۱ - ضمیری، محمد جواد. ۱۳۷۴. تولیدمثل در گاو، انتشارات دانشگاه شیراز. ۴۴۸ صفحه
- ۲ - عزیز زاده، محمد. ۱۳۸۸. طراحی مدل آماری فاصله زایش تا آبستنی گاوهای شیری هلشتاین در گاوداریهای صنعتی به روش آنالیز بقا. رساله برای دریافت درجه دکتری تخصصی اپیدمیولوژی. دانشگاه تهران. شماره ثبت ۳۵۱.
- ۳- Bar-Anan, R. and M. Soller. 1979. The effects of days open on milk yield and on breeding policy post-partum. Anim. prod, 29:109.
- ۴- Blair, B. M. 2006. Maximizing conception rate in dairy cows. [http://www.omafra.gov. on. ca/english/ livestock/ dairy/ facts/ 1984-048.htm](http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/dairy/facts/1984-048.htm).
- ۵- Esselmont, R. J., M. A. Kossaibati, and J. Allcock. 2000. Economics of fertility in dairy cows. Pages 19- 28 in Occasional Publication, No. 26, British Society of Animal Science, UK.
- ۶- Jordan, E. R. 2003. Effects of Heat Stress on Reproduction. J Dairy Sci. 86: (E. Suppl.): E104–E114.
- ۷- Kaneene, J. B. and H. S. Hard. 1990. Users and uses of the United States National Animal Health Monitoring System Data: the Michigan example. Acta Vet. Scand. 84 (Suppl.):225-227.

۸- Noakes, D. E., T. J. Parkinson, and G. C. W. England. 2000. Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics. 8th ed., W. B. Saunders Co., UK. Pages 5-32, 383-472

Estimation of calving rate in holstein cows of kermanshah province

Cyrus Farasati*, Hossein Mowlaeian

*Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research Center, ferasati2004@yahoo.com

Abstract:

This experiment was conducted to evaluate one of reproductive parameters of dairy cattle in Kermanshah Province. A questionnaire containing quantitative measures to assess the reproductive parameters was completed with reference to all of the province holstein cattle husbandry. Data analysis was performed based on unbalanced completely randomized design and means were compared using multi-range duncan test. Mean of calving rate of holstein dairy herd of various province cities did not show any significant difference ($p>0.05$). Mean and standard deviation of calving rate in total holstein cattle of the province was obtained 0.58 ± 0.02 . In the present study, it was found if pay more attention to detect estrus, so that its rate to reach 80 percent, mean of the interval from calving to conception will decrease to 85 days, that is near to the time required to achieve the 365 days of calving interval.

Keywords: calving rate - holstein cow - kermanshah province

اثر اسید سیتریک و فیتاز میکروبی بر مورفولوژی روده باریک جوجه های گوشتی

روح الله نورمحمدی^{۱*} و معصومه وکیلی^۲

۱- دانشجوی دکتری علوم دامی دانشگاه لرستان ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد

* نویسنده مسئول: روح الله نورمحمدی، گروه علوم دامی دانشگاه لرستان، پست الکترونیک:

Nourmohammadi.61@gmail.com

چکیده

تعداد ۲۷۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ در یک آزمایش فاکتوریل ۳×۳ با سطوح مختلف اسید سیتریک (۰، ۳ و ۶ درصد) و سطوح آنزیم فیتاز میکروبی (۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ واحد فعال آنزیم در هر کیلوگرم از جیره) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی، با ۹ تیمار آزمایشی، سه تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار از سن ۷ تا ۴۲ روزگی استفاده شدند. جیره ها بر پایه ذرت-سویا تنظیم گردیدند. نتایج نشان داد که افزودن اسید سیتریک، بطور معنی داری ($P<0/01$) سبب افزایش طول ویلی، عمق کریپت و تعداد سلول های گابلت در بخش های مختلف روده باریک، عرض ویلی در ناحیه دئودنوم و نسبت طول ویلی به عمق کریپت در ناحیه ژوژنوم گردید. استفاده از اسید سیتریک در جیره ها موجب کاهش معنی دار ($P<0/01$) نسبت طول ویلی به عمق کریپت در ناحیه دئودنوم، ضخامت اپیتلیوم در قسمت های مختلف روده باریک گردید. مکمل نمودن جیره ها با فیتاز میکروبی، تعداد سلول های گابلت در ناحیه ژوژنوم را بطور معنی داری ($P<0/01$) افزایش داد، اما موجب کاهش معنی دار ($P<0/01$) عمق کریپت و نسبت طول ویلی به عمق کریپت در ناحیه دئودنوم و ضخامت اپیتلیوم در قسمت های مختلف روده باریک گردید. بطور کلی نتایج نشان داد که کاهش ضخامت اپیتلیوم و افزایش طول ویلی در قسمت های مختلف روده باریک توسط افزودن مکمل فیتاز و اسید سیتریک منجر به افزایش نرخ هضم و جذب مواد مغذی جیره ها گردید. واژگان کلیدی: اسید سیتریک، فیتاز میکروبی، مورفولوژی، روده باریک، جوجه های گوشتی.

مقدمه

فسفر ماده معدنی ضروری برای متابولیسم و رشد اسکلتی جوجه های گوشتی است. ۶۰ تا ۷۰٪ فسفر فراهم شده در جیره های معمول همانند ذرت-سویا به اسید فایتيک متصل می باشد. اسید فایتيک می تواند به صورت عامل ضد مغذی از طریق توانایی ترکیب شدن با نشاسته، پروتئین ها و مواد معدنی مانند فسفر، روی، آهن، کلسیم و منیزیم عمل نماید (۵). مکمل نموده جیره ها با فیتاز میکروبی روش موثر و کاربردی برای بهبود بخشیدن مواد مغذی متصل به فیتات است. اسیدهای آلی جیره ای و نمک های موجب توازن میکروبی در لوله گوارشی شوند. بعلاوه، با تعدیل اسیدیته روده، اسیدهای آلی قابلیت حل مواد خوراکی، هضم و جذب مواد مغذی را بهبود می بخشند. اسید سیتریک سبب اثرات مثبت بر سلامتی و رشد پرنده می شود. گزارش شده است که استفاده از جیره های اسیدی سبب ایقا و افزایش قابلیت هضم ایلتومی مواد مغذی می شود. لذا به نظر می رسد از طریق تاثیر بر مورفولوژی روده باریک (محل اصلی جذب) سبب بهبود قابلیت استفاده از اجزا خوراک می شود (۲). تحقیق حاضر به منظور مطالعه ی اثرات سطوح مختلف اسید سیتریک و فیتاز میکروبی و همچنین اثرات متقابل میان آنها بر مورفولوژی روده باریک جوجه های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۷۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸، بصورت تصادفی در ۲۷ گروه ۱۰ تایی با میانگین وزن مشابه، قرار داده شدند. آب و خوراک به صورت آزاد در دسترس پرندگان قرار گرفت و جهت تأمین روشنائی داخل باتری‌ها از لامپ‌های ۴۰ واتی استفاده شد. آزمایش در یک آزمایش فاکتوریل ۳×۳ با سطح از اسید سیتریک (۰، ۳ و ۶ درصد) و سه سطح آنزیم فیتاز میکروبی (۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ واحد فعال آنزیم در هر کیلوگرم از جیره) و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی، با ۹ تیمار آزمایشی، سه تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار به اجرا درآمد. جیره‌های آزمایشی شامل: (۱) جیره پایه (بدون اسید سیتریک و آنزیم فیتاز) (۲) جیره پایه + ۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز (۳) جیره پایه + ۱۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز (۴) جیره پایه + ۳٪ اسید سیتریک (۵) جیره پایه + ۳٪ اسید سیتریک + ۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز (۶) جیره پایه + ۳٪ اسید سیتریک + ۱۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز (۷) جیره پایه + ۶٪ اسید سیتریک (۸) جیره پایه + ۶٪ اسید سیتریک + ۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز (۹) جیره پایه + ۶٪ اسید سیتریک + ۱۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز بودند. اسید سیتریک استفاده شده در جیره‌های آزمایشی، به شکل مونوهیدراته و با خلوص ۹۹/۵ درصد و فیتاز مورد استفاده، ناتافوس محصولی از میکروارگانیسم آسپرژیلوس نیجر بود که یک گرم از آن حاوی حداقل ۱۰۰۰۰ واحد فعال آنزیم فیتاز (FTU) می‌باشد. مورفولوژی قسمت‌های مختلف روده باریک بر اساس روش یو و همکاران (۶) تعیین گردید. نمونه‌های جدا شده از بخش انتهایی دئودنوم، بخش میانی ژوژنوم و ایلئوم در محلول بافر طبیعی فرمالدهید ۱۰٪ قرار داده شد و به آزمایشگاه ارسال گردید. داده‌ها با استفاده از یک مدل آماری که در برگیرنده اثر بلوک، اثر اسید سیتریک، اثر آنزیم فیتاز و اثر متقابل بین اسید سیتریک و آنزیم فیتاز بود با استفاده از نرم افزار آماری SAS (رویه مدل عمومی) آنالیز شدند. میانگین صفات مورد مطالعه توسط آزمون توکی - کرامر و در سطح ۰/۰۵ مورد مقایسه قرار گرفت. مدل آماری به شرح زیر بود:

$$y_{ijkl} = \mu + CA_i + MP_j + (CA \times MP)_{ij} + R_k + \varepsilon_{ijkl}$$

که در آن:

y_{ijkl} : صفت مورد نظر، μ : میانگین کل، CA_i : اثر فاکتور اسید سیتریک، MP_j : اثر فاکتور آنزیم فیتاز میکروبی، $(CA \times MP)_{ij}$: اثر متقابل بین آنزیم فیتاز میکروبی و اسید سیتریک، R_k : اثر بلوک و ε_{ijkl} : اثر خطای آزمایش.

نتایج و بحث

اثر اسیدسیتریک و فیتاز میکروبی بر مورفولوژی دئودنوم، ژوژنوم و ایلئوم روده باریک در جدول آمده است. نتایج نشان داد که اسید سیتریک سبب افزایش معنی دار ($P < 0/01$) طول ویلی، عمق کریپت و تعداد سلول‌های گابلت در تمام بخش‌های روده باریک گردید. همچنین سبب افزایش عرض ویلی در ناحیه دئودنوم و نسبت طول ویلی به عمق کریپت در ناحیه ژوژنوم شد که معنی دار ($P < 0/01$) بود. اسید سیتریک همچنین سبب کاهش معنی دار ($P < 0/01$) نسبت طول ویلی به عمق کریپت در ناحیه دئودنوم و ضخامت اپیتلیوم در تمام بخش‌های روده باریک شد. افزودن فیتاز میکروبی به جیره‌ها سبب کاهش معنی دار عمق کریپت و نسبت طول ویلی به عمق کریپت در دئودنوم ($P < 0/01$)، ضخامت اپیتلیوم در دئودنوم ($P < 0/01$)، ژوژنوم ($P < 0/05$) و ایلئوم ($P < 0/01$) گردید اما تعداد سلول‌های گابلت در ژوژنوم را افزایش داد که معنی دار بود ($P < 0/05$). بالاترین طول ویلی در بخش‌های مختلف روده باریک در جوجه‌های تغذیه شده با ۶٪ اسید سیتریک مشاهده شد.

جدول - اثر اسید سیتریک و فیتاز میکروبی بر مورفولوژی روده باریک جوجه های گوشتی.

منبع تغییرات			فیتاز (IU/kg)				اسیدسیتریک (%)			متغیر
اسید× فیتاز	فیتاز	اسیدسیتریک	SEM	۱۰۰۰	۵۰۰	۰	۶	۳	۰	
دئودنوم (μm)										
NS	NS	۰/۰۱	۱/۳	۱۳۰۷	۱۳۱۰	۱۳۰۹	۱۳۴۳ ^a	۱۳۴۸ ^a	۱۲۳۴ ^b	طول ویلی
NS	NS	۰/۰۱	۰/۴	۱۱۸	۱۱۷	۱۱۸	۱۲۱ ^a	۱۲۲ ^a	۱۱۰ ^b	عرض ویلی
NS	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۶	۱۸۲ ^b	۱۸۰ ^{ab}	۱۷۹ ^a	۱۸۳ ^a	۱۸۲ ^a	۱۷۷ ^b	عمق کریپت
NS	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۲	۷/۱۷ ^b	۷/۲۷ ^{ab}	۷/۳۰ ^a	۷/۳۷ ^b	۷/۴۱ ^b	۶/۹۶ ^a	نسبت *
NS	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۲۲	۵۲ ^b	۵۴ ^a	۵۴ ^a	۵۴ ^a	۵۲ ^b	۵۴ ^a	ضخامت اپیتلیوم
NS	NS	۰/۰۱	۰/۰۵	۱۰/۷۲	۱۰/۶۵	۱۰/۶۲	۱۱/۳۱ ^a	۱۱/۳۰ ^a	۹/۳۹ ^b	تعداد سلول گابلت
ژوژنوم (μm)										
NS	NS	۰/۰۱	۱/۳	۱۱۷۵	۱۱۷۴	۱۱۷۰	۱۲۰۰ ^a	۱۲۰۴ ^a	۱۱۱۷ ^b	طول ویلی
NS	NS	NS	۱/۵	۱۰۴	۱۰۶	۱۰۷	۱۰۶	۱۰۷	۱۰۴	عرض ویلی
NS	NS	۰/۰۱	۱/۱	۱۶۰	۱۶۰	۱۵۹	۱۶۱ ^a	۱۶۲ ^a	۱۵۵ ^b	عمق کریپت
NS	NS	۰/۰۱	۰/۰۵	۷/۳۵	۷/۳۵	۷/۳۶	۷/۴۴ ^a	۷/۴۳ ^a	۷/۱۹ ^b	نسبت *
NS	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۳۲	۳۴ ^b	۳۵ ^a	۳۵ ^a	۳۶ ^a	۳۲ ^b	۳۶ ^a	ضخامت اپیتلیوم
NS	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۰۷	۱۱/۶۰ ^a	۱۱/۴۷ ^{ab}	۱۱/۳۲ ^b	۱۲/۰۸ ^a	۱۱/۹۹ ^a	۱۰/۳۲ ^b	تعداد سلول گابلت
ایلئوم (μm)										
NS	NS	۰/۰۱	۵/۶	۸۰۵	۸۰۲	۸۰۶	^a ۸۲۰	^b ۸۳۱	^b ۷۶۱	طول ویلی
NS	NS	NS	۱/۷	۶۶	۶۸	۶۵	۶۵	۶۷	۶۶	عرض ویلی
NS	NS	۰/۰۱	۱/۸	۱۵۴	۱۵۰	۱۵۶	^a ۱۵۷	^a ۱۵۶	^b ۱۴۸	عمق کریپت
NS	NS	NS	۰/۰۶	۵/۲۳	۵/۳۲	۵/۱۷	۵/۲۵	۵/۳۲	۵/۱۵	نسبت *
NS	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۲۸	^b ۳۲	^{ab} ۳۳	^a ۳۴	^a ۳۳	^b ۳۱	^a ۳۴	ضخامت اپیتلیوم
NS	NS	۰/۰۱	۰/۱۷	۱۱/۱۲	۱۱/۱۷	۱۰/۸۰	۱۱/۷۳ ^a	۱۱/۵۸ ^a	۹/۷۸ ^b	تعداد سلول

اندیس های نامشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین هاست ($P < 0.05$).

این نتایج با یافته های برخی محققین مطابقت دارد که نشان دادند افزایش طول ویلی در دئودنوم و ژوژنوم با استفاده از جیره های با اسیدیته ی بالا، نشان دهنده ی این حقیقت است که اسیدهای آلی رشد باکتری های روده ای بیماریزا و غیر بیماری زا را کاهش می دهد که در نهایت منجر به افزایش طول ویلی و عملکرد ترشحاتی روده، هضم و جذب مواد مغذی توسط لایه مخاطی می گردد (۳). بدلیل آنکه ژوژنوم محل اصلی جذب مواد مغذی در روده باریک می باشد، افزایش طول ویلی در این بخش می تواند سطح روده ای را برای جذب حداکثری مواد هضمی را فراهم نماید (۱). از آنجایی که مکمل نمودن جیره ها با اسید سیتریک و فیتاز میکروبی طول ویلی و عمق کریپت را در این مطالعه بطور مثبتی تحت تأثیر قرار داد، لذا به نظر می رسد سرعت جذب مواد مغذی افزایش یافته و سرعت مهاجرت سلول های انتروسایت از کریپت به ویلی را کاهش داده است. نسبت طول ویلی به عمق کریپت نشان دهنده ی ظرفیت هضمی روده باریک است. افزایش این نسبت به معنای افزایش در هضم و جذب مواد مغذی است. تغییرات در مورفولوژی روده مانند کاهش طول ویلی و کریپت عمیق تر، ممکن است نشان دهنده ی وجود سموم باشد. افزایش طول ویلی و نسبت طول ویلی به عمق کریپت با افزایش تعداد باکتری های مفید مرتبط است (۱). افزایش نسبت طول ویلی به عمق کریپت، ساختار روده را بیشتر به سوی افزایش سطح هضم، بهبود هضمی و پتانسیل هیدرولیز مواد مغذی سوق می دهد که در نتیجه آن، نیاز به مواد مغذی کمتر در جیره های پرندگان توجیه پذیر خواهد بود. کاهش ضخامت اپیتلیوم روده باریک هضم و جذب مواد مغذی را توسط سلول های زاینده پیلاز بهبود می بخشد (۳). هرچند ضخامت لایه مخاطی بهره وری جذب مواد مغذی را کاهش می دهد. اپیتلیوم نازکتر روده ای جذب مواد مغذی را افزایش داده و نیازهای متابولیکی دستگاه گوارش را کاهش خواهد داد. در عین حال افزایش تعداد سلول گابلت در همه ی بخش های روده ممکن است منجر به تولید موکسین و ترشح پروتئین با منشا داخلی شود. پیشنهاد شده است که جذب مواد مغذی ممکن است توسط افزایش ضخامت اپیتلیوم روده باریک ممانعت گردد (۴). تعداد سلول گابلت کمتر در اپیتلیوم روده می تواند در ایجاد شرایط استرس زای کمتر همکاری نماید که منجر به کاهش یافتن نیاز به لایه مخاطی محافظ شود (۳).

منابع

1. Holt, P.R., S. Wu, K.Y. Yeh. 1986. Ileal hyperplastic response to starvation in the rat. *American Journal of Physiology*, 251: 124-131.
2. Nourmohammadi, R., S.M. Hosseini, H. Farhangfar, M. Bashtani. 2012. Effect of citric acid and microbial phytase enzyme on ileal digestibility of some nutrients in broiler chicks fed corn-soybean meal diets. *Italian Journal of Animal Science*, 11: 36-40.
3. Pelicano, E.R.L., P.A. Souza, H.B.A. Souza, D.F. Figueiredo, M.M. Boaiço, R.M. Carvalho. 2005. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 4: 221-229.
4. Silva, S.S.P., R.R. Smithard. 2002. Effect of enzyme supplementation of a rye-based diet on xylanase activity in the small intestine of broilers, on intestinal crypt cell proliferation and on nutrient digestibility and growth performance of the birds. *British Poultry Science*, 43:274-282.
5. Viveros, A., A. Brenes, I. Arija, C. Centeno. 2002. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. *Poultry Science*, 81:1172-1183.

6. Yu, B., C.C. Tsai, J.C. Hsu, P.W.S. Chiou. 1998. Effect of different sources of dietary fibre on growth performance, intestinal morphology and caecal carbohydrases of domestic geese. *British Poultry Science*, 39:560-567.

Effect of citric acid and microbial phytase on intestinal morphology of broilers

Rouhollah Nourmohammadi^{1*} and Masoume Vakili²

1- Ph.D Student of Animal Science, Lorestan University, 2- M.Sc Student of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad

*Corresponding E-mail address: Nourmohammadi.61@gmail.com

Abstract:

A total of 270 Ross 308 male broilers from 7 to 42 days old were used in a 3×3 factorial arrangement design with different levels of citric acids (0, 3 and 6%) and levels of phytase enzyme (0, 500 and 1000 enzyme IU/kg) on a randomized complete block design, with 9 experimental diets, 3 replicates and 10 birds per each replicate. The diets were formulated based upon corn-soybean meal. The results showed that addition of citric acid significantly increased ($P<0.01$) villi length, crypt depth and goblet cell number in all the segments of small intestines, villi width in the duodenum and villi length to crypt depth ratio in the jejunum. Also, using of citric acid caused significant decrease ($P<0.01$) villi length to crypt depth ratio in the duodenum, epithelial thickness of intestinal different parts. The microbial phytase significantly increased ($P<0.01$) goblet cell number in the jejunum, but caused a significant decrease ($P<0.01$) in crypt depth and villi length to crypt depth ratio in the duodenum and epithelial thickness in the duodenum ($P<0.01$), jejunum ($P<0.05$), and ileum ($P<0.01$). Generally, the results indicated that the decrease of epithelial thickness and increase of the villi length in different segments of small intestine by addition of microbial phytase cause increased on digestion and absorption rates of nutrients.

Keywords: citric acid, microbial phytase, morphology, small intestine, broilers.

بررسی بافت شناسی اندومتریوت در گاوهای شیری

بهاره دولت خواه*، حمیدرضا رحمانی، امیرحسین مهدوی، محمدعلی ادريس، محمد خوروش و محسن رحیمی

دانشگاه صنعتی اصفهان

* نویسنده مسئول: بهاره دولت خواه، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی.

dolatkahh_bahareh@yahoo.com

چکیده

بیوپسی اندومتریال از جمله روشهای تشخیص و درجه بندی اندومتریوت بر اساس نوع و میزان تغییرات پاتولوژیک بافت رحم می باشد. هدف پژوهش حاضر، بررسی مقایسه ای اینگونه تغییرات بافتی در رحم گاوهای سالم و مبتلا به اندومتریوت بود. در ابتدا دستگاه تولیدمثلی چند گاو حذفی از کشتارگاه جمع آوری شد. این گاوها با توجه به دلایل حذف از گله، در دو گروه شاهد ($n=9$) و اندومتریوتی ($n=9$)، طبقه بندی شدند. مدت کوتاهی پس از جمع آوری نمونه ها، برش هایی به ابعاد 1×1 سانتی متر از بخش میانی بدنه و شاخ بزرگتر رحم تهیه، تثبیت و به روش H&E رنگ آمیزی گردید. نمونه های مذکور با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی $\times 400$ بررسی شدند. پردازش آماری داده ها به کمک نرم افزار SAS 9.1 و رویه GLM انجام گردید. نتایج این پژوهش نشان دهنده افزایش معنی دار قطر اندومتریوم ($P=0/005$)، نمره پراکندگی غدد ($P=0/04$)، درصد نواحی فیبروتیک ($P=0/04$) و میزان نفوذ نوتروفیل ها ($P=0/04$) در اندومتریوم و کاهش معنی دار درجه انسجام سلولی غدد ($P=0/001$) و شدت رنگ پذیری اجزای بافت ($P=0/008$) در بافت اندومتر گاوهای مبتلا بود. تفاوت معنی داری از نظر تعداد عروق خونی، میزان فضاهای نکروزه بافتی ($P=0/07$) و درجه انسجام اپیتلیوم بین گاوهای سالم و مبتلا دیده نشد. به علاوه، تفاوت معنی داری بین شاخص های بافتی مذکور در بدنه و شاخ رحم وجود نداشت. تفاوت آشکار ویژگی های بافتی رحم بین گاوهای سالم و مبتلا، نشان داد که بیوپسی اندومتریال ابزار دقیق و موثری برای تشخیص اندومتریوت است.

واژگان کلیدی: اندومتریوت، بافت شناسی، بیوپسی اندومتریال، گاو شیری

مقدمه

آلودگی باکتریایی رحم، در ۹۰ تا ۱۰۰٪ گاوهای شیری تازه زاده دیده می شود. پس از گذشت ۳ هفته از زایش، به واسطه فرآیند بازگشت رحمی و فعالیت سیستم ایمنی، جمعیت باکتری ها رو به کاهش می گذارد. اما در ۱۰ تا ۳۰ درصد موارد، آلودگی باکتریایی بیش از ۳ هفته ادامه یافته و موجب بروز اندومتریوت (التهاب درونی ترین لایه رحم یا اندومتریوم) می شود [۳، ۵ و ۹]. اندومتریوت بالینی، بیماری فاقد علائم سیستمیک (مانند تب) می باشد که با وجود ترشح چرکی یا موکوسی چرکی رحم، به ترتیب بعد از روزهای ۲۱ یا ۲۶ پس از زایش، مشخص می شود [۱، ۶ و ۹]. در اندومتریوت تحت بالینی که التهاب مزمن رحم بدون علائم بالینی بیماری رحمی است، ترشحات رحمی دیده نمی شود [۱]. کاهش تولید شیر، ایجاد اختلال در فعالیت تخمدانی، کاهش نرخ گیرایی، کاهش نرخ آبستنی، افزایش روزهای باز و افزایش احتمال حذف از عوارض متعاقب این بیماری هستند، از این رو تشخیص و درمان بهنگام اندومتریوت می تواند از زیان های اقتصادی ناشی از آن بکاهد. بررسی رحم با استفاده از لمس رکتال یا اولتراسونوگرافی، واژینوسکوپی، کشت مایعات رحمی، سائیلوژی ترشحات واژن و بیوپسی اندومتریال از جمله روشهای

تشخیصی اندومتریس می باشند. از این میان، بیوپسی اندومتریال با توجه به نوع و میزان آسیب‌های وارده به بافت رحم، به تشخیص وجود و درجه آلودگی رحمی کمک می کند. طبق نتایج مطالعات پیشین، اندومتریس از نظر بافت‌شناسی با افزایش نفوذ نوتروفیل‌ها و درجات متغیری از تجمع لمفوسایت‌ها و پلاسماسل‌ها در بافت رحم، ادم بینابینی، وجود برخی نواحی فیبروتیک، احتقان عروقی، خونریزی، پارگی یا از بین رفتن اپیتلیال مشخص می شود [۲]. هدف پژوهش حاضر، بررسی مقایسه‌ای اینگونه تغییرات بافتی در رحم گاوهای سالم و مبتلا به اندومتریس بود.

مواد و روش‌ها

در ابتدا دستگاه تولیدمثلی ۱۸ راس گاو حذفی با میانگین شکم ۲/۶، از دو گاو داری صنعتی استان اصفهان، در کشتارگاه جمع‌آوری شد. این گاوها پس از بررسی سوابق ثبت شده و با توجه به دلایل دامپزشک برای حذف از گله، در دو گروه شاهد (۹ راس) و اندومتریسی (۹ راس)، برای مطالعه انتخاب شده بودند. گاوهای گروه شاهد به دلایلی جز نقص تولیدمثلی، مانند در رفتگی اندام حرکتی یا پنومونی، از گله حذف می شدند و گاوهای اندومتریسی بدلیل ناباروری و ابتلا به اندومتریس بدون ابتلا به بیماری سایر بخش‌های دستگاه تولیدمثلی از جمله تخمدانها. از آنجا که رابطه متقابلی بین عملکرد رحم و تخمدانها وجود دارد، به منظور کاهش خطای آزمایش، سلامت تخمدانها قبل از کشتار با نظر دامپزشک و پس از آن با بررسی عینی تخمدانها از لحاظ وجود یا عدم وجود کیست و فعال بودن، تایید شد. نمونه‌های دستگاه تولیدمثلی پس از جمع‌آوری، در یخدان قرار داده شد و ظرف مدت حداکثر ۳ ساعت به آزمایشگاه علوم دامی دانشگاه صنعتی اصفهان انتقال یافت. سپس برش‌هایی به ابعاد ۱×۱ سانتی‌متر از بخش میانی بدنه و نیز شاخ بزرگتر تمام نمونه‌های رحمی تهیه و برای تثبیت اولیه به مدت ۲۴ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و پس از طی این مدت در آزمایشگاه هیستوپاتولوژی با استفاده از پارافین، قالب‌گیری و با دستگاه میکروتوم برش زده شد و به روش H&E رنگ‌آمیزی گردید. برخی فراسنجه‌های مورد استفاده برای طبقه‌بندی میکروسکوپی نمونه‌های مذکور از مطالعه چاپوانیا و همکاران (۲۰۰۹) استخراج گردید و شامل میزان (نمره ۱ تا ۴) نفوذ نوتروفیل‌ها به درون اندومتریوم، میزان تخریب و دژنره شدن غدد (که در مطالعه حاضر تحت عنوان میزان انسجام سلولی غدد بررسی شد)، و شدت تخریب لایه اپیتلیال اندومتریوم بود. سایر فراسنجه‌های مورد استفاده نیز عبارت بودند از قطر اندومتریوم، میزان عروق خونی، میزان پراکندگی غدد در اندومتریوم، شدت رنگ‌پذیری و میزان فضاهای نکرده اندومتریوم به عنوان شاخصی برای سنجش سلامت بافت، و درصد نواحی فیبروتیک. شایان ذکر آنکه تمامی فراسنجه‌های مذکور در لایه اندومتریوم مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. پردازش آماری تمام داده‌های این آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1 و رویه GLM انجام شد. مدل آماری استفاده شده برای این دسته از آنالیزها به این صورت بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + b(\text{DIM}_i - \text{DIM}) + e_{ij}$$

که در آن Y_{ij} : مقدار عددی هر مشاهده، μ : میانگین کل، T_i : اثر ثابت تیمار i ام، b : ضریب تابعیت مربوط به DIM و e_{ij} : خطای آزمایش بودند. تاثیر شکم زایش در آنالیز آماری این فراسنجه‌ها بی معنا بود. مقایسه میانگین‌ها نیز به روش توکی انجام گردید.

نتایج و بحث



در مطالعه ای که توسط جاود و همکاران در سال ۱۹۹۱ انجام شد، بیوپسی‌هایی از اندومتریوم رحم ۱۱ گاو فحل مکرر جمع‌آوری و از نظر بافت‌شناسی بررسی گردید. اندومتریت خفیف با نفوذ متوسط نوتروفیل‌ها و لمفوسایت‌ها در لایه مخاطی و تخریب اپیتلیوم پوششی مشخص شد. دژنره و نکروز شدن نیز در سلولهای اپیتلیال برخی از غدد اندومتریوم مشاهده گردید. در اندومتریت متوسط، علاوه بر یافته‌های فوق، نفوذ مtrakمی از لمفوسایت‌ها و پلاسماسل‌ها، غیرعادی و کیستیک بودن برخی غدد اندومتریوم و تکثیر فیبروبلاستیک اولیه پیرامون برخی غدد اندومتریال دیده شد. در مطالعه سینگ و همکاران (۲۰۰۸) نیز اندومتریت به وسیله شاخص -هایی مانند نفوذ خفیف تا متوسط نوتروفیل‌ها، احتقان عروقی، خونریزی و ادم بینابینی تشخیص داده شد. نتایج این مطالعه نشان داد درجات متفاوتی از اندومتریت تحت بالینی، به وسیله آزمون هیستوپاتولوژیکال اندومتریوم قابل تشخیص می‌باشد.

نتایج سنجش و مقایسه فراسنجه‌های مرتبط با تغییرات بافتی اندومتریوم در پژوهش حاضر، به طور خلاصه در جدول ۱ نشان داده شده است. با توجه به این جدول در می‌یابیم قطر لایه اندومتریوم بین گاوهای سالم و مبتلا به اندومتریت (به ترتیب $16/05 \pm 2/65$ و $28/11 \pm 2/65$ میکرومتر) تفاوت معنی‌داری داشته است ($P=0/005$). تفاوت‌ها در زمینه نمره پراکندگی غدد در اندومتریوم رحم گاوهای سالم و مبتلا نیز معنی‌دار شد (به ترتیب $1/88 \pm 0/21$ و $2/55 \pm 0/21$). تفاوتها بین گروه سالم و مبتلا به اندومتریت در زمینه نمره انسجام سلولی غدد (به ترتیب $3/11 \pm 0/24$ و $1/77 \pm 0/24$)، $P=0/001$ و درصد نواحی فیبروتیک (به ترتیب $2/55 \pm 1/51$ و $7/33 \pm 1/51$) نیز معنی‌دار بود. تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد عروق خونی (در یک میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی $\times 100$) در اندومتریوم گاوهای سالم ($2/44 \pm 0/79$) و مبتلا به اندومتریت ($0/55 \pm 0/79$) دیده نشد ($P=0/11$). تفاوت نمره شدت رنگ‌پذیری اجزای بافت $3/16 \pm 0/25$ برای گاوهای سالم و $2/05 \pm 0/25$ برای گاوهای مبتلا، $P=0/008$ به عنوان شاخصی برای سنجش سلامت بافت، نیز در مطالعه حاضر معنی‌دار گردید. تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه سالم ($2/66 \pm 0/28$) و مبتلا به اندومتریت ($2/33 \pm 0/28$) در مورد نمره انسجام لایه اپیتلیال اندومتریوم دیده نشد ($P=0/41$). تفاوت نمره فضاها نکروزه بافتی ($1/38 \pm 0/22$ برای گاوهای سالم و $2/00 \pm 0/22$ برای گاوهای مبتلا، $P=0/07$) نیز بی معنی گزارش شد. تفاوت نمره میزان نفوذ نوتروفیل‌ها در اندومتریوم گاوهای سالم ($1/44 \pm 0/20$) و مبتلا به اندومتریت ($2/05 \pm 0/20$) نیز از نظر آماری معنی‌دار بود ($P=0/04$). به علاوه، نتایج این بررسی تفاوت معنی‌داری بین شاخص‌های بافتی مذکور در بدنه و شاخ رحم نشان نداد ($P=0/22$).

جدول ۱- بررسی قطر اندومتریوم، درصد نواحی فیبروتیک، تعداد عروق خونی و نمره (۱ تا ۴) پراکندگی غدد، انسجام سلولی غدد، شدت رنگ‌پذیری، فضاها نکروزه، انسجام اپیتلیوم اندومتر و میزان نفوذ PMN ها در لایه اندومتریوم رحم گاوهای سالم ($n=9$) و مبتلا به اندومتریت ($n=9$) در دوره پس از زایش (خطای معیار $\pm$ میانگین)

نیمار	قطر اندومتریوم (μm)	پراکندگی غدد (score)	انسجام سلولی غدد (score)	نواحی فیبروتیک (%)	عروق خونی (تعداد در یک میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی $\times 100$)	شدت رنگ پذیری (score)	فضاهای نکروزه (score)	انسجام لایه اپیتلیال (score)	میزان نفوذ PMN (score)
سالم	$16/05 \pm 2/65^b$	$1/88 \pm 0/21^b$	$3/11 \pm 0/24^a$	$2/55 \pm 1/51^b$	$2/44 \pm 0/79$	$3/16 \pm 0/25^a$	$1/38 \pm 0/22$	$2/66 \pm 0/28$	$1/44 \pm 0/20^b$
اندومتریت	$28/11 \pm 2/65^a$	$2/55 \pm 0/21^a$	$1/77 \pm 0/24^b$	$7/33 \pm 1/51^a$	$0/55 \pm 0/79$	$2/05 \pm 0/25^b$	$2/00 \pm 0/22$	$2/33 \pm 0/28$	$2/05 \pm 0/20^a$
	$0/005$	$0/04$	$0/001$	$0/04$	$0/11$	$0/008$	$0/07$	$0/41$	$0/04$

ab حرف غیرمشابه در هر ستون برای میانگین ها، نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ($p < 0.05$) می باشد

نتایج مطالعه حاضر مبنی بر افزایش معنادار میزان پراکندگی غدد اندومتریوم، افزایش درصد نواحی فیبروتیک بافت، کاهش انسجام سلولی غدد (تخریب غده ها) و افزایش میزان نفوذ نوتروفیل ها به اندومتریوم گاوهای مبتلا به اندومتریت در مقایسه با گاوهای سالم، به طور کامل با نتیجه مطالعه جاود و همکاران (۱۹۹۱)، بوندورانت (۱۹۹۹)، سینگ و همکاران (۲۰۰۸) و چاپوانیا و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت داشت. تفاوت آشکار ویژگی های بافتی رحم میان گاوهای سالم و مبتلا به اندومتریت در این مطالعه، نشان داد بیوپسی اندومتریال ابزار تشخیصی مفیدی برای اندومتریت و ارزیابی باروری آتی در گاوهای شیری می باشد. این نتیجه مشابه با نتایج مطالعات طالب خان گروسی و همکاران در سال ۲۰۱۰ بود.

منابع

1. Barlund, C. S., Carruthers, T. D., Waldner, C. L. & Palmer, C. W. (2008). A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*. 69, 714-723.
2. Bondurant, R. H. (1999). Inflammation in the bovine female reproductive tract. *Journal of animal science*. 77, 101-110.
3. Chapwanya, A., Meade, K. G., Doherty, M. L., Callanan, J. J., Mee, J. F. & Farrelly, C. O. (2009). Histopathological and molecular evaluation of Holstein-Friesian cows postpartum: Toward an improved understanding of uterine innate immunity. *Theriogenology*. 71, 1396-1407.
4. Javed, M. T. & Khan, M. Z. (1991). Bacteriological and biohistopathological studies in repeat breeding cows. *Journal of Islamic Academy of Sciences*. 4, 242-244.
5. Sheldon, I. M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G. & Schuberth, H. J. (2009). Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biology of reproduction*. 81, 1025-1032.
6. Singh, J., Singla, P., Dhaliwal, G. S., Kumar, A. & Banga, H. S. (2008). Histomorphological alterations in uterus of repeat breeding cows with subclinical endometritis following E. coli lipopolysaccharide and autologous serum therapy. *The Indian Journal of animal sciences*. 78, [Abstract].
7. Talebkhan Garoussi, M., Sasani, F. & Hovareshti, P. (2010). The histopathological survey of uterine tissue in Holstein dairy cows with or without recorded reproductive disorders. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*. 2, 101-108.
8. Westermann, S., Drillich, M., Kaufmann, T. B., Madoz, L. V. & Heuwieser, W. (2010). A clinical approach to determine false positive findings of clinical endometritis by vaginoscopy by the use of uterine bacteriology and cytology in dairy cows. *Theriogenology*. 74, 1248-1255.

Study of endometritis histology in dairy cattle

Bahareh Dolatkhanh *, Hamid Reza Rahmani, Amir Hossein Mahdavi, Mohammad Ali Edriss, Mohammad Khorvash and Mohsen Rahimi

Isfahan University of Technology

* Corresponding E-mail address: dolatkhanh_bahareh@yahoo.com

Abstract :

Endometrial biopsy is one of the diagnostic approaches for endometritis and its classification, based on type and extent of pathological changes in uterine tissue. The objective of this study was to determine and compare such uterine histological changes between healthy and endometritic cows. At first, genital tracts of cows were collected from slaughterhouse. These cows were classified into endometritic (n=9) and control (n=9) groups, based on culling's reasons. Immediately after sampling, slices from middle part of the body and larger horn of uterus were processed and stained with H&E procedure, and then were studied with light microscope at magnification *400. All statistical analyses were performed using SAS 9.1 and GLM procedure. Histologically, endometritis was characterized by significant increases in endometrium diameter ($P=0.005$), neutrophils infiltration ($P=0.04$), glands dispersal ($P=0.04$) and percent of fibrotic regions ($P=0.04$) and significant decreases in staining density ($P=0.008$) and cellular solidarity in endometrial glands ($P=0.001$) of endometritic cows in comparison with healthy cows. There were no significant differences between groups for number of vessels, epithelial solidarity, and necrotic regions ($P=0.07$). Furthermore, there were not significant differences between histological criteria in the body and horn of uterus. These distinct differences on histological characteristics of uterus between healthy and endometritic cows, suggested that endometrial biopsy is a useful and accurate procedure for diagnosis of endometritis.

Keywords: endometritis, histology, endometrial biopsy, dairy cattle

ذوب با افزودن ترهالوز در رقیق کننده‌های عاری از پروتئین حیوانی - بهبود کیفیت اسپرم قوچ پس از فرآیند انجماد

ابوذر نجفی^{۱*}، مهدی ژندی^۱، آرمین توحیدی^۱، محسن شرفی^{۱،۲}، عباس اکبری شریف^۳، مجتبی امام وردی^۱
۱- گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، ۲- گروه جنین شناسی، پژوهشکده علوم تولید
مثل، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران ۳- کارشناس سازمان جهاد کشاورزی استان تهران
* مسئول مکاتبات: abozar.najafi@ut.ac.ir

چکیده:

قند ترهالوز به عنوان محافظت کننده‌ای برون سلولی است که با آب‌کشی از سلول و کاهش تشکیل کریستال‌های درون سلولی آسیب به غشای اسپرم را می‌کاهد. فرضیه این مطالعه، انجماد اسپرم در رقیق کننده هایپراسموتیک به وسیله افزودن غلظت‌های مختلف ترهالوز به رقیق کننده حاوی لسیتین سویا و اثر آن روی فراسنجه‌های جنبایی اسپرم، یکپارچگی غشا، زنده‌مانی و میزان اسپرم‌های غیر طبیعی در منی منجمد- یخ‌گشایی شده قوچ می‌باشد. در این مطالعه، نمونه‌های منی از چهار قوچ بالغ با استفاده از مهبل مصنوعی جمع‌آوری شد. نمونه‌های منی با رقیق کننده تریس حاوی لسیتین سویا با غلظت‌های مختلف ترهالوز (۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار) و فاقد ترهالوز (گروه شاهد) رقیق و پس از سرد سازی در پایوت‌های ۰/۲۵ میلی‌لیتری منجمد شدند. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار ترهالوز باعث افزایش معنی‌دار جنبایی کل، جنبایی پیش رونده، زنده‌مانی و یکپارچگی غشا اسپرم نسبت به غلظت ۵۰ میلی‌مولار و گروه شاهد شده است ($p < 0.05$). نتایج این پژوهش نشان دهنده آن است که افزودن ترهالوز ۱۰۰ میلی مولار در رقیق کننده حاوی لسیتین سویا باعث بهبود جنبایی، یکپارچگی، زنده‌مانی، و کاهش میزان اسپرم غیر طبیعی شده و باعث بهبود کیفیت اسپرم منجمد شده می‌شود.
واژه‌های کلیدی: انجماد- لسیتین سویا- ترهالوز- جنبایی- قوچ

مقدمه:

انجماد اسپرم به توسعه تکنیک‌های تولید مثلی نظیر، تلقیح مصنوعی و لقاح آزمایشگاهی کمک می‌کند. فرایند انجماد اسپرم با دیگر تکنولوژی‌های تولید مثلی که برای حفظ گونه‌های در حال انقراض و همچنین حل مشکل نابوری وجود دارد، مرتبط است (۴). اگرچه زرده تخم مرغ یکی از رایج‌ترین نگه‌دارنده‌های برون سلولی است که باعث حفاظت از اسپرم طی فرآیند انجماد- یخ‌گشایی می‌شود، ولی به دلیل بروز مشکلاتی از جمله عدم امکان استاندارد سازی و وجود احتمالی آلودگی‌های میکروبی، در سال‌های اخیر تلاش‌هایی به منظور جایگزین کردن آن با منابع دیگر از جمله منابع گیاهی صورت گرفته است (۷). غشای پلاسمای اسپرم یکی اجزا کلیدی در سلول می‌باشد و سلول را تحت فرایند انجماد زنده نگه می‌دارد. اگرچه رقیق کننده‌های ایزو- اسموتیک به طور معمول در رقیق سازی منی قوچ استفاده می‌شود (۱)، ولی رقیق کننده‌های هایپراسموتیک با غلظت‌های مختلف قند در حال گسترش و این ترکیبات بیشتر به عنوان بهبود دهنده‌های یکپارچگی غشای اسپرم بعد از فرایند انجماد - یخ‌گشایی شناخته می‌شوند. عمل محافظت کنندگی ترهالوز به این شکل است که آب داخل سلولی را برای انجماد بهتر کاهش می‌دهد و به دنبال آن میزان آسیب به سلول را به وسیله کاهش تشکیل کریستال‌های یخ، کاهش می‌دهد (۳). هدف از این مطالعه به کار گرفتن غلظت‌های مختلف ترهالوز در رقیق کننده تریس حاوی لسیتین برای کاهش میزان صدمه به اسپرم و بهبود کیفیت آن برای افزایش میزان باروری می‌باشد.

مواد و روش‌ها:

نمونه‌های منی در فصل تولید مثلی از چهار قوچ (۳ تا ۵ ساله) بالغ نژاد زندی که در ایستگاه پرورش اصلاح نژاد گوسفند زندی ورامین تحت شرایط یکسان جیره و جایگاه نگهداری می‌شدند به وسیله مهبل مصنوعی و دو بار در هفته به مدت ۵ هفته جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها فوراً بعد از جمع‌آوری در حمام آب گرم ۳۳ درجه سانتی‌گراد تا زمان ارزیابی قرار داده شدند. پس از آن غلظت و جنبایی اسپرم، حجم و میزان اسپرم غیر طبیعی ارزیابی شد، و فقط از نمونه‌هایی که دارای اسپرم‌های با جنبایی بیش از ۷۰ درصد، حجم بین ۱ تا ۲ میلی‌لیتر، غلظت بیش از 3×10^9 اسپرماتوزوآ در میلی‌لیتر و کمتر از ۱۰ درصد اسپرم غیر طبیعی داشت، برای انجماد استفاده شد. برای حذف اثرات فردی قوچ، نمونه‌های منی با هم مخلوط شدند. بافرتریس (تریس ۲۷/۱ گرم در لیتر، سیتریک اسید ۱۴ گرم در لیتر، فروکتوز ۱۰ گرم در لیتر) و لستین سویای ۱ درصد وزنی/حجمی و گلیسرول ۵ درصد (حجمی/حجمی) به عنوان رقیق کننده استفاده شد. غلظت‌های مختلف ترهالوز (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) به رقیق کننده فوق اضافه شد. رقیق کننده در گروه شاهد فاقد ترهالوز بود. بعد از رقیق سازی، نمونه‌ها در داخل پایوت‌های ۰/۲۵ میلی‌متری کشیده شده و ظرف مدت ۲ ساعت تا چهار درجه سانتی‌گراد سرد شده و بعد از سردسازی، برای انجماد، پایوت‌ها در ارتفاع ۵ سانتیمتری از سطح ازت مایع در معرض بخار ازت قرار داده شدند و پس از آن، در ازت مایع غوطه‌ور شدند. به منظور ارزیابی اسپرم بعد از فرایند انجماد پایوت‌های منجمد شده در حمام آب گرم ۳۷ درجه و طی ۳۰ ثانیه یخ گشایی شدند. ارزیابی ویژگی‌های جنبایی اسپرم به وسیله کامپیوتر (CASA, Version 12 IVOS, USA) انجام شد. ارزیابی زنده‌مانی اسپرماتوزوآ در نمونه‌ها به وسیله روش رنگ‌آمیزی ائوزین-نگروزین انجام شد (۶). تست HOST برای ارزیابی یکپارچگی غشای اسپرم به کار برده شد (۵). برای ارزیابی اسپرم‌های غیر طبیعی هم از محلول هانکوک استفاده شد (۹). طرح آماری به کار رفته در پژوهش طرح کاملاً تصادفی بود. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار SAS با رویه GLM آنالیز و میانگین‌ها با آزمون توکی مقایسه شد.

نتایج و بحث:

اثر افزودن غلظت‌های متفاوت ترهالوز بر ویژگی‌های جنبایی اسپرم در رقیق کننده منی قوچ در جدول یک آورده شده است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که تیمار ترهالوز ۱۰۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری روی جنبایی کل و جنبایی پیش رونده اسپرم به ترتیب با مقادیر $(61/71 \pm 1/88)$ و $(27/86 \pm 1/35)$ در مقایسه با تیمارهای ترهالوز ۵۰ میلی‌مولار به ترتیب با مقادیر $(52/00 \pm 1/88)$ و $(21/29 \pm 1/35)$ و گروه شاهد به ترتیب با مقادیر $(43/00 \pm 1/88)$ و $(18/57 \pm 1/35)$ داشته است ($p < 0/05$). مقایسه بین سطوح مختلف ترهالوز نشان داد که غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار در فراسنجه‌های VAP، VSL، VCL تفاوت معنی‌داری با هم ندارند ($p > 0/05$)، ولی ترهالوز ۱۰۰ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار این فراسنجه‌ها نسبت گروه شاهد شده است ($p < 0/05$). همچنین ترهالوز ۱۰۰ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار زنده‌مانی و یکپارچگی غشای اسپرم در مقایسه با ترهالوز ۵۰ میلی‌مولار و گروه شاهد شده است ($p < 0/05$). هر دو سطح ترهالوز (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) باعث کاهش معنی‌دار اسپرم غیر طبیعی نسبت به گروه شاهد شده‌اند ($p < 0/05$). یافته‌های این پژوهش با نتایج بسیاری از محققین مانند آیسن و همکاران (۲۰۰۲)، جعفرآوغلی و همکاران (۲۰۱۱)، ماتسوکا و همکاران (۲۰۰۶) در قوچ، ابوگلا و همکاران (۲۰۰۳)، نینگ و همکاران (۲۰۱۰) در بز، مطابقت داشت. تفاوت عمده این آزمایش با آزمایشات دیگر جایگزینی زرده تخم مرغ با لستین سویای ۱ درصد می‌باشد. نتایج تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که محافظت کننده‌های برون سلولی مانند ترهالوز به دلیل داشتن وزن مولکولی بالا، قادر به عبور از غشای اسپرم نبوده و نقش برون سلولی ایفا می‌کنند و با ایجاد فشار اسمزی، باعث آب‌کشی از سلول

اسپرم، پیش از فرایند انجماد می‌شوند و از تشکیل کریستال‌های یخ درون سلولی جلوگیری و یا میزان تشکیل این کریستال‌ها را کاهش می‌دهند (۱،۲،۸). نتایج تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که در طول انجماد، ترهالوز با فسفولیپیدهای غشای پلاسمایی واکنش می‌دهد و موجب حفاظت از غشا، افزایش سیالیت و کاهش تشکیل کریستال‌های یخ می‌شود و در نتیجه باعث تثبیت و حفظ سلامتی غشای اسپرم در طی انجماد می‌شود (۱). در مطالعه‌ای که شرفی و همکاران (۲۰۰۹)، فروزان فر و همکاران (۲۰۱۰)، روی انجماد اسپرم با جایگزینی زرده‌ی تخم مرغ با لسیتین سویا انجام داده‌اند گزارش کرده‌اند که لسیتین سویا ۱ درصد می‌تواند جایگزین زرده‌ی تخم مرغ در رقیق کننده‌ی منی قوچ شود (۷،۱۰). نتایج بدست آمده از این آزمایش نشان می‌دهد که افزودن غلظت‌های مختلف ترهالوز در رقیق کننده حاوی لسیتین سویا باعث بهبود کیفیت اسپرم شده، در نتیجه می‌توان از این رقیق کننده برای بهبود کیفیت اسپرم منجمد شده بهره برد.

جدول ۱- تأثیر ترهالوز بر فراسنجه‌های مختلف اسپرم بعد از فرایند انجماد- ذوب

صفات	شاهد	ترهالوز ۵۰	ترهالوز ۱۰۰	SE
جنبایی کل (%)	۴۳/۰۰ ^c	۵۲/۰۰ ^b	۶۱/۷۱ ^a	۱/۸۸
جنبایی پیش رونده (%)	۱۸/۵۷ ^b	۲۱/۲۹ ^b	۲۷/۸۶ ^a	۱/۳۵
VAP $\mu\text{m/s}$	۸۶/۸۰ ^b	۹۱/۹۱ ^{ab}	۹۶/۳۳ ^a	۱/۹۳
VSL $\mu\text{m/s}$	۶۶/۹۳ ^b	۷۰/۹۱ ^{ab}	۷۵/۹۶ ^a	۱/۴۴
VCL $\mu\text{m/s}$	^b ۱۵۷/۱۹	^a ۱۵۹/۰۷ ^{ab}	^a ۱۷۰/۴۷	۳/۴۳
ALH μm	۸/۵۱	۸/۲۱	۸/۱۴	۰/۲۳
LIN %	۴۲/۴۳	۴۴/۰۰	۴۴/۵۷	۰/۶۸
زنده‌مانی	۵۱/۷۱ ^c	۵۸/۵۷ ^b	۶۷/۶۷ ^a	۱/۰۷
یکپارچگی غشای	۴۰/۵۸ ^c	۴۹/۳۶ ^b	۵۵/۹۴ ^a	۱/۳۷
اسپرم با مورفولوژی غیرطبیعی	^a ۲۱/۹۹	۱۵/۲۱ ^b	۱۴/۰۵ ^b	۱/۴۸

حروف غیر مشابه تفاوت معنی دار در آزمون توکی ($p < 0/05$)

منابع:

- 1.Aboagla EM, Terada T. 2003. Trehalose-enhanced fluidity of the goat sperm membrane and its protection during freezing. Biol. Reprod. 69: 1245-1250.
- 2.Aisen EG, Alvarez HL, Venturino A, Garde JJ. 2000. Effect of trehalose and EDTA on cryoprotective action of ram semen diluents. Theriogenology. 53: 1053-1061.
- 3.Aisen EG, Medina VH, Venturino A. 2002. Cryopreservation and post-thawed fertility of ram semen frozen in different trehalose concentrations. Theriogenology. 57: 1801-1808.
- 4.Barbas JP, Mascarenhas RD. 2009. Cryopreservation of domestic animal sperm cells. Cell Tissue Bank. 10: 49-62.

5. Buckett WM, Luckas MJM, Aird IA, Farquharson RG, Kingsland CR, Lewis-Jones DI. 1997. The hypo-osmotic swelling test in recurrent miscarriage. *Fertility and sterility*. 68: 506-509.
6. Evans G, Maxwell W. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. ed: Butterworths, London,.
7. Forouzanfar M, Sharafi M, Hosseini S, Ostadhosseini S, Hajian M, Hosseini L, Abedi P, Nili N, Rahmani H, Nasr-Esfahani M. 2010. In vitro comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of ram semen. *Theriogenology*. 73: 480-487.
8. Jafaroghli M, Khalili B, Farshad A, Zamiri M. 2011. The effect of supplementation of cryopreservation diluents with sugars on the post-thawing fertility of ram semen. *Small Ruminant Research*. 96: 58-63.
9. Schäfer S, Holzmann A. 2000. The use of transmigration and Spermac (tm) stain to evaluate epididymal cat spermatozoa. *Animal Reproduction Science*. 59: 201-211.
10. Sharafi M, Forouzanfar M, Hosseini SM, Hajian M, Ostadhosseini S, Hosseini L, Abedi P, Nili N, Rahmani HR, reza Javaheri A. 2009. In vitro comparison of soybean lecithin based-extender with commercially available extender for Ram semen cryopreservation. *International Journal of Fertility and Sterility*. 3: 149-152.

Improving in frozen-thawed ram sperm quality using trehalose in free-animal protein extender

A. Najafi^{1*}, M. Zhandi¹, A. Towhidi¹, M. Sharafi^{1,2}, A. Akbari Sharif³, M. Emamverdi¹

1. Department of Animal Science, University of Tehran, Tehran, Iran

2. Department of Embryology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran 3. Experts agency Agriculture Provincial Tehran

* Corresponding E-mail address: abozar.najafi@ut.ac.ir

Abstract

Trehalose is an intracellular cryoprotectant which reduces the formation of intracellular ice crystallization through sperm dehydration. The purpose of this study was to evaluate the different concentration of Trehalose added in hyperosmotic soybean-lecithin based extender on sperm motility, membrane integrity, viability, and sperm abnormality after freezing-thawing process. Semen samples were collected from four mature ram by artificial vagina and then extended by soybean-lecithin based extender supplemented by 0, 50 and 100 mM trehalose and then were frozen using 0.25 mL straw. The results showed that 100 mM trehalose led to produce a higher motility, progressive motility, viability and membrane integrity compare to 0 and 50 mM trehalose. We concluded that 100 mM trehalose in soybean lecithin based extender significantly increased the sperm motility, viability, membrane integrity and reduced the sperm abnormality after freezing-thawing.

Keywords: freezing-soybean lecithin- trehalose- motility- ram

اثرات کوآنزیم Q (COQ₁₀) بر ایمنی همورال و تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC در خروس‌های نژاد راس

محمد مهدی نبی^{۱*}، حمید کهرام^۲، مهدی ژندی^۳، محمودرضا امینی^۱

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران

۲- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی گرایش فیزیولوژی دام پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران

*محمد مهدی نبی، دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران،

mehdi_nabi@ut.ac.ir

چکیده

کوآنزیم Q یک شبه ویتامین محلول در چربی می‌باشد که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و نیز در زنجیره انتقال الکترون جهت تولید ATP دارای نقش مهمی می‌باشد. عملکرد همه ارگان‌های بدن به در دسترس بودن COQ₁₀ وابسته است. سیستم ایمنی نیز در حضور مقادیر بسنده از COQ₁₀ دارای عملکرد مناسبی بوده و کمبود آن منجر به سرکوب سیستم ایمنی می‌شود. هدف از این تحقیق، استفاده از COQ₁₀ جهت بهبود سیستم ایمنی می‌باشد. تعداد ۳۶ خروس در ۳ گروه قرار گرفتند و روزانه ۰، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم COQ₁₀ به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند. طول مدت درمان ۲۸ روز و خون‌گیری در پایان درمان انجام شد. در این آزمایش از محلول رقیق شده ۰/۵ درصد SRBC^{۱۰۷} به میزان ۰/۲ سی‌سی به عضله سینه پرنده‌ها تزریق شد و بعد از ۷ روز از همه پرنده‌ها خون‌گیری شد. برای تعیین تیتر آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن گلبول قرمز گوسفند (SRBC)، از روش هم‌آگلوتیناسیون^{۱۰۸} میکروتیتر استفاده شد. همچنین جهت اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی مقاوم به ۲-مرکاپتواتانول^{۱۰۹} (IgG) از مرکاپتواتانول به میزان ۵۰ میکرولیتر استفاده شد. در نهایت با کسر تیتر آنتی‌بادی مقاوم به ۲-مرکاپتواتانول (IgG) از تیتر پاسخ کل (SRBC)، تیتر ایمنوگلوبولین M (IgM)، بدست آمد. نتایج بدست آمده حاکی از بهبود عملکرد ایمنی پرنده‌هایی بود که روزانه ۳۰ میلی‌گرم COQ₁₀ به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. میزان IgM و حساسیت علیه SRBC افزایش معنی‌داری نشان داد، اما IgG تفاوت معنی‌داری بین پرنده‌های درمان شده با گروه شاهد نداشت.

کلمات کلیدی: تیتر ایمنوگلوبولین - گلبول قرمز کوسفند - سیستم ایمنی

مقدمه

کوآنزیم Q که به عنوان ubiquinone شناخته می‌شود ماده‌ای است که در زنجیره انتقال الکترون شرکت داشته و دارای ویژگی‌های مشترک با ویتامین‌های محلول در چربی می‌باشد. عملکرد همه ارگان‌ها وابسته به سلول‌هایی است که دارای مقادیر کافی از COQ₁₀ برای ارائه انرژی پایه می‌باشد (۳). کمبود ویتامین‌ها و مواد غذایی به عنوان علل شایع ضعف سیستم ایمنی شناخته شده است. تعجب‌آور نیست که در نتیجه کمبود COQ₁₀ بدن دچار سرکوب سیستم ایمنی شود. با این حال نتیجه حیرت‌انگیز استفاده از COQ₁₀ به عنوان مکمل جهت بهبود سیستم ایمنی است که در حیوانات دارای سیستم ایمنی نرمال و سرکوب شده، بهبود قابل توجهی در سیستم ایمنی نشان داده است (۴). در سال ۱۹۷۰، برای اولین بار گزارش شد هنگامیکه COQ₁₀ به موش‌ها داده شد، سلول‌های ایمنی توانایی قابل توجهی برای کشتن باکتری‌ها و همچنین پاسخ آنتی‌بادی بالایی را

¹⁰⁷ Sheep red blood cell

¹⁰⁸ Hemagglutination

¹⁰⁹ Mercapto Ethanol



نشان دادند. همچنین یافته‌ها نشان می‌دهد که تجویز COQ₁₀ باعث افزایش ایمونوگلوبولین‌ها می‌شود (IgG). تجویز COQ₁₀ در حیوانات، سیستم ایمنی را تحریک کرده و منجر به افزایش تعداد یا فعالیت ماکروفاژها و لنفوسیت‌های T می‌شود. همچنین گزارش شده، COQ₁₀ در انسان منجر به افزایش IgG و نسبت CD4 به CD8 شده که همه این‌ها در نتیجه خاصیت آنتی-اکسیدانی COQ₁₀ می‌باشد (۱-۲)

مواد و روش‌ها

۳۶ خروس نژاد راس در ۳ گروه ۰، ۱۵ و ۳۰ میلی گرم COQ₁₀ (روزانه به ازای هر کیلوگرم وزن بدن داروها از طریق منقار به پرنده‌ها خورانده شد) قرار گرفتند و به مدت ۴ هفته با COQ₁₀ درمان شدند. خون‌گیری از پرنده‌ها به صورت هفتگی از ورید زیربال انجام شد. پس از قطع درمان، آزمایش SRBS بر روی همه خروس‌ها انجام شد. در این آزمایش از اریتروسیت‌های گوسفند به عنوان آنتی ژن تحریک کننده سلول‌های B استفاده گردید. جهت استخراج گلبول‌های قرمز گوسفند، خونگیری از گوسفند در محلول سترات سدیم ۳/۸٪ (برای جلوگیری از انعقاد) انجام گردید. سپس گلبول‌های قرمز گوسفند سه بار توسط بافر سالین فسفات (PBS)^{۱۱۰} شستشو داده شد. سپس سوسپانسیون ۰/۵٪ گلبول‌های قرمز به میزان ۰/۲ سی‌سی (cc) در هفته آخر درمان با COQ₁₀ به همه پرنده‌ها از طریق عضله سینه تزریق شد و هفت روز بعد از همین پرنده‌ها از ورید زیر بال خونگیری و ۱۶ ساعت بعد پس از انعقاد خون، سرم نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه جداسازی گردید. با استفاده از روش هم‌آگلوتیناسیون^{۱۱۱} غلظت آنتی بادی‌های تولید شده ضد SRBC اندازه‌گیری گردید. در این روش نمونه‌های سرم خون در میکروپلیت‌های ۹۶ تایی به میزان ۵۰ میکرولیتر ریخته شد و به صورت پلکانی تا ۱۰ مرتبه رقیق گردید و با سرم نمکی و همچنین گلبول‌های قرمز جمع آوری شده از همان گوسفند که گلبول‌های قرمز تزریق شده به جوجه‌ها از آن تهیه شده بود، مخلوط گردید و بمدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه نگهداری شد. سپس شماره حفره‌هایی از میکروپلیت که در آن‌ها آگلوتیناسیون قابل مشاهده نبود، به نسبت Log₂ گزارش گردید (۵، ۷). برای انجام تست IgG مراحل نیز مانند روش قبل بود اما به جای سرم نمکی از ماده مرکاپتواتانول^{۱۱۲} به میزان ۵۰ میکرولیتر استفاده شد (۸) و در نهایت داده‌های گزارش شده از SRBC کل کسر شد و IgM بدست آمد. داده‌های به دست آمده از این طرح با استفاده از روش مدل خطی عمومی نرم‌افزار SAS 9.1 براساس رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج و بحث

با توجه به جدول ۱، مصرف COQ₁₀ منجر به افزایش غلظت آنتی‌بادی‌های تولید شده علیه SRBC در خون شد که فقط در تیمار ۲ که مقدار ۳۰ میلی گرم COQ₁₀ به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند این افزایش معنی‌دار بود که نشان دهنده بهبود حساسیت سیستم ایمنی این گروه می‌باشد. ایمونوگلوبولین G با توجه به اینکه در تیمارهای درمان شده با COQ₁₀ افزایش نشان داد، اما این اختلاف معنی‌دار نبود. ایمونوگلوبولین M دارای اختلاف معنی‌دار در تیمار ۲ بود که نشان‌دهنده افزایش ایمنی همورال این گروه از پرنده‌ها می‌باشد. با توجه به اینکه COQ₁₀ منجر به افزایش فعالیت ماکروفاژها و لنفوسیت‌های T می‌شود

¹¹⁰ Phosphate Buffered Salin

¹¹¹ Hemagglutination

¹¹² Mercapto Ethanol

(۲، ۴، ۶) نتایج بدست آمده با این نظریه تطابق داشته و مصرف COQ₁₀ به میزان ۳۰ میلی گرم در روز منجر به افزایش تولید آنتی بادی و افزایش ایمنی همورال پرندوها شد.

جدول ۱ - تاثیر مصرف COQ₁₀ بر ایمونوگلوبولین های G و M و SRBC

IgM	IgG	SRBC	
۰,۷۰۴۶±۰,۱۹۱ ^b	۱,۳۹۶۴±۰,۱۹۸ ^a	۲,۲۲۱۳±۰,۱۲۴ ^b	تیمار ۱
۱,۵۷۷۰±۰,۱۸۲ ^a	۱,۸۰۷۲±۰,۱۸۹ ^a	۲,۷۵۰۷±۰,۱۱۸ ^a	تیمار ۲
۰,۵۶۶۶±۰,۲۴۵ ^b	۱,۵۶۱۷±۰,۲۱۹ ^a	۲,۰۴۶۸±۰,۱۳۷ ^b	تیمار ۳

تیمار ۱- دریافت روزانه ۱۵ میلی گرم COQ₁₀ به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، تیمار ۲- دریافت روزانه ۳۰ میلی گرم COQ₁₀ به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، تیمار ۳- گروه شاهد بدون دریافت دارو. حروف a و b در ستون ها. اعدادی که با یکدیگر حرف مشترک ندارند دارای اختلاف معنی دار می باشند (معنی داری در سطح ۰/۰۵).

منابع

1. Coenzyme Q10 / Co Q10 / Stockholm Protocol. Natural cancer Treatments.
2. Coenzyme Q10 increases T4/T8 ratios of lymphocytes in ordinary subjects and relevance to patients having the AIDS related complex. BIOCHEM BIOPHYS RES COMMUN 1991.
3. Crane FL, Sun IL, and Sun EE. The essential functions of coenzyme Q. Journal of Molecular Medicine 71: S55-S59, 1993.
4. Gissen AS. CoQ10 Helps the Immune System and Brain Function. In: Nutritional News, Vitamin Research Products.
5. Hosseini S, Arshami J, and Torshizi ME. Immunomodulatory Effects of Graded Copper and Zinc on SRBC Titer and Lymphoid Organs in Broiler Chicks. Journal of Animal and Veterinary Advances 9: 2010.
6. JOSEPH LEVY M. Immunonutrition: The Pediatric Experience. Nutrition 14: 1998.
7. Qureshi MA, Ali R, Cheema MA, Ahmed Z, and Roth H. Immunmilk® Feeding Increases Growth and Immune Responses in Broiler Chicks. International Journal of Poultry Science 2004.
8. Senaldi G, Stolina M, Guo J, Faggioni R, McCabe S, Kaufman SA, Van G, Xu W, Fletcher FA, Boone T, Chang M-S, Sarmiento U, and Cattley RC. Regulatory Effects of Novel Neurotrophin-1/B Cell-Stimulating Factor-3 (Cardiotrophin-Like Cytokine) on B Cell Function. The Journal of Immunology 168: 5690-5698, 2002.

Effects of Coenzyme Q on The Humoral Immunity and Antibody Titer Against SRBC in Ross Roosters

Mohammad Mahdi Nabi^{*1}, Hamid Kohram², Mehdi Zahndi², Mahmood Reza Amini¹

1-MSc Student of Animal Physiology- Department of Animal Science- University of Tehran

2-Faculty of Animal Science- Department of Animal Science- University of Tehran

*Mohammad Mahdi Nabi, MSc Student of Animal Physiology- Department of Animal Science- University of Tehran, Mehdi_nabi@ut.ac.ir

Abstract

Coenzyme Q is a fat-soluble vitamin-like antioxidant. It also has an important role in the electron transport chain to produce ATP. The Function of all organs is dependent on the availability of COQ10. The immune system Function properly in the presence of sufficient amounts of COQ10 and its deficiency can lead to immune suppression. The purpose of this study was to improve the immune system performance by using of COQ10. 36 roosters were used in three groups with 12 in each. Birds were given 0, 15 or 30 mg coenzyme per kg body weight for 4 weeks. At the end of treatment period Blood samples were taken. 0.2 cc of diluted 0.5% SRBC solution was injected to the pectoral muscle and blood samples were taken after 7 days from all birds. To determine the antibody against the antigen, sheep red blood cells (SRBC), Hemagglutination method was used. To measure antibody titer resistant to 2 - mercaptoethanol (IgG), 50 microliters of 2 - mercaptoethanol was used. Results indicated an improved immune function of Birds treated with COQ10 at 30 mg per Kg of body weight daily. The sensitivity of IgM and IgG against SRBC increased significantly, but no differences in igG was observed between the control group and treated birds.

Keywords: Immunoglobulin titer – Sheep Red Blood Cell–Immune System.

تاثیر کوآنزیم کیو (COQ10) بر اکسیداسیون اسپرم خروس

محمد مهدی نبی^{۱*}، حمید کهرام^۲، مهدی ژندی^۲، حسین مروج^۲، حسن مهربانی یگانه^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران

۲- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران

*محمد مهدی نبی، دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران،

mehdi_nabi@ut.ac.ir

چکیده

مقادیری از CoQ10 برای تنفس سلولی و تولید ATP نیاز است. هم‌چنین CoQ10 می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان داخل سلولی در سطح میتوکندری عمل کند، شاید بتوان جهت بهبود ناباروری در مردان به حساب آورده شود. مواد و روش‌ها: ۳۶ خروس در ۳ گروه ۱۲ تایی مورد استفاده قرار گرفت. به پرنده‌ها ۱۵ و یا ۳۰ میلی‌گرم CoQ10 به مدت ۴ هفته داده شد. از پرنده‌گان دوبار در هفته به مدت ۸ هفته اسپرم‌گیری شد و میزان اکسیداسیون اندازه‌گیری شد. در تست TBA^{۱۱۳}، یک ملکول MDA^{۱۱۴} با دو ملکول TBA واکنش می‌دهد و تولید رنگ صورتی می‌کند که در طول موج ۵۳۲-۵۳۵ نانومتر بیشترین جذب را دارد. برای اطمینان از اینکه در طول آزمایش هیچگونه اکسیداسیون لپیدی صورت نگیرد می‌توان BHT و EDTA (با غلظت نهایی یک میلی مولار) را قبل از رسوب TCA به نمونه اضافه کرد. نمونه با ۲ برابر حجم از TCA ده درصد جهت رسوب پروتئین مخلوط می‌شود. پس از سرد شدن نمونه، جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد و غلظت MDA محاسبه شد. نتایج: در گروه تیمار شده با CoQ10 میزان MDA منی به طور معنی داری کاهش یافت (سطح معنی‌داری P = 0.001). کوآنزیم Q در غشای سلول در مجاورت زنجیره‌های چربی غیر اشباع قرار داشته و همچون یک پاک کننده اولیه رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند.

کلمات کلیدی: کوآنزیم Q- مالون‌دی‌آلدهید- اسپرم خروس- ناباروری- اکسیداسیون

مقدمه

برای انجام لقاح طبیعی و با کیفیت، حضور دو سلول زایای (اسپرم و تخمک) سالم و عاری از هر گونه نقص ضروری می‌باشد. مطالعات نشان داده است کوآنزیم Q₁₀ (COQ10) در سلامت سلول‌های بدن از جمله اسپرم دخیل می‌باشد (۸-۹). عامل موثر در تامین سلامت اسپرم، محافظت در برابر عوامل اکسیداتیو است که COQ10 دارای نقش آنتی‌اکسیدانی قوی برای محافظت از غشای سلولی است (۵-۶). کمبود COQ10 در جیره و بدن موجود زنده منجر به کاهش ذخایر COQ10 موجود در بافت‌های مختلف و از جمله اسپرم شده و در نتیجه باعث نقص در عملکرد و کاهش درصد باروری اسپرم می‌شود. هم‌چنین مشخص شده است که کمبود COQ10 در عملکرد و تکثیر سلول‌های سرتولی و در نتیجه تولید اسپرم سالم و کافی تاثیر به سزایی دارد (۲). بنابراین به نظر می‌رسد که تغذیه COQ10 می‌تواند اثرات مثبتی بر خصوصیات کمی و کیفی اسپرم در خروس داشته باشد.

مواد و روش‌ها

¹¹³ Thiobarbituric acid

¹¹⁴ Malondialdehyde

در این تحقیق از ۳۶ خروس بالغ نژاد راس که در قفس‌های جدا نگه‌داری می‌شدند استفاده شد. دریافت COQ_{10} به میزان ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۱، ۴، ۷) در روز از طریق منقار به دو گروه از خروس‌ها خورانده شد (تیمار ۱ و ۲) و ۱۲ خروس به عنوان شاهد (تیمار ۳) در نظر گرفته شدند. در ابتدا برای عادت کردن پرنده‌های نر به برنامه اسپرم‌گیری با روش مالش شکمی، یک دوره ۱ هفته‌ای در نظر گرفته شد، سپس خروس‌ها در ۳ دوره زمانی به مدت ۸ هفته مورد آزمایش قرار گرفتند. دوره اول فقط جیره را دریافت کرده و کنترل در نظر گرفته شدند. در دوره دوم به میزان ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم COQ_{10} به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به خروس‌ها خورانده شد و در دوره سوم نیز فقط جیره دریافت کردند. اسپرم از پرنده‌ها گرفته و MDA حاصل از پراکسیداسیون لیپید در زمان اسپرم‌گیری با دستگاه اسپکتروفتومتری به روش استربائور و چیسمن (۳) اندازه‌گیری شد و داده‌های بدست آمده با نرم‌افزار SAS 9.1 رویه Repeat measurement آنالیز گردید.

نتایج و بحث

COQ_{10} در همه سلول‌ها به دو شکل اکسید و احیا با فرم‌های quinone و quinol می‌باشند که فرم quinol آن که فرم احیا می‌باشد، خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد و از آن‌جاییکه مقدار زیادی از COQ_{10} موجود در غشای سلولی به فرم quinol می‌باشد، می‌توان آن‌را به عنوان یک آنتی‌اکسیدان بسیار موثر دانست (۲). همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، خوراندن COQ_{10} به خروس‌ها موجب کاهش معنی‌دار در میزان MDA موجود در اسپرم شد، ولی تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار مشاهده نشد. با توجه به جدول ۱ در هفته ۶ پس از قطع دارو، میزان MDA به تدریج افزایش یافت ولی همچنان در این دوره نیز بین تیمارهای درمان‌شده با COQ_{10} و گروه شاهد تفاوت معنی‌دار وجود داشت. COQ_{10} در غشا در مجاورت زنجیره‌های چربی غیر اشباع قرار داشته و همچون یک پاک‌کننده اولیه رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند و باعث کاهش میزان MDA می‌شود. پس از قطع دارو، اثرات دارو پس از تقریباً ۲ هفته بسیار کم شد به طوریکه در هفته ۸ اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمارهای درمان‌شده با COQ_{10} مشاهده نشد.

جدول ۱- تاثیر مصرف کوآنزیم Q بر روی میزان MDA در اسپرم خروس

تیمار	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم	انحراف استاندارد
تیمار ۱	۰.۴۲۲۳aA	۰.۳۵۴۶abA	۰.۲۱۱۱cA	۰.۱۶۴۸cB	۰.۱۷۰۲cB	۰.۱۸۶۹cB	۰.۲۴۷۳cAB	۰.۳۲۸۴bA	۰.۰۳۲۰۲
تیمار ۲	۰.۴۲۳۶aA	۰.۳۲۵۱bA	۰.۲۱۵۱dA	۰.۱۱۹۲cB	۰.۱۶۸۸deB	۰.۱۷۴۹deB	۰.۲۲۴۵cdB	۰.۳۱۴۳bcA	۰.۰۳۲۰۲
تیمار ۳	۰.۳۲۰۵abB	۰.۲۸۰۹abA	۰.۲۴۲۰bA	۰.۳۳۵۹aA	۰.۳۱۱۱abA	۰.۳۱۱۷abA	۰.۳۳۱۹abA	۰.۳۶۷۴aA	۰.۰۳۲۰۲

تیمار ۱- مصرف COQ_{10} به میزان ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، تیمار ۲- مصرف COQ_{10} به میزان ۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، تیمار ۳- گروه کنترل. حروف a,b,c,d در ردیف و حروف A,B در ستون (اعدادی که با هم حرف مشترک ندارند دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند).

منابع

1. Bhagavan HN, and Chopra RK. Plasma coenzyme Q10 response to oral ingestion of coenzyme Q10 formulations. Mitochondrion 7 Suppl: S78-88, 2007.
2. Crane FL. Biochemical functions of coenzyme Q10. J Am Coll Nutr 20: 591-598, 2001.

3. Esterbauer H, and Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 186: 407-421, 1990.
4. Ikematsu H, Nakamura K, Harashima S, Fujii K, and Fukutomi N. Safety assessment of coenzyme Q10 (Kaneka Q10) in healthy subjects: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Regul Toxicol Pharmacol* 44: 212-218, 2006.
5. Lewin A, and Lavon H. The effect of coenzyme Q10 on sperm motility and function. *Mol Aspects Med* 18 Suppl: S213-219, 1997.
6. Mancini A, De Marinis L, Oradei A, Hallgass ME, Conte G, Pozza D, and Littarru GP. Coenzyme Q10 concentrations in normal and pathological human seminal fluid. *J Androl* 15: 591-594, 1994.
7. Miles MV, Patterson BJ, Chalfonte-Evans ML, Horn PS, Hickey FJ, Schapiro MB, Steele PE, Tang PH, and Hotze SL. Coenzyme Q10 (ubiquinol-10) supplementation improves oxidative imbalance in children with trisomy 21. *Pediatr Neurol* 37: 398-403, 2007.
8. Safarinejad MR. Efficacy of coenzyme Q10 on semen parameters, sperm function and reproductive hormones in infertile men. *J Urol* 182: 237-248, 2009.
9. Turunen M, Olsson J, and Dallner G. Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochim Biophys Acta* 1660: 171-199, 2004.

Effect of Coenzyme Q (COQ10) on The Oxidation of Rooster Sperm

Mohammad Mahdi Nabi^{*1}, Hamid Kohram², Mehdi Zahndi², Hossein Moravej

1-MSc Student of Animal Physiology- Department of Animal Science- University of Tehran

2-Faculty of Animal Science- Department of Animal Science- University of Tehran

Mohammad Mahdi Nabi, Student of Animal Physiology- Department of Animal Science-

University of Tehran, mehdi_nabi@ut.ac.ir

Abstract

Amounts of CoQ10 are necessary for cellular respiration and ATP production. CoQ10 also functions as an intercellular antioxidant at the mitochondrial level, perhaps accounting for its benefit in male infertility. 36 roosters were used in three groups with 12 in each. Birds were given 0, 15 or 30 mg coenzyme for 4 weeks. Semen was collected twice a week for eight weeks and oxidation rate of sperm was measured. In the TBA test reaction, one molecule of MDA reacts with two molecules of TBA with the production of a pink pigment having an absorption maximum at 532-535 nm. To ensure that no lipid oxidation occurs during the assay, butylated



hydroxytoluene (0.01 vol % of a 2% BHT solution in ethanol) and EDTA (1 mM final concentration) can be added to the sample prior to TCA precipitation. The sample is mixed with 2 volumes of cold 10% (w/v) trichloroacetic acid (TCA) to precipitate protein. After cooling, the absorbance was read at 532 nm and the concentration of MDA was calculated. Significant decrease of MDA in semen was evident with coenzyme Q10 therapy (each $P = 0.001$). Coenzyme Q is well located in cell membranes in proximity close to the unsaturated lipid chains to act as a primary scavenger of free radicals.

Key words: Coenzyme Q (CoQ10)- Malondialdehyde (MDA)- Rooster semen- Infertility- Oxidation.

اثرات مکمل هورمونی و ویتامینه-مینراله در ترکیب با آغوز و شیر بر عملکرد گوساله‌های شیری هلشتاین

مرضیه صانعی^{۱*}، محمد خوروش^۲، حمیدرضا رحمانی^۲

۱- کارشناس ارشد، ۲- اعضای هیئت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، ۸۴۱۵۶۸۳۱۱۱

* نویسنده مسئول: مرضیه صانعی، صندوق پستی ۸۴۹۱۸۷۳۶۵۵، sanei199@yahoo.com

چکیده

این مطالعه به بررسی پاسخ عملکردی گوساله‌های شیری هلشتاین نسبت به آغوز و شیر ترکیب شده با مکمل هورمونی و ویتامینه-مینراله می‌پردازد. تعداد ۲۰ راس گوساله هلشتاین از ابتدای تولد تا از شیرگیری در این آزمایش استفاده شد که در قالب ۲ تیمار دسته‌بندی شدند. تیمارها عبارت بودند از: ۱- شاهد، ۲- مکمل هورمونی و ویتامینه-مینراله، که در قالب یک طرح کاملاً تصادفی مورد مقایسه قرار گرفتند. هورمون‌های استفاده شده در این آزمایش شامل انسولین، گلوکاگون، هورمون رشد، پرولاکتین و فاکتور رشد شبه‌انسولین (۲/۵ برابر غلظت موجود در آغوز) و مکمل ویتامینه-مینراله حاوی سلنیوم-متیونین، روی-متیونین و ویتامین‌های محلول در چربی (دو برابر توصیه NRC) بود. گوساله‌ها به مدت پنج روز پس از تولد و روزی یکبار از تیمار مورد نظر به صورت محلول در شیر و یا آغوز تغذیه می‌شدند. گوساله‌ها هر ۱۰ روز یکبار وزن کشی شده و مصرف خوراک آغازین برای هر گوساله روزانه اندازه‌گیری می‌شد. نمونه‌های خون در روز ۱ قبل از مصرف آغوز و در روزهای ۲، ۳ و ۲۰ نیم ساعت پس از مصرف آغوز و شیر اخذ گردید. ترکیب آغوز و شیر با این مکمل سبب کوتاه شدن سن از شیرگیری ($P < 0.01$) و افزایش وزن مصرف خوراک آغازین روزانه ($P < 0.0001$) گردید. در صورتی که وزن از شیرگیری، ارتفاع جدوگاه، درصد آلبومین به گلوبولین و نسبت آن‌ها برای همه تیمارها مشابه بود. این آزمایش نشان داد که استفاده از این مکمل می‌تواند با کاهش سن از شیرگیری سبب بهبود عملکرد گوساله‌ها شود.

واژه‌های کلیدی: ترکیب هورمونی و ویتامینه-مینراله - آلبومین - گلوبولین - عملکرد

مقدمه

آغوز اولین غذای مصرفی نوزاد نشخوارکنندگان بوده و غنی از ایمنوگلوبولین‌ها، پپتیدهای ضد رشد میکروبی و فاکتورهای رشد می‌باشد (۸). آغوز نقش مهمی در توسعه لوله روده‌ای-معده‌ای نوزادان حیوانات مزرعه‌ای داشته و ظرفیت جذب روده‌ای در این موجودات را بهبود بخشیده، همچنین فعالیت آنزیم‌های روده‌ای-معده‌ای و ترشح هورمون‌های پانکراس را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳). این آثار تنها به علت وجود مواد مغذی و انرژی‌زا مانند چربی، پروتئین، مواد معدنی و ویتامین‌ها در آغوز نمی‌باشد بلکه فاکتورهای رشد موجود در آغوز در این میان از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند (۴).

فاکتورهای رشد و هورمون‌های موجود در آغوز جذب خون نمی‌گردند در نتیجه تنها محل عمل آنها لوله روده‌ای-معده‌ای می‌باشد (۵). این فاکتورها دارای یک اثر تحریک‌کنندگی موضعی بر روی رشد و توسعه لوله روده‌ای-معده‌ای گوساله‌های تازه متولد شده دارند و در واقع با فاکتورهای رشد درونی‌زا برای رشد و توسعه ارگان‌های دیگر ضروری می‌باشند (۴). ویتامین‌های A و E دارای نقش ویژه‌ای در ایمنی، تمایز، رشد و توسعه سلول‌ها دارا می‌باشد (۱). در گوساله‌های تازه متولد شده کمبود ویتامین A ذخیره شده در سلول‌های کبدی و غلظت پایین پلاسمایی این ویتامین شایع بوده و این موضوع نیاز استفاده از مقادیر بالای ویتامین A و E را با آغوز بلافاصله بعد از تولد جهت پیشگیری از بیماری‌های ناشی از کمبود این ویتامین روشن می‌سازد (۹).

مواد و روش ها

بیست راس گوساله شیرخوار هلشتاین بلافاصله پس از تولد براساس جنس و وزن تولد و شکم زایش مادر بین تیمارها تفکیک و به شکل تصادفی وارد طرح می شدند. طرح آزمایشی، کاملاً تصادفی با ۲ تیمار و در هر تیمار ۱۰ گوساله و تعداد گوساله های نر و ماده مساوی در نظر گرفته شد. تیمارها شامل مصرف شیر یا آغوز: (۱) بدون افزودنی و (۲) همراه با ترکیب ویتامینه-مینراله هورمونی بود. ترکیب هورمونی و ویتامینه-مینراله به صورت محلول در شیر و آغوز طی ۵ روز بعد از تولد و روزی یکبار به گوساله ها خورانه شد. ترکیب هورمونی بدست آمده از باکتری های ترانس ژن ساخت مرکز ملی مهندسی ژنتیک و گروه علوم دامی توسط دکتر رحمانی با شماره پتنت ۲۰۰۹۰۲۴۶۲۰۷ ثبت شده در آمریکا که در بردارنده هورمون های انسولین، گلوکاگون، هورمون رشد، پرولاکتین و فاکتور رشد شبه انسولین بوده که میزان هر کدام به میزان ۳-۲/۵ برابر غلظت بیان شده آنها در آغوز معمولی می باشد (۴). ترکیب ویتامینه-مینراله مورد استفاده از ویتامین های محلول در چربی D₃ و E به صورت گرانوله محصول شرکت باسف آلمان و روی-متیونین و سلنیوم-متیونین محصول شرکت زین-پرو تهیه شده از شرکت سنا دام پارس هر کدام به میزان دو برابر توصیه نشریه تحقیقات ملی آمریکا (NRC) تهیه گردید. خون گیری از گوساله ها به منظور اندازه گیری فاکتورهای خونی به فاصله نیم ساعت پس از تولد و قبل از مصرف آغوز در روز اول و دوم و سوم و روز بیستم پس از تولد به فاصله نیم ساعت بعد از مصرف آغوز و یا شیر صورت گرفت. فاکتورهای خونی مورد اندازه گیری شامل درصد آلبومین و گلوبولین و نسبت آلبومین به گلوبولین (A/G) بود که با روش الکتروفورز صورت گرفت.

نتایج

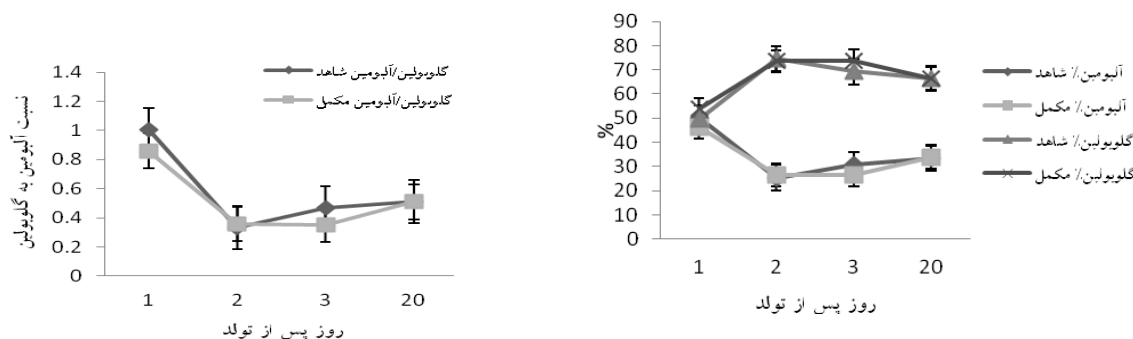
مصرف آغوز و شیر با مکمل هورمونی و ویتامینه-مینراله باعث کاهش معنی دار سن از شیرگیری (روز) و افزایش مصرف خوراک روزانه (۱ درصد) گردید در حالی که این تأثیر در وزن از شیرگیری و ارتفاع جدوگاه بین دو گروه تیماری معنی دار نبود (جدول ۱). هامون و همکاران (۶) افزایش مصرف خوراک روزانه را طی یک دوره ۲۸ روزه در گروهی که در حد اشتها آغوز مصرف کرده بودند نسبت به گروهی که آغوز در حد معمول آغوز مصرف کرده بودند مشاهده نمودند که این نتیجه با نتایج این آزمایش در مورد افزایش مصرف خوراک روزانه و متعاقب آن کاهش سن از شیرگیری (از شیرگیری بر مبنای مصرف روزانه یک کیلوگرم استارتر به مدت سه روز متوالی) مطابقت داشت. البته در مطالعه هامون و همکاران (۶) اگرچه وزن گوساله ها در هفته اول در گروهی که آغوز مصرف کرده بودند نسبت به گروهی که به طور معمول آغوز خورده بودند بیشتر بود اما این تفاوت در پایان دوره ۲۸ روز بین دو گروه تفاوت معنی داری نداشت که این نتیجه نیز با نتایج ما مبنی بر عدم تأثیر مکمل هورمونی و ویتامینه-مینراله بر وزن از شیرگیری مطابقت داشت. در واقع می توان گفت ترکیب آغوز با مکمل هورمونی ویتامینه-مینراله می تواند با مصرف بیشتر آغوز و نتایج مطلوب آن قابل مقایسه باشد.

جدول ۱- عملکرد گوساله‌ها در گروه‌های تیماری

فراسنجه	میانگین حداقل مربعات تیمارها		¹ (P- values)
	شاهد	مکمل	
تولد			
وزن (کیلوگرم)	۱/۳۹±۳۹/۵	۲/۰۲±۴۲/۲	۰/۲۲
ارتفاع جدوگاه (سانتی متر)	۰/۷۲±۷۶/۱	۱/۰۵±۷۶/۵	۰/۴۹
شیرگیری			
سن (روز)	۱/۵۳±۴۵/۳	۱/۷۲±۳۸/۰	۰/۰۱
وزن (کیلوگرم)	۱/۱۸±۶۰/۵	۱/۷۲±۵۸/۹	۰/۸۱
ارتفاع جدوگاه (سانتی متر)	۰/۷۱±۸۴/۱	۰/۷۱±۸۴/۶	۰/۶۰
مصرف خوراک آغازین روزانه (گرم)	۱۵/۷±۴۸۷/۸	۲۰/۳±۷۱۴/۶	۰/۰۰۰۱<

۱ - مقدار $P \leq ۰/۰۵$ برای سطح معنی داری، * اختلاف معنی دار

نمونه‌های سرم خون گوساله‌ها در روزهای ۱، ۲، ۳ و ۲۰ مربوط به دو گروه تیماری از لحاظ درصد آلبومین، گلوبولین و نسبت آنها دارای تفاوت معنی داری نبودند. (شکل ۲)



شکل ۲- نسبت آلبومین به گلوبولین نمونه‌های سرم خون گوساله‌های گروه شاهد و مکمل. روز اول $SE=۰/۰۵$ ، روز دوم $SE=۰/۰۳$ ، روز سوم $SE=۰/۰۶$ ، روز بیستم $SE=۰/۰۲$

شکل ۱- درصد آلبومین و گلوبولین نمونه‌های سرم خون گوساله‌های گروه شاهد و مکمل. روز اول $SE=۱/۲۷$ ، روز دوم $SE=۱/۸۲$ ، روز سوم $SE=۲/۲۹$ ، روز بیستم $SE=۱/۳۰$

عدم معنی دار بودن اثر مصرف ترکیب هورمونی بر درصد آلبومین و گلوبولین و نسبت آنها با نتایج بلوم و همکاران (۲) در مورد عدم تأثیر معنی دار فاکتور رشد شبه انسولین ۱ تغذیه شده به گوساله بر میزان آلبومین و گلوبولین خون آنها مطابقت داشت. همچنین عدم تأثیر معنی دار مصرف ترکیب ویتامینه-مینراله بر درصد آلبومین و گلوبولین و نسبت آنها با نتایج کامادا و همکاران (۷) در مورد عدم تأثیر اضافه کردن سلنیوم در آغاز بر میزان آلبومین خون گوساله‌ها و نتایج حاصل از اضافه کردن ویتامین E و ترکیبی از ویتامین E و سلنیوم بر میزان آلبومین مطابقت داشت. نتایج بدست آمده از این مطالعه حاکی از مؤثر بودن این ترکیب بر تکامل سریعتر دستگاه گوارش گوساله‌ها بوده و امکان از شیرگیری در سنین کمتر را تأیید میکند.

منابع

1. Basu, T. K. and J. W. T. Dickerson. 1996. Vitamin A. In: CAB international (Ed), Vitamins in human health and disease. Biddles Ltd Guildford, UK. Pp: 148-177.
2. Baumrucker, C. R, D. L. Hadsell and J.W. Blum. 1994. Effects of dietary insulin-like growth factor-I on growth and insulin-like growth factor receptors in neonatal calf intestine. *J. Anim. Sci.* 72:428-33.
3. Blättler U., H. M. Hammon, C. Morel, C. Philipona, A. Rauprich, V. Romé, I. Le-Huërou-Luron, P. Guilloteau and J. W. Blum. 2001. Feeding colostrum, its composition and feeding duration variably modify proliferation and morphology of the intestine and digestive enzyme activities of neonatal calves. *J. Nutr.* 131: 1256-1263.
4. Blum, J. W. and H. Hammon. 2000. Colostrum effects on the gastrointestinal tract, and on nutritional, endocrine and metabolic parameters in neonatal calves. *Livest. Prod. Sci.* 66: 1151-1159.
5. Hammon, H. and J. W. Blum. 1997. The somatotrophic axis in neonatal calves can be modulated by nutrition, growth hormone and Long-R3-IGF-I. *Am. J. Physiol.* 273: 130-138.
6. Hammon, H., G. Schiessler, A. Nussbaum and J.W. Blum. 2002. Feed intake patterns, growth performance, and metabolic and endocrine traits in calves fed unlimited amounts of colostrum and milk by automate, starting in the neonatal period. *J. Dairy. Sci.* 85: 3352-362.
7. Kamada H., I. Nonaka, Y. Ueda and M. Murai. 2007. Selenium addition to colostrum increases immunoglobulin G absorption by newborn calves. *J. Dairy Sci.* 90: 5665-5670.
8. Plath-Gabler, A., C. Gabler, F. Sinowatz, B. Berisha and D. Schams. 2001. The expression of the IGF family and GH eceptor in the bovine mammary gland. *J. Endocrinol.* 168: 39-48.
9. Swanson, K. S., N. R. Merchen, J. W. Erdman, J. K. Drackley, F. Orias, D. E. Morin and M. F. Haddad. 2000. Influence of dietary vitamin A content on serum and liver vitamin A concentrations and health in preruminant Holstein calves fed milk replacer. *J. Dairy Sci.* 83: 2027-2036.

The Affects of Hormone and Mineral-vitamin Supplement in Colostrum and Milk on Holestin dairy calves Performance

Marzieh Sanei^{1*}, M. Khorvash², H.R. Rahmani³

1-M.sc. Former of Animal Science, 2-Assistant professor, 3-Associate professor Department
of Animal Science, Isfahan University of Technology 8415683111,

* Corresponding E-mail address: sanei199@yahoo.com

Abstract

This study investigated Holstein dairy calves response to enriched colostrum and milk with hormone and mineral-vitamin supplemented growth factors. The calves were randomly allocated to 2 groups; control (C) and group hormone and mineral-vitamin supplement (H+V). The calves in each groups received the normal colostrum and milk plus the related additives in their first 5 days after birth. Calves in group H+V were fed hormones and vitamin-mineral supplement (insulin-like growth factor IGF-1 and 2, prolactin, glucagon and insulin, all 2.5-3 times of their normal colostrum concentration, and selenium-methionine; zinc-methionine and fat soluble



vitamins A, E, D; double NRC recommendation) and group C without any addition. The starter consumption was measured every day for every calf and body weight were measured every 10 day and on weaning time. Blood samples were taken after birth and before feeding the first colostrum on each day 2, 3 and 20. Hormone and mineral-vitamin supplement showed weaning age reduction ($p<0.01$) for 7 days and a large amount starter daily intake increment ($p<0.0001$) but there were no significant differences between groups in the weaning weight, withers height and blood factors (globulin%, albumin% and the albumin to globulin ratio).

Key words: hormone- mineral-vitamin supplement- performance - albumin - globulin

تاثیر کمبود نیتریک اکساید بر پراکندگی سلول‌های کومولوس اووسیت گوسفند و بز

مهدی حیدری عمله*، احمد زارع شحنه، سلمان نصرالهی

گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران

* نویسنده مسئول: مهدی حیدری عمله، گروه علوم دامی دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی

دانشگاه تهران M.heidari@ut.ac.ir

چکیده

نیتریک اکساید (NO) بعنوان یک سیگنال بیولوژیکی مهم که هم اثرات درون سلولی و هم اثرات بین سلولی را اعمال می‌کند، شناخته شده است. نیتریک اکساید بوسیله‌ی ایزوفرم‌های آنزیم نیتریک اکساید سنتاز (NOS) از ال-آرژنین سنتز می‌شود. این مطالعه برای ارزیابی اثرات مهار نیتریک اکساید سنتاز بر پراکندگی سلول‌های کومولوس اووسیت‌های گوسفند و بز انجام شده بود. اووسیت‌ها در محیط‌های حاوی ۱، ۰.۱ و ۱۰ میلی‌مولار L-NAME (مهارکننده‌ی NOS) کشت داده شده بودند و نرخ پراکندگی سلول‌های کومولوس ارزیابی شده بود. در مقایسه با گروه کنترل، L-NAME در بالاترین غلظت (10mM)، نرخ پراکندگی کامل را در اووسیت‌های گوسفند کاهش داده بود. به هر حال هیچ اختلاف معنی‌داری در میان غلظت‌های مهارکننده، در نرخ پراکندگی اووسیت‌های بز مشاهده نشده بود. این نتایج احتمالاً نشان می‌دهد که اووسیت‌های گوسفند نسبت به اووسیت‌های بز حساسیت بیشتری به کمبود نیتریک اکساید دارند.

کلمات کلیدی: نیتریک اکساید سنتاز- پراکندگی سلول‌های کومولوس- گوسفند- بز- اووسیت.

مقدمه

پراکندگی کومولوس فرایندی است که به موجب آن سلول‌های کومولوس هیالورونان ترشح می‌کنند. گفته شده است که فرم فعال شده‌ی فاکتور GDF-9 ممکن است ترشح هیالورونان را القا کند (۹). این فاکتور همچنین سیکلواکسی‌ژناز ۲ را فعال می‌کند. سیکلواکسی‌ژناز برای سنتز پروستاگلندین لازم است. مطالعات بعدی نشان داده است که پروستاگلندین E_2 برای پراکندگی کومولوس ضروری است (۴).

نیتریک اکساید (NO) یک رادیکال آزاد بشدت فعال است که در مسیرهای سیگنالی درون و بین سلولی در مراحل مختلفی از تولیدمثل درگیر می‌شود. این ترکیب توسط سه ایزوفرم مختلف نیتریک اکساید سنتاز (NOS) از ال-آرژنین تولید می‌شود (۳). مشخص شده است که نیتریک اکساید برای پراکندگی مطلوب سلول‌های کومولوس، در اووسیت موش، گاو و خوک (۲، ۸ و ۱۰) لازم است.

از آنجا که به نظر می‌رسد مطالعه‌ای در مورد اثرات نیتریک اکساید بر پراکندگی اووسیت‌های گوسفند و بز وجود ندارد، در این مطالعه ما بر آن شدیم تا با استفاده از Nω-nitro-L-argininemethyl ester (L-NAME) که آنالوگی از ال-آرژنین است، کمبود نیتریک اکساید را بر پراکندگی سلول‌های کومولوس اووسیت گوسفند و بز بررسی کنیم.

مواد و روش کار

تخمندان‌های گوسفندی و بز از یک کشتارگاه محلی جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. فولیکول‌های با قطر ۵-۲ میلی‌متر آسیب‌ر شده‌اند. کمپلکس‌های کومولوس- اووسیت انتخاب شده ۳ بار با محیط شستشو و ۲ بار با محیط کشت بلوغ شسته می‌شدند و سپس برای بلوغ به پتری‌دیش‌های پلاستیکی دارای قطره‌های ۵۰ μl محیط کشت که زیر روغن معدنی بودند منتقل می‌شدند و به مدت ۲۶ ساعت (برای هر دو گونه) در انکوباتور نگهداری می‌شدند. محیط کشت بلوغ مورد استفاده TCM-199 بود که با

۱۰٪ FBS، ۰.۵ µg/ml FSH، ۵ µg/ml LH و پنی سیلین و استرپتومایسین مکمل شده بود. غلظت‌های مختلف (۰، ۱ و ۱۰ میلی‌مولار) L-NAME برای ارزیابی عملکردش بر پراکندگی کومولوس اووسیت‌های گوسفند و بز به محیط کشت بلوغ اضافه شد. چنین غلظت‌هایی توسط بو و همکاران (۲۰۰۳) در موش استفاده شده است.

پراکندگی کومولوس‌ها با استفاده از روش تائو و همکاران (۲۰۰۵) به ۳ دسته تقسیم می‌شدند ۱. پراکندگی کامل (پراکندگی تمامی سلول‌های کومولوس) ۲. پراکندگی جزئی (پراکندگی لایه‌های بیرونی کومولوس) ۳. بدون پراکندگی (عدم پاسخ سلول‌های کومولوس). نتایج اثر L-NAME بر پراکندگی سلول‌های کومولوس با استفاده از آزمون کای اسکوار ارزیابی شد و بدین منظور از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱۲ استفاده گردید.

نتایج

بعد از ۲۶ ساعت کشت، پراکندگی سلول‌های کومولوس اووسیت گوسفند با بالاترین غلظت مهارکننده (۱۰ میلی‌مولار) متاثر شده بود و درصد کمتری از اووسیت‌ها پراکندگی کامل را نشان داده بودند. به هر حال دیگر غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری با تیمار کنترل نداشتند (جدول ۱). در مورد اووسیت‌های بز هیچ یک از غلظت‌های مهارکننده تاثیر معنی‌داری بر پراکندگی سلول‌های کومولوس نداشتند (جدول ۲).

جدول ۱. تاثیر غلظت‌های مختلف مهارکننده نیتریک اکساید بر پراکندگی سلول‌های کومولوس اووسیت گوسفندی				
تیمارها (میلی‌مولار)			تعداد	
درجه پراکندگی کومولوس (درصد)				
کامل	جزیی	بدون		
۸۵/۲۱ ^a	۶/۱۲ ^a	۸/۶۷ ^a	۱۹۶	شاهد (صفر)
۸۱/۲۸ ^{ab}	۱۰/۷ ^a	۸/۰۲ ^a	۱۸۷	L-NAME ۰/۱
۸۳/۲۴ ^{ab}	۸/۳۸ ^a	۸/۳۸ ^a	۱۹۱	۱
۷۶/۱۳ ^b	۱۰/۲۲ ^a	۱۳/۶۴ ^a	۱۷۶	۱۰

حروف متفاوت (a, b) در هر ستون بیانگر معنی‌دار بودن نتایج است ($p < 0.05$).

بحث:

این مطالعه نشان داد که بالاترین غلظت L-NAME (۱۰ میلی‌مولار)، درصد اووسیت‌های با پراکندگی کامل کومولوس را به طور معنی‌داری در گوسفند کاهش می‌دهد. نتایج مشابهی در موش (۱)، گاو (۸) و موش صحرایی (۶) نیز بدست آمده است. از طرف دیگر، گرچه غلظت بالای مهارکننده تا حدودی توانست پراکندگی کامل را در اووسیت‌های بز کاهش دهد اما این تفاوت معنی‌دار نبود.

نیتریک اکساید یک رادیکال آزاد با عملکردهای فیزیولوژیکی متعدد و حیاتی در سلول‌های پستانداران است. به هر حال مکانیسم دقیق تاثیر سیستم NO/NOS بر بلوغ اووسیت به طور کامل یافت نشده است.



مهارکننده‌ی L-NAME یک مهارکننده‌ی غیرانتخابی برای NOS است. این مهارکننده فعالیت تمامی ایزوفرم‌های NOS را مهار می‌کند. این مهارکننده در واقع آنالوگی از ال-آرژنین است که به صورت رقابتی باعث مهار NOS می‌شود.

جدول ۲. تأثیر غلظت‌های مختلف مهارکننده‌ی نیتریک اکساید بر پراکندگی سلول‌های کومولوس اووسیت بز

تیمارها (میلی مولار)			تعداد		درجه پراکندگی کومولوس (درصد)	
					کامل	جزیی
					بدون	
شاهد (صفر)			۱۶۲		۹۱/۳۷ ^a	۵/۵۵ ^a
L-NAME						
۰/۱			۱۳۳		۹۱ ^a	۶ ^a
۱			۱۵۴		۸۹ ^a	۶/۵ ^a
۱۰			۱۲۹		۸۶ ^a	۹/۳ ^a

گزارش شده است که نیتریک اکساید تولید شده از iNOS برای پراکندگی سلول‌های کومولوس و بلوغ میوزی اووسیت-های موش ضروری است (۷).

اپیگ^{۱۱۵} (۱۹۸۱) پیشنهاد کرد که پروستاگلندین E₂ (PGE₂) ممکن است نقشی در تحریک پراکندگی سلول‌های کومولوس اووسیت موش داشته باشد. علاوه بر این، یامائوچی^{۱۱۶} و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که نیتریک اکساید تولید PGE₂ را در اووسیت خرگوش تحریک می‌کند. آن‌ها نشان دادند که تولید تخمدانی PGE₂ و PGF₂ α به طور معنی‌داری با L-NAME بلوکه می‌شود و استفاده از نیتریک اکساید با منشا خارجی تولید پروستاگلندین‌ها را تحریک می‌کند. با توجه به نتایج حاصله از مطالعه اخیر، پیشنهاد می‌شود که اثرات L-NAME بر پراکندگی کومولوس اووسیت گوسفند ممکن است به دلیل تأثیر مهاری آن بر تولید PGE₂ بواسطه‌ی کاهش در تولید نیتریک اکساید باشد. از طرف دیگر ممکن است بالاترین غلظت L-NAME سنتز هیالورونان و دیگر فاکتورهای تولید شده بواسطه کمپلکس کومولوس-اووسیت همچون فاکتور GDF9 که نقش مهمی در پراکندگی سلول‌های کومولوس دارد را کاهش داده باشد، اما عدم تأثیرپذیری اووسیت‌های بز به مهار NOS نسبت به اووسیت‌های گوسفندی، شاید مقاومت بیشتر اووسیت‌های بز به کمبود نیتریک اکساید باشد. همانطور که در مطالعات پیشین (۸) اووسیت‌های گاو نسبت به اووسیت خوک حساسیت بالاتری به یک غلظت مشخص از مهارکننده نشان دادند، به نظر می‌رسد برای مهار پراکندگی سلول‌های کومولوس اووسیت بز نیز به غلظت‌های بالاتری از مهارکننده لازم باشد.

در پایان این نتایج نشان می‌دهد، گرچه اووسیت‌های گوسفند و بز برای پراکندگی کامل سلول‌های کومولوس به نیتریک اکساید نیاز دارند، اما اووسیت‌های گوسفند حساسیت بیشتری به کمبود این ترکیب دارند.

منابع:

1. Bu S., Xia G., Tao Y., Lei L., Zhou B. 2003. Dual effects of nitric oxide on meiotic maturation of mouse cumulus cell-enclosed oocytes in vitro. *Mol Cell Endocrinol*, 207: 21-30.
2. Bu, S., Xie, H., Tao, Y., Wang, J. and Xia, G. 2004. Nitric oxide influences the maturation of cumulus cell-enclosed mouse oocytes cultured in spontaneous maturation medium and hypoxanthine-supplemented medium through different signaling pathways. *Mol Cell Endocrinol*, 223: 85-93.
3. Bush, P. A., Gonzalez, N. E., & Ignarro, L. J. 1992. Biosynthesis of nitric oxide and citrulline from L-arginine by constitutive nitric oxide synthase present in rabbit corpus cavernosum. *Biochem Biophys Res Commun*, 186(1): 308-314.
4. Eppig, J. J. 1981. Prostaglandin E₂ stimulates cumulus expansion and hyaluronic acid synthesis by cumuli oophori isolated from mice. *Biol Reprod*, 25: 191-195.
5. Hurk, R. V. D. and Zhao, J. 2005. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. *Theriogenology*, 63: 1717-1751.
6. Jablonka-Shariff, A., Basuray, R. and Olson, L. M. 1999. Inhibitors of nitric oxide synthase influence oocyte maturation in rats. *J Soc Gynecol Investig*, 6: 95-101.
7. Jablonka-Shariff, A. and Olson, L. M. 2000. Nitric oxide is essential for optimal meiotic maturation of murine cumulus-oocyte complexes in vitro. *Mol Reprod Dev*, 55: 412-421.
8. Matta, S. G., Caldas-Bussiere, M. C., Viana, K. S., Faes, M. R., Paes de Carvalho, C. S., Dias, B. L. and Quirino, C. R. 2009. Effect of inhibition of synthesis of inducible nitric oxide synthase-derived nitric oxide by aminoguanidine on the in vitro maturation of oocyte-cumulus complexes of cattle. *Anim Reprod Sci*, 111: 189-201.
9. Stephanie, A. P. and Martin, M. M. 2005. The art and artifact of GDF9 activity: cumulus expansion and the cumulus expansion-enabling factor. *Biology of reproduction*, 73: 582-585.
10. Tao Y., Xie H., Hong H., Chen X., Jang J., Xia G. 2005b. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on porcine oocyte meiotic maturation. *Zygote*, 13: 1-9.
11. Yamauchi, J., Miyazaki, T., Iwasaki, S., Kishi, I., Kuroshima, M., Tei, C. and Yoshimura, Y. 1997. Effects of nitric oxide on ovulation and ovarian steroidogenesis and prostaglandin production in the rabbit. *Endocrinology*, 138: 3630-3637.

The effect of nitric oxide deficiency on cumulus cells expansion of sheep and goat oocyte

Mehdi Heidari Amale*, Ahmad Zare, Salman Nasrollahi

Department of animal science, University of Tehran

Corresponding E-mail author: M.heidari@ut.ac.ir

Abstract

Nitric oxide (NO) has been identified as a major biological signal, exerting both inter- and intra cellular effects. NO is formed from L-arginine by isoforms of NO synthase (NOS). This study was conducted to evaluate the effects of NOS inhibition on cumulus cells expansion of sheep and goat oocytes. Oocytes were cultured with 0.1, 1 and 10 mM of L-NAME (NOS inhibitor) and cumulus cells expansion rate were assessed. L-NAME decreased total expansion rate at the highest concentration in sheep oocytes when compared with control. However, no significant difference was found at expansion rate among concentrations of inhibitor in goat oocytes. These results probably indicated that sheep oocytes have more sensitive to nitric oxide deficiency than ones of goat.

Key words: NOS- cumulus cells expansion- sheep- goat- oocyte.

تاثیر روسکوویتین و یک مهارکننده فسفو دی استراز (IBMX) بر بلوغ میوزی اووسیت گوسفند

مهدی حیدری عمله*، احمد زارع شحنه، سلمان نصرالهی

گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران

* نویسنده مسئول: مهدی حیدری عمله، گروه علوم دامی دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی

دانشگاه تهران M.heidari@ut.ac.ir

چکیده

تعداد پایین رویان‌های بدست آمده از کشت برون تنی، می‌تواند بواسطه‌ی بلوغ سیتوپلاسمی ناکامل در اووسیت پستانداران باشد. هماهنگی بین بلوغ هسته‌ای و سیتوپلاسمی شایستگی اووسیت را برای تولید رویان در شرایط برون‌تنی بهبود می‌بخشد. این هماهنگی با کند یا متوقف کردن بلوغ هسته‌ای بدست می‌آید. گزارش شده است که روسکوویتین (ROS) و ۳- ایزو بوتیل ۱- متیل گزانتین (IBMX) می‌توانند بلوغ میوزی را در اووسیت پستانداران مهار کنند. به نظر می‌رسد گزارشی در مورد تاثیر این دو ترکیب بر بلوغ اووسیت گوسفند وجود ندارد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف روسکوویتین (۱۲/۵ و ۲۵ میکرومولار) و IBMX (۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) بر ادامه‌ی بلوغ میوزی اووسیت‌های گوسفند بود. بعد از ۲۶ ساعت کشت، نتایج نشان می‌داد که هر دو ترکیب قادر به مهار بلوغ میوزی اووسیت گوسفند بودند. به هر حال بالاترین غلظت روسکوویتین توانست اووسیت‌ها را در مرحله‌ی GV متوقف سازد. در پایان نتایج نشان داد که هم ROS و هم IBMX قادرند بلوغ میوزی را در اووسیت‌های گوسفند مهار کنند و این مهار احتمالا می‌تواند به بلوغ سیتوپلاسمی برای بالا بردن شایستگی اووسیت کمک کند.

کلمات کلیدی: بلوغ میوزی - ROS - IBMX - اووسیت گوسفند.

مقدمه

در گونه‌های حیوانی فن‌آوری‌های مرتبط با تولیدمثل همانند باروری برون‌تنی، تولید رویان و شبیه‌سازی به خاطر کمبود اووسیت-های شایسته موفقیت‌های کمی را در پی دارد. این عدم شایستگی اووسیت بیشتر به این دلیل است که در شرایط برون‌تنی، بلوغ میوزی به طور خودبخودی پیش می‌رود و این در حالی است که بلوغ سیتوپلاسمی که برای مراحل بالاتر تولید رویان لازم است به کندی پیش می‌رود. بنابراین اگر بتوان بلوغ میوزی را مهار کرد، می‌توان یک هماهنگی بین آن و بلوغ سیتوپلاسمی ایجاد کرد و اووسیتی با شایستگی بالا تولید کرد. برای مهار بلوغ میوزی در اووسیت پستانداران از مواد و روش‌های گوناگونی استفاده شده است. بعنوان مثال، در بعضی از مطالعات با استفاده از مهارکننده‌های فسفو دی استراز و با بالا بردن سطح آدنوزین مونی فسفات حلقوی (cAMP) در اووسیت توانسته‌اند بلوغ میوزی را متوقف کنند و یا آن را به تاخیر بیندازند (۱-۳). در دیگر مطالعات از ترکیباتی که می‌توانند به طور موقت باعث مهار فعالیت فاکتور پیش برنده‌ی بلوغ (MPF) شوند، استفاده شده است (۴-۵). دو تا از این ترکیبات ۳- ایزو بوتیل ۱- متیل گزانتین (IBMX) و روسکوویتین (ROS) می‌باشند که به طور موفقیت آمیزی در مطالعات بر روی موش (۶)، اسب (۷)، گاو (۸)، خوک (۵)، بز (۴) و موش صحرائی استفاده شده است اما به نظر می‌رسد مطالعه‌ای که اثرات این دو ترکیب را بر ادامه‌ی بلوغ میوزی اووسیت گوسفند بررسی کرده باشد موجود نیست. بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی دو غلظت مختلف از این دو مهار کننده بر ادامه‌ی بلوغ میوزی اووسیت گوسفند بود.

مواد و روش‌ها



تخمندان‌های گوسفندی از یک کشتارگاه محلی جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. فولیکول‌های با قطر ۵-۲ میلی‌متر با استفاده از سوزن شماره ۲۰ که به یک پمپ خلا متصل شده بود آسپیره شدند. در این آزمایش‌ها اووسیت‌های با سیتوپلاسم یکنواخت و روشن و واجد حداقل ۴ لایه سلول‌های کومولوس متراکم استفاده شدند. کمپلکس‌های کومولوس - اووسیت انتخاب شده ۳ بار با محیط شستشو و ۲ بار با محیط کشت بلوغ شسته می‌شدند و سپس برای بلوغ به پتری‌دیش‌های پلاستیکی دارای قطره‌های ۵۰ μ l محیط کشت که زیر روغن معدنی بودند منتقل می‌شدند و به مدت ۲۶ ساعت در انکوباتور نگهداری می‌شدند. محیط کشت بلوغ مورد استفاده TCM-199 بود که با ۱۰٪ FBS، ۰.۵ μ g/ml FSH، ۵ μ g/ml LH و پنی‌سیلین و استرپتومایسین مکمل شده بود. غلظت‌های مختلف (۱۲/۵ و ۲۵ میکرومولار) روسکوویتین و IBMX (۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) برای ارزیابی عملکردش بر ادامه‌ی میوز اووسیت‌های گوسفند به محیط کشت بلوغ اضافه شدند.

نتایج تاثیر غلظت‌های مختلف IBMX و ROS بر روند ادامه‌ی میوز با استفاده از آزمون کای اسکوار ارزیابی شد و بدین منظور از نرم افزار SAS نسخه‌ی ۹/۱۲ و رویه‌ی GENMOD استفاده گردید.

نتایج و بحث

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، بعد از ۲۶ ساعت کشت، IBMX در هر دو غلظت بلوغ میوزی را متوقف می‌کند و نسبت به گروه کنترل، بطور معنی‌داری از خروج اولین جسم قطبی که لازمه متافاز دو است جلوگیری می‌کند ($p < 0.05$). این نتایج با مطالعات دیگر در موش (۶) و گاو (۱) مطابقت دارد.

جدول ۱. تاثیر غلظت‌های مختلف IBMX و ROS بر بلوغ میوزی اووسیت‌های گوسفند

تیمار	تعداد اووسیت	متافاز II (درصد)	متافاز I (درصد)	GV (درصد)
کنترل	۱۵۷	۷۵/۱۶ ^a	۲۲/۹۲ ^c	۱/۹ ^a
IBMX ۰/۵ mM	۱۲۲	۱۲/۳ ^c	۸۵/۲۴ ^a	۲/۴۵ ^a
IBMX ۱ mM	۱۳۰	۱۴/۱۶ ^c	۸۲/۳ ^a	۳/۰۷ ^a
ROS ۱۲/۵ μ M	۱۳۲	۳۱/۰۶ ^b	۶۰/۵۹ ^b	۸/۳۳ ^a
ROS ۲۵ μ M	۱۰۴	۱۰/۵۷ ^c	۷۴/۰۳ ^a	۱۵/۳۸ ^b

علاوه بر IBMX، غلظت‌های مختلف ROS نیز توانسته بود از خروج اولین جسم قطبی، بعنوان بلوغ میوزی کامل، جلوگیری کند و درصد کمتری از اووسیت‌ها را به مرحله متافاز دو برساند. همانطور که در جدول ملاحظه می‌شود، روسکوویتین همچنین توانسته بود درصد بالاتری از اووسیت‌ها را در مرحله‌ی GV نگه دارد. این نتایج در مطالعات روی اووسیت‌های بز (۴)، گاو (۸) و اسب (۷) نیز گزارش شده بود.

روسکوویتین و IBMX هر دو ترکیباتی توانمند برای مهار بلوغ در اووسیت پستانداران هستند اما مکانیسم عمل آنها متفاوت است.

ترکیب IBMX قادر است با مهار آنزیم فسفودی استراز باعث افزایش غلظت cAMP در اووسیت شود. نشان داده شده است که افزایش غلظت cAMP باعث تغییراتی در فعالیت پروتئین کیناز A می‌شود که این کیناز نقش کلیدی در کنترل میوز تعدادی از پستانداران بویژه موش و موش صحرایی بازی می‌کند (۹). همانطور که در جدول مشاهده می‌شود، IBMX در پایان دوره کشت در هیچ یک از دو غلظت تاثیر معنی‌داری بر GV نداشت. این نتایج نیز با نتایج بدست آمده در گاو یکسان بود بطوریکه سیرارد و همکاران (۱۹۸۸) (که در آزمایش خود از آنالوگ cAMP استفاده کرده بودند) و همچنین بارتو و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که افزایش cAMP در اووسیت باعث تاخیر در ادامه‌ی بلوغ در ساعات اولیه کشت می‌شود اما در پایان ۲۴ ساعت بین تیمارها هیچ تفاوتی به لحاظ اووسیت‌های مرحله‌ی GV وجود نداشت.

روسکوویتین یک مشتق پورینی است که توانایی زیادی در بازدارندگی سایکلین وابسته به کیناز (CDK) دارد. این مهارکننده در سطوح میکرومولار بوسیله مهار ساخت DNA، مانع پیشرفت چرخه سلولی پستانداران در نقطه G₁-S و G₂-M و همچنین فعالیت MAPK می‌شود.

بخوبی مشخص شده است که آبشار پیچیده‌ای از وقایع فسفریلاسیون و دفسفریلاسیون در تنظیم ادامه‌ی میوز درگیر می‌شود و پروتئینی به نام فاکتور پیش‌برنده‌ی بلوغ (MPF) که فعال‌سازی آن با شکسته شدن غشای وزیکول (GVBD) همراه است، مسئول آغاز بلوغ اووسیت می‌باشد. فاکتور پیش‌برنده بلوغ، کمپلکسی متشکل از سیکلین B (زیر واحد تنظیمی) و کیناز p34Cdc2 (زیر واحد کاتالیک) می‌باشد. فرم فعال MPF قادر است تا پروتئین‌هایی که پیشرفت میوزی را تشکیل می‌دهند را فسفریله کند و آن‌ها را در متراکم سازی کروموزوم و بازسازی اسکلت سلولی درگیر کند (۱۰). علاوه بر MPF، کیناز دیگری به نام MAPK نیز در تنظیم بلوغ میوزی اووسیت درگیر می‌شود (۱۱). به نظر می‌رسد تاثیر مهاری روسکوویتین بر ادامه‌ی بلوغ میوزی اووسیت‌های گوسفند، از طریق مهار فعالیت این دو فاکتور باشد زیرا گزارش شده است که روسکوویتین قادر است این دو را مهار کند.

این نتایج نشان می‌داد که هر دوی IBMX و ROS قادرند بلوغ میوزی را در اووسیت‌های گوسفند مهار کنند، اما روسکوویتین ترکیب توانمندتری برای مهار اووسیت در اولین مراحل تقسیم میوزی می‌باشد. با مهار بلوغ اووسیت در یک دوره کشت و کشت مجدد آن بدون مهار کننده می‌توان اووسیتی با شایستگی بالاتر برای مراحل بالاتر تکوین رویانی ایجاد کرد.

منابع:

۱. Aktas H, Wheeler MB, Rosenkrans CF, Jr., First NL, Leibfried-Rutledge ML. Maintenance of bovine oocytes in prophase of meiosis I by high [cAMP]i. J Reprod Fertil ۱۹۹۵Nov;۱۰۵(۲):۳۵-۲۲۷
۲. Barretto LS, Caiado Castro VS, Garcia JM, Mingoti GZ. Role of roscovitine and IBMX on kinetics of nuclear and cytoplasmic maturation of bovine oocytes in vitro. Anim Reprod Sci ۲۰۰۷ May;۹۹(۲-۱):۷-۲۰۲
۳. Sirard MA, Coenen K, Bilodeau-Goeseels S. effect of fresh or cultured follicular fraction on meiotic resumption in bovine oocytes. Theriogenology ۱۹۹۲;۳۷(۱):۵۷-۳۹

۴. Jimenez-Macedo AR, Izquierdo D, Urdaneta A, Anguita B, Paramio MT. Effect of roscovitine on nuclear maturation, MPF and MAP kinase activity and embryo development of prepubertal goat oocytes. *Theriogenology* ۲۰۰۶Jun;۶۵(۹):۸۲-۱۷۶۹
۵. Romar R, Funahashi H. In vitro maturation and fertilization of porcine oocytes after a ۴۸h culture in roscovitine, an inhibitor of p34cdc2/cyclin B kinase. *Anim Reprod Sci* ۲۰۰۶May;۹۲(-۳):۳۳-۳۲۱
۶. Vaccari S, Horner K, Mehlmann LM, Conti M. Generation of mouse oocytes defective in cAMP synthesis and degradation: endogenous cyclic AMP is essential for meiotic arrest. *Dev Biol* ۲۰۰۸Apr ۱;۳۱۶(۱):۳۴-۱۲۴
۷. Franz LC, Choi YH, Squires EL, Seidel GE, Jr., Hinrichs K. Effects of roscovitine on maintenance of the germinal vesicle in horse oocytes, subsequent nuclear maturation, and cleavage rates after intracytoplasmic sperm injection. *Reproduction* ۲۰۰۳May;۱۲۵(۵):۷۰۰-۶۹۳
۸. Coy P, Romar R, Payton RR, McCann L, Saxton AM, Edwards JL. Maintenance of meiotic arrest in bovine oocytes using the S-enantiomer of roscovitine: effects on maturation, fertilization and subsequent embryo development in vitro. *Reproduction* ۲۰۰۵Jan;۱۲۹(۱):۲۶-۱۹
۹. Sirard MA, First NL. In vitro inhibition of oocyte nuclear maturation in the bovine. *Biol Reprod* ۱۹۸۸Sep;۳۹(۲):۳۴-۲۲۹
۱۰. Hurk RVD, Zhao J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. *Theriogenology* ۲۰۰۵;۵۱-۶۳:۱۷۱۷
۱۱. Lu Q, Dunn RL, Angeles R, Smith GD. Regulation of spindle formation by active mitogen-activated protein kinase and protein phosphatase ۲A during mouse oocyte meiosis. *Biol Reprod* ۲۰۰۲Jan;۶۶(۱):۳۷-۲۹

The effect of Roscovitine and a phosphodiesterase inhibitor (IBMX) on meiotic maturation of sheep oocyte

Mehdi Heidari Amale*, Ahmad Zare Shahne, Salman nasrollahi

Department of animal science, University of Tehran

Corresponding E-mail author: M.heidari@ut.ac.ir

Abstract

The low number of embryos obtained from IVC could be due to an incomplete cytoplasmic maturation in mammalian oocyte. Coordination between cytoplasmic and nuclear maturation of oocytes improve oocyte competence to IVP. This coordination obtains with suppressing or arresting of nuclear maturation. It reported that Roscovitine and IBMX could inhibit meiotic maturation in mammals. It seems that there are no reports on effect of ROS and IBMX in sheep oocytes. So, the aim of this study was to determine the effects of different concentrations ROS (12.5, 25 μ M) and IBMX (0.5, 1 mM) on resumption of meiotic maturation of sheep oocytes. After 26 h, the results indicated that both ROS and IBMX were able to inhibit meiotic maturation. However, the highest of ROS could arrest oocytes at GV stage. In conclusion, these



results indicated both ROS and IBMX were able to arrest meiotic maturation and this inhibition can improve cytoplasmic maturation for promoting oocyte competence.

Key words: meiotic maturation- ROS- IBMX- sheep oocyte.

بررسی اثرات عصاره آبی-الکلی گلبرگ زعفران (*Crocus sativus* L.) بر پارامترهای خونی درموش صحرایی

نوشین عارف زاده^{*}، جواد آرشامی^۲، علیرضا هروی موسوی^۲، زهرا موسوی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، ۲-اعضاء هیئت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی

مشهد، ۳- عضو هیئت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

Noosheen.Arefzadeh@gmail.com

چکیده

با توجه به اثرهای جانبی ناخواسته برخی داروهای شیمیایی، توجه بیشتر به اثرهای احتمالی گیاهان دارویی بر عملکرد بخشهای مختلف بدن لازم است. در این میان، گلبرگ زعفران که سالانه مقدار زیادی از آن به عنوان ضایعات کشاورزی تولید شده و به مصرف دام ها می رسد، حائز اهمیت می باشد. در این تحقیق تاثیر احتمالی عصاره آبی-الکلی گلبرگ زعفران بر پارامترهای خونی موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۴ گروه ۵ تایی از موش های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار استفاده شد. گروه کنترل نرمال سالین و سه گروه دیگر سه دوز متفاوت ۲۰۰mg/kg/۴h، ۴۰۰mg/kg/۴h و ۸۰۰mg/kg/۴h عصاره زعفران به صورت تزریق درون صفاقی به مدت ۲۰ روز دریافت کردند. یک روز بعد از آخرین تزریق آزمایش های خون شناسی انجام گرفت. عصاره آبی - الکلی گلبرگ زعفران باعث کاهش معنی دار هموگلوبین متوسط سلولی و افزایش معنی پلاکت ها گردید ($P<0/05$) و در سایر پارامترهای خون شناسی تغییر معنی داری مشاهده نشد ($P>0/05$). بر اساس مطالعه انجام شده عصاره آبی - الکلی گلبرگ زعفران با دوزهای گفته شده ممکن است تاثیر منفی بر پارامتر های خونی داشته باشد.

واژه های کلیدی : زعفران - گلبرگ - پارامترهای خونی - عصاره آبی - الکلی - موش صحرایی

۱-مقدمه

زعفران با نام علمی (*Crocus sativus* L.) گیاهی پیازی، پایا و از خانواده ی زنبق (Iridaceae) می باشد و چون در خاک کویر به عمل می آید و به طلای سرخ یا طلای کویر شهرت دارد. زعفران از جمله گیاهانی است که در نقاط مختلف دنیا به عنوان یک گیاه داروئی از قدیم مورد استفاده قرار گرفته است (۲، ۱۶) که در طب سنتی به عنوان یک ضد انقباض، ضد نفخ، اشتها آور، خلط آور، تقویت کننده ی قوای جنسی، افزایش دهنده ی فعالیت قلب (۴، ۱۶)، ماده ی شادی بخش با تاثیر در درمان اضطراب (۱۳) استفاده شده است. ترکیب های اصلی زعفران شامل کروسین، کروسستین (۳)، پیکروکروسین و سافرانال در جلوگیری از تحلیل نورون ها و تقویت حافظه نقش دارند (۱۰). این گیاه دارای کاروتنوئید محلول در آب است که براساس گزارشات بیشترین فعالیت متابولیکی را در بین ترکیبات زعفران دارا می باشد (۱۱، ۱۴). مطالعات متعدد نشان داده است که گلبرگ گونه کروکوس که زعفران نیز در آن گروه قرار دارد، دارای انواع زیادی از ترکیبات فلاونوئیدی، گلیکوزیدی و دو آنتوسیانین دلفینیدین و پتونییدین می باشد (۵). همچنین سمیت (۹، ۱۵) و خواص آنتی اکسیدانی (۴) گلبرگ زعفران تایید شده است. هر ساله پس از برداشت گل و جدا سازی کلاله ها مقدار زیادی گلبرگ باقی می ماند. در عین حال استفاده از محصولات فرعی صنایع کشاورزی در تغذیه حیوانات، به دلیل کاهش وابستگی دام به غلاتی که توسط انسان مصرف می شود، کاهش هزینه تأمین مواد مغذی مورد نیاز دام و حذف برنامه های پرهزینه در از بین بردن پس مانده های صنایع تبدیلی کشاورزی و جلوگیری از

آلودگی محیط زیست حاصل از انباشت این پس مانده‌ها حائز اهمیت است (۶). در این تحقیق بررسی اثرات احتمالی عصاره گلبرگ زعفران بر فاکتورهای خونی در موش صحرایی نر مورد بررسی قرار می‌گیرد.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱-جمع آوری و عصاره گیری

گلبرگ مورد نیاز از باغ‌های اطراف تربت حیدریه جمع آوری و در سایه خشک شدند. گیاه توسط کارشناس هرباریوم دانشگاه شناسایی و تایید گردید. برای عصاره‌گیری از روش خیساندن استفاده شد، بدین ترتیب که ۱۰ گرم از گلبرگ زعفران پودر گردید و سپس آنها را داخل ظروف شیشه‌ای تیره ریخته و به آنها ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول اضافه شد. بعد از ۷۲ ساعت محتویات ظرف صاف گردید. سپس محلول توسط دستگاه سانتریفیوژ در دور ۳۵۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول به دست آمده در روتاری اپراتور تحت خلا و در دمای ۴۰ درجه رفع حلال شد. مواد بدست آمده در آون با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و بعد از گذشت ۲۴ ساعت عصاره خشک شده جمع‌آوری شد.

۲-۲-حیوان مورد آزمایش

موش‌های صحرایی نر نژاد Wistar با وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم از موسسه رازی مشهد تهیه گردید. نمونه‌ها به طور تصادفی به چهار گروه پنج تایی شامل گروه کنترل و گروه‌های یک، دو و سه تقسیم شدند. گروه کنترل هر ۴۸ ساعت یکبار ۵ میلی‌لیتر نرمال سالین و گروه‌های دیگر به ترتیب ۲۰۰ mg/kg/۴۸h، ۴۰۰ mg/kg/۴۸h و ۸۰۰ mg/kg/۴۸h عصاره آبی-الکلی گلبرگ زعفران دریافت کردند. موش‌ها در شرایط استاندارد (شرایط دمایی ۲۲±۲ درجه سانتیگراد و سیکل روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به غذا و آب) در مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد نگهداری شدند.

۲-۳-اندازه‌گیری فاکتورهای خونی

یک روز پس از آخرین تزریق بعد از بیهوشی کامل نمونه‌ها توسط کتامین، خون‌گیری از قلب انجام شد. نمونه‌های خونی در تیوب‌های حاوی ماده ضد انعقاد (EDTA) ریخته شد. برای آزمایش‌های خون‌شناسی از سل کانتر SYSMEX K-1000 استفاده گردید.

۲-۴-تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار گزارش شده است. به منظور بررسی اختلاف آماری از آزمون ANOVA و سپس Tukey - Kramer استفاده گردید. $P < 0/05$ به عنوان معیار معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در نظر گرفته شد.

۳-نتایج

آزمایش خون‌شناسی نشان داد که عصاره آبی-الکلی گلبرگ زعفران باعث کاهش معنی‌دار مقدار غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCHC) بین گروه دریافت‌کننده دوز (۸۰۰ mg/kg) و گروه نرمال سالین می‌شود ($p < 0/05$). همچنین باعث افزایش معنی‌دار مقدار پلاکت‌ها بین گروه دریافت‌کننده دوز (۸۰۰ mg/kg) و گروه نرمال سالین گردید ($p < 0/05$). اما بر روی سایر پارامترهای خون‌شناسی تغییر معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

(جدول ۱) نتایج آزمایش های خون شناسی بعد از ۲۰ روز تزریق داخل صفاقی عصاره گلبرگ زعفران در موش صحرایی.

پارامترهای خون	شاهد	۲۰۰	۴۰۰	۸۰۰	SEM
		mg/kg	mg/kg	mg/kg	
× (10 ³ /ul) گلبول سفید	۷/۶۶	۵/۵۴	۷/۰۴	۱۰/۹۲	۰/۴۰۷
× (10 ⁶ /ul) گلبول قرمز	۸/۰۲	۷/۴۷	۷/۵۵	۷/۸۳	۰/۱۴۸
(g/dl) هموگلوبین	۱۵/۳۲	۱۳/۹۴	۱۴/۱۴	۳۲/۱۴	۰/۱۸۳
(%) هماتوکریت	۴۱/۷۶	۳۸/۰۲	۳۹/۲۴	۴۰/۷۲	۰/۳۱۸
(fL) میانگین حجم سلولی	۵۲/۰۶	۴۴/۹۶	۵۱/۹۶	۵۲/۰۲	۰/۵۴۴
(pg) میانگین هموگلوبین سلولی	۱۹/۱۰	۱۸/۷۲	۱۸/۷۴	۱۸/۳۰	۱/۵۶
(g/dl) میانگین غلظت گلبول قرمز	^a ۳۶/۷۰	^a ۳۶/۶۶	^{ab} ۳۶/۰۴	^b ۳۵/۲۰	۰/۱۴۳
× (10 ³ /ul) پلاکت	^b ۹۵۴/۰۰	^b ۹۳۵/۸۰	^a ۱۰۲۸/۸۰	^a ۱۲۰۶/۰۰	۲/۳۰

*اعداد بصورت میانگین گزارش شده اند. (n=5) ارقامی که دارای حروف غیر مشترک هستند، اختلاف معنی دار دارند.

(p < ۰/۰۵)

۴-نتیجه گیری

مطالعات گذشته نشان دادند که وجود سافرانال و کروسین می تواند باعث جلوگیری از کاهش پلاکت ها شود. کروسین و سافرانال ممکن است باعث تحریک تولید پلاکت ها در مغزاستخوان شوند و در نهایت موجب آزاد سازی پلاکت های ذخیره شده در دیواره ی رگ ها گردند (۷). همچنین کروسین در دوزهای بالا می تواند به طور مستقیم باعث افزایش میزان پلاکت ها شود (۸). (p < ۰/۰۵). فلاوونوئید و آنتوسیانین موجود در گلبرگ زعفران از اتصال پلاکت ها به گیرنده های ترومباکسان Ax₂ جلوگیری کرده و از این طریق موجب افزایش پلاکت خون و در نتیجه بیماری ترومبوسیز می شوند (۱۲). در بررسی حاضر افزایش تعداد پلاکت ها می تواند دلیلی بر وجود دو ترکیب سافرانال و کروسین باشد. مطالعات پیشین بر روی عصاره ی الکلی گلبرگ زعفران سبب کاهش غیر وابسته به دوز Hb، HCT و RBC گردید و بر روی MCV، MCH و MCHC تغییر محسوسی نشان نداد. تعداد پلاکت ها تغییر معنی داری نداشت و تعداد گلبول های سفید افزایش یافت (۱). علت تفاوت نتایج این بررسی با سایر مطالعات می تواند دوزهای متفاوت و نوع عصاره ی استفاده شده باشد. از آنجا که افزایش میزان پلاکت ها باعث بیماری ترومبوسیز می شود (۱۲)، می توان نتیجه گرفت که مصرف عصاره آبی-الکلی گلبرگ زعفران در دوزهای گفته شده ممکن است سبب بیماری شود و سمیت داشته باشد.

۵-منابع

۱. کریمی و همکاران. بررسی سمیت تحت حاد عصاره آبی کلالة و گلبرگ زعفران در موش صحرایی. ۱۳۸۳. فصلنامه

گیاهان دارویی، سال سوم، شماره دوازدهم.

1. Abdullaev, F. I. (2002). "Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus* L.)." *Exp Biol Med* (Maywood) 227(1): 20-25.
2. Bolhasani, A., S. Z. Bathaie, et al. (2005). "Separation and Purification of Some Components of Iranian Saffron." *ASIAN JOURNAL OF CHEMISTRY* 17(2): 725-729.
3. Fatehi, M., T. Rashidabady, et al. (2003). "Effects of *Crocus sativus* petals' extract on rat blood pressure and on responses induced by electrical field stimulation in the rat isolated vas deferens and guinea-pig ileum." *Journal of Ethnopharmacology* 84(2-3): 199-203.
4. Gil, M. I., F. A. Tomas-Barberan, et al. (2002). "Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California." *J Agric Food Chem* 50(17): 4976-4982.
- Grasser, L. A., J. G. Fadel, et al. (1995). "Quantity and Economic Importance of Nine Selected By-products Used in California Dairy Rations." *Journal of Dairy Science* 78(4): 962-971.
5. Hariri, A. T., S. A. Moallem, et al. (2011). "The effect of crocin and safranal, constituents of saffron, against subacute effect of diazinon on hematological and genotoxicity indices in rats." *Phytomedicine* 18(6): 499-504.
6. Hosseinzadeh, H., M. V. Shariaty, et al. (2010). "Acute and sub-acute toxicity of crocin, a constituent of *Crocus sativus* L. (saffron), in mice and rats. ." *Pharmacologyonline*. 2: 943-951.
7. Hosseinzadeh, H. and H. M. Younesi (2002). "Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice." *BMC Pharmacol* 2: 7.
8. Ochiai, T., H. Shimeno, et al. (2007). "Protective effects of carotenoids from saffron on neuronal injury in vitro and in vivo." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1770(4): 578-584.
9. Pfander, H. and H. Schurtenberger (1982). "Biosynthesis of C20-carotenoids in *Crocus sativus*." *Phytochemistry* 21(5): 1039-1042.
10. Rechner, A. R. and C. Kroner (2005). "Anthocyanins and colonic metabolites of dietary polyphenols inhibit platelet function." *Thrombosis Research* 116(4): 327-334.
11. Salomi, M. J., S. C. Nair, et al. (1991). "Inhibitory effects of *Nigella sativa* and saffron (*Crocus sativus*) on chemical carcinogenesis in mice." *Nutr Cancer* 16(1): 67-72.
12. Tarantilis, P. A. and M. G. Polissiou (1997). "Isolation and Identification of the Aroma Components from Saffron (*Crocus sativus*)." *Journal of agricultural and food chemistry*. 45(2): 459.
13. Vahidi, A. R., N. Bashardost, et al. (2007). "The analgesic effect of saffron extract in rats as compared with morphine sulfate." *Planta Medica* 73: 995.
14. Zargari, A. (1990). "Medicinal Plants. ." Tehran, University Press. 4.

The effect of petal extract of *Crocus sativus* L. (Saffron) on hematological indices in rats

Arefzadeh N.^{1*}, Arshami J.,² Heravi M. A.³, Mousavi Z.⁴

1-M.Sc.Student, Ferdowsi University of Mashhad, 2,3-Department of Animals Science, Ferdowsi University of Mashhad, 4-Department of Pathology, Mashhad university of veterinary faculty

Noosheen.Arefzadeh@Gmail.com

Abstract

In regard with the unwanted side effects of some chemical medicines, much attention is necessary to promising effects of medicinal plants on the functioning of various parts of body. However, it is crucially important that annually it is produced a large number of saffron's petal as a result of agricultural wastes, which is used to feed the livestock. This study was performed to promising effect of hydromethanolic extract of petal of *Crocus sativus* L. on hematological indices in rats. Wistar rats were randomly assigned into four groups of five animals each. Group 1 was treated with normal saline as control, groups 2 to 4 were treated with extract administered each 48h for 21 days intraperitoneally in doses of 200, 400 and 800 mg/kg, respectively. Hematological parameters were measured one day after last injection. Hydromethanolic extract of saffron's petal caused significant reductions in the MCHC count ($P<0.05$). Platelet count showed significant increases ($P<0.05$). No statically significant changes in other indices were observed among all groups. The results of this study indicated that hydromethanolic extract of petal of *Crocus sativus* L. could have negative effects on hematological parameters.

Key words: *Crocus sativus* L.-petal- hematology- hydromethanolic extract- rat

مرغهای تخمگذار اثر تنوفیلین بر وزن، اندازه، ضخامت و وزن پوسته‌ی تخم
هاشمیان. س. م.^۱، جعفری آهنگری. ی.^۲، انصاری پیرسرائی. ز.^۳، عبدالله پور. ر.^۱، قره ویسی. ش.^۱
۱ - گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر ۲- گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳- گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

*نویسنده مسوول: سیده مریم هاشمیان seyedmaryam@yahoo.com

چکیده

بتاآدرنرژیک آگونیست‌ها ترکیباتی از دسته کاتکولامین‌ها هستند که به‌طور عمده از جهت بهبود راندمان لاشه و افزایش کاتابولیسم لیپیدها در حیوانات مورد بررسی قرار می‌گیرند. در این پژوهش اثر افزودن سطوح مختلف بتاآدرنرژیک تنوفیلین بر خصوصیات تخم مرغهای تخمگذار بررسی شد. یکصد و بیست قطعه مرغ تخمگذار از سویه‌ی های‌لاین W-36 در سن ۸۴ هفته، با میانگین وزن ۱۶۵۰ گرم، در طول سه هفته، با جیره های دارای سطوح ۰، ۱، ۳ و ۵ میلی گرم تنوفیلین تغذیه شدند. مقایسات آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی چند مشاهده‌ای و مقایسه میانگین‌ها به روش توکی انجام شد. افزودن تنوفیلین بر وزن، طول و عرض تخم اثر معنی‌دار داشت ($p \leq 0.05$). بیشترین اثر در سطح پنج میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن پرنده بود ($p \leq 0.05$). اثر افزودن تنوفیلین بر وزن و ضخامت پوسته تخم غیرمعنی‌دار بود ($p > 0.05$).

کلمات کلیدی: بتاآدرنرژیک-تنوفیلین - ضخامت پوسته- تخم مرغ.

مقدمه

نقش کاتکولامین‌ها و اعصاب آدرنرژیک در اعمال تخمدان، اعم از رشد فولیکول‌های تخمدانی و تحریک اوولاسیون، همچنین اثرگذاری بر انقباض و انقباض عضلات صاف اویداکت و انتقال تخم در دستگاه تولیدمثل ماده در پژوهشهای پیشین تأیید شده است (۷، ۱۰، ۱۲). فولیکولوژن در پرندگان و سایر مهره‌داران در کنترل هورمون‌های محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گونادها، مانند GnRH، FSH، LH است (۷ و ۱۰). استروژن‌های تخمدان، بر فعالیت جگر به‌عنوان یک عضو فعال و پویا در سنتز ترکیبات تخم اثر مثبت و افزایشی دارند؛ همچنین به دلیل نقش استروژن‌ها در سنتز ۱،۲۵، دی‌هیدروکسی کوله‌کلسیفرول و جذب کلسیم در دستگاه گوارش افزایش فعالیت استروئیدسازی تخمدان، به‌طور مستقیم بر خصوصیات تخم اثرگذار می‌باشد (۸ و ۹). بتاآدرنرژیک آگونیست‌ها ترکیباتی هستند که به‌عنوان کاتکولامین‌های سنتتیک محسوب شده و موجب هایپرگلیسمی و افزایش جریان خون بافت‌های مختلف می‌شوند (۳، ۴، ۱۱). این ترکیبات با اتصال به رسپتورهای بتا در اندامهای تناسلی پرندگان موجب رشد فولیکول‌های تخمدان و افزایش سنتز استروئیدهای تخمدانی می‌شوند (۱ و ۲). هدف از این پژوهش تأثیر بتاآدرنرژیک آگونیست‌ها بر برخی ویژگی‌های تخم‌مرغها بود تا با شناسایی اثرات مثبت این مواد، از ترکیبات طبیعی دارای این مواد برای بهبود و افزایش عملکرد تولیدمثل پرندگان استفاده شود. در این راستا اثر تنوفیلین بر ویژگی‌های تخم‌مرغهای تخمگذار بررسی شد. تنوفیلین از مشتقات فینیل اتانل آمین‌ها و از دسته‌ی متیل‌گزانتین‌ها ست که همانند گلوکاگون با اتصال به رسپتورهای بتا سبب ممانعت از اثرات فسفودی‌استراز و در نتیجه، افزایش cAMP درون سلول و هایپرگلیسمی می‌شود (۴ و ۵).

مواد و روش‌ها

یکصد و بیست قطعه مرغ تخمگذار از سویه‌ی های‌لاین واریته W-36 در سن ۸۴ هفته با میانگین وزنی ۱۶۵۰ گرم در یک سالن مرغداری تجاری، واقع در شهرستان نکا انتخاب شدند. پرندگان به مدت سه هفته با جیره‌ی پایه‌ی دارای ۲۹۷۰ Kcal/Kg انرژی قابل متابولیسم و ۱۶٪ پروتئین بعلاوه‌ی چهار سطح (۰، ۱، ۳، ۵) میلی‌گرم تنوفیلین خالص (تهیه شده از شرکت داروسازی دکتر عبیدی)، به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تغذیه شدند. مرغها به‌طور تصادفی به یکی از چهار تیمار آزمایشی اختصاص یافتند و

برای هر تکرار ۱۰ مرغ در نظر گرفته شد. از هر تکرار در هر نوبت جمع آوری تخمها دو نمونه به طور تصادفی وزن کشی شد و طول و عرض تخمها با استفاده از کولیس تعیین شد. پس از شکستن و تخلیه محتویات تخمها، پوسته ها وزن کشی شد و به مدت ۲۴ ساعت در آون با درجه ی حرارت ۷۴^{0F} خشک شدند سپس ضخامت پوسته در سه نقطه میانی با میکروسنج تعیین شد. تجزیه واریانس داده های به دست آمده بر اساس طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار Minitab و آزمون مقایسه میانگین با روش توکی در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد انجام شد. در آنالیز طول و عرض تخم، ضخامت و وزن پوسته، وزن تخم مرغ به عنوان متغیر کمکی وارد و داده ها تصحیح شد.

بحث و نتیجه گیری

جدول (۱) تاثیر غلظت های مختلف تنوفیلین بر برخی ویژگی های تخم مرغ در مرغ های تخمگذار

ویژگی	0 mg/kg BW	1 mg/kg BW	3 mg/kg BW	5 mg/kg BW
وزن تخم	۶۲/۶۰ ^b ± ۰/۳۸۳	۶۱/۵۱ ^b ± ۰/۳۸۳	۶۱/۵۸ ^b ± ۰/۳۸۱	۶۴/۲۹ ^a ± ۰/۳۸۱
عرض تخم	۴/۴۸ ^{bc} ± ۰/۰۱۲	۴/۴۸ ^b ± ۰/۰۱۲	۴/۴۳ ^c ± ۰/۰۱۲	۴/۴۹ ^a ± ۰/۰۱۲
طول تخم	۵/۶۲ ^b ± ۰/۰۱۹	۵/۶۰ ^b ± ۰/۰۱۹	۵/۶۶ ^{ab} ± ۰/۰۱۸	۵/۷۸ ^a ± ۰/۰۱۸
ضخامت پوسته	۱/۹۱ ± ۰/۰۰۳۷	۱/۹۲ ± ۰/۰۰۳۷	۱/۹۲ ± ۰/۰۰۳۷	۱/۹۱ ± ۰/۰۰۳۷
وزن پوسته	۷/۰۵ ± ۰/۰۶۶	۶/۸۲ ± ۰/۰۶۶	۶/۷۰ ± ۰/۰۶۵	۷/۰۰ ± ۰/۰۶۵

عدم درج حروف الفبا و وجود حروف یکسان نشان دهنده اختلاف غیرمعنی دار است.

در جدول (۱) خلاصه گزارشات اثر تنوفیلین بر ویژگی های تخم نشان داده شده است. تنوفیلین وزن، عرض و طول تخم را به طور معنی داری افزایش داد ($p \leq 0.05$)؛ اما اثر تنوفیلین بر ضخامت و وزن پوسته غیرمعنی دار بود ($p > 0.05$). اثر مثبت متغیر کمکی وزن تخم بر افزایش عرض، طول، وزن پوسته تخم معنی دار بود ($p \leq 0.05$). ضریب تابعیت عرض و طول تخم از متغیر کمکی وزن تخم ۰/۰۲۱ و ۰/۰۳۱ بود. اثر کوواریت بر ضخامت پوسته غیرمعنی دار بود ($p > 0.05$).

اثبات شده است که اعصاب سمپاتیک و سیستم کلینرژیک و آدرنرژیک تخمدان در استروئیدسازی و رشد فولیکول های تخمدان دخالت دارند. همچنین غلظت هورمون های استروئیدی در فولیکول های تخمدانی مطابق با رشد فولیکول های کوچک در تخمدان تغییر می کند (۶ و ۱۳). در زمینه ی تاثیر کاتکولامین ها، پرسد و همکاران (۲۰۰۷) اثر پیش ساز دوپامین را بر اندازه تخم و ویژگی های دستگاه تولید مثل بلدرچین های ژاپنی ارزیابی کردند. اثر مثبت و افزایشی پیش ساز دوپامین بر وزن تخمها و ناحیه تناسلی پرندگان ماده (رحم و فولیکول های تخمدان) و تحریک ترشح هورمون GH و تخمگذاری در پژوهش آنها، تأییدی بر نقش کاتکولامین ها بر ویژگی های تولید مثلی در پرندگان و اندازه تخم در آنهاست (۱۰).

در این پژوهش میانگین وزن و اندازه تخم در گروه مرغهایی که 5 mg/kg B.W تنوفیلین دریافت کرده بودند، در مقایسه با سایر گروه ها افزایش و اختلاف معنی دار نشان داد ($p \leq 0.05$). با در نظر داشتن نقش بتا آدرنرژیک ها در هایپرگلیسمی (۳) شاید در این پژوهش، تنوفیلین سبب افزایش گلوکز خون و فعالیت جگر و افزایش سنتز ترکیبات تخم شده باشد و به این ترتیب اندازه و وزن تخم افزایش معنی دار یافت. با توجه به نقش هورمون استروژن به عنوان یکی از هورمون های موثر بر ضخامت پوسته و جذب کلسیم، ممکن است که گسترش و رشد فولیکول های تخمدان سبب افزایش استروژن و بالا رفتن جذب کلسیم از استخوانها و دستگاه گوارش شده باشد؛ به این ترتیب با وجود افزایش اندازه تخمها، ضخامت و وزن پوسته نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی دار نشان نداد ($p > 0.05$) جدول (۱). در این پژوهش تنوفیلین اثر منفی بر ویژگی های تخم نداشت بر همین اساس

امیدواریم با بررسی‌های بیشتر در زمینه فراسنجه‌های خونی مانند گلوکز، کلسیم پلاسما و اندازه‌گیری کلسیم پوسته تخم، آگاهی ما در زمینه بتاآدرنرژیک‌ها افزایش یابد.

سپاسگزاری

در پایان لازم است از آقای مهندس ابوالقاسمی مرغدار محترم، که با در اختیار قرار دادن امکانات فارم فرصت انجام این پژوهش را فراهم نمودند قدردانی و سپاسگزاری نماییم.

منابع

1. Anderson, D. B., D. E. Moody, and D. L. Hancock. 2005. Beta adrenergic agonists. *Encyl. Anim. Sci.* 104-107.
2. Anderson, A. C. 2008. Management of beta-adrenergic blocker poisoning. *Clin. Ped. Emerg. Med.* 9: 4-16.
3. Ansari- pirsaraei, Z., A. H. Abolghasemi, A. R. Jafari-sayadi, M. A. Jalali-hajiabadi. 2007. Effects of terbutaline feeding on some blood parameters and carcass characteristics in broiler chicks. 16 th Symposium on Poultry Nutrition.
4. Bankir, A. A., I. El-Wardany, A. M. Abdel-Maksoud, and A. A. Aufy. 2002. Decreasing fat deposition in broiler chickens by using beta-adrenergic agonist "salbutamol". *J. Anim. Sci.* 74: 948-954.
5. Birnbaumer, L., and M. Rodbell. 1969. Adenyl cyclase in fat cells. II Hormone receptors. *J. Biol. Chem.* 13: 3477-3482.
6. Dzienis, A., M. Majewski, J. Wojtkiewicz, M. Piskula, B. Jana. 2004. Adrenergic innervations and steroidogenic activity of cystic porcine ovaries. *Academi. Medic. Bialosto.* 1. 114-11.
7. Ebeid, T. A., Eid. Y. Z., E. A. El-Abd, and M. M. El-Habbak. 2008. Effects of catecholamines on ovary morphology, blood concentrations of estradiol-17 β , progesterone, zinc, triglycerides, and rate of ovulation in domestic hens. *Sci. Dir. Theriogen.* 69: 870-876.
8. Hansen, K. K., R. J. Kittok, G. Sarath, C. F. Toombs, N. Caceres, and M. M. Beck. 2003. Estrogen receptor- α population changes with age in commercial laying hens. *Poul. Sci.* 82: 1624-1629.
9. Liu, H. K., D. W. Long, and W. L. Bacon. 2001. Preovulatory luteinizing hormone surge interval in old and young laying turkey hens early in the egg production period. *Poul. Sci.* 80: 1364-1370.
10. Prasad, S. K., N. Taj. Qureshi, S. Saxena, S. Qureshi, M. Mehar, and S. K. Thakur. 2007. L-Dopa feeding induces body growth and reproductive conditions in Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. *Poul. Sci.* 6:560-566.
11. Smith, S. B., and A. M. Schiavetta. β -adrenergic agonist: mechanism action. Unpublished.
12. Verma, O. P., B. K. Prasad and A. Yancey. 1977. Adrenergic activity of the oviduct of the domestic fowl. *J. Rep. Fert.* 49: 195-200.
13. Wojtysiak, D., E. Kapkowska. 2005. Steroid hormone concentrations in the small ovarian follicles of the goose. *Biotechnolog. Anim. Husban.* 21: 211-215.

Theophylline effect on egg weight, size, thickness and egg shell weight in laying hens.

S.M. Hashemian^{1*}, Y. Jafari-Ahangari², Z. Ansari-Pirsaraei³, R. Abdollahpour¹, S. Gharahveysi¹

1- Department of Animal Science, Qaemshar Islamic Azad University, Qaemshar, Iran 2- Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. 3-Animal Science Department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

*Corresponding E-mail address: seyedmaryam@yahoo.com

Abstract

Beta Adrenergic Agonist compounds is placed in Catecholamine categories that are considered due to carcass improvement and lipid catabolism induction in animal. This study carried out to determine the effect of different levels of Theophylline (0, 1, 3, and 5 milligram per kilogram of body weight per day) on egg characteristic. One hundred twenty Hy-Line W-36 hens 588 day old were obtained from commercial farm in Mazandaran province. Hens received Theophylline as premixed to diet. The research period was three weeks. Data's was analyzed with Minitab software. Means different was estimated by Tukey's test. The effect of Theophylline was significant on egg weight, length and width. The most effect of Theophylline on egg characteristics has shown in group that received 5 mg/kg Theophylline ($p \leq 0.05$). Theophylline's effect had not significant on shell weight and thickness ($p > 0.05$).

Key words: Beta Adrenergic, Theophylline, Shell thickness, Egg.

بررسی ارتباط بین غلظت پلاسمایی لپتین و تستوسترون خون در مراحل قبل و بعد بلوغ جنسی جوانه گاوهای نر

نجدی

الهام منصوری بنی^{۱*}، مریم درخشانی^۱، مرتضی ممویی^۲، خلیل میرزاده^۲، آرمین توحیدی^۳، صالح طباطبایی^۲

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی علوم دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ۲-اعضای هیئت علمی

دانشکده علوم دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان-۳-عضو هیئت علمی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی

پردیس کرج

* نویسنده مسئول: الهام منصوری بنی و پست الکترونیکی: mansuri_elham@yahoo.com

چکیده

با فعال شدن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-غدد جنسی، بلوغ رخ می‌دهد که منجر به آزاد سازی تخمک در ماده‌ها و اسپرم‌سازی در نرها می‌شود. با وجود این که تغییرات مربوط به بلوغ جنسی در محدوده سنی مشخصی از نظر ژنتیکی اتفاق می‌افتد، متغیرهای غیر ژنتیکی از جمله طول روز، وزن بدن و میزان چربی نیز بر سن بلوغ تاثیر می‌گذارند. لپتین هورمونی با ۱۴۶ اسید آمینه و ۱۶ کیلو دالتون جرم مولکولی است که به طور عمده توسط بافت چربی سفید تولید می‌شود. لپتین به عنوان فرسته مهمی بین میزان انباشت چربی و آغاز توانایی تولید مثل عمل می‌کند. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین غلظت لپتین و تستوسترون پلاسمای خون در مراحل قبل و بعد بلوغ جنسی می‌باشد. برای این منظور از ۸ رأس گوساله نر نجدی ایستگاه اصلاح نژاد و پشتیبانی گاو نجدی شوشتر، با میانگین سنی ۷ ماه استفاده گردید. از این گوساله‌ها چند مرحله قبل و بعد از رسیدن به پیوبرتی خونگیری به عمل آمد. در هر دوره خونگیری، یک نمونه خون به منظور تعیین غلظت پلاسمایی لپتین از هر ۸ رأس و ۶ نمونه متوالی خون و به فواصل ۲۰ دقیقه‌ای از این دام‌ها به منظور تعیین غلظت هورمون تستوسترون جمع آوری شدند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که محدوده سن بلوغ در نژاد نجدی، ۱۵-۱۳ ماهگی و میانگین وزنی 120 ± 37 کیلوگرم می‌باشد. غلظت پلاسمایی لپتین همبستگی منفی معنی داری ($r = -0.43$ و $P < 0.05$) با تستوسترون مشاهده شد. با توجه به نتایج به دست آمده، در گوساله‌های نر غلظت لپتین پلاسمای با آغاز بلوغ کاهش می‌یابد. این امر به دلیل اثر منفی تستوسترون بر تولید لپتین در بدن می‌باشد.

واژه های کلیدی: بلوغ- تستوسترون- لپتین- گوساله نر نجدی

مقدمه

تمایل به بهبود خصوصیات رشد گاوها، منجر به انتخاب و استفاده از گاوهای نر جوان تر به منظور کوتاه کردن فاصله‌های نسلی شده است. بلوغ زود رس جنسی مزیت‌های اقتصادی متعددی از جمله افزایش طول عمر تولیدمثلی دام را دارد. هرچه اسپرم گیری از این گاوهای نر در سنین پایین‌تری انجام گیرد، پدران برتر سریع‌تر شناسایی می‌شوند و از همین رو زودتر می‌توان از آن‌ها به عنوان پدران نسل‌های بعدی استفاده کرد. با فعال شدن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-غدد جنسی، بلوغ رخ می‌دهد که منجر به آزاد سازی تخمک در ماده‌ها و اسپرم‌سازی در نرها می‌شود. با وجود این که تغییرات مربوط به بلوغ جنسی در محدوده سنی مشخصی از نظر ژنتیکی اتفاق می‌افتد ولی متغیرهای غیر ژنتیکی از جمله طول روز، وزن بدن و میزان چربی نیز بر سن بلوغ

تاثیر می‌گذارند. از همین رو، در سه دهه اخیر تحقیقات فراوانی صورت گرفته است تا پیام‌های شیمیایی یا هورمونی که که وزن بدن و میزان چربی را با آغاز بلوغ ارتباط می‌دهند، کشف گردد (۱۷،۹). لپتین هورمونی با ۱۴۶ اسید آمینه و ۱۶ کیلو دالتون جرم مولکولی است که به طور عمده توسط بافت چربی سفید تولید می‌شود (۱۹ و ۱۱). این پروتئین ابتدا از ۱۶۷ اسیدآمینه ساخته شده و پس از جدا شدن ۲۱ اسیدآمینه به داخل خون رها می‌شود. آهیما و همکاران بیان نمودند که موش‌های تیمار شده با لپتین زودتر از موش‌های گروه شاهد به بلوغ می‌رسند و لپتین اولین عامل خونی است که مشخص شده بلوغ محور تولیدمثل در جوندگان را سرعت می‌بخشد. لپتین هورمون ترشح شده از بافت چربی، به عنوان پیامبری برای مغز، مصرف خوراک و وزن بدن را کاهش می‌دهد. لپتین مغز را از کافی بودن ذخائر انرژی برای تامین نیازهای بالای تولیدمثل، آگاه و به این صورت در آغاز و زمان بندی بلوغ نقش ایفا می‌کند (۳). درگوساله‌های نر هولشتاین میانگین حداقل مربعات غلظت پلاسمایی لپتین در مرحله پیش از پیوبرتی $3/34 \pm 0/06$ (نانوگرم بر میلی لیتر) به $2/26 \pm 0/023$ (نانوگرم بر میلی لیتر) در مرحله پیوبرتی کاهش یافت و میانگین حداقل مربعات غلظت پلاسمایی تستوسترون در مرحله پیش از پیوبرتی $0/49 \pm 0/061$ (نانوگرم بر میلی لیتر) به $0/74 \pm 0/083$ (نانوگرم بر میلی لیتر) افزایش یافت (۱۰) و با افزایش میزان تستوسترون در آغاز بلوغ، غلظت لپتین پلاسما کاهش یافت.

گاو نجدی خوزستان یکی از نژادهای گاو بومی ایران است که از نظر تولید شیر حائز اهمیت است. مزیت نسبی آن‌ها در بعضی پارامترها نسبت به نژادهای خارجی عبارتند از: مقاومت نسبی در مقابل بیماری‌ها و امراض بومی، قدرت تحمل شرایط نامناسب محیطی، بازده تولید مثلی مناسب، کم توقع بودن و طول عمر اقتصادی نسبتاً خوب گاوهای بومی (۱). از آنجا که سن دقیقی برای بلوغ گوساله‌های نر نجدی ثبت نشده بود، هدف از تحقیق حاضر این بود که برای اولین بار سن بلوغ جنسی این دام‌ها را در شرایط تغذیه و اقلیمی مشخص بدست آوریم و سپس ارتباط بین لپتین و تستوسترون را در مراحل قبل و بعد بلوغ جنسی را به دست آوریم.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۸ رأس گوساله نر نجدی با سن تقریبی ۷ ماه استفاده شد. تمام این گوساله‌ها از فرزندان گاوهای شیری موجود در گله گاوهای مرکز اصلاح نژاد ایستگاه تحقیقاتی گاو نجدی استان خوزستان انتخاب شدند. از این گوساله‌ها به طور ماهیانه در مراحل قبل و بعد بلوغ جنسی خون گیری صورت می‌گرفت. ۳ دوره خون گیری قبل و ۳ دوره خون گیری بعد از ورود به مرحله بلوغ جنسی به عمل آمد. در هر دوره هربار یک نمونه خون به منظور تعیین غلظت پلاسمایی هورمون لپتین و همچنین ۶ نمونه متوالی خون در طی ۲ ساعت و به فواصل ۲۰ دقیقه‌ای به منظور اندازه‌گیری هورمون تستوسترون، از سیاهرگ وداج گرفته شد. نمونه‌های خون در لوله‌های خلا حاوی ماده ضد انعقاد (هپارین) جمع آوری شد. این نمونه‌ها، بلافاصله با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسمای حاصله جدا و در لوله‌های پلاستیکی در دمای -20°C نگهداری شدند. غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون به روش رادیوایمنواسی اندازه‌گیری شد. ۶ نمونه بصورت مجزا اندازه‌گیری شده و سپس میانگین مقادیر بدست آمده استفاده شد. لازم به ذکر است که خونگیری ساعت ۸/۳۰ صبح پیش از خوراک دهی انجام می‌شد. با توجه به اینکه اطلاعات دقیقی در مورد زمان شروع بلوغ جنسی گاوهای نجدی در دسترس نبود، با آغاز رفتارهای پرش جنسی، اسپرم دهی موفقیت آمیز و داشتن کیفیت قابل قبول نمونه‌های منی، بلوغ جنسی دام‌ها تعیین گردید.

غلظت پلاسمایی هورمون تستوسترون به روش رادیو ایمنو اسی (RIA) و همچنین غلظت پلاسمایی لپتین به روش رادیو ایمنو اسی دابل انتی بادی با استفاده از کیت تجاری ساخت شرکت میلی پور آمریکا (Milli pore Leptin-RIA-kit) که برای

اندازه گیری لپتین گاوی تهیه شده بود اندازه گیری شد. تفاوت غلظت هورمون‌های تستوسترون، لپتین در مرحله قبل و بعد بلوغ جنسی به روش آنالیز واریانس اندازه‌گیری‌های مکرر و همبستگی بین غلظت لپتین و تستوسترون از طریق آزمون همبستگی پیرسون و با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ ارائه شده است.

نتایج و بحث

با توجه به نتایج به دست آمده سن بلوغ در محدوده ۱۵-۱۳ ماهگی و میانگین وزنی 120.08 ± 36.91 کیلوگرم تعیین گردید. میانگین غلظت هورمون تستوسترون در مرحله پیش از بلوغ (۱۲-۷ ماهگی)، 1.95 ± 0.80 نانوگرم بر میلی‌لیتر و میانگین غلظت این هورمون در مرحله پس از بلوغ (۱۵-۱۳ ماهگی)، 3 ± 1.42 نانوگرم بر میلی‌لیتر بود. اختلاف غلظت تستوسترون بین مراحل پیش و پس از بلوغ جنسی در سطح $P < 0.05$ معنی دار شد که نتایج تحقیق حاضر با نتایج مطالعات انجام شده قبلی مطابقت دارد (۱۵، ۱۰، ۵، ۴).

سیر صعودی ترشح تستوسترون از بیضه‌ها ناشی از افزایش پالس‌های ترشحی LH از غده هیپوفیز در پی افزایش بسامد پالس‌های GnRH از هیپوتالاموس می‌باشد (۱۶). گونادوتروپین‌های هیپوفیزی، هورمون‌های تروپیکی هستند و باعث افزایش خون رسانی و تحریک رشد بافت می‌شوند (۲). تحقیق دیگر در این مورد بیان نمودند (۷) بیضه‌های گوساله‌های جوان قادر به ترشح تستوسترون در پاسخ به تزریق LH نمی‌باشد، ولی در حدود ۱۶ هفتگی استروئید سازی ناشی از تحریک LH با آزاد سازی آندروستندیون و پس از مدتی تستوسترون در خون آغاز می‌شود (۱۳). از سوی دیگر سلول‌های سرتولی هم از ۱۶ هفتگی تا حدود ۳ سالگی در پاسخ به افزایش تستوسترون داخل بیضه‌ای تمایز می‌یابند و تعداد آن‌ها تا پنج برابر می‌رسد (۶ و ۵). بزرگی بیضه‌ها طی این دوره ناشی از افزایش واحدهای استروئید ساز است که در نتیجه آن تولید تستوسترون بیشتر می‌شود و بدین ترتیب غلظت تستوسترون تا ۳ سالگی سیر صعودی خواهد داشت. افزایش غلظت تستوسترون خون در زمان بلوغ را می‌توان به افزایش حساسیت و گیرنده‌های تستوسترون در سطح سلول‌های لاییدیک و هم‌چنین افزایش شمار سلول‌های لاییدیک نسبت داد. میانگین غلظت هورمون لپتین در مرحله پیش از بلوغ (45.7 ± 2.6 نانوگرم بر میلی‌لیتر) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از میانگین غلظت این هورمون در مرحله پس از بلوغ (35.43 ± 3.9 نانوگرم بر میلی‌لیتر) شد ($P < 0.01$). میانگین حداقل مربعات غلظت هورمون لپتین پلاسما در دوره پیش از بلوغ 3.34 ± 0.6 (نانوگرم بر میلی‌لیتر) به 2.26 ± 0.23 (نانوگرم بر میلی‌لیتر) در مرحله پس از بلوغ کاهش یافت (۱۰).

با توجه به آزمایش حاضر به‌نظر می‌رسد که لپتین عامل زمینه‌ساز بلوغ در گوساله‌ها باشد. اصلی‌ترین عامل تغییرات میزان لپتین در خون گوساله‌ها را در آزمایش اخیر باید به تغییرات وزن بدن به بیان دیگر به تغییرات منشأ تولیدکننده لپتین یعنی سلول‌های بافت چربی سفید نسبت داد (۸). در جنس نر، تستوسترون سنتز لپتین در بافت چربی را هم در محیط برون تنی و محیط درون تنی متوقف می‌کند (۱۲). گزارشات نشان دادند که آندروژن‌ها مانع ترشح لپتین و تولید mRNA لپتین در چربی‌های آزمایشگاهی می‌شود (۱۴). در جنس نر تستوسترون باعث افزایش گیرنده‌های بتا‌آدرنال و تحریک لیپولیز شده و در نتیجه ترشح لپتین کاهش می‌یابد در آزمایش اخیر کاهش سیر نزولی در غلظت لپتین پلاسما مشاهده کردیم که با نتایج با نتایج سایر مطالعات در سایر گونه‌ها (۱۸، ۱۴، ۱۰) مطابقت دارد.

منابع

۱. شهرکی نسب، ر. ۱۳۷۷. بررسی اثر تزریق GnRH و PG2 α و اکسی توسین بر روی برخی شاخص‌های تولیدمثلی در توده گاو نجدی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی مجتمع عالی آموزش کشاورزی و منابع طبیعی رامین، دانشگاه شهید چمران اهواز.
۲. ضمیری، م. ج. ۱۳۸۵. فیزیولوژی تولید مثل. انتشارات حق شناس. ۴۴۸ ص.
3. Ahima, R. S., J. Dushay, S. N. flier., D. Prabakaran and J.S. flier. 1997. Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice. J. Clin. Invest. 99: 391-395.
4. Ahmad, N., M. Shahab, S. Khurshid and M. Arslan. 1989. Pubertal development in the male buffalo longitudinal analysis of body growth, testicular size and serum profiles of testosterone and oestradiol.
5. Amann, R. P. and O. J. Walker. 1983. Changes in the pituitary-gonadal axis associated with puberty in Holstein bulls. J. Anim. Sci. 57: 433-42.
6. Amann, R. P., M. E. Wise, J. D. Glass and T.M. Nett. 1986. Prepubertal changes in the hypothalamic-pituitary axis of Holstein bulls. Biol. Reprod. 34: 71-80.
7. Chandolia, R. K., A. Honaramooz, P. M. Bartlewski, A. P. Beard and N.C. Rawlings. 1997. Effects of treatment with LH releasing hormone before the early increase in LH secretion on endocrine and reproductive development in bull calves. J. Reprod. Fertil. 111: 41-50.
8. Delavaud, C., F. Bocquier, Y. Chilliard., D. H. Keisler., A. Gerler and G. Kann. 2000. Plasma leptin determination in ruminants: Effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. J. Endocrinol. 165: 519-526.
9. Garcia, M. R., M. Amestalden, S. W. Williams, R. L. Stanko., C. D. Morrison and D. H. Keisler. 2002. Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. J. Anim. Sci. 80: 2158-2167.
10. Gholami, H., A. Towhidi., A. Zare Shahneh and E. Dirandeh. 2009. The relationship of plasma leptin concentration on and puberty in Holstein bull calves (Bos taurus). J Anim Physiol and Anim Nutr. 94(6): 797-802.
11. Houseknecht, K. L., C. S. Mantzoros, R. Kuliawat., E. Hadro., J. S. flier and B. B. Kahn. 1998. Evidence for leptin binding to proteins in serum of rodents and humans: modulation with obesity. Diabetes 45: 1638-1643.
12. Kiess, W., A. Reich., K. Meyer., A. Glasow., J. Deutscher., J. Klammt., Y. Yang., G. Muller and J. Kratzsch. 1999. A role for leptin in sexual maturation and puberty. Hormone Res. 51: 55-63.
13. McCarthy, M. S., H. D. Hafs and E. M. Convey. 1979b. Serum hormone patterns associated with growth and development in bulls. J. Anim. Sci. 49: 1012-20.
14. Pilcova, R. 2003. Leptin Levels in Obese Children: Effects of Gender, Weight Reduction and Androgens, Physiol. Res. 52: 53-60.
15. Pinho, T. G., S. Gilardi., L.A. G. Nogueira and P. A. Pinto. 1999. Sexual steroids concentrations and scrotal circumference in 18 month Nelore bulls. Rev. Bras. Reprod. Anim. 23: 209-210.

16. Romeo, R. D., H. N. Richardson and C. L. Sisk. 2002. Puberty and the maturation of the male brain and sexual behavior: recasting a behavioral potential. *Neurosci. Biobehavioral. Rev.* 26: 381-391.
17. Spicer, L. J. 2001. Leptin: a possible metabolic signal affecting Reproduction. *Domest. Anim. Endocrinal.* 21: 251-270.
18. Xu, X., G. De Pergola and P. Bjorntorp. 1991. Testosterone increases lipolysis and the number of b-adrenoceptors in male rat adipocytes. *Endocrinology.* 128:379-382.
19. Zhang, Y., R. Proenca., M. Maffei., M. Barone., L. Leopold and. J. M. Friedman. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-432.

Determination the relationship between plasma level of leptin and testosterone in pre and post puberty in Najdi male calves

Elham Mansuri^{1*}, Maryam Derakhshani¹, Morteza Mamoei², Khalil Mirzadeh², Armin Towhidi³, Saleh Tabatabaei²

1-Master science of domestic animal physiology Ramin Agriculture and Natural Resources University of khozestan 2-member board of professor of Department of Animal Science of Agriculture and Natural Resources University of Khozestan 3-member board of perofessor of Pardis Agriculture and Natural Resources University of Karaj

*Corresponding E-mail address: mansuri_elham@yahoo.com

Abstract

Sexual maturation involves activation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis, a process that results in ovulation of a viable oocyte in females and spermatogenesis in males. This transition typically occurs at a genetically predetermined age; however, nongenetic variables such as photoperiod, BW, and adiposity can modify the age at which puberty occurs. Leptin, a hormone with 146 amino acids and 16 kDa molecular mass is produced mainly by white adipose tissue. Leptin as an envoy between fat accumulation and the works of reproduction. The purpose of this study was to investigate the relationship between leptin and testosterone concentrations in blood plasma before and after puberty. For this purpose, 8 Najdi male calves of Shushtar breeding station of Najdi cattle with a mean age of 7 months were used. Multiple sampling before and after puberty were performed. In each paired of samplings, one blood sample for determination the leptin and 6 continually samples every 20 min. were collected. The results showed that in male Najdi calves, 13 -15 months and with weighted average 120 ± 37 kg was determined as the age of puberty. A significant negative correlation between plasma leptin concentration and testosterone value ($p < 0.05$, $r = -0.43$) was observed. According to the results plasma leptin concentrations in male calves is reduced with the onset of puberty. This is due to the negative effect of testosterone on leptin production in the body.

Key words: puberty- testosterone- leptin- Najdi bull calf

ساخت دستگاه سرویکس اسکوپ برای فحلیابی بهینه و تشخیص عفونت‌های رحمی در گاو

سید مهدی کریم زاده^{۱*} - حمید امانلو^۲ - محمدعلی سیرجانی^۳

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی ساری، ۲-۳ دانشیار و فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی،

دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

*- نویسنده مسئول: سید مهدی کریم زاده Email: smehdyk@gmail.com

خلاصه

ساخت سرویکس اسکوپ برای فحلیابی بهینه، و تشخیص عفونت‌های رحمی پس از زایش در گاوداری دانشگاه زنجان مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمایش از گردن رحم ۴ گاو فحل و غیر فحل فیلم برداری شده تا تفاوت‌های مورفولوژی گردن رحمی آنها مورد ارزیابی قرار گیرد. بعد از چند مورد فیلم برداری از گردن رحم گاوها به این نتیجه رسیدیم که محیط درونی و شکل ظاهری گردن رحم گاوها در روزهای فحلی و غیر فحلی تفاوت‌های فاحشی دارند. گاوهای غیر فحل محیط گردن رحم آنها بدون ترشحات است، در صورتی که در گاوهای فحل محیط گردن رحمی از ترشحات و حباب‌های آبکی پوشیده شده است. در گاوهای متریتی عفونت محیط سرویکسی، کاملاً واضح و قابل تشخیص بود، واژن گاو متریتی دارای حباب‌های ریز و به صورت کف‌آلود بود و محیط انتهایی واژن به دلیل درد دام برخلاف دام‌های سالم دیواره‌ی واژن روی هم خوابیده بود که دیدن سرویکس را در این گونه مواقع دچار مشکل می‌کرد. با طراحی و ساخت سرویکس اسکوپ سعی بر آن شد تا زمینه شناخت بیشتر محیط واژن و اتفاقاتی که درون این محیط رخ می‌دهد را با چشم مورد بررسی قرار داد.

واژه‌های کلیدی: سرویکس اسکوپ- عفونت رحمی- فحل- گردن رحم

مقدمه

با توجه به پیشرفت‌های روز افزون در صنعت دامپروری و نیاز مبرم به ورود فن‌آوری‌ها جدید، دستگاه‌هایی جهت تسهیل اعمال دامپروری مورد ساخت و بهره‌برداری قرار گرفته‌اند. بر آن شدیم که برای کمک به بخش تولید مثل و سلامت دام، این دستگاه را طراحی و مورد ساخت قرار دهیم. فاصله زایش مطلوب که ممکن است لزوماً بهینه نباشد در بیشتر گاوداریها ۱۲-۱۳ ماه است (۲ و ۴). با توجه به توسعه تکنیک تلقیح مصنوعی، به جای گاو نر خود گاودار باید عمل فحلیابی را انجام دهد و علیرغم منافع ژنتیکی-اقتصادی آن اینجاست که بسیاری از اشتباهات مدیریتی موثر بر باروری گله آشکار می‌شود. زمان فحلی در گاوهای چند شکم زا نسبت به گاوهای تک شکم زا بیشتر است (۱).

پدیده فحلی متعاقب ترشح هورمون‌ها به‌ویژه هورمون استروژن رخ می‌دهد. در صورتی که زمان بروز فحلی به موقع تشخیص داده نشود، دست کم به اندازه یک چرخه فحلی، فاصله گوساله‌زایی افزایش می‌یابد (۵). بخش دیگری که صنعت دامداری‌ها را تهدید می‌کند بیماری‌هایی همچون متریت و شناسایی هر چه زودتر آنها در گله می‌باشد. هدف کلی طرح معرفی یک فن‌آوری غیر پیچیده و اقتصادی جهت کمک به بهبود سلامت رحم و مدیریت تولید مثل در نشخوارکنندگان است.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر بر روی ۴ گاو (دو گاو یک بار زایش کرده و دو گاو دوبار زایش کرده) در مدت ۳۰ روز از ۲۰ مهر ۱۳۸۹ تا ۲۰ آبان ۱۳۸۹ در در گاوداری دانشگاه زنجان با جمعیت ۱۹۰ رأس گاو و ۵۰ رأس گاو دوشا، تغییرات روزانه گردن رحم آنها مورد ارزیابی و فیلم برداری قرار گرفت.

برنامه تولیدمثلی گله بر اساس مشاهده فحلی و سپس تلقیح دام‌ها صورت می‌گرفت. تشخیص آبستنی از طریق لمس از طریق راست روده صورت می‌پذیرفت. پس از فیلم برداری از گردن رحم گاو‌ها ویژگی‌های وضوح، موقعیت مرکزی، میزان ترشحات، و شدت حرکات ناحیه گردن رحم در روزهای فحلی و غیرفحلی از ۱ تا ۵ نمره‌دهی شد، که در آن نمره ۵ مبین بالاترین وضوح، مرکزی‌ترین موقعیت، و بیشترین ترشحات و کمترین حرکات ناحیه گردن رحم و نمره ۱ نقاط مقابل نمره ۵ را نشان می‌داد. مقایسه ویژگی‌های ریخت شناسی ناحیه گردن رحم بین روز فحلی و غیرفحلی با نرم افزار آماری SAS(SAS Institute) (۳) و با اطمینان از تجانس واریانس‌ها انجام گرفت.

نتایج

گردن رحم در گاو فحل با گاو غیر فحل به طور معنی‌داری متفاوت بود ($p < 0.01$). ترشحات گردن رحم در گاو فحل نسبت به گاو غیر فحل به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p < 0.01$). موقعیت قرار گرفتن سرویکس در گاوهای فحل نسبت به گاو غیر فحل به طور معنی‌داری متفاوت بود ($p < 0.01$). تحرک در گردن رحم گاو فحل نسبت به گاو غیر فحل به طور معنی‌داری متفاوت بود ($p < 0.01$). فیلم‌های گرفته شده از گاوهای فحل و غیر فحل بیانگر این مسأله بودند که گردن رحم گاوهای فحل از شکل ظاهری متفاوتی برخوردار بودند. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌کنید سرویکس گاو فحل به طور کامل به حالت باز درآمده و ترشحات موکوسی درون محوطه‌ی واژنی قابل رؤیت هست. در گاوهای غیرفحل گردن رحم آنها به طور کامل در هم پیچیده شده و دهانه گردن رحم در این گاو‌ها به سختی قابل مشاهده است (شکل ۱). همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌کنید وجود چرک و حباب‌های کف‌آلود در اطراف سرویکس در گاوهای متریتی کاملاً واضح و قابل رؤیت می‌باشد، در زمان متریت علاوه بر وجود چرک و حباب‌های کف‌آلود، رنگ سرویکس قرمزتر و همچنین موقعیت سرویکس در کف محوطه‌ی واژنی است، که بخشی از آن مربوط به درد دام در زمان متریت می‌باشد.

بحث

این اولین بار در ایران است که محوطه‌ی گردن رحم گاو مورد فیلم برداری و ارزیابی قرار می‌گیرد. سرویکس‌اسکوپ این امکان را فراهم می‌آورد که با رؤیت سرویکس به بیمار یا سالم بودن دام پی ببریم. در مورد دام‌های سالم در روزهای غیرفحلی محیط کاملاً عاری از ترشحات و حباب‌های موکوسی می‌باشد در روزهای فحلی دام داری ترشحات موکوسی و حباب‌هایی با ضخامت بیشتر درون محیط واژنی می‌باشد ولی در گاوهای متریتی محیط کاملاً کف‌آلود بوده و به دلیل درد دام در زمان متریت محیط واژنی گاو بروی همدیگر قرار می‌گیرد و محیط واژنی که در گاوهای سالم به صورت کاملاً مشهود قابل رؤیت بوده، دیده نمی‌شود.

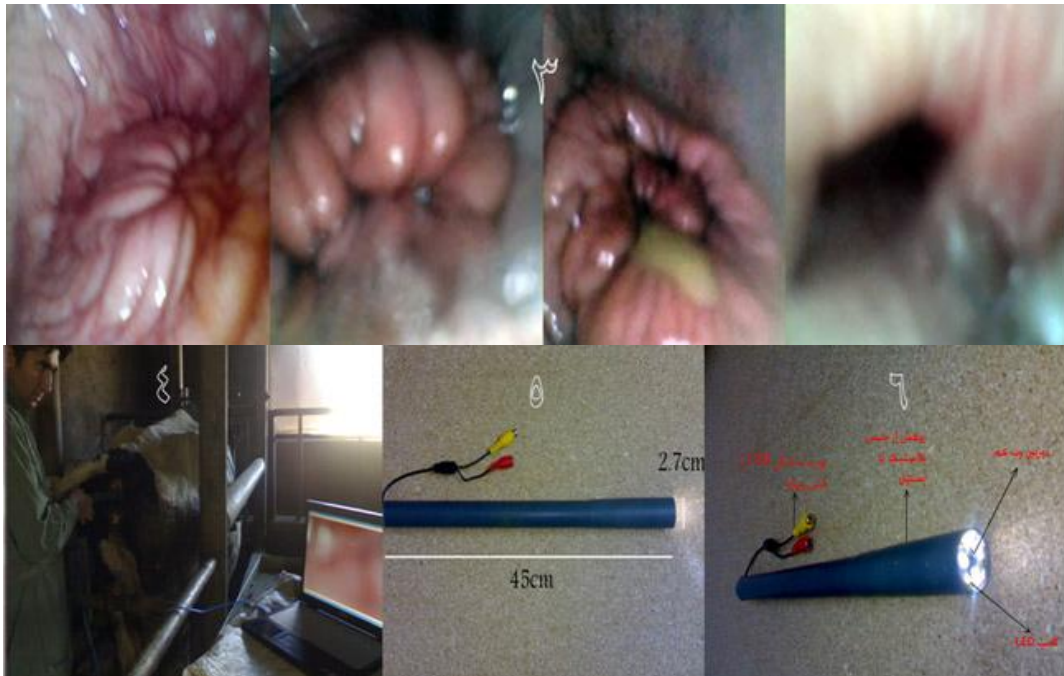
از دستگاه سرویکس‌اسکوپ برای شناسایی گاوهای فحلی که هیچ گونه علائم فحلی ندارند می‌توان بهره جست. دستگاه سرویکس‌اسکوپ می‌تواند به درمان گاو‌هایی که چند بار تلقیح شده‌اند ولی آبستن نشده‌اند کمک کند تا دلیل آبستن نشدن آنها را مورد بررسی قرار دهد. این روش می‌تواند مشخص کند که عدم آبستنی شاید به دلیل تشخیص‌های غلط فحلی یا فحلی‌های

کاذب، به اشتباه گاو تلقیح شده و جواب مثبت نداده‌اند باشد. همچنین از این دستگاه می‌توان برای تشخیص عفونت‌های رحمی پس از زایش بهره جست چرا که در مدت اندکی پس از زایش (۲روز) گردن رحم حالت با قوام خود را تا حدودی از دست داده و با باز شدن این ارگان احتمال خروج عفونت‌های رحمی وجود دارد. از این دستگاه جهت آموزش تکسین‌های تلقیح مصنوعی و هم چنین آشنا کردن دانشجویان با محوطه واژنی و بررسی مورفولوژیکی سرویکس بهره جست.

جدول ۱ تاثیر استفاده از دستگاه سرویکس اسکوپ برای فحلی یابی بهینه گاو				
P	انحراف معیار	روز غیر فحلی	روز فحلی	
تفاوت				
< ۰/۰۱	۰/۳	۲/۵	۴/۶	وضوح گردن رحم
< ۰/۰۱	۰/۳	۱/۵	۴/۳	ترشحات گردن رحم
< ۰/۰۱	۰/۴	۱/۸	۴/۲	موقعیت گردن رحم
< ۰/۰۱	۰/۴	۳/۸	۱/۷	حرکات گردن رحم

تصاویر گرفته شده توسط سرویکس اسکوپ





شکل ۴ نحوه کار کردن با دستگاه

شکل ۵ اندازه دستگاه

شکل ۶ اجزاء تشکیل دهنده دستگاه

شکل ۱ گردن رحم روز غیر فحلی

شکل ۲ گردن رحم روز فحلی

شکل ۳ گردن رحم در هنگام متريت

منابع

- 1- HALL J. G., CECIL BRANTON., ANI STONE E. J. 1959. Esterous, Esterous cycles, ovulation time, Time of service, And fertility of dairy cattle in Louisiana. Dairy Department, Louisiana State University, Baton Rouge.
- 2- Holmann F.J., Shumway C.R., Blake R.W., Schwart R.B. & Sudweeks E.M. 1984. Economic value of days open for Holstein cows of alternative milk yields with varying calving intervals. *Journal of Dairy Science* 67, 636-643.
- 3- SAS User's Guide. 2003. Version 9.1. Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- 4- Strandberg E. & Oltenacu P.A. 1989. Economic consequences of different calving intervals. *Acta Agriculturae Scandinavica* 39, 407-420.
- 5- XU Z. Z., McKNIGHT D. J., VISHWANATH R., PITT C. J., BURTON L. J. 1998. Estrus Detection Using Radiotelemetry or Visual Observation and Tail Painting for Dairy Cows on Pasture. *Journal of Dairy Science* 81:2890-2896.

Manufacturing of cervical scope to improve access estrus, and uterine infection in cattle

Seyyed Mehdi Karmzadeh^{1*}, Hamid Amanlou², Mohammad Ali Sirjani³

1- PhD student in Animal Science, Sari Agricultural University, 2-3 Associate Professor And MSc Graduation, Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Zanzan University

* Corresponding Email: smehdyk@gmail.com

Abstract

Manufacturing of cervical scope for optimal detection and diagnosis uterine infections after calving were evaluated in zanzan university cattle husbandry. In this experiment, 4 cervical estrus and non-estrus of multiple cattle to take up differences in morphology, and their uterine cervical was evaluate. After several cases of cervical video recording, we conclusion that the internal environment and appearance of cervical area in estrus and non-estrus days is different. Non-cattle estrus environment without their cervical secretions in the estrus if the cows neck uterine environment of watery discharge and was covered with bubbles. In metritis cows infection in the cervical area was completely clear and recognizable, metritis cows vaginal has tiny bubbles and foamy and vaginal terminal environment due to animal pain unlike the healthy animals had been lied vaginal wall to see the cervix in this cases was difficult. With design and construction cervical scope was tried to understand the vaginal environment and events that occur within this environment were examined with eyes.

Key words: cervical scope-uterine infection-estrus-cervical.

برآورد میزان همبستگی برخی پارامترهای تولید مثلی در منی قوچهای مغانی، شال، افشار و سنگسری
محمد مهدی کثیریان^۱، سعیدرضا اصغری^۱، غلامحسین ایراجیان^۱، مجید حجازی فر^۱، علی رشیدی^۱
مدرس مجتمع آموزش جهاد کشاورزی استان سمنان، موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی
Email : mhdkasiri@yahoo.com

چکیده

برای افزایش بازدهی تولیدمثلی دامها، ابتدا باید به تاثیر پارامترهای تولیدمثلی بر کیفیت منی توجه نمود. میزان همبستگی پارامترهای تولیدمثلی یکی از روشهای موثر در برآورد وضعیت تولید مثلی دامهاست. این پژوهش برای تعیین میزان همبستگی پارامترهای تولید مثلی، درگوسفندداری مرکز آموزش جهاد کشاورزی دامغان، بر روی تعداد ۱۶ قوچ از نژادهای سنگسری، مغانی، افشاری و شال (۴ قوچ از هر نژاد) انجام شد. اسپرمگیری با استفاده از واژن مصنوعی از ابتدای فروردین تا اسفند، ماهانه یک بار انجام شد. غلظت و تحرک اسپرماتوزوئیدها، درصد اسپرمهای زنده و طبیعی، غلظت قندهای احیا کننده و LDH مایع منی اندازه گیری و همبستگی بین این متغیرها محاسبه شد. نتایج نشان داد که بین LDH و درصد اسپرمهای طبیعی در هر کدام از قوچهای سنگسری و مغانی همبستگی معکوس و معنی داری دیده شد ($p < 0/1$) در هر چهار نژاد همبستگی بین LDH با غلظت اسپرم مثبت و با درصد اسپرمهای زنده معکوس و معنی دار بود ($p < 0/1$). بین LDH و تحرک اسپرم همبستگی معکوس و قوی دیده شد. همبستگی درصد اسپرمهای طبیعی با غلظت و تحرک اسپرمها متوسط بود. این همبستگی با غلظت اسپرم معکوس و با تحرک مستقیم بود. همبستگی قندهای احیا کننده با غلظت اسپرم در هر چهار نژاد معکوس، قوی و معنی دار بود ($p < 0/1$). ولی این همبستگی با درصد اسپرمهای زنده تنها در نژاد مغانی متوسط و معنی دار بود. بین غلظت قندهای احیا کننده و تحرک اسپرم در نژاد سنگسری و مغانی همبستگی متوسط دیده شد. کلید واژه ها: همبستگی، قوچ، LDH، تحرک، اسپرمهای طبیعی و زنده، قندهای احیا کننده.

تولید مثل درگوسفند، تحت تاثیر عوامل محیطی مختلفی مانند: چرخه نوری، سن، مدیریت، نژاد و دما (۹) است، برای انجام برنامه های افزایش بازدهی مدیریت تولید مثلی، ابتدا باید توان تولید مثلی توده های بومی شناسایی شده تا بتوان با انتخاب توده مناسب به حد اکثر بازده دست یافت (۱). در آزمایشی روی قوچهای نژاد فریزین بین لاکتات دهیدروژناز (LDH) و تحرک، همبستگی منفی بالایی وجود داشت و از LDH، به عنوان شاخص تحرک اسپرم استفاده کرد (۱۵). تولی و سینگ میزان LDH رادر منی گاوهای هولشتین اندازه گیری کردند و LDH منی، با غلظت اسپرم و تحرک کل آن رابطه داشت. غلظت LDH در مایع منی، با تعداد کل اسپرم متحرک و حجم انزال همبستگی منفی داشت (۱۶).

در گاوهای جرزی و مورا غلظت LDH با امتیاز کیفیت منی همبستگی منفی، و با فعالیت متابولیکی اسپرم، همبستگی مثبت داشت (۶). در آزمایشهای جداگانه ای که بر روی قوچهای نژاد قزل و مهربان انجام شد، در هر دو نژاد همبستگی منفی و بالایی (۰٫۸ تا -۰٫۷، $r^2 = -$) میان سطح LDH موجود در مایع منی با درصد اسپرم زنده، درصد اسپرم نرمال و تعداد کل اسپرم وجود داشت (۱۷). در قوچهای مدیترانه ای (۸) و نژادهای نیمکره ی شمالی (۴)، غلظت فروکتوز در مایع منی، در تابستان و پاییز بیشتر بود. بین فروکتولیز و تحرک اسپرم، همبستگی بالایی وجود داشت (۱۱). نتایج نشان می دهند که تفاوتهای بین گونه ای و بین نژادی در میزان همبستگی بین پارامترهای تولید مثلی وجود دارد. هدف این پژوهش برآورد میزان همبستگی بین مهمترین متغیرها را در چهار نژاد دنبه دار ایرانی بود.

مواد و روشها

در این پژوهش تعداد ۱۶ قوچ از نژادهای سنگسری، مغانی، افشاری و شال انتخاب (از هر نژاد چهار قوچ) و جدا از میشها و در جایگاه های باز نگهداری شدند. اسپرمگیری با استفاده از مهبل مصنوعی انجام شد. نمونه گیری از اول فروردین ماه ۱۳۸۸، آغاز و به مدت یک سال، هر ماه یکبار تکرار شد. میزان تحرک اسپرمها بر روی صفحه گرم (۳)، غلظت اسپرمها با روش شمارش اسپرمها روی لام نئوبار با رقیق سازی ۱:۲۰۰، تعیین درصد اسپرمهای زنده و تعیین درصد اسپرمهای طبیعی با روش رنگ آمیزی (۳) انجام شدند. برای اندازه گیری غلظت قندهای احیا کننده و آنزیم لاکتات دهیدروژناز، مایع منی با سانتریفیوژ (برای ۳۰ دقیقه و با ۶ هزار دور در دقیقه) جدا و به نسبت یک به ده، رقیق شد. غلظت قندهای احیا کننده (۱۴) و LDH با روش اسپکتروفتومتری (۳) انجام شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS برای بررسی جهت، قدرت و معنی داری همبستگی میان صفات میزان تحرک و غلظت اسپرماتوزوئیدها، درصد اسپرمهای زنده و طبیعی، غلظت قندهای احیا کننده و غلظت LDH در چهار نژاد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج محاسبه میزان همبستگی بین صفات کیفیت اسپرم در چهار نژاد مورد آزمایش در جدول ۱ و میانگین ماهانه صفات در چهار نژاد در جدول ۲ آمده است. در هر چهار نژاد بین غلظت قندهای احیا کننده (R.D.) با LDH همبستگی معکوس، ضعیف و غیر معنی داری دیده شد ($p > 0.1$). بین LDH و درصد اسپرمهای طبیعی (N.S.) در قوچهای سنگسری ($P \leq 0.01$) و مغانی ($P \leq 0.05$) همبستگی معکوس، متوسط و معنی داری دیده شد ولی در دو نژاد دیگر همبستگی ضعیف و غیر معنی دار بود ($P \leq 0.05$). در هر چهار نژاد بین LDH با غلظت اسپرم همبستگی مثبت ($P \leq 0.05$) و با درصد اسپرمهای زنده همبستگی معکوس ($P \leq 0.01$)، متوسط و معنی داری دیده شد. بین LDH و تحرک اسپرم همبستگی معکوس و قوی دیده شد. هر چهار



نژاد این همبستگی را به طور معنی داری پایین تر از ۰,۷- نشان دادند. همبستگی درصد اسپرمهای طبیعی با غلظت قندهای احیا کننده و درصد اسپرمهای زنده، غیر معنی دار و ضعیف بود ($P \leq 0.05$)، ولی با غلظت ($P \leq 0.05$) و تحرک اسپرم ($P \leq 0.01$) همبستگی متوسطی داشت. همبستگی با غلظت اسپرم معکوس و با تحرک مستقیم بود. همبستگی قندهای احیا کننده با غلظت اسپرم در هر چهار نژاد معکوس، قوی و معنی دار بود ($P \leq 0.01$)، ولی این همبستگی با درصد اسپرمهای زنده تنها در نژاد مغانی متوسط و معنی دار بود ($P \leq 0.05$) در باقی نژادها ضعیف و غیر معنی دار بود. بین غلظت قندهای احیا کننده که فروکتوز بیش از ۹۵٪ آنها را تشکیل میدهد (۳) و تحرک اسپرم در نژاد سنگسری ($P \leq 0.01$) و مغانی ($P \leq 0.05$) همبستگی متوسط دیده شد و در دو نژاد دیگر همبستگی غیر معنی دار و ضعیف بود. غلظت اسپرم با اسپرمهای زنده همبستگی ضعیف و غیر معنی دار ($P \leq 0.05$) و با تحرک اسپرم همبستگی معکوس، متوسط و معنی داری داشت ($P \leq 0.05$). همبستگی اسپرمهای زنده با تحرک مثبت، متوسط و معنی دار بود ($p < 0.01$). در قوچهای نژاد فریزین نیز بین LDH و تحرک، همبستگی منفی بالایی وجود داشت (۱۵). در گاوهای جرسی و مورا غلظت LDH با امتیاز کیفیت منی همبستگی منفی، و با فعالیت متابولیکی اسپرم، همبستگی مثبت داشت (۱۶). میزان LDH در منی گاوهای هولشتاین با غلظت اسپرم و تحرک کل آن رابطه داشت و غلظت LDH در مایع منی، با تعداد کل اسپرم متحرک و حجم انزال همبستگی منفی داشت (۱۶). در بره های نژاد کایوس، سرایی و کارانگونیکو نیز میزان LDH اندازه گیری شد. از این آزمایش نتیجه گیری شد که میتوان از LDH به عنوان شاخص شروع فعالیتهای بیضه استفاده کرد. LDH، در هنگام بلوغ کاهش معنی داری داشت (۲). در آزمایش راثو و پاندای (۱۳) نیز LDH، با تحرک کل و درصد اسپرم زنده به طور معنی داری همبستگی منفی داشت.

جدول ۱- میزان، جهت و معنی داری همبستگی بین صفات منی قوچهای چهار نژاد

افشاری	شال	مغانی	سنگسری	
.04	-.12	-.38*	-.41**	LDH ^ N.S.
-.14	-.16	-.17	-.19	LDH ^ R.S.
.33*	.37*	.38*	.34*	LDH ^ S.D.
-.46**	-.51**	-.53**	-.42**	LDH ^ L.S.
-.84**	-.78**	-.79**	-.72**	LDH ^ MO.
-.02	.18	.25	.23	N.S. ^ R.S.
-.36*	-.38*	-.35*	-.37*	N.S. ^ S.D.
.12	.15	.22	.23	N.S. ^ L.S.
.53**	.64**	.52**	.49**	N.S. ^ MO.
-.53**	-.65**	-.44**	-.62**	R.S. ^ S.D.
.27	.29	.35*	.19	R.S. ^ L.S.
.23	.18	.29*	.42**	R.S. ^ MO.
-.19	-.22	-.01	-.26	S.D. ^ L.S.
-.27*	-.37*	-.35*	-.31*	S.D. ^ MO.
.22*	.57**	.42**	.43**	L.S. VS. MO.

تعداد نمونه: ۴۸ راس؛ چهار نژاد: SANG: سنگسری، MOGH: مغانی، SHAL: شال و AFSH: افشاری؛ صفات: LDH: غلظت لاکتات دهیدروژناز، N.S.: اسپرم طبیعی، R.S.: غلظت قندهای احیا کننده، S.D.: غلظت اسپرم، L.S.: اسپرم زنده، MO: درصد اسپرم متحرک.



در آزمایشی (۵) لاکتات دهیدروژناز و تحرک اسپرم در اسب عربی همبستگی منفی کمی نشان داد ($r=0.39$). چنین نتایجی را پیچ و همکاران (۱۲) نیز با همبستگی منفی بیشتر ($r=0.62, p<0.01$) به دست آورده بودند. LDH کل در انسان نیز با میزان تحرک همبستگی منفی به میزان $r=0.503$ ($p<0.05$) نشان داد (۷). در حالت کلی مطالعات مختلف غلظت آنزیم لاکتات دهیدروژناز را به عنوان شاخص تحرک اسپرم معرفی نموده اند. در آزمایش دوگان و همکاران (۵) روی خصوصیات منی اسب عربی، بین غلظت اسپرم و درصد اسپرمهای مرده و تحرک همبستگی ضعیف و غیر معنی داری دیده شد. ولی همبستگی با LDH متوسط بود. همبستگی تحرک و LDH معکوس و متوسط بود. در همین آزمایش بین اسپرمهای مرده و تحرک همبستگی معکوس و متوسطی دیده شده بود. در آزمایش ضمیری و حیدری نیز که روی خصوصیات تولید مثلی بزهای نر راثینی انجام شد، همبستگی بین تعداد کل اسپرمهای زنده و LDH متوسط، معکوس و معنی دار بود (۱۸).

در آزمایش پیچ و همکاران (۱۲) نیز که روی اسبهای نر انجام شد، بین LDH و تحرک کل، تحرک رو به جلو و نسبت اسپرمهای زنده به مرده همبستگی معکوس و متوسط و معنی داری دیده شد. در آزمایش ضمیری و همکاران (۱۹) بین LDH با درصد اسپرمهای زنده و طبیعی و تحرک اسپرم همبستگی متوسط، معکوس و معنی دار وجود داشت.

جدول ۲ - میانگین صفات اندازه گیری شده چهار نژاد در فصول مختلف سال

بهار	تابستان	پاییز	زمستان	بهار	تابستان	پاییز	زمستان
سنگسری				افشاری			
MO.	64.3	67.2	60.7	60.57	MO.	64.3	60.37
L.S.	82.47	82.57	77.9	77.07	L.S.	3.1	3.4
N.S.	83.3	84.57	75.58	79.7	N.S.	369.67	350
LDH	3.13	2.9	3.5	3.5	LDH	81.4	78.3
R.S.	317.3	377	350	294	R.S.	82.6	77.7
S.D.	357.3	286.67	323	362.3	S.D.	310	306.67
مغانی				شال			
MO.	67.7	66.6	57.2	59.37	MO.	62.27	57.9
L.S.	3.07	2.9	4.03	3.5	L.S.	3.37	3.6
N.S.	367.67	285.3	333.3	362.3	N.S.	356	394
LDH	82.2	83.7	77.8	77.6	LDH	81.3	79.8
R.S.	80.47	82.9	76.42	77.5	R.S.	81.9	78.57
S.D.	313	370	348.3	291	S.D.	308	302.67

LDH: غلظت لاکتات دهیدروژناز (U/ml)، N.S.: % اسپرم طبیعی، R.S.: غلظت قندهای احیا کننده (mg/dl)، S.D.: غلظت اسپرم (* 10^6)، L.S.: % اسپرم زنده، MO.: % اسپرم متحرک.

در آزمایش ضمیری و خدایی (۱۷) روی دو نژاد قزل و مهربان، در هر دو نژاد همبستگی معکوس و قوی میان سطح LDH موجود در منی با درصد اسپرم زنده، درصد اسپرم نرمال و تعداد کل اسپرم مشاهده شد ($p<0.01$).

نتیجه گیری کلی

در مجموع نتایج نشان دادند که از طریق اندازه گیری صفاتی نظیر غلظت LDH میتوان نظری درست در باره کیفیت منی ارائه داد و همچنین میتوان با بهبود برخی پارامترهای موثر بر کیفیت مایع منی باعث بهبود کیفیت اسپرم و باروری آن شد.

References:

1. Absatnatov, S.T.; R.E. Sadykov & K.U. Urmambetov. 1986. Chemical composition of Kirgiz of semen of Kirgiz Finewool rams in relation to season of the year. *SelektsiyaIRazvedenicZhiyotnykh* ,6: 41-45(Adst) .
2. Alexopoulos , C.; A . Ayiannidis and P. Tsakalof. 1991. Lactic dehydrogenase in ejaculates of lambs as an indicator of the onset and levels of exocrine function of the testes . *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society*,42: 103-108(Abst).
3. Asghari, S.R. 1999. Testicular and seminal characteristics of Ghezel and Mehraban rams as affected by season and vitamin C supplementation. MSc Thesis, Shiraz University, Iran. P: 92 (In Persian with English abst.).
4. Barell , G. K. & K. K. Lapwood. 1978. Seasonality of semen production and plasms luteinizing hormone, testosterone and prolactin levels in Romney, Merino & Polled Dorset rams, *Animal Reproduction Science*, 1: 213-228.
5. Dogan, I.; U. Polat, and Z. Nur. 2009. Correlations between seminal plasma enzyme activities and semen parameters in seminal fluid of Arabian horses, *Iranian Journal of Veterinary Research*, Vol. 10, No. 2, Ser. No. 27:119-124.
6. Dube, G. D.; P. K. Dwaraknath & K. K. Vyas.1982. Lactic dehydrogenase in relation to semen quality. *Indian J. of Dairy Sci.*, 35: 80-82.
7. Fadiloglu ,M., C. Ulman, B.Önvural, A.Önvural.1998. The Seminal Fluid Isoenzyme LDH- 4 in Infertile Men, *Tr. J. of Med. Sci.*, 28 : 609-613
8. Folch , J. 1980. Contribucion al studio de las características sexuales del Moruecs de raza. Thesis Doc., Univ .De Zaragoza (En abst.).
9. Folch, J. 1984. The influence of age, photoperiodism and temperature on semen production rams. In: M. Courot(Ed.). Publishers, Boston, pp. 141-160.
10. Hu YA, Lu JC, Lu NQ. 2006. Comparison of four methods for sperm counting. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 12:222-224, 227(En abst.).
11. Mann, T. 1969. Physiology of semen and of the male reproductive tract. In: H.H. Cole and P.T. Cupps (Eds.). *Reproduction in Domestic Animals*. Academic Press N.Y., pp. 277-312.
12. Pesch, S; M. Bergmann, and H. Bostedt. 2006. Determination of some enzymes and macro and microelements in stallion seminal plasma and their correlations to semen quality. *Theriogenology*. 66: 307-313.
13. Rao, B. R. & I. N. Pandey. 1977. Studies on dehydrogenase activity of ram semen during different seasons. *Indian Journal of Animal Science*, 47: 469-472
14. Somogyi, M. 1952. Estimation of sugars by colorimetric method, *J. Biol. Chem.*, 200, 245.
15. Stamatiadis, K.; A. Karayanidis & P. Tsakalof. 1984. Relationship between LDH activity in seminal plasma and viability of ram spermatozoa. In: M. Courot (Ed.). *The Male in Farm Animal Reproduction*. Martinus-Nijhoff Publishers, Boston, pp. 237-256.
16. Tuli, R. K. & M. Singh. 1982. LDH activity in exotic bull semen and seminal plasma. *Indian J. of Dairy Sci.*, 35: 249-251.
17. Zamiri, M.J. & H.R. Khodaei. 2005. Seasonal thyroidal activity and reproductive characteristics of Iranian fat-tailed rams, *Anim. Reprod. Sci.*, Vol: 88, Issue 3: 245-255.
18. Zamiri, M.J. AND A. Heidari. 2006. Reproductive characteristics of Rayini male goats of Kerman province in Iran. *Anim. Reprod. Sci.* 96, 176-185

19. Zamiri, M.J., B. Khalili, M. Jafaroghli, A. Farshad. 2010. Seasonal variation in seminal parameters, testicular size, and plasma testosterone concentration in Iranian Moghani rams, *Small Ruminant Res.*, Vol: 94, Issue: 1-3: 132-136.

Estimation of Correlation between Semen Characteristics of Four Iranian Fat-Tailed Breeds
Mohammad Mehdi Kasirian,¹ Saeed Reza Asghari¹, Gholam Hossein Irajian¹, Majid Hejazifar
and Ali Rashidi¹

Institute of applied scientific education of jahad e agricultural , Educational Complex of
Agricultural Jihad of Semnan Province, Semnan-Iran

Abstract:

To increase reproductive efficiency of livestock, effects of reproductive parameters on semen quality should be considered. Calculating of correlation between reproductive parameters is one of effective methods for estimating of reproductive condition in rams. This study was performed at Damghan Educational Center of Agricultural Jihad, to determine of correlations between reproductive parameters of 16 rams of 4 Iranian breeds (Sangsari, Moghani, Afshari and Shal, 4 rams in each breed). Sperm collection was done using an artificial vagina, once per month, from April to March. Sperm concentration (S.C.), % of motility(Mo.), % of live(L.S.) & normal(N.S.) sperm, seminal fluid concentrations of reductive sugars(R.S.) and lactate dehydrogenase (LDH) and the correlation between these variables were measured. Inverse-moderate& significant correlation was seen between LDH and N.S. in Sangsari and Moghani rams($p<0/1$). The results showed direct correlation between S.C. & LDH and inverse correlation between N.S. & LDH, both of them are moderate and significant($p<0/1$). Strong-inverse correlation was seen between Mo. and LDH. Correlation between the N.S. with S.C. and Mo. was moderate. This correlation was inverse with S.C. and direct with Mo., respectively. R.S. correlated strong and significant inversely with S.C. in all breeds, but in the Moghani rams correlation of R.S. with L.S. moderate and significant. R.S. and Mo. in Sangsari and Moghani rams were moderately correlated.

Keywords:

Correlation- Ram- Reductive Sugar-Normal & Live Sperm-Motility.

غلظت انسولین مایع فولیکول‌های تخمدان در فولیکول‌های با اندازه متفاوت و سرم خون بین فازهای فولیکولار و لوتئال سیکل استروس گاوهای دورگ

کمال حسن پور^۱، مرتضی اصغری مقدم^۱، محمد تقی بیگی نصیری^۲، صالح طباطبایی^۳، امیر کرم زاده^۴، محسن امرایی^۵
^۱دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ^۲دانشیار دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ^۳استادیار دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ^۴دانشجوی کارشناسی دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

نویسنده مسئول: کمال حسن پور hasanpoor.kamal@gmail.com

چکیده

مطالعه حاضر به منظور مقایسه غلظت انسولین مایع فولیکول‌های تخمدان در فولیکول‌های با اندازه متفاوت و سرم خون بین فازهای فولیکولار و لوتئال سیکل استروس گاوهای دورگ انجام شد. نمونه‌های خون و تخمدان‌های ۲۰ راس از گاوهای کشتار شده (۱۰ راس در فاز لوتئال و ۱۰ راس در فاز فولیکولار) مورد بررسی قرار گرفتند. مایع فولیکولی از دو گروه فولیکولی کوچک (۶ تا ۹ میلی متر) و بزرگ (۱۰ میلی متر و بیشتر) اخذ گردید. غلظت انسولین در فولیکول‌های بزرگ و کوچک فاز فولیکولار نسبت به فاز لوتئال دارای تفاوت معنی‌داری نبود، اما غلظت انسولین سرم خون در فاز فولیکولار به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) بیشتر از فاز لوتئال بود. در فاز لوتئال، تفاوت غلظت انسولین بین سرم خون و فولیکول‌های کوچک و بزرگ معنی‌دار نبود، اما در فاز فولیکولار میزان انسولین سرم خون به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) بیشتر از فولیکول‌های بزرگ و کوچک بود. بطور کلی غلظت انسولین سرم خون در فاز فولیکولار بیشتر از فاز لوتئال بود، اما تفاوت معنی‌داری بین غلظت انسولین فولیکول‌های بزرگ و کوچک در دو تا فاز وجود نداشت.

کلمات کلیدی: انسولین، مایع فولیکولی، سرم، سیکل استروس

مقدمه:

تولید مثل در گاو از نظر اقتصادی دارای اهمیت فراوانی است. بر این اساس، درک صحیح فیزیولوژی تولید مثل ضروری به نظر می‌رسد (۲). چرخه تخمدان، به مجموعه فرآیندهایی گفته می‌شود که به شیوه متناوب در تخمدان یک جانور بالغ غیرآبستن رخ می‌دهد، این فرایندها شامل اووژنسیز، رشد و نمو فولیکول‌ها، تخم‌ریزی، رشد و نمو و پسروی جسم زرد می‌باشد. چرخه تخمدانی شامل دو فاز یا مرحله است، فاز فولیکولار که دوره رشد و نمو فولیکول همراه با تخم‌ریزی است و فاز لوتئال، که دوره رشد و نمو جسم زرد همراه با پس روی آن است. مایع فولیکولی حاوی مواد مغذی و فاکتورهای لازم برای رشد و بلوغ اووسیت می‌باشد (۱). در مطالعاتی که توسط Butler و Beam (۱۹۹۸) انجام شد، کاهش غلظت انسولین، کاهش باروری در گاوهای شیری را به دنبال داشت (۴). عدم تخم‌ریزی در طول چرخه جنسی، با غلظت پایین انسولین در سرم خون مرتبط می‌باشد (۸). لذا بررسی و مطالعه تغییرات هورمونی و بیوشیمیایی مایع فولیکولی که بر رشد و نمو فولیکول‌ها و کیفیت اووسیت‌ها موثر هستند، ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این تحقیق، مقایسه غلظت انسولین سرم خون و مایع فولیکولی تخمدان در فولیکول‌های با اندازه‌های متفاوت در فازهای فولیکولار و لوتئال سیکل جنسی گاوهای دورگ بود.

مواد و روش‌ها:



در این مطالعه خونگیری از ورید وداج ۴۳ راس گاو دورگ ۳ تا ۴ ساله در کشتارگاه اهواز، بلافاصله قبل از کشتار دام‌ها انجام شد و نمونه‌های خون داخل لوله‌های بدون ماده ضد انعقاد شماره‌گذاری شده، ریخته شدند. بلافاصله پس از کشتار این دام‌ها، تخمدان راست و چپ جداسازی گردید و داخل فالكون‌های شماره‌گذاری شده، همراه با نمونه‌های خون به آزمایشگاه دانشگاه کشاورزی رامین خوزستان منتقل شدند. پس از سانتریفیوژ کردن نمونه‌های خون با سرعت ۳۰۰۰ دور در ثانیه به مدت ۱۵ دقیقه، سرم خون جدا و در دمای ۲۰ - درجه سانتی گراد نگهداری شد. مراحل سیکل استروس در قالب دو فاز فولیکولار و لوتئال با بررسی ظاهر تخمدان‌ها (وضعیت رشد فولیکول‌ها و خصوصیات جسم زرد) تعیین گردید (۳، ۱۰، ۶). سپس، فولیکول‌های موجود در تخمدان‌های راست و چپ با استفاده از کولیس به دو گروه با اندازه‌های کوچک (۶ تا ۹ میلی متر) و بزرگ (بیش از ۱۰ میلی متر) طبقه بندی شدند. در هر گروه فولیکولی جفت تخمدان‌ها، مایع فولیکولی بصورت جداگانه توسط سرنگ‌های انسولین جمع‌آوری و داخل میکروتیوپ شماره‌گذاری شده قرار داده شد. نمونه‌های سرم خون و مایع فولیکولی مربوط به ۲۰ راس از گاو‌ها که دارای تخمدان‌های سالم و فعال بودند، (۱۰ راس در فاز لوتئال و ۱۰ راس در فاز فولیکولار) به آزمایشگاه جهاد دانشگاهی اهواز منتقل گردیدند. برای اندازه‌گیری غلظت انسولین سرم خون و مایعات فولیکولی از روش الیزا استفاده شد. اطلاعات به دست آمده از آنالیز نمونه‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.2، آنالیزیک طرفه ANOVA و آزمون مقایسه‌ای دانکن تجزیه و تحلیل شدند (۹).

نتایج و بحث :

در مطالعه حاضر، انسولین بین دو گروه فولیکولی کوچک و بزرگ و نیز گروه‌های فولیکولی با سرم خون در مراحل فولیکولار و لوتئال سیکل استروس مورد مقایسه قرار گرفت.

غلظت انسولین در فولیکول‌های بزرگ و کوچک فاز فولیکولار نسبت به فاز لوتئال معنی‌دار نبود ($P>0/05$) اما غلظت انسولین سرم خون در فاز فولیکولار به طور معنی‌داری ($P<0/05$) بیشتر از فاز لوتئال بود. در فاز لوتئال، غلظت انسولین بین فولیکول‌های کوچک، بزرگ و سرم خون تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ($P>0/05$) ولی در فاز فولیکولار، میزان انسولین سرم خون به طور معنی‌داری ($P<0/05$) بیشتر از فولیکول‌های بزرگ و کوچک بود (جدول ۱).

جدول ۱- تفاوت غلظت انسولین (mIU/ml) بین دو گروه فولیکولی و سرم خون در فازهای مختلف سیکل استروس

مراحل سیکل استروس	تعداد	فولیکول کوچک (۶ تا ۹ میلی متر)	فولیکول بزرگ (بزرگتر از ۱۰ میلی متر)	سرم خون
فاز فولیکولار	۱۰	$2/2 \pm 0/18$ a	$2/7 \pm 0/18$ a	$11/76 \pm 2/56$ b
فاز لوتئال	۱۰	$2/1 \pm 0/14$ a	$2/4 \pm 0/7$ a	$5/04 \pm 1/61$ a

*حروف غیر مشابه نشانگر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

در مطالعه Landau و همکاران (۲۰۰۰) روی گاوهای هلستاین، غلظت انسولین سرم خون در فاز فولیکولار به طور معنی‌داری بیشتر از فاز لوتئال بود (۸). سطح انسولین پلاسما بطور تنگاتنگی با رشد فولیکول‌ها و تخمک‌ریزی مرتبط است که این فرایند از طریق تنظیم ترشح LH انجام می‌شود (۷). زمانی که تخمک‌ریزی انجام می‌شود، غلظت انسولین پلاسما نیز هم زمان با غلیان ترشح استروژن افزایش می‌یابد. در این مکانیسم، انسولین از طریق تحریک سلول‌های گرانولوزا باعث افزایش ترشح استروژن می‌شود (۵).

بطورکلی با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه و مقایسه آن با یافته‌های سایر محققان، غلظت انسولین سرم خون در فاز فولیکولار بیشتر از فاز لوتئال بود. همچنین در فاز فولیکولار، غلظت انسولین سرم خون بیشتر از فولیکول‌های بزرگ و کوچک بود، اما غلظت این هورمون در فولیکول‌های بزرگ در مقایسه با فولیکول‌های کوچک و سرم خون مربوط به فاز لوتئال معنی‌دار نبود.

منابع:

- ۱) ضمیری محمد جواد (۱۳۸۵). فیزیولوژی تولید مثل. انتشارات حق شناس، چاپ دوم، صفحه ۴۴۸.
- ۲) قجقی شمشاد، صمدی فیروز، حسنی سعید، جعفری آهنگری یوسف (۱۳۸۹). چهارمین کنگره علوم دامی ایران، دانشگاه تهران، صفحه ۴۰۲۵.
- 3) Ali A., Abdel-Razek A.K., Abdel-Ghaffar S. and Glatzel P.S. (2003). Ovarian follicular dynamics in buffalo cows. *Reproduction in Domestic Animal*, 38:214-218.
- 4) Beam S.W. and Butler W.R. (1998). Energy balance metabolic hormones and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *Dairy science*, 81:121-131.
- 5) Butler S.T., Pelton S.H. and Butler W.R. (2004). Insulin increases 17 betaestradiol production by the dominant follicle of the first postpartum follicle wave in dairy cows. *Reproduction*, 127:537-545.
- 6) Ireland J.J., Coulson P.B. and Murphree R.L. (1979). Follicular Development during Four Stages of the Estrous Cycle of BEEF Cattle. *Journal of Animal Science*, 49:1261-1269.
- 7) Kawashima C., Fukihara S., Maeda S., Kaneko, M.; Montoya, C. A., Matusi M., Kida K. and Miyomota A. (2007). Relationship between metabolic hormones ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-producing dairy cows. *Reproduction*, 133:155-163.
- 8) Landau S., Braw-Tal R., Kaim M. and Bor A. (2000). Preovulatory follicular status and diet affect the insulin and glucose contents of follicles in high yielding dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 64(3):181-197.
- 9) SAS. 2002. . User's Guide, Statistics. Version 9.0. Statistical Analysis System.

- 10) Spicer L. J., Davidson T.R., Chamberlain C.S. and payton M.E. (2005). Relationship Between Follicle size and Concentrations of Steroids and Insulin-like Growth Factor (IGF-1) in Mares. *Journal of Animal Science*, 29:573-581.

Comparison of the insulin concentration of ovarian follicular fluid with different size and blood serum between follicular and luteal phases of hybrid cattle estrous cycle
Kamal hasanpoor¹, Morteza Asghari Mogadam¹, Mohamad Tagi Begi Nasiri², Saleh Tabatabaei³, Amir karamzade⁴, mohsen amrai⁴

¹Graduate student at Department of Animal Sciences, University of Agricultural Sciences and Natural Resources Ramin Khuzestan. ² Assistant Professor at Department of Animal Sciences, University of Agricultural Sciences and Natural Resources Ramin Khuzestan. ³ Assistant Professor at Department of Animal Sciences, University of Agricultural Sciences and Natural Resources Ramin Khuzestan. ⁴ Student at Department of Animal Sciences, University of Agricultural Sciences and Natural Resources Ramin Khuzestan.

Abstract

The present study was performed in order to evaluate insulin concentration in ovarian follicular fluid of different sized follicles and blood serum between follicular and luteal phases of estrous cycle in hybrid cattle. The blood samples and ovaries of 20 cattle slaughtered (10 animals in follicular and others in luteal phases of estrous cycle) were studied. In laboratory, the follicular fluid was aspirated from small (6-9 mm) and large (≥ 10 mm) follicles. The concentration of insulin in follicular fluids and blood serum were determined. In the both phases of estrous cycle, there was no significant difference in insulin level of small and large follicles ($p > 0.05$). But, the serum level of insulin in follicular phase was significantly higher than that in luteal phase ($P < 0.05$). In luteal phase, the difference of insulin level between blood serum and small as well as large follicles was not significant ($P > 0.05$). However, in follicular phase, the concentration of blood serum insulin was significantly ($p < 0.05$) higher than that in small and large follicles. therefore, the present study indicated that the serum level of insulin in follicular phase was higher than that in luteal phase. But, In the both phases there was no significant difference in insulin level of small and large follicles.

Keywords: Insulin, Follicular fluid, Serum, Estrous cycle

اثر اسانس شوید بر روی میزان کلسترول پلاسما، ضخامت پوسته تخم مرغ و قدرت جوجه درآوری در مرغ های مادر

گوشتی

میلاد شاعری^{۱*}، اردشیر محیط^۲، زربخت انصاری^۳، محسن تقی زاده^۴، نیما شاعری^۵

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه گیلان ۲. استادیار تغذیه طیور دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان

۳. استادیار فیزیولوژی دام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری ۴. استادیار علوم تغذیه دانشگاه علوم پزشکی

کاشان

۵. دانشجوی کارشناسی ارشد آمار ریاضی دانشگاه پیام نور واحد شیراز *میلاد شاعری،

Milad.Shaeri@yahoo.com

چکیده

هدف اصلی این آزمایش، اثر اسانس شوید روی کلسترول پلاسما، ضخامت پوسته تخم مرغ و قدرت جوجه درآوری در مرغ-های مادر گوشتی بود. تعداد ۸۰ قطعه مرغ و ۸ خروس از نژاد راس ۳۰۸ انتخاب و به طور تصادفی به ۴ تیمار، ۲ تکرار و ۱۰ زیر مشاهده در هر تکرار تقسیم بندی شدند. یک تیمار به عنوان شاهد (فاقد اسانس) در نظر گرفته شد و تیمارهای دیگر از ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی لیتر اسانس به ازای هر ۱۰۰ کیلوگرم خوراک، به مدت ۴ هفته تغذیه شدند. اسانس شوید اثر معنی داری بر روی ضخامت پوسته تخم مرغ در هفته های مختلف نداشت ($P>0/05$). از طرف دیگر اسانس شوید در هفته های اول و سوم آزمایش بطور معنی داری میزان کلسترول پلاسما را افزایش داد ($P<0/05$). با این وجود، اسانس شوید درصد جوجه درآوری را به طور معنی داری افزایش داد ($P<0/05$). بطور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از اسانس شوید در جیره مرغ های مادر گوشتی، درصد جوجه درآوری را بهبود می بخشد.

واژگان کلیدی: اسانس شوید- مرغ مادر- کلسترول پلاسما- ضخامت پوسته- قدرت جوجه درآوری

مقدمه

بهبود قدرت جوجه درآوری در مرغ های مادر یکی از مهمترین اهداف پرورش دهندگان این صنعت به خصوص در اواخر تولید گله که شرایط بازار برای فروش جوجه مناسب است، می باشد. شوید با نام علمی *Anethum graveolens* گیاهی از خانواده جعفری^۱ است. در زبان انگلیسی دیل^۲ و در زبان فارسی شوید یا شبت خوانده می شود. شوید برای اولین بار در فلسطین کشت شد و احتمالاً از روم باستان به سایر کشورهای اروپا منتقل گردید. شوید در سطح وسیعی در ایران، قفقاز، حبشه، مصر، هند، انگلیس، اسپانیا، ایتالیا و مجارستان کشت می شود. انتشار جغرافیایی آن در ایران، به صورت طبیعی در نواحی مختلف مانند صائین قلعه، تبریز، خراسان و تفرش ذکر شده است (۱۰). شوید دارای خاصیت کاهش دهنده چربی و کلسترول (۹)، و دارای خواص آنتی اکسیدانی می باشد (۱۱).

سن مرغ از جمله عواملی است که بر میزان کلسترول خون اثر می گذارد. در بسیاری از پژوهش ها همبستگی بین میزان کلسترول خون و نسبت باروری و میزان جوجه دهی تخم مرغ های بارور مورد بررسی قرار گرفته است و مشخص شد که با افزایش میزان کلسترول پلاسما میزان جوجه درآوری کاهش می یابد (۳).

¹ Apiaceae

² Dill

وزن تخم مرغ، ضخامت پوسته، نسبت روزنه‌های پوسته، شکل ظاهری تخم مرغ^۱ و استحکام پوسته، از جمله مهمترین عواملی هستند که بر جوجه درآوری تخم مرغ اثر می‌گذارند. تخم مرغ‌هایی که از نظر این خصوصیات مناسب باشند، جوجه درآوری موفقیت آمیزی خواهند داشت. اگر ضخامت پوسته تخم مرغ بیشتر از میانگین باشد جوجه دهی بهتری خواهد داشت. تخم مرغ‌هایی که وزن آنها بیشتر از میانگین باشد نسبت به تخم مرغ‌هایی که وزن آنها کمتر از میانگین است، جوجه درآوری بهتری خواهند داشت (۲).

با توجه به اینکه بین میزان کلسترول خون و قدرت جوجه درآوری همبستگی منفی وجود دارد و شویید موجب کاهش کلسترول پلاسما می‌شود و همچنین این گیاه دارای ترکیبات آنتی اکسیدانی نیز است که باعث بهبود ضخامت پوسته تخم مرغ می‌شود لذا هدف از این آزمایش بررسی اثر اسانس شویید روی کلسترول پلاسما، ضخامت پوسته تخم مرغ و قدرت جوجه درآوری در مرغ‌های مادر گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۸۰ قطعه مرغ و ۸ خروس از نژاد راس ۳۰۸ (به ازای هر ۱۰ مرغ یک خروس) در سن ۱۰۵ هفتگی، انتخاب و به طور تصادفی به ۴ تیمار، ۲ تکرار و ۱۰ زیر مشاهده در هر تکرار تقسیم بندی شدند. یک تیمار به عنوان شاهد (فاقد اسانس) در نظر گرفته شد و تیمارهای دیگر از ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی لیتر اسانس به ازای هر ۱۰۰ کیلوگرم خوراک، به مدت ۴ هفته تغذیه شدند. این تحقیق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با دو تکرار و ده زیر مشاهده و در مجتمع مرغ مادر زرپا انجام شد و اسانس مورد نیاز از شرکت باریج اسانس کاشان تهیه شد.

برای تعیین کلسترول پلاسما از کیت تجاری شرکت پارس آزمون و از روش رنگ سنجی استفاده شد. برای تعیین ضخامت پوسته، پس از شکستن و خالی کردن محتویات تخم مرغ، فضای داخلی آن را کاملاً شسته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده و با اندازه‌گیری ضخامت قسمت‌های پهن، باریک و وسط پوسته تخم مرغ با استفاده از میکرومتر با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر میانگین آنها را محاسبه و ضخامت پوسته تعیین شد. تخم مرغ‌ها پس از انتقال به جوجه‌کشی درجه بندی شده و با فرمالین و پرمنگنات پتاسیم دود داده شدند و سپس به سردخانه منتقل شدند. پس از طی این مراحل، تخم مرغ‌ها در دستگاه ستر با دمای ۹۹/۷ درجه فارنهایت و رطوبت ۸۳/۵ درصد قرار داده شدند و از روز نوزدهم تخم مرغ‌ها پس از کندلینگ^۲ به دستگاه هچر با دمای ۹۸/۵ درجه فارنهایت و رطوبت ۸۵ درصد منتقل شدند. پس از تفریخ جوجه‌ها درصد جوجه درآوری تعیین شد.

داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار SAS و استفاده از رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین صفاتی که تفاوتشان معنی دار شد، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

همانطور که در نتایج (جدول ۱) مشاهده می‌شود بین میانگین کلسترول پلاسما در تیمارهای مختلف در هفته‌های دوم و چهارم تفاوت معنی دار وجود نداشت ($P > 0.05$). ولی در هفته‌های اول و سوم، میانگین تیمارها از نظر این صفت، دارای تفاوتی معنی دار شدند، به نحوی که در هفته اول بین تیمار شاهد و تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی لیتر اسانس شویید در هر ۱۰۰ کیلوگرم خوراک، تفاوت معنی دار مشاهده شد ($P < 0.05$). در هفته سوم بین تیمار شاهد و تیمارهای ۱۰ میلی لیتر اسانس

¹ Egg shape index

² Candling

و ۲۰ میلی لیتر اسانس در هر ۱۰۰ کیلوگرم خوراک تفاوت معنی دار مشاهده نشد ($P > 0.05$). ولی بین تیمار شاهد و تیمار ۴۰ میلی لیتر اسانس در هر ۱۰۰ کیلوگرم خوراک تفاوت معنی دار وجود داشت ($P < 0.05$). نتایج مطالعه ساریکا^۱ و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که استفاده از گیاه آویشن و پودر سیر در جیره جوجه گوشتی، اثر معنی داری بر غلظت کلسترول پلاسما ندارد (۷). در پژوهشی دیگر مشخص شد که خوراندن اسانس شوید به موشهای صحرایی، میزان کلسترول پلاسما را بطور معنی داری کاهش می دهد (۴). نتایج این پژوهش ها با نتایج بدست آمده از این تحقیق مطابقت ندارد. مکانیسم عمل اثر اسانس شوید در افزایش کلسترول پلاسما در طیور مشخص نشده است.

نتایج مربوط به میانگین ضخامت پوسته تخم مرغ در جدول ۲ ارائه شده است و همانطور که در نتایج مشاهده می شود، بین میانگین ضخامت پوسته تخم مرغ در تیمارهای مختلف، در طی ۴ هفته آزمایش تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

یکی دیگر از اهداف این آزمایش بررسی اثر اسانس شوید روی نرخ جوجه درآوری بود. نتایج مربوط به این صفت در جدول ۳ ارائه شده است. همان گونه که در نتایج نشان داده شده است درصد جوجه درآوری در هفته اول، بین تیمارهای آزمایشی دارای تفاوت معنی دار نبود ($P > 0.05$). ولی از هفته دوم تا چهارم میانگین تیمارها از نظر این صفت دارای تفاوت معنی داری بودند ($P < 0.05$) به نحوی که در هفته دوم، تیمار ۴۰ میلی لیتر اسانس در هر ۱۰۰ کیلوگرم خوراک دارای بالاترین درصد جوجه درآوری بود و بطور معنی داری با گروه شاهد تفاوت داشت ($P < 0.05$) ولی بین تیمارهای ۱۰ و ۴۰ میلی لیتر اسانس در هر ۱۰۰ کیلوگرم خوراک، همچنین بین تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی لیتر اسانس در هر ۱۰۰ کیلوگرم خوراک تفاوت معنی دار مشاهده نشد. اما در هفته سوم و چهارم تیمار ۱۰ میلی لیتر اسانس در هر ۱۰۰ کیلوگرم خوراک به طور معنی داری با گروه شاهد تفاوت داشت ($P < 0.05$) ولی بین گروههای ۱۰ و ۲۰ و ۴۰ میلی لیتر اسانس در هر ۱۰۰ کیلوگرم خوراک تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

نتایج مطالعه حیات و همکاران نشان می دهد که استفاده از دونوع آنتی اکسیدان در جیره مرغهای مادر تخم گذار، بطور معنی داری درصد جوجه درآوری را افزایش می دهد (۵). همچنین در یک مطالعه دیگر معلوم شد که استفاده از گیاه آویشن در جیره مرغ مادر به طور معنی داری درصد جوجه درآوری را افزایش می دهد (۶). مکانیسم اثر داروهای گیاهی در بهبود قدرت جوجه درآوری این طور بیان شد که گیاهان دارویی دارای ترکیبات آنتی اکسیدانی هستند که باعث کاهش میزان رادیکالهای آزاد تولید شده در پلاسما می شوند بنابراین مقدار کمتری رادیکال آزاد از طریق گردش خون به تخم مرغ انتقال پیدا می کند علاوه بر این ترکیبات آنتی اکسیدانی بیشتری نیز به تخم مرغ انتقال پیدا می کنند در نتیجه مالون دی آلدئید کمتری در اثر اکسیداسیون اسیدهای چرب در تخم مرغ تولید می شود و قدرت جوجه درآوری را ارتقاء می دهند (۱۸).

با توجه به نتایج این تحقیق می توان این طور نتیجه گیری نمود که اسانس شوید در خوراک می تواند نتایج مثبتی بر عملکرد مرغهای مادر داشته باشد و این تاثیر بیشتر ناشی از خصوصیت آنتی اکسیدانی این گیاه می باشد و تاثیر آن بر کلسترول پلاسما در طیور افزایشی است. از آنجائیکه تا به حال از اسانس شوید در جیره طیور استفاده نشد بنابراین مقدار موثر آن ناشناخته است و پیدا کردن بهترین مقدار و همچنین ساز و کار تاثیر آن بر کلسترول پلاسما، نیاز به پژوهش های بیشتری دارد.

¹Sarica

جدول ۱ میانگین کلسترول پلاسما خون تیمارهای آزمایشی در هفته های مختلف (mg/dl)

هفته	تیمار				SEM
	C	D _۱	D _۲	D _۳	
۱	۹۹/۲۳ ^c ±۱۳/۰۹	۲۲۸/۶۵ ^a ±۵۷/۰۲	۲۵۳/۱۵ ^a ±۴۱/۲۴	۱۸۸/۷۳ ^{ab} ±۶۵/۹۴	۱۵/۹۲
۲	۱۶۲/۳۲±۴۳/۶۴	۱۸۷/۰۷±۸۷/۱۹	۱۶۶/۷۹±۴۱/۵۱	۲۰۹/۳۱±۵۴/۹۷	۱۱/۴۳
۳	۱۵۹/۵۲ ^b ±۲۴/۷۹	۲۰۶/۴۶ ^{ab} ±۳۴/۴۲	۲۱۵/۰۲ ^{ab} ±۳۰/۶۱	۲۳۲/۰۲ ^a ±۳۹/۷۱	۸/۳۹
۴	۱۷۹/۸۴±۳۷/۸۵	۲۰۰/۱۸±۵۸/۱۶	۱۸۸/۴۹±۵۶/۴۸	۱۶۶/۳۵±۳۸/۴۵	۸/۴۷

جدول ۲ میانگین ضخامت پوسته تیمارهای آزمایشی در هفته های مختلف (mm)

هفته	تیمار				SEM
	C	D _۱	D _۲	D _۳	
۱	۰/۴۰۸±۰/۰۳	۰/۳۹۶±۰/۰۴	۰/۳۹۹±۰/۰۴	۰/۴۱۳±۰/۰۳	۰/۰۰۳
۲	۰/۳۹۳±۰/۰۴	۰/۳۷۸±۰/۰۴	۰/۳۸۸±۰/۰۲	۰/۳۹۸±۰/۰۳	۰/۰۰۳
۳	۰/۴۰۷±۰/۰۴	۰/۴۰۱±۰/۰۳	۰/۳۹۲±۰/۰۳	۰/۴۰۳±۰/۰۴	۰/۰۰۳
۴	۰/۴۰۷±۰/۰۴	۰/۳۹±۰/۰۳	۰/۳۷۵±۰/۰۳	۰/۳۸۸±۰/۰۵	۰/۰۰۴

جدول ۳ میانگین درصد جوجه درآوری تیمارهای آزمایشی در هفته های مختلف (%)

هفته	تیمار				SEM
	C	D _۱	D _۲	D _۳	
۱	۴۴/۵±۷/۷۷	۵۵/۱۶±۴/۴۷	۵۴/۲۷±۱۲/۳۳	۶۴/۲۶±۶/۵۴	۳/۴۵
۲	۴۲ ^c ±۳/۵۳	۶۲/۰۹ ^{ab} ±۲/۹۵	۵۵/۴۸ ^b ±۲/۳۱	۶۹/۴۴ ^a ±۶/۷	۳/۹۸
۳	۴۰/۵ ^b ±۲/۱۲	۶۱/۳۳ ^a ±۵/۶۵	۵۱/۵۹ ^{ab} ±۱/۰۷	۵۱ ^{ab} ±۸/۴۸	۳/۱۱
۴	۳۴/۹۲ ^b ±۷/۹۸	۵۹/۶۹ ^a ±۳/۴۹	۴۵/۱۸ ^{ab} ±۹/۱۶	۴۰/۳۹ ^{ab} ±۶/۵۱	۳/۹۶

حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی دار بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

منابع:

1. Ali, M. N., M. S. Hassan and F. A. Abd El-Ghany. 2007. Effect of strain, type of natural antioxidant and sulphate ion on productive, physiological and hatching performance of native laying hens. *Int. J. Poult. Sci.* 6: 539-554.
2. Asuquo, B. O. and B. Okon. 1993. Effect of age and egg size on fertility and hatchability of chicken eggs. *E. Afr. Agr. For. J.* 59: 79-83.
3. Dikmen, Y. and U. Sahan. 2006. Correlations between breeder age, egg cholesterol content, blood cholesterol level and hatchability of broiler breeders. *British poultry science.* 48: 98-103.
4. Hajhashemi, V. and N. Abbasi. 2008. Hypolipidemic activity of *Anethum graveolens* in rats. *Phytother. Res.* 22:372-375.
5. Hayat, Z., G. Cherian, T. N. Pasha, F. M. Khattak and M. A. Jabbar. 2009. Effect of feeding flax and two types of antioxidants on egg production, egg quality, and lipid composition of eggs. *J. Appl. Poult. Res.* 18: 541-551.
6. Offord, E. A., F. Guillot, R. Aeschbach, J. Loliger and A. M. A. Pfeifer. 1997. Antioxidant and biological properties of rosemary components: Implications for food and health. In *Natural antioxidants. Chemistry, Health effects and applications.* F. Shahidi (Eds). AOCS press. p: 88 - 96.
7. Sarica, S., A. Ciftci, E. Demir, K. Kilinc and Y. Yildirim. 2005. Use of an antibiotic growth promoter and two herbal natural feed additives with and without exogenous enzymes in wheat based broiler diets. *Sout. Afri. J. Anim. Sci.* 35: 61-72.
8. Surai, A. P., P. F. Surai, W. Steinberg, W. G. Wakeman, B. K. Speake and N. H. C. Sparks. 2003. Effect of canthaxanthin content of the maternal diet on the antioxidant system of developing chick. *British Poultry Science.* 44: 612-619.
9. Yazdanparast, R. and M. Alavi. 2001. Anti hyperlipidemic and antihypercholesterolemic effects of *Anethum graveolens* leaves after removal of furocoumarins. *J. Cytobios.* 105: 189-191.
10. Zargari, A. 1991. *Medicinal Plants.* Tehran University Publications. Volume 2. Edition 5. P: 528-531.
11. Zheng, G. Q., P. M. Kenney and L. K. Lam. 1992. Anethofuran, carvone, and limonene: potential cancer chemopreventive agents from dill weed oil and caraway oil. *J. Planta Med.* 58: 338-341.

The effect of *Anethum graveolens* on plasma cholesterol, shell thickness and hatchability in broiler breeder hens

M. Shaeri^{1*}, A. Mohit¹, Z. Ansari², M. Taghizadeh³, N. Shaeri⁴

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Guilan

2. Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

3. Department of Biochemistry and Nutrition, Kashan University of Medical Sciences

4. Department of Statistics, Payam Noor University, Shiraz Branch

* Corresponding E-Mail address: Milad.Shaeri@yahoo.com

Abstract

The main objective of this study was to determine the effect of dietary *Anethum graveolens* essential oil on plasma cholesterol, shell thickness and hatchability in broiler breeder hens. A total number of 80 hens and 8 cocks from Ross 308 strain of 105 weeks old were divided into 4 groups with 2 replicate each (10 hens +1 cock). The diets were supplemented without essential oil (control) and with 10, 20, 40 ml essential oil/100kg diets for 4 weeks. Shell thickness were not influenced by dietary essential oil of *Anethum graveolens* but essential oil increased significantly plasma cholesterol ($P<0.05$). However hatchability of total eggs set were positively affected by supplementation of the essential oil in the diet ($P<0.05$). The results of this study showed that supplementing diet with *Anethum graveolens* essential oil improved hatchability of total eggs set of broiler breeders.

Keywords: *Anethum graveolens*- essential oil- broiler breeder- plasma cholesterol- shell thickness- hatchability

اثر حضور جسم زرد بر غلظت کلسترول و هورمون های استروئیدی سرم خون و مایع فولیکولی در گاو های شیری

نصرالله مرادی گر^{۱*}، حامد کرمی شبانکاره^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی ۲- دانشیار گروه علوم دامی،

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی

* نویسنده مسئول: نصرالله مرادی گر E-mail: Moradikor.nasroallah@yahoo.com

چکیده

در مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر حضور جسم زرد بر غلظت کلسترول و هورمون های استروئیدی مایع فولیکولی و سرم خون، تخمدان های ۳۰ راس گاو ماده بالغ کشتارگاهی در مرحله دی استروس جمع آوری و بر اساس حضور جسم زرد به دو دسته تخمدان های واجد جسم زرد (CL^+) و تخمدان های فاقد جسم زرد (CL^-) طبقه بندی شدند. فولیکول های قابل مشاهده شده روی سطح هر گروه از تخمدان ها با استفاده از یک کولیس دیجیتالی اندازه گیری و بر اساس اندازه در ۳ گروه کوچک (mm ۳-۵)، متوسط (mm ۶-۹) و بزرگ (mm ۱۰+) طبقه بندی شدند. سرم خون و مایع فولیکولی آسپیره شده از این رده های فولیکولی در هر دو گروه تخمدان برای تعیین غلظت کلسترول و هورمون های استروئیدی مورد بررسی قرار گرفت. تفاوت معنی داری بین غلظت کلسترول و هورمون های استروئیدی سرم خون و مایع سه رده فولیکولی در هر دو گروه تخمدان های CL^+ و CL^- مشاهده شد ($P < 0.05$). بیشترین غلظت هورمون پروژسترون در مایع فولیکولی تخمدان های CL^+ و بیشترین غلظت هورمون های استرادیول-۱۷بتا و تستوسترون در مایع فولیکولی تخمدان های CL^- مشاهده شد. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، یک اثر موضعی جسم زرد بر غلظت هورمون های استروئیدی فولیکول های مستقر بر تخمدان های واجد CL مشاهده می شود.

واژگان کلیدی: جسم زرد- مایع فولیکولی- کلسترول- هورمون های استروئیدی- گاو شیری

مقدمه

مایع فولیکولی عمدتاً از پلاسمای خون مجاور فولیکول نشأت می گیرد که به صورت تراوش از غشای فولیکول عبور کرده و در حفره داخل فولیکول انباشته می شود. ترکیبات مایع فولیکولی از لحاظ فیزیولوژیکی اهمیت ویژه ای داشته و غلظت بیشتر آنها مشابه با غلظت سرم خون می باشد (۳). تنظیم اعمال سلول های گرانولوزا، تحریک رشد فولیکولی و استروئید سازی، بلوغ اووسیت، تخمک گذاری و انتقال تخمک به لوله رحمی و آماده سازی فولیکول برای تشکیل جسم زرد از وظایف مایع فولیکولی می باشند (۸). هورمون های تولید مثلی از جمله استروژن و پروژسترون که از کلسترول ساخته می شوند، رشد و توسعه فولیکول ها، بلوغ هسته و سیتوپلاسم اووسیت را سبب می شوند. سلول های تیکای درونی فولیکول در اثر LH کلسترول را به تستوسترون تبدیل و تستوسترون نیز پس از عبور از غشای پایه در سلول های گرانولوزا تحت تاثیر آنزیم آروماتاز وابسته به FSH تبدیل به استرادیول می شود (۵). غلظت هورمون های استروئیدی در مایع فولیکولی و سرم خون با توجه به مرحله سیکل فحلی و اندازه و وضعیت فولیکول ها متغیر می باشد (۱). بر اساس مطالعات لروی و همکاران (۹) رشد سلول های گرانولوزا و بلوغ اووسیت با تغییر ترکیبات شیمیایی از فولیکول های کوچک به بزرگ تغییر می کند. با توجه به اهمیت مایع فولیکولی در رشد و نمو فولیکول ها و کیفیت اووسیت، بررسی و مطالعه تغییرات هورمونی و ترکیبات بیوشیمیایی مایع فولیکولی و اثر احتمالی

جسم زرد بر این ترکیبات ضروری به نظر می رسد. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات موضعی جسم زرد بر غلظت کلسترول و هورمون های استروئیدی سرم خون و مایعات استحصالی از سه رده فولیکولی با اندازه های متفاوت در گاو های شیری صورت گرفت.

مواد و روش ها

این مطالعه در آزمایشگاه انتقال جنین دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه انجام گرفت. در این آزمایش تخمدان های ۳۰ راس گاو ماده بالغ کشتار شده در کشتارگاه صنعتی بیستون جمع آوری شدند. این تعداد تخمدان از گاو هایی انتخاب شدند که در مرحله دی استروس از سیکل فحلی بودند. خونگیری توسط لوله های خلأ دار از سیاهرگ گردن به میزان ۱۰ سی سی قبل از کشتار انجام گرفت. تخمدان های راست و چپ هر کدام از گاو ها با دقت قطع شده و به داخل ظروف پلاستیکی مجزا گذاشته شد و در مجاورت محلول محتوی پنی سیلین جی پروکائین، دی هیدرواستریتومایسین و در کنار یخ طی ۳۰ دقیقه بعد از کشتار به آزمایشگاه انتقال داده شدند. در آزمایشگاه تخمدان ها با سرم فیزیولوژی و بتادین شست و شو و ضد عفونی شده و بافت های اضافی اطراف آنها جدا گردید سپس بر اساس حضور جسم زرد به دو گروه تخمدان های واجد جسم زرد (CL^+) و تخمدان های فاقد جسم زرد (CL^-) طبقه بندی شدند. فولیکول های هر گروه از تخمدان ها با استفاده از کولیس دیجیتال اندازه گیری و به سه گروه فولیکولی با اندازه های ۳ تا ۵ میلی متر (کوچک)، ۶ تا ۹ میلی متر (متوسط) و بزرگتر از ۱۰ میلی متر (بزرگ) طبقه بندی شدند. مایع فولیکولی از گروه های سه گانه فولیکولی در هر تخمدان به صورت جداگانه بوسیله سرنگ های ۲/۵ سی سی بیستون دار (Hico) با سرسوزن شماره ۲۲ آسپیره شد. برای هر تخمدان و هر رده فولیکولی سرنگ و سرسوزن جداگانه در نظر گرفته شد. سرم و مایع فولیکولی جمع آوری شده از فولیکول های تخمدانی تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. غلظت کلسترول به روش فتومتری با دستگاه اتوانالایزر (Model BT-3000) و غلظت هورمون های استروئیدی (استرادیول- ۱۷ بتا، پروژسترون و تستوسترون) با استفاده از دستگاه الایزا و کیت های شرکت مونوباند اندازه گیری شد. اطلاعات بدست آمده از آنالیز نمونه ها با استفاده از نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل شدند. برای مقایسه غلظت کلسترول و هورمون های استروئیدی در مایع فولیکولی تخمدان های واجد و فاقد جسم زرد از آزمون t جفت شده استفاده شد همچنین تفاوت بین میانگین ها در سه رده فولیکولی و سرم خون در هر دو گروه تخمدان توسط آزمون دانکن در سطح ۵ درصد بررسی شد. از همبستگی پیرسون نیز برای بررسی ارتباط بین کلسترول و هورمون های استروئیدی استفاده شد.

نتایج و بحث

مقادیر غلظت های کلسترول و هورمون های استروئیدی در سه رده فولیکولی در تخمدان های واجد جسم زرد (CL^+) و تخمدان های فاقد جسم زرد (CL^-) در جداول ۱ و ۲ آمده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که غلظت هورمون های استروئیدی مایع فولیکولی با بزرگ شدن اندازه فولیکول ها در هر دو گروه تخمدان (CL^+ و CL^-) افزایش یافت. نتایج حاصل از این تحقیق با یافته های علی و همکاران (۱۰) مطابقت داشت، آنها گزارش کردند که با افزایش اندازه فولیکول ها غلظت هورمون های استروئیدی در مایع فولیکولی افزایش می یابد. غلظت کلسترول در سه رده مایع فولیکولی با افزایش اندازه فولیکول ها کاهش یافت. تفاوت معنی داری بین سرم خون و سه رده مایع فولیکولی در هر دو گروه تخمدان های CL^+ و CL^- برای کلسترول و هورمون های استروئیدی مشاهده شد ($P < 0/05$).

جدول ۱- مقایسه میانگین غلظت های کلسترول و هورمون های استروئیدی در سرم و سه رده مایع فولیکولی در تخمدان های واجد جسم زرد

مایع فولیکولی و رده های مختلف فولیکولی				
پارامتر ها	(۳-۵ میلی متر)	(۶-۹ میلی متر)	(۱۰-۲۰ میلی متر)	سرم خون
کلسترول (mg/dl)	$15/94 \pm 1/53^b$	$14/04 \pm 1/66^b$	$12/15 \pm 2/06^b$	$45/25 \pm 4/34^a$
استرادیول ۱۷- بتا (ng/ml)	$84/50 \pm 6/22^d$	$94/72 \pm 4/09^c$	$107/78 \pm 8/56^b$	$19/44 \pm 14/33^a$
پروژسترون (ng/ml)	$44/03 \pm 3/97^c$	$50/46 \pm 4/04^b$	$54/78 \pm 4/63^b$	$10/78 \pm 1/11^a$
تستوسترون (ng/ml)	$13/02 \pm 2/2^c$	$15/29 \pm 2/41^{bc}$	$18/92 \pm 2/19^b$	$6/77 \pm 0/92^a$

* اعداد دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف با هم تفاوت معنی داری دارند ($P < 0/05$).

جدول ۲- مقایسه میانگین غلظت های کلسترول و هورمون های استروئیدی در سرم و سه رده مایع فولیکولی در تخمدان های فاقد جسم زرد

مایع فولیکولی و رده های مختلف فولیکولی				
پارامتر ها	(۳-۵ میلی متر)	(۶-۹ میلی متر)	(۱۰-۲۰ میلی متر)	سرم خون
کلسترول (mg/dl)	$31/13 \pm 3/59^c$	$27/91 \pm 3/67^b$	$27/91 \pm 3/67^b$	$45/25 \pm 4/34^a$
استرادیول ۱۷- بتا (ng/ml)	$111/39 \pm 7/75^d$	$120/72 \pm 7/20^c$	$130/07 \pm 5/17^b$	$19/44 \pm 14/33^a$
پروژسترون (ng/ml)	$40/11 \pm 2/97^c$	$42/58 \pm 2/54^{bc}$	$46/01 \pm 3/1^b$	$10/78 \pm 1/11^a$
تستوسترون (ng/ml)	$21/17 \pm 2/19^c$	$24/75 \pm 2/95^{bc}$	$28/39 \pm 2/65^b$	$6/77 \pm 0/92^a$

* اعداد دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف با هم تفاوت معنی داری دارند ($P < 0/05$).

بیشترین غلظت هورمون پروژسترون در مایع فولیکولی تخمدان های CL^+ و بیشترین غلظت هورمون های استرادیول-۱۷ بتا و تستوسترون در مایع فولیکولی تخمدان های CL^- مشاهده شد. غلظت پروژسترون در مایع فولیکولی دو رده فولیکولی متوسط و بزرگ در تخمدان های CL^+ به طور معنی داری بیشتر از تخمدان های CL^- بود و بین فولیکول های کوچک در هر دو گروه تخمدان ها برای غلظت پروژسترون تفاوتی مشاهده نشد. دلیل افزایش غلظت پروژسترون حضور فعال جسم زرد می باشد. مهمترین منبع تولید پروژسترون در تخمدان جسم زرد می باشد که از سلول های گرانولوزا و تیکا فولیکول بعد از تخمک گذاری به وجود می آید. مقداری از پروژسترون مایع فولیکولی نیز توسط سلول های گرانولوزا تولید می شود (۴). بالا بودن غلظت کلسترول در مایع فولیکولی تخمدان های CL^- به طور عمده در ارتباط با هورمون های استروئیدی می باشد. غلظت استرادیول-۱۷ بتا و تستوسترون در مایع فولیکولی سه رده فولیکولی تخمدان های CL^- به طور معنی داری بیشتر از تخمدان های CL^+ بود. منشا هورمون های استروئیدی مایع فولیکولی، تخمدان می باشد. سلول های تیکا و گرانولوزا کلسترول را به پرگنونولون تبدیل کرده و استروئید ها را سنتز می کنند (۶ و ۷). مایع فولیکولی تخمدان های CL^+ برای بلوغ آزمایشگاهی اووسیت ها مناسب نمی باشد. زیرا غلظت پروژسترون در مایع فولیکولی این تخمدان ها بالا بوده و تاثیر ناچیزی در بلوغ اووسیت ها دارد (۲). مایع

فولیکولی، فولیکول های بزرگ حاصل از تخمدان های CL^- در مقایسه با مایع فولیکولی حاصل از تخمدان های CL^+ دارای غلظت بیشتری از استرادیول -۱۷ بتا می باشند. هورمون های استروئیدی از لحاظ بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و متابولیکی در رشد فولیکول ها، بلوغ هسته و سیتوپلاسم اووسیت نقش اساسی ایفا می کنند. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، مایع فولیکولی استحصال شده از فولیکول های بزرگ مستقر بر تخمدان های فاقد جسم زرد در مقایسه با مایع استحصالی از فولیکول های کوچک و متوسط جهت استفاده در محیط های کشت آزمایشگاهی اووسیت مناسب تشخیص داده می شود، زیرا نتایج نشان می دهد که میزان استرادیول -۱۷ بتا در فولیکول های بزرگ بیشتر از فولیکول های کوچک و متوسط می باشد.

References

1. Arshad, H. M., Ahmad, N., Samad, H.A., Akhtar, N., and Ali, S. 2005. Studies on some biochemical constituents of ovarian follicular fluid and peripheral blood in buffaloes. *Pakistan Journal of Veterinary Physiology*. 25:189-193.
2. Atheya, U.K. and Totey, S.M. 2002. Steroid concentration of the buffalo (*Bubalus bubalis*) ovarian follicular fluid. *Buflalo Journal* 18 (1): 137-141.
3. Gerard, N., Loiseau, S., Duchamp, G. and Seguin, F. 2002. Analysis of the variations of follicular fluid composition during follicular growth and maturation in the mare using Proton nuclear magnetic resonance. *Reproduction*. 124: 241-248.
4. Gordon D. Niswender, Jennifer L. Juengel, Patrick J. Silva, M. Keith Rollyson, Eric W. McIntush. 2000. Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. *Physiological Reviews*, Vol. 80, No. 1.
5. Crozet, Ahmed, Dubos., 1995. Developmental competence of goat oocytes from follicles of different size categories following maturation, fertilization and culture in vitro. *J Reprod Fert*, 103:293-8.
6. Henderson, K.M., McNeilly, A.S. and Swanston, I.A. 1982. Gonadotropin and steroid concentrations in bovine follicular fluid and their relationship to follicle size. *Journal of Reproduction and Fertility* 65: 467-473.
7. McNaay, K.P. Heath, D.A., Lun. S., Fannin, J.M. McDiarmid and Henderson, K.M. 1984. Steroidogenesis by bovine theca interna in an *in vitro* perfusion system. *Biology of Reproduction* 30: 159-170.
8. Nandi S, Girish Kumar V, Manjunatha BM, Gupta PSP. 2007. The biochemical composition of ovine follicular fluid in relation to follicle size. *Dev Growth Differ*. 49,61-6.
9. Leroy J.L.M.R., T. Vanholder, J.R. Delanghe, G. Opsomer, A. Van Soom, P.E.J. Bols, A. de Kruif. 2004. Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different-sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 80, 201-211.
10. Shujait Ali, Nazir Ahmad, Nafees Akhtar, Zia-ur-Rahman, Maqbool Ahmad. 2011. Hormonal Profiles in the Serum and Follicular Fluid of Female Camel (*Camelus dromedarius*) During the Peak and the Low Breeding Season. *Pak Vet J*, 31(4): 331-335.

The influence of the corpus luteum on cholesterol and steroid hormones concentration in serum and follicular fluid in dairy cows

Nasroallah Moradi Kor^{1*}, Hamed Karami Shabankareh²

¹ M.sc. of Animal Physiology, Razi University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Kermanshah, Iran, ² Associate Professor of Animal Science, Razi University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Kermanshah, Iran

* Corresponding E-mail address: Moradikor.nasroallah@yahoo.com

Abstract

The purpose of this study was to examine the influence of the corpus luteum on cholesterol and steroid hormones concentration of follicular fluid (FF) harvested from different-sized follicles and their relationship to blood serum in dairy cows. Ovaries were recovered from 30 female adult cows (Holstein Friesian) 4–7 years of age with clinically normal reproductive tracts after slaughtering. The ovaries collected per cow were classified with corpus luteum (CL⁺) and without corpus luteum (CL⁻). Visible follicles on the surface of the ovaries were classified, based on their diameter, into (i) small (3-5 mm), (ii) medium (6-9 mm) and (iii) large (10-20 mm) categories. Follicular fluid was aspirated from three follicle classes in CL⁺ and CL⁻ ovaries. Serum and FF samples were analyzed for Cholesterol, estradiol-17 β , progesterone, testosterone concentrations. Results showed that the follicular fluid concentration of estradiol-17 β , progesterone and testosterone in three follicle size categories (Small, Medium and large follicles in CL⁺ and CL⁻ ovaries) were significantly higher ($p \leq 0.05$) when compared with the serum. The follicular fluid concentration of estradiol-17 β and testosterone in same follicle size categories (Small, Medium and large follicles in CL⁺ and CL⁻ ovaries) were significant ($P < 0.05$). The results of the present study showed that the corpus luteum have a possible local effect on steroid hormones concentration of follicular fluid in CL⁺ ovaries.

Key words: Corpus luteum- Follicular fluid- Cholesterol- Steroid Hormones- Dairy cow

کارآیی سیدر، فلوروژستون استات و کلورپروستونول برای همزمان سازی فحلی گوسفند کرمانی در فصل جفتگیری

کاوه محمدی خانقاه^{۱*}، نصرالله مرادی گر^۲، منا قاسمی^۳

۱- عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج ۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی ۳- دانش آموخته کارشناسی علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی

* نویسنده مسئول : کاوه محمدی خانقاه Email: K.mohamadi1987@yahoo.com

چکیده

این آزمایش به منظور ارزیابی سه روش همزمان سازی فحلی (سیدر، اسفنچ پروژسترونی و تزریق $PGF2\alpha$) در فصل تولیدمثل بر روی ۱۰۵ راس گوسفند کرمانی در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. پس از پایان همزمان سازی قوچ های فحل یاب (۱ قوچ به ازای ۱۰ راس میش) یک روز پس از حذف تیمارهای پروژستارنی برای تعیین پارامتر مدت زمان تا شروع فحلی وارد جایگاه میش ها شدند. بدنبال آن میش ها با اسپرم تازه رقیق شده تلقیح مصنوعی شدند. تشخیص آبستنی با اندازه گیری پروژسترون سرم خون طی سه نوبت (۱۴، ۱۸ و ۲۲ روز پس از تلقیح مصنوعی) و در میانه آبستنی با روش اولتراسونوگرافی انجام شد. تفاوت معنی داری بین تیمارها از نظر مدت زمان فحلی وجود نداشت (بین ۲۳ تا ۳۵ ساعت برای همه میش ها). فاصله زمانی بین تشخیص فحلی و انجام تلقیح، برای روش های همزمانی تفاوت معنی داری نشان نداد ($P>0/05$). غلظت پروژسترون خون ($4/80 \pm 0/41$ نانوگرم در میلی لیتر) در روز ۲۲ پس از تلقیح مصنوعی، دوقلو زایی، درصد میش های فحل شده پس از تلقیح و طول آبستنی بین روش ها تفاوت معنی داری نشان نداد ($P>0/05$). بین غلظت پروژسترون از نظر نرخ بازگشت به فحلی تفاوت معنی داری دیده شد ($P<0/05$). نسبت بره های متولد شده به میش های زائیده و نیز نسبت به میش های فحل شده در اثر همزمانی، بین تیمارها تفاوت معنی داری دیده نشد. با این وجود به کارگیری $PGF2\alpha$ آسانترین و کم هزینه ترین روش بود.

کلمات کلیدی: گوسفند کرمانی - همزمان سازی فحلی - سیدر - اسفنچ درون واژنی - $PGF2\alpha$

مقدمه

بدون تردید برای ارتقای مدیریت تولیدمثل در گوسفند باید از تمام فن آوری های نوین و امکانات موجود استفاده کرد و با دانستن عوامل موثر در تولیدمثل و با کاربرد روش هایی مناسب باعث افزایش بهره وری اقتصادی در این صنعت شد. برای دستیابی به این هدف باید مدیریت پویا را با آخرین یافته های علمی و پژوهشی همراه نمود. یکی از مشکلات گله داری گوسفند، پایین بودن بهره وری و ظرفیت تولید مثل آنهاست. درآمد عمده حاصل از گوسفندان، تولید بره سالانه آنها می باشد، بدیهی است تولید یک بره در سال نمی تواند هزینه تغذیه و دیگر هزینه های جانبی را تأمین نماید. در نتیجه رضایت دامدار از فعالیت خود فراهم نمی شود و این درحالی است که پرورش گوسفند تکیه گاه اصلی جامعه روستایی و عشایری کشور است، از طرفی با ضعیف شدن تدریجی پوشش مراتع و افزایش هزینه ها در تأمین علوفه، به نظر می رسد که سیستم پرورش سنتی کارآیی کافی نداشته باشد و کاهش جمعیت گوسفند و افزایش سهم دامهای بزرگ (گاو) نیز مبین این واقعیت می باشد. همزمان کردن فحلی در گوسفند بیشتر به منظور کوتاه نمودن دوره زایش و همچنین تولید بره های هم سن است (۵). برای همزمان کردن فحلی باید با تجویز هورمون ها فعالیت تخمدان ها را تحت تاثیر قرار داده و میش ها را به فحل شدن وادار نمود که در حال حاضر روش های متعددی در این زمینه استفاده می شود (۶). از روش های رایج همزمان سازی فحلی استفاده از سیدر و یا اسفنچ است که به

صورت تنها و یا ترکیبی با یک گنادوتروپین استفاده می شود (۵). علی رغم پیشرفت های انجام شده در زمینه افزایش بهره دهی و اصلاح بازده تولید مثل گوسفند، فن آوری های نوین سودمند هنوز در جامعه ستنی پرورش دام کشور شناخته شده نیست. امید است آنچه در این مقاله گزارش می شود، اهمیت این روشها را روشن نموده و به استفاده عملی از آنها منجر گردد. از آنجایی که فعالیت دستگاه تولید مثل دامها تحت تأثیر هورمونها می باشد، می توان با استفاده از هورمون های ستنز شده، فرایند تولید مثل را در دام ها کنترل کرده و از ظرفیت تولید مثل آنها حداکثر استفاده را برد (۳ و ۴). روش هایی مانند انتقال رویان، تلقیح مصنوعی، افزایش تخمک گذاری، همزمان کردن فحلی و غیره با استفاده از روشهای هورمون درمانی انجام شده و نتایج امید بخش آن افق های جدیدی را در بخش پرورش گوسفند برای دامدار فراهم نموده است (۷ و ۸). برای استفاده از روشهای فوق الذکر همزمان کردن فحلی در دامها ضروری به نظر می رسد. لذا هدف از انجام این آزمایش مقایسه همزمان سازی فحلی گوسفند با استفاده از سیدر (CIDR)، فلوروژستون استات (FGA) و کلپروستونول (PGF2α) در گوسفندان کرمانی می باشد.

مواد و روش ها

این آزمایش در گوسفندداری آموزشکده کشاورزی کرمان در نیمه دوم شهریور ماه سال ۱۳۸۹ در اوایل فصل تولید مثلی انجام شد. تعداد ۱۰۵ رأس میش نژاد کرمانی با ۲ تا ۳ شکم زایش و میانگین وزن ۴۵ - ۴۰ کیلوگرم از گله به صورت تصادفی انتخاب شدند. نمره وضعیت بدنی میش ها در هنگام آزمایش ۳/۵ - ۳ (بر اساس سیستم ۵ - ۱) بود. میش ها به طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند و روش های همزمانی بر روی آنها اعمال گردید. ۳۳ رأس میش به روش سیدر^۱، ۳۲ رأس با استفاده از اسفنج آغشته به پروژسترون (FGA) محتوی ۴۵ میلی گرم فلوروژستون استات و ۳۰ رأس دیگر با تزریق PGF2α همزمان شدند. اسفنج ها وسیدرها به مدت ۱۴ روز کار گذاشته شدند و همچنین در گروه سوم دو تزریق کلپروستونول (estroplan; Parnell International B.V Australia) به فاصله ۱۳ روز انجام شد. برای تشخیص فحلی، قوچ های فعال و بارور از لحاظ جنسی انتخاب و به سینه آنها پیش بند بسته شد و ۲۴ ساعت پس از برداشت اسفنج، سیدر و قطع تزریقات به گله وارد شدند. تلقیح مصنوعی در زمان ثابت یعنی ۴۸ ساعت پس از قطع منابع پروژسترونی انجام شد. طی سه نوبت ۱۴، ۱۸ و ۲۱ روز بعد از تلقیح مصنوعی برای تعیین غلظت پروژسترون خون گیری انجام شد خون های گرفته شده در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شده و بعد از سانتریفوژ مورد بررسی قرار گرفتند. داده ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم افزار آماری SAS مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. مقایسه بین میانگین ها با استفاده از روش چند دامنه ای دانکن محاسبه و بررسی شد.

نتایج و بحث

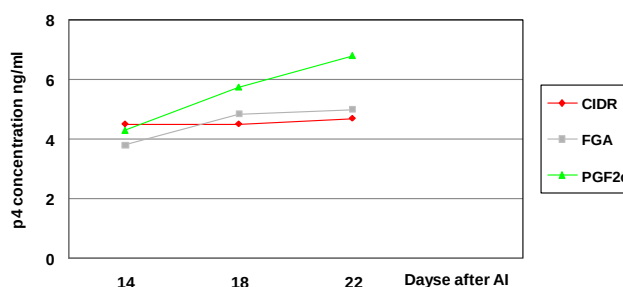
نتایج استفاده از سه روش همزمان سازی فحلی و اثرات آن روی عملکرد تولید مثلی گوسفند کرمانی به ترتیب در جدول ۱ و میانگین غلظت پروژسترون بین تیمارها در نمودار ۲ ارائه شده است. تفاوت معنی داری از نظر پاسخ به فحلی، مدت زمان تا شروع فحلی، غلظت پروژسترون پس از تلقیح مصنوعی و آبستنی بین روش های همزمانی وجود نداشت ($P > 0.05$).

جدول شماره ۱. اثرات تیمارهای آزمایشی روی پارامترهای تولید مثلی گوسفند کرمانی

¹ Controlled Internal Drug Release



تیمارها	تعداد میش	میش های فحل %	مدت زمان تا شروع فحلی	طول مدت آبستنی (روز)	نرخ آبستنی %	نرخ زایی %
CIDR	۳۷	۹۴ (۳۵/۳۷)	$25/6 \pm 0/5$	$0/8 \pm$ ۱۴۹/۲	۶۹/۷۳	۵۵
FGA Sponge	۳۵	۹۷ (۳۴/۳۵)	$26/2 \pm 0/5$	$0/8 \pm$ ۱۴۸	۷۲/۳۵	۶۰
Cloprostenol	۳۳	۹۷ (۳۲/۳۳)	$26/0 \pm 0/4$	$0/9 \pm$ ۱۵۰/۳	۷۵/۰۰	۵۷



نمودار ۲. میانگین غلظت پروژسترون در بین گروه های آزمایشی

مقایسه میانگین گروه ها نشان داد که تفاوت آماری معنی داری بین این گروه ها از لحاظ زمان شروع فحلی وجود نداشت. مدت زمان شروع فحلی در گروه های تیماری به ترتیب ۲۵/۶، ۲۶/۲ و ۲۶ ساعت متغییر بود. نتایج بدست آمده با یافته های Rhodes و همکاران (۱۲) مطابقت دارد. هرچند Knights و همکاران (۹) بیان کردند که میش های درمان شده با سیدر در مقایسه با میش های درمان شده با اسفنچ علائم فحلی را زودتر نشان دادند ولی آنها نیز اظهار داشتند که پاسخ به فحلی در گروه درمان شده با اسفنچ بیشتر از گروه سیدر بود. اسمیت و همکاران (۱۳) نیز بیان کردند که استفاده از سیدر در مقایسه با اسفنچ، سبب ظهور زود هنگام فحلی در میش های درمان شده گردید. موتلوملو و همکاران (۱۱) گزارش نمودند که بین میش های تیمار شده با سیدر و اسفنچ های آغشته به FGA تفاوت معنی داری در پاسخ به فحلی و مدت زمان دوره فحلی القاء شده مشاهده نگردید که نتایج کار ما با آنها مطابقت دارد. تفاوت معنی داری در نرخ آبستنی میش ها به واسطه روش های درمانی مشاهده نگردید (۶۹/۷۳، ۷۲/۳۵ و ۷۵). تعدادی از محققین، مشابه نتایج تحقیق حاضر تفاوت معنی داری از نظر نرخ آبستنی بین میش های درمان شده مشاهده نکردند (۱ و ۱۰). به عبارت دیگر نرخ آبستنی به یک میزان تحت تاثیر روش های متفاوت همزمانی فحلی قرار گرفته است. از آنجایی که داشتن بره های در یک محدوده سنی نزدیک به هم فراهم کننده مدیریت مطلوب تر است، استفاده از روش های درمانی اسفنچ آغشته به فلوروژستون استات یا سیدر می تواند در ایجاد همزمان سازی مورد استفاده قرار گیرد. نرخ آبستنی در میش های کرمانی تحت روش های همزمانی فحلی که تنها در یک دوره از سیکل تولید مثلی مورد استفاده قرار گرفت، بالاتر از

میانگین گله های محلی بود. بنابراین با توجه به یکسان بودن صفات مورد بررسی بین تیمارها استفاده از PGF2 α به علت کمتر بودن هزینه و ساده بودن روش کار (تزریق) پیشنهاد می شود.

References

1. Blanco, M.R., Simonetti, L. & Rivera, O.E. 2003. Embryo production and progesterone profiles in ewes supplemented with different hormonal treatments. *Small Ruminant Research*, 47: 183-191.
2. Diskin, MG., Austin, EJ. & Roche, JF. 2002. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Dom. Anim. Endocrinol*, 23: 211-228.
3. Evan, G. & Robinson, T.J. 1993. The control of fertility in sheep: endocrine and ovarian responses to progestagen-PMSG treatment in the breeding season and in anoestrus. *J. Agri. Sci*, 94: 69-88.
4. Fonseca, JF., Bruschi, JH., Santos, ICC., Viana, JHM & Magalhães, ACM. 2005. Induction of estrus in non lactating dairy goats with different estrous synchrony protocols. *Anim. Reprod. Sci*, 85: 117-124.
5. Godfery, R. R., Gary, M. L. & Collins, J. R. 2003. A comparison of two methods of estrous synchronization of hair sheep in the tropics. *Anim. Reprod. Sci*, 47: 99 -106.
6. Greyling, J.P.C. & van Niekerk, C.H. 1999. Different synchronization techniques in Boer goat does outside the normal breeding season. *Small Ruminant Research*, 5. 233-243 .
7. Hamara, A.H., McNally, J.W., Marcek, J.M., Carlson, K.M. & Wheaton, J.E. 1989. Comparison of progesterone sponges, cronolone sponges and controlled internal drug release dispensers on fertility in anestrous ewes. *Anim. Rep. Sci*, 18: 219-226.
8. Jainudeen, MR., Wahid, H & Hafez, ESE. 2000. Ovulation induction, embryo production and transfer. In: Hafez, B and Hafez, ESE (Eds.), *Reproduction in farm animals*. (7th Edn.), Lippincott Williams & Wilkins, Maryland, PP: 405-430.
9. Knights, T. W., Hall, D. R. H., & Smith, J. F. 1988. Effect of immunization with polyandoalbumin (Fecundin), pasture allowance, post mating shearing, and method of synchronization on reproductive performance of Romney and Marshal Romney ewes. *New Zealand J. Agri. Res*, 31: 243-247.
10. Lehloenya, KC., Greyling, JPC & Schwalbach, LMJ. 2005. Reproductive performance of South African indigenous goats following estrous synchronisation A.I. *Anim. Reprod. Sci*, 57: 115-120.
11. Motlomelo, K.C., Greyling, J.P.C., & Schwalbach, L.M.J. 2002. Synchronisation of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. *Small Ruminant Research*. 45: 45-49.
12. Rhodes, L., & Nathanielsz, P.W. 1988. Comparison of a controlled internal drug release device containing progesterone with intravaginal medroxyprogesterone sponges for estrus synchronisation in ewes. *Theriogenology*, 30: 831-836.
13. Smith, J. F., Konlecheker, J. A., & Parr, mJ. 1991. Factors influencing the time to onset of estrous after synchronization treatment in ewes. *Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production*, 51: 117-121.

Efficacy of CIDR, flurogestone acetate and cloprostenol for estrous synchronization of kermani sheep during the breeding season

Kaveh Mohammadi Khanghah^{1*}, Nasroallah Moradi Kor², Mona Ghasemi³

¹Young Researchers Club, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran, ²M.sc. of Animal Physiology, Razi University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Kermanshah, Iran, ³B.sc. of Animal Science, Razi University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Kermanshah, Iran

* Corresponding E-mail address: K.mohamadi1987@yahoo.com

Abstract

The objective of this study was to evaluate three methods of estrous synchronization, viz., controlled internal drug releasing device (CIDR), intravaginal sponges impregnated with flurogestone acetate (FGA), and cloprostenol (Estrumate; an analogue of prostaglandin F2 α) in Kermani sheep. The estrous synchronized does (n=33 to 37 per treatment), after heat detection, were artificially inseminated (once) with diluted semen of fertile rams. Pregnancy was determined by measuring blood serum progesterone levels on days 14, 18, 21 after insemination, followed by ultrasonography at mid-gestation. No significant difference was observed for the interval between the end of the synchronization protocol and the standing heat amongst treatments (range: 23 to 35 h). There was no significant difference in the interval between the time of standing heat and insemination among treatments (range: 15 to 27 h). Blood serum progesterone levels (overall mean: 4.80 ± 0.41 ng/ml; SEM), non-return rate to estrus and the kidding rate were not significantly affected by the synchronization methods. Serum progesterone levels were significantly lower ($P < 0.01$) in does that returned to estrus after artificial insemination. Prolificacy and fecundity were not significantly affected by the synchronization methods; however, cloprostenol method was found to be more convenient and economical under the conditions of this experiment.

Key words: Kermani Sheep-Estrous synchronization-CIDR-Intravaginal sponge-PGF2 α

بررسی اثرات روش های همزمانی مجدد بر پارامترهای متابولیکی خون در گاوهای شیری

کاوه محمدی خانقاه^{۱*}، نصرالله مرادی گر^۲، منا قاسمی^۳

۱- عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنجند ۲- عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی

واحد بافت ۳- دانش آموخته کارشناسی علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی

* نویسنده مسئول : کاوه محمدی خانقاه Email: K.mohamadi1987@yahoo.com

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات روش های همزمانی مجدد بر پارامترهای متابولیکی خون در روزهای بعد از تلقیح در گاوهایی که بعد از زایمان با پروتکل های هورمونی درمان شده بودند، انجام گرفت. تعداد ۱۲۳ راس گاو شیری با دو شکم زایش و نمره وضعیت بدنی بین ۲/۷۵ و ۳ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به سه گروه تقسیم شدند. گاوها در روزهای ۲۰ تا ۳۰ پس از زایش مورد معاینه قرار گرفتند که از این میان تنها ۱۱۵ راس شرایط لازم برای آزمایش را داشتند. از این تعداد ۳۷ راس به روش Heatsynch + eCG (گروه اول)، ۳۸ راس به روش Ovsynch + CIDR (گروه دوم) و ۴۰ راس به روش Heatsynch (گروه سوم) مورد درمان قرار گرفتند. در روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۴ پس از تلقیح اول؛ نمونه های شیر و خون جمع آوری و میزان پروژسترون، پروتئین تام، آلبومین، ازت اوره شیر و پلاسمای خون اندازه گیری شد. آنالیز آماری مربوط به تغییرات آلبومین، پروتئین تام و ازت اوره در پلازما اختلاف معنی داری بین گروه های درمانی نشان نداد ($P>0/05$). غلظت اوره شیر در گاوهای غیرآبستن بالاتر از گاوهای آبستن بود و میزان پروژسترون پلازما در روزهای بعد از تلقیح اول در گاوهای آبستن (صرف نظر از پروتکل درمانی در پایان آزمایش) بطور معنی داری بیشتر از گاوهای غیرآبستن بود ($P\leq 0/05$)، به طوریکه در گروه هیتسینک + eCG غلظت پروژسترون بیشتر از دو گروه دیگر مشاهده شد.

کلمات کلیدی: پروژسترون- شاخص های تولید مثلی- سیدر- گاو شیری هلستاین- eCG

مقدمه

بیوتکنولوژی که به صورت توانایی بکارگیری فرایندهای زیستی در بُعد صنعتی تعریف می شود در دو دهه گذشته، کاربردهای گسترده ای در عرصه های کشاورزی و دامپروری پیدا کرده است. امروزه از روش های مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی، در صنایع پرورش دام، طیور و آبزیان به منظور اصلاح نژاد، افزایش کمی و کیفی محصول و مقابله با بیماری ها به طور گسترده ای بهره گیری می شود. ایران به لحاظ دامپروری و تولید فرآورده های دامی دارای مزایای نسبی فراوانی است، به طوری که تقریباً تمام دام های ارزشمند در ایران قابل پرورش و نگهداری هستند. این مزیت صنعت تولید دام و فرآورده های آن؛ کشور را در زمره صنایع پردرآمد و مهم قرار داده است. در این بین بیوتکنولوژی با توجه به کاربردهای وسیع آن می تواند در توسعه و ارتقای صنعت مذکور نقش بسزایی ایفا نماید. بهبود ژنتیکی عملکرد هر گاو شیرده و افزایش تعداد گاو مولد از روش های مهم افزایش سطح تولید شیر می باشند. پروتکل های درمانی و تلقیح در زمان ثابت (TAI) از روش نوین در شاخه بیوتکنولوژی دامی می باشند. تلقیح در زمان ثابت مستلزم همزمانی فعلی با تراکم ظهور علائم آن و همزمانی تخمک گذاری می باشد (۴)، بنابراین با استفاده از برنامه های همزمان سازی فعلی یا تخمک گذاری و به کار بردن فعل یابی مناسب در گله می توان عملکرد تولیدمثلی گاوهای

شیری را بهبود بخشید. گاوهایی که به دنبال اولین تلقیح، غیر آبستن گزارش شده اند باید برای حفظ کارایی تولیدمثلی در زمان مناسبی تلقیح شوند. یک روش برای تشخیص مرحله سیکل فحلی در زمان شروع پروتکل همزمان سازی مجدد، ارزیابی ساختارهای تخمدانی و رحمی در زمان تشخیص منفی آبستنی است. تشخیص مرحله سیکل فحلی می تواند با استفاده از معاینه رکتال و اولتراسونوگرافی از دستگاه تولیدمثلی انجام شود (۱). پتانسیل همزمانی تخمک گذاری و TAI برای بهبود تولیدمثل می تواند به وسیله دستکاری استراتژیک و فحلی مجدد در گاوهای شیری یا گاوهای افزایش یابد (۵). بنابراین از تلقیح در زمان ثابت^۱ به دنبال پروتکل های همزمانی تخمک گذاری، به عنوان یک روش رایج برای مدیریت تولیدمثل در گله های گاو شیری استفاده می شود (۷، ۹). لذا هدف از این مطالعه بررسی روش های همزمانی مجدد^۲ با استفاده از پروتکل های هورمونی در دوره بعد از زایمان روی پارامترهای متابولیکی خون در گاوهای شیری هلشتاین می باشد.

مواد و روش ها

این تحقیق در یک گله بزرگ گاو شیری در استان کرمان انجام شد. گاوهای مورد بررسی از نژاد هلشتاین بوده و جیره خود را به صورت کاملاً مخلوط با اجزای سیلوی ذرت، یونجه، کاه و کنسانتره (شامل: جو، کنجاله سویا، کنجاله آفتابگردان، سبوس و مکمل) دریافت می کردند. گاوها در یک برنامه منظم تولید مثلی قرار گرفتند و دستگاه تولیدمثلی هر حیوان بوسیله بازرسی از طریق راست روده در روزهای ۳۰-۲۵ و ۴۵-۴۰ پس از زایش جهت بازگشت طبیعی رحم و شکل ساختارهای تخمدانی مورد آزمایش قرار گرفت. بعد از دومین معاینه که ۴۵-۴۰ روز پس از زایش انجام شد، گاو ها تحت اعمال پروتکل های درمانی قرار گرفتند.

۱- گروه Heatsynch + eCG:

شامل ۳۷ راس گاو بود که در روز 3 ± 31 بعد از تلقیح، سونوگرافی شدند و در صورت منفی بودن تست ۲/۵ میلی لیتر گنادورولین (Gonabreed; Parnell International B.V Australia) به همراه ۲۰۰ واحد بین المللی هورمون eCG به صورت عضلانی دریافت کردند، سپس در روز 3 ± 38 بعد از تلقیح ۲ میلی لیتر (Cloprostenol; Parnell International B.V Australia) به صورت عضلانی به آنها تزریق شد. در روز 3 ± 40 بعد از تلقیح ۲/۵ میلی لیتر استرادیول تجویز شد، در نهایت گاوهایی که فحلی را تا ۲۴ ساعت بعد نشان دادند، تلقیح شدند و گاوهایی که فحلی را نشان ندادند در روز 3 ± 41 تلقیح در زمان ثابت شدند سپس در صورت نشان ندادن دوباره فحلی 3 ± 31 روز بعد سونوگرافی مجدد انجام شد.

۲- گروه Ovsynch + CIDR:

شامل ۳۸ راس گاو بود که در روز ۱۴ بعد از تلقیح، سیدر (Veto CIDR، شرکت ابوریحان، ایران) دریافت کردند. در روز ۲۱ بعد از تلقیح سیدر خارج شد، سپس در روز 3 ± 24 بعد از تلقیح ۲/۵ میلی لیتر گنادورولین (Gonabreed; Parnell International B.V Australia) به صورت عضلانی دریافت کردند. در روز 3 ± 31 بعد از تلقیح سونوگرافی صورت گرفت و در صورت منفی بودن تست، ۲ میلی لیتر (Cloprostenol; Parnell International B.V) استرادیول تجویز شد.

¹ Time Artificial Insemination

² Resynchronization

(Australia) به صورت عضلانی به آنها تزریق شد، سپس در روز 3 ± 33 بعد از تلقیح مجدداً ۲/۵ میلی لیتر گنادورولین (Gonabreed;Parnell International B.V Australia) تجویز شد.

۳- گروه Heatsynch :

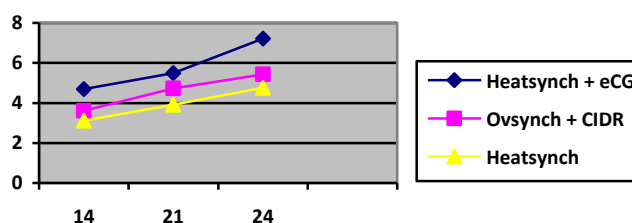
۴۰ راس گاو به این روش مورد درمان قرار گرفت که مراحل کار در این گروه مشابه گروه اول بود و تزریق eCG هم انجام نشد. نمونه خون و شیر از تمام گاوهای سه گروه درمان در روزهای ۲۴، ۲۱، ۱۴، پس از تلقیح گرفته شد. پس از آزمایش نمونه ها و سنجش متابولیت های پروتئینی پلاسما و شیر، داده ها با استفاده از نرم افزار آماری (SPSS Version 11/5, SPSS INC, Chicago)، مورد آنالیز قرار گرفتند. پس از بررسی نرمال بودن جمعیت مورد مطالعه، برای آنالیز متابولیت ها از روش آنالیز پارامتریک و آزمون t-test استفاده شد. برای آنالیز غلظت های پروژسترون پلاسما با توجه به عدم نرمال بودن جمعیت مورد مطالعه از روش آنالیز من ویتنی استفاده شد. برای مقایسه نتایج در گروه های مختلف از آزمون T-test استفاده شد. ارزش p کمتر از ۰/۰۵ میزان معنی داری بود و در غیر این صورت معنی دار محسوب نمی شد.

نتایج و بحث

مقایسه فراوانی غلظت پروژسترون پلاسمای گاوهای آبستن و غیرآبستن نشان داد که این هورمون در گاوهای آبستن بیشتر از گاوهای غیرآبستن بوده است. میانگین و انحراف معیار متابولیت های پلاسما در (جدول ۱) و میانگین غلظت پروژسترون در (نمودار ۱) نشان داده شده است. آنالیز آماری مربوط به تغییرات آلبومین، پروتئین تام و ازت اوره در پلاسما اختلاف معنی داری بین گروه های درمانی نشان نداد ($P > 0/05$). غلظت اوره شیر (میلی گرم در دسی لیتر) در گاوهای غیر آبستن نسبت به آبستن با تفاوت معنی داری گزارش شد ($P < 0/05$).

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار برخی متابولیت های پلاسما. *وجود تفاوت معنی دار ($P < 0/05$).

آبستن	غیر آبستن	متابولیت های خونی
$22/394 \pm 1/114$	$21/131 \pm 2/044$	اوره پلاسما (میلی گرم در هر دسی لیتر)
$4/584 \pm 0/334$	$4/330 \pm 0/370$	پروتئین تام پلاسما (گرم در دسی لیتر)
$2/483 \pm 0/265$	$2/885 \pm 0/219$	آلبومین پلاسما (گرم در دسی لیتر)
$281/778 \pm 26/055$	$37/114^*$	غلظت اوره شیر (میلی گرم در دسی لیتر)
	$175/034$	
$63/471 \pm 19/30$	$60/760 \pm 8/723$	پروتئین تام شیر (گرم در دسی لیتر)
$5/928 \pm 1/268$	$7/732 \pm 1/586$	آلبومین شیر (گرم در دسی لیتر)



نمودار ۱: میانگین غلظت پروژسترون خون در روزهای بعد از تلقیح در گروه های آزمایشی

برنامه های همزمانی مجدد در مدیریت تولید مثل گله های شیری با هدف بهبود میزان تلقیح مجدد گاوهای غیرآبستن و کاهش فاصله تا آبستنی به کار می روند (۳). مطالعات پیشین بر باروری گاوهای شیری بعد از همزمانی مجدد تاکید کرده اند (۵). میزان اوره و آلبومین پلاسما در گاوهایی که ۵۰ روز پس از زایش، فعالیت تخمدانی خود را آغاز می کنند کمتر از گاوهایی است که بلافاصله بعد از زایمان، فعالیت تخمدانی خود را آغاز می کنند. در گاوهای پرتولید که جیره های ناکافی از نظر انرژی و پروتئین دریافت می کنند کاهش آلبومین و پروتئین تام در خون سبب کاهش باروری تا حد سه برابر و افزایش تعداد دفعات تلقیح به ازای آبستنی می گردد (۲). تحقیقات نشان می دهد که همبستگی منفی بین میزان اوره خون و میزان باروری در گاوهای شیری وجود دارد بطوری که اگر مقدار اوره پلاسما بیشتر از ۲۰ میلی گرم در دسی لیتر باشد باروری کاهش می یابد (۹). Folman و همکاران (۶) وجود رابطه منفی بین میزان جذب پروتئین و فاکتورهایی مانند فاصله بین زایش تا اولین فحلی، فاصله زایش تا اولین تلقیح و فاصله زایش تا برقراری آبستنی را مشخص کردند. از طرفی کمبود پروتئین بعد از زایمان به عنوان یکی از عوامل کاهش آزادسازی گنادوتروپین از هیپوفیز قدامی و همچنین کاهش پاسخ پذیری هیپوفیز قدامی به GnRH تعیین شده است که در نهایت سبب تاخیر در شروع فحلی بعد از زایمان می شود (۸). مهمترین نقش پروژسترون در ادامه روند بارداری ظاهر می شود و با اندازه گیری پروژسترون خون و یا شیر در ۲۰ روزگی می توان گاو غیر آبستن را شناسایی کرد. در زمان اولین تلقیح، افزایش غلظت پروژسترون به میزان زیادتر از حد پایه، سبب عدم هماهنگی هورمونی شده و در نهایت منجر به کاهش باروری می گردد بطوریکه بین شدت فحلی و غلظت پروژسترون در چربی شیر در زمان فحلی ارتباط منفی وجود دارد. کمبود پروژسترون در روزهای بعد از تلقیح مصنوعی سبب پائین آمدن میزان نرخ آبستنی، افزایش تعداد گاوهای برگشتی و عدم آبستنی می گردد. بنا براین افزایش کارایی سیستم تولید مثلی دام بدنبال استفاده از پروتکل های درمانی برای همزمانی فحلی و تلقیح مصنوعی به عنوان روش های نوین در شاخه بیوتکنولوژی دامی از نتایج این تحقیق می باشد.

References

1. Bartolome, J. A., Silvestre, F.T. & S. Kamimura. 2005. Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows I: use of the Ovsynch and Heatsynch protocols after non pregnancy diagnosis by ultrasonography. *Theriogenology*, 63:1617-1629.
2. Canfield, R. W., Sniffen C. J. & W. R Butler. 1990. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *J. Dairy Sci*, 73: 2342-2349.
3. Caraviello, D. Z., Weigel, K. A. & Fricke P. M. 2006. Survey of management practices on reproductive performance of dairy cattle on large US commercial farms. *J. Dairy Sci*, 89:4723-4735.

4. Dialely, R.A., Price, J.C., Simmons, K. R., Meisterling, E. M., Quinn, P. A. & Washburn, S. P. 1986. Synchronization of estrus in dairy cows with and estadiol benzoate. J. Dairy Sci. 69, 1110-1114.
5. El-Zarkouny, S. Z. & Stevenson J. S. 2004. Resynchronizing estrus with progesterone or progesterone plus estrogen in cows of unknown pregnancy status. J. Dairy Sci, 87:3306-3321.
6. Folman, Y., Rosenberg, M., Herz, Z. & Davidson, M. 1973. The relationship between plasma progesterone concentration and conception in postpartum dairy cows maintained on two levels of nutrition. J. Reprod. and Ferti, 34: 267-78.
7. Pancarci, S. M., Jordan, E. R. & Risco, C. A. 2002. Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. J. Dairy Sci, 85:122-131.
8. Peters, A.R. 1984. Plasma progesterone and gonadotrophin concentrations following norgestomet treatment with and without cloprestenol in beef cows. Veterinary Record, 114: 418-21.
9. Pursley J. R., Mee, M. O. & Wiltbank, M. C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂ and GnRH. Theriogenology, 44:915-923.

Study the effects of different resynchronization methods on blood metabolic parameters in holstein dairy cows

Kaveh Mohammadi Khanghah^{1*}, Nasroallah Moradi Kor², Mona Ghasemi³

¹Young Researchers Club, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran, ²Young Researchers Club, Baft Branch, Islamic Azad University, Baft, Iran, ³B.sc. of Animal Science, Razi University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Kermanshah, Iran

* Corresponding E-mail address: K.mohamadi1987@yahoo.com

Abstract

The present study was carried out to determine blood metabolic parameters in days after insemination in cows treated by different hormonal protocols during postpartum periods. The 123 dairy cows (secondparous) with the average of BCS between 2.75 and 3 were divided into 3 groups in a completely randomized design. The cows were tested between days 20 to 30 postpartum. Thirty seven cows were treated by heatsynch method + eCG (group 1), 38 cows received Ovsynch + CIDR (group 2) and the third group (40 cows) were subjected to the Heatsynch method. Blood and milk samples were taken to determine progesterone, total proteins, albumin, urea nitrogen and plasma contents in 14, 21 and 24 days after first insemination. Results of this experiment revealed that Plasma progesterone in first group was significantly different than that of the other groups ($P \leq 0.05$). This difference could be attributed to equine chorionic gonadotrophin (eCG) which have an effective role in ovulation, fertilization and embryo's vitality. Plasma progesterone levels of pregnant cows were higher compared to that of nonpregnants in days after first insemination regardless the type of resynchronization protocols ($P \leq 0.05$).

Key words: Progesterone - Reproductive indices - CIDR - Dairy Holstein cattle - eCG

اثر طول دوره نوری بر خصوصیات تولید مثلی قوچهای توده های ژنتیکی مغانی، شال، افشار و سنگسری

سعید رضا اصغری^{۱*}، سیده فاطمه کاظمی^۲، محمد مهدی کثیریان^۱، غلامحسین ایراجیان^۱، مجید حجازی فر^۱
۱ - موسسه آموزش عالی علمی-کاربردی جهاد کشاورزی، مجتمع آموزش جهاد کشاورزی استان سمنان، عضو هیئت مدیره سازمان مردم نهاد فکر و اندیشه قومس
* نویسنده مسئول: سعید رضا اصغری، دامغان-کیلومتر ۱۰ جاده چشمه علی - مرکز آموزش جهاد کشاورزی رسول اکرم(ص)
saeedreza.asghari@iran.ir و saeedreza.asghari@gmail.com و s.asghari@itvhe.ac.ir

چکیده

این طرح با هدف مشخص کردن میزان حساسیت به فوتوپریود در مرکز آموزش کشاورزی دامغان، بر روی ۱۶ قوچ از ۴ نژاد سنگسری، مغانی، افشاری و شال انجام شد. صفات مورد نظر قطر بیضه ها، حجم منی، غلظت و تحرک اسپرمها، درصد اسپرمهای زنده و طبیعی و غلظت قندهای احیا کننده و LDH در مایع منی بود. نژاد تاثیر معنی داری بر تحرک اسپرم، LDH و قطر بیضه داشت، قطر بیضه، تحرک اسپرم و غلظت LDH در نژادهای افشاری و شال به ترتیب بیشتر، کمتر و بیشتر از نژادهای سنگسری و مغانی بود. اثر فصل بر کلیه صفات معنی دار بود. میزان تحرک در آبان بیشترین (۶۷،۱۴٪) و در تیر کمترین (۵۶،۰۰٪) بود. طی مهر و آبان، حجم منی و قندهای احیا کننده به طور معنی داری افزایش یافت (به ترتیب cc1.08 و cc1.09 برای حجم و ۳۸۳،۵ mg/dl و 381.9 mg/dl برای قندهای احیا کننده). غلظت LDH در ماه آبان کمترین (U/ml2.99) و در تیر ماه بیشترین مقدار (U/ml4.29) بود. غلظت اسپرم نیز در طی ماه های شهریور تا آذر کمترین و طی ماه های اسفند تا اردیبهشت بیشترین مقدار بود. درصد اسپرمهای زنده و درصد اسپرمهای نرمال در طی ماه های پاییز بیشترین مقدار و در تیر ماه کمترین مقدار بود. قطر بیضه در پاییز که اوج فعالیتهای تولید مثلی قوچ بود بیشترین و در بهار کمترین مقدار بود. در نهایت در هر چهار نژاد گوسفند در طول دوره کاهش طول روز به کیفیت صفات منی افزوده شد. کلید واژه ها: فوتوپریود، خصوصیات منی، قوچ، سنگسری، مغانی، افشاری، شال.

مقدمه

تولید مثل در گوسفند، تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند: فوتوپریود، سن، مدیریت، نژاد و دما است (۷)، برای افزایش بازده تولید مثلی، ابتدا باید توان تولید مثلی توده های بومی و حساسیت آنها به فوتوپریود، شناسایی شده تا بتوان با انتخاب توده مناسب به حد اکثر بازده دست یافت (۱). در اکثر نژادها، قوچ در تمام طول سال توانایی جفتگیری دارد. تنها در روزهایی که با افزایش دوره ی نوری همراه باشد، از فعالیت جنسی قوچ کاسته می شود. در طول سال تغییراتی در وزن بیضه میزان تستوسترون، FSH, LH و همچنین منی دیده می شود (۷). به نظر میرسد نژادهای مختلف گوسفند نسبت به طول دوره نوری پاسخهای نسبتاً متفاوتی میدهند. همچنین برای استاندارد سازی نژادها دانستن اطلاعات تولید مثلی آنها ضروری است، این دو نکته اهداف این پژوهش را تشکیل می دهند.

مواد و روشها



در این پژوهش تعداد ۱۶ قوچ از نژادهای سنگسری، مغانی، افشاری و شال (از هر نژاد ۴ قوچ) انتخاب به مدت ۱۲ ماه نمونه گیری انجام شد. صفات اندازه گیری شده عبارت بودند از: قطر دو بیضه در داخل کیسه بیضه، (۱۵)، خصوصیات منی شامل حجم منی، غلظت اسپرمها با استفاده از هموسیتومتر، تحرک اسپرمها بر روی صفحه گرم، درصد اسپرم های زنده، درصد اسپرمهای طبیعی (۸) و قندهای احیا کننده (۱۳) و غلظت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (۱۴). برای قند و LDH، نمونه ها سانتریفیوژ (۳۰ دقیقه، ۶ هزار دور) شده و مایع منی جدا شد و آزمایش ها با استفاده از رقت یک به ده، انجام شد. آنالیز داده ها بر اساس آزمایشات فاکتوریل و با روش Repeated Measures برای بررسی اثر ماه و نژاد با بسته آماری SPSS16 انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج مقایسه میانگینها در جداول ۱ و ۲ آمده است. نژاد تاثیر معنی داری بر تحرک اسپرم، LDH مایع منی و قطر بیضه داشته است ($P \leq 0.01$)، تحرک اسپرم در نژادهای افشاری و شال کمتر از نژادهای سنگسری و مغانی بوده است و مشخصا غلظت LDH در این دو نژاد بیشتر بود. قطر بیضه در نژادهای شال و افشاری بیشتر از دو نژاد دیگر بود که احتمالا به دلیل اندازه بدن بزرگتر این دو نژاد است. اثر ماه بر کلیه صفات مورد بررسی معنی داری نداشت ($P \leq 0.01$).

جدول ۱- مقایسه میانگینها به روش دانکن برای اثر نژاد بر صفات اندازه گیری شده

صفت / نژاد	سنگسری	مغانی	افشاری	شال
Mo.	63.45 ^a	62.7 ^a	60.77 ^b	60.21 ^b
LDH	3.28 ^c	3.41 ^{cd}	3.50 ^{de}	3.59 ^e
Vol	.9292 ^f	.9208 ^f	.8979 ^f	.8375 ^f
S.D.	327.08 ^g	337.50 ^g	341.71 ^g	334.85 ^g
L.S.	80.02 ^h	80.38 ^h	80.92 ^h	81.54 ^h
N.S.	81.02 ⁱ	79.23 ⁱ	80.96 ⁱ	81.19 ⁱ
R.S.	334.96 ^j	336.12 ^j	335.29 ^j	334.29 ^j
T.D.	11,146 ^k	11,263 ^k	13,060 ^L	13,700 ^L

Mo. : % تحرک اسپرم، LDH: غلظت لاکتات دهیدروژناز (U/ml)، Vol: حجم انزال (ml)، S.D. : غلظت اسپرمها (10⁶/ml) (*)، L.S. : % اسپرمهای زنده، N.S. : درصد اسپرمهای نرمال، R.S. : غلظت قندهای احیا کننده، T.D. : قطر بیضه (cm). حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه اختلاف معنی دار میانگینهاست.

میزان تحرک در اسپرم ماه آبان بیشترین (۶۷,۱۴٪) و در تیرماه کمترین مقدار (۵۶٪) بود. غلظت LDH تغییراتی عکس تحرک و غلظت قندهای احیا کننده نشان داد. غلظت این آنزیم همبستگی منفی با این دو صفت نشان داد به گونه ای که در ماه آبان کمترین (۲.۹۹ U/ml) و در تیر ماه بیشترین مقدار (۴.۲۹ U/ml) بود. غلظت اسپرم نیز در طی ماه های شهریور تا آذر کمترین و طی ماه های اسفند تا اردیبهشت بیشترین مقدار بود که با حجم منی رابطه معکوس داشت. درصد اسپرمهای زنده و نرمال در طی پاییز بیشترین و در تیر ماه کمترین مقدار بود. قطر بیضه تحت تاثیر طول دوره نوری قرار گرفت ($p < 0.01$) و در پاییز که اوج فعالیتهای تولید مثلی قوچ بود بیشترین قطر و در بهار کمترین مقدار بود.

در آزمایشی روی ۲۰ قوچ مانچگا، غلظت فروکتوز در پاییز بیشترین مقدار بود (۱۰). در مقایسه ی بین قوچ های نژادهای کوریدال، پول وارث، مریلیس و مریلیس استرالیایی، غلظت اسپرم و نابهنجاری های آن تحت تاثیر فصل قرار گرفتند و

میزان نابهنجاری در آذر و دی بیشترین بود (۶). در نژاد مایسیس، حجم منی، غلظت اسپرم و تحرک کل آن تحت تاثیر قرار گرفت (۱۲). در آزمایشی بر روی قوچهای نژاد قزل و مهربان، در هر دو نژاد همبستگی منفی و بالایی میان سطح LDH موجود در مایع منی با درصد اسپرم زنده، درصد اسپرم نرمال و تعداد کل اسپرم وجود داشت (۱۷). در آزمایش ضمیری و حیدری (۲۰۰۶) نیز که روی خصوصیات تولید مثلی بزهای نر رائینی انجام شد، همبستگی بین تعداد کل اسپرمهای زنده و LDH متوسط، معکوس و معنی دار بود (۱۶).

جدول ۲- مقایسه میانگینها به روش دانکن برای اثر ماه بر صفات اندازه گیری شده

Sfa.	Bah.	Dey.	Aza.	Aba.	Meh.	Sha.	Mor.	Tir.	Kho.	Ord.	Far.	
cd	ef	ef	ef	f	de	ab	a	a	ab	bc	c	Mo.
۶۲,۰۹	۶۵,۵۳	۶۶,۴	۶۶,۰۳	۶۷,۱۴	۶۴,۳۷	58.21	57.0	56.0	57.7	60.0	60.97	
							3	0	5	2		
gh	gh	gh	gh	g	gh	j	j	k	j	i	hi	LD
3.24	3.12	3.14	3.09	2.99	3.07	3.60	3.90	4.29	3.77	3.52	3.32	H
lmn	lm	mn	no	o	o	mno	lm	lm	lmn	l	lmn	Vol
.91	.80	.92	.98	1.08	1.09	.93	.80	.81	.84	.74	.84	
r	r	p	p	p	p	p	q	qr	qr	r	r	S.D
380	397	296	285	285	275	285	338	344	363	371	368	.
ABC	C	ABC	C	C	C	BC	BC	AB	A	AB	AB	L.S.
79.7	83.9	82.0	83.2	82.9	84.0	82.6	82.3	78.9	77.9	78.3	78.4	
DEF	FGH	H	FG	GH	EFG	DEF	DE	DEF	D	D	DEF	
G			H		H	G					G	N.S
80.2	83.3	84.9	83.3	83.6	82.3	80.8	78.2	79.3	76.6	77.6	79.7	.
			7									
IJ	JK	L	M	N	N	MN	L	KL	IJ	I	IJ	R.S.
300.4	316.	342.1	360.	381.	383.5	۳۷۶,۱	337.	۳۲۹	302.	291.	300.6	
	3		9	9			6		3	2		
PQR	QR	PQR	OP	OP	OP	OP	PQR	PQR	QR	QR	QR	T.D
			Q									
35۱۲,	4۱۲,	۱۲,۴	۱۲,۵۵	۱۲,۶۳	۱7۱۲,	۱۲,۶	12.5	12.4	۱۲,	0۱۲,۳	30۱۲,	.
								5	30			

Mo. % تحرک اسپرم، LDH: غلظت لاکتات دهیدروژناز (U/ml)، Vol: حجم انزال (ml)، S.D. غلظت اسپرمها (۱۰^۶/ml)، L.S. % اسپرمهای زنده، N.S. درصد اسپرمهای نرمال، R.S. غلظت قندهای احیا کننده، T.D. قطر بیضه (cm). Far. : فروردین، Ord. اردیبهشت، Kho. خرداد، Tir. تیر، Mor. مرداد، Sha. شهریور، Meh. مهر، Aba. آبان، Aza. آذر، Dey. دی، Bah. بهمن، Sfa. اسفند. حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه اختلاف معنی دار میانگینهاست. داده های برجسته خمیده، بیشترین مقادیر و داده های برجسته دارای زیر خط، کمترین مقادیر را نشان می دهند.

در آزمایش ضمیری و همکاران (۲۰۱۰) بین LDH با درصد اسپرمهای زنده و طبیعی و تحرک اسپرم همبستگی متوسط، معکوس و معنی دار وجود داشت و حجم منی، غلظت اسپرم، تحرک و درصد اسپرمهای طبیعی و زنده و عرض و محیط بیضه تحت تاثیر فصل قرار گرفتند (۱۸). در آزمایشی بر روی قوچهای نژاد قزل و مهربان غلظت اسپرم، درصد اسپرمهای زنده و طبیعی و محیط و عرض بیضه تحت تاثیر فصل قرار گرفتند (۳). در بزهای سانن آلپاین و داماسکوس تغییرات معنی دار فصلی در

حجم، غلظت و تعداد کل اسپرمها در هر انزال دیده شد، بهترین کیفیت اسپرم در اواخر تابستان و پاییز دیده شد (۱۱). در آزمایشی روی بز های بومی انگلستان، حجم در ماه سپتامبر (شهریور) بیشترین و در آوریل (فروردین) کمترین مقدار بود (۲). در قوچهای لیسس، فصل تاثیر معنی داری بر قابلیت انجماد منی داشت و در فصل پاییز این قابلیت بیشتر بود (۴). در آزمایشی بر روی قوچهای عربی تفاوت بین فصل جفتگیری و سایر مواقع سال در حجم منی، تحرک اسپرم، درصد اسپرمهای زنده و طبیعی، و غلظت اسپرم معنی دار بود (۹). قوچهای چهار نژاد مورد آزمایش، شدیداً تحت تاثیر تغییرات طول دوره نوری قرار گرفتند و در طول دوره کاهش طول روز به شدت فعالیتهای تولید مثلی آنها افزوده شد.

منابع:

- Absatnatov, S.T.; Sadykov R.E. & Urmambetov K.U.. 1986. Chemical composition of Kirgiz of semen of Kirgiz Finewool rams in relation to season of the year. *Selektsiya I Razvedenic Zhiyotnykh*, 6: 41-45(Abst).
20. Ahmad, N. & Noakes D.E., 1996, Seasonal variations in the Semen quality of young British goats. *The British veterinary journal* Volume: 152, Issue: 2, Pages: 225-236
21. Asghari, SR, 1999. Testicular and seminal characteristics of Ghezel and Mehraban rams as affected by season and vitamin C supplementation. MSc Thesis, Shiraz University, Iran. P: 92 (In Persian with English abst.).
22. D'Alessandro, A.G. & Martemucci G., 2003, Evaluation of seasonal variations of semen freezability in Lecce ram, *Animal Reproduction Science* Volume 79, Issues 1-2, 20, Pages 93-102.
23. Dogan, I.; Polat, U. and Nur, Z., 2009, Correlations between seminal plasma enzyme activities and semen parameters in seminal fluid of Arabian horses, *Iranian Journal of Veterinary Research* Vol. 10, No. 2, Ser. No. 27:119-124.
24. Fernandez, A. D.; Villegas N.; Echeverria D. & Robaina J., 1993. Evaluation of the effects of seasonal variations on semen production in rams of four breeds. *Boletin Tecnico Decencias Biologicas Universidad de la Republica Salto*. 3:23-34(Abst).
25. Folch, J. & Roca R., 1981. Importance de l activite sexuelle du male dans le developpement du croisement industriel en Espagne. *Options Mediterraneennes*. Vol III:135-141(abst)
26. Hafez, E. S. E., 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th Edition, Lea & Febigher Publishers.
27. Hamidi A, Mamoei M, Mirzadeh K, Tabatabaei S and Roshanfekar H, 2012. Seasonal variations in semen characteristics in Arabic rams. *Pakistan Veterinary Journal*, 32(1): 41-44.
28. Ibarra, B. M. & Navaridas S. A., 1992. Seasonal variation in the concentrations of fructose, citric acid and total protein in ejaculates from Manchega rams. *Investgation Agraria Production-Yb Sanidad Animals*, 7: 235-240(Abst).
29. Karagiannidis, A. , Varsakeli S., Karatzas G., 2000. Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. *Theriogenology*, Volume 53, Issue 6 , Pages 1285-1293.
30. Leotta, R.; Benvenuti N. & Giuliotti L ., 1994. Influenza dell individuo e della stagione caratteristiche del seme di drette razza Massese. *Annali Della Facolta di Medicina Veterinaria di Pisa*, 47: 289-297(Abst).

31. Somogyi, M., 1952. Estimation of sugars by colorimetric method, *Journal of Biological Chemistry*.
32. Stamatiadis, K.; Karayanidis A. & Tsakalof P., 1984. Relationship between LDH activity in seminal plasma and viability of ram spermatozoa. In: M. Courot (Ed.). *The Male in Farm Animal Reproduction*. Martinus-Nijhoff Publishers, Boston, pp. 237-256.
33. Zamiri, M. J. & Izadifard J., 1997. Scrotal and testicular measurements in Mehraban and Ghezel rams. *Iran Agricultural Research*, 16: 51-58.
34. Zamiri, M.J. & Heidari A., 2006. Reproductive characteristics of Rayini male goats of Kerman province in Iran. *Animal Reproduction Science* 96, 176-185
35. Zamiri, M.J. & Khodaei H.R., 2005, Seasonal thyroidal activity and reproductive characteristics of Iranian fat-tailed rams, *Animal Reproduction Science*, Vol: 88, Issue 3: 245-255.
36. Zamiri, M.J., Khalili B., Jafaroghli M., Farshad A., 2010, Seasonal variation in seminal parameters, testicular size, and plasma testosterone concentration in Iranian Moghani rams, *Small Ruminant Research*, Volume: 94, Issue: 1-3, Publisher: Elsevier B.V., Pages: 132-136.

Effect of Photoperiod on Semen Characteristics of Four Iranian Fat-Tailed Breeds.
Saeed Reza Asghari^{*1}, Seyedeh fatemeh Kazemi², Mohamad Mehdi Kasirian¹, Gholam Hosein Irajian¹ & Majid Hejazifar¹

1. Institute of applied scientific education of jahad e agricultural , Educational Complex of Agricultural Jihad of Semnan Province, Semnan-Iran, 2. Fekr & Andisheh Organization of Damghan(NGO)

Corresponding E-mail address: s.asghari@itvhe.ac.ir , saeedreza.asghari@gmail.com , saeedreza.asghari@iran.ir

Abstract:

This study was performed at Damghan Educational Center of Agricultural Jihad, to determine of photoperiod effects on reproductive parameters of 16 rams of 4 Iranian breeds (Sangsari, Moghani, Afshari and Shal, 4 rams in each breed). Measured traits were: diameter of two testes within the scrotum (T.D.), semen volume (S.V.), sperm concentration (S.C.), sperm motility (Mo.), % of live sperm (L.S.), % of normal sperm (N.S.), the concentration of reductive sugars (R.S.) and Lactate Dehydrogenase (LDH) in seminal plasma. Results showed a significant effect of breed on Mo., LDH and T.D.. In Afshari & Shal rams, Mo. & LDH are lower and higher than Sangsari & Moghani rams, respectively. T.D. in Shal & Afshari rams is higher than two other breeds, probably due to larger body size of these two breeds. The effect of season on all traits was significant. The highest and lowest Mo. are in November (67.14%) and July (56.00%), respectively. During September to October, S.V. and R.S. was significantly increased (respectively 1.09 cc and 1.08 cc for S.V. and 383.5 mg / dl and 381.9 mg / dl for the R.S.). LDH was lowest in November (2.99 U/ml) and highest in July (4.29 U/ml), respectively. S.C. in during September to December was lowest & during March and May was the highest. L.S. and N.S. were highest during the autumn months & lowest in July. T.D. in the fall was the highest and the lowest in the spring, respectively. Eventually, in all four breeds, semen characteristics was improved with decreasing day light.



Keywords: Photoperiod, Ram, Semen Characteristics, Iranian Fat-Tailed.

تاثیر استفاده خوراکی ویتامین ث بر برخی صفات منی قوچ

سعید رضا اصغری، سیده فاطمه کاظمی، محمد مهدی کنیریان، محمد سالار، علی رشیدی

موسسه آموزش عالی علمی-کاربردی جهاد کشاورزی، مجتمع آموزش جهاد کشاورزی استان سمنان، عضو هیئت مدیره سازمان مردم نهاد فکر و اندیشه قومس

* نویسنده مسئول: سعید رضا اصغری، دامغان-کیلومتر ۱۰ جاده چشمه علی- مرکز آموزش جهاد کشاورزی رسول اکرم (ص)

saeedreza.asghari@iran.ir و saeedreza.asghari@gmail.com و s.asghari@itvhe.ac.ir

چکیده

این آزمایش با هدف تبیین تاثیر دوزهای خوراکی ویتامین ث بر خصوصیات منی قوچ در گوسفندداری مرکز آموزش رسول اکرم (ص) دامغان انجام شد. تیمار ویتامین ث از اول تیر ماه بر روی ۹ قوچ ۳ تا ۴ ساله نژاد سنگسری با میانگین وزن برابر در سه تیمار VITC0 (بدون مصرف ویتامین ث)، VITC1000 (روزانه یک گرم ویتامین ث) و VITC2000 (روزانه دو گرم ویتامین ث) آغاز و به مدت ۳۵ روز ادامه یافت. ویتامین ث به طور روزانه و به صورت کپسول، با استفاده از قرص انداز، به گروه های تیمار داده شد. اسپرمگیری در پایان دوره تیمار انجام شد و درصد اسپرم های زنده (L.S.) و طبیعی (N.S.)، تحرک اسپرمها (Mo.) و لاکتات دهیدروژناز مایع منی (LDH) اندازه گیری شد. تیمار VITC2000 بر تمامی صفات تاثیر معنی داری داشت اما تیمار VITC1000 تنها بر سطح LDH تاثیر معنی داری داشت. ویتامین ث باعث افزایش معنی دار تحرک و درصد اسپرمهای زنده و نرمال و کاهش معنی دار LDH مایع منی شد. نتایج این تحقیق بیان گر این بود که ویتامین ث می تواند به صورت مکملی بر صفات تولید مثلی قوچها تاثیر مثبتی داشته باشد، این تاثیر در سیستم سه بار زایش در دو سال که توان تولید مثلی قوچها باید بالا نگه داشته شود، مفید خواهد بود.

کلید واژه ها: ویتامین ث، قوچ، اسپرم های زنده و طبیعی، تحرک، لاکتات دهیدروژناز.

مقدمه

در جهان امروز کاهش هزینه های تولید یکی از اهداف اساسی دامپروران است. بهبود بازده تولید مثلی یکی از راه های رایج کاهش هزینه ها در سیستم های پرورش دام است. استفاده از روش های مدیریت باعث می شود که با کاهش هزینه های پرورش دام بتوان سطح تولید را حفظ نمود. در صنعت گوسفندداری شناخته شده ترین روش فلاشینگ است. مشخص کردن اثر هر کدام از مواد غذایی بر تولید مثل، به کاهش هزینه های فلاشینگ کمک می کند (۱۲). ویتامین ث یکی از ترکیباتی است که آزمایش های انجام شده، اثر آن را بر تولید مثل حیوانات آزمایشگاهی و اهلی تأیید می کنند (۱۰). این ویتامین، یک کتولاکتون، با فرمول بسته ی C6O8H6 و وزن مولکولی ۱۷۶/۱۳ است. ویتامین ث در بدن ۳ کنش اصلی دارد: سنتز کلاژن، سنتز هورمون های استروئیدی و فعالیت آنتی اکسیدانی (۱۱، ۱۰). بررسی های اخیر تایید میکنند که ویتامین ث، در ترشح هورمون های جنسی و حفاظت و دوباره سازی بافت های گنادی موثر است. آثار ویتامین ث در تولید مثل را می توان مربوط به ۳ کنش اصلی آن دانست (۱۰). هدف این آزمایش تبیین تاثیر دوزهای بالای خوراکی ویتامین ث بر خصوصیات منی قوچ بود.

مواد و روش ها

این پژوهش در گوسفندداری مرکز آموزش رسول اکرم (ص) دامغان انجام شد. ۹ قوچ ۳ تا ۴ ساله نژاد سنگسری با میانگین وزن ۴۰ تا ۵۰ کیلوگرم به اسپرم گیری با استفاده از مهبل مصنوعی عادت داده شدند و تیمار ویتامین ث از اول تیر ماه،

آغاز و به مدت ۳۵ روز داده شد. در دوره ی آزمایش، روزانه ۲/۷ کیلوگرم یونجه و ۰/۳ کیلو گرم جو، به هر قوچ تغذیه می شد. قوچها در سه گروه سه راسی شاهد(بدون مصرف ویتامین ث)، تیمار ۱ (روزانه یک گرم ویتامین ث) و تیمار ۲(روزانه دو گرم ویتامین ث) قرار گرفتند، ویتامین ث پوشش دار شرکت مرک به طور روزانه و به صورت کپسول ، با استفاده از قرص انداز، به گروه های تیمار داده شد. اسپرمگیری در پایان دوره تیمار انجام شد و پارامترهای مورد اندازه گیری عبارت بودند از: درصد اسپرم های زنده با روش رنگ آمیزی با اتوزین- نیگروزین، درصد اسپرمهای طبیعی با روش رنگ آمیزی رز بنگال، تحرک اسپرمها با روش مشاهده روی صفحه گرم(۶) و لاکتات دهیدروژناز مایع منی (LDH) با روش اسپکتروفتومتری (۱۵). برای اندازه گیری LDH مایع منی ، نمونه ها به آزمایشگاه منتقل ، سانتریفیوژ (برای ۳۰ دقیقه و با ۶ هزار دور در دقیقه) شده و سپس مایع منی جدا شد. کلیه ی آزمایش ها با استفاده نمونه رقیق شده، یک به ده، انجام شد. آنالیز داده ها در قالب طرحهای کاملاً تصادفی برای بررسی اثر ویتامین ث با بسته آماری SPSS انجام شد.

نتایج و بحث

در جدول ۱، Fs برای اثر ویتامین ث روی چهار صفت و در جدول ۲ و ۳ نتایج مقایسه میانگینها به روش دانکن دیده می شود. تحرک اسپرمها، غلظت لاکتات دهیدروژناز، درصد اسپرمهای زنده ($P \leq 0.01$) و درصد اسپرمهای طبیعی ($P \leq 0.05$) به طور معنی داری تحت تاثیر تیمار قرار گرفتند. در آزمایش های پیشین، کاهش ویتامین ث، باعث افزایش اسپرم نابهنجار (۸) در موشهای صحرایی شد. در آزمایش فضایی و همکاران(۴) تعداد اسپرمهای زنده و نرمال، توان زنده مانی و تحرک اسپرمها تحت تاثیر استفاده تزریقی ویتامین ث قرار گرفت. میزان مصرف این ویتامین در آزمایش فوق ۲۰ و ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود.

جدول ۱- Fs برای اثر ویتامین ث روی چهار صفت و معنی داری آن

منبع	df	Mo.	LDH	L.S.	N.S.
تیمار	۲	8.85**	15.67**	9.84**	5.72*

Mo. : % تحرک اسپرم، LDH: غلظت لاکتات دهیدروژناز (U/ml) ، L.S. : % اسپرمهای زنده، N.S.: درصد اسپرمهای نرمال.

ns, **, *، به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطوح ۰,۰۵ و ۰,۰۱.

در آزمایش های پیشین، کاهش ویتامین ث، باعث افزایش اسپرم نابهنجار (۸) در موشهای صحرایی شد. در آزمایش فضایی و همکاران(۴) تعداد اسپرمهای زنده و نرمال، توان زنده مانی و تحرک اسپرمها تحت تاثیر استفاده تزریقی ویتامین ث قرار گرفت. میزان مصرف این ویتامین در آزمایش فوق ۲۰ و ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود. ویتامین ث احتمالاً از طریق افزایش فعالیت غدد تناسلی پیوست، بر غلظت قندهای احیاکننده موثر بود. قندهای احیاکننده به خصوص فروکتوز مهم ترین منبع انرژی اسپرم از لحاظ کیفی و کمی است که با افزایش آن توان زنده ماندن اسپرم در دستگاه تناسلی ماده افزایش می یابد(۵).

جدول ۲- مقایسه میانگینها به روش دانکن برای اثر تیمار بر صفات اندازه گیری شده

صفت / تیمار	VITC0	VITC1000	VITC2000
Mo.	64.24 ^a	65.55 ^a	66.20 ^b
LDH	3.2216 ^e	3.1181 ^f	3.0378 ^g
L.S.	82.64 ^h	83.65 ^h	85.04 ⁱ



Mo: % تحرک اسپرم، LDH: غلظت لاکتات دهیدروژناز (U/ml)، L.S.، % اسپرمهای زنده، N.S.: درصد اسپرمهای نرمال، VITC0: صفر mg/day، VITC1000: 1000mg/day، VITC2000: 2000mg/day، حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه اختلاف معنی دار میانگینهاست.

دیند (1952) و بیسکیند و گلیک (1936)، عنوان کردند که تخمدان، یک منبع مهم ویتامین ث است (۲،۳). لاک و جانگلاس (1988)، نشان دادند که ویتامین ث بر ترشح اکسی توسین اثر تحریک کنندگی داشت (۹). فیلیپس و همکاران (1941)، نشان دادند که ویتامین ث موجب بهبود باروری ماده گاوهای کم بارور شد (۱۳). در آزمایشی استفاده خوراکی از یک گرم ویتامین ث تأثیری بر اندازه های بیضه، حجم منی، PH منی، درصد اسپرمهای زنده و طبیعی، غلظت فسفر، کلسیم، پتاسیم، سدیم و پروتئین مایع منی قوچهای قزل و مهربان نداشت، ولی به طور معنی داری باعث افزایش قندهای احیا کننده و کاهش LDH مایع منی شد (۱). کوکوکا و میسرا (1992) نشان دادند که تیمار ویتامین ث، موجب افزایش ساخت پپتید شبه اکسی توسین در سلولهای لایدیگ خوکچه ی هندی شد ویتامین ث از طریق فعال کردن آنزیم های مربوطه این اثر خود را ایجاد می کند (۷). تجویز روزانه ۱۰ گرم ویتامین ث، به نریان هایی که کارایی تولید مثلی پایینی داشتند پس از ۷۰ روز، باعث افزایش ویتامین ث پلاسما و نابهنجاری دم اسپرم ها کاهش یافت. این اثر می تواند به علت تأثیر ویتامین ث، بر اپیدیدیمیس باشد (۱۴). نتایج این تحقیق بیان گر این بود که ویتامین ث می تواند به صورت مکملی بر صفات تولید مثلی قوچها تأثیر مثبتی داشته باشد، این تأثیر در طی فصل زمستان که در سیستم سه بار زایش در دو سال، باید توان تولید مثلی قوچها بالا نگه داشته شود.

References

1. Asghari, SR (1999). Testicular and seminal characteristics of Ghezel and Mehraban rams as affected by season and vitamin C supplementation. MSc Thesis, Shiraz University, Iran. P: 92 (In Persian with English abst.).
2. Biskind, G. R. & D. Glick (1936). Studies in histochemistry . V. The vitamin C concentration of corpus luteum with reterence to the stage of the oestrous cycle and pregnancy. Journal of Biological Chemistry , 113: 27-34
3. Deand , H. W. (1952). Histochemical observation on the ovary and oviduct of albino rats during the estrous cycle . American Journal of Anatomy, 91: 363-413.
4. Fazeli, P.; Zamiri, M. J.; Farshad, A. and Khalili, B., (2010) Effects of vitamin C on testicular and seminal characteristics of Markhoz goats, Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, Vol. 11, No. 3, Ser. No. 32: 267-272.
5. Folch, J. (1984). The influence of age, photoperodism and temperature on semen production rams . In: M. Courot(ed.). Publishers, Boston, pp. 141-160
6. Hafez, E. S. E. (2000). Reproduction in Farm Animals. 7th Edition, Lea & Febigher Publishers.
7. Kukucka, M. A. & H. P. Misra (1992). HPLC determination of an oxytocin-like peptide produced by isolated guinea pig Leydig cells: stimulation by ascorbic acid. Archives of Andrology , 29: 185-190.
8. Kupperman , H. S. & J. A. Epstein (1958). Endocrine therapy of sterility. American Practice of Digestive Treatments , 9: 547-552

9. Luck, M. R. & B. Jungclas(1988). The time course of oxytocin secretion from cultured granulose cells, stimulated by ascorbic acid and catecholamines. *Journal of Endocrinology*, 116: 247-258.
10. Luck, M. R.; I. Jeyaseelan & R. A. Scholes (1995). Ascorbic acid and fertility. *Biology of Reproduction*, 52: 262-266.
11. Meikle-John, A.P.(1956). The physiology and biochemistry of ascorbic acid. *Vitamins and Hormones*, 11 : 61-96.
12. Petroff, B. K.; L. Dabrowski, R. E. Ciereszko & J. S. Ottobre (1997). Total ascorbate and dehydroascorbate concentrations in porcine ovarian stroma , follicles and corpora lutea throughout the estrous cycle and pregnancy . *Theriogenology* , 47 : 1265-1273.
13. Phillips, P. H.; H. A. Lardy; P. D. Boyer & G. M. Werner (1941). The relationship of ascorbic acid to reproduction in the cow. *Journal of Dairy Science* , 24: 153-158.
14. Ralston, S. L.; W. L. Squires & C. F. Nockels (1988). Ascorbic acid supplementation in stallions. *Journal of Equine Veterinary Science*, 8: 290-293.
15. Stamatiadis, K.; A. Karayanidis & P. Tsakalof (1984). Relationship between LDH activity in seminal plasma and viability of ram spermatozoa. In: M. Courot (ed.). *The Male in Farm Animal Reproduction*. Martinus-Nijhoff Publishers, Boston, pp. 237-256.

Oral Administration Effect of Vitamin C on Semen Characteristics of Ram

Saeed Reza Asghari^{*1}, Seyede fatemeh Kazemi², Mohamad Mehdi Kasirian¹, Mohamad Salar¹ & Ali Rashidi¹

2. Institute of applied scientific education of jahad e agricultural , Educational Complex of Agricultural Jihad of Semnan Province, Semnan-Iran,2. Fekr & Andisheh Organization of Damghan(NGO)

3.

Corresponding E-mail address: s.asghari@itvhe.ac.ir , saeedreza.asghari@gmail.com ,
saeedreza.asghari@iran.ir

Abstract:

This study was performed at Damghan Educational Center of Agricultural Jihad, to determine of vitamin C effects on reproductive parameters of 9 Sangsari rams. Vitamin C was administered in 3 levels: 0, 1000 & 2000mg/day in Capsules for 35 days. Semen collection was done by artificial vagina at the end of treatment. Measured traits were: sperm motility(Mo.), % of live sperm(L.S.), % of normal sperm(N.S.) and Lactate Dehydrogenase(LDH) in seminal plasma. VITC2000 had significant effect on all parameters and VITC1000 had significant effect on LDH. Vitamin C significantly increased motility and percent of live and normal sperm and LDH was significantly decreased. The results of this study showed that vitamin C can be a effective on reproductive traits of rams.

Keywords: Vitamin C, Sperm motility, Live & normal sperm, LDH, Ram.

آنتی اکسیدان های سنتتیک در رقیق کننده های عاری از پروتئین حیوانی در انجماد اسپرم قوچ

محسن شرفی^{۱*}، مهدی ژندی^۱، عباس اکبری شریف^۲، ابوذر نجفی^۱، مجتبی امام وردی^۱

۱-گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، ۲-گروه جنین شناسی، پژوهشکده علوم تولید

مثل، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران ۳-کارشناس سازمان جهاد کشاورزی استان تهران

* مسئول مکاتبات: sharafi2000@gmail.com

چکیده

آسیب های اکسیداتیو به دلیل تولید رادیکالهای آزاد در طی فرآیند انجماد-ذوب اسپرم یکی از مهمترین دلایل کاهش باروری اسپرم می باشد. رادیکال های آزاد با تخریب و عبور از غشای اسپرم می توانند به اندامک های درونی اسپرم دسترسی پیدا کرده و باعث مرگ اسپرم شوند. بنابراین استفاده از آنتی اکسیدان ها در جهت حذف و پاکسازی رادیکال های آزاد از محیط اطراف اسپرم ضروری به نظر می رسد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات آنتی اکسیدانی دو سطح سیستئین (۵ و ۱۰ میلی مولار) و دو سطح گلوتاتیون (۵ و ۱۰ میلی مولار) بر روی کیفیت اسپرم قوچ شامل تحرک، زنده مانی و سلامت غشای اسپرم بعد از فرآیند انجماد ذوب بود. نمونه اسپرم از چهار قوچ بالغ نژاد زندی جمع آوری و پس از رقیق سازی با رقیق کننده بر پایه بافر تریس و حاوی لسیتین سویا مطابق با شرایط استاندارد منجمد شدند. نتایج این آزمایش نشان داد که غلظت ۱۰ میلی مولار سیستئین می تواند باعث بهبود معنی دار تحرک، زنده مانی و سلامت غشای اسپرم در مقایسه با رقیق کننده های فاقد آن شود ($p < 0.05$). همچنین حضور گلوتاتیون در سطح ۱۰ میلی مولار باعث کاهش معنی دار کیفیت اسپرم در مقایسه گروه کنترل شد ($p < 0.05$). با توجه به نتایج این پژوهش می توان نتیجه گرفت که افزودن سیستئین به رقیق کننده حاوی نگهدارنده های گیاهی می تواند در حفظ کیفیت اسپرم قوچ نژاد زندی مفید باشد.

واژگان کلیدی: آسیب اکسیداتیو - سیستئین - قوچ - آنتی اکسیدان - انجماد

مقدمه

غشای اسپرم قوچ نسبت به دیگر گونه های پستانداران دارای نسبت بالاتری از اسیدهای چرب غیر اشباع می باشد. این امر باعث شده است که اسپرم قوچ در مقایسه با سایر گونه ها نسبت به تنش های حرارتی ناشی از فرآیند انجماد-ذوب حساسیت بالاتری از خود نشان دهد (۲). یکی از عمده ترین مشکلات ناشی از تنش حرارتی فرآیند انجماد-ذوب تولید رادیکال های آزاد می باشد که می تواند پس از عبور از غشای اسپرم به اندامک های درونی اسپرم نظیر میتوکندری و هسته دسترسی پیدا کند و با آسیب به این بخش ها باعث مرگ اسپرم گردد. اگرچه اسپرم و پلاسمای منی دارای سیستم آنتی اکسیدانی شامل تائوزین، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز می باشند اما به دلیل سیتوپلاسم کوچک اسپرم به طور محدود عمل می کنند (۵). بنابراین سیستم طبیعی آنتی اکسیدان به منظور پاکسازی رادیکال های آزاد از اسپرم قوچ کافی به نظر نمی رسد. مطالعات نشان داده است که سیستئین و گلوتاتیون باعث بهبود معنی دار تحرک، زنده مانی، سلامت غشای اسپرم بعد از فرآیند انجماد-ذوب در گونه های مختلف پستانداران می شود (۳،۷). از طرف دیگر با توجه به ابداع محیط های انجماد حاوی نگهدارنده های گیاهی مانند لسیتین سویا و مزایای محیط های عاری از نگهدارنده های حیوانی (۶)، تاکنون تحقیقی بر روی بررسی اثر آنتی اکسیدانی سیستئین و

گلوکاتایون بر روی اسپرم قوچ صورت نگرفته است؛ لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر افزودن غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی مولار سیستئین و ۵ و ۱۰ میلی مولار گلوکاتایون به محیط انجماد حاوی لسیترین سویا به همراه گروه کنترل (رقیق کننده فاقد آنتی اکسیدان) بر روی کیفیت اسپرم قوچ بعد از فرآیند انجماد-ذوب بود.

مواد و روش‌ها:

در این تحقیق از نمونه‌های چهار قوچ بالغ نژاد زندی که در ایستگاه پرورش اصلاح نژاد گوسفند واقع در ورامین تحت شرایط تغذیه ای یکسانی نگهداری می‌شدند استفاده شد. جمع آوری منی به صورت هفته ای دو بار با استفاده از واژن مصنوعی و در فصل تولید مثلی انجام پذیرفت. پس از جمع آوری منی، نمونه‌های منی مخلوط و سپس به ۵ بخش مساوی تقسیم شد. محیط انجماد مورد استفاده در این تحقیق بر پایه بافر تریس (۲۷/۱ گرم تریس، ۱۴ گرم اسید سیتریک و ۱۰ گرم فروکتوز در یک لیتر) و حاوی ۷ درصد گلیسرول و یک درصد لسیترین سویا بود. محیط انجماد پس از آماده سازی به پنج بخش مساوی تقسیم شد و سپس غلظت‌های مورد نظر سیستئین (۵ و ۱۰ میلی مولار) و گلوکاتایون (۵ و ۱۰ میلی مولار) به چهار بخش محیط انجماد اضافه گردید. بخش پنجم به عنوان گروه کنترل فاقد آنتی اکسیدان در نظر گرفته شد. حجم منی بین ۲-۰/۷۵ میلی لیتر، غلظت بیشتر از $10^9 \times 3/5$ اسپرم در میلی لیتر، تحرک بیشتر از ۷۰ درصد و مورفولوژی کمتر از ۱۰ درصد اسپرم غیر طبیعی، در هر انزال به عنوان منی نرمال در نظر گرفته شد، در غیر اینصورت منی‌های جمع آوری شده حذف شدند. رقیق سازی به نسبت ۱ حجم منی و ۲۰ حجم محیط‌های انجماد فوق در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انجام شد. سپس لوله منی در ظرف محتوی ۱۰۰ سی سی آب ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. جهت سرد شدن تدریجی و انکوباسیون با محیط انجماد ظرف آب محتوی لوله اسپرم به مدت ۲ ساعت در یخچال ۵ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. پس از گذشت ۲ ساعت جهت حفظ دمای منی، ظرف آب محتوی منی بر روی کریستالهای یخ قرار داده شد و بلافاصله در داخل پایوت‌های انجماد ۰/۲۵ میلی لیتر کشیده شد. به منظور ارزیابی اسپرم بعد از فرآیند انجماد استروها از ازت مایع خارج و به مدت ۳۰ ثانیه در حمام آب ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند و سپس پارامترهای اسپرم ارزیابی گردید. ویژگی‌های حرکتی اسپرم با استفاده از کامپیوتر (CASA, Version 12 IVOS, USA)، زنده مانی با استفاده از آزمایش ائوزین-نگروزین و یکپارچگی غشا با استفاده از آزمایش‌هاست (HOST) انجام شد. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار SAS با رویه GLM آنالیز و میانگین‌ها با آزمون توکی مقایسه شد.

نتایج و بحث:

جدول یک اثر افزودن غلظت‌های مختلف سیستئین و گلوکاتایون بر تحرک، زنده مانی و سلامت غشای اسپرم قوچ زندی بعد از فرآیند انجماد ذوب را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که افزودن ۱۰ میلی مولار سیستئین به رقیق کننده باعث بهبود معنی دار تحرک، زنده مانی اسپرم و سلامت غشای اسپرم به ترتیب با مقادیر $55/8 \pm 1/56$ ، $60/5 \pm 1/34$ و $45/2 \pm 1/57$ در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب با مقادیر $47/1 \pm 1/56$ ، $50/2 \pm 1/34$ و $41/1 \pm 1/57$ شده است ($p < 0/05$). نتایج این تحقیق مطابق نتایج بسیاری از محققین می‌باشد که نشان داده‌اند سیستئین می‌تواند باعث بهبود معنی دار کیفیت اسپرم در گاو، گاو میش و بز شوند (۱،۳،۷). اگر چه رقیق کننده مورد استفاده در سایر آزمایش‌ها حاوی پروتئین‌های حیوانی بوده است اما در این مطالعه نیز غلظت ۱۰ میلی مولار سیستئین کیفیت اسپرم را در محیط‌های حاوی نگهدارنده های گیاهی در حد قابل قبولی حفظ کرده است. سیستئین حاوی گروه تیول می‌باشد که می‌تواند تا حد زیادی رادیکال‌های آزاد سرگردان در محیط را پاک‌سازی کند و در نتیجه اسپرم را در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت کند. در مقایسات بین فراسنجه CASA هیچ گونه تفاوت‌های معنی



داری در فراسنجه‌های CASA شامل VAP، VSL، VCL در بین تیمارهای کنترل، ۵ و ۱۰ میلی مولار سیستین مشاهده نشد ($p>0/05$). نتایج آزمایش مربوط به مقایسات سطوح گلو تاتیون در رقیق کننده های حاوی لسیتین سویا نشان داد که گلو تاتیون در این نوع محیط باعث کاهش کیفیت اسپرم و در نتیجه کاهش توان باروری آن می‌شود به طوری که غلظت ۱۰ میلی مولار گلو تاتیون باعث کاهش معنی دار تحرک، زنده مانی و سلامت غشا به ترتیب با مقادیر $1/56 \pm 38/1$ ، $43/4 \pm 1/34$ و $31/8 \pm 1/57$ در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب با مقادیر $55/8 \pm 1/56$ ، $60/5 \pm 1/34$ و $45/2 \pm 1/57$ شد ($p<0/05$). نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از گلو تاتیون در رقیق کننده های حاوی نگهدارنده های گیاهی نمی‌تواند نتایج مطلوبی را در حفظ کیفیت اسپرم و کاهش استرس های اکسیداتیو در طی فرایند انجماد-ذوب اسپرم قوچ داشته باشد. همچنین زمانی که تیمار حاوی ۵ میلی مولار گلو تاتیون با ۵ میلی مولار سیستین مقایسه شدند هیچ گونه اختلاف معنی داری از نظر پارامترهای اسپرم مشاهده نشدند. اجزای نگهدارنده رقیق کننده ها یکی از مهم ترین عواملی است که می‌تواند بر میزان بهینه آنتی اکسیدان تاثیر داشته باشد و اثر منفی گلو تاتیون در رقیق کننده حاوی لسیتین سویا که نتایج آزمایش های قبلی را تایید نمی‌کند (۴،۷) نیز می‌تواند به دلیل تغییر در مهم ترین بخش رقیق کننده این آزمایش یعنی لسیتین سویا باشد.

جدول-۱ اثر کاربرد سیستین و گلو تاتیون بر فراسنجه های مختلف اسپرم بعد از فرایند انجماد-ذوب

صفات	کنترل	سیستین ۵	سیستین ۱۰	گلو تاتیون ۵	گلو تاتیون ۱۰	SE
جنبایی (درصد)	$47/14^b$	$49/14^{ab}$	$55/86^a$	$46/14^b$	$38/14^c$	$1/56$
جنبایی پیش رونده (درصد)	$20/00^{ab}$	$21/71^{ab}$	$24/71^a$	$20/71^{ab}$	$15/00^{ab}$	$1/12$
VAP $\mu\text{m/s}$	$97/54$	$96/23$	$98/89$	$96/43$	$98/7$	$1/39$
VSL $\mu\text{m/s}$	$71/64$	$69/54$	$71/11$	$69/84$	$68/61$	$1/24$
VCL $\mu\text{m/s}$	$170/74$	$168/77$	$169/06$	$167/07$	$169/2$	$2/09$
LIN %	$41/86$	$40/86$	$41/57$	$41/00$	$50/29$	$0/87$
زنده مانی	$50/29^b$	$54/14^b$	$60/57^a$	$49/71^b$	$43/43^c$	$1/75$
یکپارچگی غشای اسپرم	$41/14^a$	$43/01^a$	$45/29^a$	$40/79^a$	$31/86^b$	$1/34$
اسپرم با مورفولوژی غیرطبیعی	$22/43^a$	$20/30^{ab}$	$21/46^{ab}$	$19/75^{ab}$	$21/07^a$	$0/95$

حروف غیر مشابه تفاوت معنی دار در آزمون توکی ($p<0/05$)

منابع

- Atessahin A, Bucak MN, Tuncer PB, Kizil M. 2008. Effects of anti-oxidant additives on microscopic and oxidative parameters of Angora goat semen following the freeze-thawing process. Small Ruminant Research. 77: 38-44.

2. Baumber J, Ball BA, Gravance CG, Medina V, Davies-Morel M. 2000. The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential, and membrane lipid peroxidation. *Journal of Andrology*. 21: 895.
3. Beheshti R, Asadi A, Eshratkhah B, GhaleKandi JG, Ghorban A. 2011. The Effect of Cysteine on Post-thawed Buffalo Bull (*Bubalus Bubalis*) Sperm Parameters. *Advances in Environmental Biology*. 5: 1260-1263.
4. Bucak MN, Tuncer P, Ulutas PIAI, Bilgen A. 2009. The influence of cysteine and taurine on microscopic-oxidative stress parameters and fertilizing ability of bull semen following cryopreservation. *Cryobiology*. 58: 134-138.
5. Maia MS, Bicudo SD, Sicherle CC, Rodello L, Gallego ICS. 2010. Lipid peroxidation and generation of hydrogen peroxide in frozen-thawed ram semen cryopreserved in extenders with antioxidants. *Animal Reproduction Science*. 122: 118-123.
6. Sharafi M, Forouzanfar M, Hosseini SM, Hajian M, Ostadhosseini S, Hosseini L, Abedi P, Nili N, Rahmani HR, Reza Javaheri A. 2009. In vitro comparison of soybean lecithin based-extender with commercially available extender for Ram semen cryopreservation. *International Journal of Fertility and Sterility*. 3: 149-152.
7. Tuncer PB, Bucak MN, Büyükleblebici S, Sarıözkan S, Yeni D, Eken A, Akalın PP, Kinet H, Avdatek F, Fidan AF. 2010. The effect of cysteine and glutathione on sperm and oxidative stress parameters of post-thawed bull semen. *Cryobiology*. 61: 303-307.

Synthetic antioxidants in Animal-Free Extenders for cryopreservation of ram semen

M. Sharafi^{1, 2*}, M. Zhandi¹, A. Akbari Sharif³, A. Najafi, M¹. Emamverdi¹

1. Department of Animal Science, University of Tehran, Tehran, Iran

2. Department of Embryology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran 3. Experts agency Agriculture Provincial Tehran

* Corresponding E-mail address: sharafi2000@gmail.com

Abstract

Oxidative damage to sperm resulted in production of reactive oxygen species during the freezing-thawing process is one of the main causes for the decline in motility and fertility of sperm. Reactive oxygen species by penetration of sperm cytoplasm and intracellular organs cause to damage and then cellular apoptosis. Therefore, using antioxidant to decline free reactive oxygen species is crucial. The aim of this study was to evaluate the effect of cysteine (5 and 10 mM) and Glutathione (5 and 10 mM) on post thaw quality of sperm after freezing-thawing. Semen samples were collected from four mature rams and then extended with a Tris based buffer containing soybean lecithin. After semen extension, the sperm were frozen according to standard procedure. The results of this study show that 10 mM cysteine can improve the motility, viability and membrane integrity of sperm compare to extender without cysteine after freezing- thawing. However, glutathione in 10 mM significantly reduced the quality frozen-thawed sperm compared



the control group. We conclude that cysteine in 10 mM an optimum level for improving semen extender containing soybean lecithin in our study.

Keywords: Oxidative damage- cysteine- ram- antioxidant- freezing

بررسی تغییرات خونی و آنزیمی در جوجه های گوشتی درگیر با آسیت القایی به روش سرما

دکتر مختار فتحی^{*}، دکتر تیمور تنها.

دانشگاه آزاد شبستر، دانشگاه پیام نور.

*نویسنده مسئول: کرمانشاه-جوانرود-فرهنگیان فاز ۲-کدپستی ۶۷۹۸۱۷۸۱۸۴-fathi_mokhtar@yahoo.com

چکیده:

تعداد ۱۶۰ جوجه نر سویه راس به طور کاملاً تصادفی در دو تیمار با ۴ تکرار و ۲۰ جوجه برای هر تکرار تقسیم شدند. گروه اول از این جوجه ها در دمای پرورشی معمولی و استاندارد پرورش یافتند (تیمار^۱ NT) ولی جوجه های گروه دوم برای القای سندرم افزایش فشار خون ریوی (آسیت) و ایجاد نارسایی قلبی عروقی، در دمای سرد طبق برنامه دمایی ویژه ای قرار گرفتند (CT^۲). پرندگان تلف شده به روزانه ثبت شده و برای تشخیص دلیل مرگ کالبدگشایی شدند. آنزیم های لاکتات دهیدروژناز (LDH^۳)، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST^۴)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT^۵)، و پارامترهای شمارش گلبول های قرمز خون (RBC^۶)، درصد هماتوکریت (HCT^۷)، هموگلوبین (HGB^۸)، غلظت گلوکز و پروتئین خون در روزهای ۲۱ و ۴۲ انجام شد. در ۴۲ روزگی، ۲ جوجه از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب و بعد از توزین، کشتار شدند. قلب برداشته و بعد از بررسی ناحیه پری کاردیوم آن، وزن قسمتهای آن جدا و شاخص آسیتی وزن بطن راست به کل بطن (RV/TV^۹) محاسبه شد. نتایج پارامترهای خونی نشان داد که در ۴۲ روزگی، تیمار CT دارای HGB، RBC، HCT و گلوکز بیشتر اما پروتئین پلاسما کمتری نسبت به تیمار NT بود. غلظت پلاسمایی این ۳ آنزیم ها در ۴۲ روزگی، در تیمار CT بیشتر از تیمار NT بود نسبت RV/TV در ۴۲ روزگی و میزان تلفات ناشی از آسیت در کل دوره نیز در تیمار CT بیشتر از تیمار NT بود.

واژگان کلیدی: آسیت- فعالیت آنزیمی- تلفات- پارامترهای خونی- جوجه های گوشتی.

مقدمه:

سندرم افزایش فشار خون ریوی (آسیت)، یک عارضه متابولیکی است که تقریباً بیشتر در جوجه های گوشتی سریع رشد اتفاق می افتد. ارتفاع بالا از سطح دریا، تهویه کم، دمای پایین و سرعت رشد زیاد از فاکتورهای اصلی شناخته شده برای بروز و توسعه این عارضه می باشند (۱).

حدس زده اند که در شرایط کمبود اکسیژن، فشار نسبی کم اکسیژن می تواند منجر به افزایش تعداد گلبول های قرمز (۵ و ۱۲) و هماتوکریت و هموگلوبین (۴ و ۱۲) خون شود و لذا سبب افزایش مقاومت عروق خونی در برابر جریان خون می شود بنابراین پیشنهاد کرده اند که با کاهش مقاومت عروق ششی توسط متسع کننده های عروق می توان سبب کاهش فشار خون ریوی و در نهایت سبب کاهش خروجی قلب شده و از بروز ناهنجاری افزایش فشار خون ریوی جلوگیری می شود (۱۳). با توجه به اینکه

¹ Natural Temperature (NT)

² Cold Temperature (CT)

³ Lactate dehydrogenase (LDH)

⁴ Aspartate aminotransferase (AST)

⁵ Alanine aminotransferase (ALT)

⁶ Red blood cell (RBC)

⁷ Hematocrit (HCT)

⁸ Hemoglobin (HGB)

⁹ Right Ventricle / Total Ventricle (RV/TV)

افزایش فشار خون در بطن راست یکی از مشخصه های بروز آسیب است، لذا پیشنهاد کرده اند که شاخص نسبت وزن بطن راست به وزن کل بطن ها (RV/TV)، می تواند تعیین کننده بروز و شدت این سندرم باشد به طوریکه شاخصهای RV/TV که بالاتر از ۰/۲۷ باشند را به عنوان بروز آسیب در نظرمی گیرند (۷). اما لازم به ذکر است که تغییرات پارامترهای خونی و فاکتورهای آنزیمی پلاسما و بافتهای درگیر مثل کبد، می توانند بسیار زودتر و سریع تر از شاخص RV/TV بروز نمایند (۱۰). بنابراین هدف اصلی این تحقیق بررسی دقیق تر تغییرات پارامترهای خونی و آنزیمی در جوجه های درگیر با آسیب بود.

مواد و روش ها:

۱۶۰ جوجه نر گوشتی ۱۴ روزه از سویه راس ۳۰۸ در این آزمایش استفاده شدند. این جوجه ها به طور کاملاً تصادفی انتخاب و نصف آنها در ۴ قفس سیمی (۲×۱ متر مربع) که هر یک حاوی ۲۰ جوجه بودند قرار گرفتند و در برنامه دمایی استاندارد پرورشی مزرعه های صنعتی، به طوریکه تا هفته چهارم در شرایط منظم دمایی بودند و سپس تا هفته ششم در دمای ثابت $1 \pm 22^\circ\text{C}$ تا آخر آزمایش پرورش داده شدند (تیمار NT). اما گروه دوم برای القاء آسیب در سالتی دیگر و در دمای سرد پرورش داده شدند به طوریکه در هفته اول و دوم دما به ترتیب ۳۲ و ۳۰ درجه سانتیگراد بود اما روز ۱۵م، دما به ۲۵ درجه کاهش یافت روزانه ۱-۱/۵ درجه دما کاهش یافت به طوریکه در روز ۲۱ م دما به زیر ۱۵ درجه رسید و تا پایان آزمایش دما بین ۱۵-۱۰ درجه سانتیگراد باقی ماند (تیمار CT) (۸). پرندگان در طول آزمایش، دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. همه جوجه ها با یک جیره آردی بر پایه ذرت - سویا آغازین (حاوی ۳۲۰۰ کیلوکالری انرژی و ۲۲/۰۴ درصد پروتئین خام) تا سن ۲۱ روزگی و بعد از آن از یک جیره رشد (حاوی ۳۲۰۰ کیلوکالری انرژی و ۲۰/۲۶ درصد پروتئین خام) تغذیه شدند.

روز ۲۱ و ۴۲، پس از ۳ ساعت گرسنگی دو جوجه از هر قفس به طور تصادفی انتخاب و از هر کدام دو نمونه خونی از سیاهرگ زیر بال گرفته شد یکی از نمونه ها در سرنگ های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA پتاسیم دار، وارد شدند و برای پارامترهای خونی RBC, HGB و HCT استفاده شد نمونه دیگر بلافاصله سانتریفوژ شده و پلاسمای به دست آمده و در دمای ۸۰- تا زمان آزمایشات آنزیمی نگهداری شدند. سپس نمونه های پلاسما در دمای معمولی آزمایشگاه ذوب شده و برای اندازه گیری های گلوکز، پروتئین، آنزیم های ALT, AST و LDH استفاده شدند.

غلظت های پلاسمایی گلوکز و پروتئین پلاسما توسط دستگاه اتوآنالایزر ساخت آمریکا مدل RA 1000 انجام گرفت. فعالیت آنزیم های ALT, AST و LDH نیز توسط دستگاه اتوآنالایزر^۱ ساخت کشور آمریکا توسط مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز اندازه گیری شد.

در روز ۴۲ م، قلب جوجه های کشتار شده بعد از مشاهده وضعیت ناحیه پرکاردیوم، برداشته شد و بطن ها از دهلیز به صورت دقیق جدا گشت و بعداً هم بطن راست از بطن چپ از ناحیه سپتوم جدا شده و نسبت RV/TV هم برای همه جوجه های کشتار شده محاسبه شد. و نسبت های بالاتر از ۰/۲۷ را به عنوان آسیب ثبت گردید. داده های مربوطه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۲ تیمار و ۴ تکرار و با استفاده از روش GLM نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (SAS 9.1) مقایسه اختلاف معنی دار بین میانگین تیمارها در سطح احتمال ۹۵ درصد ($P < 0.05$) با استفاده از آزمون توکی صورت گرفت.

نتایج و بحث:

¹ Auto analyzer abbot alcyon 300. USA

در آزمایش ما نسبت بطن راست به کل بطن ۰/۳۱ در جوجه های تیمار CT در مقایسه با مقدار ۰/۲۳ برای جوجه های تیمار NT به دست آمد بطوریکه این تفاوت معنی دار بود ($P < 0/05$) و این نشان داد که استرس سرمایی به طور قابل قبولی سبب القاء موفقیت آمیز سندرم آسیب و افزایش فشار خون ریوی شده است (جدول ۱).

در مطالعه حاضر، شرایط استرس سرمایی به طور حاد و سریع توانست سبب مجموعه ای از تغییرات در پارامترهای خونی شامل افزایش گلبول قرمز، افزایش هماتوکریت و هموگلوبین در روز ۲۱ و در روز ۴۲ شود (جدول ۲).

مشاهده کردند که در جوجه های گوشتی تحت آسیب القایی به روش سرما، هم زمان که تعداد گلبول های قرمز خون بسیار بالاتر از گروه شاهد بود، غلظت هورمون کورتیکوسترون خون پرندگان آسیتی هم به طور معنی داری بالاتر از پرندگان سالم بود. کورتیکوسترون می تواند اثرات زیانباری روی تنظیم فعالیت اریتروپویتین داشته باشد به طوریکه سبب افزایش خارج از کنترل تولید گلبول قرمز می شود و هم زمان اثرات منفی روی بلوغ و تکامل گلبول قرمز خواهد داشت. چون گلبول های قرمز نابالغ توانایی حمل مقادیر کافی هموگلوبین را ندارند، بنابراین نمی توانند هایپوکسیای ایجاد شده را جبران نمایند لذا مرتب تعداد آنها افزایش می یابد. و این می تواند سبب افزایش هماتوکریت و افزایش ویسکوزیته خون گردد که به دنبال خود سبب افزایش مقاومت عروق به جریان خون می شوند که سبب وخیم تر شدن اوضاع خواهند شد (۱۱).

داده های جدول ۲ نشان می دهد که جوجه های تحت استرس سرمایی سبب افزایش هموگلوبین و کاهش پروتئین پلاسما می شود. حدس بر این است که، مقادیر مطلق هموگلوبین خون در پرندگان آسیتی به دلیل عدم توانایی حمل توسط گلبول های قرمز نابالغ، کاهش خواهد یافت اما از طرفی چون بخش زیادی از پروتئین پلاسما از طریق مویرگ های محوطه بطنی، به داخل شکم نشت کرده است و لذا بخش زیادی از فشار اونکوتیک خون کم شده است و هم زمان به دلیل افزایش فشار هیدرواستاتیک ناشی از سندرم افزایش فشار خون القاء شده، بخش زیادی از پلاسما هم به داخل محوطه شکمی وارد خواهد شد و لذا حجم خون کم می شود بنابراین غلظت خون بالا رفته و مقادیر نسبی هموگلوبین و تاحدودی هماتوکریت هم بالا می رود.

گزارش کرده اند که در طی آسیب، بخش عمده ای از لیپیدهای غشایی دیواره مویرگ ها توسط رادیکال های آزاد تولیدی در خلال تنش اکسیداتیو القایی در آسیب، دچار پراکسیداسیون شده و لذا هم زمان با افزایش مقادیر اکسیدانهای خون، سبب افزایش نفوذپذیری مویرگ ها نیز می شود (۹). احتمالاً در پرندگان تحت استرس سرمایی، بخشی از پروتئین های پلاسما از طریق منافذ مویرگهای ناحیه بطنی به درون محوطه بطنی نشت می کنند و لذا به نظر می رسد مسئول کلونیدی شدن مایع نفوذ یافته به محوطه شکمی باشد (۱۱). حدس زده است که بخش از پروتئین پلاسما از دست رفته و در مسیر گلوگونوژنز هدایت شده و مقادیر گلوکز پلاسمایی بالا را در پرندگان آسیتی ایجاد نموده است.

سطوح پلاسمایی گلوکز بالا در پرندگان آسیتی را می توان به غلظت های پلاسمایی بالای گلوکوکورتیکوئیدها و کورتیکوسترون ها در این پرندگان نسبت داد زیرا تولید غلظت های بالای کورتیکوسترون ها را در خلال یک استرس سرمایی گزارش نموده اند (۱۱) هم چنین گزارش کرده اند، غلظت های بالای گلوکز را در پلاسمای پرندگان آسیتی مشاهده کرد و آنرا به گلوکونوژنز با استفاده از لاکتات به عنوان سوسترا و احتمالاً دیگر سوستراهای درون زادی مانند آمینو اسیدهای مشتق شده از پروتئین های کبدی پرندگان آسیتی دانست. هم چنین، افزایش فعالیت LDH در پرندگان آسیتی در این آزمایش احتمالاً منجر به تولید مقادیر بالایی لاکتات شده است و لذا این مقادیر بالای لاکتات می تواند در مسیر گلوکونوژنز وارد شده و تولید گلوکز نماید (۲). داده های موجود در جدول ۳ نشان می دهد که فعالیت آنزیم های ALT، LDH و AST در پرندگان تیمار CT به طور معنی داری ($P < 0/05$) بیشتر از پرندگان تیمار NT بود گزارش کردند که ارزش تشخیصی آنزیم ALT در طیور کم است و در بسیاری

از موارد، فعالیت نرمال ALT در پرندگان درگیر با آسیب های کبدی نیز مشاهده شده است (۱۴). پیشنهاد کرده اند که، در پرندگان تحت آسیت القایی به روش سرما، احتمالاً مقادیر بالایی رادیکال های آزاد اکسیژن تولید می شود و این عوامل اکسید کننده، سبب پراکسیداسیون لیپیدهای موجود در غشای سلول ها شده و سبب آسیب های جدی به بافت ها و اندام های درگیر با این رادیکال های آزاد می شود و از آنجا که بافت شش، قلب و کبد می توانند در خلال آسیت، درگیر شوند، لذا احتمالاً این مقادیر بالای فعالیت آنزیم AST و ALT در پلاسما، می تواند مربوط به تخریب ناشی از رادیکال های آزاد در بافت های قلب، شش و کبد بوده باشد به طوریکه با برگشت دما به حد استاندارد و کاهش استرس سرمایی، میزان فعالیت پلاسمایی این آنزیم ها کاهش یافت (۱).

جدول ۱: شاخص RV/TV و مرگ و میر ناشی از آسیت

تیمار	نسبت بطن راست به کل بطن (RV/TV)	تلفات ناشی از آسیت (%)
NT	0.23 ± 0.02^b	7.5 ± 1^b
CT	0.31 ± 0.01^a	38 ± 4^a

جدول ۲: پارامترهای شمارش گلبول قرمز، در صد همتوکریت، هموگلوبین، پروتئین پلاسما و گلوکز پلاسما در جوجه های تیمار دمایی طبیعی (NT) و جوجه های تیمار دمایی سرما (CT)

روز	تیمار	هموگلوبین (گرم / دسی لیتر)	شمارش گلبول قرمز (میلیون / میکرولیتر)	هماتوکریت (%)	پروتئین (میلی گرم / دسی لیتر)	گلوکز (میلی گرم / دسی لیتر)
روز ۲۱ م	NT	6.12 ± 0.31^b	1.71 ± 0.12^b	29.02	4.2 ± 0.36	275.5 ± 8
	CT	8.57 ± 0.49^a	2.42 ± 0.16^a	$2.04 \pm$	3.6 ± 0.22	277.5 ± 34
				34.27		
روز ۴۲ م	NT	7.75 ± 0.35^b	2.0 ± 0.20^b	32 ± 0.65^b	4.0 ± 0.12^a	221.25 ± 7^b
	CT	11.2 ± 0.35^a	2.8 ± 0.17^a	39.3 ± 2.27^a	0.5 ± 0.05^b	321.25 ± 6^a
					3.5	

جدول ۳: میزان آنزیم های ALT, AST و LDH پلاسما در جوجه های تیمار دمایی طبیعی (NT) و جوجه های تیمار دمایی سرما (CT)

دوره	تیمار	ALT(U/L)	AST(U/L)	LDH(U/L)
روز ۲۱ م	NT	2.65 ± 0.57	211.75 ± 34	2975 ± 202
	CT	4.00 ± 0.41	223.5 ± 1	3100 ± 250
روز ۴۲ م	NT	3.75 ± 0.48^b	217.5 ± 1^b	3162 ± 320^b

منابع:

- 1] Arab, H. A., R. Jamshidi, A. Rassouli, G. Shams and M. H. Hassanzadeh. 2006. Generation of hydroxyl radicals during ascites experimentally. *Br. Poul. Sci.* 47, 2: 216-222.
- 2] Diaz-Cruz, A., Nava, C., Villanueva, R., Serret, M., Guinzberg, R. & Pina, E. (1996): Hepatic and cardiac oxidative stress and other metabolic changes in broilers with the ascites syndrome. *Poultry Science*, 75: 900–903.
- 3] Druyan, S., D. Shinder, A. Shlosberg, A. Cahaner, and S. Yahav. 2009. Physiological parameters in broiler lines divergently selected for the incidence of ascites. *Poult. Sci.* 88 :1984–1990.
- 4] Druyan, S., A. Ben-David, and A. Cahaner. 2007. Development of ascites-resistant and ascites susceptible broiler lines. *Poult. Sci.* 86:811–822.
- 5] Fathi. M, K. Nazer Adl, Y. ebrahim Nezhad, H. Aghdam Shahryar, M. Daneshyar and, T. Tanha. The role of oxidative stress in the development of congestive heart failure (CHF) in broilers with pulmonary hypertension syndrome (PHS). 2011. *Journal of Animal and Veterinary advance*.10(20): 2722-2719.
- 6] Fathi. M, T. Tanha, K. Nazer Adl, Y. ebrahim Nezhad, H. Aghdam Shahryar, and M. Daneshyar. 2012. Plasma Enzymes activities and antioxidant status characterization in pulmonary hypertension syndrome (PHS) in broilers. *African Journal of Agricultural Research* Vol. 7(5), pp.1414-1419.
- 7] Huchzermeyer, F. W., and A. M. C. DeRuyck. 1986. Pulmonary syndrome associated with ascites in broilers. *Vet. Rec.* 119, 94.
- 8] Iqbal, D. M., R. F. Cawthon, J. R. Wideman, and W. G. Bottje. 2001. Lung Mitochondrial Dysfunction in Pulmonary Hypertension Syndrome .II. Oxidative Stress and Inability to Improve Function with Repeated Additions of Adenosine Diphosphate. *Poult. Sci.* 80:656–665.
- 9] Lester Mandelker, D. V. M. 2008. Introduction to Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction. *Vet. Clin. Small Anim.* 38: 1–30.
- 10] Lorenzoni, A. G, and C. A. Ruiz-Feria. 2006. Effects of vitamin E and l-arginine on Cardiopulmonary function and ascites parameters in broilers chickens reared under sub-normal temperatures. *Poult. Sci.* 85:2241–2250.
- 11] Luger. D., D. Shinder, D. Wolfenson and S. Yahav. 2003. chickens: A possible role of corticosterone Erythropoiesis regulation during the development of ascites syndrome. *J. Anim. Sci.* 81:784-790.
- 12] Luger, D., D. Shinder, V. Rzepakovsky, M. Rusal, and S. Yahav. 2001. Association between weight gain, blood parameters, and thyroid hormones and the development of ascites syndrome in broiler chickens. *Poult. Sci.* 80:965- 971.
- 13] Ruiz-Feria, C. A., M. T. Kidd and R. F. Wideman. 2001. Plasma Levels of Arginine, Ornithine, and Urea and Growth Performance of Broilers Fed Supplemental L-Arginine during Cool Temperature Exposure. *Poult. Sci.* 80:358–369.

- 14] Zantop, D. W. Biochemistries. (1997): Pages115–129 in Avian Medicine: Principles and Applications. B. W. Ritchie, G. J. Harrison, and L. R. Harrison, ed. Wingers Publishing Inc., Lake Worth, FL.

Blood and enzymatic Change in broiler chickens with cold-induced ascites

Mokhtar Fathi^{1*}, Taimor Tanha²

*Corresponding E-mail address: Fathi_mokhtar@yahoo.com

Abstract

The 160 one-day-old male broilers (Ross 308) chickens were divided into two groups of four replicates each, with 20 chicks per replicate. One group was raised in normal temperature (NT) while the other group was raised in cold temperature (CT) to induce the pulmonary hypertension syndrome (PHS). Mortality was inspected to determine cause of death and diagnose heart failure. Hematological, biochemical and pathological tests were used to determine the incidence of PHS: total red blood cell (RBC), hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT), activity of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH). Samples of blood were taken at day 21 and 42 of age. At the end of the experiment (week 6), 2 chicks from each replicate were randomly selected and slaughtered. The heart was removed, the right ventricle was dissected away from the left ventricle and septum, and the ratio of right ventricle weight to total ventricle weight (RV/TV) was calculated. The results of our experiment indicated the CT birds had high level of RBC, HGB, HGB, HCT, protein and glucose at day 42 of age. Also, CT birds had higher levels ($p < 0.05$) AST, ALT and LDH activities in plasma as compared with other birds. RV/TV ratio and mortality due to ascites were significantly higher in CT birds.

Keywords: Ascites- Enzyme Activities- Mortality-Blood Parameters-Broiler chickens.

بررسی روند شاخص رطوبتی-دمایی (THI) در شمال شرق ایران به عنوان شاخصی از استرس گرمایی در گاوهای شیری
حمید تقوی^۱ و عباسعلی ناصریان^۲

۱- دانشجوی دکتری تغذیه نشخوارکنندگان دانشگاه فردوسی مشهد، ۲- عضو هیات علمی گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی
مشهد

(

* نویسنده مسئول: حمید تقوی-دانشگاه فردوسی مشهد-گروه علوم دامی- hamid.taghavi2007@gmail.com

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی میزان احتمال وقوع استرس گرمایی در گاوهای شیری در ماه های مختلف سال و نحوه توزیع آن انجام شد. شاخص رطوبتی-دمایی (THI) شاخص مناسبی جهت برآورد اثرات توام دما و رطوبت در ارتباط با سطح استرس حرارتی است. این شاخص به عنوان شاخص آب و هوایی کارآمدی برای کاهش اثرات زیان آور استرس گرمایی مطرح گردیده است. در این مطالعه، THI برای تجزیه و تحلیل اثرات ماهانه و سالانه دما و رطوبت مورد استفاده قرار گرفت. داده های هواشناسی از ایستگاه تحقیقات هواشناسی شمال شرق ایران (مشهد) گرفته شد. مقادیر THI در فواصل ۳ ساعته با استفاده از شاخص یوسف محاسبه شد و میانگین های ماهانه و سالانه بدست آمد. تغییرات THI در طول سال و در ماه های مختلف با استفاده از نمودارهای پراکندگی بررسی گردید. آنالیز رگرسیون با استفاده از روش مدل خطی نرم افزار SAS انجام شد. مقادیر THI توسط طرح بلوک کامل تصادفی با اثرات سال به عنوان بلوک ها و اثرات ماه به عنوان تیمار ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از نظر آماری، تغییرات THI در سال های ۲۰۰۵ تا ۲۰۰۸ روند ثابتی در طول سال داشتند. هر چند که اثرات سال معنی دار نبود اما میانگین های ماهیانه THI تفاوت های قابل توجهی در طول سال داشتند. بالاترین مقادیر THI در ماه جولای (اواسط تیرماه تا اواسط مردادماه) بدست آمد (میانگین THI = ۷۱/۵۳) که مقادیر THI در بسیاری از ساعات بالاتر از مقادیر آستانه احتمال وقوع استرس حرارتی بود.

واژگان کلیدی: شاخص رطوبتی دمای (THI)- استرس گرمایی- گاو شیری

مقدمه

استرس گرمایی به صورت مجموعه عواملی خارجی (درجه حرارت، رطوبت، تابش خورشید و سرعت باد) که سبب تغییر دمای بدن نسبت به دمای ثابت بدن می گردد تعریف می شود (۳ و ۱۰). استرس گرمایی دارای اثرات زیان آوری بر تولید، تولید مثل و سلامتی گاوهای شیری می باشد (۶، ۸ و ۱۱). به علت اصلاحات ژنتیکی صورت گرفته در جهت افزایش تولید شیر و در نتیجه افزایش تولید حرارت متابولیکی و همچنین به علت تغییرات اقلیمی و گرم شدن تدریجی کره زمین، احتمال وقوع استرس گرمایی در گاو های شیری افزایش یافته است (۶). یکی از مباحث مهم در پرورش دام استفاده از اطلاعات آب و هوایی و اقلیمی جهت مدیریت گله می باشد (۵). شاخص های متفاوتی برای برآورد مقدار استرس گرمایی در گاوهای شیری ارائه شده است. رایج ترین

شاخص، شاخص رطوبتی-دمایی^۱ (THI) است که برای برآورد استرس گرمایی از دمای خشک^۲ (T_{db}) و دمای تر^۳ (T_{wb}) استفاده می‌کند (۳ و ۱۰). شاخص THI شاخص مناسبی جهت برآورد اثرات توام دما و رطوبت در ارتباط با سطح استرس حرارتی است. این شاخص به عنوان شاخص آب و هوایی کارآمدی برای کاهش اثرات زیان آور استرس گرمایی مطرح گردیده است. با وجود اینکه این شاخص از داده های حیوانی استفاده نمی‌کند و فقط با استفاده از داده های دمایی فرموله شده است، اما با دمای بدن گاوهایی که در معرض استرس گرمایی می باشند همبستگی بالایی دارد (۲، ۴ و ۷). بوهمانووا و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که استفاده از شاخص THI جهت برآورد میزان تولید شیر گاوهای جنوب شرق ایالات متحده آمریکا مفید می باشد (۱). با توجه به اعداد بدست آمده از شاخص THI، ۵ ناحیه آسایش مختلف برای گاوهای شیری تعریف شده است: - سطح A: $THI < 72$ ، عدم ایجاد استرس گرمایی؛ - سطح B: $THI = 72-78$ ، استرس متوسط؛ - سطح C: $THI = 78-89$ ، استرس شدید؛ - سطح D: $THI = 89-98$ ، استرس خیلی شدید و - سطح E: $THI > 98$ ، مرگ حیوان (۹). هدف از این مطالعه تعیین شاخص THI گاوهای شیری شمال شرق ایران با استفاده از داده های هواشناسی سال های ۲۰۰۵-۲۰۰۸ میلادی و بررسی میزان احتمال وقوع استرس گرمایی و توزیع آن در ماه های مختلف سال می باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه از داده های هواشناسی ایستگاه تحقیقات هواشناسی شمال شرق ایران (مشهد) استفاده شد. این اطلاعات شامل دمای خشک (T_{db})، دمای تر (T_{wb})، رطوبت نسبی^۴ (RH) و نقطه شبنم^۵ (T_{dp}) بودند که هر روز ۸ مرتبه و در ساعت های ۰، ۳، ۶، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۱ به وقت گرینویچ و در حداثال سال های ۲۰۰۵-۲۰۰۸ میلادی اندازه گیری شده بودند. پس از بررسی های صورت گرفته از میان شاخص های THI مختلف، شاخص THI یوسف (۱۹۸۵) (معادله ۱) که اطلاعات صحیح تری ارائه می نماید برای انجام محاسبات انتخاب گردید (۳). (کلیه دماها بر حسب درجه سانتیگراد اندازه گیری و ارائه شده اند).

$$THI = T_{db} + (0.36 \times T_{dp}) + 41.2 \text{ (معادله ۱)}$$

با استفاده از نرم افزار اکسل مقادیر THI در ساعات مختلف هر روز محاسبه گردید و میانگین های ماهانه و سالانه بدست آمد و تغییرات THI در طول سال و در ماه های مختلف با استفاده از نمودارهای پراکندگی بررسی گردید. سپس برای محاسبه تغییرات THI بین سال های مختلف و در طول سال (بین ماه های مختلف)، آنالیز رگرسیون با استفاده از روش مدل خطی نرم افزار SAS (version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC) انجام شد. مقادیر THI توسط طرح بلوک کامل تصادفی با اثرات سال به عنوان بلوک ها و اثرات ماه به عنوان تیمار ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

1-Temperature-Humidity Index (THI)

1-dry bulb temperature (T_{db})

2-wet bulb temperature (T_{wb})

3-relative humidity (RH)

4-dew point temperature (T_{dp})

مقادیر میانگین های سالانه و میانگین های سطوح مختلف THI در گاوهای شیری شمال شرق ایران طی سالهای ۲۰۰۵-۲۰۰۸ (طبق معادله یوسف (۱۹۸۵)) در جدول ۱ ارائه شده است. اطلاعات بدست آمده نشان می دهد که میانگین های سالانه و میانگین های سطوح مختلف THI در سال های مختلف تفاوت معنی داری ندارند که این نشان دهنده روند ثابت تغییرات THI در سال های مختلف می باشد. میانگین تعداد روزهایی که در طول سال THI در سطوح B و C قرار دارد به ترتیب برابر ۳۶/۶۱۷۵ و ۴/۶۹ روز می باشد؛ یعنی به طور متوسط در طول سال در ۳۶/۶۱۷۵ روز استرس گرمایی متوسط و در ۴/۶۹ روز استرس گرمایی شدید وجود دارد. مقادیر استرس خیلی شدید و استرس منجر به مرگ در کل سال صفر بوده است.

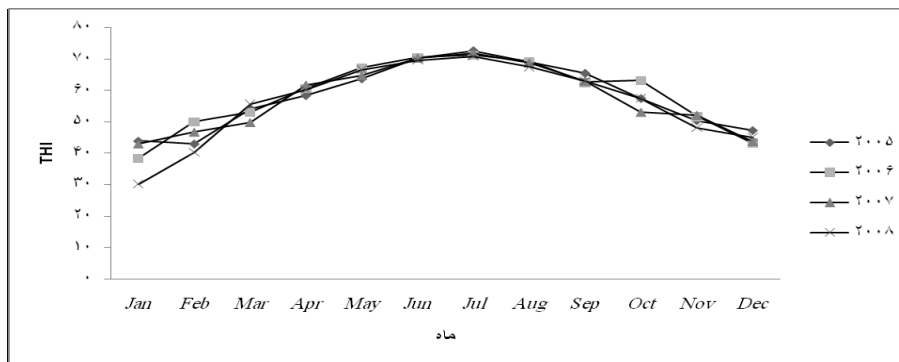
جدول ۱- مقادیر میانگین سالانه و میانگین سطوح مختلف THI در گاوهای شیری شمال شرق ایران طبق معادله یوسف (۱۹۸۵) طی سالهای ۲۰۰۵-۲۰۰۸

سال	THI سطوح					میانگین THI
	A	B	C	D	E	
	روز در سال	روز در سال	روز در سال	روز در سال	روز در سال	
۲۰۰۵	۳۲۲,۱۱	۳۶,۹۰	۵,۹۹	۰	۰	۵۷,۹۷۲۳۹۴۵
						۲
۲۰۰۶	۳۲۰,۸۸	۳۷,۴۸	۶,۶۴	۰	۰	۵۸,۳۴۶۲۰۵۴
						۸
۲۰۰۷	۳۲۱,۶۴	۳۸,۳۶	۵,۰۰	۰	۰	۵۷,۳۸۵۴۲۷۴
۲۰۰۸	۳۳۰,۱۴	۳۳,۷۳	۱,۱۳	۰	۰	۵۶,۱۹۵۴۰۲۹
						۴
میانگین	۳۲۳,۶۹۲۵	۳۶,۶۱۷۵	۴,۶۹	۰	۰	۵۷,۴۷۴۸۵۸
P value	< ۰,۰۰۰۱	< ۰,۰۰۰۱	۰,۰۱۵۲	-	-	< ۰,۰۰۰۱

- سطح A: $THI < 72$ ، عدم ایجاد استرس گرمایی؛ سطح B: $THI = 72-78$ ، استرس متوسط؛ سطح C: $THI = 78-89$ ، استرس شدید؛ سطح D: $THI = 89-98$ ، استرس خیلی شدید؛ سطح E: $THI > 98$ ، مرگ حیوان

روند تغییرات میانگین های ماهیانه THI در طول سال در نمودار ۱ ارائه شده است. مشاهده می گردد که روند تغییرات میانگین های ماهیانه THI سال های مختلف مشابه می باشد که نشان دهنده روند ثابت تغییر THI در طول سال می باشد.

نمودار ۱- روند تغییرات میانگین ماهیانه THI در طول سال



مقادیر میانگین ماهانه سطوح مختلف THI در گاوهای شیری شمال شرق ایران طی سالهای ۲۰۰۵-۲۰۰۸ (طبق معادله یوسف (۱۹۸۵)) در جدول ۲ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می شود مقادیر میانگین های ماهانه سطوح مختلف THI در سال های مختلف بسیار نزدیک به یکدیگر می باشد. محدوده زمانی $THI > 72$ در ماه های ژوئن، جولای و اگوست (اواسط خردادماه تا اواسط شهریورماه) بیش از سایر ماه ها می باشد و در نتیجه احتمال وقوع استرس گرمایی در این ماه ها بالاتر می باشد. در ماه جولای محدوده زمانی که THI در در سطوح B و C قرار دارد بیشتر از سایر ماه هاست.

جدول ۲- مقادیر میانگین ماهانه سطوح مختلف THI در گاوهای شیری شمال شرق ایران طی سالهای ۲۰۰۵-۲۰۰۸ (طبق معادله یوسف (۱۹۸۵))

سال	ماه	THI سطوح				
		A	B	C	D	E
		روز در ماه	روز در ماه	روز در ماه	روز در ماه	روز در ماه
۲۰۰۵	Jan	۳۱	۰	۰	۰	۰
	Feb	۲۸	۰	۰	۰	۰
	Mar	۳۱	۰	۰	۰	۰
	Apr	۲۹,۴۹۹	۰,۵۰۱	۰	۰	۰
	May	۳۰,۶۲۴۹	۰,۳۷۵۱	۰	۰	۰
	Jun	۱۸,۶۲۴	۹,۲۵۲	۲,۱۲۴	۰	۰
	Jul	۱۴,۱۲۳۶	۱۴,۲۵۰۷	۲,۶۲۵۷	۰	۰
	Aug	۲۰,۷۵۱۴	۹,۱۲۳۳	۱,۱۲۵۳	۰	۰
	Sep	۲۶,۴۹۹	۳,۳۷۵	۰,۱۲۶	۰	۰
	Oct	۳۱	۰	۰	۰	۰
	Nov	۳۰	۰	۰	۰	۰
	Dec	۳۱	۰	۰	۰	۰
۲۰۰۶	Jan	۳۱	۰	۰	۰	۰

	Feb	۲۸	.	.	.	.
	Mar	۳۱	.	.	.	.
	Apr	۲۹,۰۰۱	۰,۹۹۹	.	.	.
	May	۲۶,۷۴۹۹	۴,۲۵۰۱	.	.	.
	Jun	۱۸,۵۰۱	۸,۶۲۵	۲,۸۷۴	.	.
	Jul	۱۷,۷۵۰۶	۱۰,۳۷۵۷	۲,۸۷۳۷	.	.
	Aug	۱۹,۷۵۰۱	۱۰,۳۷۵۷	۰,۸۷۴۲	.	.
	Sep	۲۷,۹۹۹	۲,۰۰۱	.	.	.
	Oct	۳۰,۱۲۵۸	۰,۸۷۴۲	.	.	.
	Nov	۳۰	.	.	.	.
	Dec	۳۱	.	.	.	.
۲۰۰۷	Jan	۳۱	.	.	.	.
	Feb	۲۸	.	.	.	.
	Mar	۳۱	.	.	.	.
	Apr	۲۹,۴۹۹	۰,۵۰۱	.	.	.
	May	۲۶,۸۷۳۹	۴,۱۲۶۱	.	.	.
	Jun	۱۸,۷۵	۹,۵۰۱	۱,۷۴۹	.	.
	Jul	۱۶,۱۲۶۲	۱۲,۳۷۵۲	۲,۴۹۸۶	.	.
	Aug	۲۱,۳۷۴۵	۸,۹۹۹۳	۰,۶۲۶۲	.	.
	Sep	۲۷,۰۰	۲,۸۷۴	۰,۱۲۶	.	.
	Oct	۳۱	.	.	.	.
	Nov	۳۰	.	.	.	.
	Dec	۳۱	.	.	.	.
۲۰۰۸	Jan	۳۱	.	.	.	.
	Feb	۲۹	.	.	.	.
	Mar	۳۱	.	.	.	.
	Apr	۲۹,۳۷۶	۰,۶۲۴	.	.	.
	May	۲۶,۱۲۳۷	۴,۸۷۶۳	.	.	.
	Jun	۲۰,۶۲۵	۹,۰۰	۰,۳۷۵	.	.
	Jul	۱۸,۷۴۸۸	۱۱,۸۷۶۱	۰,۳۷۵۱	.	.
	Aug	۲۴,۳۷۵۳	۶,۲۴۹۶	۰,۳۷۵۱	.	.

Sep	۲۸,۸۷۵	۱,۱۲۵	.	.	.
Oct	۳۱	.	.	.	.
Nov	۳۰	.	.	.	.
Dec	۳۱	.	.	.	.

مقادیر سطوح مختلف THI در ماه جولای در سال های مختلف در جدول ۳ ارائه شده است. میانگین THI در این ماه ۷۱/۵۳ می باشد که مقدار آن در سال های مختلف بسیار مشابه می باشد ($P < ۰/۰۰۰۱$). در این ماه THI به طور متوسط در ۱۲/۲۲ روز در محدوده B و در ۲/۰۹ روز در محدوده C قرار دارد، یعنی به طور متوسط در طول این ماه در ۱۲/۲۲ روز استرس متوسط و در ۲/۰۹ روز استرس شدید گرمایی وجود دارد.

جدول ۳- مقادیر سطوح مختلف THI در ماه جولای در گاوهای شیری شمال شرق کشور طبق معادله یوسف (۱۹۸۵) طی سالهای ۲۰۰۵-۲۰۰۸

سال	ماه	THI سطوح					میانگین THI
		A	B	C	D	E	
		روز در ماه	روز در ماه	روز در ماه	روز در ماه	روز در ماه	
۲۰۰۵	جولای	۱۴,۱۲۳۶	۱۴,۲۵۰۷	۲,۶۲۵۷	.	.	۷۲,۴۹۰۵۳۲۲۶
۲۰۰۶	جولای	۱۷,۷۵۰۶	۱۰,۳۷۵۷	۲,۸۷۳۷	.	.	۷۱,۰۸۶۹۶۷۷۴
۲۰۰۷	جولای	۱۶,۱۲۶۲	۱۲,۳۷۵۲	۲,۴۹۸۶	.	.	۷۱,۷۹۶۳۳۸۷۱
۲۰۰۸	جولای	۱۸,۷۴۸۸	۱۱,۸۷۶۱	۰,۳۷۵۱	.	.	۷۰,۷۶۰۷۲۵۸۱
	میانگین	۱۶,۶۸۷۳	۱۲,۲۱۹۵۵	۲,۰۹۳۲۵	.	.	۷۱,۵۳۳۶۴۱۱
	P value	< ۰,۰۰۰۱	< ۰,۰۰۰۱	۰,۰۳۴۰	-	-	< ۰,۰۰۰۱

با بررسی های صورت گرفته مشخص گردید که میزان استرس گرمایی در گاو های شیری منطقه شمال شرق ایران از اواسط تیرماه تا اواسط مرداد ماه حداکثر می باشد. به طور کلی این مطالعه نشان می دهد که در ماه جولای (از اواسط تیرماه تا اواسط مردادماه) بیشترین احتمال ایجاد استرس گرمایی متوسط و شدید در گاوهای شیری شمال شرق ایران وجود دارد (به طور متوسط ۱۴/۳۱ روز در ماه). بنابراین توصیه می گردد پرورش دهندگان در این ماه به منظور جلوگیری از اثرات زیان بار استرس گرمایی مانند کاهش تولید شیر و کاهش باروری، از سیستم های خنک کننده مناسب استفاده نمایند.

منابع

1. Bohmanova, J., I. Misztal, and J. B. Cole. 2007. Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. J. Dairy Sci. 90:1947-1956.

2. Buffington, D. E., A. Collazo-Arocho, G. H. Canton, D. Pitt, W. W. Thatcher, and R. J. Collier. 1981. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. *Trans. ASAE* 24:711-714.
3. Dikmen S., and P. J. Hansen. 2009. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? *J. Dairy Sci.* 92:109-116.
4. Gaughan, J. B., T. L. Mader, S. M. Holt, and A. Lisle. 2008. A new heat load index for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 86:226-234.
5. Hahn G.L. 1981. Housing and management to reduce climatic impacts on livestock. *J. Anim Sci.* 52:175-186.
6. Hansen, P. J. 2007. Exploitation of genetic and physiological determinants of embryonic resistance to elevated temperature to improve embryonic survival in dairy cattle during heat stress. *Theriogenology* 68S:S242-S249.
7. Ingraham, R. H., R. W. Stanley, and W. C. Wagner. 1979. Seasonal effects of tropical climate on shaded and nonshaded cows as measured by rectal temperature, adrenal cortex hormones, thyroid hormone, and milk production. *Am. J. Vet. Res.* 40:1792-1797.
8. Kazdere, C. T., M. R. Murphy, N. Silanikove, and E. Maltz. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: A review. *Livest. Prod. Sci.* 77:59-91.
9. Moran, J. 2005. Tropical dairy farming: feeding management for small holder dairy farmers in the humid tropics. Landlinks Press, PP:275.
10. Thom, E. C. 1959. The discomfort index. *Weatherwise* 12:57-59. West, J. W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:2131-2144.
11. West, J. W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:2131-2144.

Trend of Temperature Humidity Index (THI) in northeast of Iran as indicator of heat stress in dairy cattle

Hamid Taghavi¹ and Abbas Ali Naserian²

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

* E-mail address: hamid.taghavi2007@gmail.com

Abstract:

This study evaluated the risk of thermal stress affecting dairy cattle among different months. The temperature-humidity index (THI) is a single value representing the combined effects of air temperature and humidity associated with the level of thermal stress. This index has been developed as a weather safety index to monitor and reduce heat-stress-related losses. THI was used to analyze the yearly and monthly effects of temperature and humidity. Meteorological data were obtained from the Northeast Regional Climate Center of Iran (Mashhad) and consisted of three hourly dry bulb temperatures (Tdb) and dew point temperatures (Tdp) recorded between 2005 and 2008. The values of THI were calculated by Yousef's index, and then monthly and yearly means were determined. The variability of the THI was analyzed using scatter charts of THI for monthly and yearly periods. Regression analysis was performed using the general linear model procedure of SAS. THI values were analyzed as randomized complete block design with year effects as blocks and month effects as treats. Statistically, the THI was found to be normally distributed between 2005 and 2008. Mean THI values had significant differences between months, although effects of years were not too meaningful. The highest values of THI were evaluated in July (THI monthly mean= 71/53) that THI values in many hours were higher than the threshold values of occurrence of heat stress.

Keywords: Temperature Humidity Index (THI) - heat stress - Dairy cattle.

مطالعه اثر عصاره گلبرگ زعفران و جنتامایسین بر فعالیت آنزیمهای آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در موش صحرایی

زهرا ترابی^{۱*}، آرش امیدی^۲، محمد حسن پور فرد^۳، معصومه ولوی^۱

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند ۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند ۳- استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

• نویسنده مسئول: زهرا ترابی، za.torabi25@gmail.com

چکیده

زعفران (*Crocus sativus* L.) گیاهی از تیره زنبقیان و خانواده *Iridaceae* و از گیاهان مهم استان خراسان است. این گیاه در آسیبهای توکسیک کبد، استرسهای اکسیداتیو نقشی اساسی را بر عهده دارند. آنتی اکسیدان های موجود در مواد غذایی و بدن، حتی در مقادیر ناچیز، می توانند بدن را در مقابل انواع مختلف آسیب های اکسیداتیو ناشی از رادیکال های آزاد اکسیژن محافظت کنند. تحقیق حاضر مطالعه تجربی مداخله ای بر روی ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار (*wistar*) با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم است. در این آزمایش مقادیر متفاوت عصاره گلبرگ (40 mg/kg و 80) و جنتامایسین با دز 80 mg/kg به مدت هفت روز به حیوانات تزریق شد. جنتامایسین با دز 80 میلی گرم به ازای کیلوگرم می تواند ایجاد آپوپتوزیس در سلولهای کبدی رت کند. مقایسه گروه های مختلف اختلاف معنی داری در سطح سرمی AST نشان داد. نتایج نشان می دهد که عصاره گلبرگ زعفران نتوانسته اثرات مخرب جنتامایسین بر بافت کبد را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: عصاره هیدروالکلی گلبرگ زعفران- جنتامایسین- کبد

مقدمه

آنتی اکسیدان ها به سلول اجازه می دهند تا عمل فیزیولوژیک نرمال خود را مجدداً بدست آورند. آنتی اکسیدانها جلوی عمل رادیکالهای آزاد فعال و ویرانگر را میگیرند و آنها را خنثی میکنند. لذا تأمین ذخایر آنتی اکسیدان، به منظور کاهش آثار تنش اکسایشی ضروری است. گلبرگ زعفران یک منبع گیاهی غنی از مواد پلی فنولی است. ارتباط معنی دار فعالیت آنتی اکسیدانی مواد گیاهی با محتویات ترکیبات فنولی آن به اثبات رسیده است. آنتی بیوتیک جنتامایسین جزو خانواده آمینوگلیکوزیدها است. ایجاد آپوپتوزیس یا مرگ برنامه ریزی شده سلول و از همه مهمتر ایجاد رادیکالهای آزاد از مکانیسم های اثر جنتامایسین بر بافتهای بدن موجود زنده است. رادیکالهای آزاد می توانند بر بسیاری از اندامهای بدن مانند کبد و کلیه تاثیر منفی داشته باشند. تا کنون اثرات نفروتوکسیسیته و اتوتوکسیسیته جنتامایسین به خوبی نشان داده شده است (۵). جنتامایسین با دز 80 میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن ایجاد آپوپتوزیس در سلولهای کبدی رت می کند (۱) در این مطالعه سعی می شود تا تداخل اثر عصاره گلبرگ زعفران با جنتامایسین بر بافت کبد بررسی شود.

مواد و روش

تعداد ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار (*wistar*) با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از موسسه انستیتو پاستور تهران خریداری شد و در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند در شرایط دمایی 22 ± 2 درجه سانتی گراد و سیکل روشنایی /



تاریکی ۱۲ ساعت مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات بطور تصادفی در پنج گروه هشت تایی در قفس ها توزیع گردیدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. گروه یک دریافت کننده نرمال سالین (۵/۰ سی سی) و گروه دوم، تیمار با جنتامایسین با دوز ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم جهت ایجاد آسیب کلیوی بود. گروه درمان با عصاره گلبرگ زعفران با دزهای ۴۰ و ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم به همراه جنتامایسین با دوز ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم گروه های سه و چهار بودند. به گروه پنجم (گروه پیشگیری) تزریق ۶ روزه عصاره گلبرگ در هفته اول و سپس تزریق جنتامایسین در هفته دوم انجام شد. کل دوره آزمایش به مدت ۲۹ روز انجام شد. تزریق بصورت داخل صفاقی و با سرنگ های انسولین انجام می شد. عصاره گیری با روش خیساندن انجام شد. گلبرگ زعفران از حومه بیرجند جمع آوری شده و پس از خشک و آسیاب نمودن گلبرگ ها، جهت عصاره گیری ۵۰ گرم گلبرگ پودر شده توزین شد و در ۱۰۰۰ سی سی آب و الکل ۸۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت محلول با کاغذ صافی، شماره ۱ صاف شد. برای حذف حلال نمونه های صاف شده در درون پلیت های شیشه ای ریخته شد و به مدت ۱ تا ۲ روز در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد بعد از تبخیر شدن حلال نمونه ها تراشیده و تا زمان استفاده در یخچال ۴- نگه داری شد. در پایان آزمایش و پس از ۲۴ ساعت از آخرین تزریق موش ها توسط اتر بیهوش شده و خونگیری از قلب به عمل آمد. و آنزیم های شاخص عملکرد کبد مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده های بدست آمده کمی، بصورت $\text{mean} \pm \text{s.e.m}$ ارائه و اختلاف معنی دار بین گروه ها توسط آزمون آماری ANOVA (one-way analysis of variance) در سطح معنی داری $P < 0/05$ توسط بسته نرم افزاری spss ویرایش گردید. مقایسه میانگین ها از آزمون واریانس یکطرفه و سپس از آزمون توکی استفاده شد.

نتایج

مقایسه گروه پیشگیری با گروه جنتامایسین نشان داد که اختلاف معنی داری در سطح سرمی AST وجود دارد ($P < 0/05$). نتایج این تحقیق حاکی از آن است که عصاره گلبرگ مورد استفاده نتوانسته است اثر تخریب کنندگی که جنتامایسین روی کبد داشته است را کاهش دهد. جنتامایسین موجب افزایش سطح سرمی آنزیم های کبدی شده است. و هیچ اثر کاهشی توسط عصاره گلبرگ زعفران در سطح سرمی آنزیم های AST و ALT در گروه های آزمایشی تحت تیمار با جنتامایسین مشاهده نشد. نتایج مربوط به آنزیم های کبدی در جدول ذیل ارائه شده است.

جدول ۱- مقایسه میزان سرمی AST و ALT در گروه های دریافت کننده جنتامایسین و مصرف توامان جنتامایسین با عصاره گلبرگ زعفران در مقایسه با گروه شاهد در رت مقادیر به صورت $M \pm S.E.M$ هستند.

گروه ها	AST (IU) ^۱	ALT (IU) ^۲
شاهد	۲۶۵/۵±۲۶/۱۹	۶۷/۸±۱۰/۱۶
جنتامایسین	۲۴۶/۵±۱۷/۳۱	۶۷/۰±۵/۸۵
جنتامایسین + عصاره گلبرگ زعفران با دز کم	۳۲۶/۵±۲۳/۳۷	۷۶/۵±۴/۴۰
جنتامایسین + عصاره گلبرگ زعفران با دز بالا	۳۱۸/۸±۳۴/۵۱	۶۵/۵±۷/۹۲
پیشگیری	۳۵۵/۸۷±۲۱/۶۶	۶۸/۵±۱۰/۵۶

۱-آسپاراتات ترانسفراز

۲- آلانین آمینوترانسفراز

بحث

آمینوگلیکوزیدها (جنتامایسین، آمیکاسین و توبرامایسین) جزو دارهای مهم در درمان عفونتهای گرم منفی هستند (۲). گزارش شده است که این آنتی بیوتیکها می توانند موجب نفروتوکسی سیتی (nephrotoxicity)، هپاتوتوکسی سیتی (hepatotoxicity)، اتوتوکسی سیتی (ototoxicity) و بلوک عصبی، عضلانی (neuromuscular blocks) و کم خونی شوند (۶). آمینوگلیکوزیدها از مولکولهای هیدروفیل تشکیل شده اند. اتصال آمینوگلیکوزیدها با غشای با شارژ منفی سلولها موجب تداخل در کاتابولیسم فسفولیپیدها و تغییر در نفوذ پذیری غشای سلولها می گردد. اثرات منفی آمینوگلیکوزیدها تغییر در اپیتلیوم توبولهای کلیه و ایجاد اختلال در عملکرد کلیه ها، ایجاد آپوپتوزیس یا مرگ برنامه ریزی شده سلول و از همه مهمتر ایجاد رادیکالهای آزاد است. رادیکالهای آزاد می توانند بر بسیاری از اندامهای بدن مانند کبد و کلیه تاثیر منفی داشته باشند (۵). تجویز جنتامایسین با دز ۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم می تواند در عرض ۲۴ ساعت روند آپوپتوزیس را در سلولهای کبد رت شروع کند (۳). درمان همزمان سیسپلاتین و جنتامایسین می تواند اثر سمی بر بافت کبد در خوکچه هندی داشته باشد (۴). به طور کلی در این تحقیق اثری از بهبود بخشی گلبرگ زعفران بر کبد مشاهده نشد.

منابع

- 1- Alkahtani,S., Alarifi, S.A., Al-Doaiss, A.A., 2009. Detection of Apoptosis Induced by Gentamicin in Rat Hepatocytes. International Journal of Zoological Research. 5: 161-170.
- 2- Boroushaki,M.T.,Sadeghnia,H.R Protective Effect of Safronal against Gentamicin-induced Nephrotoxicity in Rat. Journal of medical science.34(4).
- 3- Dehne, N., Rauen, U., Groot, H., Lautermann, J., 2002. Involvement of the mitochondrial permeability transition in gentamicin ototoxicity. Hearing Research. 169: 47-55.
- 4- Kohn, S., Fradis, M., Robinson, E., Iancu, T.C., 2005. Hepatotoxicity of Combined Treatment with Cisplatin and Gentamicin in the Guinea Pig. Ultrastructural Pathology. Vol. 29, No. 2: Pages 129-137
- 5- Stojilkovic,N.,Stojilkovic,M.,Randjelovic,p.,Veljkovic,s.,Mihailovic,D.(2012).Cytoprotective effect of vitamin C against gentamicin-induced acute kidney injury in rat. Experimental and toxicologic pathology.64:69-74.
- 6- Yasin, K.F., Sabir, M., Sherwani, M.I.K., Zafar, M., Yasmin, S. and Alam, M.I., 2003. Amelioration of Gentamicin Nephrotoxicity by vitamin B6 (a general and histochemical profile). Pakistan Journal Medical Research. 42: 69

The Effect of hydro-alcoholic saffron petals extract on tissue damage Gentamicin-induced liver in rats

Zahra torabi¹, Arash Omid², Mohammad Hassan Pour³, Masueh valavi¹

1 – MSc Student, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Birjand University

2 - Assistant professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Birjand University

3 - Assistant Professor, Pharmacology Department, Faculty of Medicine, Medical Sciences University

Abstract

Saffron (*Crocus sativus* L.) is a plant and belongs to the family Zingiberaceae and is an important province of the plants. Anti-inflammatory and analgesic effects of saffron stigma and petal extracts, help digest food, and the recipient of free radicals in animal models have shown. Chemical diversity of the carotenoids, anthocyanins and terpenoids have been identified in saffron stigma and petals of which can be crocin, safranal and delphinidin. Acute liver failure caused by multiple factors, including viral hepatitis, toxic injury is caused by toxins and drugs as well. In toxic liver injury, oxidative stress is responsible for an essential role. Antioxidants present in food and body, even in small amounts, can protect body against various types of oxidative damage induced by oxygen free radicals. This research is an interventional study on 40 male Wistar rats weighing approximately 250-200 grams. In this experiment, different values of petal extract (40 and 80 mg/kg) and gentamicin dose 80mg / kg were injected to the animals during 7 days. Comparison prevention and patient groups showed significant differences in serum AST. The results show that the extract of saffron petals failed to reduce the destructive effects of gentamicin on liver tissue.

Keyword: Liver- gentamicin- petal extract

بررسی برخی عوامل موثر بر عملکرد تولیدمثل در گاوهای هلشتاین استان خراسان رضوی
حامد کرمانی موخر^۱، سعید زین الدینی^۲، آرمین توحیدی^۳، سمیرا حسن پور باشی^۴
دانشجوی دکتری گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج^۱
استادیار و دانشیار گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج^{۲،۳}
دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد^۴
نویسنده مسئول: حامد کرمانی، ایمیل: kermani_hamed@ut.ac.ir

چکیده

مطالعه حاضر با هدف تعیین عملکرد تولیدمثلی (فاصله زایش، تعداد روز باز و فاصله زایش تا اولین تلقیح) و برخی عوامل موثر بر این صفات در گاوهای هلشتاین استان خراسان رضوی انجام شد. ۳۲۶۷۳ رکورد تولیدمثلی شامل فاصله دو زایش، تعداد روزهای باز و فاصله زایش تا اولین تلقیح، از ۸۲۱۱ رأس گاو ماده بین سال های ۱۳۸۱ تا ۱۳۹۰ از ۱۰ گله بزرگ این استان جمع آوری و با نرم افزار SAS آنالیز شد. میانگین و انحراف معیار فاصله زایش، تعداد روز باز و فاصله زایش تا اولین تلقیح به ترتیب $58/40 \pm 396/50$ ، $60/20 \pm 121/60$ و $32/80 \pm 91/50$ روز برآورد گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که اثر گله، دوره شیردهی و مقدار تولید شیر بر عملکرد تولید مثلی معنی دار بود ($p < 0.05$). تولید شیر از سال ۱۳۸۱ تا سال ۱۳۹۰ روند افزایشی نشان داد و با افزایش تولید شیر، عملکرد تولید مثلی کاهش یافت. بیشترین تولید شیر، فاصله زایش، تعداد روز باز و فاصله زایش تا اولین تلقیح مربوط به دوره چهارم شیردهی بود، در حالی که بهترین عملکرد تولید مثلی در دوره سوم شیردهی مشاهده شد. نتایج اثر گله بر صفات تولید مثلی نیز نشان داد که در برخی از گله ها با وجود تولید شیر بالا، عملکرد صفات تولید مثلی نیز در حد مطلوب بود که علت این موضوع احتمالا شرایط مدیریتی بهتر در این گله ها است. واژه های کلیدی: استان خراسان رضوی - گاو هلشتاین - عملکرد تولید مثل.

مقدمه

درواحدهای گاوداری، عملکرد تولیدمثل یک عامل اساسی در تولید اقتصادی شیر میباشد. در حقیقت تولید شیر یک صفت ثانویه جنسی بوده و به تولیدمثل بستگی دارد. بهبود ژنتیکی گله نیز به وجود تلیسه کافی برای جانشین کردن با گاوهای حذفی بستگی داشته، لذا عملکرد مناسب تولیدمثل برای تولید تلیسه کافی هم تاثیر قابل ملاحظه ای بر آن دارد (۳). با توجه به وجود ارتباط بین شرایط فیزیولوژیک دام، محیط و مدیریت در گله های گاو شیری، با ارزیابی عملکرد تولیدمثل و عوامل مؤثر بر آن زمینه ای فراهم میشود تا عواملی که در کم باروری و ناباروری گله مؤثر هستند شناسایی شوند. از عوامل مؤثر بر عملکرد تولیدمثل میتوان به فصل زایش، دوره شیردهی، مقدار تولید شیر و جنس گوساله متولد شده اشاره نمود (۶). در بررسیهای صورتگرفته، میانگین فاصله زایش و تعداد روزهای باز گاوهای هلشتاین در شرایط ایران به ترتیب ۴۳۰/۹ و ۱۲۵/۸ روز گزارش شده است (۶). همچنین در این زمینه در گاوهای هلشتاین استان تهران، میانگین فاصله زایش و تعداد روز های باز به ترتیب ۳۹۷/۵ و ۱۲۲/۱ روز بوده است (۴) ولی تاکنون در این زمینه در گاو های هلشتاین استان خراسان رضوی گزارش مستندی وجود ندارد. لذا این تحقیق با هدف تعیین میانگین صفات تولیدمثل (فاصله زایش، تعداد روز باز، فاصله زایش تا اولین تلقیح و فاصله اولین تلقیح تا آبستنی) گاوهای هلشتاین استان خراسان رضوی از ۱۰ گله بزرگ این استان (نزدیک به ۱۰۰۰ رأس) و بررسی الگوی تغییرات آنها بین سال های ۸۱ تا ۹۰ انجام شد. در این تحقیق همچنین اثر دوره شیردهی و مقدار تولید شیر بر روی صفات تولید مثلی بررسی شده است.

مواد و روش ها

برای مطالعه عملکرد تولیدمثل در گله گاوهای استان خراسان رضوی از ۳۲۶۷۳ رکورد تولیدمثلی ۸۲۱۱ رأس گاو ماده از ۱۰ واحد گاوداری (نزدیک به ۱۰۰۰ رأس دام) بین سال های ۱۳۸۱ تا ۱۳۹۰ که توسط مرکز اصلاح نژاد دام کشور جمع آوری شده بود استفاده شد. برای جلوگیری از اشتباهات احتمالی فقط از رکورد تولید مثلی دام هایی استفاده شد که اطلاعات شیردهی اول تا چهارم آنها به طور کامل ثبت شده بود. به دلیل کم بودن تعداد رکورد دوره های شیردهی پنجم به بعد در یک گروه بندی جدا مطالعه شد. برای حذف رکوردهای ناصحیح رکوردهای مربوط به فاصله زایش، تعداد روز باز و فاصله زایش تا اولین تلقیح به ترتیب در دامنه ۳۰۰ تا ۵۰۰، ۴۰ تا ۲۸۰ و ۴۰ تا ۱۸۰ روز در نظر گرفته شد و رکوردهای خارج از این دامنه حذف گردید. بدین ترتیب ۳۲۶۷۳ رکورد تولیدمثلی مربوط به ۸۲۱۱ رأس گاو ماده بین سال های ۱۳۸۱ تا ۱۳۹۰ مورد بررسی قرار گرفت.

برای تجزیه و تحلیل آماری این داده ها از برنامه GLM نرم افزار SAS استفاده شد. مقایسه میانگینها به روش آزمون دانکن انجام شد. متغیرهای وابسته در مدل شامل فاصله زایش تعداد روز باز و فاصله زایش تا اولین تلقیح و عوامل تاثیرگذار روی این صفات گله، دوره شیردهی و میزان تولید شیر بود.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس صفات فاصله زایش، تعداد روزهای باز و فاصله زایش تا اولین تلقیح نشان داد که هر ۲ عامل دوره شیردهی و تولید شیر تاثیر معنی داری بر صفات مورد مطالعه داشتند ($p < 0.05$). میانگین و انحراف معیار فاصله زایش، تعداد روز باز و فاصله زایش تا اولین تلقیح به ترتیب $58/40 \pm 396/50$ ، $60/20 \pm 121/60$ و $32/80 \pm 91/50$ روز به دست آمد. میانگین فاصله زایش و تعداد روز باز برای گاوهای هلشتاین ایران به ترتیب $403/90$ و $125/80$ روز گزارش شده است (۶). معمولا برای سنجش عملکرد تولیدمثل، از فاصله زایش و تعداد روز باز استفاده میشود و فاصله زایش و تعداد روز باز بهینه در بیشتر سیستمهای پرورش به ترتیب حدود ۳۶۵ و ۸۵ روز میباشد. (۲).

نتایج تحقیق حاضر نشان میدهد که میانگین تولید شیر در گله های مورد بررسی $1050/46 \pm 7374/20$ کیلو گرم بوده است، در صورتی در گاو های هلشتاین ایران $6374/40$ کیلو گرم و در ۲۲ گله استان تهران $7248/50$ گزارش شده است (۶،۴). زیادتیر بودن میزان تولید شیر و کمتر بودن فاصله زایش و تعداد روز باز در این تحقیق در مقایسه با بررسی های مشابه احتمالا به دلیل تفاوت ظرفیت ژنتیکی، مدیریت تغذیه و شرایط مدیریتی است. به هر حال اگرچه مدت زمان حاصل برای فاصله زایش و تعداد روز باز در گاوهای استان خراسان رضوی نسبت به گاوهای هلشتاین ایران، تهران و یزد کمتر است، ولی ارزشهای این دو صفت، بیشتر از مدت زمان استاندارد و بهینه میباشد. افزایش فاصله زایش از حد بهینه، منجر به کاهش تولید شیر، کاهش فروش گوساله و افزایش هزینه استهلاک گله میشود بنابراین، برای افزایش سودآوری، فاصله زایش در گله ها باید کاهش یابد (۴،۲،۱).

تاثیر سال بر تغییرات فاصله زایش و روز باز معنی دار بود، تعداد روز باز در سالهای ۸۱ تا ۹۰ روند صعودی نشان داد که البته دلیل اصلی آن افزایش تولید شیر در این سال ها می باشد. اما در تحقیقات صورت گرفته در آمریکا بین سال های ۱۹۹۰ تا ۲۰۰۰ و ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۰ نشان داده شد که علیرغم افزایش تولید شیر عملکرد تولید مثلی نیز بهتر شده است (۱۹). دلیل آن بهبود شرایط مدیریتی و تغذیه ای، مراقبت بیشتر از دامها و افزایش درصد تشخیص فحلی ذکر شده است.

تاثیر دوره شیردهی بر صفات تولیدمثل معنی دار بود که با نتایج و گزارشات قبلی مطابقت دارد (۶، ۲). با این وجود در برخی تحقیقات در گاو های کم تولید (کمتر از ۳۰ کیلوگرم) فاصله زایش تا اولین تلقیح در دوره های شیر دهی مختلف معنی دار نبود اما در گاو های پر تولید این نتایج معنی دار گزارش شد (۵). نتایج ارائه شده در جدول ۱ نشان می دهد که



بهترین عملکرد تولید مثل مربوط به دوره سوم شیردهی و بیشترین فاصله زایش و تعداد روز های باز مربوط به دوره چهارم شیر دهی می باشد. عملکرد نامناسب صفات تولیدمثل در دوره شیردهی چهارم ناشی از زیاد بودن تولید شیر در این دوره و طولانی شدن مدت تعادل منفی انرژی است.

جدول ۱. میانگین ($\pm$ انحراف معیار) فاصله زایش تا اولین تلقیح، تعداد روز باز و فاصله زایش به تفکیک دوره شیردهی

نوع اثر ثابت	فاصله زایش تا اولین تلقیح	تعداد روز باز	فاصله زایش (روز)
دوره شیر دهی			
اول	$90/50 \pm 35/69^2$	$120/80 \pm 59/20^2$	$395/50 \pm 58/40^2$
دوم	$91/78 \pm 39/80^2$	$119/75 \pm 54/14^2$	$396/50 \pm 58/40^2$
سوم	$91/45 \pm 42/75^2$	$116/42 \pm 58/24^3$	$394/59 \pm 60/37^2$
چهارم	$95/50 \pm 46/31^1$	$124/60 \pm 50/65^1$	$404/28 \pm 63/23^1$
پنجم و بالاتر	$92/43 \pm 40/01^{12}$	$122/43 \pm 58/92^{12}$	$399/46 \pm 61/28^{12}$

تأثیر گله بر صفات تولیدمثل نیز معنی دار بود با توجه به نتایج نشان داده شده در جدول ۲ مشخص می شود که بعضی از گله های با میانگین زیاد تولید شیر، عملکرد تولید مثل مناسبی داشته و در برخی دیگر با وجود متوسط تولید شیر کم عملکرد تولید مثل مناسب نبوده است. مهمترین عامل در عملکرد تولیدمثل هر گله مدیریت تغذیه و شرایط مدیریتی است، لذا برای درک علت تفاوت عملکرد تولیدمثل در این گله ها، می بایست با تحقیقات جامع وضعیت تغذیه و مدیریت گله ها بیشتر بررسی شود.

جدول ۲. میانگین تولید شیر و صفات تولیدمثل در گله های گاوهای هلشتاین مورد مطالعه در استان خراسان رضوی

گله	میانگین شیر تولیدی	فاصله زایش تا اولین تلقیح	تعداد روز باز	فاصله زایش (روز)
۱	$7650/80$	$91/45$	$121/60$	$396/40$
۲	$7520/60$	$92/80$	$123/90$	$401/32$
۳	$7829/30$	$99/20$	$128/70$	$402/50$
۴	$6820/40$	$86/09$	$118/20$	$394/23$
۵	$7230/10$	$95/21$	$120/31$	$395/51$
۶	$7190/50$	$89/34$	$116/17$	$391/71$
۷	$6980/60$	$87/42$	$114/18$	$389/78$
۸	$8010/20$	$98/20$	$128/67$	$405/32$
۹	$7620/50$	$86/42$	$120/76$	$396/73$
۱۰	$6891/10$	$92/82$	$121/64$	$393/66$
کل	$7374/20$	$91/50$	$121/60$	$396/50$



مدت زمان بهینه فاصله زایش تا اولین تلقیح معادل ۶۰ روز گزارش شده است (۲،۳). ولی مطالعه حاضر نشان میدهد که فاصله زایش تا اولین تلقیح در اکثر گله ها بیشتر از ۹۰ روز بوده است. از عوامل موثر بر فاصله زایش تا اولین تلقیح تصمیم گاو دار در مورد زمان انجام اولین تلقیح و میزان تشخیص فحلی است که با تغییر روشهای مدیریتی در این رابطه، ممکن است بتوان عملکرد تولید مثل را در این گله ها بهبود بخشید.

منابع

۱. اسماعیلی زاده، ع.، س. ر. میرایی آشتیانی، و ی. روزبهان. ۱۳۸۱. بررسی تولید شیر و چربی و برخی از صفات تولید مثلی گاوهای هلستاین در گاو داریهای اطراف یزد. پژوهش و سازندگی، ش. ۵۶ و ۵۷، ص. ۳۱-۲۵.
۲. ضمیری، م. ج. ۱۳۷۶. پرورش گاو شیری. انتشارات دانشگاه شیراز. ۶۵۸. صفحه.
۳. موسوی، س. م. ۱۳۸۱. تاثیر جفت ماندگی بر عملکرد تولید مثل یک گله گاو شیری در استان گیلان. دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، پایان نامه کارشناسی ارشد.
۴. همتی، م.، الف. زارع شهنه، ر. واعظ آشتیانی. ۱۳۸۴. بررسی برخی عوامل موثر بر عملکرد تولید مثل در گاوهای هلستاین استان تهران. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد ۳۷، شماره ۵.

Evaluation of some effective factors on reproduction performance in Holstein cows of Khorasan Razavi province

Hamed Kermani Moakhar¹, Saeid Zeinaldini², Armin Towhidi³, Samira Hasanpor Bashi⁴
Phd student, assistant Professor and associate Professor of animal science department

Abstract

The aim of present study was to investigate reproduction performance (calving interval, open days and calving interval to first service) and some factors that affect it in Holstein dairy cows of Khorasan Razavi province. 32673 reproductive records including calving interval, open days and calving interval to first service of 8211 cattle were collected during year 2003 to 2012 and analyzed by SAS program. The mean and standard deviation of calving interval, open days and calving interval to first service were 396.50 ± 58.40 , 121.60 ± 60.20 and 91.50 ± 32.80 respectively. The results showed that herd, lactation period and milk yield had the significant effects on reproductive performance ($p < 0.05$). Milk yield increased from year 2003 to 2012, while reproductive performance decreased inversely in the same period. The lowest reproductive performance was related to fourth lactation period because of maximum milk production in this period. The obtained outcomes of herd effect also showed that proper and satisfactory management in herds could improve reproductive performance in Holstein cows of Khorasan Razavi province.

Keywords: Khorasan Razavi province – Holstein cow – reproductive performance

1. Dhaliwal, G.S., R.D. Murray, H. Dobson. 1996. Effects of milk yield, and calving to first service interval, in determining herd fertility in dairy cows. Animal Reproduction Science, 41:109-117.
2. Emam jomeh Kashan, N., M.R. Salehi. 1994. A study of performance of Holstein dairy cattle in Iran. Proc. 5th. World Congress Applied Livestok Production. 17:42-45.



- بررسی ارتباط بین کارکرد غده تیروئید با برخی پارامترهای خونی در نریان عرب
یاور مداحی^۱، خلیل میرزاده^۲، صالح طباطبائی وکیلی^۳، مرتضی ممویی^۴، حسین نجف‌زاده‌ورزی
- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی علوم دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
- ۲- اعضای هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
- ۳- عضو هیئت علمی گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز
- Yavarmaddahi@yahoo.com نویسنده مسئول: یاور مداحی،

چکیده

مطالعات متعدد، وجود تغییرات فصلی در میزان هورمون‌های تیروئیدی و متابولیت‌های گلوکز، کلاسترول و تری‌گلیسرید در پستانداران را به سازوکارهای ناشناخته ارتباط می‌دهند. به همین منظور در این تحقیق تصمیم گرفته شد تا ارتباط بین غلظت هورمون‌های تیروئیدی (T_3 ، T_4 و $T_{3\text{uptake}}$) با متابولیت‌های گلوکز، کلاسترول و تری‌گلیسرید را در دو فصل گرم (تابستان) و سرد (زمستان) بررسی شود. خونگیری از ورید و داج ۲۱ رأس نریان نژاد عرب (۳۵۰ تا ۵۰۰ کیلوگرمی)، در فصل تابستان (تیرماه) و زمستان (دی‌ماه) انجام شده و پس از جداسازی سرم، نمونه‌ها به آزمایشگاه انتقال یافتند. هورمون‌های تیروئیدی به روش استاندارد رادیوایمونواسی (RIA) و متابولیت‌های فوق به روش آنزیمی، کالریمتری (CHOD-PAP) اندازه‌گیری شدند. داده‌های بدست آمده توسط آزمون همبستگی دو متغیره پیرسون در برنامه نرم‌افزاری SPSS (ویرایش ۱۶) مورد آنالیز قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین غلظت هورمون‌های تیروئیدی با متابولیت‌های فوق در فصل تابستان وجود نداشت ($P>0/05$). در فصل زمستان همبستگی معنی‌داری بین غلظت هورمون T_4 با گلوکز و کلاسترول و بین هورمون T_3 با کلاسترول مشاهده شد ($P<0/05$)، ولی بین $T_{3\text{uptake}}$ با گلوکز، کلاسترول و تری‌گلیسرید، بین T_4 با تری‌گلیسرید و بین T_3 با گلوکز و تری‌گلیسرید در این فصل همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$). نتایج این تحقیق نشان داد بین کارکرد غده تیروئید با متابولیت‌های گلوکز و کلاسترول در فصل زمستان همبستگی معنی‌داری وجود دارد.

کلمات کلیدی: T_3 - T_4 - $T_{3\text{uptake}}$ - گلوکز - کلاسترول - تری‌گلیسرید

مقدمه

تیروئید یک غده درون ریز است که هورمون‌های تیروکسین و تری‌یدوتیرونین را ترشح می‌کند. تیروکسین ترشح شده توسط این غده نقش مهمی در متابولیسم بدن بازی می‌کند (۵). گفته می‌شود افزایش هورمون‌های تیروئیدی، غلظت کلاسترول، فسفولیپیدها، و تری‌گلیسریدهای پلاسما را کاهش می‌دهد و برعکس کاهش ترشح تیروئید سبب افزایش غلظت کلاسترول، فسفولیپید و تری‌گلیسرید پلاسما می‌شود (۲). مطالعات متعدد وجود تغییرات فصلی در میزان هورمون‌های تیروئیدی و متابولیت‌های گلوکز، کلاسترول و تری‌گلیسرید در پستانداران را با سازوکار ناشناخته نشان می‌دهد، ارتباط بین غلظت هورمون‌های تیروئیدی (T_3 ، T_4 ، $T_{3\text{uptake}}$) با متابولیت‌های گلوکز، کلاسترول و تری‌گلیسرید در فصل گرم (تابستان) و سرد (زمستان) در نریان تاکنون بررسی نشده است. این بررسی‌ها می‌تواند به عنوان یک راهنمای عملی برای پی بردن به تغییرات فیزیولوژیکی، پاتولوژیک و تشخیص بیماری‌ها و درمان در اسب عرب حائز اهمیت باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه بر روی ۲۱ رأس نریان عرب با وزن ۳۵۰ تا ۵۰۰ کیلوگرم، در فصل تابستان و زمستان ۱۳۹۰، تحت مدیریت پرورشی و تغذیه‌ای یکسان در منطقه گاومیش‌آباد شهرستان دزفول انجام شد. نریان‌های عرب دارای شناسنامه و تبارنامه

مشخص و همچنین دارای داغ ویژه اسب های عرب، مورد تایید انجمن جهانی اسب عرب (واهو) بودند. پس از مقید کردن اسب ها از ورید وداچ با استفاده از لوله های خلاء دار (ونوجکت) بدون ماده ضد انعقاد با سرسوزن های یکبار مصرف خون-گیری انجام شد، نمونه های جمع آوری شده به آزمایشگاه دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان منتقل و پس از جداسازی سرم، نمونه ها در دمای ۲۲- فریز شده و سپس سرم آنها به آزمایشگاه جهاد دانشگاهی اهواز، جهت اندازه گیری غلظت T_3 ، T_4 ، $T_{3uptake}$ ، گلوکز، کلسترول و تری گلیسرید منتقل شد. هورمون های تیروئیدی به روش استاندارد رادیو-ایمونواسی (RIA) و متابولیت های فوق به روش آنزیمی، کالریمتری (CHOD-PAP) اندازه گیری شدند. برای آنالیز آماری داده ها از آزمون همبستگی دو متغیره پیرسون توسط نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۶) استفاده شد.

نتایج

در فصل تابستان هیچ گونه همبستگی معنی داری بین هورمون های تیروئیدی و متابولیت های گلوکز، کلسترول و تری-گلیسرید وجود نداشت (جدول ۱). در فصل زمستان همبستگی بین درصد $T_{3uptake}$ با گلوکز، کلسترول و تری گلیسرید معنی دار نبود ($P > 0/05$)؛ در این فصل همبستگی بین غلظت T_3 با کلسترول معنی دار بود ($P < 0/05$) ولی بین غلظت T_3 با گلوکز و تری گلیسرید همبستگی معنی داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). در فصل زمستان همبستگی معنی داری بین T_4 با گلوکز و کلسترول مشاهده شد ($P < 0/05$)، ولی همبستگی بین T_4 با تری گلیسرید معنی دار نبود ($P > 0/05$) (جدول ۲).

نتایج ما در خصوص همبستگی درصد $T_{3uptake}$ با گلوکز، کلسترول و تری گلیسرید در فصل تابستان و زمستان با نتایج تحقیق محمدی و همکاران (۳) موافق بود. در این تحقیق همبستگی بین تری یودوتیرونین با گلوکز در فصل تابستان و زمستان و همبستگی تیروکسین با گلوکز در فصل تابستان با نتایج محمدی و همکاران (۳) در شتر و نظیفی (۶) در بز موافق می باشد. همبستگی تیروکسین با گلوکز در فصل زمستان با نتایج محمدی و همکاران (۳) در شتر و نظیفی (۶) در بز مخالف می باشد. نتایج این تحقیق در خصوص همبستگی هورمون های تری یودوتیرونین و تیروکسین با کلسترول با نتایج تحقیقات نظیفی (۸) در اسب های ترکمن، رسولی (۱) در شتر، نظیفی (۶) در بز، نظیفی و همکاران (۷) و محمدی و همکاران (۳) در شتر، در فصل تابستان موافق ولی در فصل زمستان مخالف می باشد. همبستگی بین هورمون تیروکسین و تری یودوتیرونین با کلسترول در مطالعه فرانک و همکاران (۴) در اسب و همبستگی بین هورمون تیروکسین با کلسترول در مطالعه تاجیک و نظیفی (۹) در گاو میش با نتایج ما در مورد این همبستگی ها، در فصل تابستان مخالف و در فصل زمستان موافق می باشد. در این مطالعه همبستگی بین تری یودوتیرونین و تیروکسین با تری گلیسرید در فصل تابستان و زمستان با نتایج تحقیقات نظیفی (۸) در اسب-های ترکمن، تاجیک و نظیفی (۹) در گاو میش و محمدی و همکاران (۳) در شتر موافق می باشد و با نتایج مطالعه فرانک و همکاران (۴) در اسب و نظیفی و همکاران (۷) در شتر مغایرت دارد.

نظیفی با تحقیق خود بر روی اسب های ترکمن نشان داد هیچ ارتباط معنی داری بین غلظت هورمون های تیروئیدی و کلسترول و تری گلیسرید وجود ندارد (۸). محمدی و همکاران با تحقیق خود بر روی شترهای ماده یک کوهانه، هیچ گونه همبستگی معنی داری بین غلظت هورمون های تیروئیدی و متابولیت های گلوکز، کلسترول و تری گلیسرید در دو فصل تابستان و زمستان مشاهده نکردند (۳). رسولی در طی تحقیقات خود در شتر بیان کرد، که غلظت هورمون های تیروئیدی با کلسترول در شتر همبستگی ندارد (۱). در مطالعه نظیفی و همکاران که بر روی بز انجام شد همبستگی معنی داری بین هورمون های تیروئیدی با متابولیت های گلوکز و کلسترول وجود نداشت (۶). در مطالعه تاجیک و نظیفی بر روی گاو میش، همبستگی معنی داری بین T_3 و T_4 با تری گلیسرید مشاهده نشد، ولی تیروکسین با کلسترول دارای همبستگی معنی داری بود (۹). در مطالعه نظیفی و همکاران در شتر همبستگی مثبت و معنی داری بین غلظت تری یودوتیرونین و تیروکسین با تری گلیسرید مشاهده شد ولی همبستگی معنی داری بین غلظت تری یودوتیرونین و تیروکسین با کلسترول مشاهده نشد (۷). فرانک و



همکاران در تحقیقی بر روی مادیان‌ها گزارش کردند که چهار هفته بعد از برداشت غده تیروئید، میزان کلسترول و تری گلیسرید سرم به صورت معنی‌داری افزایش یافته است و بیان شد که کاهش فعالیت غده تیروئید سبب ایجاد تغییرات معنی‌داری در چربی‌های سرم اسب می‌شود و یک همبستگی منفی معنی‌دار بین غلظت هورمون‌های تیروئیدی و متابولیت‌های کلسترول و تری‌گلیسرید را نشان دادند (۴).

گزارش شد است که در هیپوتیروئیدیسم میزان کلسترول سرم افزایش می‌یابد. این تغییرات با تأثیر تنظیمی T_3 روی گیرنده‌های LDL، که ترشح کبدی کلسترول را متأثر می‌کنند مرتبط است. به نحوی که کمبود T_3 سبب کاهش فعالیت‌های LDL و تجمع کلسترول می‌شود. اثر خالص هورمون‌های تیروئیدی بر روی متابولیسم کلسترول، افزایش نرخ کاتابولیسم به وسیله کبد می‌باشد (۸). سطح غلظت سرمی کلسترول با فعالیت غده تیروئید ارتباط معکوس دارد. اثر هورمون تیروئید در متابولیسم کلسترول، افزایش سرعت متابولیسم آن توسط کبد می‌باشد که باعث کاهش غلظت کلسترول می‌شود (۶). یکی از مکانیسم‌های کاهش غلظت کلسترول پلاسما توسط هورمون تیروئید، افزایش قابل توجه میزان ترشح کلسترول به درون صفرا و در نتیجه دفع آن از مدفوع است و یک مکانیسم احتمالی آن برای افزایش ترشح کلسترول، این است که هورمون‌های تیروئیدی تعداد گیرنده‌های LDL را بر روی سلول‌های کبدی افزایش می‌دهند و سبب برداشت سریع LDL از پلاسما و در نتیجه ترشح کلسترول در این لیپوپروتئین‌ها توسط سلول‌های کبدی می‌شوند (۲). در خصوص ارتباط هورمون‌های تیروئیدی و متابولیت‌ها علت این یافته‌ها مشخص نیست و گزارش علمی در این زمینه‌ها وجود ندارد (۸). نتایج این تحقیق نشان داد که کارکرد غده تیروئید در فصل زمستان دارای همبستگی معنی‌داری با متابولیت‌های گلوکز و کلسترول می‌باشد ولی در فصل تابستان همبستگی معنی‌داری بین فعالیت غده تیروئید و متابولیت‌های فوق مشاهده نشد، همچنین مشاهده شد که کارکرد غده تیروئید در فصل زمستان و تابستان همبستگی معنی‌داری با تری‌گلیسرید سرم ندارد.

جدول ۱- همبستگی بین غلظت هورمون‌های تیروئیدی با متابولیت‌های گلوکز کلسترول و تری‌گلیسرید در فصل تابستان

تری‌گلیسرید	گلوکز	کلسترول	تری-
$T_{3\text{uptake}}$ (درصد)	۰/۲۳	۰/۰۲	-۰/۲۵
T_3	(ng/ml)	-۰/۰۹	۰/۲۲
۰/۰۰۷			
T_4 (mg/dl)	-۰/۱۴	۰/۲۰	۰/۱۳

اعداد داخل پرانتز بیانگر ضریب همبستگی (r) می‌باشند.

* $P < 0.05$

جدول ۲- همبستگی بین غلظت هورمون‌های تیروئیدی با متابولیت‌های گلوکز کلسترول و تری‌گلیسرید در فصل زمستان

تری‌گلیسرید	گلوکز	کلسترول	
$T_{3\text{uptake}}$ (درصد)	-۰/۰۶	-۰/۰۹	- ۰/۱۴
T_3 (ng/ml)	-۰/۲۶	- ۰/۴۶*	-۰/۲۴
T_4 (mg/dl)	-۰/۵۰ *	- ۰/۶۴*	-۰/۱۴



اعداد داخل پرانتز بیانگر ضریب همبستگی (r) می باشند.

* $P < 0.05$

منابع

۱. رسولی، ا. ۱۳۸۲. بررسی فعالیت غده تیروئید و برخی از پارامترهای بیوشیمیایی سرم گاوان هولشتاین در دو فصل سرد و گرم در شهرستان اهواز. چکیده.
۲. گایتون، آ. و ج. ا. هال. ۲۰۰۶. فیزیولوژی پزشکی. مترجمان: علی حوری سپهری و کامران قاسمی. انتشارات اندیشه رفیع. ۹۴۶ ص.
۳. محمدی، ا.، خ. میرزاده، م. ت. بیگی نصیری، م. ممویی و ص. طباطبایی وکیلی. ۱۳۹۰. بررسی ارتباط بین غلظت هورمون‌های تیروئیدی با برخی پارامترهای خونی در شترهای یک‌کوهانه در فصل گرم و سرد. اولین کنگره ملی شتر، مشهد مقدس، ۲۹ و ۳۰ فروردین. ۸۸-۹۰ ص.
4. Frank, N., Sogaka, J. E., Latour, M. A., Mclure, s. r. and Polazzi, L. 1996. Effect of hypothyroidism on blood lipid concentration in horses. A m. j. vet. Res. 60: 730-732.
5. Kausar, R. and Shahid, R. U. 2006. gross and microscopic anatomy of thyroid gland of one-humped camel (camelus dromedarius). Pakistan Vet. J. 26(2): 88-90.
6. Nazifi, S., Gheisari, H. R. and Farjad, S. 2002. Serum lipids and lipoproteins and their correlations with thyroid hormones in clinically healthy goats. Department of Clinical Studies, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran. Veterinarski Arhiv 72 (5), 249-257.
7. Nazifi, S., Nikahval, B., Mansourian, M., Razavi, S. M., Farshneshani, F., Rahsepar, M., Javadani, M. and Bozorgi, H. 2009. Relationships between thyroid hormones, serum lipid profile and erythrocyte antioxidant enzymes in clinically healthy camel (Camelus dromedarius). Revue Méd. Vét., 160, 1, 3-9.
8. Nazifi, S., Saeb, M., and Abedi, M. 2003. Serum lipid profiles and their correlation with thyroid hormones in clinically healthy Turkoman horses. Springer-Verlag London Limited. PP: 12: 49-52.
9. Tajik, G. and Nazifi, C. 2011. Serum concentrations of lipids and lipoproteins and their correlations together and with thyroid hormones in Iranian water buffalo. Asian Journal of Animal Sciences 5(3): 196-201.

Study on relationship between thyroid function with some blood parameters in the Arabian Stallion

Maddahi, Yavar¹; Mirzadeh, Khalil²; Tabatabaei, Saleh²; Mamouie, Morteza²; Najafzadeh, Hossein³

1- Msc Student, Department of Animal Science, Ramin Agricultural and Natural Resources University

2- Faculty members, Department of Animal Science, Ramin Agricultural and Natural Resources University

3- Faculty members, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University Ahwaz

Emil Author Responsible: Yavarmaddahi@yahoo.com



Abstract

Numerous studies have shown the seasonal changes in levels of thyroid hormones and metabolites of glucose, cholesterol and triglyceride in mammals with unknown mechanism. Therefore it was decided to investigate the relationship between thyroid hormone concentration (T_3 , T_4 and $T_{3\text{uptake}}$) and metabolites including glucoses, cholesterol and triglycerides in the hot (summer) and cold (winter) seasons. Blood Sampling was done from jugular vein of 21 head of Arabian Stallions (350 to 500 kg), in summer (July) and winter (January) and after separation of serum, samples were transferred to laboratory. Thyroid hormones were measured by standard radio immunoassay (RIA) and metabolites were measured by enzymatic calorimetric method (CHOD-PAP). Data was analyzed by Pearson bivariate correlation test in software program SPSS (version 16). Results of the study showed that there isn't any significant correlation between thyroid hormones concentration and these metabolites in summer ($P > 0/05$). In winter, there was a significant correlation between T_4 hormone concentrations with glucose and cholesterol and between T_3 hormone with cholesterol ($P < 0/05$), but no significant correlation was seen between $T_{3\text{uptake}}$ with glucose, cholesterol and triglyceride, between T_4 with triglyceride and between T_3 with glucose and triglyceride ($P > 0/05$). Results of this study showed that there is significant correlation between thyroid function with metabolites glucose and cholesterol ($P < 0/05$).

Keywords: T_3 - T_4 - $T_{3\text{uptake}}$ - glucose- cholesterol- triglyceride.



اثر فصل بر غلظت هورمون تستوسترون و اندازه محیط اسکروتوم در نریان عرب بررسی

یاور مداحی^۱، خلیل میرزاده^۲، صالح طباطبائی وکیلی^۲، مرتضی ممویی^۲، حسین نجف‌زاده‌ورزی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی علوم دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۲- اعضای هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۳- عضو هیئت علمی گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

Yavarmaddahi@yahoo.com نویسنده مسئول: یاور مداحی،

چکیده

فصل تولیدمثلی اسب‌های نر چندان مشخص نیست. از آنجایی که غلظت هورمون تستوسترون سرم خون و اندازه محیط اسکروتوم نریان‌ها تحت تأثیر فصل قرار دارد این پارامترها ممکن است در روند فصلی خصوصیات منی و رفتار جنسی آن‌ها دخالت داشته باشد. به همین منظور در این تحقیق اثر فصل گرم و سرد بر غلظت تستوسترون و اندازه محیط اسکروتوم بررسی شد. خونگیری از ورید وداچ ۲۱ رأس نریان نژاد عرب (۳۵۰ تا ۵۰۰ کیلوگرمی)، در فصل تابستان (تیرماه) و زمستان (دی‌ماه) انجام شد و پس از جداسازی سرم، نمونه‌ها به آزمایشگاه انتقال یافت. هورمون تستوسترون به روش استاندارد رادیو-ایمونواسی (RIA) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری دور کیسه بیضه در دو فصل بعد از مهار دام، با متر (کولیس مانند) انجام شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس و آزمون چند دامنه دانکن در برنامه نرم‌افزاری SPSS (ویرایش ۱۶) مورد آنالیز قرار گرفتند. در این تحقیق میانگین غلظت هورمون تستوسترون بین فصل تابستان ($2/90 \pm 0/82$ ng/ml) و زمستان ($2/2 \pm 0/22$ ng/ml) تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0/05$). میانگین اندازه دور کیسه بیضه به صورت معنی‌داری در فصل گرم ($36/2 \pm 0/78$ سانتی‌متر) بیشتر از فصل سرد ($32/06 \pm 0/68$ سانتی‌متر) بود ($P < 0/05$). این تحقیق نشان داد که نریان عرب، حیوانی با فعالیت تولیدمثلی در تمام طول سال می‌باشد که به دلیل وجود دوره نوری کوتاه‌تر زمستان نسبت به تابستان، در این فصل از قدرت تولیدمثلی کمتری برخوردار است.

کلمات کلیدی: نریان - فصل - تستوسترون - اسکروتوم

مقدمه

غلظت تستوسترون در پارانثیم بیضه اسب در فصل گرم دو برابر فصل سرد است (۷). کنترل هورمونی فرایند تولیدمثل در نریان به خوبی شناخته شده نیست. اندازه بیضه نیز از عوامل مهم تأثیرگذار بر غلظت هورمون تستوسترون پلاسمای خون و تعداد کل اسپرماتوزوئیدها تولیدی در نریان می‌باشد (۲). فعالیت فصلی بیضه نیز تحت دوره فتوپریود قرار داشته (۹) و از آنجا که غلظت تستوسترون خون نریان هم تحت تأثیر فصل قرار دارد و ممکن است در روند فصلی خصوصیات منی و رفتار جنسی دخالت داشته باشد (۱) در این تحقیق تصمیم گرفته شد تا اثر فصل گرم و سرد به همراه تغییرات فتوپریودی بر غلظت تستوسترون و اندازه محیط اسکروتوم بررسی شود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه بر روی ۲۱ رأس نریان عرب (تمام جامعه) با وزن (۳۵۰ تا ۵۰۰ کیلوگرم) در فصل تابستان (تیرماه) و زمستان (دی‌ماه) ۱۳۹۰، تحت مدیریت پرورشی و تغذیه‌ای یکسان در منطقه گاومیش‌آباد شهرستان دزفول انجام شد. نریان‌های عرب دارای شناسنامه و تبارنامه مشخص و همچنین دارای داغ ویژه اسب‌های عرب، مورد تایید انجمن جهانی اسب عرب (واهو) بودند، پس از مقید کردن اسب‌ها از ورید وداچ با استفاده از لوله‌های خلاء دار (ونوجکت) بدون ماده ضد انعقاد با سرسوزن-

های یکبار مصرف خون‌گیری انجام شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان منتقل و پس از جداسازی سرم، نمونه‌ها در دمای ۲۲- فریز شده و سپس سرم آنها به آزمایشگاه جهاد دانشگاهی اهواز، جهت اندازه‌گیری غلظت هورمون تستوسترون به روش رادیوایمونواسی (RIA) منتقل شد. اندازه‌گیری دور کیسه بیضه در هر دو فصل بعد از مهار دام، با متر (کولیس مانند) انجام شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس و آزمون چند دامنه دانکن در برنامه نرم‌افزاری SPSS (ویرایش ۱۶) مورد آنالیز قرار گرفتند.

نتایج

در این تحقیق میانگین غلظت هورمون تستوسترون بین فصل تابستان و زمستان از لحاظ آماری معنی‌داری نبود ($P > 0/05$). ولی میانگین این فاکتور در فصل گرم بیشتر از فصل سرد بود (جدول ۱) که با نتایج تحقیقات گورانی و همکاران (۱۰)، آلتینسات و همکاران (۳)، رینچ^۱ (۱۳) و حافظ و حافظ (۱) در اسب، ایلکون^۲ و همکاران (۸) در شتر و زارازاگا^۳ و همکاران (۱۴) در بز موافق می‌باشد. نتایج این تحقیق در خصوص اندازه محیط اسکروتوم نشان داد که میانگین این فاکتور به صورت معنی‌داری در فصل گرم بیشتر از فصل سرد می‌باشد ($P < 0/05$) (جدول ۱) و با نتایج مطالعه رینچ (۱۳) در اسب، ایلکون و همکاران (۸) در شتر، زارازاگا و همکاران (۱۴) در بز، پریز و همکاران (۱۱) در گوسفند موافق می‌باشد.

گورانی و همکاران در تحقیق خود بر روی اسب عرب نشان دادند که غلظت هورمونی تستوسترون به صورت معنی‌داری در فصل تابستان بیشتر از فصل زمستان می‌باشد (۱۰)؛ همچنین آلتینسات و همکاران نشان دادند که در تیرماه با ۱۵ ساعت روشنایی و نه ساعت تاریکی غلظت هورمون تستوسترون در اسب عرب به طور معنی‌داری بالاتر از دی‌ماه با نه ساعت روشنایی و ۱۵ ساعت تاریکی می‌باشد (۳). در مطالعه رینچ، بیشترین اسپرم با مرفولوژی نرمال و بهترین اسپرم از لحاظ کیفیت و کمیت و بیشترین حجم و اندازه بیضه و غلظت تستوسترون اسب به صورت معنی‌داری در فصل تولید مثل (خرداد- تیر) مشاهده شد (۱۳). ایلکون و همکاران نشان دادند اندازه بیضه و غلظت تستوسترون شتر به صورت معنی‌داری در فصل تولیدمثل (اردیبهشت تا آذر ماه) نسبت به فصل غیر تولیدمثل (تیر تا آبان ماه) افزایش نشان داده است (۸). در تحقیق زارازاگا و همکاران بر روی بز، بالاترین غلظت تستوسترون، کیفیت اسپرم و وزن بیضه، در طول فصل تابستان و پاییز و کمترین مقدار آن در طول ماه‌های بهار و زمستان بود (۱۴). گفته شده است که در کشورهای معتدل شمالی، کاهش سطح تستوسترون و LH خون در اسب‌های نر از مهرماه تا بهمن ماه می‌باشد (۱).

فتوپریود و دما، چرخه جنسی سالانه را تحت تأثیر قرار می‌دهند، مورد اول کارآمدتر از عامل دیگر است (۱). فعالیت جنسی نریان در فصل غیر تولیدمثل، وابسته به برخی شرایط از جمله دروه فتوپریود است که بر روی اندازه بیضه و غلظت تستوسترون سرم اثر می‌گذارد (۱۳). فتوپریود از طریق دو مکانیسم مجزا اثرات خود را اعمال می‌کند. اولاً بر روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیزی تأثیر مستقیم اعمال کرده و ثانیاً در حساسیت سیستم عصبی مرکزی به فیدبک منفی استروئیدها تغییرات همزمانی ایجاد می‌شود (۱۳). در حیوانات روز بلند، در روزهایی با دوره نوری بلند ($8D: 16L$) ترشح ملاتونین کاهش یافته و موجب افزایش فعالیت تولیدمثلی می‌شود ولی روزهایی با دوره نوری کوتاه ($16D: 8L$) که باعث افزایش ترشح هورمون ملاتونین می‌شوند، فعالیت جنسی دام کاهش می‌یابد (۱۲). تنظیم ترشح هورمون ملاتونین توسط سلول‌های سیستم عصبی، بر اثر تحریک گیرنده‌های نوری در چشم صورت می‌گیرد. تاریکی تولید ملاتونین را تحریک و روشنایی ترشح آن را مهار می‌کند. میزان ترشح هورمون ملاتونین ترشح آندروژن‌ها و فعالیت تولیدمثلی را تنظیم می‌کند به طوری که

¹. Wrench

². Elkon

³. Zarazaga



ترشح ملاتونین ترشح GNRH را مهار می‌کند. GNRH آزاد سازی LH و FSH از هیپوفیز پسین را سبب می‌شود، LH با اثر بر بیضه‌ها، تستوسترون را در نریان تولید کرده و الگوی ترشحی تستوسترون در نریان سبب بروز تغییرات فصلی در گامتوژنز و میل جنسی می‌شود (۹). نشان داده شد که افزایش پرفیوژن بیضوی نریان بالغ طی فصل تولیدمثلی با افزایش غلظت تستوسترون همبستگی مثبت داشته است (۴). اندازه بیضه از عوامل مهم تأثیرگذار بر غلظت تستوسترون پلاسمای خون و تعداد کل اسپرماتوزوئیدها تولیدی توسط نریان می‌باشد (۲). فعالیت فصلی بیضه تحت دوره فتوپریود (۹) و در ارتباط با میزان ترشح گونادوتروپین‌ها و پرولاکتین است زیرا که ترشح پرولاکتین و گونادوتروپین‌ها با تغییرات فتوپریود تغییر می‌کند. با افزایش طول روز ترشح گونادوتروپین‌ها و یا پرولاکتین افزایش یافته و موجب بزرگ شدن بیضه‌ها و افزایش غلظت تستوسترون می‌شود (۱).

بنابراین می‌توان گفت نریان عرب (در منطقه دزفول) حیوانی با فعالیت تولیدمثل در تمام طول سال می‌باشد که به دلیل وجود دوره نوری کوتاه‌تر زمستان نسبت به تابستان در این فصل از قدرت تولیدمثلی کمتری برخوردار است. نتایج نشان می‌دهند که فصل سال روی میزان هورمون‌های خون، رفتار جنسی، خصوصیات فیزیکی و بیوشیمیایی منی و باروری اثر گذار بوده (۱) و فعالیت تولیدمثلی نریان در تمام طول سال ادامه داشته با این واقعیت که اندازه بیضه، تعداد سلول‌های لایدیک، غلظت تستوسترون و در نتیجه حجم و غلظت اسپرم در فصل زمستان کاهش می‌یابد (۱۳).

جدول ۱- تفاوت میزان فراسنجه‌های مربوط به هورمون تستوسترون و اندازه دور کیسه بیضه در فصل تابستان و زمستان در اسب نر عرب در دزفول

محیط کیسه بیضه (cm)	تستوسترون (ng/ml)	
$36/2 \pm 0/78^a$	$2/90 \pm 0/82$	فصل تابستان
$32/06 \pm 0/68^b$	$2/2 \pm 0/22$	فصل زمستان

میانگین فراسنجه ($\pm SE$)

*در هر ستون، میانگین‌های با حروف متفاوت اختلاف آماری معنی‌داری دارند ($P < 0/05$).

منابع

۱۰. حافظ، بی. و ای. اس. ای. حافظ. ۱۳۸۵. فیزیولوژی تولیدمثل در حیوانات مزرعه‌ای، چاپ اول. ترجمه حسین دقیق‌کیا و همکاران. انتشارات دانشگاه تبریز. ۵۶۳ ص.
۱۱. شرقی، ق. و م. ع. نوروزیان. ۱۳۸۷. اصول پرورش اسب. انتشارات نوربخش. ۴۷۹ ص.
12. Altinsa, c., Aykut, g.u., Nesrin, S. and Ahmet Ergun. 2009. Seasonal variation in serum Concentration of Melatonin, Testosterone and Progesteron in Arabian horse. Ankara University Veterinary Faculty. Department of obstetrics and gynaecology. 56: 19-24.
13. Boyd, M. A., Pozor, C. S. and Bailey, J. V. 2006. Effect of seasonality on testicular blood flow in mature stallion. Animal Reproduction Science, 94: 144-145



14. Casao, A., Cebrián, I., Eoda Asumpção, M., PérezPé, R., Abecia, J. A., Forcada, F., Pérez, J. C. and Blanco, T. M. 2010. Seasonal variations of melatonin in ram seminal plasma are correlated to those of testosterone and antioxidant enzymes. *Reproductive Biology and Endocrinology*. pp: 107-109.
15. Cox, J.E. and Skidmore, J.L. 1991. The effect of alternating month of long day and short day on plasma luteinising hormone and testosterone concentration in Welsh mountain pony stallions. *Animal Reproduction Science*, 25(1):51-55
16. Davies Morel, M. C. G. 2002. *Equine reproductive physiology, breeding and stud management*. 2th ed, CABI publishing. New York. pp: 44-45.
17. Elkon, I. I., Heleil, B. A. and Mahmoud, S. A. 2011. Effect of age and season on the testicular sperm reserve and testosterone profile in camel (*Camelus dromedarius*). *Anim, Reprod*. pp: 68-72.
18. Elliott, S. B. 2010. Effects of pituitary pars intermedia dysfunction (PPID), season, and pasture diet on blood adrenocorticotrophic hormone and metabolite concentrations in horses. *University of Tennessee – Knoxville*. PP: 82-88.
19. Gooraninejad, S., Barati, F., Najafzadeh Varzi, H. and Asghari, M. C. 2011. Serum Testosterone In Arabian Stallion During Breeding and non-breeding Seasons In Iran. *Africa Journal of biotechnology* Vol. 10(62). pp: 13636-13639.
20. Pérez, C. R., Forsberg, M. and Rodriguez, M. H. 2007. Seasonal variation in live weight, testes size, testosterone, LH secretion, melatonin and thyroxine in Merino and Corriedale rams in a subtropical climate. *Department of Animal Anatomy and Physiology Faculty of Agriculture*. pp: 524- 529.
21. Ben Saad, M. M. and D. L. Maurel. 2004. Reciprocal Interaction Between Seasonal Testis and Thyroid Activity in Zembra Island Wild Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*): Effects of Castration, Thyroidectomy, Temperature, and Photoperiod. *Biology of Reproduction*. 70, 1001 – 1009.
22. Wrench, N. 2007. Effect of Season on Sperm Membrane Protein 22 and Selected mRNAs in Fresh and Cryopreserved Stallion Sperm. *A Carolina State University in partial fulfillment. Animal Science. Animal.Sci*. 66: 215-225.
23. Zarazaga, L. A., Guzmán, J. L., Domínguez, C., Pérez, M.C. and Prieto, R. 2009. Effects of season and feeding level on reproductive activity and semen quality in Payoya buck goats. *Science Direct. Theriogenology*. pp: 1316–1325.

Study the effect of season on concentration of testosterone and the size of the scrotum in Arabian Stallion

Maddahi, Yavar¹; Mirzadeh, Khalil²; Tabatabaei, Saleh²; Mamouie, Morteza²; Najafzadeh, Hossein³

1- Msc Student, Department of Animal Science, Ramin Agricultural and Natural Resources University

2- Faculty members, Department of Animal Science, Ramin Agricultural and Natural Resources University

3- Faculty members, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University Ahwaz

Email Author Responsible: Yavarmaddahi@yahoo.com



Abstract

Reproductive season of male horse are not very clear. Since the blood testosterone concentration and scrotum size of stallion is influenced by season, these parameters may be involved in seasonal trend semen characteristics and sexual behavior. For this purpose, it was decided to study the effect of warm and cold season on testosterone and the size of the scrotum. Blood Sampling was done from jugular vein of 21 head of Arabian Stallions (350 to 500 kg), in summer (July) and winter (January) and after separation of serum, samples were transferred to laboratory. Testosterone hormone was measured by standard radio immunoassay (RIA). After the animal control, measurement the size of scrotum in two seasons was performed with meter (Caliper-like). Analyses of data had done by using ANOVA and Duncan's multiple range tests in the software program SPSS (Version 16). In this study, concentration of testosterone level showed no significant statistical difference between summer (2.9 ± 0.82 ng/ml) and winter (2.2 ± 0.22 ng/ml). The average size of scrotum was significant more than in the warm season (36.2 ± 0.78 cm) that cold season (32.06 ± 0.68 cm). This research shows that Arabian stallion have reproductive activities is all year round, but reproductive power in winter is less than summer because the light period shorter.

Keywords: Stallion- Season- testosterone- Scrotum



اثر عصاره هیدروالکلی شبدر قرمز روی پارامترهای حرکتی و سلامت غشا اسپرم قوچ

پریسا صوفی^{۱*}، فرهاد فرخی اردبیلی^۲، حسن ملکی نژاد^۲ و ایرج برنوسی^۲

۱ - دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه ارومیه

۲ - عضو هیئت علمی دانشگاه ارومیه

*نویسنده مسئول: پریسا صوفی، Sofiparisa@yahoo.com

چکیده

استروژن نقش مهمی در توسعه و کنترل سیستم تولیدمثلی جنس نر بازی می‌کند. ترکیبات استروژنی خواص بیولوژیکی خود را از طریق اتصال به گیرنده‌های ژنی و غیرژنی استروژن اعمال می‌کنند. هدف این مطالعه بررسی اثر احتمالی عصاره شبدر قرمز (بعنوان منبعی از فیتواستروژن‌های طبیعی) روی تحرک و سلامت غشا اسپرم قوچ می‌باشد. برای این منظور نمونه‌های حاوی اسپرم در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. منی از ۴ راس قوچ بالغ جمع‌آوری شد. مایع منی بوسیله‌ی رقیق‌کننده‌ی تریس که حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌ی برگ شبدر قرمز بود (۰، ۰/۵، ۱ و ۲٪) رقیق شد، در ۴ درجه سانتی-گراد نگهداری و در زمان‌های مختلف (۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) بررسی شد. تحرک اسپرم با استفاده از سیستم Computer Assisted Sperm Analyzer (CASA) بررسی شد. تست Hypoosmotic swelling test (HOST) برای بررسی سلامت غشا اسپرم استفاده شد. طرح فاکتوریل بوسیله نرم‌افزار SAS برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. عصاره شبدر قرمز با افزایش غلظت و زمان تمام پارامترهای حرکتی بجز BCF را بطور معنی‌داری ($p \leq 0.01$) کاهش داد. بعلاوه سلامت غشا اسپرم با استفاده از بیشترین غلظت عصاره شبدر قرمز بیشتر کاهش یافت. داده‌های ما نشان می‌دهد عصاره شبدر قرمز اثر منفی روی تحرک و سلامت غشا اسپرم قوچ دارد.

واژه‌های کلیدی: شبدر قرمز - فیتواستروژن - اسپرم قوچ - تحرک اسپرم

مقدمه

فیتواستروژن‌ها ترکیبات استروژنی هستند که در گیاهان یافت می‌شوند (۸). اخیراً نشان داده‌اند که عصاره شبدر قرمز حاوی مقادیر قابل توجهی از فیتواستروژن‌های دایزئین، بیوجنین و فورموننتین است و این امر نشان می‌دهد که شبدر قرمز می‌تواند جایگزینی برای هورمون درمانی و تعدیل‌کننده‌ی گیرنده‌های استروژنی باشد (۶).

در یک بررسی نشان دادند میش‌هایی که از شبدر استرالیایی استفاده کرده بودند غلظت هورمون‌های آندروژن پلاسمایی آنها غیرطبیعی و باروری آنها پایین بود (۴). اخیراً ثابت کرده‌اند که یک گیرنده غیرژنی استروژن روی غشا اسپرم انسان وجود دارد (۹)، و شبدر قرمز می‌تواند بعنوان لیگاند فعال‌کننده‌ی گیرنده‌ی استروژنی عمل کند (۳). در حیوانات آزمایشگاهی اثرات منفی مصرف استروژن یا ترکیبات شبه استروژنی را روی دستگاه تولیدمثلی جنس نر ثابت کردند (۱۱). بر اساس مطالعات فیتواستروژن‌ها در مردان باعث کاهش کیفیت اسپرم می‌شود (۲). بطورکلی فیتواستروژن‌ها در تولید مثل و باروری جنس نر اثرات آنتی‌آندروژنی دارد، و در جنین و در دوران پس از تولد ممکن است مانع تولید تستوسترون شود (۷). این اثرات فیتواستروژن‌ها روی باروری ممکن است باعث ایجاد این فرضیه شود که ترکیبات استروژنی موجود در شبدر احتمالاً اثرات مضر روی باروری دارد (۱۲).

تاکنون گزارشی در رابطه با اثر عصاره شبدر قرمز روی سلول بالغ اسپرم قوچ انجام نگرفته است. هدف این طرح بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ شبدر قرمز روی پارامترهای حرکتی و سلامت غشا اسپرم قوچ می‌باشد.



مواد و روش‌ها

برگ‌های شبدر قرمز پس از جمع‌آوری از شهرستان ارومیه و شناسایی در مرکز تحقیقات کشاورزی عصاره هیدروالکلی (متانول ۶۰٪) آن تهیه شد. جمع‌آوری منی از ۴ راس قوچ قزل با استفاده از مهبل مصنوعی انجام گردید. نمونه‌های منی پس از ارزیابی اولیه باهم مخلوط شدند و سپس با استفاده از رقیق کننده تریس-زرده تخم مرغ حاوی غلظت‌های مختلف عصاره برگ شبدر قرمز (۰، ۰/۵، ۱ و ۲٪) بصورت ۱۰۰ میلیون اسپرم در میلی‌لیتر رقیق شدند، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، و در ساعات ۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ از لحاظ تحرک و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای بررسی سلامت غشا اسپرم از تست تورم هیپواسموتیک (HOST) استفاده شد. برای این منظور ۲۰ میکرولیتر از هر نمونه با ۲۰۰ میکرولیتر محلول تست مخلوط شد، سپس ۱۰ میکرولیتر از آن توسط میکروسکوپ فازکتراس (Labomed LX400) با بزرگنمایی ۴۰x مشاهده شد و درصد اسپرم‌های با دم پیچیده (اسپرم‌های با غشا سالم) تعیین شد. برای بررسی پارامترهای حرکتی از سیستم CASA استفاده شد. برای این منظور ۱۰ میکرومول از هر نمونه روی لام قرار گرفت و بوسیله میکروسکوپ و سیستم CASA (sperm 2.1, VideoTest, Russia) مشاهده و بررسی شد. پارامترهای

اندازه‌گیری شده عبارتند از: Average path velocity (VAP ($\mu\text{m/S}$))

Straight line velocity (VSL ($\mu\text{m/S}$)). Curvilinear path velocity (VCL ($\mu\text{m/S}$))

Amplitude of lateral head displacement (ALH (μm)). Linearity (LIN (%))

Beat- cross frequency (BCF (Hz)). Straightness (STR (%))

داده‌ها بصورت طرح کاملاً تصادفی در قالب طرح فاکتوریل و با استفاده از نرم افزار SAS ($p \leq 0.05$) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر غلظت عصاره در مورد همه پارامترها و اثر زمان در مورد همه پارامترها بجز STR معنی‌دار بود ($p \leq 0.01$). اما اثر متقابل زمان و غلظت در مورد هیچ‌کدام از پارامترها معنی‌دار نبود. جدول ۱ نشان می‌دهد که کیفیت تحرک اسپرم‌ها بجز BCF در گروه کنترل بطور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود و با افزایش غلظت عصاره، پارامترهای حرکتی اسپرم‌ها بیشتر کاهش یافت. درصد اسپرم‌های با غشای سیتوپلاسمی سالم در گروه کنترل بطور معنی‌داری بیشتر بوده و با افزایش غلظت عصاره کاهش بیشتری می‌یابد.

با توجه به جدول ۲ با افزایش زمان تمامی پارامترهای مربوط به سرعت حرکت اسپرم‌ها (VAP، VSL و VCL) کاهش معنی‌داری داشتند. و در مورد پارامترهای معرف الگوی حرکتی اسپرم‌ها، تنها مقادیر LIN کاهش معنی‌داری داشت، ولی تغییرات مقادیر STR معنی‌دار نبود. همچنین با افزایش زمان نگهداری اسپرم‌ها درصد اسپرم‌های با غشا سالم نیز کاهش یافت. در این آزمایش اثرات مضر عصاره شبدر روی پارامترهای حرکتی و سلامت غشای سیتوپلاسمی اسپرم قوچ کاملاً مشهود بود.

در یک مطالعه گیاه گل بشقابی که حاوی ترکیبات فیتواستروژنی، فلاونوئیدها و تانن است در رت‌های نر باعث کاهش تحرک اسپرم شد (۱). بر اساس مطالعات فیتواستروژن‌ها در مردان باعث کاهش کیفیت اسپرم می‌شود (۲). در حیوانات آزمایشگاهی اثرات منفی مصرف استروژن یا ترکیبات شبه استروژنی را روی دستگاه تولیدمثلی جنس نر ثابت کردند (۱۱). رژیم غذایی حاوی ۲۰، ۳۰ و ۵۰ درصد سویا که حاوی ترکیبات فیتواستروژنی است در سیستم تولید مثل موش‌های نر آزمایشگاهی اثر



منفی داشت (۲). این نتایج موافق با نتایج ما هستند. لذا احتمالاً اثرات مضر مشاهده شده در آزمایش حاضر ناشی از اثرات فیتواستروژن‌های موجود در عصاره شبدر قرمز باشد.

در یک مطالعه اضافه کردن جنیستین در مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول اثر معنی‌داری روی میزان واکنش آکروزومی اسپرم‌های زنده قوچ نداشت (۵). در مطالعه دیگر افزودن ۱۰ میکرومول جنیستین به محلول انجماد اسپرم انسان، باعث بهبود اندکی در تحرک اسپرم‌ها شد (۱۰)، این تأثیر مثبت جنیستین را ناشی از اثرات آنتی‌اکسیدانتی آن دانسته‌اند. دلیل تناقض این مطالعات با تحقیق حاضر را می‌توان ناشی از اختلاف در غلظت فیتواستروژن‌های مورد استفاده و همچنین احتمالاً بدلیل وجود فیتواستروژن‌های متفاوت در شبدر قرمز، و تفاوت در طول دوره آزمایش دانست. بر اساس این تحقیق اضافه کردن عصاره شبدر قرمز باعث کاهش توانایی رقیق کننده زرده تخم مرغ-تریس در نگهداری اسپرم قوچ می‌شود. برای روشن تر شدن نتیجه انجام آزمایشات بیشتر ضروری بنظر می‌رسد.

جدول ۱- میانگین اثر عصاره برگ شبدر قرمز در پنج زمان روی پارامترهای اسپرم قوچ در غلظت‌های مختلف

HOST (%)	پارامترهای حرکتی اسپرم							غلظت عصاره
	STR (%)	LIN (%)	BCF (Hz)	ALH (μm)	VCL (μm/S)	VSL (μm/S)	VAP (μm/S)	
۵۳/۴±۱/۷۲ ^a	۷۰/۹±۱/۰۶ ^a	۲۱/۷±۱/۰۶ ^a	۸/۷±۰/۰۷ ^b	۱/۶±۰/۰۹ ^a	۹۲/۵±۴/۱۰ ^a	۲۳/۲±۱/۶۰ ^a	۳۰/۰±۲/۲۳ ^a	%۰
۴۳/۲±۲/۰۵ ^b	۶۴/۸±۱/۸۵ ^b	۱۸/۹±۱/۳۲ ^b	۹/۱±۰/۰۶ ^b	۱/۲±۰/۰۸ ^b	۷۶/۶±۵/۲۱ ^b	۱۸/۹±۱/۷۹ ^b	۲۵/۳±۲/۷۳ ^b	%۰/۵
۳۸/۶±۲/۱۸ ^c	۶۶/۳±۱/۷۲ ^b	۱۹/۲±۱/۳۱ ^b	۹/۰±۰/۰۴ ^b	۱/۲±۰/۰۷ ^b	۷۵/۶±۴/۶۳ ^b	۱۸/۱±۱/۶۶ ^b	۲۴/۵±۲/۵۲ ^b	%۱
۳۰/۰±۳/۰۱ ^d	۶۲/۷±۱/۶۱ ^b	۱۶/۵±۱/۴۷ ^c	۹/۰±۰/۰۵ ^b	۱/۰±۰/۰۸ ^c	۶۲/۰±۴/۹۸ ^c	۱۳/۷±۱/۶۶ ^c	۱۹/۳±۲/۷۶ ^c	%۲

در هر ستون میانگین‌هایی که با حروف متفاوت مشخص شده‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند. ($p \leq 0.01$)

جدول ۲- میانگین اثر چهار غلظت عصاره برگ شبدر قرمز روی پارامترهای اسپرم قوچ در زمان‌های مختلف

HOST (%)	پارامترهای حرکتی اسپرم							زمان (h)
	STR (%)	LIN (%)	BCF (Hz)	ALH (μm)	VCL (μm/S)	VSL (μm/S)	VAP (μm/S)	
۵۵/۱±۲/۱۳ ^a	۶۵/۱±۱/۷۰	۲۵/۲±۰/۹۶ ^a	۸/۷±۰/۰۷ ^b	۷/۱±۰/۰۶ ^a	۱۰۷/۹±۲/۷۸ ^a	۲۷/۲±۲/۶۱ ^a	۴۱/۸±۱/۵۱ ^a	۰
۴۴/۵±۲/۷۴ ^b	۶۷/۲±۱/۸۲	۲۰/۲±۱/۲۲ ^b	۸/۹±۰/۰۶ ^{a b}	۱/۴±۰/۰۷ ^b	۸۸/۵±۳/۴۷ ^b	۲۱/۶±۱/۴۲ ^b	۲۸/۷±۱/۷۰ ^b	۲۴
۳۸/۳±۲/۹۴ ^{b c}	۶۸/۱±۱/۹۲	۲۰/۳±۱/۳۳ ^b	۸/۹±۰/۰۷ ^{a b}	۱/۲±۰/۰۹ ^{b c}	۷۷/۶±۴/۷۴ ^b	۱۹/۲±۱/۷۸ ^{b c}	۲۵/۷±۲/۴۱ ^b	۴۸
۳۶/۳±۲/۷۵ ^{c d}	۶۴/۰±۰/۰۴	۱۵/۹±۱/۱۶ ^{b c}	۹/۰±۰/۰۶ ^a	۱/۰±۰/۰۷ ^c	۶۳/۸±۴/۱۵ ^c	۱۴/۲±۱/۵۳ ^{c d}	۱۷/۸±۱/۸۱ ^c	۷۲
۳۰/۸±۲/۴۶ ^d	۶۲/۲±۱/۹۲	۱۲/۵±۱/۰۶ ^c	۹/۰±۰/۰۴ ^a	۰/۸±۰/۰۶ ^d	۵۰/۲±۳/۷۹ ^d	۹/۱±۱/۳۳ ^d	۱۴/۱±۱/۶۵ ^c	۹۶

در هر ستون میانگین‌هایی که با حروف متفاوت مشخص شده‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند. ($p \leq 0.01$)

منابع

۱. حیدری، م.، جمشیدی، ا.ح.، اخوندزاده، ش.، غفاری نوین، م.، صادقی، م.، قاضی خوانساری، م.، و اخوندی، م.م. ۱۳۸۵. اثر گیاه گل بشقابی بر روند اسپرماتوزن. ص ۳۶۷ تا ۳۷۴.
۲. مدرسی، م.، مصری پور، م.، خرمی، ح. ۱۳۸۹. تأثیر تغذیه با دانه سویا بر فیزیولوژی تولیدمثل موش نر آزمایشگاهی. مجله ارمان دانش دوره ۱۵ شماره ۴ (پیاپی ۶۰).



- 3- Beck, V., E. Untrieder, L. Krenn, W. Kubelka and A. Jungbaure. 2003. Comparison of hormonal activity of standardized plant extract for large scale use in hormone replacement therapy. *Journal of Molecular Biology*. 84:259-268.
- 4- Bennett, H.W., E.J. Underwood and F.L. Shier. 1946. A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in Western Australia. *Australian Veterinary Journal*. 22:2-12.
- 5- Bryant, W.D., A.A. Grippo, D.W. Kennedy and W.D. Humphrey. 2000. Effects of genistein on viability and acrosome reaction on ram sperm using a dual fluorescent staining procedure. *Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science*. 74: 157-168.
- 6- Dornstauder, E., E. Jisa, I. Unterrieder, L. Krenn and W. Kubelka. 2001. Food supplement on reproductive health in normal males. *Journal Clinical Science*. 100: 613-8.
- 7- Haavisto, T., K. Numela, R. Pohjanvirta, H. Huuskonen, F. El-Gehani and J. Paranko. 2001. Prenatal testosterone and LH levels in male rats exposed during pregnancy to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and diethylstilbestrol. *Journal Molecular and Cellular Endocrinol*. 178:169-179.
- 8- Kurzer, M.S. 1997. Dietary phytoestrogens. *Journal Nutrition Reviews*. 17:353-381.
- 9- Luconi, M., M. Muratori, G. Forti and E. Baldi. 1999. Identification and characterization of an oval functional estrogen receptor on human sperm membrane that interferes with progesterone effects. *Journal Endocrinology and Metabolism*. 84:1670-1678.
- 10- Martinez-Soto, J.C., J. DiosHourcade, A. Gutiérrez-Adán, L.J. Lorenzo Landeras and Gadea, J. 2010. Effect of genistein supplementation of thawing medium on characteristics of frozen human spermatozoa. *Asian Journal of Andrology*. 12:431-441
- 11- Mclachlan, J.A., R.R. Newbold and B. Bullock. 1975. Reproductive tract lesions in male mice exposed prenatally to diethylstilbestrol. *Journal animal Science*. 190: 991-992.
- 12- Shutt. D.A. 1976. The effects of plant oestrogens on animal reproduction. *Journal Endeavour*. 35:110-113.

Effect of red clover hydroalcoholic extract on motility and membrane integrity of ram sperm
Parisa Soufi^{1*}, Farhad Farrokhi Ardebily², Hasan Malekinejad², Eiraj Bernoosy²

1-MSc student of Animal Physiology, urmia University

2- Members of scientific boards, department of urmia University, Iran

* Corresponding: Parisa Soufi, sofiparisa@yahoo.com

Abstract

Estrogens are playing key roles in male reproductive development. Estrogens and estrogen-like compounds exert their biological effects via binding to estrogen receptors. In this study we aimed to investigate the possible effects of red clover (RC) hydroalcoholic extract (as a natural source of phytoestrogens) on ram sperm motility and membrane integrity during the storage period at 4 °C. semen samples, collected from 4 adult rams. The semen samples were diluted with Trice solution containing various concentrations (0, 0.5, 1 and 2 %) of RC leaves extract stored for different periods of time (0, 24, 48, 72 and 96 h) at 4 °C. Sperm motility was assessed using the computer assisted sperm analyzer (CASA). The hypo-osmotic sperm swelling test (HOST) was also performed to evaluate the sperm cells membrane integrity. The factorial procedure of SAS system was used to analysis of data. RC extract in a concentration- and time-dependent fashion declined significantly ($P < 0.01$) all the motility factors except the BCF. Moreover, sperm membrane integrity was attenuated by using high



concentration of RC extract. Our data suggest that RC extract exerts negative impact on sperm motility and membrane integrity.

Key words: Red Clover – phytoestrogen - Ram Sperm - Sperm Motility



پلازما و آغوز و عملکرد G و سلنیوم در اواخر آبستنی بر غلظت ایمونوگلوبولین E تأثیر تزریق سطوح مختلف مکمل ویتامین های سنجابی و بره های آنها تولید آغوز میش

محمد طاهر جلیلیان^{۱*}، محمد مهدی معینی^۲، کیوان کرکودی^۱

دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه^۱ - دانشگاه رازی کرمانشاه^۲

* نویسنده مسئول: محمد طاهر جلیلیان، mtaherjalilian@gmail.com

چکیده

در این تحقیق اثر سطوح مختلف مکمل ویتامین E و سلنیوم (Se) در اواخر آبستنی میش ها بر مقدار آغوز تولیدی و غلظت ایمونوگلوبولین G موجود در آغوز و پلازما ی میش ها و بره های آنها مورد بررسی قرار گرفت. بیست و هفت رأس میش بطور تصادفی به ۳ گروه تقسیم شدند. ۴ و ۲ هفته قبل از زایش بترتیب ۵ و ۱۰ میلی لیتر مکمل سلنیوم و ویتامین E به میش های گروه دوم و سوم تزریق شد و گروه اول بعنوان شاهد در نظر گرفته شدند. چهار هفته قبل از زایش و روز زایش از میش ها، بره ها در زمان تولد و در یک هفتگی خونگیری شد. غلظت IgG آغوز و پلازما به روش الایزا و تولید آغوز ۱۰، ۱۸ و ۱۰ ساعت پس از زایش اندازه گیری شد. میانگین تولید آغوز در گروه سوم در ساعات ۱۰ و ۱۸ پس از زایمان همچنین میانگین غلظت IgG آغوز گروه سوم در ساعت اول پس از زایمان به طور معنی داری افزایش یافت ($p > 0/05$). اما در غلظت IgG پلازما میش ها چهار هفته قبل از زایش و زمان زایش، همچنین غلظت IgG پلاسمای بره ها در روز تولد و یک هفتگی و غلظت IgG آغوز در ساعات ۱۰ و ۱۸ پس از زایش اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0/05$). لذا نتایج آزمایش حاضر بیان گر آن است که تزریق این مکمل سبب بهبود وضعیت سیستم ایمنی و عملکرد میش های سنجابی و بره هایشان شده است.

واژه های کلیدی: سلنیوم - ویتامین E - ایمونوگلوبولین G - آغوز - میش سنجابی

مقدمه

ویتامین E و سلنیوم (Se) از جمله مواد مغذی هستند که در اواخر آبستنی غلظت آنها درخون و بافت مادرکاهش می یابد و از آنجاکه Se جزئی از آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز^۱ است، کاهش فعالیت این آنزیم نیز در دام قابل پیش بینی است (۱) و (۲). تجویز این دو ماده با هم باعث بالا رفتن توان ایمنی، افزایش فعالیت فاگوسیتوزی نوتروفیلها و ماکرو فاژها و بهبود عملکرد دام شده است (۱،۳). کریستالدی و همکاران (۱) نیز نشان دادند که افزایش سلنیوم مصرفی در جیره گوسفند باعث افزایش غلظت سلنیوم در سرم شد. حیدر اغلو و همکاران (۵) نشان دادند که بین گروه شاهد و تیمار آزمایشی که مکمل دریافت کرده بودند اختلاف معنی داری در غلظت IgG_1 ، IgG_2 وجود نداشت، اما غلظت IgM در تیمار آزمایشی بالاتر از گروه شاهد بود (۳). در این تحقیق اثرات تجویز سطوح مختلف مکمل ویتامین E و Se بر میزان تولید آغوز و غلظت ایمونوگلوبولین G پلازما و آغوز میش ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

¹ - Glutathione peroxidase

تعداد بیست و هفت رأس میش نژاد سنجابی اصلاح شده هم سن با خصوصیات ظاهری و ژنتیکی مشابه (همگی کژل) با میانگین وزن 69 ± 4 کیلوگرم (میانگین $\pm$ انحراف معیار) در واحد گوسفند داری ایستگاه تحقیقاتی دامپروری مهرگان شهرستان کرمانشاه انتخاب و بطور تصادفی به ۳ گروه تقسیم شدند. ۴ و ۲ هفته قبل از زایش بترتیب ۵ و ۱۰ میلی لیتر مکمل سلنیوم و ویتامین E به میش های گروه دوم و سوم در دو مرحله تزریق عضلانی صورت گرفت. هر میلی لیتر مکمل حاوی ۰/۵ میلی گرم سلنیوم به فرم نمک سلنیت سدیم و ۵۰ IU ویتامین E بصورت دی ال - آلفاتوکوفرل بود. ۴ هفته قبل از زایش قبل از تزریق اول و در زمان زایش از میش ها و بره ها زمان تولد قبل از خوردن آغوز و در یک هفتگی از ورید و داج گردنی خونگیری و نمونه ها برای تهیه پلاسما در ویال های ونوجکت^۱ ۸ml جمع آوری شده و جهت جدا سازی پلاسما در سانتریفوژ با ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و پلاسما بدست آمده بوسیله سمپلر برای هر نمونه در دو تکرار داخل میکرو تیوب ریخته شده و تا زمان آزمایش در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. میزان تولید آغوز و IgG آغوز در ساعات ۱، ۱۰، و ۱۸ پس از زایمان و میزان IgG پلاسما در میش ها چهار هفته قبل از زایمان و زمان زایمان و در بره ها زمان تولد قبل از خوردن آغوز و یک هفتگی اندازه گیری شد. غلظت IgG آغوز و پلاسما به روش الیزا بر اساس متد کرودر^۲ اندازه گیری گردید. آزمایش بر اساس طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین ها با روش چند دامنه ای دانکن انجام و تجزیه و تحلیل داده ها نیز توسط نرم افزار spss انجام شد.

$$X_{ijkm} = \mu + T_j + \varepsilon_{ij} \quad \text{مدل آماری طرح :}$$

در این فرمول X_{ij} نشان دهنده مقدار عددی هر مشاهده در آزمایش، μ میانگین کل جامعه ای است که از طریق نمونه ها با فرض صفر مورد بررسی قرار گرفتند، T_j نشان دهنده اثر مکمل آزمایشی است و ε_{ij} نشان دهنده اثر خطا است. بنابراین مقدار عددی هر مشاهده از مجموع اثرات تیمار، خطای آزمایشی و میانگین کل جامعه حاصل میشود و تغییرات مربوط به اثر تیمارها و خطای آزمایشی می باشد. سطح معنی دار آزمون برابر ۵٪ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

میانگین غلظت IgG پلاسما در گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی ۲ و ۳، چهار هفته قبل از زایش، به ترتیب ۲۰۴۰، ۱۹۹۵ و ۲۰۲۵ میلی گرم دردسی لیتر بود (جدول ۱). با مقایسه میانگین داده ها، از نظر آماری تفاوت معنی داری بین گروه ها مشاهده نشد ($p > 0/05$). علت این امر احتمالاً به شرایط یکسان تغذیه ای، پرورشی، فیزیولوژیکی و محیطی یکسان میش ها مربوط میشود. میانگین غلظت IgG پلاسما در گروه کنترل و تیمارهای آزمایشی، در روز زایش، به ترتیب ۱۸۱۵، ۱۸۶۰ و ۱۸۸۰ میلی گرم دردسی لیتر بود که از نظر آماری تفاوت معنی داری بین گروهها مشاهده نشد ($P > 0/05$). در تمام گروه ها غلظت IgG در روز زایش پایین تر از یک ماه قبل از زایش بود، که احتمالاً به دلیل انتقال IgG از خون به آغوز می باشد. ۱ IgG و IgG_۲ با یک مکانیسم بسیار اختصاصی از خون به آغوز منتقل می شوند. بنابراین غلظت IgG در مادر ۲ تا ۳ هفته قبل از زایش کاهش می یابد و چندین هفته زمان لازم است تا غلظت IgG پلاسما، به وضعیت اولیه خود برسد. این نتایج با نتایج لاسترا و همکاران (۵) مطابقت داشت.

جدول ۱ میانگین غلظت IgG پلاسما میش ها (میلی گرم دردسی لیتر)

^۱ -Venoject

^۲ -Crowther



غلظت ایمونوگلوبولین پلاسما	گروه شاهد	تیمار ۲	تیمار ۳
میش یک ماه قبل از زایش	$^{a}94 \pm 20.40$	$^{a}90 \pm 19.95$	$^{a}88 \pm 20.25$
میش روز زایش	$^{a}87 \pm 18.15$	$^{a}83 \pm 18.60$	$^{a}68 \pm 18.80$

میانگین $\pm$ خطای استاندارد ($\mu \pm SE$). اعداد موجود در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی داری هستند ($p < 0.05$)

میانگین غلظت IgG پلاسما بره ها (جدول ۲) در زمان تولد و یک هفتگی نیز تفاوت معنی داری در بین گروه های آزمایشی مشاهده نشد ($p > 0.05$).

جدول ۲ میانگین غلظت IgG پلاسما بره ها (میلی گرم در دسی لیتر)

غلظت ایمونوگلوبولین پلاسما	گروه شاهد	تیمار ۲	تیمار ۳
بره زمان تولد (قبل از خوردن آغوز)	$^{a}4 \pm 10.1$	$^{a}5 \pm 10.6$	$^{a}6 \pm 11.0$
بره در یک هفتگی	$^{a}59 \pm 11.80$	$^{a}39 \pm 12.00$	$^{a}61 \pm 11.60$

میانگین $\pm$ خطای استاندارد ($\mu \pm SE$). اعداد موجود در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی داری هستند ($p < 0.05$)

بولند و همکاران در مطالعات متعدد بر روی بره به نتایج مشابه با این مطالعه دست یافتند و نشان دادند که تفاوت معنی داری در غلظت IgG بره ها ی گروه های آزمایشی وجود ندارد (۷ و ۶). حیدر اغلو و همکاران نشان دادند که بین گروه شاهد و تیمار آزمایشی که مکمل ویتامین E دریافت کرده بودند اختلاف معنی داری در غلظت IgG_1 , IgG_2 وجود نداشت، اما غلظت IgM در تیمار آزمایشی بالاتر از گروه شاهد بود. همین محقق در مطالعه دیگری نشان داد غلظت IgG_1 , IgG_2 , IgM, IgG گوساله هایی که ۲۷۰۰ واحد بین المللی مکمل ویتامین E گرفته بودند اختلاف معنی داری با گروه شاهد نداشت (۳).

میانگین غلظت IgG آغوز در گروه های آزمایشی در جدول ۳ مشاهده میشود همانطور که در جدول قابل ملاحظه است غلظت IgG آغوز در ساعت اول پس از زایمان در گروه سوم به صورت معنی داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ولی در ساعات ۱۰ و ۱۸ پس از زایمان تفاوت معنی داری میان گروه ها مشاهده نشد ($P > 0.05$).

جدول ۳ میانگین غلظت IgG آغوز میس ها (گرم در لیتر)

غلظت ایمونوگلوبولین آغوز	گروه شاهد	تیمار ۲	تیمار ۳
یک ساعت پس از زایمان	$^{b}0.84 \pm 8.6/48$	$^{b}0.81 \pm 8.6/78$	$^{a}1/0.06 \pm 9.0/01$



$^{a}1/19 \pm 50/25$	$^{a}1/06 \pm 50/30$	$^{a}1/32 \pm 51/04$	۱۰ ساعت پس از زایمان
$^{a}0/74 \pm 19/9$	$^{a}0/81 \pm 20/4$	$^{a}0/92 \pm 21/04$	۱۸ ساعت پس از زایمان

میانگین $\pm$ خطای استاندارد ($\mu \pm SE$). اعداد موجود در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی داری هستند ($p < 0/05$)

بولند و همکاران نیز نشان دادند که گوسفندانی که سطوح بالاتری ویتامین E و مواد معدنی حاوی سلنیوم مصرف کرده بودند در ساعت اول پس از زایمان IgG آغوز به طور معنی داری نسبت به سایر گروه ها افزایش پیدا کرد (۷). همین محقق در مطالعه دیگری نشان داد که گوسفندانی که درصد بالاتری از بلوک های مواد معدنی را به همراه ویتامین E در اواخر آبستنی مصرف کرده بودند IgG آغوز در ساعت اول پس از زایمان به طور معنی داری افزایش یافت (۸). میانگین تولید آغوز گروه کنترل و تیمارهای آزمایشی گروه دوم و سوم در جدول ۴ نشان داده شده است. با مقایسه میانگین داده ها، از نظر آماری گروه سوم در ساعات ۱۰ و ۱۸ پس از زایمان افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد داشت و در سایر گروهها و ساعات تفاوت معنی داری از لحاظ آماری مشاهده نشد ($P > 0/05$). معینی و همکاران در مطالعه ای نشان دادند که سطوح مختلف سلنیوم و ویتامین E اثر افزایشی معنی داری بر آغوز گاوهای شیری ندارد (۶). اما بولند و همکاران به نتایج مشابهی با این مطالعه دست یافتند (۷).

جدول ۴ میانگین تولید آغوز میش ها (میلی لیتر)

تیمار ۳	تیمار ۲	گروه شاهد	میزان تولید آغوز
$^{a}5/18 \pm 50/3/88$	$^{a}7/02 \pm 50/7/77$	$^{a}6/61 \pm 50/1/66$	یک ساعت پس از زایمان
$^{a}5/83 \pm 65/2$	$^{b}5/89 \pm 60/2/77$	$^{b}6/27 \pm 59/1/11$	۱۰ ساعت پس از زایمان
$^{a}3/72 \pm 60/8$	$^{b}3/22 \pm 53/0$	$^{b}6/51 \pm 52/2/77$	۱۸ ساعت پس از زایمان

میانگین $\pm$ خطای استاندارد ($\mu \pm SE$). اعداد موجود در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی داری هستند ($p < 0/05$)

منابع

1. Cristaldi, L. A., L. R Mc Dowel, C.D. Buergelt, P. A. Davis, N. S. Wilkinson, F. G. Martin (2005). Tolerance of inorganic selenium in wether sheep. Small Ruminant Res. 56 : 205-213.
2. Davis, P.A., L.R. McDowell, N.S. Wilkinson, C.D. Buergelt, R. Van Alstyne, R.N. Weldon, T.T. Marshall (2006). Effects of selenium levels in ewe diets on selenium in milk and the plasma and tissue selenium concentration of lamb. Small Ruminant Res. 65: 14- 23.
3. Hidiroglou, M., T.R. Batra, L.F. Laflamme, F. Markham (2004). Possible roles of vitamin E in immune response of calves. Int. J. Vit. Nutr. Res. 62:308-311.
4. John R. C, 2009. The ELISA Guidebook", Second Edition, ISBN: 978-1-60327-253-7, Humana Press, a part of Springer Science + Business Media, LLC 2009.



5. Lacetera , N., U., Bernabuci, B. Ronchi and A.Nardone(1996). Effects of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrum and milk Production in dairy cows and on passive immunity and growth of their offspring. *Am. J. Vet. Res.* 57(12): 1776-1780.
6. Moeini. M. M, Amir Kiani, Elham Mikaeili, Hamed Karami Shabankareh. 2011. Effect of Prepartum Supplementation of Selenium and Vitamin E on Serum Se, IgG Concentrations and Colostrum of Heifers and on Hematology, Passive Immunity and Se Status of Their Offspring. *Biol Trace Elem Res.* 144:529 – 537.
7. T. M. Boland, N. Keane, P. Nowakowski, P. O. Brophy and T. F(2005). Crosby. High mineral and vitamin E intake by pregnant ewes lowers colostral immunoglobulin G absorption by the lamb. 2005, 83:871-878. *J ANIM SCI*.
8. T. M. Boland, P. O. Brophy, J. J. Callan, P. J. Quinn, P. Nowakowski and T. F. Crosby(2004). The effects of mineral-block components when offered to ewes in late pregnancy on colostrum yield and immunoglobulin G absorption in their lambs. *Animal Science* 2004, 79: 293-302.
9. Thorson, B. J. Karren, M. L. Bauer, C. A. Cavinder, J. A. Coverdale and C. J. Hammer(2009). Effect of selenium supplementation and plane of nutrition on mares and their foals. *J ANIM SCI* 2010, 88:982-990

Effect of Selenium and vitamin E supplementation during late of pregnancy on plasma and colostrums IgG concentration and colostrums production of Sanjabi ewes and their lambs

Jalilian M.T. ^{*1}, Moeini M.M. ² and Karkodi K.¹

1-Azad University of saveh, Department of Animal Sciences saveh, Iran

2-University of Razi, Department of Animal Sciences Kermanshah, Iran

*Corresponding E-mail address: mtaherjalilian@gmail.com

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of Selenium and vitamin E supplementation during late of pregnancy on plasma and colostrums IgG concentration and colostrums production of Sanjabi ewes and their lambs .Twenty seven Sanjabi ewes were randomly assigned to three treatments groups. Four and two weeks before expected lambing, the ewes were injected intramuscularly 0 ml (c) 5 ml (T1), 10 ml (T2), selenium and vitamin E respectively. Blood samples were collected from ewes four weeks before expected lambing and lambing day. Blood samples of lambs were taken from the jugular vein at birth and 7 days of age. Colostrums samples were collected after lambing. Colostrums and plasma IgG concentrations were measured by sandwich ELISA method, in accordance with the technique described in the reference (John R. Crowther 2009). The changes of mean values of plasma IgG and colostrums IgG concentrations at 10 and 18 hours postpartum did not differ significantly among ewes and their lambs($p<0.05$). The mean colostrums production at 10 and 18 hours postpartum and colostrums IgG concentrations at one hour postpartum increased in ewes of T2 group ($p<0.05$). Therefore, the present results indicated that Selenium and vitamin E supplementation resulted in improving immune system and performance of ewes and their lambs.

Keywords: Selenium- vitamin E- Immunoglobulin G- colostrums- Sanjabi ewes



اثر رقیق کننده سیترات سدیم در نگهداری اسپرم

فاطمه سلطانپور^۱، غلامعلی مقدم^۲، حسین دقیق کیا^۲، سیدعباس رافت^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ۲- گروه علوم دامی،

دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

نویسنده مسئول: فاطمه سلطانپور، fatemesoltanpor@yahoo.com

چکیده

اجرای یک تلقیح مصنوعی موفق نیازمند اسپرم گیری موفق و ارزیابی اسپرم و اضافه کردن صحیح مواد نگهدارنده برای افزایش مدت زمان ماندگاری اسپرم هست. این تحقیق به منظور بررسی اثر سیترات سدیم همراه با زرده تخم مرغ برای نگهداری اسپرم بصورت مایع در دمای ۴ درجه سانتیگراد یخچال در روی ۴ راس قوچ در ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان انجام گرفت و بعد از عادت دهی قوچ ها، اسپرم گیری از تمام قوچ ها در ماه های مهر، آبان و آذر هر هفت روز یکبار انجام گرفت. نمونه ها بعد از انتقال فوری به آزمایشگاه از نظر صفاتی مانند حجم، رنگ، مشاهده جوشان قلیانی در داخل لوله مدرج، حرکت موجی، PH، حرکت پیش رونده، درصد زنده مانی و غلظت مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس سیترات سدیم همراه با زرده تخم مرغ برای نگهداری اسپرم مایع بمدت ۳ روز به منی اضافه شده بود. اثر روزهای نگهداری و ماه اسپرم گیری بر روی pH کاملاً معنی دار ($P < 0/01$) بود. اثر ژنتیک و اثر متقابل ماه اسپرم گیری و نژاد هم روی pH اسپرم معنی دار ($P < 0/05$) بود. و اثر روز نگهداری و ماه و ژنتیک روی تحرک کاملاً معنی دار ($P < 0/01$) بود. اثر ژنتیک هم روی حرکت موجی که از خصوصیات ارزیابی اسپرم هست تاثیر معنی داری ($P < 0/05$) داشت. و اثر ماه اسپرم گیری بر روی غلظت تاثیر معنی داری ($P < 0/05$) داشت و اثر ژنتیک و ماه اسپرم گیری هم بر روی حجم تاثیر معنی داری نداشت. این مطالعه نشان داد که افزودن رقیق کننده سیترات سدیم به عنوان بافر باعث افزایش مدت زمان ماندگاری اسپرم گردید.

کلمات کلیدی: اسپرم مایع - رقیق کننده - تلقیح مصنوعی

مقدمه

وقتی برای آبستنی از تلقیح مصنوعی استفاده می شود نسبت بهبود برنامه های ژنتیکی در مقایسه با حالت طبیعی افزایش می یابد (۷). با توسعه تلقیح مصنوعی هزینه های پرورش قوچ در گله حذف شده و می توان از اسپرم هایی که از نظر ژنتیکی در سطح بالایی قرار دارند جهت آبستن کردن میش های ماده و به حداکثر رساندن توسعه ژنتیکی استفاده کرد (۹). متأسفانه اسپرم قوچ بطور سریع در دمای اتاق زود تحرک خود را از دست می دهد. در نتیجه در حالت عادی انتقال اسپرم به نقاط دور غیر ممکن می گردد (۵). برای حفظ دام های بومی و جلوگیری از انقراض این ذخایر ژنتیکی ارزشمند لازم است که بخشی از تحقیقات در زمینه روش های مطلوب حفظ و انتقال این ژن ها به نسل های آینده اختصاص یابد. بنابراین میتوان با بهبود روشهای نگهداری اسپرم بصورت کوتاه مدت در جهت نیل به این اهداف تأثیر گذار بود (۹).

مدت ماندگاری اسپرم بدون افزودن مواد نگهدارنده کم می باشد. کلاً مدت ماندگاری اسپرم قوچ بعد از افزودن مواد نگهدارنده به شکل مایع بیش از چند روز نمی باشد. بطور متداول برای رقیق کردن منی قوچ از رقیق کننده های سنتتیک یا طبیعی (شیرگاو با ۷/۰ درصد چربی) استفاده می شود. هدف از اضافه کردن رقیق کننده ها، تامین انرژی مورد نیاز سلول های اسپرم، حفاظت سلول های اسپرم از آسیب های دمایی، کاهش استرس های فیزیکی و شیمیایی ناشی از سرد کردن و در نهایت ایجاد یک محیط ایزوتونیک برای زنده ماندن موقت اسپرم ها می باشد. در صورتیکه منی با غلظت و تحرک خوب به صورت ۱



به ۱ با رقیق کننده سیترات سدیم رقیق شود درجه حرارت آن در مدت ۲-۱٫۵ ساعت به ۵ درجه سانتیگراد کاهش می-یابد. (۶).

مواد و روشها

این مطالعه در ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان انجام گرفت. قبل از شروع طرح قوچ ها به مدت ۳-۲ هفته برای اسپرم-گیری عادت دهی شدند. این تحقیق بر روی ۲ راس قوچ قزل-مرینوس و ۲ راس قوچ مرینوس- مغانی ۳ ساله در ماه های مهر، آبان، آذر سال ۱۳۹۰ انجام شد. اسپرم گیری هر هفت روز یکبار انجام میشد ولی برای نگهداری اسپرم مایع اسپرم گیری هر چهارده روز یکبار انجام میشد. بعد از جمع آوری اسپرم آزمایشاتی از جمله حجم، رنگ، مشاهده حرکت توده ای یا حرکت قلیانی در داخل لوله مدرج، حرکت موجی که از خصوصیات ارزیابی اسپرم می باشد، pH، حرکت پیشرونده، درصد زنده مانی (برای رنگ آمیزی از اتوزین-نیگروزین استفاده می شد) و غلظت بررسی شد. سپس از سیترات سدیم بعنوان بافر و زرده تخم مرغ برای حفاظت سلولهای اسپرم در برابر شوک سرمایی برای نگهداری اسپرم مایع در یخچال (در ۴ درجه سانتیگراد) استفاده شد. که حاوی ۸۰ میلی لیتر سیترات سدیم ۲/۹٪، ۲۰ میلی لیتر زرده تخم مرغ، ۱۰۰۰۰۰ واحد پنی سیلین و ۱۰۰ میلی گرم استرپتومایسن بود. سپس منی به نسبت ۱ به ۱ با رقیق کننده رقیق شد. و پایوت ها بعد از پر کردن بمدت ۲-۱٫۵ ساعت در یخچال گذاشته شدند تا دمای آن به ۵ درجه سانتیگراد کاهش یابد. سپس پایوتها در دمای ۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳ روز نگهداری شدند. و در هر روز اسپرم موجود در داخل پایوتها از نظر pH، درصد زنده مانی و حرکت پیشرونده مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده ها توسط مدل خطی مختلط با استفاده از Proc mixed نرم افزار sas آنالیز شدند که در آن قوچ بعنوان اثر تصادفی، زمان و نوع رقیق کننده بعنوان اثر ثابت در نظر گرفته شد.

$$Y_{ijkl} = \mu + D_i + T_j + G_k + R_l + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl} صفت مورد مطالعه، μ میانگین جامعه، D_i نوع رقیق کننده، T_j مدت زمان نگهداری، G_k ژنتیک، R_l قوچ، e_{ijkl}

اثر باقیمانده مدل می باشد.

نتایج و بحث

خصوصیات اسپرم در جدول ۱ نشان داده شده است. حجم اسپرم ۰/۷-۱/۶ بود. ژنتیک و تاریخ بر روی حجم تاثیر معنی داری نداشت.

جدول ۱. خصوصیات اسپرم قبل از رقیق کردن

پارامترها	مقدار	میانگین
حجم (ml)	۰/۷-۱/۶	۱/۱
تحرك موجی	۴/۵-۵	۴/۸
غلظت	۴/۶*۱۰ ^۹ -۶*۱۰ ^۹	۵/۳*۱۰ ^۹

جدول ۲. اثر روزهای نگهداری روی زنده مانی، حرکت پیش رونده و pH

زمان نگهداری	pH	زنده مانی (درصد)	حرکت پیشرونده (درصد)
۰	۶/۹۵	۸۷/۱۷	۸۲/۷۱
۱	۶/۷۸	۸۰/۹۶	۷۶/۱



۷۲/۵	۷۶/۹۲	۶/۶۳	۲
۶۸/۱۴	۷۲/۵	۶/۵	۳

جدول ۳. اثر ژنتیک روی زنده مان، حرکت پیشرونده و pH.

حرکت پیشرونده (درصد)	زنده مان (درصد)	PH	نژاد
۷۶/۳۳	۸۰/۷۸	۶/۷	مرینوس - مغانی
۷۹/۳۹	۷۸	۶/۶۹	قزل - مرینوس

اثر روز نگهداری و ماه اسپرم گیری بر روی pH کاملاً معنی دار ($P < 0.01$) بود. اثر ژنتیک و اثر متقابل ماه اسپرم گیری و نژاد و سن قوچ هم بر روی pH معنی دار ($P < 0.05$) بود. ژنوتیپ حیوانی مختلف در روی ویژگی های اسپرم اثر متفاوت می گذارد برخی نژادها مثل دورست، مرینوس و رامبویه از فصل تولیدمثل طولانی تری برخوردار هستند (۱). افزایش زمان نگهداری باعث تجمع اسید لاکتیک می شود که این هم باعث کاهش pH می شود (۶). اثر روز نگهداری و ماه اسپرم گیری و ژنتیک و سن در روی تحرک کاملاً معنی دار ($P < 0.01$) بود. کاهش pH باعث کاهش نرخ تحرک و زنده مان اسپرماتوزوا می شود (۴). با افزایش سن قوچ، تعداد کل اسپرم به ازای هر انزال، تحرک موجی و درصد اسپرم های زنده افزایش می یابد (۳). با افزایش زمان نگهداری تجمع CO_2 رخ می دهد و غلظت بالای CO_2 باعث کاهش تحرک اسپرماتوزوا می شود (۲). اثر روز نگهداری و ماه اسپرم گیری و ژنتیک و سن در روی حرکت پیشرونده کاملاً معنی دار ($P < 0.01$) بود. اثر ژنتیک هم در روی حرکت موجی تاثیر معنی داری ($P < 0.05$) داشت. و اثر ماه اسپرم گیری بر روی غلظت تاثیر معنی داری ($P < 0.05$) داشت. ویژگی های مایع منی بر حسب ماه و سال و بین نژادهای مختلف متفاوت هست (۱۱). نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد اثر منفی در تحرک و زنده مان اسپرم می گذارد و با افزایش روز نگهداری، pH، درصد اسپرم های زنده و حرکت پیش رونده کاهش می یابد (۸). همچنین با افزایش روزهای نگهداری تحرک، درصد حرکت پیشرونده و درصد زنده مان کاهش می یابد (۱۰).

سیترات سدیم یکی از مواد تشکیل دهنده سمینال پلاسمای منی دامها می باشد. و با افزودن سیترات سدیم بعنوان بافر و زرده تخم مرغ برای حفاظت اسپرم مدت ماندگاری اسپرم در مقایسه با حالتی که رقیق کننده اضافه نمی شود افزایش می یابد.

منابع

۱. -۱ دقیق کیا، ح.، مقدم، غ و وفایی، غ. ۱۳۸۵. فیزیولوژی تولیدمثل در حیوانات مزرعه ای. جلد اول. ویرایش هفتم. ۱۹۹-۱۹۳.

۲- ضمیری، م. ج. ۱۳۸۵. فیزیولوژی تولید مثل. چاپ اول. ۵۰-۴۶.

3. Ahmed, M.G., Mohammad J. T., Rami, T. K., 2004. Factors affecting semen characteristics and scrotal circumference in Damascus bucks. Small Rum. Res. 53, 141-149.

4. Baker john, R., 1935. Chemical control of contraception. Champan and Hall, Ltd. London



5. Bucak, M.N and Tekin, N. 2007. Protective effect of taurine, glutathione and trehalose on the liquid storage of ram semen. *Small Ruminant Research*. 73:103-108.
6. Evanc G. 1987. *Salmons artificial insemination of sheep and goats*. Star printery pty ltd: 107-139.
7. Ohara, L., Hanrahan, J.P., Richardson, L., Donovan, A., Fair, S., Evance, A.C.O and Lonergan, P. 2010. Effect of storage duration , , storage temperature and diluent on the viability and fertility of fresh ram sperm. *Theriogenology*. 73: 541-549.
8. Preservage, S., Hassan, M.R., Ershaduzzaman, M and Khandoker, M.A.M.Y. 2009. Preservation of liquid semen and artificial insemination in native sheep. *J. Bangladesh Agril. Unive*. 7: 305-308.
9. Salamon, S and Maxwell, W.M.C. 2000. Storage of ram semen. *Anim. Reprod. Sci*. 62:77-111.
10. Yaniz, J.L, mateos, J. and sanolaria. 2011. Zwitterionic buffers preserve ram semen quality more efficiently than TRIS during storage at 15 °C. *Small ruminant research*. 95:54-60
11. Zamiri, M. J., Khodaei, H. R. 2005. Seasonal thyroidal activity and reproductive characteristics of Iranian fat- tailed rams. *Anim. Reprod. Sci*. 88, 245-255

Abstract

Semen collection and sperm evaluation and addition of preservatives for increasing storage of sperm are essential for Successful artificial insemination. This study was conducted on 4 rams to evaluate effect of egg yolk- citrate diluter of ram semen for liquid storage at 4°C in refrigerator in khalat poshan research station. After rams were trained to serve the artificial insemination, semen samples were collected twice a month. It was started from October 1390 to December 1390. Semen ejaculates were evaluated for volume, color, non- microscopic massive motility, wave motion, pH, sperm progressive motility, percentage of live and dead sperm, concentration. Semen was mixed with diluter and kept in a refrigerator for 3 days. Effect of day and date on pH were significant. Effect of genetic and date - genetic interaction on pH were significant. Effect of day and date and genetic on wave motion were complete significant. Day and date and genetic affected progressive motility significantly. Effects of genetic on wave motion were significant. Effects of date on concentration were significant. Genetic and date did not affected volume . This study showed that addition of preservatives increased duration of sperm storage

Keywords: Liquid semen- diluter- artificial insemination



اثر محیط انجماد بر میزان لیپید پراکسیداسیون اسپرم بز

حسین سلمانی^۱، مهدی ژندی^۲، آرمین توحیدی^۲، محمد مهدی نبی^{*۱}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی کرج

۲- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی گرایش فیزیولوژی دام دانشگاه تهران دانشکده کشاورزی کرج

*محمد مهدی نبی، دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران،

mehdi_nabi@ut.ac.ir

چکیده

اسپرم پستانداران دارای نسبت‌های بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع در غشای خود می‌باشد. بنابراین سلول‌های اسپرم در معرض لیپیدپراکسیداسیون به وسیله‌ی گونه‌های فعال اکسیژن قرار می‌گیرد که اسپرم را در طی فرآیند انجماد ذوب به سوی آسیب‌های ساختاری پیش می‌برد. ما در این پژوهش اثرات کاربرد رقیق‌کننده‌های مختلف بر کارایی اسپرم بز و میزان پراکسیداسیون غشا را سنجیدیم. در این پژوهش رقیق‌کننده‌های دارای لسیتین سویا (۱ و ۱/۵ درصد) با رقیق‌کننده‌ی دارای زرده‌ی تخم مرغ سنجیده شد. در این پژوهش رقیق‌کننده‌های دارای لسیتین سویا (۱ و ۱/۵ درصد) با رقیق‌کننده‌ی دارای زرده‌ی تخم مرغ از نظر تولید MDA با هم مقایسه شدند. نمونه‌های منی از چهار بز نر مهابادی به وسیله‌ی مهبل مصنوعی جمع‌آوری شد. غلظت MDA و جنبایی اسپرم‌ها پس از ذوب ارزیابی شد. اختلاف معنی‌داری در جنبایی اسپرم بین ۱ و ۱/۵ درصد لسیتین (به ترتیب ۵۵/۲ و ۵۸/۴) در مقایسه با محیط دارای زرده (۵۹/۸) دیده نشد ($p > 0.05$). ویژگی‌های جنبایی شامل VSL و VAP در محیط‌های دارای لسیتین با اختلاف معنی‌داری نسبت به محیط زرده بهبود پیدا کرده بود ($P < 0.05$). مقدار MDA در محیط زرده در سنجش با محیط‌های دارای لسیتین با اختلاف معنی‌داری بالاتر بود ($P < 0.05$). یافته‌های ما نشان داد که لسیتین می‌تواند در انجماد منی بز جایگزین زرده‌ی تخم مرغ شود.

واژگان کلیدی: مالون‌دی‌آلدهاید، لسیتین سویا، انجماد اسپرم، بز.

مقدمه

انجماد اسپرم پستانداران برای استفاده در تلقیح مصنوعی و حفظ مواد ژنتیکی مورد توجه است. انجماد آسیب‌هایی را به سلول وارد می‌کند و استفاده از مواد محافظ انجمادی درون سلولی و برون سلولی برای کاهش این آسیب‌ها لازم می‌نماید. زرده‌ی تخم مرغ عمومی‌ترین محافظ انجماد برون سلولی است که در رقیق‌کننده‌های پستانداران استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر ایرادهایی به زرده وارد شده است که پژوهشگران را بر آن داشته تا جایگزینی در دسترس و کارآمد برای آن بیابند (۴، ۶). بسیاری از پژوهشگران بر این عقیده‌اند که بخش تأثیرگذار زرده در طی انجماد، لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین (LDL) می‌باشد، که در طی فرآیند انجماد، سلول را از شوک سرمایی محافظت می‌کند (۷). پژوهش‌های فراوانی با استفاده از لسیتین سویا بر انجماد اسپرم گونه‌های مختلف انجام شده است. از طرف دیگر، اسپرم پستانداران دارای نسبت‌های بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع است و بنابراین در معرض آسیب‌های اکسیداتیو، به ویژه در طی انجماد قرار می‌گیرد، که با از دست رفتن یکپارچگی غشا، آسیب به کنش سلول و کاهش جنبایی موجب کاهش توانایی باروری اسپرم در تلقیح مصنوعی می‌شود (۲). زرده افزون بر چربی‌ها و لیپوپروتئین‌ها دارای ترکیب‌های زیادی است که برخی از آن‌ها امروزه همانند ویتامین‌ها



به عنوان آنتی اکسیدان در ترکیب رقیق کننده ها افزوده می شود. با حذف زرده از محیط رقیق کننده ها غیرمستقیم این ترکیب ها نیز از محیط حذف می شوند و با افزودن تنها لسیتین به جای زرده احتمال اکسیداسیون چربی ها در محیط بالا می رود. در این پژوهش که روی اسپرم بز انجام شد مقدار اکسیداسیون بعد از انجماد در محیط زرده با محیط های دارای ۱ و ۱/۵ درصد لسیتین سویا سنجیده شد.

مواد و روش ها

در این پژوهش از منی چهار بز نر نژاد مهابادی (با سن ۳ الی ۴ سال) استفاده شد. جمع آوری منی با استفاده از مهبل مصنوعی هفته ای دو بار و در فصل غیرتولید مثلی (ابتدای اردیبهشت تا میانه تیر ماه) انجام شد. بی درنگ پس از جمع آوری منی و انتقال آن به آزمایشگاه بررسی های ابتدایی بر روی منی انجام شد. پس از ارزیابی ابتدایی نمونه ها و آمیختن آنها برای حذف اثرات فردی، نمونه ی آمیخته شده به سه بخش تقسیم شد و با رقیق کننده های مورد نظر در دمای اتاق و تا رسیدن به غلظت 240×10^6 در هر میلی لیتر رقیق سازی انجام شد. رقیق کننده ها شامل: ۱- رقیق کننده ی زرده بر پایه ی تریس (TEY): بافر تریس (۳/۰۷ گرم تریس + ۱/۶۸ گرم اسید سیتریک + ۱/۲۶ گرم فروکتوز + ۰/۶ میلی لیتر جنتامایسین - در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) + ۱۵ درصد زرده ی تخم مرغ (v/v) + ۵ درصد گلیسرول (v/v). ۲- رقیق کننده ی لسیتین (L1): بافر تریس + ۱ درصد لسیتین + ۵ درصد گلیسرول (v/v). ۳- رقیق کننده ی لسیتین (L2): بافر تریس + ۱/۵ درصد لسیتین + ۵ درصد گلیسرول (v/v) بود. پس از رقیق سازی، نمونه ها در نی های ۰/۲۵ میلی لیتری کشیده شد و به مدت ۷ دقیقه و با فاصله ی ۴ سانتی متر روی بخار ازت منجمد شده و سپس در ازت مایع غوطه ور شدند. برای ارزیابی نمونه ها، نی ها در آب 37°C و به مدت ۳۰ ثانیه ذوب شد. ارزیابی جنبایی با استفاده از نرم افزار CASA و میکروسکوپ فاز کتر است و با بزرگ نمایی ۱۰ انجام شد. غلظت مالون دی آلد هایید (MDA) شاخصی است از لیپید پراکسیداسیون (LPO) در نمونه های اسپرم با استفاده از روش ارایه شده توسط استربائور و همکاران (۳) و به وسیله ی دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد. این پژوهش در قالب ۳ تیمار و ۵ تکرار اجرا شد و داده ها با نرم افزار آماری SAS 9.1 و به رویه ی GLM و در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد آنالیز قرار گرفت.

جدول ۱) اثر جایگزینی لسیتین با زرده ی تخم مرغ بر فراسنجه های جنبایی و مقدار تولید MDA اسپرم بز (میانگین $\pm$ S.E.M، $P < 0.05$).

گروه ها			
L 1.5	L 1	زرده	
$11/8 \pm 58/4^a$	$11/8 \pm 55/2^a$	$11/8 \pm 59/8^a$	جنبایی کل (%)
$11/61 \pm 33/8^a$	$11/61 \pm 30/4^a$	$11/61 \pm 35/4^a$	جنبایی پیش رونده (%)
$139/74 \pm 6/79^{ab}$	$152/15 \pm 6/79^a$	$118/19 \pm 6/79^b$	VCL $\mu\text{m/s}$
$94/16 \pm 4/25^{ab}$	$102/23 \pm 4/25^a$	$82/86 \pm 4/25^b$	VAP $\mu\text{m/s}$
$76/68 \pm 4/2^{ab}$	$82/83 \pm 4/2^a$	$69/69 \pm 4/2^b$	VSL $\mu\text{m/s}$
$2/9 \pm 55/6 \pm 2/9^a$	$2/9 \pm 53/75 \pm 2/9^a$	$2/9 \pm 60/2^a$	LIN (%)



0.37 ± 0.076^a	0.37 ± 0.061^a	0.37 ± 0.052^a	ALH $\mu\text{m/s}$

a, b میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک انگلیسی نیستند اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.05$).

L1: گروه دارای لستین ۱ درصد در رقیق‌کننده

L1.5: گروه دارای لستین ۱/۵ درصد در رقیق‌کننده

نتایج

یافته‌های ما نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری در نگهداشت جنبایی کل و پیشرونده‌ی اسپرم بین زرده‌ی تخم مرغ و درصد‌های ۱ و ۱/۵ درصد لستین سویا وجود ندارد ($p > 0.05$). در ویژگی‌های جنبایی VAP، VCL و VSL در سطح ۱ و ۱/۵ درصد لستین با اختلاف معنی‌داری از زرده بالاتر بود و لستین موجب بهبود این فراسنجه‌ها شده است ($P < 0.05$) ولی در باقی ویژگی‌ها اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها وجود ندارد ($p > 0.05$). مقدار تولید MDA که شاخصی از لیپید پراکسیداسیون است همانگونه که در جدول ۱ نشان داده شده است مقدار لیپید پراکسیداسیون در محیط حاوی زرده با اختلاف معنی‌داری بالاتر از محیط حاوی لستین است ($P < 0.05$). مقدار MDA در محیط دارای ۱ و ۱/۵ درصد لستین اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌دهد ($p > 0.05$).

بحث:

نتایج ما نشان داد که ۱ و ۱/۵ درصد لستین توانسته است از جنبایی اسپرم همانند زرده محافظت کند. در گوسفند نیز یک درصد لستین بهترین نتیجه را در جنبایی و زنده‌مانی در برداشته است (۵، ۹). در سگ، درصد‌های کمتری از لستین (۰/۰۴ و ۰/۸ درصد) جایگزین زرده شده بود که به گفته‌ی بنچاریف و همکاران (۲۰۰۸) اسپرم سگ به موجب ترکیبات غشایی متفاوت نسبت به دیگر گونه‌ها لیپوپروتئین‌های کمتری در محیط برای نگهداری از غشا نیاز دارد (۱). محیط‌های دارای لستین سویا موجب بهبود VSL، VCL و VAP نسبت به محیط دارای زرده شده است. وان و همکاران بیان کردند که زرده به دلیل بالا بودن گرانیوی موجب کاهش سرعت جنبایی شده و باروری را کاهش می‌دهد (۱۰). پژوهش‌ها نشان داده است که محیط دارای لستین دارای گرانیوی پایین‌تری نسبت به زرده است (۴، ۸، ۱۰). یافته‌های ما نیز نشان می‌دهد که کاهش گرانیوی محیط لستین موجب بهبود فراسنجه‌های جنبایی شده است. همانگونه که در این پژوهش مشخص شد، مقدار MDA در محیط زرده افزایش یافته است. با وجودی که زرده خود دارای ویتامین‌هایی همانند ویتامین A و E می‌باشد که به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند ولی همچنان اکسیداسیون بیشتری در محیط زرده روی داده است که احتمالاً این می‌تواند به دلیل بالا بودن چربی‌های غیر اشباع در محیط حاوی زرده باشد.

منابع

1. Bencharif D, Amirat L, Anton M, Schmitt E, Desherces S, Delhomme G, Langlois ML, Barriere P, Larrat M, and Tainturier D. The advantages of LDL (low density lipoproteins) in the cryopreservation of canine semen. *Theriogenology* 70: 1478-1488, 2008.
2. Bucak MN, Atessahin A, and Yüce A. Effect of anti-oxidants and oxidative stress parameters on ram semen after the freeze-thawing process. *Small Ruminant Research* 75: 128-134, 2008.
3. Esterbauer H, and Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 186: 407-421, 1990.



4. Forouzanfar M, Sharafi M, Hosseini S, Ostadhosseini S, Hajian M, Hosseini L, Abedi P, Nili N, Rahmani H, and Nasr-Esfahani M. In vitro comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of ram semen. *Theriogenology* 73: 480-487, 2010.
5. Forouzanfar M, Sharafi M, Hosseini SM, Ostadhosseini S, Hajian M, Hosseini L, Abedi P, Nili N, Rahmani HR, and Nasr-Esfahani MH. In vitro comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of ram semen. *Theriogenology* 73: 480-487, 2010.
6. Gil J, Rodriguez-Irazaqui M, Lundeheim N, Soderquist L, and Rodriguez-Martinez H. Fertility of ram semen frozen in Bioexcell and used for cervical artificial insemination. *Theriogenology* 59: 1157-1170, 2003.
7. Moussa M, Marinet V, Trimeche A, Tainturier D, and Anton M. Low density lipoproteins extracted from hen egg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen. *Theriogenology* 57: 1695-1706, 2002.
8. Papa FO, Felício GB, Melo-Oña CM, Alvarenga MA, De Vita B, Trinquê C, and Puoli-Filho JNP. Replacing egg yolk with soybean lecithin in the cryopreservation of stallion semen. *Animal Reproduction Science* 2011.
9. Sharafi M, Eghbalsaied S, Nili N, and Nasr-Esfahani MH. Ram Semen In vitro Fertility after Cryopreservation using Soybean Lecithin and Egg Yolk Based Extenders. *Reproduction in Domestic Animals* 44: 90-90, 2009.
10. van Wagendonk-de Leeuw AM, Haring RM, Kaal-Lansbergen LM, and den Daas JH. Fertility results using bovine semen cryopreserved with extenders based on egg yolk and soy bean extract. *Theriogenology* 54: 57-67, 2000.

The Effect of Freezing on Goat Sperm Lipid Peroxidation

Hossein Salmani¹, Mehdi Zhandi², Armin Towhidi², Mohammad Mahdi Nabi^{1*}

1-MSc Student of Animal Physiology- Department of Animal Science- University of Tehran

2-Faculty of Animal Science- Department of Animal Science- University of Tehran

*Mohammad Mahdi Nabi, Student of Animal Physiology- Department of Animal Science- University of Tehran, mehdi_nabi@ut.ac.ir

Abstract

In this study, a soybean lecithin extender (1 and 1.5%) and an egg yolk-containing (15%) extender were compared. Semen samples were collected from 4 mature Mahabadi goats by using an artificial vagina. Malondialdehyde (MDA) concentration and sperm motility of semen samples were measured after thawing. There were no significant ($P>0.05$) differences among all treatments in motility. The analysis of sperm motility showed that motility characteristics (VAP and VSL) were improved with extenders containing 1 and 1.5% soybean lecithin, compared with egg yolk-based extender. The MDA concentration in egg yolk-based extender was significantly higher than both extenders containing 1 and 1.5% lecithin ($P<0.05$). This study showed that, soybean lecithin can be used in goat semen extender instead of egg yolk.

Keywords: Malondialdehyde, Soybean lecithin, Sperm freezing, Goat.



تأثیر ذخیره سازی اپیدیدیم در دمای ۵ درجه سانتی گراد بر صفات فیزیولوژیک اسپرم اپیدیدیمی گوسفند

فاطمه زارعی^{۱*}، عباس فرشاد و امجد فرزین پور^۲

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشکده کشاورزی- دانشگاه کردستان

۲-عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی- دانشگاه کردستان

* فاطمه زارعی. کرمانشاه، میدان آزادی، چهار راه سیلو، خیابان ابوذر، پلاک ۶۰۳

Yas_fakeh@yahoo.com

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی اثر ذخیره سازی اپیدیدیم در دمای ۵ درجه سانتی گراد بر صفات فیزیولوژیک اسپرم (جنمایی، جنمایی پیش رونده، زنده مانی و سلامت آکروزام) است. به این منظور تعداد ۱۶ عدد بیضه گوسفند بالغ از کشتارگاه تهیه شد و به سه گروه درمانی ۰، ۱/۵ و ۳ ساعت سردسازی تقسیم شده و در دمای ۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از پایان زمان ذخیره سازی، اسپرم اپیدیدیمی استحصال شده و مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد میزان ویژگی های حرکتی، زنده مانی و سلامت آکروزام اسپرم اپیدیدیمی ذخیره شده در دمای ۵ درجه در زمان های ۱/۵ و ۳ ساعت پس از کشتار در مقایسه با ساعت صفر (بلافاصله پس از کشتار) کاهش یافت ($p < 0/05$).
واژگان کلیدی: اسپرم اپیدیدیمی - گوسفند - سردسازی

مقدمه

یکی از روش های جمع آوری اسپرم از دام نر، استفاده از اسپرم اپیدیدیمی است که اخیراً مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. جداسازی اسپرم اپیدیدیمی یکی از جنبه های مهم تکنولوژی های نوین تولید مثل است. آزمایش های بسیاری کیفیت اسپرم جمع آوری شده از اپیدیدیم گونه های مختلف حیوانات را پس از کشتار بررسی نموده اند (۳ و ۴). این مسئله مخصوصاً در رابطه با اسپرم اپیدیدیمی گونه های در حال انقراض اهمیت بالاتری پیدا نموده است (۴). اسپرم اپیدیدیمی کاربرد گسترده ای در بسیاری از روش های آزمایشگاهی دارد و به طور موفقیت آمیزی در تلقیح مصنوعی و تولید آزمایشگاهی جنین در گونه های مختلف کاربرد دارد (۱ و ۵). هدف از مطالعه حاضر بررسی زنده مانی، تحرک، تحرک پیش رونده و سلامت آکروزام اسپرم اپیدیدیمی گوسفند پس از فرایند سردسازی در زمان های مختلف است.

مواد و روش ها

تعداد ۱۶ عدد بیضه از کشتارگاه تهیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شد. جهت انجام آزمایش بیضه ها به سه گروه درمانی ۰، ۱/۵ و ۳ ساعت سرد سازی تقسیم شده و در دمای ۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از پایان زمان ذخیره سازی، اپیدیدیم از بافت بیضه جدا شده و با ایجاد چند برش دردم اپیدیدیم، بافت اپیدیدیم درون محیط تیروید لاکتات به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. سپس اپیدیدیم از ظرف خارج و محیط حاوی اسپرم با دور ۷۰۰ در دقیقه به مدت ۶ دقیقه سانتریفیوژ شد. با برداشتن مایع بالای اسپرم، نمونه اسپرم اپیدیدیمی جهت انجام آزمایش آماده شد. صفات فیزیولوژیک اسپرم پس از سردسازی به روش ایوانس ماکسول (۲) مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت ارزیابی جنمایی و جنمایی پیش رونده، از هر نمونه



یک قطره بر روی لام قرار داده و توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی $\times 400$ شمارش ۱۰۰ سلول در ۱۰ نقطه از لام انجام شد و داده ها به صورت درصد گزارش شد. ارزیابی زنده مانی اسپرم پس از یخ گشایی توسط رنگ آمیزی ائوزین-نیگروزین انجام شد. ۱۰ میکرولیتر رنگ ائوزین نیگروزین روی لام قرار داده و ۱۰ میکرولیتر نمونه اسپرم به آن اضافه می شود. پس از تهیه گسترش، شمارش ۱۰۰ سلول در ۱۰ نقطه از لام با بزرگنمایی $\times 400$ انجام شد و داده ها به صورت درصد گزارش گردید. سلامت آکروزوم اسپرم توسط رنگ فرمالین-سیترات ارزیابی شد. ۱۰ میکرولیتر نمونه اسپرم و ۱۰ میکرولیتر رنگ را بر روی لام قرار داده و پس از ۳۰ ثانیه، وضعیت آکروزوم تعداد ۱۰۰ سلول اسپرم با بزرگنمایی $\times 100$ مورد ارزیابی قرار گرفت. طرح آماری به کار رفته در این پژوهش، طرح کاملاً تصادفی بود. آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS با رویه GLM انجام شد. میانگین ها با آزمون دانکن و در سطح $P = 0.05$ مقایسه شد.

نتایج و بحث

نتایج ارزیابی اثرات زمان های مختلف سردسازی بر صفات فیزیولوژیک اسپرم در جدول ۱ گزارش شده است. میانگین جنبایی و جنبایی پیش رونده تیمار های ۱/۵ و ۳ ساعت ذخیره سازی در دمای ۵ درجه در مقایسه باتیمار شاهد (ساعت صفر) به طور معنی داری ($p < 0.05$) کاهش یافت. بنابراین گذشت زمان موجب کاهش جنبایی و جنبایی پیش رونده اسپرم اپیدیدیمی شد. میانگین زنده مانی و سلامت آکروزوم اسپرم برای ۳ زمان مورد آزمایش نشان دهنده اختلاف بسیار معنی دار بین تیمارهای مورد مطالعه است که موجب کاهش زنده مانی و سلامت آکروزوم با گذشت زمان شده است. میزان ویژگی های حرکتی، زنده مانی و سلامت آکروزوم اسپرم اپیدیدیمی ذخیره شده در دمای ۵ درجه در زمان های ۱/۵ و ۳ ساعت پس از کشتار در مقایسه با ساعت صفر (بلافاصله پس از کشتار) کاهش یافت ($p < 0.05$). نتایج حاصل از این پژوهش با سایر تحقیقات در رابطه با اثر ذخیره سازی اسپرم اپیدیدیمی در دمای ۵ درجه مطابقت دارد. تاجیک و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی اثر ذخیره سازی اسپرم شتر در دمای ۳-۵ درجه نشان دادند، طی زمان های ۱، ۲ و ۳ ساعت سرد سازی اسپرم اپیدیدیمی، میزان جنبایی و جنبایی پیش رونده کاهش یافته و بین این ۳ زمان مختلف اختلاف معنی داری وجود دارد ($p < 0.05$).

جدول ۱- اثر سرد سازی در دمای ۵ درجه در زمان های مختلف بر ویژگی های اسپرم اپیدیدیمی گوسفند



زمان			
صفات اسپرم (%)	۰	۱/۵	۳
جنبایی	$72/875 \pm 1/14^a$	$56/375 \pm 1/37^b$	$54/75 \pm 2/60^b$
جنبایی پیش رونده	$63/25 \pm 1/83^a$	$46 \pm 0/96^b$	$42/875 \pm 2/13^b$
زنده مانی	$77/875 \pm 1/41^a$	$65/5 \pm 0/78^b$	$58/625 \pm 1/45^c$
سلامت اکروزوم	$96/75 \pm 0/45^a$	$95/375 \pm 1/03^b$	$94/75 \pm 0/67^c$

زمان			
صفات اسپرم (%)	۰	۱/۵	۳
جنبایی	$72/875 \pm 1/14^a$	$56/375 \pm 1/37^b$	$54/75 \pm 2/60^b$
جنبایی پیش رونده	$63/25 \pm 1/83^a$	$46 \pm 0/96^b$	$42/875 \pm 2/13^b$
زنده مانی	$77/875 \pm 1/41^a$	$65/5 \pm 0/78^b$	$58/625 \pm 1/45^c$
سلامت اکروزوم	$96/75 \pm 0/45^a$	$95/375 \pm 1/03^b$	$94/75 \pm 0/67^c$

(p) در هر ردیف میانگین هایی که حرف (حروف) همانند دارند تفاوت آماری معنی داری ندارند ($>0/05$)

منابع

1. Barati, F., M. Khaksary and GH. Mohammadi.2009. Cryopreservation of in situ cool stored buffalo (Bubalus bubalis) epididymal sperm. Iranian. Vet. Res. Vol. 10. No. 4.
2. Evans, G., Maxwell, W. M. S. 1989. Salamons artificial insemination of sheep and goats. University press, Sydney, NSW, Australia. ISBN: 0409491772.
3. Foote, R. H., Y. Chen and C. C. Brockett. 1993. Fertility of bull spermatozoa frozen in whole milk extender with trehalose, taurine or blood serum. J. Dairy. Sci. 76: 1908-1913.
4. Loskutoff, N.M. and K.J. Betteridge.1992. Embryo technology in pets and endangered species. A. Lauria and F. Gandolfi (eds.). In: Embryonic Development and Manipulation in Animal Production, Trends in Research and Applications. Portland Press: London. pp. 235-248.
5. Tajik, P., A. Arman and T. Taktaz.2007. Bovine epididymal sperm morphology obtained from caput, corpus and cauda epididymides. Pakistan Journal of Biological sciences. Vol. 10: 3936-3938.
6. Tajik, P., J.A. Charmahini, H. Ghasemzadeh-Nava. 2008. Camel epididymal sperm cool stored motility in BO medium with caffeine and/or heparin. The 15th congress of FAVA. Bangkok, Thailand.



The effect of epididymis cool storage at 5°C on ram epididymal sperm parameters

F.Zarei *, A.Farshad and A. Farzinpour

Department of Animal Science, College of Agriculture, University of Kurdistan, Iran

* Yas_fakeh@yahoo.com

Abstract:

The Aim of this study were to investigated the effects of epididymis cool storage at 5°C in different times of storage on sperm parameters(motility, progresive motility, viability and acrossom integrity). 16 Mature ram testes were collected from the abattoir, plased on ice and transported to the laboratory and were allotted to three storage times (0, 5/1 and 3 h) at 5°C ,Then cauda epididym was dissected from testes – epididymis, minced and placed into sperm tyrodes lactate medium for 15 min. Then the tissue wase removed and the remaining medium was centrifuged at 700 g for 6 min.epididymal spermatozoa was isolated and assessed parameters. The results of this experiment indicated that there was no different between 1/5 and 3 h storage on viability and progresive motility of spermatozoa ($p>0/05$). But in compare to controle group significantly decreased the percentage of motility, progresive motility, viability and acrossom integrity ($p<0/05$).

Keywords: epididymal spermatozoa, ram, cool storage



تأثیر وازوپرسین، اکسی توسین و هیستامین محیطی بر ترشح استروژن و پروژسترون در گوسفند

زهره وفائی سعدی^{*}، حمیدرضا رحمانی، محمد خوروش، محمدعلی ادریس

گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، کدپستی ۸۴۱۵۶-۸۳۱۱۱، اصفهان، ایران

*نویسنده مسئول: زهره وفائی سعدی z.vafaiesaaadi@ag.iut.ac.ir

چکیده

در این پژوهش آثار محیطی هورمون‌های نانوپتیدی وازوپرسین و اکسی توسین و همچنین ناقل آمینی هیستامین و ارتباط آن‌ها با ترشح استروئیدها مورد بررسی قرار گرفت. لذا چهار رأس گوسفند ماده، تحت تزریق وریدی دوزهای صفر، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ نانومول از سه ماده مذکور قرار گرفته و نمونه خون مربوطه به فاصله زمانی ۴ روزه (و سه ساعت پس از زمان تزریق) گرفته شد. آزمایشات انجام شده روی نمونه خون‌ها شامل اندازه‌گیری هورمون‌های استروژن و پروژسترون بود. نتایج نشان داد که استفاده از دوزهای متفاوت وازوپرسین در میزان ترشح استروژن و پروژسترون تأثیر معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). تزریق دوز ۱۲۵ نانومول اکسی توسین میزان ترشح استروژن به طور معنی‌داری افزایش داد اما با استفاده از دوز ۵۰۰ نانومول میزان ترشح استروژن به طور معنی‌داری ($p < 0.01$) کاهش یافت. اما تزریق دوزهای متفاوت اکسی توسین بر میزان ترشح پروژسترون اثر معنی‌داری را به همراه نداشت. همچنین با تزریق دوزهای متفاوت هیستامین، تأثیر معنی‌داری در میزان ترشح استروژن و پروژسترون ایجاد نشد. با توجه به نتایج فوق شاید بتوان نتیجه‌گیری کرد که گیرنده‌های اکسی توسین در بافت‌های محیطی می‌تواند در دوزهای فارماکولوژیک تغییراتی را در میزان استروئیدها ایجاد نماید و این تغییرات وابسته به میزان تزریق، واکنش‌های متفاوت فیزیولوژیک را نشان می‌دهد. همچنین عدم تأثیر هیستامین بر ساز و کار ترشح هورمون‌های مورد بررسی، حاکی از نیمه عمر کوتاه این هورمون و یا عدم وجود گیرنده در این بخش‌ها می‌باشد.

کلمات کلیدی: وازوپرسین - اکسی توسین - هیستامین - استروژن - پروژسترون

مقدمه

واژوپرسین یک نانوپتید (پپتید ۹ اسید آمینه‌ای) با وزن مولکولی ۱۰۸۴ دالتون می‌باشد و در نورون‌های ماگنوسلولار هسته‌های سوپرااپتیک^۱ (SON) و پاراوانتریکلار^۲ (PVN) هیپوتالاموسی سنتز می‌شود (۱۵). وازوپرسین به واسطه سه نوع گیرنده عمده که شامل V1a، V1b و V2 است در بافت‌های مختلف اعمال اثر می‌کند (۶). به طوری که به صورت محیطی بر کبد، کلیه، ماهیچه صاف رگی، غده هیپوفیز و سیستم ایمنی اثر گذاشته که به ترتیب باعث گلیکوزرن، اعمال خاصیت ضد ادراری، انقباض عروق و همچنین ترشح ACTH از کورتیکوترپین‌ها شده اما چگونگی اثر آن بر سیستم ایمنی ناشناخته است (۱۲).

هورمون نوروهیپوفیزی اکسی توسین با وزن مولکولی ۱۰۰۷ دالتون اولین هورمون پتیدی است که ساختار آن به عنوان یک نانوپتید (پپتید ۹ اسید آمینه‌ای) تعیین شده و همچنین به صورت شیمیایی و به فرم فعال بیولوژیکی سنتز شده است (۷). اکسی توسین توسط نورون‌های ماگنوسلولاری تولید می‌شود که بیشتر آن‌ها در دو هسته هیپوتالاموسی SON و PVN

^۱ - Supraoptic Nucleus

^۲ - Paraventricular Nucleus



متراکم شده‌اند. این پپتید گیرنده‌های زیادی در بافت‌های مختلف بدن از جمله رحم، غدد پستانی، قلب، پانکراس، کلیه و بافت چربی می‌باشد که این گیرنده‌ها عضو خانواده گیرنده‌های پروتئین‌های G هستند (۸).

هیستامین ابتدا در سال ۱۹۱۰ توسط هنری هالت-دال به عنوان ماده عفونی تولید شده توسط فعالیت باکتری‌ها کشف شد. کلمه هیستامین از histos به معنای بافت، مشتق شده است. این آمین بیورژنیک با دکربوکسیله شدن اسید آمینه هیستیدین ساخته می‌شود. هیستامین عمل خود را بواسطه چهار گیرنده غشایی (H_1 , H_2 , H_3 و H_4) که به خانواده بزرگ پروتئین G تعلق دارند بر سلول و بافت هدف اعمال می‌کند (۱۰). هیستامین به علت نقش‌های متفاوت در انتقال عصبی، تنظیم ایمنی، تشکیل خون، ترمیم زخم، ریتم شبانه‌روزی، تشکیل رگ‌خونی در ساخت تومور و کم‌خونی موضعی روده‌ای شناخته شده است (۹).

هدف این تحقیق بررسی اثر وازوپرسین، اکسی‌توسین و هیستامین با دوز فیزیولوژیک و فارماکولوژیک بر ترشح هورمون‌های استروژن و پروژسترون در گوسفند بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق چهار رأس گوسفند ماده نژاد نائینی یک ساله با متوسط وزن 30 ± 5 کیلوگرم در محل خانه حیوانات دانشگاه صنعتی اصفهان تحت آزمایش قرار گرفتند. برای انجام آزمایش، غلظت اولیه هورمون‌های مد نظر جهت تزریق (وازوپرسین، اکسی‌توسین و هیستامین) به یک میزان ثابت و مشخص (۵۰۰، ۲۵۰ و ۱۲۵ نانو مول) رسانده شد و به منظور رقیق سازی هورمون‌ها از سرم نرمال فیزیولوژی استفاده شد. به ترتیب هورمون‌های هیستامین، اکسی‌توسین و وازوپرسین با دوزهای یکسان ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵ و صفر (سرم فیزیولوژی) نانومول به میزان ۱ سی‌سی از هر دوز هورمون از طریق سیاهرگ گردنی تزریق شد. زمان تزریق طی این روش زمان مشخص و ثابتی در نظر گرفته شده بود. همچنین دوزهای متفاوت هر هورمون در هر روز به ۴ گوسفند به طور تصادفی تزریق شد. بعد از یک دوره استراحت تزریق هورمون بعدی آغاز می‌شد. نمونه‌گیری از ورید گردنی حیوانات در یک زمان ثابت و با فاصله زمانی ۴ روزه انجام شد. در این تحقیق از روش جدید $CLIA^1$ (با استفاده از دستگاه لیاسون) و روش $ELFA^2$ (با استفاده از دستگاه وایداس) جهت انجام آزمایشات هورمونی به کار گرفته شد که در مقایسه با روش‌های قبلی کمتر از ۱ درصد خطا داشته و دارای صحت و دقت بالا هستند. نتایج حاصل از تست هورمونی با استفاده از نرم افزار آماری SAS، رویه GLM و در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال ۰.۵٪ انجام شد. لازم به ذکر است که این روش مقایسه در فیزیولوژی حداقل به ۳ نمونه تکراری در یک تیمار نیاز دارد که در این تحقیق نیز از ۴ رأس دام و با تزریق ۳ هورمون که هر کدام در ۴ نوبت انجام شد، استفاده شد یا به عبارتی ۱۶ عدد از هر هورمون تزریقی به شکل تکراری موجود می‌باشد.

مدل آماری مورد استفاده جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها به صورت $(Y_{ci} = \mu + T_c + \varepsilon_{ic})$ می‌باشد. در این مدل آماری Y_{ci} نشان دهنده مقدار عددی هر مشاهده در آزمایش، μ میانگین مشاهدات، T_c نشان‌دهنده اثرات هورمون استفاده شده و ε_{ic} تأثیر خطای آزمایشی می‌باشد. بنابراین مقدار عددی هر مشاهده از مجموع اثرات تیمار و اشتباه آزمایشی و میانگین کل جامعه حاصل می‌شود.

نتایج و بحث

^۱ - Chemiluminescent Immunoassay
^۲ - Enzyme Linked Fluorescent Assay

نتایج حاصل از تزریق دوزهای صفر (سرم فیزیولوژیک)، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ نانومول وازوپرسین، اکسی توسین و هیستامین بر میزان ترشح استروژن در جدول ۱ گزارش شده است. همانطور که از نتایج بر می آید تزریق وازوپرسین و هیستامین تأثیر معنی داری بر ترشح استروژن نداشتند. اما اکسی توسین به طور معنی داری ($p < 0.05$) بر ترشح استروژن مؤثر بود.

جدول ۱- اثر وازوپرسین، اکسی توسین و هیستامین بر میزان ترشح استروژن

میانگین حداقل مربعات			
دوز	وازوپرسین	اکسی توسین	هیستامین
۰	۰/۱۶	۰/۱۴ ^b	۰/۱۳
۱۲۵	۰/۱۵	۰/۳۴ ^a	۰/۱۲
۲۵۰	۰/۱۲	۰/۲۶ ^{ab}	۰/۱۲
۵۰۰	۰/۲۱	۰/۱۳ ^b	۰/۲۱
خطای استاندارد	۰/۰۴	۰/۰۵	۰/۰۴
سطح معنی داری	۰/۵	۰/۰۵*	۰/۴

میانگین های دارای حروف مشترک از نظر آماری معنی دار نمی باشند.

* سطح معنی داری ($p < 0.05$)

به طوری که دوز ۱۲۵ باعث افزایش معنی دار ترشح استروژن ($p < 0.05$) در مقایسه با حالت پایه شد، در حالی که دوز ۵۰۰ در مقایسه با دوز ۱۲۵ میزان ترشح استروژن را با سطح احتمال ($p < 0.01$) کاهش داد.

استروئیدها، به ویژه استروژن سنتز و رهاسازی اکسی توسین را تحریک کرده (۴) و تعداد گیرنده های اکسی توسین را در برخی از نواحی مغزی افزایش می دهد (۱۴). بنابراین یک ارتباط قوی بین اکسی توسین و استروژن وجود دارد که باعث ایجاد تفاوت های جنسی در مورد آثار اکسی توسین می شود اثر متقابل بین بخش های پیوندی اکسی توسین و گیرنده استروژن در CNS مشخص نیست اما این موضوع اثبات شده است که استروژن سیستم اکسی توسین را به واسطه حداقل ۲ مکانیسم تسهیل می نماید: الف) با افزایش رها سازی و سنتز اکسی توسین از سلول های مناسب (۲)، ب) با تسهیل فعالیت کیفی و کمی گیرنده اکسی توسین (۳). تأثیر اکسی توسین به صورت محلی بر ترشح استروژن تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است و اکثر تحقیقات بر روی اثر استروژن بر اکسی توسین متمرکز شده است. در اکثر گونه ها آثار اکسی توسین وابسته به استروئید بوده و استروژن باعث افزایش حساسیت به اکسی توسین می شود. تحقیقات انجام شده بر روی گوسفند، بخش های پیوندی اکسی توسین با سلول های ماهیچه صاف مایومتریم، بافت اندومتریم و تخمدان را گزارش کردند (۴). رابرتز و شایر (۱۹۶۹) نشان دادند که استروئیدهای تخمدانی در گوسفند رهاسازی اکسی توسین را تحت تأثیر قرار می دهند به طوری که استروژن محرک بوده و پروژسترون جلوگیری کننده خواهد بود. در یک آزمایش نشان داده شد که استفاده از استرادیول در رت باعث افزایش چندین برابری در mRNA گیرنده اکسی توسین در مغز، هیپوفیز و رحم می شود (۱۱). استروژن سنتز شده در تخمدان از طریق جریان خون وارد هیپوتالاموس می شود و هسته های PVN یا SON را تحت تأثیر قرار داده و گیرنده بتای استروژن، تولید اکسی توسین را تحریک می کنند. با افزایش مقدار اکسی توسین در خون و رسیدن آن به گیرنده خود در تخمدان، تولید اکسی توسین توسط سلول های گرانولوزا کاهش یافته و ممکن است طی یک مکانیسم فیدبکی ترشح استروژن را کاهش دهد (۱۲).

نتایج حاصل از تزریق وریدی دوزهای صفر (سرم فیزیولوژیک)، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ نانومول هورمون های وازوپرسین، اکسی توسین و هیستامین بر میزان ترشح پروژسترون در جدول ۲ نشان داده شده است.



جدول ۲- اثر وازوپرسین، اکسی توسین و هیستامین بر میزان ترشح پروژسترون

میانگین حداقل مربعات			
دوز	وازوپرسین	اکسی توسین	هیستامین
۰	۱/۵۵	۰/۸۶	۰/۴۲
۱۲۵	۱/۸۲	۰/۶۸	۰/۳۸
۲۵۰	۰/۹۰	۰/۵۰	۰/۶۰
۵۰۰	۰/۷۱	۰/۵۵	۰/۹۶
خطای استاندارد	۰/۸۳	۰/۱۹	۰/۲۰۶
سطح معنی داری	۰/۷	۰/۵	۰/۲

میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری معنی دار نمی باشند.

با توجه به نتایج به دست آمده، تزریق دوزهای متفاوت سه هورمون وازوپرسین، اکسی توسین و هیستامین بر میزان ترشح پروژسترون تأثیر معنی داری نداشته است. لازم به ذکر است که منبع علمی مبنی بر تأثیر این دو هورمون و هیستامین بر ترشح پروژسترون گزارش نشده است.

منابع

1. Ayad, V. J., S. Guldenaar and D. C. Wathes. 1991. Characterization and localization of oxytocin receptors in the uterus and oviduct of the non-pregnant ewe using an iodinated receptor antagonist. *Endocrinology*. 128: 187-195.
2. Broad, K. D., K. M. Kendrick, D.J. Sirinathsinghji and E.B. Keverne. 1993. Changes in oxytocin immunoreactivity and mRNA expression in the sheep brain during pregnancy, parturition and lactation and in response to estrogen and progesterone. *Neuroendocrinology*. 5(4):435-44.
3. Caldwell, J. D., H. Cheryl, C. A. Pedersen, A. S. Baraka and G. A. Mason. 1994. Estrogen increases affinity of oxytocin receptors in the medial preoptic area-anterior hypothalamus. *Peptides*. 15:1079-1084.
4. Caldwell, J. D., P. J. Brooks, G. F. Jirikowski, A. S. Barakat, P. K. Lund and C. A. Pedersen. 1989. Estrogen alters oxytocin mRNA levels in the preoptic area. *Neuroendocrinology*. 1:273-8.
5. Dale, H. D and P. D. Laidlaw. 1910. The physiological action of Beta-iminazoly-ethylamine. *Journal of Physiology*. 41: 318-44.
6. Delmas, A., M. Leone, S. Rousseau, J. Albanese and C. Martin. 2005. Clinical review: Vasopressin and terlipressin in septic shock patients. *Critical Care*. 9:212-222.
7. Du Vigneaud, V., C. Ressler and S. Trippett. 1953. The sequence of amino acids in oxytocin, with a proposal for the structure of oxytocin. *Journal of Biological Chemistry*. 205: 949-957.
8. Gimpl, G and F. Fahrenholz. 2001. The Oxytocin Receptor System: Structure, Function, and Regulation. *Physiological Reviews*. 81(2) 629-683.
9. Kalchmair, B., J. Klocker and R. Perkmann. 2003. Alterations in plasma amine oxidase activities in a compartment syndrome model. *Inflammation Research*. 52(suppl) 1: 67-68.
10. Nakamura, T., H. Itadani, Y. Hidaka, M. Ohta and K. Tanaka. 2000. Molecular cloning and characterization of a new human histamine receptor, HH4R. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 279: 615-620.



11. Quinones-Jenab, V., S. Jenab, S. Ogawa, R. A. Adnan, J. P. Burbach and D. W. Pfaff. 1997. Effects of estrogen on oxytocin receptor messenger ribonucleic expression in the uterus, pituitary and forebrain of the female rat. *Neuroendocrinology* . 65:1-9.
12. Rahmani, H. R. 1997. Neurohypophyseal hormone receptors in the female ovine brain. PhD thesis, University of Bristol.
13. Roberts, J. S and L. Share. 1969. Effects of progesterone and estrogen on blood levels of oxytocin during vaginal distension. *Endocrinology*.84:1076-1081.
14. Tribollet, E., S. Audigier, M. Dubois-Dauphin and J. J. Dreifuss. 1990. Gonadal steroids regulate oxytocin receptors but not vasopressin receptors in the brain of male and female rats. An autoradiographical study. *Brain Research*. 511:1 29-140.
15. Young, W. S and H. Gainer. 2003. Transgenesis and the study of expression, cellular targeting and function of oxytocin, vasopressin and their receptors. *Neuroendocrinology*. 78(4): 185-203.

Vasopressin, oxytocin and histamine peripherally function on estrogen and progesterone secretion in female sheep

Zahra Vafaie saadi*, Hamidreza Rahmani, Mohammad Khorvash, Mohammad ali Edriss
Department of Animal Sciences, College of Agriculture, Isfahan University of Technology,
Isfahan 84156-83111, Iran

* Corresponding E-mail address: z.vafaiesaaadi@ag.iut.ac.ir

Abstract

In this research, effects of two neuropeptide hormones, vasopressin and oxytocin, and a neurotransmitter histamine, and their communication with steroid secretion examined peripherally. So, four Iranian Nain female sheep used to intravenously injected by 0, 125, 250 and 500 nano mol of the vasopressin, oxytocin and histamine. Each sheep was individually injected for four days and the blood samples were collected via jugular vein three hours later. The lab test measured steroid hormones estrogen and progesterone. Results obtained that vasopressin causes any effect on amount of estrogen and progesterone in any dosages. In spite of the similarity of molecules oxytocin increased estrogen secretion at 125 nM ($p < 0.05$) and decrease the same steroid at 500 nM ($p < 0.01$) without any effects on progesterone secretion in any dosages. Also injection of histamine did not change any steroid level (estrogen, progesterone) at any dosages. This affects on the steroids secretion might consecutive of their short half-life and absence of organ receptors peripherally.

Keywords: vasopressin- oxytocin- histamine- estrogen - progesterone



پوشش دهی ملکول انسولین با نانو ذرات و محاسبه میزان جذب آن در دوازدهه گوسفند بر اساس متابولیت های خونی

شیوا اولیاء*، حمیدرضا رحمانی، محمد خوروش، محمد علی ادریس

به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار، استادیار و استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی

اصفهان

*نویسنده مسئول: شیوا اولیاء، پست الکترونیکی: oliyashiva@yahoo.com

چکیده

دیابت قندی بیماری نسبتاً شایعی است که حاصل کمبود ترشح یا عملکرد انسولین می باشد. معمولاً تزریق روزانه چند دوز انسولین برای بیماران دیابتی امری ضروری است. به همین دلیل تحقیقات گسترده ای برای تهیه فرمولاسیون خوراکی انسولین در حال انجام است. انسولین یک ملکول پروتئینی است که در برابر آنزیم ها و اسیدهای دستگاه گوارش ناپایدار است. به همین دلیل برای مصرف خوراکی انسولین، بایستی این ملکول به وسیله ترکیبی پوشش دهی شود، محققین نانو ذرات را پیشنهاد کرده اند. در این مطالعه انسولین به وسیله پلیمر اودراگیت RS ۱۰۰ (خریداری شده از شرکت Evonic) پوشش - دهی شد. میانگین قطر نانو ذرات انسولین به وسیله میکروسکوپ نیرو اتمی ۴۵۰nm برآورد شد و درصد کپسوله شدن نانو ذرات به وسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، ۸۵٪ تعیین شد. در ابتدا از خرگوش به عنوان مدل طرح استفاده کردیم. گاوژ کردن نانو ذرات انسولین به خرگوش ها منجر به کاهش ۴۰ واحدی گلوکز خون شد. سپس پروژسترون و کورتیزول پلازما اندازه گیری شد که پروژسترون پلازما افزایش و کورتیزول کاهش معنی داری در سطح $P \leq 0.05$ نشان داد. واژه های کلیدی: انسولین پوشش داده شده، نانو ذرات انسولین، انسولین کپسوله.

مقدمه

دیابت قندی بیماری نسبتاً شایعی است که حاصل کمبود ترشح یا عملکرد انسولین می باشد. در حال حاضر انسولین موجود در بازار دارویی به صورت محلول است و باید از طریق زیر پوستی تزریق شود. تزریق زیر پوستی برای بیماران مشکلات زیادی به همراه داشته به همین دلیل دانشمندان همواره به دنبال روش های کاربردی جدید برای استفاده از انسولین بوده اند. از این روش ها می توان به روش های خوراکی، استنشاقی، ریوی، چشمی، مقعدی و پوستی اشاره کرد. به دلیل سهولت و نیز مقبولیت اجتماعی بیشتر، مصرف دارو از طریق دهان توسط دانشمندان در سراسر جهان مورد توجه قرار گرفته است. از طرف دیگر انسولین به عنوان یک هورمون و پروتئین موثر در تولید مثل، متابولیسم و تنظیم عملکرد و رشد بافت ها شاید بتواند در دامپروری به شکل خوراکی از آن استفاده گردد. اما یک مشکل جدی در استفاده از انسولین خوراکی تخریب آن در دستگاه گوارش است. انسولین یک ملکول پروتئینی است که در برابر آنزیم ها و اسیدهای دستگاه گوارش ناپایدار است. برای مصرف خوراکی انسولین، بایستی این ملکول به وسیله ترکیبی پوشش دهی شود [۳، ۴]. محققین ترکیبات زیادی از جمله میکرو/نانو ذرات، نانو کپسول ها، امولسیون ها، لیپوزوم و میسل را پیشنهاد کرده اند [۶]. در این بین میکرو/نانو ذرات پلی مری حاوی انسولین به دلیل امکان رهایش کنترل شده، اندازه کوچک و سازگاری زیستی با سلول ها و بافت های بدن مورد توجه قرار گرفته اند. بنابر این می توان از سیستم های پلی مری استفاده کرد و با احاطه کردن انسولین با ذرات نانو پلیمری آن را از تخریب در دستگاه گوارش حفظ کرد و زمان ماند دارو در بدن را افزایش داد. در این مطالعه ما از پلیمر اودراگیت RS ۱۰۰ استفاده کردیم و سپس نانو ذرات انسولین را روی خرگوش های دیابتی و گوسفند آزمایش کردیم.

مواد و روش ها

برای تهیه نانوذرات انسولین ابتدا دو محلول ساخته شد. محلول شماره یک، شامل ۲/۵ گرم اودراگیت به همراه ۱۰۰ میلی لیتر متیلن کلراید و محلول شماره دو شامل ۳۰۰ میلی گرم پلی وینیل الکل به همراه ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر. اودراگیت پلی مر مورد نظر بوده که در حلال آلی و فرار متیل کلراید حل شده و سپس در حضور امولسیفایری مانند پلی وینیل الکل (PVA) مخلوط شده تا امولسیون o/w تهیه شود. از محلول شماره یک، ۶ میلی لیتر برداشته و ۰/۶ میلی لیتر انسولین رگولار به آن اضافه شد. سپس با استفاده از دستگاه سونیکیتور (تولید کننده امواج با فرکانس بالا) این محلول ۳۰ ثانیه با قدرت ۱۵ وات به هم زده شد. محلول سونیکیت شده با ۲۴ میلی لیتر از محلول شماره دو مخلوط شد و سپس یک دقیقه سونیکیت شدند. سپس این امولسیون به مدت ۴۰ دقیقه در دستگاه ساتریفیوژ با دور ۳۸۰۰rpm قرار داده شد و نانو ذرات ته نشین شدند. فاز بالایی تا زمان آنالیز در فریزر با دمای ۲۰ - درجه سانتیگراد نگهداری شد و نانو ذرات جامد به مدت ۸-۱۰ ساعت در دستگاه فریز درایر با دمای ۸۰ - درجه سانتیگراد خشک گردید. برای اندازه گیری قطر نانو ذرات از میکروسکوپ نیرو اتمی (AFM) استفاده شد و برای تعیین مقدار انسولین احاطه شده در نانو ذرات پلیمری ازدستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده گردید. از خرگوش های نر بالغ با میانگین وزنی ۲ کیلوگرم به عنوان مدل طرح استفاده شد. ۶ روز متوالی بعد از ۱۲ ساعت گرسنگی گلوکز خون توسط دستگاه تست گلوکز اندازه گیری شد. میانگین گلوکز خون خرگوش ها ۱۲۲ mg/ml بود. با تزریق آلوکسان به میزان ۱۵۰ gr/kg در سیاهرگ گوش به خرگوش ها دیابت القا شد. گلوکز خون خرگوش ها ۱ هفته بعد از تزریق به ۲۱۰ gr/kg رسید. نانو ذرات انسولین به میزان ۲۰ میلی گرم به خرگوش ها گاوژ شد و سپس گلوکز خون به وسیله دستگاه تست گلوکز ۲۴ ساعت بعد اندازه گیری شد. خرگوش ها در طول آزمایش گرسنه نگه داشته شدند و پس از آن تغذیه شدند.

حیوان مورد استفاده برای انجام آزمایش گوسفند بود به همین منظور از ۱۵ راس میش نژاد نایینی با میانگین وزنی ۲۸ کیلوگرم استفاده شد. میانگین گلوکز خون گوسفندان ۸۸ mg/ml بود. نانو ذرات انسولین به میزان یک گرم به ۵ راس گوسفند به صورت خوراکی همراه با آب خورانیده شد. به ۵ راس گوسفند پلیمر به صورت خوراکی به میزان یک گرم داده شد و ۵ راس نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. دوره آزمایش ۵ روزه بود. و خونگیری به صورت یک روز در میان انجام شد. سپس پلاسما جداسازی شد و گلوکز، انسولین، IGF-I، استروژن، پروژسترون و کورتیزول اندازه گیری شد. به منظور حصول اطمینان از خاصیت عبوری بودن پلیمر اودراگیت از یک راس قوچ فیستوله گذاری شده استفاده کردیم. ۴ نمونه از پلیمر به وزن یک گرم در شکمبه قوچ قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت وزن کشی شد. این مرحله ۲ تکرار داشت. ثابت ماندن وزن نمونه ها مشخص کننده خاصیت عبوری پلیمر اودراگیت بود. آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و رویه MIXED انجام شد و سطح معنی داری داده ها ۰/۰۵ $P \leq$ بود.

نتایج و بحث

با توجه به عکس های AFM حاصل از میکروسکوپ نیرو اتمی، انسولین کپسوله شده دارای قطر ۴۵۰ nm بود و بازدهی کپسوله شده نانو ذرات انسولین ۸۵٪ محاسبه شد. پس از خوراندن نانو ذرات انسولین به خرگوش و اندازه گیری گلوکز خون مشخص شد که گلوکز خون خرگوش ها از میانگین ۲۰۶ mg/ml به ۱۶۵ mg/ml رسیده است که این کاهش ۴۰ واحدی نشان دهنده افزایش انسولین خون و فرمان ذخیره سازی گلوکز است.

پس از مصرف خوراکی نانو ذرات انسولین گلوکز خون گوسفندان از ۷۷ به ۶۷/۴ میلی گرم بر میلی لیتر کاهش پیدا کرده بود مصرف خوراکی انسولین باعث کاهش کورتیزول پلاسما از ۴/۱ به ۲/۷ میکرو گرم بر دسی لیتر شد، که در سطح ۰/۰۵ $P \leq$ معنی دار بود.



پس از مصرف خوراکی انسولین، پروژسترون پلاسما از ۱/۹ به ۲/۵ نانو گرم بر میلی لیتر افزایش پیدا کرد، که در سطح ۰/۰۵ $P \leq$ معنی دار بود.

این مطالعه به طور واضح نشان می دهد که پوشش دهی انسولین به وسیله پلیمر اودراگیت باعث حفظ فعالیت بیولوژیکی و طولانی شدن اثر آن می گردد. نتایج به دست آمده با نتایج ساراس، سلوارجو و لوسی مطابقت داشت [۵ و ۴]. سوروان در سال ۱۹۹۲ وجود گیرنده های انسولین بر سلول های گرانولوزا در دستگاه تناسلی ماده را به اثبات رسانده است و اثر مستقیم انسولین روی فولیکول ها و جسم زرد به وسیله لوسی و همکاران در سال ۱۹۹۳ گزارش شده است [۴]. سلوارجو (۲۰۰۳) می گوید: افزایش غلظت پروژسترون به علت اثر مستقیم انسولین روی جسم زرد و افزایش سرعت تخمک گذاری می باشد. همچنین استوارت در سال ۱۹۹۵ نشان داد، افزایش انسولین باعث تکثیر و رشد سلول های تیکا شده و همین امر منجر به افزایش پروژسترون شده است. به طور کلی می توان گفت هنگامی که انسولین پوشش داده شده خورانیده شده است، ابتدا وارد دستگاه گوارش می شود، اما به علت خاصیت عبوری اودراگیت (پلی مر مورد استفاده) و هم چنین محافظت این پلی مر از انسولین در برابر آنزیم ها و اسیدهای دستگاه گوارش، انسولین به سلامت عبور کرده و در پیرزیچ های روده به دام می افتد، سپس همانند اسفنج آب جذب می کند و انسولین به آرامی آزاد می گردد و وارد خون می شود و آثار بیولوژیک خود را اعمال می کند. در مطالعات قبلی که توسط پژوهشگران متفاوت انجام شده بود، انسولین پوشش داده شده مصرفی ۲۰۰۰۰۰ برابر انسولین خون به موش صحرائی گاوژ شد، اما در پژوهش حاضر این مقدار به ۲۵۰۰ برابر کاهش یافت. نکته قابل توجه در این تحقیق استفاده از انسولین پوشش داده شده به مقدار بسیار کمتر نسبت به دوزهای مصرفی قبلی است. در کل یافته های ما به وضوح ثابت کرد که تجویز دهانی انسولین کپسوله شده با نانو پارتیکل های پلیمری منجر به کاهش گلوکز خون زمان ناشتا در خرگوش های دیابتی و گوسفندان شد و نانو ذرات انسولین منجر به کاهش کورتیزول پلاسما و هم چنین افزایش پروژسترون گردید.

منابع:

1. Akhlesh Kumar. J, K. Roop, A. Farhan, D. Prakash. 2008. Effective insulin delivery using starch nanoparticles as a potential trans- nasal mucoadhesive carrier. J. pharmaceuticals, 69: 426-435.
2. Damage. C, Maincent and P, Ubrich. N.2007. Oral delivery of insulin associated to polymeric nanoparticles in diabetic rats. J. Cont. Release, 117: 163-170.
3. Hosny. A, H. AL-shora and M. Elmazar. 2002. Oral delivery of insulin from enteric-coated capsules containing sodium salicylate: effect on relative hypoglycemia of diabetic beagle dogs. J. pharmaceuticals, 237: 71-76.
4. Lucy, M. C., De La Sota, R. L., Staples, C. R., Thatcher, W. W. 1993. Ovarian follicular populations in lactating dairy cows treated with recombinant bovinsomatotropin or salin fed diets differing in fat content and energy. J. Dairy Sci. 76: 1014- 1027.
5. Sarath. T, s. Mehrotra, S. K. agarwal, V. P. Varshney, U. Shankar and S. K. Singh. acyclic goats. Anim. Reprod. Sci, 108: 216-225.
6. Sarmento. B, A. Ribeiro, F. Veiga, P. Neufeld, and D. Ferreira. 2007. Alginate/Chitosan nanoparticles are effective for oral insulin delivery. J. pharmaceuticals, 24: 2198-2206.

Nano Polymer Coating Insulin and Their Absorbtion Evaluationin Duodenum of Sheep
Shiva Oliya*, Hamid reza Rahmani, Mohammad Khorvash, Mohammad ali Edriss
Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Esfahan University of Technology.
E-mail address: oliyashiva@yahoo.com



Insulin nanoparticles have been shown to decrease the blood glucose level after oral administration to alloxan-induced diabetic fasted rabbits and sheep. The aim of this work was nanopolymercoating insulin by Edrugit RS100. In this study, nano particle were manufactured according to the double emulsion technique mainly used for peptides and proteins. Then many attempts have been conducted to make new formulation for orally insulin and decrease the consequence of insulin injection daily. To improve the stability of insulin against gastrointestinal enzymes, it was coated by using Edrugait polymer. The rate of encapsulation of insulin was around 85% . Insulin-load nanoparticles were a homogeneous size distribution with a mean diameter 450 nm. Then Nanopolymer coating insulin was tested in rabbit as animal model. This Nano polymer decreased plasma glucose level. After testing, Nano-polymer on rabbit, they were delivered orally to 15 sheep, for 5-day period. The concentration of cortisol, estrogen, insulin and IGF-I were analyzed. The results showed that concentration of cortisol were significantly in higher level and progesterone in lower value.

Key Word: Nano particle- Nano Drug, Insulin Delivery- Insulin nano particle



با نانو ذرات و استفاده از آن در عبور شکمبه ای IGF-I امکان پوشش دهی پروتئین

شیوا اولیاء*، حمیدرضا رحمانی، محمد خوروش، محمد علی ادریس

به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار، استادیار و استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی

اصفهان

* نویسنده مسئول: شیوا اولیاء، پست الکترونیکی: oliyashiva@yahoo.com

چکیده

فاکتور رشد شبه انسولین یا IGF-I به واسطه هورمون رشد از کبد ترشح می شود. این فاکتور در شیر گونه های مختلف وجود دارد و نقش مهمی در متابولیسم استخوان بازی می کند. هم چنین روی باروری و تولید شیر نیز اثر می گذارد. با توجه به آثار فراوان IGF-I مصرف این فاکتور به صورت خوراکی مناسب به نظر می رسد. اما این عامل پروتئینی بوده و در برابر آنزیم ها و اسیدهای دستگاه گوارش ناپایدار است. پس بایستی از ترکیبی برای پوشش دهی آن استفاده کرد تا در دستگاه گوارش محافظت شود. محققین نانو ذرات را برای پوشش دهی ملکول های پروتئینی پیشنهاد کرده اند. فاکتور رشد شبه انسولین به وسیله پلیمر اودراگیت RS 100 پوشش دهی شد. میانگین قطر نانو ذرات IGF-I به وسیله میکروسکوپ نیرو اتمی ۱۸۰ nm برآورد شد و درصد کپسوله شدن نانو ذرات به وسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالای ۷۰٪ تعیین شد. سپس IGF-I پوشش داده شده به صورت خوراکی به گوسفندان غیر آبستن خورانیده شد، مصرف نانو ذرات IGF-I منجر به کاهش گلوکز و کورتیزول پلاسما و هم چنین افزایش پروژسترون و استروژن پلاسما شد ($P < 0.05$). تزریق IGF-I پوشش داده شده به گوسفندان جراحی شده باعث افزایش IGF-I و پروژسترون پلاسما و همچنین کاهش گلوکز خون در سطح $P \leq 0.05$ گردید.

واژه های کلیدی: فاکتور رشد شبه انسولین، نانو ذرات IGF-I، IGF-I پوشش داده شده، فاکتور رشد شبه انسولین پوشش داده شده.

مقدمه

فاکتور رشد شبه انسولین یا IGF-I توسط تعداد زیادی از بافت ها ترشح می شود ولی عمده آن از کبد بوده که پس از ترشح به سایر بافت ها می رسد [۹]. هم چنین در طی دوران بلوغ، آبستنی و شیردهی منجر به تزاید سلولی غده پستان می شود. این فاکتور بر روی خودکشی سلولی یا آپاتوزیس سلول های غده پستان نیز اثر گذار است [۶]. با توجه به اثرات مفید IGF-I مصرف این فاکتور به صورت خوراکی مناسب به نظر می رسد. اما این عامل پروتئینی بوده و در برابر آنزیم ها و اسیدهای دستگاه گوارش ناپایدار است. پس بایستی از ترکیبی برای پوشش دهی آن استفاده کرد تا در دستگاه گوارش محافظت شود [۸ و ۴]. محققین ترکیبات زیادی از جمله میکرو/نانو ذرات، نانو کپسول ها، امولسیون ها، لیپوزوم و میسل را پیشنهاد کرده اند [۲ و ۷]. در این بین میکرو/نانو ذرات پلی مری حاوی

IGF-I به دلیل امکان رهایش کنترل شده، اندازه کوچک و سازگاری زیستی با سلول ها و بافت های بدن مورد توجه قرار گرفته اند. در مورد گوسفند به عنوان یک مدل نشخوارکننده بررسی امکان عبور این پروتئین پوشش داده شده جالب به نظر می رسد.

مواد و روش ها



تهیه نانوذرات IGF-I به روش آقای دمج و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد [۵]. برای اندازه‌گیری قطر نانو ذرات از میکروسکوپ نیرو اتمی^۱ (AFM) استفاده شد و برای تعیین مقدار IGF-I کپسوله شده در نانو ذرات پلیمری، از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده گردید [۱۰]. پانزده راس میش غیر آبستن نژاد نایب با میانگین وزنی ۲۸ کیلوگرم انتخاب شد. میانگین گلوکز خون گوسفندان ۸۸ mg/ml بود. به منظور حصول اطمینان از خاصیت عبوری بودن پلیمر اودراگیت خریداری شده از شرکت Evonic، از یک راس قوچ فیستوله گذاری شده استفاده شد. چهار نمونه از پلیمر اودراگیت RS ۱۰۰ به وزن یک گرم در شکمبه قوچ قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت بیرون آورده و وزن کشی شد. این مرحله ۲ تکرار داشت. ثابت ماندن وزن نمونه ها مشخص کننده خاصیت عبوری پلیمر اودراگیت بود. نانو ذرات IGF-I به میزان یک گرم به ۵ راس گوسفند به صورت خوراکی همراه با آب خورانیده شد. به ۵ راس گوسفند هم پلیمر به صورت خوراکی به میزان یک گرم داده شد و ۵ راس نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند [۳]. دوره آزمایش ۵ روزه بود. و خونگیری به صورت یک روز در میان انجام می شد. پلاسما جداسازی و گلوکز، انسولین، IGF-I، استروژن، پروژسترون و کورتیزول اندازه گیری شد. آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و رویه MIXED انجام شد و سطح معنی داری داده ها $P \leq 0.05$ بود.

نتایج و بحث

با توجه به عکس های AFM حاصل از میکروسکوپ نیرو اتمی، IGF-I کپسوله شده دارای قطر ۱۸۰ nm بود و بازدهی کپسوله شده نانو ذرات IGF-I ۷۰٪ محاسبه شد. پس از مصرف خوراکی نانو ذرات IGF-I، گلوکز خون گوسفندان از ۷۲/۸ به ۵۸/۸ میلی گرم بر میلی لیتر کاهش پیدا کرد. مصرف خوراکی IGF-I پوشش داده شده، منجر به کاهش کورتیزول پلاسما از ۳/۷ به ۲/۸ میکروگرم بر دسی لیتر شد، که در سطح $P \leq 0.05$ معنی دار بود. پس از مصرف خوراکی نانو ذرات IGF-I، پروژسترون پلاسما از ۱/۲ به ۲/۹ افزایش پیدا کرد، که در سطح $P \leq 0.05$ معنی دار بود. مصرف خوراکی نانو ذرات IGF-I، استروژن پلاسما را افزایش داد و از ۰/۱۴ به ۰/۲۸ رسانید، که در سطح $P \leq 0.05$ معنی دار بود. پس از مصرف خوراکی نانو ذرات IGF-I گلوکز خون گوسفندان جراحی شده از ۸۰ به ۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر کاهش پیدا کرد. پس از تجویز نانو ذرات IGF-I درون دوازدهه، پروژسترون پلاسما از ۳/۹ به ۶/۲ نانو گرم بر میلی لیتر افزایش پیدا کرد، که در سطح $P \leq 0.05$ معنی دار بود. پس از تجویز نانو ذرات IGF-I درون دوازدهه، IGF-I پلاسما از ۴۹/۲ به ۶۹/۵ نانو گرم بر میلی لیتر افزایش پیدا کرد، که در سطح $P \leq 0.05$ معنی دار بود. در این مطالعه برای اولین بار IGF-I به وسیله نانو ذرات پلیمری پوشش دهی شد. فاکتور رشد شبه انسولین در سلول های عضله و ماهیچه منجر به جذب گلوکز خون می شود، پس نانو ذرات IGF-I نیز از طریق دوازدهه و سیستم لنفاوی وارد خون شده و باعث جذب گلوکز خون گردیده است. سپس نانو ذرات IGF-I به صورت خوراکی به گوسفندان خورانیده شد، مصرف نانو ذرات IGF-I منجر به کاهش گلوکز و کورتیزول پلاسما و هم چنین افزایش پروژسترون و استروژن پلاسما در سطح $P \leq 0.05$ شد [۱۱]. پس از خورده شدن IGF-I پوشش داده شده و عبور از دستگاه گوارش و به دام افتادن آن در

¹ Atomic Force Microscop



پیرزیچ های روده، IGF-I از اودراگیت جدا شده و وارد خون می شود، سپس منجر به افزایش موج فولیکولی می گردد و رشد فولیکول ها را زیاد می کند و در نهایت منجر به ازدیاد سلول های گرانولوزا می گردد و غلظت استرادیول افزایش می یابد [۱۲]. تزریق IGF-I پوشش داده شده به گوسفندان جراحی شده باعث افزایش IGF-I و پروژسترون پلاسما و همچنین کاهش گلوکز خون در سطح $P \leq 0/05$ گردید. بر اساس یافته های گنگ و همکاران در سال ۱۹۹۶ به علت تاثیر IGF-I روی موج های فولیکولی است، که منجر به ازدیاد سلول های گرانولوزا می گردد، که این سلول ها تولید پروژسترون را به عهده دارند. این مطالعه به طور واضح نشان می دهد که پوشش دهی IGF-I به وسیله پلیمر اودراگیت RS 100 باعث حفظ فعالیت بیولوژیکی IGF-I می گردد.

منابع

1. Accorsi, P. A., B. Pacioni, C. Pezzi, M. Forni, D. j. Flint and E. seren. 2002. Role of Prolactin, Growth Hormone and Insulin-like Growth factor-I in Mammary Gland Involution in the dairy Cow. J. Dairy Sci.85; 507-583.
2. Akhlesh Kumar. J, K. Roop, A. Farhan, D. Prakash. 2008. Effective insulin delivery using starch nanoparticles as a potential trans- nasal mucoadhesive carrier. J. pharmaceuticals, 69: 426-435.
3. Coa. Q, E. Lee, Y. Choi, C. Cho, B. Lee 2008. Rumen bypass and biodistribution of L-carnitine from dual-layered coated pellets in cows, in vitro and in vivo. J. pharmaceuticals, 359: 87-93.
4. Cournarie. F, D. Aucchere, D. Chevenne, B. Lacoure, M. Seiller and C. Vauthier. 2002. Absorption and efficiency of insulin after oral administration of insulin-loaded nanocapsules in diabetic rats. J. Pharmaceuticals, 242: 325-328.
5. Damage. C, Maincent and P, Ubrich. N.2007. Oral delivery of insulin associated to polymeric nanoparticles in diabetic rats. J. Cont. Release, 117: 163-170.
6. Dianne, S. 2002, Growth factor and extracellular matrix regulation of heifer mammary development, fulfillment of the requirements for the degree of doctor of Philosophy. Virginia polytechnic Institute, State University.
7. Fan. Y, Y. N. Wang, and J. B. Ma. 2006. Preparation of insulin nanoparticles and their encapsulation with biodegradable polyelectrolytes via the layer- by- layer adsorption. J. pharm, 324: 158-167.
8. Leroith, D. 1996. A novel whey to study Effect of IGF-I on mammary development. J.Endor. Soc.187: 1-17.
9. Moslemi. P, A.R. Najafbadi, H. Tajerzadeh, 2003. A rapid and sensitive method for simultaneous determination of insulin and A21-desamido insulin by high performance liquid chromatography, j. Pharm. Biomed. Anal. 33 : 45-51.
10. Rekha.M.R.Chandrap..Sharma 2009. Symthesis and evaluation of louryl succinyl chitson particles towards oral insulin delivery and absorption.Cont. Release;135:144-151.
11. Selvaraju, S., Agarwal, S. K., Karche, S. D., Majumder, A. C., 2003. Ovarian response, embryo production and hormonal profiles in supervaluated goats treated with insulin. j. Theriog.. 59: 1459- 1468.
12. Stewart, R. E., Spicer, C. J. Hamilton, T. Keefer, B. E. 1995. Effect of insulin like growth factor and insulin like growth factor-I on the level of RNA encoding aramatas cytochrome p-450 of human ovarian granulosa cells. Mol. Cell. Endocrinol. 59: 93-99.



Nano Polymer Coating IGF_I and using in the Delivery

Shiva Oliya*, Hamid reza Rahmani, Mohammad Khorvash, Mohammad ali Edriss
Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Esfahan University of Technology.
E-mail address: oliyashiva@yahoo.com

IGF_I nanoparticles have been shown to decrease the blood glucose level after oral administration to alloxan-induced diabetic fasted rabbits and sheeps. The aim of this work was nanopolymer coating IGF_I by Edrugit RS100. In this study, nano particle were manufactured according to the double emulsion technique mainly used for peptides and proteins. To improve the stability of IGF_I against gastrointestinal enzymes, it was coated by using Edrugait polymer. The rate of encapsulation of IGF_I was around 70% . IGF_I-load nanoparticles were a homogeneous size distribution with a mean diameter 180 nm. Then, they were delivered orally to 15 ewes, for 5-day period. Blood samples were collected three times. The concentration of cortisol, estrogen, insulin and IGF-I were analyzed. The results showed that concentration of cortisol were significantly in lower level and progesterone in higher value. In order to accessibility to duodenum of ewes, four ewea were surgery and studied for 5-day period. Blood samples were collected on the first, third and fifth day of period. The concentration of progesterone and IGF-I were significantly in higher level and blood glucose decrease.

Key Word: Nano particle- Nano Drug, IGF_I Delivery- Insulin like growth factor



اثر انسولین بر گلوکز، انسولین، اسیدهای چرب غیراسترئوفیه و کتون بادی‌های خون پس از زایمان

مهدی بابایی^۱، محسن موذنی^۲

۱- هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد ۲- فارغ التحصیل دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

چکیده

در آزمایش حاضر، تعداد ۱۶ راس تلیسه ۱۰ روز مانده به زایمان انتخاب شده و به ۸ عدد از آنها به عنوان تیمار، میزان ۰/۸ واحد بین‌المللی بر اساس وزن بدن زنده، انسولین تزریق شد. هفته اول و دوم پس از زایمان، گلوکز، انسولین، اسیدهای چرب غیراسترئوفیه و کتون بادی‌ها خون اندازه‌گیری شد. داده‌ها در غالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شد. در هر دو هفته، گلوکز و انسولین پلاسما بالاتر و اسیدهای چرب غیراسترئوفیه و کتون بادی‌های خون در گروه تیمار پایین‌تر بود، ولی این اختلاف فقط برای کتون بادی‌ها در هر دو هفته پس از زایمان، در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار و برای گلوکز و انسولین در سطح ۵ درصد در هفته اول معنی‌دار شد. دلیل این اختلاف، کم‌تر بودن گیرنده‌ها و ناقلین گلوکز و به دنبال آن، بالاتر بودن مقاومت سلولی به انسولین در گروه تیمار است. بالاتر بودن گلوکز و انسولین خون در این زمان، عامل کاتابولیسم کمتر چربی‌ها است. بنابراین تزریق انسولین قبل از زایمان، احتمالاً می‌تواند باعث کاهش کتوز پس از زایمان در گاو شود. واژگان کلیدی: انسولین، کتون بادی، زایمان، مقاومت سلولی و کتوز

مقدمه

امروزه اصلاح نژاد گاوهای شیره، بیشتر با هدف افزایش تولید شیر صورت می‌گیرد. با افزایش تولید شیر، بیماری‌های متابولیکی بیشتری پس از زایمان مشاهده می‌شود. مهم‌ترین دلیل بروز این بیماری‌های متابولیکی، بالانس منفی انرژی است که انسولین نقش مهمی را در تنظیم بالانس منفی انرژی دارد. در ابتدای شیردهی، به دلیل کاهش سطح گلوکز خون و در نتیجه آن، افزایش لیپولیز بافت چربی، میزان اسیدهای چرب غیراسترئوفیه خون افزایش می‌یابد. اگر بالانس بین لیپولیز و استرئیکاسیون چربی‌ها به هم بخورد، میزان اجسام کتونی خون افزایش می‌یابد. کاهش گلوکز خون و در نتیجه آن، کمبود انسولین و کاهش حساسیت بافت‌ها به انسولین در موقع زایمان، تجزیه چربی‌ها و افزایش اسیدهای چرب غیراسترئوفیه را تشدید می‌کند. تفاوت معنی‌داری بین انسولین خون با اجسام کتونی، میزان اسیدهای چرب غیراسترئوفیه، گلوکز، لپتین، فاکتور رشد شبه‌انسولین و کاهش امتیاز بدنی پس از زایمان در گاوهای با سطوح مختلف کتوز وجود دارد. گاوهایی که کتوز ندارند سطوح بالاتری از انسولین را دارند (کرستیس و همکاران، ۲۰۰۹).

در نشخوارکنندگان همانند دیگر پستانداران، انسولین نقش مهمی را در تنظیم گلوکز دارد. انسولین در نشخوارکنندگان همانند غیرنشخوارکنندگان، تاثیرات مختلفی از قبیل اثر بر روی بافت عضله، بافت چربی، کبد و پستان دارد و همچنین انسولین یکی از تنظیم‌کننده‌های مهم هموستاز گلوکز است. گلوکز، انسولین و حساسیت بافت‌ها به انسولین در دوره انتقال، (بین اواخر شیردهی و اوایل شیردهی بعدی) کاهش می‌یابد و دام با کاهش تولید شیر، خود را با این کاهش گلوکز و انسولین سازگار می‌کند (بل و بومن، ۱۹۹۷). گاوهای با محدودیت غذایی، تجزیه بیش از حد چربی‌ها و در نتیجه مقادیر بالاتری از اسیدهای چرب غیراسترئوفیه و بتا هیدروکسی بوتیرات را دارند. این فرایند باعث کاهش حساسیت سلول‌ها به انسولین و در نهایت باعث افزایش گلوکز خون می‌شود (اوکاوا و اوتسل، ۲۰۰۶).



هدف از این آزمایش، بررسی اثر تزریق انسولین قبل از زایمان بر روی گلوکز، انسولین، اسیدهای چرب غیراسترئوفیه و کتون بادی های خون پس از زایمان در گاوهای شیرده هلشتاین است.

مواد و روش ها

تعداد ۱۶ راس تلیسه ی ۸ تا ۱۲ روز مانده به زایمان، با سلامتی کامل و بدون هیچ گونه سابقه بیماری انتخاب شدند. تعداد ۸ راس از آنها به عنوان شاهد و ۸ راس دیگر به عنوان تیمار در نظر گرفته شدند. به گروه تیمار، میزان ۰/۸ واحد بر اساس وزن زنده بدن دام، انسولین انسانی ان پی اچ تزریق شد. برای جلوگیری از شوک هیپوگلیسمیک، در مدت ۳ روز این تزریق انجام گرفت که مقدار تزریق در روز اول، ۰/۲ واحد؛ در روز دوم، ۰/۲۵ واحد و در روز سوم، مقدار ۰/۳۵ واحد بر اساس وزن زنده بدن بود. تمام این تزریقات به صورت زیر جلدی انجام شد. به گروه شاهد میزان ۵ سی سی آب مقطر به مدت ۳ روز به صورت زیر جلدی تزریق شد. تمام تلیسه ها به مدت ۵ ساعت برای جلوگیری از عوارض شوک هیپوگلیسمیک زیر نظر قرار داده شدند. قبل از تغذیه صبحگاهی، از آنها خون گیری انجام شد. برای آنالیز داده ها از نرم افزار excel و SAS استفاده شد. برای تعیین غلظت گلوکز، انسولین، اسیدهای چرب آزاد و کتون بادی خون، از تحلیل واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون مقایسه ای چند دامنه ای دانکن استفاده شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار excel استفاده شد.

نتایج و بحث

مقایسه گلوکز خون در هفته اول پس از زایمان، یک تفاوت معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان می دهد. غلظت گلوکز خون در گروه شاهد، ۵۷ میلی گرم در دسی لیتر و در گروه تیمار انسولین، ۶۳ میلی گرم در دسی لیتر بود. این اختلاف، ناشی از اثر انسولین تزریق شده قبل از زایمان است که باعث ایجاد یک مقاومت سلولی در بدن دام شده است. مقایسه انسولین خون در هفته اول پس از زایمان، تفاوت معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان می دهد. این اختلاف، ناشی از اثر انسولین تزریق شده قبل از زایمان است که باعث افزایش قند خون، به دلیل ایجاد مقاومت سلولی، و در نتیجه بالا بردن انسولین خون شده است. کلاً هفته اول پس از زایمان، مقاومت انسولین بالا است. غلظت اسیدهای چرب غیراسترئوفیه خون در گروه تیمار انسولین، ۰/۳۹ میلی مول بر لیتر در هفته اول پس از زایمان بود که این مقدار تفاوت معنی داری را نسبت به گروه شاهد با غلظت اسیدهای چرب غیراسترئوفیه خون ۰/۴۲ میلی مول بر لیتر نشان نداد. با این حال، غلظت اسیدهای چرب غیراسترئوفیه خون در گروه شاهد بالاتر از گروه تیمار انسولین بود. وجود مقاومت سلولی پایین تر در گروه شاهد نسبت به تیمار انسولین، باعث افت بیشتر گلوکز خون در گروه شاهد شده است. هرچه گلوکز خون کمتر باشد، غلظت اسیدهای چرب غیراسترئوفیه خون بیشتر می شود. این در حالی است که بالاتر بودن مقاومت سلولی، گلوکز خون را بالاتر نگه داشته، ولی به دلیل نفوذ کمتر گلوکز به داخل سلول، می بایست غلظت اسیدهای چرب غیراسترئوفیه خون نیز بالا بماند. پایین تر بودن گلوکز خون در گروه تیمار انسولین، احتمالاً به دلیل نیاز کمتر دام برای استفاده از ذخایر چربی بدن در این شرایط است. احتمالاً دام توانسته با گلوکز خون بالاتر نسبت به گروه شاهد، نیازهای خود را تامین نماید و با کاهش دادن لیپولیز بافت چربی، غلظت اسیدهای چرب غیراسترئوفیه خون خود را پایین تر نگه دارد. در هفته دوم پس از زایمان، با این که کلاً غلظت اسیدهای چرب غیراسترئوفیه خون نسبت به هفته اول پس از زایمان کمتر بود، ولی این میزان در گروه تیمار انسولین مانند هفته اول پس از زایمان، با یک اختلاف غیرمعنی دار، پایین تر از گروه کنترل مشاهده شد. می توان چنین استنباط کرد که در این هفته نیز مقاومت سلولی بالاتر بوده و به دنبال این امر، گلوکز مورد نیاز دام برای تأمین انرژی، بالاتر بوده و دام نیاز کمتری برای



تخریب بافت چربی و آزادسازی اسیدهای چرب به داخل خون را از خود نشان می‌دهد، که این موضوع می‌تواند پایین‌تر بودن غلظت اسیدهای چرب غیراستریفیه خون در گروه تیمار انسولین را نسبت به کنترل را توجیه نماید.

غلظت کتون بادی‌های خون بین دو گروه شاهد و تیمار انسولین در هفته اول پس از زایمان، در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شده است. در گروه تیمار انسولین، بالا بودن غلظت انسولین و گلوکز خون، به دلیل بالا بودن مقاومت سلولی به انسولین، نیاز گلوکزی دام را برای تولید (هرچند پایین‌تر) تأمین می‌نماید. در این شرایط دام نیاز کمتری به لیپولیز بافت چربی داشته و کتون بادی کمتری وارد خون می‌شود. بالاتر بودن گلوکز خون، باعث افزایش استریفیه شدن اسیدهای چرب شده که این موضوع نیز به نوبه خود سطح کتون بادی‌های خون را کاهش می‌دهد. این نتایج نشان دهنده پایین بودن کتوز در گروه انسولین خورده است، یعنی تزریق انسولین قبل از زایمان، توانسته غلظت کتون بادی‌های خون را که یکی از مشخصه‌های اصلی کتوز است را پایین نگه داشته، هم چنین باعث بالا نگه داشتن غلظت خونی گلوکز و انسولین در هفته اول پس از زایمان شده است. غلظت کتون بادی‌های خون بین دو گروه شاهد و تیمار انسولین در هفته دوم پس از زایمان، در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شده است. با این که کلاً غلظت کتون بادی‌های خون در هفته دوم پس از زایمان نسبت به هفته اول زایمان پایین‌تر است، این میزان در گروه تیمار انسولین با میانگین ۰/۳۹ میلی مول بر لیتر، نسبت به گروه کنترل با میانگین ۰/۵۹ میلی مول بر میلی لیتر نیز پایین‌تر بود. با توجه به مطالب گفته شده، بالاتر بودن گلوکز و انسولین خون در گروه تیمار انسولین، هم چنین شکستن مقاومت سلولی در هفته دوم در پی بازسازی گیرنده‌های انسولین و ناقلین گلوکز می‌تواند دلیل بر ورود بیشتر گلوکز به داخل سلول و کاهش غلظت کتون بادی‌های خون گردد.

هفته اول پس از زایمان		هفته دوم پس از زایمان	
تیمار	گلوکز (mg/dl)	انسولین (pmol/L)	گلوکز (mg/dl)
انسولین (pmol/L)			
شاهد	۵۷/۹ ^b	۱۲/۱۳ ^b	۶۰/۳
۱۲/۶۳			
انسولین	۶۳/۶ ^a	۱۳/۲۵ ^a	۶۲/۸
۱۲/۸۸			
SEM	۱/۴۴	۰/۲۷	۱/۶۵
/۲۶			

جدول ۱- مقایسه میانگین تیمارهای مختلف، برای گلوکز و انسولین خون

هفته اول پس از زایمان		هفته دوم پس از زایمان	
زایمان	تیمار	تیمار	زایمان
غیراستریفیه	کتون بادی	کتون بادی	اسیدهای چرب
(mmol/L)	(mmol/L)	(mmol/L)	(mmol/L)



۰/۳۷	۰/۷۱ ^a	۰/۴۳	شاهد
			۰/۵۹ ^a
۰/۳۳	۰/۴۴ ^b	۰/۳۹	انسولین
			۰/۳۹ ^b
۰/۰۲	۰/۰۵	۰/۰۳	SEM
			۰/۰۴

جدول ۲- مقایسه میانگین تیمارهای مختلف، برای اسیدهای چرب غیراستریفیه و کتون بادی‌های خون

نتیجه‌گیری کلی

تزریق انسولین قبل از زایمان، با ایجاد یک مقاومت سلولی، گلوکز و انسولین خون را در هفته‌های اول و دوم پس از زایمان بالاتر نگه می‌دارد، که این امر به نوبه خود، کاهش اسیدهای چرب غیراستریفیه و کتون بادی‌های خون را به همراه دارد. کل این عمل، احتمال کتوز و دیگر بیماری‌های متابولیکی را کاهش داده، و در کل عملکرد دام افزایش می‌یابد.

منابع

1. Bell A, Bauman DE. 1997. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. *J Mammary Gland Biological Neoplasia*, 2:65-78.
2. Oikawa S, Oetzel GR. 2006. Decreased insulin response in dairy cows following a four-day fast to induce hepatic lipidosis. *Journal of Dairy Science*, 89:2999-3005.
3. Kerestes M, Faigl V, Kulcsar M, Balogh O, Foldi J, Febel H, Chilliard Y, Huszenicza G. 2009. Periparturient insulin secretion and whole-body insulin responsiveness in dairy cows showing various forms of ketone pattern with or without puerperal metritis. *Domestic Animal Endocrinology*, 37:250-261

Effect of insulin on postpartum blood glucose, insulin, NEFA and BHBA

Babai M¹, Moazeni M²

1- Islamic azad university-shahrekord

2- University of agriculture and natural resources Ramin

Abstract

In this experiment, selected 16 ten days Pre-partum heifers and injected .8 IU/Kg human insulin to 8 of them. Blood glucose, insulin, NEFA and BHBA was measurement at first and second weeks postpartum. Data were analysis with ANOVA. Blood glucose and insulin were higher and NEFA and BHBA were be lower in treatment group at all both weeks, but only were significant difference for BHBA at second postpartum week and were significant difference for glucose and insulin at first postpartum week. The causes of this difference is lower insulin receiver and glucose transferase and higher insulin resistance. The higher glucose and insulin is the causes of lower lipids dissimulation. Insulin injection at pre-partum, can be useful for prevent of postpartum ketosis.

Keywords: insulin, BHBA, parturition, insulin resistance and ketosis.



بررسی بیان ژن گیرنده های پروژسترون در نواحی مختلف رحم در اوایل آبستنی گوسفند افشاری

سید هادی حسینی^{۱*}، محمد طاهر هرکی نژاد^۲، بهنام رستمی^۲، محمد حسین شهیر^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

* نویسنده مسئول: سید هادی حسینی

آدرس مکاتباتی و پست الکترونیکی: hadi_h1366@yahoo.com

چکیده

هورمون پروژسترون یکی از هورمون های استروئیدی است که نقش فیزیولوژیکی مهمی در ایجاد آبستنی و رشد و توسعه اولیه رویان در پستانداران بر عهده دارد. پروژسترون اعمال فیزیولوژیک خود را توسط گیرنده هایش اعمال می کند. هدف مطالعه حاضر بررسی تغییرات احتمالی در بیان ژن گیرنده های پروژسترون (PR) در قسمت های مختلف رحم در اوایل آبستنی می باشد با استفاده از روش RT-PCR بود. رحم ۸ گوسفند آبستن بلافاصله پس از کشتار در کشتارگاه برش داده شد و سن آبستنی با اندازه گیری سر تا دم جنین ها مشخص شد. نمونه های بافتی از نواحی کارانکولی (CAR)، بین کارانکولی (ICAR) و بدنه رحم جمع آوری شد. نمونه های حاصله در دو گروه ۱ (آبستنی ۲۰ تا ۴۰ روزگی) و ۲ (آبستنی ۴۰ تا ۶۰ روزگی) قرار گرفتند. نتایج آزمایش ژن PR نشان داد که بیان ژن PR در ناحیه کارانکولی (CAR) در میش های گروه ۱، نسبت به میش های گروه ۲ کمتر بود ($P < 0.01$). بیان PR در ناحیه بین کارانکولی بین دو گروه تفاوت معنی داری نشان نداد. بیان ژن PR در بدنه رحم، در گروه ۱ نسبت به گروه ۲ بالاتر بود ($P < 0.01$). بطور کلی نتایج این مطالعه نشان می دهد که بیان ژن PR در زمان های مختلف آبستنی و در نواحی مختلف رحم در میش تغییر می کند.

واژه های کلیدی: گیرنده های پروژسترون- رحم- میش- آبستنی

مقدمه

هورمون پروژسترون یک هورمون ضروری برای نگهداری، بقا و توسعه جنین می باشد. رشد و توسعه جنین در پستانداران به طور مستقیم نیازمند اعمال پروژسترون بر روی رحم است بطوریکه این هورمون در آماده کردن رحم برای پذیرش جنین نقش اصلی را ایفا می کند (۱۰). منبع اصلی پروژسترون در اوایل آبستنی جسم زرد تخمدان است و اگر آبستنی ادامه یابد در بسیاری از گونه ها مانند انسان، موش، گاو و گوسفند تولید پروژسترون توسط جفت نیز تقویت می شود (۵). در گوسفند تولید پروژسترون توسط جفت نیز از روز ۶۰-۵۵ آبستنی آغاز می شود و تا پایان آبستنی تداوم دارد (۹). اعمال بیولوژیکی پروژسترون توسط گیرنده های پروژسترون (PR) که در رحم شناسایی شده اند اعمال می شود (۵، ۷، ۲). در گوسفند آبستن، جفت از واحدهای پلاستوم شامل کوتیلدون جنینی و کارانکول مادری تشکیل شده است. (۸، ۳). هدف از بررسی حاضر، شناسایی بیان ژن گیرنده های پروژسترون در نواحی مختلف رحم در طی دو ماه اولیه آبستنی می باشد.

مواد و روش ها

در طی ماه های زمستان سال ۱۳۹۰، رحم ۸ رأس گوسفند آبستن در کشتارگاه شهرستان زنجان بلافاصله پس از کشتار به صورت طولی در ناحیه خمیدگی بزرگ برش داده شد و سن آبستنی با اندازه گیری سر تا دم جنین ها انجام گرفت. سپس از نواحی کارانکولی (CAR)، شامل کوتیلدون و کارانکول، بین کارانکولی (ICAR) (نمونه تمام ضخامت شامل



آندومتر و میومتر) و بدنه رحم، نمونه های بافتی کوچک جمع آوری و در داخل ظرف های استریل و شرایط کنترل شده به آزمایشگاه منتقل و تا زمان استفاده در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. نمونه های حاصله در دو گروه ۱ شامل آبستنی ۲۱، ۲۳ و ۳۳ روزگی و گروه ۲ شامل آبستنی ۴۵، ۵۰، ۵۳، ۵۶ و ۵۸ روزگی قرار گرفتند. برای بررسی بیان ژن از روش Real-time PCR استفاده شد.

استخراج RNA تمام نمونه ها با استفاده از کیت استخراج RNA و مطابق دستورالعمل شرکت (Cinnagen, Tehran, Iran) تولید کننده انجام گرفت و کمیت RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودروپ اندازه گیری شد و کیفیت RNA توسط ژل آگارز و تشکیل باند مربوطه برای نمونه ها مورد سنجش قرار گرفت. از RNA استخراج شده از نواحی مختلف رحم با استفاده از کیت و روش Real-time PCR مطابق دستورالعمل شرکت تولید کننده، cDNA تهیه شد. برای این منظور از محلول Oligo(dT) و آنزیم M-MuLV Reverse Transcriptase استفاده شد. به منظور بررسی بیان ژن PR از پرایمرهای مندرج در جدول ۱ برای تکثیر قطعه ای به طول ۲۱۰ bp استفاده شد. در هر واکنش که در حجم ۱۵ میکرولیتر انجام شد، از ۲ میکرولیتر cDNA، ۳ میکرولیتر SYBR Green، ۲۰۰ nM پرایمر جلودار و برگشتی و ۹/۸ میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز استفاده شد. فعال سازی آنزیم به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد انجام شد؛ سپس ۴۵ چرخه دمایی به شرح زیر اعمال شد: واسرشته شدن در دمای ۹۵ درجه به مدت ۱۵ ثانیه، اتصال آغازگرها در ۶۰ درجه به مدت ۲۰ ثانیه و تکثیر در ۷۲ درجه به مدت ۲۰ ثانیه. جهت بررسی بیان ژن از روش مقایسه نسبی توسط ژن خانه دار گلیسرآلدهید ۳-فسفات دی هیدروژناز (GAPDH) و مفادیر C_t استفاده شد.

جدول ۱ توالی پرایمرهای PR و GAPDH به کار رفته در Real-time PCR

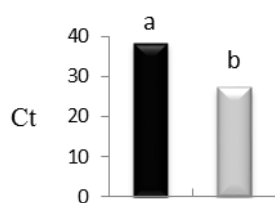
پرایمر	توالی
PR	Forward Primer CTG CCA GGT TTT CGG AAC
	Reverse Primer TGG GAT CTG CCA CAT GGT
GAPDH	Forward Primer AAG GGT GGT GCT AAG
	Reverse Primer GTG ATG GCA TGG ACA GTG

نتایج و بحث

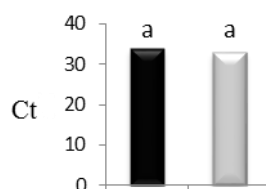
نتایج مربوط به بیان ژن گیرنده پروژسترون PR حاصل از Real-time PCR، در نمودار ۱ ارائه شده است. بیان ژن PR در ناحیه کارانکولی (CAR)، در گروه ۱ نسبت به گروه ۲ کمتر بود ($P<0.01$). در صورتیکه مطالعات روی گاو نشان داده اند که بیان ژن PR در روز ۵ آبستنی نسبت به روزهای ۱۳-۷ بالاتر می باشد (۶). در ناحیه بین کارانکولی (ICAR) بیان ژن PR در هر دو گروه تفاوت معنی داری نشان نداد اما کمترین و بیشترین بیان ژن PR به ترتیب مربوط به روزهای ۵۰ و ۵۶ آبستنی بود. در بدنه رحم بیان ژن PR در گروه اول (روزهای ۲۱، ۲۳ و ۳۳ آبستنی) نسبت به گروه دوم (روزهای ۴۵، ۵۰، ۵۳، ۵۶ و ۵۸ آبستنی) بالاتر بود ($P<0.01$)، اما در روزهای ۵۳، ۵۶ و ۵۸ کمترین بیان مشاهده شد که با مطالعه ای که توسط بوس و همکاران (۲۰۰۶) روی گاو انجام گرفته است مطابقت دارد (۱). نشان داده شده است که PRs در آندومتر رحم بیان شده اند و تراکم این گیرنده ها به صورت پاراکرین / اتوکرین توسط پروژسترون تنظیم می شود (۱۲). همچنین در مطالعه دیگر بیان ژن PR در بدنه رحم در اوایل آبستنی گاو بالاتر بود که با تداوم آبستنی بیان کاهش یافته بود



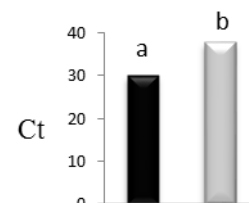
که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۶). بیان ژن PR در ناحیه های کارانکولی، بین کارانکولی و بدنه رحم در هر دو گروه تفاوت معنی داری نشان نداد اما کمترین بیان در بدنه رحم مشاهده شد. بررسی های قبلی نشان داده است که هورمون پروژسترون و گیرنده های آن (PRs) نقش حیاتی در تداوم آبستنی و توسعه جنین دارد، به طوریکه این هورمون روی توسعه بافت رحم تاثیر می گذارد (۱). در طی آبستنی تغییراتی در بیان ژن PR در بافت ها و سلولهای خاص رحم ایجاد می شود که این تغییرات برای کاهش انقباضات رحم، تغذیه اولیه رویان از ترشحات رحمی و تبادلات جنین با مادر ضروری است (۱۱). مشخص شده است که موش هایی که در آنها ژن PR در رحم مهار شده بود موفق به نگهداری رویان بعد از جایگزینی نبوده اند (۴). پروژسترون دارای نقش حیاتی در آماده سازی اپیتلیوم رحم برای ایجاد آبستنی، پذیرش رویان و بهبود شرایط رحم دارد و به صورت غیر مستقیم بر روی رشد و توسعه جنین نیز اثر می گذارد. بنابراین حضور گیرنده های پروژسترون در رحم برای عملکرد طبیعی آن در طی آبستنی لازم و ضروری است. بطور کلی نتایج این مطالعه نشان می دهد که گیرنده های پروژسترون در رحم میش آبستن در زمان های مختلف آبستنی و در نواحی مختلف تغییر می کنند.



نمودار ۱-۱- ناحیه کارانکولی
(CAR)



نمودار ۲-۱- ناحیه بین کارانکولی
(ICAR)



نمودار ۳-۱- ناحیه بدنه

نمودار ۱- بیان ژن گیرنده پروژسترون در نواحی مختلف رحم گوسفند آبستن (بیشتر بودن Ct نشانه بیان کمتر ژن گیرنده پروژسترون است) گروه ۱ (آبستنی روزهای ۲۱، ۲۳ و ۳۳) گروه ۲ (آبستنی روزهای ۴۵، ۵۰، ۵۳، ۵۶ و ۵۸)

a,b حروف متفاوت نشانه تفاوت آماری معنی دار است ($P < 0.01$).

منابع

- Boos, A., Kohtes, J., Janssen, V., M^ulling, C., Stelljes, A., Zerbe, H., H^assig, M., Thole, H.H., 2006. Pregnancy effects on distribution of progesterone receptors, oestrogen receptor glucocorticoid receptors, Ki-67 antigen and apoptosis in the bovine interplacentomal uterine wall and foetal membranes. *Animal Reproduction Science*, 91: 55-76.



2. Conneely O.M., Mulac-Jericevic B., DeMayo F., Lydon J.P., and O'Malley B.W. 2002. Reproductive function of progesterone receptors Recent progress in hormone research. 57: 339- 355.
3. Hafez ESE, Hafez B, eds. 2000. Reproduction in farm animals. 7th ed. 126-140.
4. Lydon J.P., DeMayo F.J., Funk C.R., Mani S.K., Hughes A.R., Montgomery C.A., Shyamala G., Conneely O.M., and O'Malley B.W. 1995. Mice lacking progesterone receptors exhibit pleiotropic reproductive abnormalities. Genes and Development, 9: 2266-2278.
5. Li X., Lonard D.M., and O'Malley B.W. 2004. A contemporary understanding of progesterone receptor function. Mech Ageing Dev; 125: 669-678.
6. L A Okumu, N Forde, A G Fahey, E Fitzpatrick, J F Roche, M A Crowe and P Lonergan, 2010. The effect of elevated progesterone and pregnancy status on mRNA expression and localisation of progesterone and oestrogen receptors in the bovine uterus. Reproduction, 140: 143-153.
7. Mulac-Jericevic B., and Conneely O.M. 2004. Reproductive tissue selective actions of progesterone receptors. Reproduction; 128: 139-146.
8. Roberts S.J. ed. 1986. Veterinary obstetrics and genital diseases (theriogenology). 3rd ed. Woodstock, VT: S. J. Roberts; 38-51.
9. Stites D.P., and Siiteri P.K. 1983. Steroids as immunosuppressants in pregnancy. Immunol Rev; 75: 117-138.
10. Spencer, T.E., and Bazer, F.W. 2002. Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. Front Bioscience; 7: 1879-1898.
11. Thomas E., Spencer T.E., Fuller W., Bazer, F.W. 1995. Temporal and Spatial Alterations in Uterine Estrogen Receptor and Progesterone Receptor Gene Expression during the Estrous Cycle and Early Pregnancy in the Ewe. Biology of Reproduction 53: 1527-1543.
12. Tan J., Paria B.C., Dey S.K., and Das S.K. 1999. Differential uterine expression of estrogen and progesterone receptors correlates with uterine preparation for implantation and decidualization in the mouse. Endocrinology 140: 5310-5321.

Investigating of gene expression of progesterone receptors in different areas of the uterus in early of pregnancy in Afshari sheep

S.H. Hosseini^{*1}, M.T. Harkinezhad², B. Rostami², M.S. Shahir²

1- Student Animal Physiology, Faculty of Agriculture, zanzan University

2- Assistant Professor of Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, zanzan University*

Corresponding E-mail address: hadi_h1366@yahoo.com

Abstract

Progesterone (P4) is a steroid hormone that is essential for establishment of pregnancy and early embryonic development in mammals. P₄ mediates its physiologic effect through the progesterone receptor (PR). The present study, investigated the expression of PR gene by RT-PCR in different parts of the uterus in early stages of pregnancy in ewe. The uterus of eight pregnant ewes was cut immediately after slaughter in local abattoir and the stage of pregnancy was measured through the crown to rump length (CRL) of the fetuses. Tissue samples were collected from different parts of the uterus and were allocated in groups 1 (gestation between days 20 to 40) and 2 (gestation between days 40 to 60). The results of the



PR gene study showed that expression of PR in the caruncular area of group 1 was lower than that of group 2 ($P < 0.01$). There was no significant difference in PR gene expression in inter-caruncular area between two groups. Gene expression of PR in uterine body in group 1 was greater than that in group 2 ($P < 0.01$). In conclusion, the results of the present study suggest that gene expression of PR vary in different parts of the uterus and different stages of the pregnancy in ewe.

Key words: : progesterone receptors - uterus - ewe - pregnancy



بررسی ارتباط بین غلظت پلاسمایی لپتین، وزن بدن و سن در گوساله‌های ماده نجدی

مریم درخشانی^{۱*}، الهام منصوری بنی^۱، مرتضی ممویی^۲، خلیل میرزاده^۳، آرمین توحیدی^۳ و صالح طباطبایی^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی علوم دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ۲- اعضای هیئت

علمی

دانشکده علوم دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان-۳ عضو هیئت علمی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی

پردیس کرج

* نویسنده مسئول: مریم درخشانی، پست الکترونیکی: m.derakhshani65@yahoo.com

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی ارتباط بین غلظت پلاسمایی لپتین و وزن در مراحل قبل و بعد بلوغ جنسی جوانه‌گاوهای ماده نجدی می‌باشد. برای این منظور، از ۷ رأس گوساله ماده نجدی ایستگاه اصلاح نژاد و پشتیبانی گاو نجدی شوشتر، با میانگین سنی ۸ ماه استفاده گردید. از این دام‌ها برای تعیین غلظت هورمون لپتین چند مرحله قبل و بعد از بلوغ جنسی خونگیری به عمل آمد. همزمان با خونگیری نیز دام‌ها توزین می‌شدند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین غلظت پلاسمایی لپتین و وزن بدن ($r=0.73$ و $P<0.01$) وجود دارد که به دلیل افزایش بافت چربی در زمان افزایش وزن بدن است که سبب افزایش ترشح لپتین از بافت چربی می‌شود. همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین غلظت پلاسمایی لپتین و سن دام ($r=0.84$ و $P<0.01$) یافت شد که شاید به دلیل افزایش وزن بدن همزمان با بالا رفتن سن و افزایش بافت چربی باشد.

واژه‌های کلیدی: لپتین- وزن بدن- سن- گوساله ماده نجدی

مقدمه

تولیدمثل نسبت به وضعیت‌های تغذیه‌ای بسیار حساس است. سوء تغذیه، شروع بلوغ جنسی را به تأخیر انداخته و تأثیر منفی بر رفتارهای جنسی دارد. دسترسی به غذا مهم‌ترین عاملی است که بر تولیدمثل پستانداران اثر دارد. درک ما از ارتباط بین تغذیه و محورهای تولیدمثل با وجود مشاهدات مهم که زمان بلوغ را بیشتر با وزن بدن نسبت به سن پیش‌بینی کردند، ناقص است. میزان چربی بدن می‌تواند آغازگر عملکرد تولیدمثل باشد (۹ و ۱۰). لپتین محصول ژن ob است که به طور منحصر به فرد توسط سلول‌های چربی ترشح می‌شود و میزان لپتین متناسب با توده چربی بدن است (۱۸). لپتین یک سیگنال بالقوه‌ای است که هم ذخایر انرژی و هم بالانس انرژی را به مغز منعکس می‌کند. به وسیله سیگنال بالانس انرژی، لپتین در تنظیم سیری و گرسنگی نقش دارد که قادر به نگهداری وزن نرمال می‌باشد (۸). در واقع لپتین اطلاعات مربوط به ذخیره چربی بدن و وضعیت انرژی را به هیپوتالاموس رسانده و منجر به تغییر در میزان مصرف غذا و تنظیم مصرف انرژی در جهت ثابت ماندن وزن بدن می‌گردد. به نظر می‌رسد که لپتین به عنوان یک لینک حیاتی بین بافت چربی، مراکز هیپوتالاموسی تنظیم‌کننده انرژی و سیستم تولیدمثل عمل می‌کند که دلیلی بر ذخایر انرژی کافی برای عملکرد تولیدمثل طبیعی است (۵).

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۷ رأس گوساله ماده نجدی ایستگاه اصلاح نژاد و پشتیبانی گاو نجدی شوشتر با میانگین سنی ۸ ماه استفاده شد. در آغاز آزمایش حیوانات از نظر وضعیت سلامت عمومی و عدم ابتلا به بیماری یا اختلال بدنی معاینه و پس از تایید سلامتی وارد جایگاه مربوطه شدند. در طول آزمایش گوساله‌ها در جایگاهی جداگانه نگهداری شده و جیره روزانه آن‌ها بر اساس احتیاجات غذایی دوره رشد مندرج در NRC 1996 تنظیم شد. این گوساله‌ها در شرایط تغذیه‌ای و مدیریتی یکسان نگهداری شدند.

به منظور تعیین غلظت هورمون لپتین چندمرحله قبل و بعد از بلوغ جنسی نمونه‌های خون از سیاهرگ و داج جمع آوری شد. بلافاصله پس از خون‌گیری نمونه‌های حاصل در سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. نمونه‌های پلاسما تا زمان اندازه‌گیری غلظت هورمون، داخل لوله‌های پلاستیکی در فریزر آزمایشگاه مرکزی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان در دمای $^{\circ}\text{C} -20$ نگهداری شدند. همزمان با خون‌گیری، دام‌ها توزین شده و سن دام‌ها نیز در هر دوره نمونه‌گیری ثبت شد. غلظت پلاسمایی هورمون لپتین به روش رادیوایمنواسی با استفاده از کیت تجاری ساخت شرکت میلی پور آمریکا (Milli Pore Leptin-RIA-kit) در آزمایشگاه فیزیولوژی گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید بهشتی تهران اندازه‌گیری شد. تغییرات غلظت هورمون‌های لپتین و وزن بدن به روش آنالیز واریانس اندازه‌گیری‌های مکرر و همبستگی بین لپتین، وزن بدن و سن از طریق آزمون همبستگی پیرسون و با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج بصورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ ارائه شده است.

نتایج و بحث

اختلاف آماری معنی‌داری بین میانگین وزن دام‌ها از زمان شروع مطالعه تا بلافاصله قبل از بلوغ (۱۲-۸ ماهگی) $13/8 \text{ kg}$ $\pm 104/92$ و پس از بلوغ (۱۶-۱۳ ماهگی) $13/5 \text{ kg} \pm 137/81$ مشاهده شد. همچنین میانگین غلظت لپتین قبل از بلوغ $4 \pm$ و $23/61$ نانوگرم بر میلی‌لیتر و بعد از بلوغ $4/41 \pm 35/15$ نانوگرم بر میلی‌لیتر بود. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین غلظت لپتین و وزن بدن ($r=0/73$ و $p<0/01$) و نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری بین غلظت لپتین پلاسما و سن ($r=0/84$ و $p<0/01$) یافت شد.

وزن بدن گوساله‌ها با افزایش سن، افزایش یافت. غلظت لپتین پلاسما نیز به موازات افزایش سن و وزن بدن افزایش یافت که به دلیل افزایش بافت چربی در زمان افزایش وزن بدن است که سبب افزایش ترشح لپتین از بافت چربی می‌شود. در پژوهشی روشن شد که در جوندگان و انسان میزان لپتین پلاسما با چاقی رابطه مثبت دارد (۴ و ۱۵). چنین رابطه‌ای نیز بین چربی و لپتین در نشخوارکنندگان در حال رشد و شیرده نیز دیده شده است (۲ و ۶ و ۱۶). میزان لپتین ترشح شده به وسیله بافت چربی هم به حجم و هم به تعداد سلول‌های چربی بستگی دارد. زمانی که وزن کاهش می‌یابد، حجم بافت چربی کاهش یافته و سطح لپتین در خون نیز کاهش می‌یابد و تولید NPY نیز کم می‌شود، تولید ATP کاهش یافته، ترموزنز نیز کاهش یافته و سوخت ذخیره می‌گردد و از بسیج چربی بدن کاسته شده و در پاسخ به سیگنال‌های CAMP، مصرف غذای بیشتر به همراه بازدهی بیشتر مصرف غذا موجب ذخیره مجدد چربی می‌گردد (۱۳). با توجه به نتایج به‌دست آمده، افزایش در ذخیره چربی موجب افزایش میزان لپتین می‌شود. چون با افزایش وزن بدن، میزان توده بافت چربی افزایش یافته و در نتیجه لپتین ترشح شده از بافت چربی نیز افزایش می‌یابد.

مطالعات انجام شده بر میزان mRNA لپتین در بافت چربی و میزان لپتین در حین بلوغ و ارتباط آن با وزن بدن و چاقی و نسبت لپتین باند شده به لپتین آزاد و میزان IGF-1 در سرم نشان دادند که وزن بدن برای افزایش فاکتورهای موثر در



شروع بلوغ اهمیت دارد که با میزان لپتین پلاسما وابستگی بالایی دارد (۱۱). نمره وضعیت بدنی و وزن بدن با میزان لپتین ارتباط مثبت دارد (۱۴، ۷ و ۱۷) همچنین میزان لپتین در یک نمره وضعیت بدنی یکسان تحت تاثیر وزن بدن قرار می گیرد (۱۴). غلظت لپتین در طول بلوغ در نوجوانان چاق سالم، همبستگی مثبتی با شاخص وزن بدن، سن و توده چربی بدن دارد (۳). نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج محققین فوق مطابقت دارد. اما گلن و جنتری (۱۲) با بررسی تاثیر سن، وزن بدن و نمره وضعیت بدنی بر غلظت لپتین پلاسما در گاوهای گوشتی تلاقی شده گزارش نمودند که غلظت لپتین سرم در ماده‌ها با وزن بدن و سن همبستگی معنی داری ندارد.

منابع

- Ahima R, S. Osei. 2001. Molecular regulation of eating behavior: new insights and prospects for therapeutic Strategies. Trends in Molecular Medicine 7: 205-213.
- Blache, D., R. L. Tellam., L. M. Chagas., M. A. Blackberry., P. E. Verco and G. B. Martin. 2000. Level of nutrition affects leptin concentration in plasma and cerebrospinal fluid in sheep. Journal of Endocrinology. 165: 625-637.
- Brandão, C. M. A., M. T. Lombardi., S. K. Nishida., O. M. Hauache and J. G. H. Vieira. 2003. Serum leptin concentration during puberty in healthy non-obese adolescents. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 36: 1293-1296.
- Bunger, L., M. Nicolson and W. G. Hill. 1999. Leptin levels in lines of mice developed by longterm divergent selection on fat content. Genet. Res. 73: 37-44.
- Chehab, F. F., S. Ogus., J. Qiu and R. Lu. 2000. The lipolytic effects of leptin are mediated by a downregulation of perilipin in adipocytes. Obesity Research 8: 23S-23S.
- Chilliard, Y., M. Bonnet., C. Delavaud., Y. Faulconnier., C. Leroux., J. Djiane and F. Bocquier. 2001. Leptin in ruminants. Gene expression in adipose in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. Domest. Anim. Endocrinol. 21: 271-295.
- Delavaud, C., F. Bocquier., Y. Chilliard., D. H. Keisler., A. Gertler and G. Kann. 2000. Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma concentration assessed by a specific RIA in sheep. J. Endocrinol. 165: 519-526.
- Flier, J. 1998. What is in a name? In search of Leptin's Physiologic Role. J Clin Endocrinol Metab 83:1407-1413.
- Frisch, R., J. McArthur. 1974. Menstrual cycles: fatness as determinant of minimum weight for height necessary for their maintenance or onset. Science 185: 949-951.
- Frisch, R., R. Revelle. 1970. Height and weight at menarche and a hypothesis of critical body weights and adolescent events. Science 169: 397-399.
- Garcia, M. R., M. Amestalden., S. W. Williams., R. L. Stanko., C. D. Morrison and D. H. Keisler. 2002. Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. J. Anim. Sci. 80: 2158-2167.
- Glen, T. and J. R. Gentry. 2007. Effect of age, body condition, pregnancy and lactation on circulating leptin concentrations in beef cattle. Louisiana State University.
- Lenhinger, A. L. 2005. Lenhinger principles of biochemistry, fourth edition.
- Leon, H. V., J. Hernandez-ceron., D. H. Keisler and C. G. Gutierrez. 2004. plasma concentrations of leptin, insulinlike-like growth factor-I, and insulin in relation to changes in body condition score in heifers. J. Anim. Sci. 82: 445-451.
- Maffei, M., J. L. Halas., E. Ravussin., E. Pratly., R. G. H. Lee., Y. Zhang., H. Fei., S. Kim., R. Lallone., S. Ranganathan., P. A. Kern and J. M. Friedman. 1995. Leptin levels in



- human and rodent: Measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat. Med.* 1: 1155-1161.
16. Thomas, L., J. M. Wallace., R. P. Aitken., J. G. Mercer., P. Trayhurn and N. Hoggard. 2001. Circulating leptin during ovine pregnancy in relation to maternal nutrition, body composition and pregnancy outcome. *J. Endocrinol.* 169: 465-476.
 17. Whitley, N. C., E. L. Mcfadin-Buff., S. A. Harley and D. H. Keisler. 2002. Correlation between blood and milk serum leptin in goats and growth of their offspring. Department of Agriculture, University of Maryland Eastern Shore, Princess Anne, MD 21853. University of Missouri, Columbia, MO. 65-211.
 18. Zhang, Y., R. Proenca., M. Maffei., M. Barone., L. Leopold., J. Friedman. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-432.

The relationship between plasma leptin concentrations, body weight and age in Najdi female calves

Maryam Derakhshani^{* 1}, Elham Mansouri beni¹, Morteza Mamoei², Khalil Mirzadeh², Armin Towhidi³, Saleh Tabatabaei²

1-Master science of domestic animal physiology Ramin Agriculture and Natural Resources University of khozestan 2-member board of professor of Department of Animal Science of Agriculture and Natural Resources University of Khozestan 3-member board of perofessor of Pardis Agriculture and Natural Resources University of Karaj

* Corresponding E-mail address: m.derakhshani65@yahoo.com

Abstract

The aim of this study was determination the relationship between plasma leptin concentrations, body weight and in pre and post puberty in Najdi female calves. For this purpose, 7 female Najdi calves of Shushtar Breeding Station of Najdi cattle with average ages of 8 months were used. For determination the plasma leptin concentrations, multiple sampling before and after puberty were performed. The results of this study indicate that there was a significantly positive correlation ($r=0.73$, $P < 0.01$) between leptin concentration and body weight. It's because of increase adipose tissue in during increase body weight that result in increase leptin secretion of adipose tissue. also significantly positive correlation between plasma leptin concentration and age ($r=0.84$, $P < 0.01$) were found. It's maybe because of increase body weight contemporary with age and increase adipose mass.

Key words: leptin- body weight- age- Najdi calve female



تعیین اسپرماتوکریت قوچ تالشی و رابطه آن با غلظت اسپرم

محمد روستائی علی‌مهر^۱، رضا رجبی توستانی^{۲*} و رسول معتمدی مژده‌ی^۲

۱- استادیار گروه علوم دامی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان ۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام

دانشگاه گیلان

* نویسنده مسئول: رضا رجبی توستانی، E-mail: Rezarajabi.t@gmail.com

چکیده

این تحقیق با استفاده از ۱۲ رأس قوچ تالشی با میانگین وزن ۵۰ کیلوگرم و میانگین سن ۳/۵ سال انجام شد. جمع‌آوری نمونه‌های انزالی با استفاده از مهبل مصنوعی در فصل تولیدمثل انجام شد. هر انزال به دو بخش تقسیم و یک بخش به منظور تعیین اسپرماتوکریت بدون افزودن رقیق کننده به آزمایشگاه منتقل شد. بخش دیگر به منظور ارزیابی، ۱:۱ (حجم/حجم) با بافر تریس- گلوکز رقیق و سپس به آزمایشگاه منتقل شد. تعیین اسپرماتوکریت با استفاده از لوله‌های مؤئینه میکروهماتوکریت و پس از سانتریفیوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. نتایج نشان داد که میانگین حجم، غلظت و اسپرماتوکریت اسپرم قوچ تالشی به ترتیب $1/0 \pm 0/47$ (میلی‌لیتر)، $4/10 \times 10^9 \pm 1/54$ (اسپرم در هر میلی‌لیتر) و $32/16 \pm 7/03$ درصد است. همچنین همبستگی متوسط بین اسپرماتوکریت و غلظت اسپرم در قوچ تالشی مشاهده شد ($r^2 = 40/11\%$). بنابراین می‌توان منی قوچ تالشی سالم را در شرایط معمول و در مزرعه بعد از جمع‌آوری به صورت تازه به نسبت ۲:۱ رقیق و برای تلقیح مصنوعی واژنی و باروری حدود ۱۰ میش استفاده کرد.

واژگان کلیدی: مایع منی - اسپرماتوکریت - غلظت - قوچ تالشی

مقدمه

مایع منی مخلوطی از ترشحات غدد ضمیمه جنسی (غدد وزیکول سمینال، غده پروستات که در قوچ از نوع منتشره است، غدد کوپر، آمپولا) و مجاری و ابران است. مایع منی به عنوان وسیله حمل اسپرم‌ها است که در خلال انزال آنها را در دستگاه تناسلی جابجا می‌کند. همچنین محیط بافری و محیط غنی غذایی را برای کمک به حیات اسپرم‌ها بعد از تخلیه شدن در دستگاه تناسلی حیوان ماده فراهم می‌کند (۲).

مایع منی به عنوان محیط طبیعی جهت حرکت و تغذیه اسپرم‌ها در روند انتقال آنها به دستگاه تناسلی ماده در زمان جفت‌گیری دارای اهمیت است. مشخص شده است که مجاورت اسپرم با پروتئین‌های مایع منی در زمان انزال سبب خروج کلسترول از غشای اسپرم و کاهش نسبت کلسترول به فسفولیپید غشا می‌شود (۳). از آنجائیکه بین حساسیت اسپرم به شوک سرما (سرد کردن ناگهانی) و نسبت کلسترول به فسفولیپید غشا ارتباط مستقیمی وجود دارد، بنابراین مایع منی به عنوان عامل مهم تاثیرگذار بر حساسیت اسپرم مطرح است (۴). اگر منی رقیق نشود و اسپرم به طور مداوم در معرض غلظت بالای پروتئین‌های مایع منی قرار گیرد و چربی به طور مداوم از غشا حذف شود نتیجه آن کاهش مقاومت اسپرم به شوک سرما و انجماد است و تغییر ساختار غشا که لازمه شروع ظرفیت‌پذیری است به وقوع می‌پیوندد.

آگاهی از درصد اسپرماتوکریت، حجم و غلظت منی در قوچ، کمک بزرگی جهت انجام برنامه‌های تحقیقاتی و اجرایی در مدیریت تولیدمثل است. از جمله عوامل محدود کننده اجرای بسیاری از پژوهش‌ها عدم آگاهی دقیق از حجم منی و



غلظت اسپرم است. مشخص شده خصوصیات نژادی بر غلظت منی و حجم منی موثر است (۲). گوسفند تالشی جمعیت غالب نشخوار کننده سبک در استان گیلان است که در مقابل شرایط نامساعد جوی و کمبود غذا مقاومت خوبی از خود نشان می دهد. بلوغ جنسی ماده بین ۸ الی ۱۲ ماهگی رخ داده و در ۱۸ ماهگی نیز رشد حیوان تکمیل و پس از آن حیوان وارد چرخه تولیدمثلی گله می شود. بلوغ جنسی نر بین ۴ الی ۶ ماهگی رخ داده و در ۲۴ ماهگی نیز رشد حیوان تکمیل و پس از آن حیوان وارد چرخه تولیدمثلی گله می شود.

هدف از انجام این آزمایش تعیین متوسط حجم، غلظت منی و مقدار اسپرماتوکریت قوچ تالشی است.

مواد و روش ها

این تحقیق در دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان با استفاده از ۱۲ رأس قوچ تالشی با میانگین وزن ۵۰ کیلوگرم و میانگین سن ۳/۵ سال انجام شد. به منظور جمع آوری نمونه های انزالی از مهبل مصنوعی استفاده شد. نمونه گیری به صورت دو بار در هفته و در طول فصل تولیدمثل در چهار نوبت انجام شد. مجموع انزال های گرفته شده در این تحقیق ۴۸ انزال بود. هر انزال به دو بخش تقسیم شد. یک بخش با بافر تریس (۳/۶۳۴ گرم تریس-هیدروکسی متیل)-آمینومتان، ۱/۹۹۶ گرم سیتریک اسید مونوهیدرات، ۰/۵۰۴ گرم گلوکز، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین المللی پنی سیلین جی، ۱۰۰ میلی گرم استرپتومایسین سولفات در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) ۱:۱ (حجم/حجم) رقیق شد و بخش دوم بدون تغییر به همراه بخش اول به آزمایشگاه منتقل شد. بخش اول جهت تعیین تحرک و بخش دوم جهت تعیین غلظت اسپرم و اسپرماتوکریت مورد استفاده قرار گرفت. ارزیابی تحرک اسپرم، با قرار دادن ۵ میکرولیتر از منی روی لام با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و گذاردن یک لامل بر روی آن انجام شد. سپس با استفاده از میکروسکوپ اختلاف فاز با بزرگنمایی $\times 400$ تحرک اسپرم با اختلاف ۱۰ درصد در ۳ میدان دید ارزیابی شد. نمونه های دارای تحرک کمتر از ۷۰ درصد حذف شدند. تعیین اسپرماتوکریت با استفاده از لوله های مؤئینه میکروهماتوکریت و پس از سانتریفیوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. غلظت نمونه منی هر قوچ با استفاده از لام هموسایتمتر تعیین شد.

برای انجام محاسبات میانگین حجم، غلظت و اسپرماتوکریت اسپرم و نیز آزمون F از نرم افزار SAS با ضریب اطمینان ۹۵ درصد استفاده و رسم نمودار پراکنش داده ها و محاسبه r^2 با نرم افزار Excel 2007 انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که میانگین حجم انزال در قوچ تالشی برابر با $1/00 \pm 0/47$ میلی لیتر است که در مقایسه با نژاد قزل (۱/۳۰ $\pm$ ۰/۰۳ میلی لیتر) و مهربان ($1/45 \pm 0/03$ میلی لیتر) دارای حجم انزال پایین تری است (۵) در حالیکه نسبت به نژاد آواسی ($1/1 \pm 0/07$ میلی لیتر) از حجم انزال بالاتری برخوردار است (۱). میانگین غلظت اسپرم قوچ تالشی برابر با $4/10 \times 10^9 \pm 1/54$ اسپرم در هر میلی لیتر است که در مقایسه با نژاد قزل ($3/71 \times 10^9 \pm 0/06$ اسپرم در هر میلی لیتر)، مهربان ($3/64 \times 10^9 \pm 0/07$ اسپرم در هر میلی لیتر) و آواسی ($1/56 \times 10^9 \pm 0/11$) دارای غلظت بالاتری است (۵ و ۱). نتایج نشان داد که مقدار اسپرماتوکریت در قوچ تالشی $32/16 \pm 6/03$ درصد است که این مقدار برای اولین بار در یک جمعیت گوسفند ایرانی گزارش شده است (جدول ۱).

جدول ۱. میانگین حجم انزال، غلظت و اسپرماتوکریت ۱۲ قوچ تالشی مورد آزمایش (تکرار=۴).

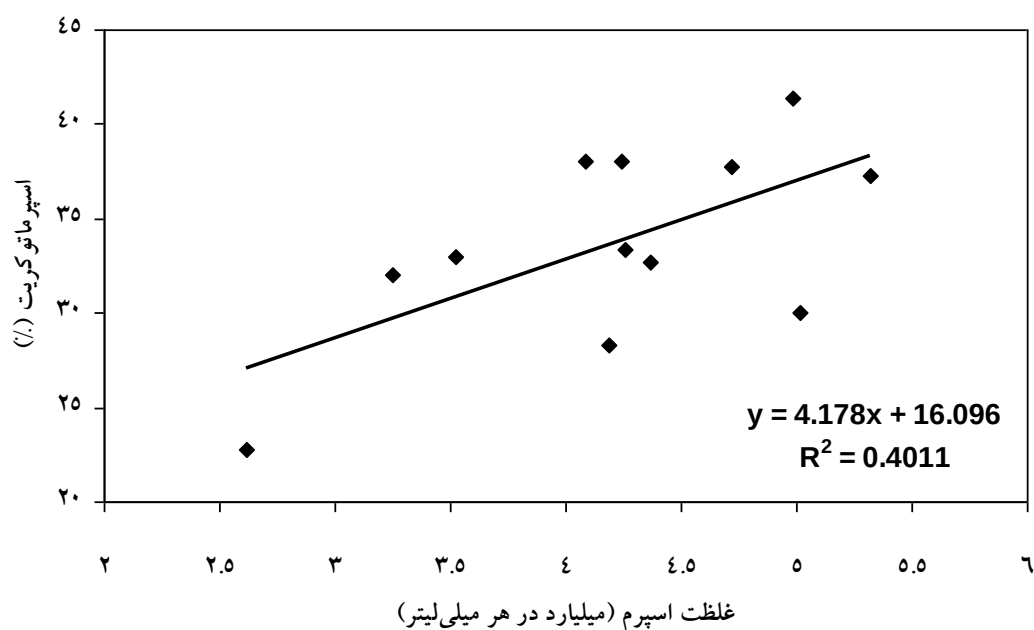
شماره قوچ حجم انزال (میلی لیتر) غلظت ($\times 10^9$ اسپرم در هر میلی لیتر) اسپرماتوکریت (درصد)



۳۰/۰۰±۰/۸۷	۵/۰۲±۰/۵۷	۱/۵۵±۰/۶۴	۱
۳۳/۳۳±۱/۵۳	۴/۲۶±۲/۷۵	۱/۳۰±۰/۴۲	۲
۲۲/۷۵±۳/۴۱	۲/۶۲±۰/۴۲	۰/۷۸±۰/۲۹	۳
۳۸/۰۰±۲/۳۱	۴/۰۹±۱/۸۹	۰/۹۰±۰/۱۴	۴
۳۷/۲۵±۳/۷۸	۵/۳۲±۰/۶۲	۱/۳۵±۰/۳۵	۵
۳۲/۰۰±۲/۱۰	۳/۲۵±۱/۷۲	۰/۲۷±۰/۱۵	۶
۳۷/۷۵±۲/۷۵	۴/۷۲±۰/۸۸	۰/۹۰±۰/۲۸	۷
۳۸/۰۰±۱/۴۱	۴/۲۴±۱/۲۳	۱/۳۰±۰/۲۸	۸
۳۳/۰۰±۲/۸۳	۳/۵۲±۱/۰۵	۱/۱۰±۰/۱۴	۹
۳۲/۶۷±۳/۷۹	۴/۳۷±۲/۶۲	۱/۳۵±۰/۳۵	۱۰
۲۸/۲۹±۲/۰۶	۴/۱۹±۲/۶۳	۰/۵۵±۰/۲۴	۱۱
۴۱/۳۳±۱/۱۶	۴/۹۸±۰/۰۸	۱/۵۰±۰/۱۰	۱۲

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند.

با توجه به اطلاعات به دست آمده همبستگی متوسط بین اسپرماتوکریت و غلظت اسپرم در قوچ تالشی مشاهده شد ($r^2=40/11\%$) که مشخصات این رابطه در شکل ۱ آمده است. همچنین نتایج انفرادی قوچ‌ها نشان می‌دهد که در حجم انزال ($F=5/27$; $P=0/001$) و درصد اسپرماتوکریت ($F=20/38$; $P=0/001$) بین قوچ‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد.



شکل ۱- رابطه اسپرماتوکریت با غلظت اسپرم در قوچ تالشی.

مشخص شده است که تعداد اسپرم مورد نیاز برای باروری میش در تلقیح مصنوعی (جهت تلقیح در واژن) برابر با ۳۰۰ میلیون سلول سالم برای منی تازه و ۲۰ میلیون سلول سالم برای منی منجمد (جهت تلقیح در شاخ رحم) است (۴). بنابراین بر پایه نتایج این تحقیق و با در نظر گرفتن ۷۰ درصد تحرک اسپرم بعد از رقیق سازی منی، می‌توان منی قوچ تالشی سالم را



در شرایط معمول و در مزرعه بعد از جمع‌آوری به صورت تازه به نسبت ۱:۲ رقیق (جدول ۲) و برای تلقیح مصنوعی واژنی و باروری حدود ۱۰ میش استفاده کرد.

جدول ۲. حداقل تعداد اسپرم زنده مورد نیاز (۴) و متوسط تعداد پایوت‌های حاصل از هر انزال قوچ تالشی.

ذخیره‌سازی						نوع تلقیح
منجمد		۵ درجه سانتی‌گراد		تازه		
تعداد پایوت	حداقل تعداد	تعداد پایوت	حداقل تعداد	تعداد پایوت	حداقل تعداد	
(عدد)	اسپریم (×۱۰ ^۶)	(عدد)	اسپریم (×۱۰ ^۶)	(عدد)	اسپریم (×۱۰ ^۶)	
–	موثر نیست	–	موثر نیست	۱۰	۳۰۰	واژنی
۱۶	۱۸۰	۱۹	۱۵۰	۲۹	۱۰۰	سرویکسی
۱۴۴	۲۰	۱۴۴	۲۰	۱۴۴	۲۰	لاپاراسکوپی

منابع

1. Azawi, O.I., A.N.T.M. Al-Khashab, N.N.A. Al-Kadoo. 2012. Effect of gonadotropin releasing hormone treatment on semen characteristics and enzymatic activities of Awassi rams in breeding and non breeding seasons. Iranian Journal of Applied Animal Science, 2: 13-19.
2. Evans, G., W.M.C. Maxwell. 1987. Dilution of Semen. In: Evans, G., W.M.C. Maxwell (eds), Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Butterworth, Sydney, pp. 107-117.
3. Heise, A., W. Kähn, D.H. Volkmann, P.N. Thompson, D. Gerber. 2010. Influence of seminal plasma on fertility of fresh and frozen-thawed stallion epididymal spermatozoa. Animal Reproduction Science, 118: 48-53.
4. Varisli, O., C. Uguz, C. Agca, Y. Agca. 2009. Motility and acrosomal integrity comparisons between electro-ejaculated and epididymal ram sperm after exposure to a range of anisotonic solutions, cryoprotective agents and low temperatures. Animal Reproduction Science, 110: 256-268.
5. Zamiri, M.J. H.R. Khodaei. 2005. Seasonal thyroidal activity and reproductive characteristics of Iranian fat-tailed rams. Animal Reproduction Science, 88: 245-255

Determination of Taleshi rams spermatocrit and its relation with sperm concentration
Roostaei Ali Mehr, M.¹, R. Rajabi-Toustani^{2*} and R. Motamedi-Mojdehi²

1- Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

2- M.Sc. graduated student of Animal Physiology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

* Corresponding E-mail address: Rezarajabi.t@gmail.com

Abstract

Experiment conducted by twelve Taleshi rams with an average weight of 50 kg and 3.5 years old. The semen samples were collected by artificial vagina during the breeding season. Each ejaculate was split into two parts and one part to determine spermatocrit, was transferred to laboratory without diluting. Another one was diluted 1:1 (v:v) with Tris- glucose diluent for



sperm assessment and then transferred to laboratory. Spermatocrit determination was performed by microhematocrit capillary tubes after centrifuged at 3000 rpm for 10 min. The results indicated that Taleshi ram sperm volume, concentration and spermatocrit are 1.00 ± 0.47 ml, $4.10 \times 10^9 \pm 1.54$ spz/ml and $32.16 \pm 6.03\%$ respectively. Also moderate correlation was seen between Taleshi ram sperm concentration and spermatocrit ($r^2=40.11\%$). In conclusion, healthy ram semen after collecting in normal condition in farm can be diluted 1:2 and for vaginal artificial insemination and fertility of about 10 ewes will be used.

Keywords: Seminal plasma- Spermatocrit- Concentration- Taleshi ram



تأثیر امتیاز وضعیت بدنی بر عملکرد تولید مثلی و آغوز تولیدی بزهای مرغز

رسول کچویی*، محمد مهدی معینی، منوچهر سوری

گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه

Rasool.kachuee@gmail.com*

چکیده

این مطالعه برای بررسی تأثیر امتیاز وضعیت بدنی و وزن بدن در زمان جفت گیری بر عملکرد تولید مثلی بزهای مرغز انجام شد. در این پژوهش تعداد ۳۰ رأس بز مرغز ۲ تا ۳ ساله در واحد گوسفند داری دانشگاه رازی کرمانشاه مورد استفاده قرار گرفتند. بزها از نظر نمره و وضعیت بدنی به چهار گروه (۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵ و بیشتر) و از نظر وزن بدن به چهار گروه (با اختلاف ۵ کیلوگرم) تقسیم شدند. اطلاعات مربوط به بزغاله های متولد شده به بزهای آمیزش کرده، کیلوگرم بزغاله متولد شده به بزهای آمیزش کرده، نرخ زایش بزها و نرخ پُرزایی بزها و طول دوره آبستنی، وزن تولد، آغوز تولیدی مورد بررسی قرار گرفتند. نمره و وضعیت بدنی تأثیر معنی داری روی بزغاله های متولد شده به بزهای آمیزش کرده نداشت. نرخ بززایی بوسیله نمره و وضعیت بدنی، وزن بز و سن بز تحت تأثیر قرار نگرفت، اثر نمره و وضعیت بدنی بز بر وزن تولد بزغاله ها و کیلوگرم بزغاله های متولد شده به بزهای زایمان کرده، معنی دار بود ($P < 0.05$). همچنین نمره و وضعیت بدنی بزها اثر معنی دار بر طول دوره آبستنی نداشت. نتایج این مطالعه نشان داد وضعیت بدنی بر تعداد بزغاله های تولد شده به بزهای آمیزش کرده و نرخ زایش بزها و نیز بر نرخ پُرزایی بزها موثر می باشد.

واژه های کلیدی: نژاد مرغز - عملکرد تولید مثلی - امتیاز وضعیت بدنی - تولید مثل

مقدمه

در مطالعات قبلی تأثیر امتیاز وضعیت بدنی (Body Condition Score) بر عملکرد تولید مثلی گزارش شده است (۱، ۶). اندازه اسکلت بدن و درجه چاقی دو عامل مهم در تعیین امتیاز بدنی و وزن زنده دام ها می باشند. همبستگی بالایی بین وزن بدن و امتیاز وضعیت بدنی وجود دارد و نسبت بین بافت چربی و بافت بدون چربی در بدن حیوانات زنده بر امتیاز بدنی موثر می باشد. کالدريا و همکاران در ۲۰۰۷ برای تعیین نسبت بافت چربی به کل بدن از امتیاز وضعیت بدنی استفاده کردند. تیکسیرا و همکاران در ۱۹۸۹ از امتیاز وضعیت بدنی به طور گسترده ای برای ارزیابی وضعیت بدن و پیش بینی وزن زنده در گوسفند استفاده نمودند. این معیار مربوط به میزان پوشش بافت های ماهیچه و چربی بر زوایا افقی و عمودی مهره های کمر، پشت و بالای ناحیه قلوه گاه است. تومپسون و چکه در ۲۰۰۵ از امتیاز وضعیت بدنی برای توصیف وضعیت متابولیکی میش ها و بزها نیز استفاده کردند. امتیاز وضعیت بدنی میش ها باید چند هفته قبل از شروع جفت گیری ها تعیین شود، به طوری که دام ها تا حد امکان به شرایط بدنی مناسب (امتیاز ۲/۷۵-۳) در زمان جفت گیری برسند. مرل و همکاران در ۱۹۹۰ و موسن فسچتل ۲۰۰۴ و گارسیا و همکاران در ۲۰۰۲ نشان دادند که وزن بدن تأثیر معنی داری در شروع بلوغ جنسی بره ها دارد. محرومیت تغذیه ای کوتاه مدت در حیوانات اهلی از طریق کاهش ترشح گونادوتروپین ها بر عملکرد تولید مثلی آنها تأثیر می گذارد. ناگاتانین و همکاران در ۲۰۰۰ و گومز و همکاران در ۲۰۰۸ گزارش کردند که امتیاز وضعیت بدن تأثیر مثبتی بر غلظت هورمون های فولیکولی و لپتین سرم خون در بزها می گذارد همچنین امتیاز بدنی بیشتر



سبب افزایش لپتین خون در فصل جفتگیری می شود. مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر BCS بر عملکرد تولید مثل بزهای مرغز انجام شد.

مواد و روش ها

در این مطالعه تعداد ۳۰ بز مرغز با میانگین سن ۲-۳ سال و دامنه وزن ۴۳-۲۱ در واحد گوسفنداری دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه مورد مطالعه قرار گرفتند. بزها از یونجه و کنسانتره تغذیه شدند و آزادانه به آب دسترسی داشتند. فصل یابی بزها با بز نر تیزر (دارای پیشبند) انجام شد. سپس بزهای فصل با بزهای نر بارور بطور طبیعی جفت گیری کردند. دو هفته قبل از جفت گیری امتیاز وضعیت بدنی تعیین و بزها توزین شدند. ارزیابی امتیاز وضعیت با لمس زواید عرضی و شوکی مهره های کمر با فاصله ۵/۰ واحد انجام شد. بر اساس روش راسل و همکاران (۱۹۶۶) بزها از نظر امتیاز وضعیت بدنی به چهار گروه ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵ > تقسیم و از نظر وزن بدن نیز به چهار گروه ۲۵-۲۱، ۳۱-۲۶، ۳۷-۳۲، ۴۳-۳۸ تقسیم شدند. ارزیابی امتیاز وضعیت بدن بزها با نظر و توافق سه داور تعیین شد. پس از تولد بزها، وزن تولد و وزن چهار هفتهگی بزغاله ها و شیر تولیدی و آغوز تولیدی بزها رکورد گیری شد. برای طرح آماری این تحقیق از بلوک کامل تصادفی استفاده شد. امتیازات وضعیت بدنی به عنوان تیمارها و وزن بزها به عنوان کواریت در نظر گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل آماری این تحقیق از رویه Glm نرم افزار SAS استفاده گردید. تفاوت وزن چهار هفتهگی، آغوز تولیدی و شیر تولیدی توسط آزمون مشاهدات تکرار شده در SAS انجام شد. برای مقایسه میانگین ها از روش Lsmean استفاده گردید. مدل آماری طرح به صورت زیر است:

$$X_{ij} = \mu + T_i + R_j + \varepsilon_{ij}$$

در این فرمول X_{ij} نشان دهنده مقدار عددی هر مشاهده در آزمایش، μ میانگین کل جامعه ای است که از طریق نمونه ها با فرض صفر مورد بررسی قرار گرفتند، R_j نشان دهنده بلوک، T_i نشان دهنده اثر مکمل آزمایشی و ε_{ij} نشان دهنده اثر خطا است. بنابراین مقدار عددی هر مشاهده از مجموع اثرات بلوک، تیمار، خطای آزمایشی و میانگین کل جامعه حاصل می شود و تغییرات مربوط به اثر بلوک، تیمارها و خطای آزمایشی می باشد.

نتایج

نتایج این مطالعه نشان داد که نمره وضعیت بدنی بزها در زمان جفت گیری بر برخی صفات تولیدمثلی تاثیر داشت ($P < 0/05$) (جدول ۱). در صد بزهای ابستن شده و زایمان کرده ۱۰۰ درصد بود. گوان و همکاران در ۱۹۸۳ گزارش کردند که در میش های با نمره وضعیت بدنی بالا (بیش از ۴) تلفات اولیه جنین افزایش یافته و عملکرد تولیدمثلی کاهش می یابد. رهیند و همکاران ۱۹۸۴ در آزمایشی دریافتند که افزایش امتیاز وضعیت بدنی بیشتر از ۳ در زمان جفت گیری ممکن است تولید بره را کاهش دهد همچنین توماس و همکاران در ۱۹۸۷ در پژوهشی گزارش کردند که تعداد بره های متولد شده به میش های جفت گیری کرده برای میش های با امتیاز بدنی ۲/۷۵ بیشتر از سایر گروه ها بود که با نتایج بدست آمده در این مطالعه مطابقت دارد. اما این محققین دریافتند که با یک واحد افزایش در امتیاز وضعیت بدنی (یعنی ۳/۷۵) این صفت به میزان ۰/۳۷ کاهش یافت. نتایج پژوهش حاضر با نتایج این محققین مطابقت داشت. تجزیه آماری داده های وزن تولد وجود تفاوت معنی دار را نشان داد ($P < 0/05$) (جدول ۱). نتایج پژوهش حاضر با نتایج مالیک و همکاران در ۲۰۰۰ و سرپیس و همکاران در ۲۰۰۸ مطابقت داشت. امتیاز وضعیت بدنی تاثیر معنی داری روی کیلوگرم برغاله های متولد شده به بزهای زایمان کرده داشت ($P < 0/05$) (جدول ۱). که با نتایج عبدالمجید در ۲۰۰۹ همخوانی داشت.



جدول ۱- اثر امتیاز وضعیت بدنی بر صفات تولید مثلی

صفات مورد بررسی	۲	۲/۵	۳	۳/۵ و بیشتر
درصد بزهای آبستن شده در اولین آمیزش	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
درصد بز های زایمان کرده به بز های آمیزش کرده	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
درصد برغاله های متولد شده به بز های آمیزش کرده	۱۱۶/۶۶±۳۸	۱۲۵±۴۹	۱۳۳/۳۳±۴۵	۱۰۰±۰
کیلوگرم بر غاله متولد شده به بز های زایمان کرده	۲/۲۵±۰/۲۱ ^b	۲/۹±۰/۸۹ ^a	۳/۴±۰/۲۹ ^a	۲/۲۰±۰/۷۲ ^b
طول دوره آبستنی	۳/۷۰±۱۵۹	۲/۹۲±۱۶۰	۳/۴۴±۱۵۸	۴/۴۴±۱۵۷
وزن تولد بزغاله ها	۱/۹±۰/۳۱ ^b	۲/۵±۰/۲۱ ^a	۳/۰۱±۰/۲ ^a	۲/۲۰±۰/۵۰ ^b

اعداد موجود به صورت میانگین ± انحراف معیار (SD ± μ) نشان داده شده است.

جدول ۲- اثر امتیاز وضعیت بدنی بر خوراک مصرفی و آغوز تولیدی

صفات مورد بررسی	۲	۲/۵	۳	۳/۵ و بیشتر
خوراک مصرفی در روز اول	۷۱۸±۱۰۴	۷۲۵±۱۱۰	۷۵۰±۱۰۲	۸۷۳±۱۰۰
خوراک مصرفی در روز دوم	۸۰۵±۹۸	۷۶۰±۱۰۲	۷۷۵±۸۵	۸۵۰±۵۲
خوراک مصرفی در روز سوم	۸۶۵±۱۰۲	۸۵۰±۹۵	۸۷۵±۸۹	۹۲۵±۹۳
آغوز تولیدی در روز اول	۲۰۰±۶۳	۱۵۸±۵۸	۱۷۵±۵۲	۲۷۵±۷۳
آغوز تولیدی در روز دوم	۲۰۸±۷۰	۱۸۰±۶۶	۲۰۰±۶۰	۲۸۰±۶۸
آغوز تولیدی در روز سوم	۲۵۰±۸۳	۲۴۱±۸۶	۲۴۲±۷۲	۳۰۰±۹۰

اعداد موجود به صورت میانگین ± انحراف معیار (SD ± μ) نشان داده شده است.

در نتیجه گیری، نتایج این مطالعه نشان داد امتیاز وضعیت بدنی تاثیر معنی داری بر میزان بزغاله زایی و بزغاله های متولد شده به بزهای جفتگیری کرده و آغوز تولیدی نداشت. این عدم معنی داری می تواند به علت واریانس بالای وزن بزها و تکرار کم نمونه ها در این آزمایش باشد. اما وضعیت بدنی تاثیر معنی داری بر وزن تولد بزغاله ها و کیلوگرم برغاله های متولد شده به بز های زایمان کرده داشت.

منابع

1. Abdel- Maged, I,(2009). Body condition scoring of local ossimi ewes at mating and It's impact on fertility and prolificacy. Egyption journal of sheep & goat science, Vol. 4(1): 37- 44.



2. Caldeira, R. M., Belo, A. T., Santos, C. C., Vazques, M. I. and Portugal, A. V., (2007): The effect of body condition score on blood metabolites and hormonal profiles in ewes. *Small Rum. Res.* 68:233-241.
3. Cripps, R.L., Green, L.R., Thompson, J., Mortin- Gronert, MS. (2008): The effect of maternal Body condition before and during pregnancy on the glucose tolerance of adult sheep offspring. *J. Rep. Sci.* 15: 448-456.
4. Garcia, M.R., Amstlden, M., Williams, S.W., Keisler, D.H., Niezielski, S.E., Willims, G.L., (2002): Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle and different seasons in cattle. *J. Ani. Sci.* 80: 2158-2167.
5. Gamez Vazquez, H.G., Rosales Nieto, R., Banuelos, Valenzuela, J. Urrutia Morales M., Meza Herrea, C.A., (2008): Body condition score positively influence plasma Leptin concentration in Criollo Goats. *J. Ani. Vet. Adv.* 7: 1237- 1240.
6. Malik, R.C., Al Khozam, N.M., Razzaque, M.A., Al Mutawa T.A., (2000): The influence of genotype and ewe body condition on reproductive performance. *Indian J. Ani. Sci.* 146-148.
7. Mosenfechtel, S., (2004): Good fertility with a good body condition. *Milchpraxis.* 42: 12-15.
8. Rhind, S. M., Wetherill, G. Z., Gunn, R. G., (1990): Diurnal profiles of LH, prolactin and progesterone and their inter-relationships in ewe in high or body fat in live sheep. *Journal Agricultural Science.* 72: 451-454.
9. Russel, A. J. F., Doney, J. M., Gunn, R. G., (1969): Subjective assessment of moderate levels of body condition. *Animal Reproduction Science.* 24:119-126.
- 10-Teixeira, A., Delfa, R., Colomer Rocher, F., (1989): Relationships between fat depots and body condition score or tail fatness in the Rasa Aragonesa breed. *Animal production.* 49: 275-280.
- 11-Thomas, D. L., Thomford, P. J., Crickman, J. G., Cobb A. R., Dziuk P. j., (1987): Effects of Plane of Nutrition and Phenobarbital During the Pre-Mating Period on Reproduction in ewes Fed Differentially During the Summer and Mated in the Fall. *J Ani. Sci.* 64:1144-1152.

Effect of body condition score on reproductive parameters of Marghoz goats

Kechuee R*, Moeini M M, and M. Souri

University of Razi, Department of Animal Sciences Kermanshah, Iran

Corresponding author: Rasool.kachuee@gmail.com*

Abstract

The effects of body condition score (BCS) and body weight of Marghoz goats during the mating time on reproductive performance were studied. A total of 30 Marghoz goats (2-3 years old) were randomly selected from animal unit of Kermanshah University. Goats were divided into 4 treatments groups according to their BCS (2, 2.5, 3, 3.5 and more). The reproductive parameters such as kids born to goats after mating, number of kids born per kids, Kg lambs born per goat mating, length of pregnancy period, kids birth and colostrums



weight were determined. The results of this experiment indicated that BCS had a not significant effect ($P>0.05$) on the kids born per goat at mating. Goats with BCS =3 had a better performance in kidding rate and Kg kids born per goat. While the kidding rate reduced in goats with BCS of 3.5 or more. The BCS had significant effect on kids' weight at birth. It is concluded that the BCS of 3 at mating time could optimize profitability of Marghoz goats and effect on kidding rate and kids born per goat but it was not significant.

KEY WORD: Marghoz goats-Body condition score-Reproduction



الگوی بیان هورمون مهار کننده گونادوتروپین (GnIH) در هیپوتالاموس بزهای بومی فارس
 سارا مرادی^{۱*}، محمد رضا جعفرزاده شیرازی^۲، محمد جواد ضمیری^۲، محمد سعید صالحی^۱، امین تمدن^۳، محمد رضا نام
 آور^۴، امیر اخلاقی^۲، کازویشی سوتسویی^۵
^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، ^۲ بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی،
 دانشگاه شیراز، ^۳ گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، ^۴ بخش علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی
 شیراز، ^۵ بخش زیست‌شناسی، دانشگاه واسیدا، توکیو، ژاپن

*نویسنده مسئول: saramrd82@gmail.com

چکیده

هورمون مهار کننده گونادوتروپین (GnIH) اثر مهاری بر سنتز و تراوش گونادوتروپین دارد و در پستانداران پیتید وابسته به آرژنین، فنیل آلانین - آمید (RFRP) خوانده می‌شود. هدف از انجام این پژوهش، بررسی الگوی بیان این نوروپیتید در فصل آنستروس و در گامه فولیکولی چرخه تخمدانی در خلال فصل تولیدمثلی در هسته‌های پاراونتریکولار/ پستی - داخلی (PVN/DMH) هیپوتالاموس بزهای بومی فارس بود. بر اساس غلظت پلاسمایی پروژسترون، بزهایی که در گامه فولیکولی چرخه تخمدانی و دوره آنستروس قرار داشتند (سه بز در هر گروه) کشتار و از ناحیه داین‌سفالن هر بز برش‌هایی به ضخامت ۳۰ میکرومتر تهیه شد. برش‌های دارای هسته‌های PVN/DMH با روش ایمینوهیستوشیمی رنگ‌آمیزی و نوروهای بیان کننده GnIH در هر برش شمارش شد. نوروهای بیان کننده GnIH در نواحی پیشین، میانی و پسین هسته‌های PVN/DMH شناسایی شدند. شمار نوروهای مثبت در ناحیه پیشین هسته‌ها در مقایسه با ناحیه پسین ($P=0/002$) و همچنین در دوره آنستروس در مقایسه با گامه فولیکولی بیشتر بود ($P<0/0001$). یافته‌های این پژوهش نشان داد بیان GnIH در هسته‌های PVN/DMH بز در خلال دوره آنستروس بیشتر و در گامه فولیکولی کمتر بود که می‌تواند نمایانگر اثر GnIH در مهار محور تولیدمثلی از راه مهار تراوش GnRH/LH باشد.

واژه‌های کلیدی: GnIH؛ آنستروس؛ گامه فولیکولی؛ هیپوتالاموس؛ بز

مقدمه

فرایندهای تولیدمثلی همانند دیگر فرایندهای فیزیولوژیک، به وسیله فرسته‌های گوناگونی همچون هورمون‌ها، فاکتورهای رشد و سازه‌های محیطی تنظیم می‌شوند. فعالیت دستگاه تولیدمثل را گروهی از هورمون‌ها که اثر مستقیم بر بافت‌های تولیدمثلی می‌گذارند، تنظیم می‌کنند. در مهره داران، کنترل نوروپیتیدهای تراوش کننده گونادوتروپین‌ها، عمدتاً از طریق عمل تحریکی هورمون آزاد کننده گونادوتروپین (GnRH) است. این هورمون تراوش هر دو هورمون لوتئینه کننده گونادوتروپین (LH) و هورمون تحریک کننده فولیکول (FSH) را تنظیم می‌کند.

در سال ۲۰۰۰ میلادی نوروپیتیدی در سیستم هیپوتالاموس - هیپوفیز بلدرچین شناسایی شد که به دلیل اثر مهاری بر سنتز و تراوش گونادوتروپین‌ها، هورمون مهارکننده گونادوتروپین (GnIH) نامیده شد (۱). این پیتید در گونه‌های مختلف پستانداران از جمله موش، همستر، موش صحرائی، گاو، پریمات‌ها و انسان شناسایی شده و با نام پیتید وابسته به آرژنین، فنیل آلانین - آمید (RFRP) نیز خوانده می‌شود. نوروهای بیان کننده GnIH در هسته پاراونتریکولار (PVN) هیپوتالاموس پرنده‌گان،

هسته پستی - داخلی (DMH) هیپوتالاموس همستر، موش و موش صحرایی و در هسته DMH و PVN گوسفند شناسایی شده است. همچنین ارتباطی بین آکسون نورون‌های GnIH با نورون‌های GnRH در ناحیه پیش بینایی (POA) پرندگان و پستانداران وجود دارد (۲ و ۳).

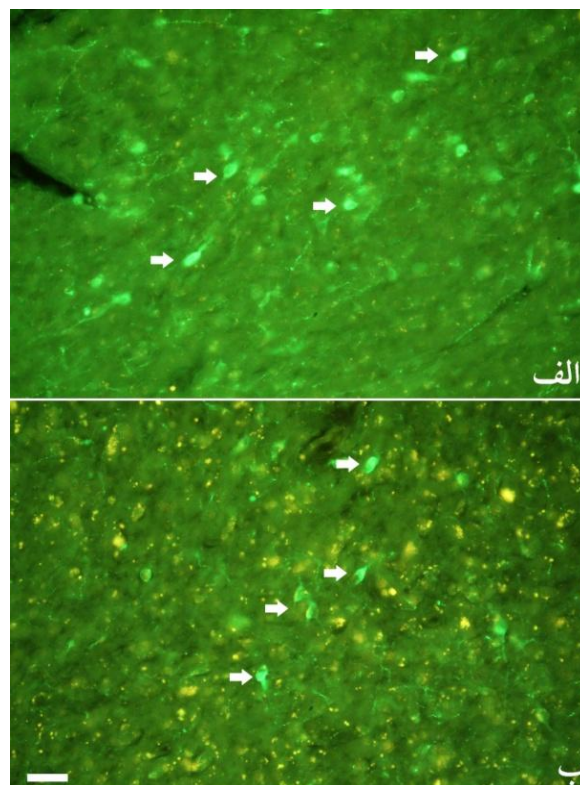
با توجه به اینکه GnIH در هیپوتالاموس مغز گوسفند به عنوان میانجی مهار محور تولیدمثلی عمل می‌کند (۴)، هدف از انجام این پژوهش، بررسی الگوی بیان GnIH در گامه فولیکولی و دوره آنستروس در هسته‌های DMH و PVN هیپوتالاموس بزهای بومی فارس بود.

مواد و روش‌ها

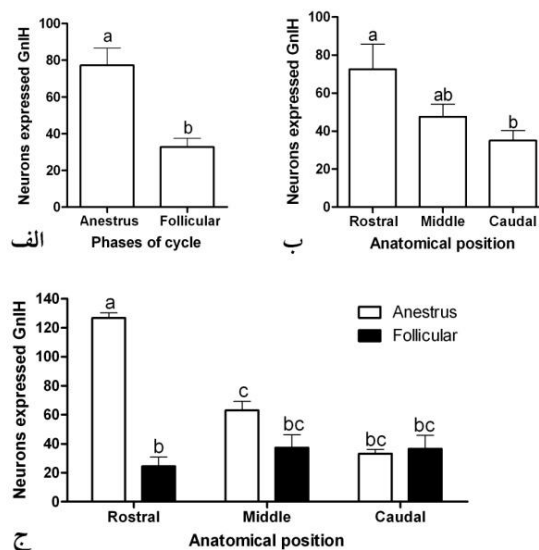
شش بز بالغ با دامنه سنی ۳ تا ۵ سال، پس از گزینش در فصل تولیدمثلی و غیرتولیدمثلی در شرایط محیطی و تغذیه‌ای یکسان نگهداری شدند. بر اساس غلظت پلاسمایی پروژسترون، بزهایی که در فاز فولیکولی چرخه تخمدانی و دوره آنستروس قرار داشتند (سه بز در هر گروه) کشتار و بیدرنگ مغز هر جانور با استفاده از بافر فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد. ناحیه داین سفالن پس از ۴۸ ساعت قرار داشتن در محلول سوکروز ۳۰ درصد، در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شد. با میکروتوم انجمادی، از هر بافت برش‌هایی به ضخامت ۳۰ میکرومتر تهیه شد و برش‌های به دست آمده در چاهک‌های دارای محلول محافظ یخ زدگی (Cryoprotectant) قرار گرفته و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برش‌های دارای هسته‌های DMH و PVN انتخاب و با روش استاندارد ایمنوهیستوشیمی رنگ‌آمیزی شدند. به صورت خلاصه، نخست برش‌ها در بافر فرمالین ۱۰ درصد برای ۱۰ دقیقه تثبیت شده و سپس سه مرتبه با محلول بافر فسفات سالین (PBS) شسته شدند. پس از ۳۰ دقیقه قرار داشتن نمونه‌ها در محلول بلوک کننده دارای ۱٪ سرم بز و ۱٪ آلبومین سرم گاو، برای ۲۴ ساعت با آنتی بادی اولیه (Tsutsui) علیه GnIH گنجشک تولید شده در خرگوش (رقت ۱:۱۰۰۰) در دمای ۴ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. پس از گذشت این زمان، برش‌ها با محلول فسفات بافر سالین شسته و برای یک ساعت با آنتی‌بادی ثانویه IgG FITC علیه خرگوش انکوبه شدند. پس از شستشو، برش‌ها روی اسلاید تثبیت شدند. نورون‌های بیان کننده GnIH در هر برش با میکروسکوپ فلورسنت شمارش شد. آنالیز داده‌ها با Proc GLM نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با روش میانگین حداقل مربعات انجام شد.

نتایج و بحث

نورون‌های بیان کننده GnIH در گامه فولیکولی و دوره آنستروس در هسته‌های PVN/DMH هیپوتالاموس مغز بز در نگاره ۱ نشان داده شده‌اند. شمار نورون‌های بیان کننده GnIH در دوره آنستروس در مقایسه با گامه فولیکولی چرخه تخمدانی بیشتر بود ($P < 0.001$ ، نگاره ۲- الف). شمار نورون‌های بیان کننده GnIH در ناحیه پیشین بیش از ناحیه پسین بود ($P = 0.002$ ، نگاره ۲- ب). اما شمار سلول‌های مثبت در ناحیه میانی هسته‌ها، تفاوتی با نواحی پیشین یا پسین نداشت ($P > 0.05$). فزون بر این، نورون‌های مثبت در ناحیه پیشین هسته‌های PVN/DMH هیپوتالاموس بزهایی که در فصل غیرتولیدمثلی قرار داشتند بیشتر از شمار نورون‌های این ناحیه از هسته در گامه فولیکولی بود ($P < 0.001$ ، نگاره ۲- ج) اما در نواحی میانی و پسین، تفاوتی میان دو گامه مشاهده نشد ($P > 0.05$).



نگاره ۱. نمونه‌ای از نورون‌های بیان کننده GnIH (پیکان) در مرحله آنستروس (الف) و گامه فولیکولی (ب) در هسته‌های پاراونتریکولار/پشتی - داخلی (PVN/DMH) هیپوتالاموس بزهای بومی فارس. شاخص ۳۰ میکرومتر است.



نگاره ۲. شمار (میانگین و خطای استاندارد) نورون‌های بیان کننده GnIH در هسته‌های پاراونتریکولار/پشتی - داخلی (PVN/DMH) هیپوتالاموس بزهای بومی فارس (n=3) (الف) در گامه فولیکولی و مرحله آنستروس؛ (ب) بر اساس موقعیت آناتومی و (ج) مقایسه نواحی مختلف آناتومی در دو مرحله چرخه فحلی. میانگین‌های دارای بندواژه‌های همانند، تفاوت آماری معنی‌دار ندارند ($P > 0.05$).



در پژوهش کنونی برای نخستین بار نوروهای بیان کننده GnIH در هسته های DMH/PVN هیپوتالاموس مغز بز شناسایی شدند که با یافته‌های به دست آمده در گوسفند (۴) هماهنگ است. در پرندگان، اثر GnIH در سطح هیپوفیز و با مهار مستقیم آزاد شدن گونادوتروپین‌ها اعمال می‌شود اما در پستانداران این نوروپپتید بر نوروهای GnRH اثر می‌گذارد و فعالیت این سلول‌ها را کاهش می‌دهد (۴).

تراوش پالسی LH که بازتابی از تراوش GnRH به درون سیاهرگ باب هیپوفیزی است، در گامه فولیکولی چرخه تخمدانی افزایش می‌یابد و موجب تخمک‌ریزی می‌شود. تراوش LH در فصل آنستروس در سطح پایه قرار دارد. یافته‌های پژوهش کنونی نشان داد بیان GnIH در هسته‌های DMH/PVN بز در گامه آنستروس افزایش و در گامه فولیکولی کاهش یافت. سازگار با این یافته، نشان داده شده است که شمار سلول‌های بیان کننده RFRP در هسته DMH هیپوتالاموس هامستر در زمان سرژ LH کاهش یافت (۵). همچنین سلول‌های بیان کننده GnIH در فصل تولیدمثلی گوسفند نسبت به فصل غیرتولیدمثلی کمتر بود (۴) و تزریق GnIH به گاو موجب کاهش غلظت پلاسمایی LH شد (۶). از این رو امکان‌پذیر است که نوروهای بیان کننده GnIH در خلال فاز فولیکولی کاهش یافته تا موجب تسهیل سرژ LH شود. بیان بالای این نوروپپتید در خلال فصل غیرتولیدمثلی، می‌تواند موجب مهار سرژ GnRH/LH و تخمک‌ریزی شود.

منابع

1. Tsutsui, K., Saigoh, E., Ukena, K., Teranishi, H., Fujisawa, Y., Kikuchi, M., Ishii, S. and Sharp, P.J. 2000. A novel avian hypothalamic peptide inhibiting gonadotropin release. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 275(2):661-667.
2. Kriegsfeld, L.J., Gibson, E.M., Williams III, W.P., Zhao, S., Mason, A.O., Bentley, G.E. and Tsutsui, K. 2010. The roles of RFamide-related peptide-3 in mammalian reproductive function and behaviour. *Journal of Neuroendocrinology*, 22(7):692-700.
3. Smith, J.T. and Clarke, I.J. 2010. Gonadotropin inhibitory hormone function in mammals. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 21(4):255-260.
4. Smith, J.T., Coolen, L.M., Kriegsfeld, L.J., Sari, I.P., Jaafarzadehshirazi, M.R., Maltby, M., Bateman, K., Goodman, R.L., Tilbrook, A.J., Ubuka, T., Bentley, G.E., Clarke, I.J. and Lehman, M.N. 2008. Variation in kisspeptin and RFamide-related peptide (RFRP) expression and terminal connections to gonadotropin-releasing hormone neurons in the brain: a novel medium for seasonal breeding in the sheep. *Endocrinology*, 149(11):5770-5782.
5. Gibson, E.M., Humber, S.A., Jain, S., Williams, W.P., Zhao, S., Bentley, G.E., Tsutsui, K. and Kriegsfeld, L.J. 2008. Alterations in RFamide-Related Peptide expression are coordinated with the preovulatory luteinizing hormone surge. *Endocrinology*, 149(10):4958-4969.
6. Kadokawa, H., Matsui, M., Hayashi, K., Matsunaga, N., Kawashima, C., Shimizu, T., Kida, K. and Miyamoto, A. 2008. Peripheral administration of kisspeptin-10 increases plasma concentrations of GH as well as LH in prepubertal Holstein heifers. *Journal of Endocrinology*, 196(2):331-334.

اثر سرما محافظ های مختلف بر انجمادپذیری اسپرم اپیدیدیمی گوسفند

فاطمه زارعی^{۱*}، عباس فرشاد^۲ و امجد فرزین پور^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشکده کشاورزی- دانشگاه کردستان

۲- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی- دانشگاه کردستان

* فاطمه زارعی. کرمانشاه، میدان آزادی، چهار راه سیلو، خیابان ابوذر، پلاک ۶۰۳

Yas_fakeh@yahoo.com

چکیده

هدف از این پژوهش ارزیابی اثر سرما محافظ های مختلف شامل، آلبومین سرم گاوی (۵٪)، دی متیل سولفوکسید (۱/۷۵٪)، سوکروز (۸۰ میلی مول) و ترهالوز (۱۰۰ میلی مول) بر قابلیت انجماد پذیری و صفات فیزیولوژیکی اسپرم اپیدیدیمی (جنبایی، جنبایی پیش رونده، زنده مانی و سلامت آکروزوم) گوسفند طی فرآیند انجماد و یخ گشایی بود. تعداد ۱۶ عدد بیضه قوچ بالغ از کشتارگاه تهیه شد و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. پس از جداسازی اسپرم از بافت اپیدیدیم، اسپرم اپیدیدیمی استحصال شده با رقیق کننده پایه (بافر تریس-سیترات-فروتوز)، با غلظت های مورد نظر از هریک از سرما محافظ ها رقیق شد. نمونه های اسپرم رقیق شده پس از دوره تطابق پذیری در دمای ۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت، در بخار ازت مایع منجمد و به تانک ازت منتقل شد. پایوت های اسپرم در آب ۳۷ درجه و به مدت ۳۰ ثانیه یخ گشایی شدند. نتایج به دست آمده نشان داد، قندهای سوکروز و ترهالوز اثر معنی داری بر میزان جنبایی، جنبایی پیش رونده، زنده مانی و سلامت آکروزوم اسپرم اپیدیدیمی داشتند ($p < 0.05$). بهترین نتایج مربوط به تیمار ترهالوز و کمترین اثر حفاظتی مربوط به تیمار دی متیل سولفوکسید بود. بنابر نتایج حاصل از این پژوهش، آلبومین سرم گاوی و دی متیل سولفوکسید کمترین کارایی را در حفاظت انجماد اسپرم اپیدیدیمی در مقایسه با قند ها دارا می باشند. واژگان کلیدی: اسپرم اپیدیدیمی - حفاظت انجماد- ترهالوز- سوکروز- دی متیل سولفوکسید- آلبومین سرم گاوی

مقدمه

یکی از روش های جمع آوری اسپرم از دام نر، استفاده از اسپرم اپیدیدیمی است که اخیراً مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. این مسئله مخصوصاً در رابطه با اسپرم اپیدیدیمی گونه های در حال انقراض اهمیت بالاتری پیدا نموده است. اسپرم اپیدیدیمی کاربرد گسترده ای در بسیاری از روش های آزمایشگاهی دارد (۱۶) و به طور موفقیت آمیزی در تلقیح مصنوعی و تولید آزمایشگاهی رویان در گونه های مختلف کاربرد دارد (۵). فرایند انجماد اسپرم با ایجاد شوک سرمایی و استرس اکسیداتیو بر غشا اسپرم و آکروزوم موجب کاهش زنده مانی و باروری اسپرم می شود. جهت حفاظت از اسپرم و کاهش صدمات ناشی از تشکیل کریستال های یخ، ترکیبات سرما محافظ نفوذ پذیر و غیر نفوذ پذیر در رقیق کننده مورد استفاده قرار می گیرند (۱۰). استفاده از ترکیبات قندی، موجب تولید انرژی و نگهداری فشار اسمزی رقیق کننده در طول انجماد می شود (۱۹). قند های مرکب طی فرایند های دهیدراسیون و ریهیدراسیون با فسفولیپید های غشا پلاسمایی واکنش می دهند و موجب حفاظت از غشا، افزایش سیالیت و کاهش تشکیل کریستال های یخ می شود (۱). دی متیل سولفوکسید یک حفاظت کننده نفوذ پذیر رایج در رقیق کننده های یخ زدن محسوب می شود (۶). آلبومین سرم گاوی جهت حفاظت اسپرم

انسانی از آسیب ناشی از روش‌های انجمادی استفاده شده، همچنین در اکثر محیط‌های کشت سلول اسپرم، به عنوان بافری در برابر شوک اسمزی، جهت حفظ اسمولالیتیه محیط کشت، جنبایی و زنده مانی اسپرم استفاده شده است (۱۵). با توجه به اندک بودن داده‌ها در رابطه با اثرات سرما محافظ‌های مختلف بر اسپرم اپیدیدیمی، در این پژوهش اثر انواع حفاظت‌کننده انجمادی بر انجمادپذیری اسپرم اپیدیدیمی گوسفند بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۶ عدد بیضه از کشتارگاه تهیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شد. پس از جدا نمودن اپیدیدیم و ایجاد چند برش دردم اپیدیدیم، بافت اپیدیدیم درون محیط تیروید لاکتات به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. سپس اپیدیدیم از ظرف خارج و محیط حاوی اسپرم با ۷۰۰ دور در دقیقه به مدت ۶ دقیقه سانتریفیوژ شد. با برداشتن مایع بالای اسپرم، نمونه اسپرم اپیدیدیمی جهت انجام آزمایش آماده شد. نمونه‌های با تحرک بیش از ۷۰ درصد به منظور فرایند انجماد مورد استفاده قرارگرفت و نهایتاً نمونه‌های اسپرم اپیدیدیمی با رقیق‌کننده پایه و غلظت‌های مورد نظر از هر یک از حفاظت‌کننده‌ها (آلبومین سرم گاوی ۵٪، دی متیل سولفوکسید ۱/۷۵٪، سوکروز ۸۰ میلی مول و ترهالوز ۱۰۰ میلی مول) رقیق شدند. به گروه کنترل حفاظت‌کننده انجمادی افزوده نشد. از هر نمونه رقیق شده یک پایوت ۰/۵ میلی لیتری تهیه شد. پایوت‌ها در آب ۳۷ درجه به مدت ۳ ساعت در یخچال نگهداری شد تا دمای آن به ۵ درجه سانتی گراد برسد. سپس پایوت‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در بخار نیتروژن منجمد شده و به کانتینر حاوی ازت مایع منتقل شد. نمونه‌های اسپرم با قرار دادن پایوت‌ها در آب ۳۷ درجه به مدت ۳۰ ثانیه یخ‌گشایی شدند. صفات فیزیولوژیک اسپرم پس از یخ‌گشایی به روش ایوانس ماکسول (۷) مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت ارزیابی جنبایی و جنبایی پیش‌رونده، از هر نمونه یک قطره بر روی لام (دمای لام ۳۷ درجه) قرار داده و توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی $\times 400$ شمارش ۱۰۰ سلول در ۱۰ نقطه از لام انجام شد و داده‌ها به صورت درصد گزارش شد. ارزیابی زنده مانی اسپرم پس از یخ‌گشایی توسط رنگ آمیزی اتوزین- نیگروزین انجام شد. ۱۰ میکرولیتر رنگ اتوزین نیگروزین روی لام قرار داده و ۱۰ میکرولیتر نمونه اسپرم به آن اضافه می‌شود. پس از تهیه گسترش و خشک شدن لام در دمای ۳۷ درجه، شمارش ۱۰۰ سلول در ۱۰ نقطه از لام با بزرگنمایی $\times 400$ انجام شد و داده‌ها به صورت درصد گزارش گردید. سلامت آکروزوم اسپرم توسط رنگ فرمالین- سیترات ارزیابی شد. ۱۰ میکرولیتر نمونه اسپرم و ۱۰ میکرولیتر رنگ را بر روی لام قرار داده و پس از ۳۰ ثانیه، وضعیت آکروزوم تعداد ۱۰۰ سلول اسپرم با بزرگنمایی $\times 100$ مورد ارزیابی قرار گرفت. طرح آماری به کار رفته در این پژوهش، طرح کاملاً تصادفی بود. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS با رویه GLM انجام شد. میانگین‌ها با آزمون دانکن و در سطح $P = 0/05$ مقایسه شد.

نتایج و بحث

بر اساس ارزیابی اولیه اسپرم اپیدیدیمی استحصال شده، میانگین جنبایی (٪)، جنبایی پیش‌رونده (٪)، زنده مانی (٪) و سلامت آکروزوم (٪) به ترتیب، ۷۲/۸۷، ۷۰/۵، ۷۷/۸۷ و ۹۶/۷۵ گزارش گردید. نتایج ارزیابی اثرات حفاظت‌کننده‌های انجمادی بر صفات فیزیولوژیک اسپرم در جدول ۱ گزارش شده است. نتایج به دست آمده نشان داد، استفاده از قند‌های ترهالوز و سوکروز جنبایی و جنبایی پیش‌رونده را به طور معنی‌داری ($P < 0/05$) تحت تاثیر قرار داده و موجب بهبود این دو فاکتور حرکتی اسپرم پس از یخ‌گشایی شد ولی تیمار آزمایشی دی متیل سولفوکسید نسبت به سایر تیمارها جنبایی و جنبایی پیش‌رونده کمتری را پس از یخ‌گشایی موجب شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P < 0/05$). در

مقایسه تیمار آلبومین سرم گاوی با شاهد اختلاف معنی داری در درصد این صفات مشاهده نشد ($p > 0.05$). قند های سوکروز و ترهالوز در مقایسه با تیمار شاهد، درصد زنده مانی اسپرم اپیدیدیمی راپس از یخ گشایی به طور معنی داری حفظ کردند ($p < 0.05$). تیمارهای دی متیل سولفوکسید و آلبومین سرم گاوی در مقایسه با یکدیگر و تیمار شاهد اختلاف معنی داری در بهبود زنده مانی اسپرم پس از یخ گشایی ایجاد نکردند. نتایج نشان داد استفاده از ترهالوز در مقایسه با شاهد و سایر تیمارها به طور معنی داری موجب بهبود سلامت اکروزام پس از یخ گشایی شد. ($p < 0.05$). تیمار های سوکروز، آلبومین سرم گاوی و دی متیل سولفوکسید در مقایسه با تیمار شاهد در حفظ سلامت اکروزام اسپرم اختلاف معنی داری نداشتند. ($p > 0.05$). نتایج حاصل از این پژوهش در رابطه با اثر قند ها بر انجماد اسپرم با گزارشات نیومن بوکاک و همکاران (۲۰۰۷)، آیسن و همکاران (۲۰۰۲) در قوچ و خلیلی و فرشاد (۲۰۰۹) در بز مطابقت داشت. قند های مرکب به علت دارا بودن وزن مولکولی بالا از غشا اسپرم عبور نکرده و نقش برون سلولی ایفا می کنند و با ایجاد فشار اسمزی موجب آبکشی سلول پیش از فرآیند انجماد می شوند. آبکشی سریع سلول پیش از انجماد میزان تشکیل کریستال های یخ درون سلولی را کاهش می دهد (۳ و ۲). همچنین ترهالوز و سوکروز با ایجاد پیوند هیدروژنی با گروه های قطبی فسفولیپید های غشا موجب تثبیت غشا می شوند (۶). اثر منفی آلبومین سرم گاوی بر حفظ صفات فیزیولوژیک اسپرم در این پژوهش با گزارشات یوساول و همکاران (۲۰۰۷) در سگ و یاماشیرو و همکاران (۲۰۰۶) در بز مطابقت داشت. یکی از مراحل اساسی در ظرفیت پذیری اسپرم، خروج کلستروال با واسطه آلبومین سرم گاوی می باشد که با افزایش سیالیت (۱۱ و ۱۸)، بی ثباتی، سازماندهی دوباره غشای پلاسمای اسپرم همراه بوده (۱۱)، و با افزایش سطوح کلسیم درون سلولی که برای بروز ظرفیت پذیری و اتصالات غشای اسپرمی جهت واکنش اکروزامی ضروری می باشد (۱۲). بنابراین آلبومین سرم با رسوب بر سطح سلول، موجب خروج کلستروال از غشای پلاسمایی اسپرم می گردد (۸) و با کاهش نسبت کلستروال به فسفولیپید غشا منجر به کاهش استحکام غشا پلاسمایی می شود. مکانیسمی که از طریق آن دی متیل سولفوکسید در خلال فرایند انجماد و یخ گشایی اسپرم را محافظت می کند به طور واضح درک نشده است (۴). احتمالاً گلیسرول و دی متیل سولفوکسید با ایجاد ممانعت در فازهای انتقالی به وسیله افزایش نفوذ پذیری به آب و افزایش سیالیت غشا پلاسمایی اسپرم و افزایش نفوذ پذیری غشا به یون ها توسط پمپ های یونی موجب کاهش نقطه انجماد سلول ها خواهد شد (۱۴). نتایج حاصل از این پژوهش در رابطه با کاهش عملکرد اسپرم توسط دی متیل سولفوکسید با گزارشات رسول و همکاران (۲۰۰۰) در بوفالو، گراهام و همکاران (۲۰۰۵) در گاو مطابقت داشت.



جدول ۱- اثر آلبومین سرم گاوی، دی متیل سولفوکسید، ترهالوز و سوکروز بر ویژگی های اسپرم اپیدیدیمی گوسفند پس از

تیمار					
صفات اسپرم (%)	شاهد	آلبومین سرم گاوی	دی متیل سولفوکسید	سوکروز	ترهالوز
جنبایی	۵۸±۲/۵۶ ^b	۵۴±۲/۴۵ ^{b,c}	۴۷/۸۷±۳/۵۰ ^c	۶۷/۱۲۵±۱/۶۷ ^a	۶۵/۷۵±۲/۷۲ ^a
جنبایی پیش رونده	۶۶/۵±۳/۷۱ ^{a,b}	۶۱/۲۵±۴/۵۵ ^{b,c}	۵۱±۳/۴۷ ^c	۶۸±۳/۹۱ ^{a,b}	۷۳/۱۲۵±۳/۳۵ ^a
زنده مانی	۶۲/۸۷±۲/۲۳ ^b	۶۰/۱۲۵±۲/۲۳ ^b	۵۶/۱۲۵±۳/۷۲ ^b	۷۰/۸۷±۱/۱۸ ^a	۷۰/۲۵±۲/۶۸ ^a
سلامت اکروزام	۶۹/۱۲۵±۱/۰۹ ^b	۷۱±۱/۱۴ ^b	۶۸/۵±۱/۵۲ ^b	۷۱/۵±۱/۳۲ ^b	۷۵/۵±۱/۶۱ ^a

یخ گشایی

(p) در هر ردیف میانگین هایی که حرف (حروف) همانند دارند تفاوت آماری معنی داری ندارند (>۰/۰۵)

منابع

1. Aboagla, E. M-E. and Terada, T., 2004. Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. *Theriogenology*, 62: 1160–1172.
2. Aisen, E. G., L. Alvarez., A. Venturino and J. J. Garde. 2000. Effect of trehalose and EDTA on cryoprotective action of ram semen diluents. *Theriogenology*.53: 1053-1061.
3. Aisen, E. G., V. H. Medina and A. Venturino. 2002. Cryopreservation and postthawed fertility of ram semen frozen in different trehalose concentrations. *Theriogenology*.57:1801-1808.
4. Almlid, T. and L.A Johnson, 1988. Effects of glycerol concentration, equilibration time and temperature of glycerol addition on post-thaw viability of boar spermatozoa frozen in straws. *J. Anim. Sci.*, 66 2899-2905.
5. Barati, F., M. Khaksary and GH. Mohammadi. 2009. Cryopreservation of in situ cool stored buffalo (*Bubalus bubalis*) epididymal sperm. *Iranian. Vet. Res.* Vol. 10. No. 4.
6. De Leeuw, F. E., A. M. De Leeuw, J. H. Den Dass and V. Colenbrander. 1993. Effects of various cryoprotective agents and membrane-stabilizing compounds on bull sperm membrane integrity after cooling and freezing. *Cryobiology*.30: 32-44.
7. Evans, G., Maxwell, W. M. S. 1989. Salamons artificial insemination of sheep and goats. University press, Sydney, NSW, Australia. ISBN: 0409491772.
8. Go, K.J., Wolf, D.P., 1985. Albumin- mediated changes in sperm sterol content during capacitation. *Biol. Reprod.*32: 145- 153.
9. Graham EF, Vogt OW, Fisher GR. Effect of method of glycerol addition on the fertility of frozen bovine spermatozoa. *J Dairy Sci* 1958;41: 1553-6.
10. Khalili, B., A. Farshad, M. J. Zamiri and A. Rashidi. 2009. Effects of sucrose and Trehalose on the freezability of Markhoz goat spermatozoa. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol. 22. NO. 12: 1614-1619.
11. Kharche, S.D., Goel, A.K., Jindal, S.K., Yadav, E.N., Yadav, P., Sinha, R. and Sinha, N.K., 2008. Effect of serum albumin supplementation on in vitro capacitation and fertilization of caprine oocytes. *J. Small Rum.* 81: 85- 89.



12. Langlais, J., Kan, F.W.k, Granger, L., Raymond, L., Bleau, G. and Roberts, K.D., 1988. Identification of sterol acceptors that stimulate cholesterol efflux from human spermatozoa during in vitro capacitation. *Gam. Res.* 20:185-201.
13. NumanBucak, M, A. A. ahin, O. Vans, A. Yuce, N. Tekin and A. Akcay. 2007b. The influence of trehalose, taurine, cysteamine and hyaluronan on ram semen Microscopic and oxidative stress parameters after freeze-thawing process. *Theriogenology*. 67: 1060- 1067.
14. Rasul, Z, N. ad and M. Anzar, 2007. Antagonist effect of DMSO on the cryoprotection ability of glycerol during cryopreservation on buffalo sperm., *Theriogenology*, 68: 813-819.
15. SharoreHossain, M.D., Hyeong, L.J., Miah, A.G. and Tsujii, H., 2007. Effect of fatty acids bound to bovine serum albumin-V on acrosome reaction and utilization of glucose in boar spermatozoa. *Reprod. Med. Biol.* 6: 109-115.
16. Tajik, P., A. Arman and T. Taktaz. 2007. Bovine epididymal sperm morphology obtained from caput, corpus and cauda epididymides. *Pakistan Journal of Biological sciences*. Vol. 10: 3936-3938.
17. Uysal, O., Bucak, M. N., 2007a. Effects of oxidized glutathione, bovine serum albumin, cysteine and lycopene on the quality of frozen-thawed Ram semen. *Acta vet. Brno*. 76: 383-390.
18. Yamashiro, H., Wang, H., Yamashita, Y., Kumamoto, K. and Terada, T., 2006b. Enhanced freezability of Goat spermatozoa collected in to tubes containing extender supplemented with bovine serum albumin (BSA). *J. Reprod. Develop.* 52(3): 407- 414.
19. Yilidiz, c., A. Kaya., M. Aksoy and T. Tekeli, 2000. Influence of sugar supplementation of the extender on motility, viability and acrosomal integrity of dog spermatozoa during freezing. *Theriogenology*. 54: 579- 585.

The effect of different cryoprotectants on freezability of ram epididymal spermatozoa

F.Zarei *, A. Farshad and A. Farzinpour

Department of Animal Science, College of Agriculture, University of Kurdistan, Iran

* Yas_fakeh@yahoo.com

Abstract:

The aim of present study was assessing the Influence of different cryoprotective agents (CPAs) include; sucrose (80mM), trehalose (100mM), bovin serum albumin (BSA 5%) (w/v) and dymetilsolfoxide (DMSO 1.75%) (v/v) on post-thaw motility, progressive motility, viability and acrosome integrity of ram epididymal spermatozoa were studied. sixteen fertile ram testise were collected from the local abattoir, placed on ice and transported to the laboratory. After isolation of epididymal sperm, the samples were diluted by base extender (tris-citrat-fructose) and different concentrations of CPAs. Extended semen samples packaged in 0.5 ml straws and equilibrated for 2 h at 5°C, the frozen on liquid nitrogen (LN_2) vapore and after 10 min transported to LN_2 tank. Sample were thawed by placing straw into 37°C water for 30 sec. The results indicatad that Trehalose and sucrose significantly affected motility, progressive motility, viability and normal acrosom during freezing on epididymal spermatozoa ($p < 0.05$). The best results obtained using trehalose-supplemented extenders, for motility, progressive motility, viability and normal acrosome compared to control grope. Dimethylsulfoxid significantly resulted in lower post-thawed motility, progressive motility,



viability and normal acrosome. in conclusion, BSA and DMSO supplemented extender resulted in lower protection of epididymal sperm compared to cryopreservation extender containing sugars.

Keywords : epididymal spermatozoa- cryopreservation- trehalose- sucrose- dimethyl sulfoxide- bovine serum albumin



تأثیر وازوپرسین، اکسی توسین و هیستامین محیطی بر ترشح کورتیزول در گوسفند

زهره وفائی سعدی*، حمیدرضا رحمانی، محمد خورش، محمدعلی ادریس

گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، کدپستی ۸۳۱۱۱-۸۴۱۵۶، اصفهان، ایران

*نویسنده مسئول: زهره وفائی سعدی z.vafaiesaaadi@ag.iut.ac.ir

چکیده

به منظور بررسی آثار محیطی وازوپرسین، اکسی توسین و هیستامین در گوسفند و ارتباط آن با فعالیت غدد محیطی پژوهش حاضر صورت گرفت. در این تحقیق چهار رأس گوسفند ماده، مورد تزریق درون رگی در دوزهای صفر، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ نانومول از مواد وازوپرسین، اکسی توسین و هیستامین قرار گرفته و نمونه خون مربوطه به فاصله زمانی ۴ روزه (و سه ساعت پس از زمان تزریق) گرفته شد. آزمایش انجام شده روی نمونه خون‌ها شامل اندازه‌گیری هورمون کورتیزول بود. نتایج حاصل نشان داد که هورمون وازوپرسین در دوز ۱۲۵ نانومول باعث افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) ترشح کورتیزول و در دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ نانومول باعث کاهش معنی‌دار ($p < 0/01$) کورتیزول شد. با تزریق دوز ۲۵۰ نانومول اکسی توسین میزان کورتیزول به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) کاهش یافت. همچنین با تزریق دوزهای متفاوت هیستامین، تأثیر معنی‌داری در میزان ترشح هورمون کورتیزول ایجاد نشد. با توجه به نتایج فوق شاید بتوان نتیجه‌گیری کرد که گیرنده‌های اکسی توسین و وازوپرسین در بخش قشر فوق کلیه می‌تواند در دوزهای فارماکولوژیک تغییراتی را در میزان گلوکوکورتیکوئیدها ایجاد نماید و این تغییرات وابسته به میزان تزریق، واکنش‌های متفاوت فیزیولوژیک را نشان می‌دهد. همچنین عدم تأثیر هیستامین بر ساز و کار ترشح هورمون کورتیزول، حاکی از نیمه عمر کوتاه این هورمون و یا عدم وجود گیرنده در این بخش‌ها می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: وازوپرسین-اکسی توسین-هیستامین-کورتیزول

مقدمه

نانوپپتید (پپتید ۹ اسید آمینه‌ای) وازوپرسین در نورون‌های ماگنوسلولار هیپوتالاموسی سنتز می‌شود (۱۷). این هورمون به واسطه سه گیرنده ($V1a$ ، $V1b$ و $V2$) که به ترتیب در سلول‌های ماهیچه صاف، هیپوفیز پیشین و لوله‌های جمع‌کننده کلیوی قرار دارند آثار خود را در بافت و سلول‌های مختلف بدن اعمال می‌کند (۳ و ۱۱).

هورمون نوروهیپوفیزی اکسی توسین اولین هورمون نانوپپتیدی است که ساختار آن تعیین شده و همچنین به صورت شیمیایی و به فرم فعال بیولوژیکی سنتز شد (۴). این پپتید دارای گیرنده‌های زیاد در بافت‌های مختلف بدن از جمله رحم، غدد پستانی، قلب، پانکراس، تیموس، کلیه و بافت چربی می‌باشد که این گیرنده‌ها عضو خانواده گیرنده‌های پروتئین‌های G هستند (۵).

هیستامین (۲-۴-ایمیدازول اتیل آمین) در سال ۱۹۱۰ توسط هنری هالت-دال به عنوان ماده عفونی تولید شده توسط فعالیت باکتری‌ها کشف شد. هیستامین بوسیله پریدوکسال فسفات L-هیستیدین دیکربوکسیلاز، از اسید آمینه هیستیدین ساخته می‌شود. هیستامین توسط ماست سل‌ها، بازوفیل‌ها، پلاکت‌ها، نورون‌های هیستامینرژیک و سلول‌های انتروکرومافین روده‌ای سنتز شده و به صورت درون سلولی در وزیکول‌ها ذخیره شده و با تحریک، آزاد می‌شود (۶). هیستامین عمل خود را با فعالسازی گیرنده‌های غشایی (H_1 ، H_2 ، H_3 و H_4) بر سلول هدف در بافت مورد نظر اعمال می‌کند، که این گیرنده‌ها نیز به خانواده بزرگ پروتئین G تعلق دارند (۹).



هدف این تحقیق بررسی اثر وازوپرسین، اکسی توسین و هیستامین با دوز فیزیولوژیک و فارماکولوژیک بر ترشح هورمون استروئیدی کورتیزول در گوسفند بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از چهار رأس گوسفند ماده نژاد نائینی یک ساله با متوسط وزن 30 ± 5 کیلوگرم در محل خانه حیوانات دانشگاه صنعتی اصفهان استفاده شد. برای این منظور، ابتدا سه هورمون هیستامین، اکسی توسین و وازوپرسین با غلظت‌های ۵۰۰، ۲۵۰ و ۱۲۵ نانو مول رقیق شدند که برای رقیق سازی از سرم نرمال فیزیولوژی استفاده شد. سپس به ترتیب هورمون‌های هیستامین، اکسی توسین و وازوپرسین با دوزهای یکسان ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵ و صفر (سرم فیزیولوژی) نانومول به میزان ۱ سی سی از هر دوز هورمون از طریق سیاهرگ گردنی تزریق شد. زمان تزریق طی این روش زمان مشخص و ثابتی در نظر گرفته شده بود. دوزهای متفاوت هر هورمون در هر روز به ۴ گوسفند به طور تصادفی تزریق شد. همچنین بعد از یک دوره استراحت تزریق هورمون بعدی آغاز می شد. نمونه‌گیری از ورید گردنی حیوانات در یک زمان ثابت و با فاصله زمانی ۴ روزه انجام شد. در این تحقیق از روش جدید ^۱CLIA (با استفاده از دستگاه لایسون) و روش ^۲ELFA (با استفاده از دستگاه وایداس) جهت انجام آزمایشات هورمونی به کار گرفته شد که در مقایسه با روش‌های قبلی کمتر از ۱ درصد خطا داشته و دارای صحت و دقت بالا هستند. نتایج حاصل از تست هورمونی با استفاده از نرم افزار آماری SAS، رویه GLM و در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. لازم به ذکر است که این روش مقایسه در فیزیولوژی حداقل به ۳ نمونه تکراری در یک تیمار نیاز دارد که در این تحقیق نیز از ۴ رأس دام و با تزریق ۳ هورمون که هر کدام در ۴ نوبت انجام شد، استفاده شد یا به عبارتی ۱۶ عدد از هر هورمون تزریقی به شکل تکراری موجود می‌باشد. مدل آماری مورد استفاده جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها به صورت $Y_{ci} = \mu + T_c + \varepsilon_{ic}$ می‌باشد. در این فرمول Y_{ci} نشان دهنده مقدار عددی هر مشاهده در آزمایش، μ میانگین مشاهدات، T_c نشان‌دهنده اثرات هورمون استفاده شده و ε_{ic} تأثیر خطای آزمایشی می‌باشد. بنابراین مقدار عددی هر مشاهده از مجموع اثرات تیمار و اشتباه آزمایشی و میانگین کل جامعه حاصل می‌شود.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تزریق دوزهای صفر (سرم فیزیولوژیک)، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ نانو مول وازوپرسین، اکسی توسین و هیستامین و تأثیر آن‌ها بر میزان ترشح کورتیزول در جدول زیر گزارش شده است.

جدول اثر وازوپرسین، اکسی توسین و هیستامین بر میزان ترشح کورتیزول			
میانگین حداقل مربعات			
دوز	وازوپرسین	اکسی توسین	هیستامین
۰	۲۴ ^{ab}	۲۹/۷۵ ^a	۳۱/۱۱
۱۲۵	۳۳/۵ ^a	۳۱/۷۵ ^a	۳۰/۰۶
۲۵۰	۳۲ ^a	۱۶/۶۲ ^b	۲۸/۹۲
۵۰۰	۲۰/۲۵ ^b	۲۴/۶۸ ^{ab}	۲۱/۰۹
خطای استاندارد	۳/۱۶	۳/۳۱	۳/۳۵
سطح معنی داری	۰/۰۳*	۰/۰۳*	۰/۱۹

میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری معنی دار نمی باشند.
* سطح معنی داری ($p < 0.05$)

^۲ - Chemiluminescent Immunoassay
^۴ - Enzyme Linked Fluorescent Assay

مطابق با نتایج حاصل در این آزمایش تزریق درون رگی دوز ۱۲۵ نانومول وازوپرسین، باعث افزایش معنی دار ($p < 0.05$) ترشح کورتیزول شد که ممکن است به دلیل همبستگی مثبت وازوپرسین و کورتیزول به واسطه رابطه سینرژسم بین وازوپرسین مشتق شده از هسته‌های پاراونتریکولار و CRH در سطح هیپوفیز باشد (۱۴). تحقیقات گذشته نشان دادند که با تزریق درون رگی وازوپرسین (۱، ۰/۱ و ۰/۰۱ میکروگرم در کیلوگرم وزن بدن) به گوسفند غلظت پلاسمایی کورتیزول افزایش یافت (۱۵). در تحقیق حاضر با تزریق دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ نانومول وازوپرسین کاهش معنی داری در

میزان ترشح کورتیزول مشاهده شد. طبق مطالعات، وازوپرسین به صورت محیطی بر کبد، کلیه، ماهیچه صاف رگی، غده هیپوفیز و سیستم ایمنی اثر گذاشته که به ترتیب باعث گلیکوئیز، اعمال خاصیت ضد ادراری، انقباض عروق، ترشح ACTH از کورتیکوترپین‌ها و همچنین اثر سینرژسم با CRH شده اما چگونگی اثر آن بر سیستم ایمنی ناشناخته است (۱۳). بنابراین وازوپرسین از طریق مسیرهای مذکور می‌تواند اثر خود را بر دام القاء کند. جالب توجه است که وازوپرسین در دوز فیزیولوژیک قادر به عبور از سد خونی-مغزی نیست زیرا این مانع دارای نفوذپذیری محدود است اما احتمالاً با افزایش میزان دوز، از این سد عبور کرده (۱) و کاهش میزان کورتیزول طی مکانیسم فیدبکی رخ داده است.

با استفاده از دوزهای متفاوت اکسی‌توسین، فقط دوز ۲۵۰ نانو مول، کاهش معنی داری در میزان ترشح کورتیزول ایجاد کرد. کورتیزول، به عنوان یک مارکر زیستی پاسخ به استرس شناخته شده است. لذا مشخص شده که در انسان‌ها، اکسی‌توسین در پایین آوردن واکنش به استرس از راه کاهش رهاسازی ACTH در پاسخ به رهاسازی CRH مؤثر بوده و در نتیجه باعث کاهش ترشح کورتیزول می‌شود (۱۰). حدود ۲-۱ درصد اکسی‌توسین محیطی تزریقی می‌تواند از سد خونی-مغزی عبور کرده و به سیستم عصبی-مرکزی رسیده و از این طریق بر ترشح ACTH اثر بگذارد (۱۱ و ۱۶). استفاده بلند مدت از اکسی‌توسین بر محور HPA تأثیر داشته و باعث افزایش تون عصب واگ شده و فعالیت‌های گوارشی، آنابولیکی و احساس آرامش را بالا می‌برد و این مهمترین اثر اکسی‌توسین است که می‌توان از آن به عنوان یک نمونه ضد استرس نام برد. اثر کوتاه مدت اکسی-توسین بر بخش آدرنال غده فوق کلیوی با ترشح کورتیزول همراه است (۱۶). لگروس و همکاران (۱۹۸۸) گزارش کردند که نه تنها اکسی‌توسین با منشأ نوروهیپوفیزی، بلکه با منشأ غدد فوق کلیوی می‌تواند بر ترشح گلوکوکورتیکوئیدها در سطح آدرنال هم تأثیر بگذارد. نتایج آزمایشات آنها نشان داد که تزریق اکسی‌توسین به گردش خون، در بخش آدرنال، باعث کاهش ترشح و سنتز کورتیزول در انسان‌های عادی می‌شود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تحت شرایط معین فیزیولوژیک اکسی-توسین ممکن است بر محور HPA اثر گذاشته و ترشح کورتیکوئیدها را تغییر دهد. نتایج نشان داد که فقط دوزهای بالای مناسب اکسی‌توسین در تحریک رهاسازی کورتیکوئیدها مؤثرند. لازم به ذکر است که این نتایج ممکن است به علت آثار محیطی اکسی‌توسین از جمله تأثیر بر مایومتریم و اندومتریم، تخمدان، کلیه، سیستم ایمنی و بافت‌های دیگر باشد که به ترتیب باعث انقباض ماهیچه صاف رحمی و کمک به زایش، ترشح پروستاگلاندین $F_2\alpha$ و لوتئولیز و استروئیدورژن در بافت تخمدان، دفع سدیم از کلیه، اما چگونگی اثر آن بر سیستم ایمنی ناشناخته است (۱۳).

به طور کلی با توجه به نتایج تحت شرایط این آزمایش با تزریق دوزهای متفاوت هیستامین تفاوت معنی داری در میزان ترشح کورتیزول مشاهده نشد. در حالی که در آزمایش هیروس و همکاران (۱۹۷۸) با تزریق درون رگی هیستامین به آدرنال سگ دریافتند که هیستامین به طور مستقیم باعث افزایش سطح کورتیزول می‌شود. عدم تأثیر هیستامین بر میزان ترشح کورتیزول می‌تواند به این دلیل باشد که در بافت‌های محیطی هیستامین در ماست سل‌ها و بازوفیل‌ها ذخیره شده و در طول واکنش‌های آلرژیک از سیستم ایمنی رها می‌شود در حالی که کورتیزول باعث سرکوب سیستم ایمنی می‌شود. از طرفی گوسفند به عنوان مدل نشخوارکننده بوده و یک گونه‌ای متفاوت از حیوانات آزمایشگاهی است و تحت تأثیر غلظت‌های



بالای آمین های بیوژنیک می باشد (۱۲) بنابراین دلیل دیگر می تواند مناسب نبودن دوز مصرفی جهت تحریک ترشح کورتیزول باشد.

منابع

- Hill, S. J. 1990. Distribution, properties and functional characteristics of three classes of histamine receptor. *Pharmacological Reviews*. 42: 45–83.
- Dale, H. D and P. D. Laidlaw. 1910. The physiological action of Beta-iminazolyl-ethylamine. *Journal of Physiology*. 41: 318–44
- Delmas, A., M. Leone, S. Rousseau, J. Albanese and C. Martin. 2005. Clinical review: Vasopressin and terlipressin in septic shock patients. *Critical Care* . 9:212-222.
- Du Vigneaud , V., C. Ressler and S. Trippett. 1953. The sequence of amino acids in oxytocin, with a proposal for the structure of oxytocin. *Journal of Biological Chemistry*. 205: 949–957.
- Gimple, G and F. Fahrenholz. 2001. The Oxytocin Receptor System: Structure, Function, and Regulation. *Physiological Reviews*. 81(2) 629-683.
- Hill S.J., C. R. Ganellin and H. Timmerman H.1997. International Union of Pharmacology. XIII. Classification of histamine receptors. *Pharmacological Reviews*. 49(3):253–78.
- Hirose, T., I. Matsumoto and T. Aikawa. 1978. Direct effect of histamine on cortisol and corticosterone production by isolated dog adrenal cells. *Endocrinology*. 76 :371-372.
- Legros, J. J., P. Chiodera and V. Geenen. 1988. Inhibitory action of exogenous oxytocin on plasma cortisol in normal human subjects: evidence of action at the adrenal level. *Neuroendocrinology*. 48: 204-206.
- Nakamura, T., H. Itadani, Y. Hidaka, M. Ohta and K. Tanaka. 2000. Molecular cloning and characterization of a new human histamine receptor, HH4R. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 279: 615-620.
- Page, S., V. Ang, R. Jackson, A. White, S. Nussey and J. Jenkins. 1990. The effect of oxytocin infusion on adenohipophyseal function in man. *Clinical Endocrinology*. 32(3) 307—314.
- Petersen, M. B. 2006. The effect of vasopressin and related compounds at V1a and V2 receptors in animal models relevant to human disease. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. 99:96 103.
- Rahmani, H. R and C. D. Ingram. 2007. Histamine controls food intake in sheep via H-1 receptors. *Small Ruminant Research*. 70(2-3) 110-115.
- Rahmani, H. R. 1997. Neurohypophyseal hormone receptors in the female ovine brain. PhD thesis, University of Bristol.
- Remco, F. P. de Winter., M. A. Van Hemert, H. R. De Rijk, M. V. Wiegant and J. G. Goekoop. 2003. Anxious-Retarded Depression: Relation with Plasma Vasopressin and Cortisol. *Neuropsychopharmacology*. 28: 140–147.
- Senn, M., P. M. Maier and W. Langhans. 1995. ACTH, cortisol and glucose responses after administration of vasopressin in cattle and sheep. *Journal of comparative physiology(B)*. 164: 570-578.
- Uvnas-Moberg K. 1998. Antistress Pattern Induced by Oxytocin. *News in Physiological Sciences*. 13: 22-26.



17. Young, W. S and H. Gainer. 2003. Transgenesis and the study of expression, cellular targeting and function of oxytocin, vasopressin and their receptors. *Neuroendocrinology*. 78(4): 185-203.

Peripheral effects of vasopressin, oxytocin and histamine on cortisol secretion in sheep

Zahra Vafaie saadi*, Hamidreza Rahmani, Mohammad Khorvash, Mohammad ali Edriss
Department of Animal Sciences, College of Agriculture, Isfahan University of Technology,
Isfahan 84156-83111, Iran

* Corresponding E-mail address: z.vafaiesaaadi@ag.iut.ac.ir

Abstract

In this study, peripheral effects of oxytocin, vasopressin and histamine examined on a steroid hormone. Four female sheep were intravenously injected by 0, 125, 250 and 500 nano Mol of the vasopressin, oxytocin and histamine. Each sheep was individually injected for four days and the blood samples were collected via jugular vein three hours later. The lab test, measured cortisol hormone. Results showed that vasopressin increased cortisol level at 125 nM significantly ($p < 0.05$) and interestingly reduced this steroid at 250 and 500 nM ($p < 0.01$). In spite of the similarity of molecules oxytocin did not affect the cortisol secretion except at 250 nM ($p < 0.05$). Finally, injection of histamine did not change cortisol level at any dosages. It might be concluded which posterior pituitary hormones may act peripherally on different steroid secretion including cortisol, which related to dosage. In addition this effect of histamine on the cortisol secretion might consecutive of its short half-life and absence of organ receptors peripherally.

Keywords: vasopressin- oxytocin-histamine-cortisol



بررسی میزان گیرنده‌های IGF-I و انسولین در سلول‌های گرانولوزا و تکا به روش ایمونوهیستوشیمی
بهاره اعتصام*، حمیدرضا رحمانی، محمد خوروش، سعید انصاری مهیاری و سید حمید زرکش اصفهانی
دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

* نویسنده مسئول: بهاره اعتصام bahareetesam@gmail.com

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، کدپستی ۸۴۱۵۶-۸۳۱۱۱، اصفهان، ایران

چکیده:

در این مطالعه، ما به بررسی و مقایسه این گیرنده‌ها در سلول‌های تخمدان گاوهای بارور و نابارور، با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی می‌پردازیم. در این آزمایش، ۳۰ عدد تخمدان گاو شیری از کشتارگاه‌های متعددی جمع آوری شده که ۲۰ عدد از آنها مربوط به گاوهای نابارور و ۱۰ عدد متعلق به گاوهای بارور در دامنه سنی ۲ تا ۷ سال بودند. تخمدان‌ها در فرمالین فیکس شده و رنگ آمیزی H&E و ایمونوهیستوشیمی با آنتی بادی منوکلونال خرگوشی، روی نمونه‌ها انجام گردید. نتایج مطابق سیستم اسکوربندی هشت واحدی Allred و براساس شدت و وسعت رنگ آمیزی تفسیر شده است. این نتایج نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری هم به لحاظ شدت رنگ پذیری و هم از نظر وسعت رنگ پذیری بین میزان گیرنده‌ها در بافت تخمدان گاوهای بارور و نابارور می‌باشد ($p < 0.001$). وسعت رنگ آمیزی در سلول‌های تکا به مراتب بیشتر از سلول‌های گرانولوزا بود. در پایان می‌توان نتیجه گرفت حضور گیرنده هورمون‌های انسولین و IGF-I در سلول‌های تخمدان بیانگر تأثیر شرایط متابولیکی دام بر عملکرد تخمدان است؛ بنابراین میزان گیرنده‌های موجود از این هورمون‌ها در بافت تخمدان و اطراف اووسیت یکی از شاخص‌های باروری و ناباروری به شمار می‌آید. کلید واژه: گاو شیری، انسولین، IGF-I، گیرنده انسولین و IGF-I، ایمونوهیستوشیمی

مقدمه:

حذف یک گاو می‌تواند به دلایل مختلف مثل سن، مرحله شیردهی، تولید، وضعیت سلامتی، توان تولید مثل و عوامل اقتصادی باشد. بیشترین درصد حذف در گاوداری‌های صنعتی مربوط به عدم باروری و مشکلات تولید مثلی گزارش شده است. یکی از علل آسیب‌های بافت تخمدانی، بالانس منفی انرژی می‌باشد و در این ارتباط گیرنده‌های IGF و انسولین به عنوان شاخص‌های بافتی در معرض خطرند. انسولین، هورمونی است که اثر خود را بر تولید مثل هم به صورت مستقیم و هم غیر مستقیم اعمال می‌کند. انسولین اثر خود را از طریق گیرنده‌های غشایی اعمال می‌کند. گیرنده انسولین از نوع تیروزین کینازی است. گیرنده‌های انسولین در انواع سلولهای تخمدانی وجود دارد. سلولهای گرانولوزا، تیکا، جسم زرد و سلولهای پوششی سطح تخمدان دارای این گیرنده‌ها هستند [۱]. IGF نیز یک هورمون آنابولیک قوی است که عمدتاً توسط کبد و همچنین سایر بافت‌های محیطی با تحریک هورمون رشد آزاد می‌شود و مسئول بسیاری از اثرات آنابولیک هورمون رشد می‌باشد. این هورمون نیز به مانند انسولین هم به صورت اندوکراین و هم اتوکراین در فعالیت تولیدمثلی دخالت دارد. گیرنده‌های این هورمون نیز مانند گیرنده‌های انسولین در سطح سلولهای مختلف تخمدان قابل مشاهده هستند [۴]. بنا بر آنچه گفته شد مشاهده و تخمین تعداد گیرنده‌های IGF و انسولین توسط روش‌هایی مانند ایمونوهیستوشیمی می‌تواند به اهمیت نقش این دو هورمون در تولید مثل کمک کند.

مواد و روشها

در پژوهش حاضر، هر دو تخمدان گاو هلشتاین بلافاصله بعد از کشتار از کشتارگاه‌های محلی جمع آوری گردید. گاوها در دامنه سنی ۲ تا ۷ سال بودند. ۳۰ جفت تخمدان جمع آوری شد که ۲۰ جفت مربوط به گاوهای نابارور و ۱۰ جفت

مربوط به گاوهای بارور بودند. تخمدان‌های جمع آوری شده، اعم از فعال یا غیر فعال، پس از انتقال به آزمایشگاه، در اندازه-های ۲-۳ میلیمتر برش داده شد. سپس از هر نمونه، بلوک‌های پارافینی مناسب جهت بررسی ایمونوهیستوشیمی، تهیه شدند. این بلوک‌ها جهت رنگ آمیزی H&E و ایمونوهیستوشیمی به قطر ۳-۴ میکرومتر برش مجدد خورده و بر روی لام پلی لایزین قرار گرفتند.

در این تحقیق، ایمونوهیستوشیمی با روش Envision انجام شد. در پایان تفسیر نمونه‌های رنگ آمیزی شده با IGF-I توسط اسکوربندی هشت واحدی Allred انجام شد [۳]. آنتی بادی به کار رفته یک آنتی بادی منوکلونال خرگوشی برای گیرنده IGF-I است که با گیرنده انسولین و پروتئین‌های مرتبط با گیرنده انسولین واکنش متقابل دارد. سیستم اسکور بندی هشت واحدی Allred:

این سیستم براساس شدت و وسعت رنگ آمیزی به این صورت تفسیر می‌گردد:
شدت رنگ‌پذیری از صفر تا ۳ به صورت: صفر (0)، ضعیف (1)، متوسط (2)، شدید (3).
وسعت رنگ‌پذیری از صفر تا ۵ که بر مطابق جدول زیر از ضعیف تا عالی را در بر می‌گیرد:

Proportion Score	$\frac{1}{100} <$	$\frac{1}{10}$ تا $\frac{1}{100}$	$\frac{1}{3}$ تا $\frac{1}{10}$	$\frac{1}{3}$ تا $\frac{2}{3}$	$< \frac{1}{3}$
درجه ۱ (ضعیف)	درجه ۲	درجه ۳	درجه ۴	درجه ۵ (عالی)	
وسعت رنگ پذیری					

نتایج

در مطالعه‌ای که توسط ژو و همکاران در سال ۱۹۹۱ انجام شد، سطوح بالای IGF-I و بیان ژن گیرنده آن در سلول‌های گرانولوزا و فولیکول‌های در حال رشد نشان می‌دهد که IGF-I در سلول‌های گرانولوزا نقش مهمی در تکامل و رشد اووسیت و فولیکول دارند [۵]. در مطالعه ال‌روی و همکاران (۱۹۹۳) mRNA گیرنده انسولین به طور گسترده‌ای در تمامی انواع سلول‌های تخمدان تشخیص داده شده است [۲]. نتایج مطالعه بوسارت و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد تراکم گیرنده انسولین در فولیکول‌های کوچک بیشتر از فولیکول‌های بزرگ و غالب است [۱].

با توجه یافته‌های این تحقیق، هم برای شدت رنگ آمیزی و هم برای وسعت رنگ آمیزی، از لحاظ آماری اختلاف معنی داری میان گاوهای بارور و نابارور وجود دارد. شدت رنگ آمیزی بطور قابل توجهی در سلول‌های گرانولوزا در مقایسه با تکا بالا بود، ولی از آنجاییکه سلول‌های تکا فضای بیشتری از نظر ابعادی از فولیکول را اشغال می‌کنند، لذا کمربند سلول‌های تکا اگرچه کم‌رنگ‌تر به نظر می‌رسد، ولی حجم و تراکم بیشتری را به خود اختصاص داده است؛ به همین جهت وسعت رنگ آمیزی در سلول‌های تکا بیشتر است. شدت رنگ آمیزی در سلول‌های گرانولوزا در ناحیه خارجی سلول‌ها و بیشتر نزدیک غشاء پایه متمرکز است که بازتاب حضور گیرنده‌ها را در این ناحیه مشخص می‌کند. فاصله نسبتاً کم رنگ و یا بی رنگی (Pale) که در بین سلول‌های گرانولوزا و تکا قابل مشاهده است، حاکی از عدم حضور فعالیت آنتی بادی مربوطه در این زمینه می‌باشد. نتایج این مطالعه در جدول‌های ۱-۱ و ۲-۱ و شکل‌های مترادف ۱-۱ و ۲-۱ به شرح ذیل ذکر شده است:

جدول ۱-۱. میزان گیرنده‌های IGF-I و انسولین در سلول‌های گرانولوزای گاوهای بارور و نابارور و مقایسه دانسیتمتری تراکم رنگ

وضعیت رنگ آمیزی	گاوهای بارور n=۱۰	گاوهای نابارور n=۲۰	P value
شدت رنگ آمیزی	۳/۰۰±۰/۱۳	۱/۵۸±۰/۰۹۵	۰/۰۰۰۱

۰/۰۰۰۱

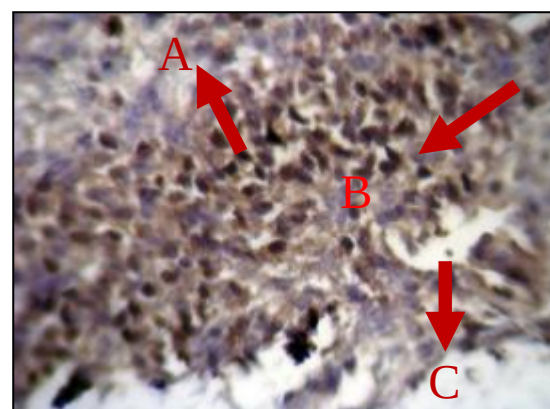
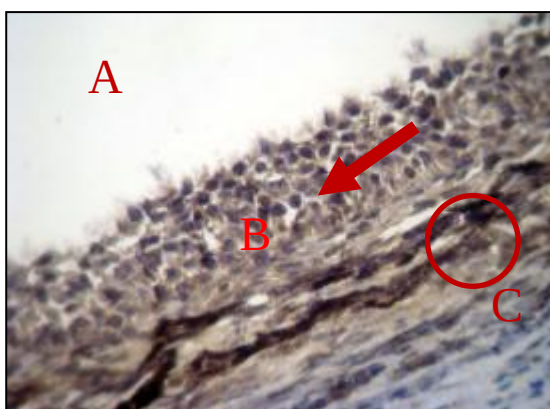
۲/۷±۰/۲۶

۴/۶±۰/۳۵

وسعت رنگ آمیزی

جدول ۱-۲. میزان گیرنده‌های IGF-I و انسولین در سلول‌های تکای گاوهای بارور و نابارور و مقایسه دانسیتمتری تراکم رنگ

وضعیت رنگ آمیزی	گاوهای بارور n=۱۰	گاوهای نابارور n=۲۰	P value
شدت رنگ آمیزی	۲/۶±۰/۱۶	۱/۵۷±۰/۱۲	۰/۰۰۰۱
وسعت رنگ آمیزی	۴/۴±۰/۳۸	۲/۴۷±۰/۲۸	۰/۰۰۰۱



شکل ۱-۲. (بزرگنمایی: ۲۰۰×) سلول‌های تکا با تراکم رنگ پذیری بیشتری و وجود آنها در قطر بیرونی فولیکول A آنتروم مجموعاً گیرنده بالاتری را به خود اختصاص می‌دهند.

A: آنتروم، B: سلول گرانولوزا، C: سلول تکا

نتایج مطالعه حاضر مبنی بر افزایش معنی دار میزان پراکندگی و تراکم گیرنده‌های IGF-I و انسولین در سلول‌های گرانولوزا و تکا و نیز افزایش گیرنده‌ها در سلول‌های تخمدانی گاوهای بارور در مقایسه با گاوهای نابارور به طور کامل با نتیجه مطالعات ژو و همکاران (۱۹۹۱)، ال‌روی و همکاران (۱۹۹۳) و بوسارت و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت داشت.

منابع

- [1] Bossaert P., De Cock H., Leroy J.L.M.R., De Campeneere S., Bols P.E.J., Filliers M. and Opsomer G., "Immunohistochemical visualization of insulin receptors in formalin-fixed bovine ovaries post mortem and in granulosa cells collected in vivo", The Journal of Theriogenology, No.73, pp.1210-1219, 2010.
- [2] el-Roeiy A, Chen X, Roberts VJ, LeRoith D, Roberts CT Jr and Yen SS., "Expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-II and the IGF-I, IGF-II, and insulin receptor genes and localization of the gene products in the human ovary.", The Journal of Clinical Endocrinology and metabolism, vol. 77, No. 5, pp. 1411-1418, 1993.
- [3] Mohammadi Sichani M., Sarreshtedar Yazdi F., Afshar Moghaddam N., Chehrei A., Kabiri M., Naeimi A., Taheri D., "Prognostic value of insulin-like growth factor-I receptor expression in renal cell in Carcinoma.", Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation., vol. 21, No. 1, pp. 69-74, 2010.



- [4] Perks C.M., Peters A.R. and Wathes D.C., "Follicular and luteal expression of insulin-like growth factors I and II and the type 1 IGF receptor in bovine ovary", The Journal of Reproduction and Fertility., No.116, pp. 157-165, 1999.
- [5] Zhou J., Chin E. and Bondy C., "Cellular Pattern of Insulin-Like Growth Factor-I (IGF-I) and IGF-I Receptor Gene Expression in the Developing and Mature Ovarian Follicle", The Journal of Endocrinology, vol. 129, No. 6, pp. 3281-3288, 1991.

Immunohistochemical Study on the IGF-I and Insulin Receptors Density in Granulosa and Theca Cells

B. Etesam*, H.R. Rahmani, M. Khorvash, S. Ansari Mahyari, H. Zarkesh Esfahani

* Corresponding E-mail address: bahareetesam@gmail.com

Department of Animal Sciences, College of Agriculture, Isfahan University of Technology
Postal Code: Isfahan, 84156-83111, Iran

Abstract:

Here, we studied and compared the density of these receptors in ovary cells of fertile and non-fertile cattle via immunohistochemical technique. In this study, 30 ovaries of dairy cattle (20 ovaries from non-fertile, 10 ovaries from fertile) were collected from several slaughterhouses aging 2-7 years old. The ovaries have been fixed with formalin, then the samples were stained in immunohistochemical and H&E method. Based on the intensity and expanse of staining method, the results have been expounded in the Allred 8-units scored system. The results revealed considerable statistical differences both in intensity and expanse of staining in density of receptors in ovary tissues of fertile and non-fertile dairy cattle ($p < 0.0001$). Staining expanse was notably higher in theca cells than granulosa cells. Finally, we can conclude that the presence of the receptors of Insulin and IGF-I hormones in ovarian cells demonstrates the effect of metabolic conditions of cattles on ovary activities; so the density of these hormone receptors in ovarian tissue and around oocyte could be consider as one of fertile or non-fertile indices.

Keywords: Dairy cattle, Insulin, IGF-I, Insulin and IGF-I receptors, Immunohistochemistry.



تأثیر غلظتهای مختلف از کوثرسیتین بر پارامترهای اسپرمی در بز مرخز
 *احسان شهبازی فر، یوسف جعفری آهنگری^۱، سید رضا هاشمی^۲، فیروز صمدی^۳
 گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان^{۱،۲،۳،۴}
 EShahbazi60@hotmail.com*

چکیده

متابولیت های اکسیژن، ROS، بعنوان عامل ایجاد عقیمی در اسپرمها مورد توجه قرار گرفته است. در پژوهش حاضر، اثرات غلظتهای متفاوت از آنتی اکسیدان کوثرسیتین (۲۰۰-۳۰۰ میکرومولار)، بر ساختار غشاء، واکنش آکروزومی و درصد سلولهای اسپرم زنده بز مرخز در محیطهای حاوی یونهای آهن دوظرفیتی، به عنوان محرک پراکسیداسیون چربیها بررسی گردید. پراکسیداسیون چربیها به عنوان یکی از نتایج هجوم ROS به غشاهای زیستی مطرح بوده که ضمن آسیب رسانی به استحکام غشاء، موجب غیر فعال شدن آنزیمهای غشایی موثر در تحرک و فعالیت اسپرمها نیز می شود. نتایج این پژوهش نشان داد، کوثرسیتین در غلظت های کمتر از ۱۰۰۰ میکرومولار سبب محافظت از سلولها در مقابل آسیبهای ناشی از رادیکالهای آزاد محیط می شود که نتیجه آن بهبود وضعیت استحکامی غشاء، افزایش واکنشهای آکروزومی، و نیز بالا رفتن درصد اسپرمهای زنده در محیط است. همچنین اضافه سازی این محدوده غلظت کوثرسیتین باعث کاهش معنی دار میزان MDA (ب عنوان یکی از محصولات نهایی روند پراکسیداسیون چربیها) محیط می گردد. از سوی دیگر، کوثرسیتین در محدوده غلظتی ۱۰۰۰ میکرومولار و بیشتر از آن نه تنها نقش حفاظتی و آنتی اکسیدانی نداشته بلکه ضمن ایجاد کمپلکس با یون های آهن، به عنوان یک پرواکسیداسیون عمل نموده و موجب بروز آسیب های فراوان در ساختار غشاء (با افزایش میزان MDA محیط)، و کاهش درصد واکنشهای آکروزومی و اسپرمهای زنده می شود. محققین با عنایت به این رویکرد منفی کوثرسیتین، می بایست در زمینه هایی نظیر کشت، نگهداری و ذخیره سازی سلولهای جنسی، بطور جدی این مسئله را مد نظر داشته تا اثرات مخرب آنرا در سیستمهای زیستی به حداقل رسانند.

واژه های کلیدی:

اسپرم بز مرخز - کوثرسیتین - پراکسیداسیون - واکنش آکروزومی - MDA.

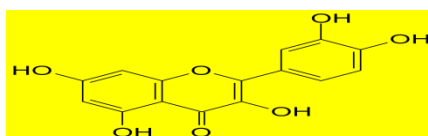
مقدمه

متابولیت های اکسیژن مولکولی نظیر رادیکال هیدروکسیل و آنیون سوپراکسید قادرند با تاثیر منفی بر اعمال و ساختار سلولها، بقاء موجودات زنده را در معرض خطر قرار دهند و بعنوان یکی از عوامل ناباروری در مردان شناخته شوند (۱،۳). این متابولیتها از یک طرف جهت انجام برخی روندهای طبیعی نظیر واکنش آکروزومی اسپرمها ضروری بوده و از طرفی دیگر با افزایش غلظت آن در محیط، موسوم به استرس اکسیداتیو، موجب مهار قدرت تحرک و نیز تغییر در شکل ظاهری این سلولها می شود. بدین ترتیب درصدهای متفاوتی از ناباروری را ایجاد می نماید.

یکی از تظاهرات مهم استرس اکسیداتیو در سلولها، پراکسیداسیون چربی غشایی می باشد. LPO یک پدیده پیچیده فیزیولوژیکی بوده و در تمامی سلولهای غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع، رخ می دهد و شامل مجموعه ای از واکنشها مانند تخریب و تشکیل مجدد پیوندهای دوگانه در ساختار آنها می باشد. روند LPO موجب تخریب ساختار غشاء، کاهش قدرت تحرک مهار فعالیت های آنزیمی، و ایجاد شکستگی های متعدد در DNA سلولهای اسپرم شده، که حاصل آنها ایجاد ناباروری می باشد (۱،۳،۶،۵،۴،۱۳). آنتی اکسیدانها ترکیباتی هستند که با جمع آوری ROS از محیط، موجب خنثی سازی و حذف آنان از درون و برون سلولها می شوند. سلولهای اسپرم در طی اسپرماتوژنز، حجم زیادی از سیتوپلاسم و آنتی

اکسیدانهای خود را از دست می دهند، و بدین ترتیب در مقابل روند پراکسیداسیون سلولی حساس می گردند (۲۴). امروزه استراتژی کاربرد آنتی اکسیدانها در راستای کاهش اثراکسیدان و رفع صدمات وارده به سلول، مد نظر محققان قرار گرفته است.

کوئرسیتین به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی که به تازگی مورد توجه متخصصان تولید مثل قرار گرفته است، از دسته فلاونوئیدها بوده که دارای ساختار آروماتیک هتروسایکلیک می باشد که اثر بخشی آن به عنوان آنتی اکسیدان به اثبات رسیده است. بیشتر خاصیت آنتی اکسیدانی این ماده به دلیل حضور ترکیبات فنلی بسیار قوی در آن می باشد.



Quercetin

هدف از انجام این پژوهش مطالعه اثر غلظتهای متفاوت کوئرسیتین در محیطهای حاوی سلولهای اسپرم بز مرخز تیمار شده با عامل القاء (پروموتر) LPO (محلول ۰/۲ میلی مولار سولفات آهن یا Feso4) می باشد که نتایج آن با سنجش میزان LPO جهت بررسی ساختار غشاء اسپرم، هضم ژلاتین جهت تعیین در صد سلولهای اسپرم واجد واکنش آکروزومی و رنگ آمیزی با اتوزین جهت بررسی تعداد اسپرمهای زنده و فعال در بررسی ناباروری اسپرم مورد استفاده قرار گرفت. مواد و روشها:

۱ - آماده سازی محلولها و نمونه های اسپرمی: پژوهش حاضر بصورت *In vitro* بر روی سلولهای اسپرم بز از نژاد مرخز انجام شد. نه نمونه اسپرمی (مایع منی خالص بدون ترکیبات نگهدارنده) از بزهای مرخز فارم تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان گرفته شده و نمونه های مذکور به سرعت و در یک فلاسک حاوی یخ، به محل آزمایشگاه فیزیولوژی دام دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی گرگان منتقل شد و پس از شستشو با محلول رینگر تایرود، دوبار سانتریفیوژ (۵۰۰ xg، هربار به مدت ۱۰ دقیقه) تا پلاسمای منی از سلولهای اسپرم بطور کامل جدا گردد. رسوب اسپرمی در مقدار کمی محلول رینگر حل شد و در مراحل بعدی آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

۲ - اندازه گیری میزان LPO : براساس روش Ohkawa و همکارانش (۱۲) انجام گرفت. در این روش پس از انکوباسیون نمونه ها به مدت ۹۰ دقیقه در نهایت میزان تولید اسید تیوباریتیوریک با اجسام واکنش دهنده از جمله مالون دی آلدهاید MDA که در حدود ۵۰ درصد از مقدار TBARS را شامل می شود، در محیط حاوی نمونه اسپرمی و در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری شد. مخلوط واکنش شامل نمونه اسپرمی، سولفات دودسیل سدیم، اسید استیک خالص، محلول ۱/۲ درصد TBA، با یا بدون یونهای فلزی و کوئرسیتین می باشد. پس از حرارت دادن این مخلوط، ۳ میلی لیتر از محلول آن بوتانول به اضافه پیریدین به آن افزوده و نهایتاً، پس از سانتریفیوژ، میزان جذب نوری محلول فوقانی با اسپکتروفوتومتر مورد سنجش قرار گرفت.

۳ - اندازه گیری پروتئین نمونه های اسپرمی: مقدار پروتئین نمونه ها به عنوان یکی از پارامترهای لازم جهت محاسبه میزان فعالیت ویژه MDA می باشد که با اندازه گیری جذب نوری نمونه ها با استفاده از سولفات دودسیل سدیم در طول موج ۷۵۰ نانومتر بوسیله اسپکتروفوتومتر انجام و مقدار پروتئین نمونه ها محاسبه شد (۷).

۴ - آزمایش اثوزین: بمنظور تعیین درصد تعداد سلولهای اسپرم زنده و غیر زنده طی ۹۰ دقیقه انکوباسیون، از روش رنگ آمیزی با اثوزین استفاده گردید. تعداد ۴۰۰ عدد اسپرم توسط میکروسکوپ نوری معمولی بر روی هر لام شمارش گردید. اسپرمهای زنده فاقد خاصیت رنگ پذیری بوده و در مقابل اسپرمهای غیر زنده (بدون تحرک) به رنگ قرمز تا صورتی مشاهده شدند (۹).

بررسی واکنش اکروزومی: تعیین در صد واکنشهای اکروزومی با استفاده از روش آزمایش هضم زلاتین انجام شد (۱۵). در این روش لام ها به مدت ۲ ساعت با الکل شستشو و در یخچال نگهداری شد. سپس یک لایه نازک به قطر (۱۰۰ میکرولیتر) از محلول ژلاتین ۲/۵ درصد بر روی آن گسترش داده شد. در مرحله بعد با قرار دادن لامها به مدت سه دقیقه در محلول ۰,۰۵ درصد گلو تار آلدئید، تثبیت گردیدند. جهت حذف مازاد گلو تار آلدئید لامها با آب مقطر شسته شده و بمدت ۱۲ ساعت در یخچال نگهداری و سپس ۵۰ میکرولیتر از نمونه های اسپرمی (تیمارشده با آهن و کوئرسیتین به صورت مجزا و یا با هم، و نیز گروه شاهد یا بدون تیمار بصورت مجزا) به سطح آنها اضافه گردید. لامها به مدت ۲۴ ساعت در درون یک اتاقک مرطوب با دمای ۳۹ درجه سانتی گراد نگهداری شد. بعد از این مدت، لامها با رنگ کوماسی آبی رنگ آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری معمولی (بزرگنمایی ۴۰۰) مورد بررسی قرار گرفت. سلولهای اسپرم واجد هاله (محل هضم ژلاتین که در اطراف سر اسپرمها در نتیجه واکنش اکروزومی پدید می آید) و نیز سلولهای بدون هاله شمارش و ثبت گردید. در صورتیکه بیش از ۵۰ درصد سلولها واجد هاله باشند، می توان نتیجه گیری نمود که عملکرد سلولهای آن نمونه در جهت انجام واکنش اکروزومی طبیعی بوده است. روش تجزیه و تحلیل آماری: در هر آزمایش، میانگین گروه های تیمار شده با گروه شاهد به کمک روش Students t-test و توسط نرم افزار SAS مقایسه گردید (۱۰).

نتایج :

نتایج حاصل از سنجش میزان LPO، نشان می دهد که اضافه نمودن پروموتور LPO به نمونه های اسپرم بز مرخز منجر به افزایش معنی دار در گسترش LPO یا تولید MDA می گردد. این میزان افزایش وابسته به زمان بوده و سیر صعودی بخود می گیرد بطوریکه پس از سه ساعت انکوباسیون (در حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد) این افزایش بمیزان ۶۹/۲۳ درصد ($p < 0/001$) نسبت به مقدار MDA گروه شاهد منفی (بدون آهن و کوئرسیتین، در زمان صفر از انکوباسیون) بود. اضافه کردن غلظتهای ۳۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار کوئرسیتین به محیط فوق موجب کاهش معنی داری در میزان MDA تولید شده گردید، بطوریکه میزان کاهش در غلظت ۵۰۰ میکرومولار کوئرسیتین سه ساعت پس از شروع انکوباسیون در حد ۲۴/۲۵ درصد ($p < 0/001$) بود.

جالب توجه آنکه، اضافه کردن غلظتهای بیشتر کوئرسیتین (۱۰۰۰-۲۰۰۰ میکرومولار) به محیط واکنش، نه تنها موجب کاهش روند پراکسیداسیون نگردید بلکه موجب افزایش فزاینده ای در غلظت MDA شد، بطوریکه این افزایش (نسبت به شاهد مربوطه) در غلظت ۲۰۰۰ میکرومولار به ۷۶/۹۳ درصد ($p < 0/001$) رسید. درصد اسپرمهای زنده و فعال بز مرخز طی دوره سه ساعته انکوباسیون با یونهای آهن (پروموتور LPO)، بشدت کاهش یافت بطوریکه پس از دوره انکوباسیون، تعداد اسپرمهای زنده محیط به ۴۲/۸۶ درصد در مقایسه با شاهد منفی رسید در حضور غلظتهای کم کوئرسیتین (۳۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار)، درصد اسپرمهای زنده در مقایسه با گروه شاهد مربوطه (در هر زمان از انکوباسیون) افزایش یافت. این میزان افزایش در غلظت ۵۰۰ میکرومولار کوئرسیتین و در سومین ساعت از انکوباسیون بمیزان ۳۲/۵۱ درصد ($p < 0/001$) بود.



در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار و بالاتر کوثرسیتین، درصد اسپرمهای زنده محیط بشدت کاهش یافت. در بالاترین غلظت کوثرسیتین و در آخرین ساعت از انکوباسیون، این میزان کاهش در گروههای تیمار یافته نسبت به گروه شاهد منفی به ۵۱/۴۳ درصد ($p < 0/001$) رسید. آزمایش واکنش آکروموزومی با هضم ژلاتین نشان داد که در گروه شاهد منفی میزان واکنشهای آکروموزومی اسپرمهای بز مرخز ۶۲ درصد است. افزودن یونهای آهن به نمونه های اسپرم بز مرخز موجب کاهش معنی داری (۱۶/۱۴ درصد، $p < 0/05$ ، نسبت به شاهد منفی) تعداد اسپرمهای واجد واکنش آکروموزومی (درصد هاله ها) در انتهای زمان انکوباسیون گردید. در این بخش نیز الگوی عمل کوثرسیتین مشابه با دو آزمایش قبل بود بدین معنی که کوثرسیتین در غلظت های تا ۵۰۰ میکرومولار موجب افزایش تعداد هاله ها، و در غلظتهای بالاتر از ۱۰۰۰ میکرومولار نقش پرواکسیدانی داشته و کاهش دهنده تعداد هاله ها (مهار کننده واکنش آکروموزومی) است. استفاده از ۲۰۰۰ میکرومولار کوثرسیتین موجب کاهش درصد هاله ها تا میزان ۲۳ درصد در مقایسه با شاهد منفی پس از انکوباسیون گردید.

بحث و نتیجه گیری :

از جمله مباحث روز در علم فیزیولوژی تولید مثل حیوانات، تاثیر عوامل محیطی بر میزان باروری می باشد. تجمع عوامل محیطی سمی در بدن حیوانات یکی از مهمترین علل عقیمی محسوب می شود. در بدن حیوانات رادیکالهای آزاد اکسیژن در بروز حالات پاتولوژیک بطور اعم و در ایجاد عقیمی به طور اخص، دخالت مستقیم دارند. در پژوهش حاضر، کوثرسیتین به عنوان یک آنتی اکسیدان مهم و بسیار فعال، در محدوده غلظتی خاص از ۳۰۰ تا ۲۰۰۰ میکرومولار مورد استفاده قرار گرفت. هدف اصلی از این طرح ارزیابی اثرات آنتی اکسیدانی کوثرسیتین بر برخی از خصوصیات عملکردی سلولهای اسپرم بز مرخز در طی روند پراکسیداسیون القاء شده توسط سولفات آهن (پروموتور LPO) بود. براساس داده های حاصل از آزمایش های انجام شده و همانگونه که انتظار می رفت، افزودن یونهای آهن، بصورت وابسته به زمان موجب افزایش معنی دار میزان تولید MDA محیط گردید.

کوثرسیتین در غلظت کمتر از ۵۰۰ میکرومولار و کمتر از آن باعث مهار گسترش پراکسیداسیون چربیهای غشایی اسپرمهای بز مرخز شد. در واقع می توان اینگونه نتیجه گیری کرد که نقش کوثرسیتین در بهبود باروری، ناشی از نقش آن در جمع آوری و خنثی سازی رادیکالهای آزاد بویژه رادیکالهای پروکسیل از محیط زیست اسپرمها و در نتیجه پایان دادن به روند پراکسیداسیون سلولی است که این خواص در غلظت ۵۰۰ میکرومولار به حداکثر خود خواهد رسید.

در این مطالعه، درصد اسپرمهای با واکنش آکروموزومی در گروههای تیمار شده با آهن بمقدار زیاد کاهش یافت بنابراین استراتژی کاربرد مواد آنتی اکسیدانی در جهت بهبود هرچه بیشتر وضعیت استحکام غشاء اسپرمها بعنوان یک امر ضروری، مورد نظر پژوهشگران این حوزه قرار گرفته است (۱۱). کوثرسیتین با توان آنتی اکسیدانی خود موجب خنثی شدن اثرات سوء آهن بر رویدادهای سلولی شروع کننده واکنش آکروموزومی می شود اما در غلظتهای بالاتر (بالای ۵۰۰ میکرومولار) این روند معکوس شده و شمار اسپرمهای فاقد واکنش آکروموزومی روی لامهای ژلاتین دار افزایش می یابد. در مجموع، کوثرسیتین در غلظت های مختلف اثرات متفاوتی داشته و محققین با عنایت به این رویکرد منفی کوثرسیتین، می بایست آنرا در زمینه هایی نظیر نگهداری و ذخیره سازی سلول های جنسی، بطور جدی مد نظر قرار دهد تا اثرات مخرب آنرا در سیستمهای زیستی به حداقل رساند.

منابع:

1. Aboagla, E.M.E., and Terada, T. 2004. Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. Theriogenology. 62:1160-1172.



2. Amoah, E.A., and Gelaye, S. 1997. Biotechnological advances in goat reproduction. *J. Anim. Sci.* 75:578-585.
3. Biswas, D., Bari, F.Y., Shamsuddin, M., Rahman, M.M., and Rahman, M.M. 2002. Determination of glycerol percentages for preserving the Black Bengal buck (*Capra hircus*) spermatozoa for long time. *Pakistan j. Bio. Sci.* 5:715-718.
4. Cabrera, F., Gonzalez, F., Batista, M., Calero, P., Medrano, A., and Gracia, A. 2005. The effect of removal of seminal plasma, egg yolk level and season on sperm freezability of Canary buck. *Reprod. Dom. Anim.* 40:191-195.
5. Evans, G., and Maxwell, W.M.S. 1987. Salamon's artificial insemination of sheep and goat. Butterworth. Co.ltd. P:523.
6. Farshad, A., and Holtz, W., 1993. The cryopreservation of goat semen under special consideration of sucrose. DGZF. Goettingen, Germany.
7. La Falci, V.S.N., Tortorella, H., Rodrigues, J.L., and Brandelli, A. 2002. Seasonal variation of goat seminal plasma proteins. *Theriogenology*. 57:1035-1048.
8. Leboeuf, B., Restall, B., and Salamon, S. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 62:113-141.
9. Santiago-Moreno, J., Toledano-Diaz, A., Pulido-Pastor, A., Dorado, J., Gomez-Brunet, A., and Lopez-Sebastian, A. 2006. Effect of egg yolk concentration on cryopreserving Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) epididymal spermatozoa. *Theriogenology*. 66:1219-1226.
10. SAS Institute Inc. 2001, SAS® Proprietary Software Release 8.1. SAS Institute Inc., Cary.
11. Funahashi, H., and Sano, T. 2005. Selected antioxidants improve the function of extender boar semen stored at 10 degree C. *Theriogenology*. 63:1605-1616.
12. JafariAhangari, Y. 1996. An investigation on the effect of various buffers (Tris, Citrate and Skimmed milk) on ram semen motility and survival characteristics in liquid storage. Final report of Research Plan. Animal Science Research Institute. 37p.
13. Kankofer, M., Kolm, G., Aurich, J., and Aurich, C. 2005. Activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase and lipid peroxidation intensity in stallion semen during storage at 5 degree C. *Theriogenology*. 63:1354-1365
14. Salamon, S., and Maxwell, W.M.C. 2000. Storage of ram semen. *Anim. Reprod. Sci.* 62:77-111.



15. Sarlos, P., Molnar, A., Kokai, M., Gabor, G., and Ratkey, J. 2002. Comparative evaluation of the effect of antioxidants in the conservation of ram semen. *Acta. Vet. Hun.* 50:235-245
16. Smith, R., Vantman, D., Ponce, J., Escobar, J., and Lissi, E. 1996. Total antioxidant capacity of human sperm. *Hum. Reprod.* 11:1655-1660.
17. Sonmez, M., and Demirci, E. 2004. The effect of ascorbic acid on the freezability of ram semen diluted with extenders containing different proportions of glycerol. *Turk. J. Anim. Sci.* 28:893-899.
18. Sreejith, J.N., Brar, A.S., Ahuja, C.S., and Sangha, S.P.S. 2006. A comparative study on lipid peroxidation activities of antioxidant enzymes and viability of cattle and buffalo bull spermatozoa during storage at refrigeration temperature. *Anim. Reprod. Sci.* 96:21-29
19. Upreti, G.C., Jensen, K., Oliver, J.E., Duganzich, D.M., and Munday, R. 1997. Motility of ram spermatozoa during storage in chemically defined diluent containing antioxidants. *Anim. Reprod. Sci.* 48:269-278.
20. Yamamoto, Y., and Omori, M. 1994. Antioxidative activity of egg yolk lipoproteins. *Biosci. Biothech. Biochem.* 58:1711-1730.
21. Yousef, M.I., Abdollad, G.A., and Kamel, K.I. 2003. Effect of ascorbic acid and vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. *Anim. Reprod. Sci. Reprod.* 76:99-111.

The Concentration Effect of Quercetin on Sperm Parameters in Markhoz Goat
Ehsan Shahbazi far^{1*}, Yousef Jafari Ahangari², Seyed Reza Hashemi³, Firooz Samadi⁴
Faculty of Animal sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural
Resources^{1,2,3,4}

*Eshahbazi60@hotmail.com

Abstract:

Oxygen metabolites as reactive oxygen species (ROS) are considered as major factors in male infertility. In the present investigation, we aimed to study the effect of different concentration of Quercetin (300-2000 micromolar), on membrane integrity, acrosome reaction, and viability of Markhoz Goat spermatozoa in presence of iron (ferrous) ions as lipid peroxidation promoter. LPO is one of the manifestations of ROS attack in biological membranes. LPO impings on membrane integrity, triggers inactivation of membrane bound enzymes which involve in sperm motility. Quercetin in concentration below 1000 micromolar protects spermatozoa from free radical damages as evidence from improvements in their membrane integrity (data of LPO test), elevated acrosome reactions, and increased viability. Concomitantly, there is also witnessed depletion of malondialdehyde (MDA) (an end product of LPO) generation following Quercetin supplementation. Quercetin at 1000 micromolar concentration and above, however, is not protective, as evidenced by abrupt fall in sperm membrane integrity and rate of acrosome reactions and lowered % live sperm cells. Collectively, Quercetin acts as a double-edged sword in different concentrations and



researchers must keep in mind this negative side of Quercitin application in their research fields like in vitro fertilization, cell culture, and preservation of gametes to minimize its deleterious impact on biological systems.

Keywords: Markhoz Goat sperm-Quercitin-peroxidation-Acrosome reaction-MDA



تأثیر سطوح مختلف پودر سیر بر خصوصیات منی قوچ دالاق

ماریا امینی^{۱*}، یوسف جعفری آهنگری^۲، یحیی حسن پور^۳، احمد بازیار^۱ نور محمدتربتی نژاد^۲

۱، ۲- بترتیب دانشجویان کارشناسی ارشد، هیئت علمی و کارشناس گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع

طبیعی گرگان

* نویسنده مسئول: ماریا امینی، گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

ahmad_bazyar@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق اثر پودر سیر بر زنده مانی، حرکت پیش رونده و پارامترهای جنبایی اسپرم قوچ مورد بررسی قرار گرفت. دوازده راس بره دالاق با میانگین وزن $31 \pm 2/5$ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۴ جیره غذایی حاوی صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، گرم در روز پودر سیر تغذیه شدند. پس از ۶۰ روز اعمال تیمارهای فوق، اسپرم‌گیری از هر بره به وسیله شوک الکتریکی هر سه هفته یکبار صورت گرفت و نمونه‌های اسپرم جمع‌آوری شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS آنالیز شدند. سطوح مختلف پودر سیر بر حرکت پیش رونده، جنبایی و زنده مانی اسپرم اثر معنی داری نداشت ($P > 0/05$). بالاترین درصد زنده مانی مربوط به افزودن ۵ گرم پودر سیر، با $68 \pm 1/32$ و کمترین درصد مربوط به افزودن ۱۵ گرم پودر سیر، با $65 \pm 1/4$ بود. بیشترین میزان حرکت پیش رونده مربوط به افزودن ۵ گرم پودر سیر، با $7/44 \pm 0/93$ مشاهده شد. در مجموع سطوح مختلف پودر سیر بر خصوصیات منی قوچ دالاق اثر معنی داری نداشت ($P > 0/05$).

واژگان کلیدی: پودر سیر، خصوصیات منی، قوچ دالاق

مقدمه

حذف آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان محرک رشد در اروپا، باعث افزایش علاقه در جایگزین موادی جهت دستکاری تخمیر شکمبه شد. بنابراین، علاقه‌مندی جهت استفاده از محصولات طبیعی که هیچ خطر مشابه بهداشتی را به عنوان مواد افزودنی خوراک ندارند، افزایش یافت. محصولات طبیعی شامل پروبیوتیک، پروبیوتیک‌ها، آنزیم‌ها، اسیدهای آلی و متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند. یکی از گیاهانی که حاوی متابولیت‌های ثانویه می‌باشد، سیر (*Allium sativum*) است. متابولیت‌های ثانویه گیاه سیر جزو مواد ارگانوسولفور است (۱۳). مطالعات در زمینه تأثیر پودر سیر در هضم و تخمیر شکمبه‌ای در نشخوار کنندگان رو به گسترش است، ولی از اثرات سیر بویژه روی تولید مثل جنس نر تحقیقات زیادی گزارش نشده است. تأثیرات متناقضی از سیر بیان کرده‌اند. عصاره سیر حرارت دیده توانست در ترمیم بیضه‌ها بعد از هیپوگنادیسم موثر باشد (۷)، در عین حال آزمایشات دیگری گزارش شده که بیان می‌کند پودر سیر اثرات تخریبی روی بافت بیضه و دستگاه تولید مثل جنس نر دارد (۵). هم‌چنین گزارش شده متابولیت‌های ثانویه سیر مثل دی‌آلیل تری‌سولفید که اثرات اسپرم کشی داشته‌اند (۴). تحقیقات نشان می‌دهد که پیاز و سیر حاوی آنتی‌اکسیدان‌های آگزورزن و آندورزن مثل سلنیوم، گلووتاتیون، ویتامین‌های آ، ب، ث و فلاونویدها مثل کورستین می‌باشد. گزارش شد که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و ویتامین‌های مذکور در جیره روزانه DNA اسپرم را در مقابل رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند و فشار خون بافت بیضه را افزایش می‌دهد (۶، ۹). این آنتی-

اکسیدان‌ها DNA و دیگر مولکول‌های مهم را از اکسیداسیون و آسیب محافظت می‌کنند (۳)، از طرف دیگر آپوپتوسیز را کاهش می‌دهند و می‌توانند پارامترهای سلامتی اسپرم را بهبود بخشند و نرخ باروری را در مردان افزایش دهند (۶، ۹). در این تحقیق تاثیر پودر سیر بر حرکت جنبایی، حرکت پیش‌رونده، و زنده مانی اسپرم قوچ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در ایستگاه تحقیقاتی علوم دامی مهندس کمالی وابسته به مرکز تحقیقات منابع طبیعی و کشاورزی استان گلستان در ۸ کیلومتری شهرستان گرگان، با استفاده از دوازده راس بره نژاد دالاق با میانگین وزن $31 \pm 2/5$ انجام شد. جیره مورد استفاده در این تحقیق بر اساس احتیاجات بره‌های پرواری NRC (۱۹۸۵) تنظیم شد (جدول ۱) و تمام تیمارها با جیره کاملاً مخلوط بودند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- تیمار شاهد (بدون پودر سیر)، ۲- جیره پایه به اضافه ۵ گرم پودر سیر، ۳- جیره پایه به اضافه ۱۰ گرم پودر سیر و ۴- جیره پایه به اضافه ۱۵ گرم پودر سیر به ازای هر گوسفند در روز بود. اسپرم-گیری از هر بره به وسیله شوک الکتریکی هر سه هفته یکبار صورت گرفت و نمونه‌های اسپرم بدست آمده بلافاصله به بن-ماری منتقل شد. هر انزال به طور جداگانه از نظر خصوصیات ظاهری مورد ارزیابی چشمی و از نظر درصد اسپرم زنده، متحرک و حرکت موجی و به وسیله میکروسکوپ نوری شمارش شدند. به منظور ارزیابی اسپرم متحرک، یک قطره اسپرم و یک قطره سرم فیزیولوژی بر روی لام از پیش گرم شده قرار داده و سپس روی آن لام گزارده تا نمونه به طور یکنواخت پخش شود. درصد تحرک اسپرم، با مشاهده مستقیم اسپرم‌هایی که حرکت جلو رونده دارند با بزرگنمایی $40\times$ شمارش شدند. به منظور تعیین حرکت موجی اسپرماتوزوا، یک قطره از نمونه منی را روی یک لام قرار داده و حرکت موجی اسپرم‌ها با بزرگنمایی $10\times$ مورد ارزیابی قرار گرفت. به اسپرم‌های فاقد حرکت، امتیاز صفر و دارای حرکت شدید امتیاز ۱۰ داده شد. به منظور تعیین درصد اسپرم زنده از رنگ آمیزی ائوزین - نیگروزین استفاده شد. که یک قطره از رنگ و یک قطره کوچک اسپرم را جداگانه روی یک لام ریخته و به کمک یک لام دیگر با زاویه نسبت به لام اول فشارملایمی داده و پس از خشک شدن، با بزرگنمایی $40\times$ نمونه را مورد شمارش قرار گرفت. اسپرم‌های مرده به رنگ قرمز و اسپرم‌های زنده فاقد رنگ بودند (۲). در این آزمایش از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تجزیه تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS صورت گرفت همچنین برای رسم نمودارها از Excel استفاده شد.

نتایج و بحث:

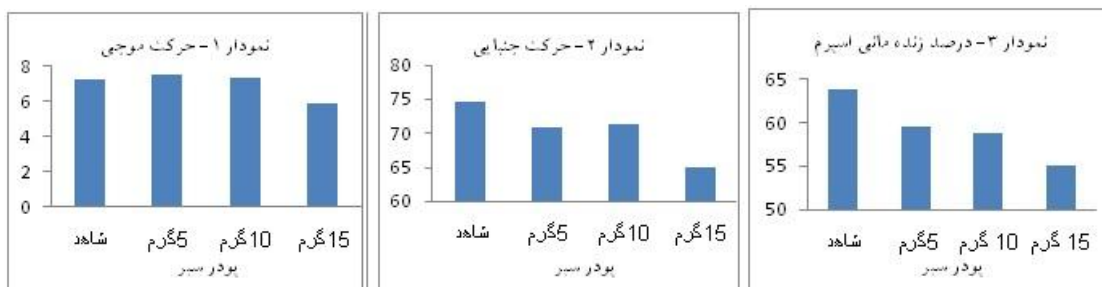
نمودار ۱ نشان داد که تیمارهای مورد آزمایش نتوانست اثر معنی داری بر روی حرکت موجی اسپرماتوزوا داشته باشد ($P>0/05$). اما بیشترین میزان حرکت موجی در با اضافه کردن ۵ گرم پودر سیر به میزان $7/44 \pm 0/93$ مشاهده شد. ایجاد استرس اکسیداتیو منجر به کاهش تحرک اسپرم می‌شود (۷). با توجه به این مطلب که افزودن آنتی‌اکسیدان‌های خارجی به اسپرم می‌تواند استرس اکسیداتیو در اسپرماتوزوای انسان را کاهش دهد (۱۱ و ۱۲) پیش‌بینی می‌شد که سیر با داشتن آنتی-اکسیدان‌هایی مثل سلنیوم و گلووتاتیون بتواند استرس اکسیداتیو را کاهش و تحرک اسپرم را افزایش دهد اما این نتیجه مشاهده نشد. نمودار ۲ بیانگر تفاوت بین تیمارها با سطوح مختلف پودر سیر اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد که از لحاظ حرکت جنبایی تفاوت معنی‌داری باهم ندارند ($P>0/05$). بیشترین میزان حرکت مربوط به تیمار شاهد $74/59 \pm 6/5$ بود. خاکی و همکاران (۸) گزارش کردند خوراندن ۰/۵ تا ۱ گرم در روز عصاره پیاز به موش‌ها می‌تواند جنبایی اسپرم آن‌ها را به طور معنی‌داری افزایش دهد. با توجه به داشتن ترکیبات سولفوری متنوع در سیر و پیاز پیش‌بینی می‌شد که پودر سیر بتواند تحرک اسپرماتوزوای قوچ را افزایش دهد که این روند مشاهده نشد. علت معنی‌دار نشدن این صفت در مقایسه با گزارشات سایر



محققان احتمالاً به دلیل تفاوت در نوع قضاوت در ارزیابی حرکت پیش رونده، تعداد قوچ و سطوح مختلف پودر سیر باشد. نمودار ۳ نشان داد که تیمارهای مورد آزمایش نتوانست اثر معنی‌داری بر روی درصد زنده مان‌ی اسپرماتوزوا داشته باشد ($P>0/05$). بالاترین درصد زنده مان‌ی مربوط به افزودن ۵ گرم پودر سیر با $68 \pm 1/32$ و کمترین درصد مربوط به اضافه کردن ۱۵ گرم پودر سیر با $65 \pm 1/4$ می باشد. مطالعات نشان دادند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز از طریق تأثیر بر فرم‌های پراکسیدی و کاهش اکسایشی، از سلول محافظت می‌کنند. سیر آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز سلولی را در انواع سلول‌های کبد، کلیه، پستان، بیضه افزایش دادند (۱۰). میرفردی و همکاران (۱) بیان کردند که عصاره سیر به خصوص دی آلیل دی سولفات و سایر ترکیبات سولفوری آن با افزایش آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز موجب جلوگیری از اثرات مخرب و شکستن DNA در سلول‌های مولد اسپرم می‌شود.

منابع

۱. میرفردی، م.، جوهری، ح.، مختاری، م.، حمایت‌خواه، و.، جمالی، ه. و الهوردی، ق. ۱۳۹۰. بررسی اثر عصاره هیدروالکلی سیر بر وزن بیضه و اسپرماتوزن در موش‌های صحرایی نر بالغ تحت شیمی درمانی داروی سیکلوفسفامید. مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا، سال اول، شماره ۳. ۶۷-۷۵. ص.
۲. ممویی، م. ترجمه. ۱۳۷۹. تلقیح مصنوعی در گوسفند و بز. انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز
3. Benchaib, M., V. Braun, J. Lornage, S. Hadj, B. Salle, H. Lejeune and J.F. Guérin. 2 Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique. Hum. Reprod. 18: 1023-8.
4. Chakrabarti, K., S. Pal and A.K. Bhattacharyya. 2003. Sperm immobilization activity of Allium sativum L. and other plant extracts. Asian J. Androl. 5: 131-135.
5. Dixit, VP. and S. Joshi. 1982. Effects of chronic administration of garlic (Allium sativum Linn) on testicular function. Indian J. Exp. Biol. 20: 534-536.
6. Jedlinska-Krakowska, M., G. Bomba, K. Jakubowski, T. Rotkiewicz, B. Jana and A. Penkowski. 2006. Impact of oxidative stress and supplementation with vitamins E and C on testes morphology in rats. J Reprod. Dev. 52: 203-209.
7. Kasuga, S., N, Uda. E. Kyo, M. Ushijima, N. Morihara and Y. Itakura. 2001. Pharmacologic activities of aged garlic extract in comparison with other garlic preparations. J. Nutr. 131: 1080-1084.
8. Khaki, A., F. Fathiazad, M. Nouri, A. A. Khaki, H.J. Khamenehi and M. Hamadeh. 2009. Evaluation of androgenic activity of allium cepa on spermatogenesis in the rat.
9. Lu, P., B.S. Lai, P. Liang, Z.T. Chen and S.Q. Shun. 2003. Antioxidation activity and protective effect of ginger oil on DNA damage in vitro. J Zhongguo Zhong Yao ZaZhi. 28: 873-875.
10. Parks, J.E. and J.K. Graham. 1992. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. Theriogenology. 38: 209-22.
11. Taylor, C.T. 2001. Antioxidants and reactive oxygen species in human fertility. Environ Toxicol Pharmacol. 10(4): 189-98.
12. Rajeev, K., G. Gagan and P. Narmada. 2006. Drug therapy for idiopathic male infertility: rationale versus evidence. J. Urology. 176: 1307-1312.
13. Wallace, R.J. 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proc. Nutr. Soc. 63: 621-629.



۱- مواد خوراکی و ترکیبات مغذی جیره‌های غذایی (بر اساس ماده خشک)

ترکیب جیره	مواد خوراکی
۴	کاه گندم (درصد)
۱۰	یونجه (درصد)
۱۷	سیلاژ ذرت (درصد)
۵۱	دانه جو (درصد)
۷	سیوس گندم (درصد)
۱۰	کنجاله پنبه دانه (درصد)
۱	ویتامین و مواد معدنی (درصد)
۱۵، ۱۰، ۵، ۰	پودر سیر (گرم/روز/گوسفند) *
۲/۴۳	انرژی قابل متابولیسم (مکالاری در کیلوگرم)
۱۴/۸	پروتئین خام (درصد)
۰/۵۳	کلسیم (درصد)
۰/۳۲	فسفر (درصد)

* مقدار پودر سیر بکار رفته در تیمار شاهد و سه تیمار دیگر به ترتیب ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم در روز در هر گوسفند آزمایش بود.

Effect of different levels of garlic powder on semen characteristics of rams Dalaq.

Maria Amini^{1*}, Yusef Jafari Ahangari² Yahya

Hasanpoor³ Ahmad Bazyar¹ Nourmohamad Torbatinejat²

1, 2, and 3- Msc students, Academic Staff and Bsc of Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources University

* Corresponding E-mail address: ahmad_bazyar@yahoo.com

Abstract:

In this study, the effect of garlic powder on wave motion, progressive motility, and the viability of ram spermatozoa was studied. Twelve Dalaq ram lambs with an average weight of 31 ± 2.5 in a completely randomized design with four diets containing zero, 15, 10, 5 g were fed garlic powder. Semen samples from each ram lamb were collected by the electric shock once every three weeks. Data were analyzed using SAS statistical software. Results showed that levels of garlic powder had no significant ($P > 0.05$) effect on progressive movement, sperm mobility and viability. The highest percentage of live sperm was belongs to the addition of 5 g garlic powder (68 ± 1.32) and the lowest percentage of live sperm was belongs to the addition of 15 g garlic powder (63 ± 1.4). The highest progressive motility was belongs to the addition of 5 g garlic powder (7.44 ± 0.93). Overall, different levels of garlic powder had no significant effect on semen characteristics of rams Dalaq.

Keywords: Garlic powder - Semen characteristics - Rams Dalaq.



بر عملکرد تولید مثلی میش‌های بومی استان گیلان E اثرات استفاده از مکمل سلنیوم و ویتامین

حسن رفیعی^۱، مهرداد محمدی^{۲*}، احمد قربانی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، ۲- عضو هیات علمی دانشگاه گیلان، ۳- مرکز

تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان

*نویسنده مسئول: مهرداد محمدی، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، mohammadi@guilan.ac.ir

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی اثر سلنیوم و ویتامین E روی عملکرد تولید مثلی میش‌های بومی استان گیلان بود. بدین منظور ۶۰ راس میش تالشی ۳ ساله (با میانگین وزنی 38 ± 2 کیلوگرم) در یک طرح کاملاً تصادفی در دو منطقه گیلان (املش و ماسال) به سه گروه آزمایشی تقسیم شدند (هر منطقه ۳۰ راس). در میش‌های گروه اول هیچگونه درمانی صورت نگرفت (گروه شاهد). به میش‌های گروه دوم قبل از قوچ‌اندازی و بره زایی ۱۰ میلی لیتر سلنیوم + ویتامین E (سلنوفرول) داخل عضلانی تزریق شد. میش‌های گروه سوم قبل از قوچ‌اندازی تا بره زایی و بمدت ۶ ماه، ۰/۳ میلی گرم مکمل سلنیت سدیم و ۲۰ واحد بین المللی ویتامین E در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره بصورت خوراکی دریافت کردند. صفات تولید مثلی نرخ باروری، باروری در اولین جفت گیری، چندقلو زایی، میش‌های قصر، بره‌دهی، زایش و همچنین وزن تولد مورد بررسی قرار گرفتند. براساس نتایج به دست آمده، وزن تولد و صفات تولید مثلی مورد نظر تفاوت معنی داری را بین تیمارها، در دو منطقه املش و ماسال نشان ندادند ($P > 0/05$). نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از سلنیوم همراه با ویتامین E بصورت خوراکی و تزریقی بر عملکرد تولید مثلی میش‌های بومی استان گیلان (تالشی) موثر نبود.

واژگان کلیدی: سلنیوم- ویتامین E- عملکرد تولید مثلی- میش

مقدمه

سلنیوم یک عنصر کم مصرف ضروری در تغذیه حیوانات است که در فعالیت‌های مرتبط به تولیدات حیوان، باروری و ممانعت از بیماری می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. تاثیرات سودمند سلنیوم در دام‌های اهلی بخصوص در مناطقی که با کمبود سلنیوم مواجه هستند مورد توجه واقع شده است. کمبود سلنیوم موجب ایجاد اختلال در تولیدات حیوانات بالغ و مرگ و میر نوزادان به خصوص در نشخوارکنندگان می‌شود (۴). مکمل سازی سلنیوم به روش‌های مختلفی انجام می‌گیرد، یک‌سری عوامل روی نتیجه مکمل سازی اثر گذار هستند، از جمله این عوامل اشکال شیمیایی مکمل سلنیومی، سلامت حیوان و وضعیت تولید آن است (۴). مشخص شده که سلنیوم در بهبود پاسخ ایمنی حیوانات نقش به سزایی دارد. فعالیت ایمنی در دستگاه تولید مثل، برای سلامتی و بهبود عملکرد تولید مثلی دارای اهمیت است (۳). در بعضی حالات عناصر کم مصرف یا ویتامین‌ها مانند سلنیوم و ویتامین E با هم تاثیر متقابل پیدا می‌کنند (۶). با توجه به اینکه استان گیلان، دارای بارندگی سالیانه زیادی است ثابت شده که خاک آن کمبود سلنیوم دارد (۲). این کمبود سلنیوم ممکن است در عملکرد تولید مثلی میش‌ها موثر باشد، از طرفی ویتامین E دارای اثر هم افزایی با سلنیوم است لذا لازم است در مورد اثر این کمبود و عملکرد تولید مثل در میش‌های استان گیلان تحقیقی صورت گیرد، لذا با این هدف تحقیق حاضر انجام شد.



مواد و روش‌ها

این تحقیق در دو ناحیه از استان گیلان انجام شد. ناحیه اول ییلاقات شهر املش (۱۱/۵۰ درجه شرقی و ۶/۳۷ درجه شمالی) و ناحیه دوم ییلاقات شهر ماسال (۱۳/۴۹ درجه شرقی و ۳۹/۳۷ درجه شمالی) بود. در هر ناحیه تعداد ۳۰ راس میش تالشی ۳ ساله (۲ بار زایش)، با وزن متوسط 38 ± 2 کیلوگرم، غیر آبستن و سالم از نظر جسمانی و تولید مثلی بطور کاملاً تصادفی به سه گروه آزمایشی تقسیم شدند. درمیش‌های گروه اول (شاهد) هیچگونه درمانی صورت نگرفت. در میش‌های گروه دوم ۱۰ میلی لیتر سلنیوم + ویتامین E (سلنوفول) بصورت یکبار تزریق در چهار هفته قبل از قوچ اندازی و یکبار تزریق در چهار هفته قبل از زایمان انجام شد. میش‌های گروه سوم ۰/۳ میلی گرم مکمل سلنیت سدیم و ۲۰ واحد بین‌المللی ویتامین E در کیلوگرم ماده خشک کنسانتره یک ماه قبل از قوچ اندازی تا زمان زایمان به مدت ۶ ماه بصورت خوراکی دریافت کردند. میش‌ها چرای آزاد در مرتع داشتند و پس از بازگشت از چراگاه، از سبوس گندم و جو به عنوان کنسانتره استفاده کردند (به ازای هر راس ۵۰ گرم). اثر قوچ در این تحقیق حذف و از ۳ قوچ ۲ ساله در هر شهر استفاده شد که به نسبت یک قوچ به ده میش بطور کاملاً تصادفی بین تیمارها معرفی شدند. این قوچ‌ها در طول دوره قوچ اندازی بصورت دوره‌ای بین تیمارها جابجا شدند. معیارهای تولید مثلی نرخ زایش، نرخ باروری، نرخ باروری در اولین جفت‌گیری، نرخ بره‌دهی، نرخ میش‌های قصر، نرخ میش‌های چند قلوزا و وزن بره در زمان زایش اندازه‌گیری شد (۲).

داده‌های مربوط به صفات گسسته با استفاده از رویه Logistic و میانگین آنها با آزمون دانکن و داده‌های مربوط به وزن تولد در این بررسی با استفاده از رویه GLM و میانگین آنها با آزمون دانکن با استفاده از نرم افزار SAS آنالیز شدند. نتایج مربوط به صفات تولیدمثلی دو شهر ماسال و املش با استفاده از طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با هم مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به اثر مکمل‌سازی سلنیوم و ویتامین E روی صفات تولیدمثلی نرخ زایش، نرخ باروری، نرخ باروری در اولین جفت‌گیری، نرخ بره‌دهی، نرخ میش‌های قصر، نرخ میش‌های چند قلوزا و وزن بره در شهرهای املش و ماسال نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت ($P > 0.05$) (جدول ۱).

جدول ۱- اثر گروه‌های آزمایشی بر صفات تولید مثلی نرخ باروری، نرخ باروری در اولین فحلی، نرخ چند قلوزایی، نرخ میش‌های قصر، نرخ بره‌دهی، نرخ زایش و وزن تولد (اشتباه معیار $\pm$ میانگین)

ماسال			املش			صفات تولیدمثلی
O (Se+E)	I (Se+E)	Con	O (Se+E)	I (Se+E)	Con	
$1/0 \pm 0$	$1/0 \pm 0$	$0/9 \pm 0/1$	$1/0 \pm 0$	$1/0 \pm 0$	$0/9 \pm 0/1$	نرخ باروری
$0/5 \pm 0/16$	$0/7 \pm 0/15$	$0/4 \pm 0/16$	$0/5 \pm 0/16$	$0/6 \pm 0/16$	$0/4 \pm 0/16$	نرخ باروری در اولین فحلی
0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	نرخ چند قلوزایی
0 ± 0	0 ± 0	$0/1 \pm 0/1$	0 ± 0	0 ± 0	$0/2 \pm 0/13$	نرخ میش‌های قصر
$1/0 \pm 0$	$1/0 \pm 0$	$0/9 \pm 0/1$	$0/9 \pm 0/1$	$1/0 \pm 0$	$0/7 \pm 0/15$	نرخ بره‌دهی
$1/0 \pm 0$	$1/0 \pm 0$	$0/9 \pm 0/1$	$1/0 \pm 0$	$1/0 \pm 0$	$0/8 \pm 0/13$	نرخ زایش
$4/05 \pm 0/16$	$3/94 \pm 0/14$	$3/82 \pm 0/11$	$3/33 \pm 0/10$	$3/56 \pm 0/19$	$3/17 \pm 0/14$	وزن تولد (کیلوگرم)

Con: گروه شاهد، I (Se+E): تزریق عضلانی سلنیوم و ویتامین E، O (Se+E): خوراک حاوی مکمل سلنیوم و ویتامین E
اختلاف معنی داری بین گروه‌ها از نظر صفات تولید مثلی وجود نداشت ($P>0.05$)

گزارش شده است تزریق سلنیوم + ویتامین E تاثیری روی باروری بزرگداشت که دلیل آن را توانایی خوب تولید مثلی گله بیان نمودند و اشاره داشتند که گروه شاهد نیز با وجود عدم درمان توانایی تولید مثلی خوبی داشتند. دلیل دیگر را سطح سلنیوم و تداخل سلنیوم + ویتامین E با مواد مغذی دیگر مانند پروتئین، انرژی، کلسیم، منیزیم و پتاسیم بیان کردند که این عوامل می‌تواند روی نرخ تولید مثلی تاثیر گذار باشد (۱۰). نقش سلنیوم در آنزیم گلوکاتایون پر اکسیداز نشان داده شده است. گلوکاتایون پر اکسیداز آنزیم سلینومی است که از آسیب اکسیداتیو غشاء سلولی جلوگیری می‌کند. ویتامین E در حیوانات عمدتاً به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی عمل نموده و همراه با آنزیم گلوکاتایون پر اکسیداز که حاوی سلنیوم است از سلول‌ها در برابر صدمات اکسیداسیون ناشی از رادیکال آزاد محافظت می‌کند. آنزیم گلوکاتایون پر اکسیداز نقش مهمی در حذف اکسیژن واکنش پذیر دارد، اما تنها عامل تاثیرگذار نیست. با توجه به اینکه یک گروه از آنزیم‌های گلوکاتایون پر اکسیداز وابسته به سلنیوم نیست بنابراین کمبود سلنیوم حتماً باعث غیر فعال شدن مکانیسم دفاع آنتی اکسیدانی نمی‌شود (۵). لذا می‌توان تاثیرگذار نبودن مکمل سازی سلنیوم روی تولید مثل را در بعضی از تحقیقات (۵، ۶، ۸ و ۹) از جمله تحقیق حاضر به این نکته ارتباط داد. مکمل سازی سلنیوم و ویتامین E با هدف بهبود هر دو سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی آنتی اکسیدان‌ها (۵) انجام شد که نتیجه مورد انتظار بهبود عملکرد جسم زرد و تاثیرگذاری آن روی صفات تولید مثلی میش‌های تالشی بود، اما صفات تولید مثلی بررسی شده در این تحقیق تحت تاثیر قرار نگرفتند، لذا می‌توان گفت اثر حمایتی آنتی اکسیدان‌ها از جسم زرد باعث بهبود در صفات تولید مثلی نشد و یا این بهبود در سطح آماری محسوس نبود. ویتامین E آنتی اکسیدانی بسیار قوی بوده و توانایی این را دارد که در برخی مواقع کمبودهای سلنیومی را جبران کند (۶). لذا نتیجه‌ی گرفته شده در این تحقیق می‌تواند بر این اساس باشد که به سبب اینکه میش‌ها از علوفه سبز چراگاه‌ها تغذیه کردند و چون علوفه‌های سبز و فرآوری نشده دارای مقدار زیادی ویتامین E هستند این ویتامین تا حدی توانایی جبران کمبود احتمالی سلنیوم را داشت. از طرفی با توجه به اینکه امروزه با بهبود حمل و نقل، مواد تغذیه‌ای از مکان‌های مختلف به دامداری‌ها حمل می‌شود، می‌توان گفت کمبود سلنیوم در خاک دلیل حتمی برای کمبود این عنصر در بدن به حساب نمی‌آید و امکان دارد که حیوان تا حدی میزان سلنیوم مورد نیاز خود را از مواد تغذیه‌ای که به عنوان کنسانتره استفاده می‌شود بدست آورد. به عنوان مثال جو و سبوسی که به عنوان کنسانتره استفاده می‌شود حاوی سلنیوم است.

جدول ۲- مقایسه صفات تولید مثلی نرخ باروری، نرخ باروری در اولین فحلی، نرخ چند قلو زایی، نرخ میش‌های قصر، نرخ بره‌دهی، نرخ زایش و وزن تولد (اشتباه معیار $\pm$ میانگین) در دو شهر املش و ماسال

صفات تولید مثلی	املش	ماسال
نرخ باروری	0.96 ± 0.33	0.96 ± 0.33
نرخ باروری در اولین فحلی	0.50 ± 0.92	0.53 ± 0.92
نرخ چند قلو زایی	0 ± 0	0 ± 0
نرخ قصر	0.66 ± 0.46	0.33 ± 0.33
نرخ بره‌دهی	0.87 ± 0.63	0.97 ± 0.33



نرخ زایش	0.96 ± 0.046	0.93 ± 0.033
وزن تولد (کیلوگرم)	3.37 ± 0.093	3.94 ± 0.082

اختلاف معنی داری بین گروه‌ها در شهرهای املش و ماسال از نظر صفات تولید مثلی وجود نداشت ($P > 0.05$)

نتایج نشان داد که اختلاف معنی داری بین دو موقعیت جغرافیایی استان گیلان از نظر صفات تولید مثلی بررسی شده وجود نداشت ($P > 0.05$) (جدول ۲). این نتیجه می‌تواند به دلیل استفاده از یک نژاد در دو ناحیه ماسال و املش و همچنین اقلیمی تقریباً یکسان باشد. گزارش شده است تاثیر گذاری سلیوم و ویتامین E روی صفات تولید مثلی متاثر از مکان، نژاد، آب و هوا و اقلیم منطقه و همچنین شدت کمبود سلیوم در خاک، متفاوت است و این عوامل می‌توانند توانایی استفاده از سلیوم توسط گیاه و حیوان را تغییر دهند (۴). در نهایت می‌توان گفت نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از سلیوم همراه با ویتامین E بصورت خوراکی و تزریقی بر عملکرد تولیدمثلی میش‌های بومی استان گیلان (تالشی) موثر نبود.

منابع

۱. دبیری، ن. ق. و سیاری، م. ۱۳۸۰. پیشرفت‌های تحقیقاتی در گوسفند و بز (ترجمه). انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز.
۲. سعادت نوری، م. و سیاه منصور، ص. ۱۳۸۲. اصول نگهداری و پرورش گوسفند انتشارات اشرفی.
۳. محمود زاده، ع. ۱۳۸۹. تولیدمثل در حیوانات مزرعه‌ای (ترجمه). جلد ۲. انتشارات دانشگاه گیلان.
4. Abd El-Ghany, H. & Tortora-Perez J. L. 2010. The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. *Small Ruminant Research*, 89: 185-192
5. Al-Gubory, K. H., Fowler, P. A. & Garrel, C. 2010. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 42: 1634-1650
6. Buchanan-Smith, J. G., Nelson, E. C. Osburn, B. I. Wells M. E. & Tillman, A. D. 1969. Effects of vitamin E and selenium deficiencies in sheep fed a purified diet during growth and reproduction. *Journal Animal Science*, 29: 808-819.
7. Gabryszuk, M. & Klewicz, J. 2002. Effect of injecting 2-and 3-year-old ewes with selenium and selenium-vitamin-E on reproduction and rearing of lambs. *Small Ruminant Research*, 43: 127-132.
8. Koyuncu, M. & Yerlikaya, H. 2007. Effect of selenium-vitamin E injections of ewes on reproduction and growth of their lambs. *South African Journal of Animal Science*, 37: 233-236
9. Mudd, A. J. & Mackie, I. L. 1973. Influence of vitamin E and selenium on ewe prolificacy. *Veterinary Research*, 93: 197.
10. Ramirez, B. E., Tortora, J. L. Huerta, M. Hernandez, L. M. Lopez R. & Crosby, M. 2005. Effect of selenium-vitamin E injection in selenium-deficient dairy goats and kids on the Mexican plateau. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 57: 77-84.

Effects of selenium and vitamin E supplementation on reproductive performance of native ewes of Guilan province

H. Rafei¹, M. Mohammadi^{*1}, A. Ghorbani²



1University of Guilan, 2 Research Center of Agriculture and Natural Resources of Guilan Province

*Corresponding E-mail address: mohammadi@guilan.ac.ir

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of selenium and vitamin E supplementations on reproductive performance of native ewes of Guilan province. Sixty Taleshi ewes (3 years old and 38 ± 2 kg BW) in two regions of Guilan province (Amlash and Masal) were randomly allocated in to three groups (each region 30 ewes). First group did not receive any treatment (con). In second group, ewes were treated with 10 ml selenofrol (i.m. injection) before mating and lambing. The third group, ewes received 0.3 mg sodium selenite and 20 IU vitamin E (in supplementary feeding DM) 6 months, before mating to lambing. The effect of supplementing of Se + vitamin E on fecundity, fecundity in the first mating, litter size, barrenness, parturition, lambing rate and the birth weight were examined. Results indicated that reproductive performance and birth weight were not significantly different between groups, in Amlash and Masal ($P > 0.05$). It is concluded that effect of Se + vitamin E supplementation on reproductive performance of native ewes of Guilan province (Taleshi) were not observed.

Key words: Ewe- selenium- vitamin E- reproductive performance



در رقیق کننده های شیر و تریس بر خصوصیات E بررسی تأثیر سطوح مختلف آنتی اکسیدان های کوثرسیتین و ویتامین اسپرم بز مرخز در شرایط منجمد

* احسان شهبازی فر^۱، یوسف جعفری آهنگری^۲، سید رضا هاشمی^۳، امین روانگردی^۴، سید عمادالدین طیبی^۵

گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان^{۱،۲،۳،۴،۵}

Eshahbazi60@hotmail.com*

چکیده:

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر سطوح مختلف کوثرسیتین و ویتامین E در رقیق کننده های شیر و تریس بر خصوصیات اسپرم بز مرخز در شرایط منجمد بود. منی از شش راس بز مرخز با استفاده از مهبل مصنوعی جمع آوری گردید و نمونه های مناسب با هم مخلوط شدند. نمونه ها تحت تأثیر تیمارهای مختلف در رقیق کننده های شیر و تریس قرار گرفتند و خصوصیات اسپرم ها، شامل درصد اسپرم های متحرک و زنده به وسیله میکروسکوپ الکترونیکی مورد ارزیابی قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل ۳×۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. عامل اول، سطوح مختلف کوثرسیتین (۰، ۳۰، ۶۰، میکروگرم در میلی لیتر) و عامل دوم، سطوح مختلف ویتامین E (۰، ۱۵۰، ۳۰۰، میکروگرم در میلی لیتر) بودند. نتایج این آزمایش نشان داد که تأثیر کوثرسیتین بر درصد تحرک و زنده مانی اسپرم ها در رقیق کننده های شیر و تریس معنی دار بود ($p < 0/01$). تأثیر ویتامین E بر درصد تحرک و زنده مانی اسپرم ها در رقیق کننده های شیر و تریس معنی دار نبود ($p < 0/05$). مقایسه میانگین ها بر اساس آزمون دانکن نشان داد که بیشترین درصد تحرک اسپرم در رقیق کننده های شیر $0/085 \pm$ (۶۷/۴۵) و یا تریس $(48/48 \pm 0/087)$ در سطح ۳۰ میکروگرم در میلی لیتر کوثرسیتین به دست آمد. بنابراین بر اساس نتایج این آزمایش به منظور نگهداری اسپرم بز مرخز در شرایط منجمد استفاده از کوثرسیتین (۳۰ میکروگرم در میلی لیتر) در رقیق کننده های شیر و یا تریس توصیه می شود.

واژگان کلیدی:

کوثرسیتین - ویتامین E - خصوصیات اسپرم - شرایط منجمد - بز مرخز

مقدمه

پرورش حیوانات اهلی در دنیا در چند دهه اخیر با سرعت چشمگیری پیشرفت نموده و دام های مختلف بر حسب طبیعت زندگی خود به منظور تولید بیشتر، پرورش یافته اند. در این راستا، تلقیح مصنوعی ابزار موثری در پیشبرد و موفقیت صنعت دامپروری می باشد. با توسعه تلقیح مصنوعی هزینه های پرورش دام نر در گله حذف شده و می توان از اسپرم هایی که از نظر ژنتیکی در سطح بالاتری قرار دارند جهت آبستن کردن دام های ماده و به حداکثر رسانیدن توسعه ژنتیکی استفاده کرد. از طرفی دام های بومی هر منطقه ذخایر ژنتیکی آن منطقه بوده که طی سالیان متمادی با محیط زندگی خود سازگاری یافته و ژن های لازم در آنها تثبیت شده است (۸). در جهت حفظ این ذخایر ارزشمند لازم است که بخشی از تحقیقات کشور در زمینه حفظ و انتقال این ژن ها به نسل های آینده اختصاص یابد.

کاهش خواص حیاتی اسپرم مثل تحرک و زنده مانی در طی نگهداری در شرایط سرمایی می تواند یک عامل نامطلوب در توسعه استفاده از تلقیح مصنوعی باشد. این اکسیژن های واکنش پذیر از عوامل موثر در ایجاد تغییرات نامطلوب در اسپرم در طی نگهداری در شرایط انجماد، می باشند (۴).

از عمده ترین این اکسیژن ها می توان به رادیکال هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن و سوپر اکسید آنیون اشاره کرد. مواد آنتی اکسیدانی نقش مهمی در خنثی سازی انواع رادیکال های آزاد دارند ولی متأسفانه خصوصیات آنتی اکسیدانی رقیق کننده

های متداول اغلب ضعیف می باشد. از طرفی میزان توانایی آنتی اکسیدانهای اسپرم در مقایسه با دیگر سلول ها پایین است و این سلول ها نسبت به فشارهای اکسیداتیو آسیب پذیرتر هستند (۲). بنابراین تحت این شرایط استفاده از مواد آنتی اکسیدانی مانند کوئرسیتین و ویتامین E می تواند در بهبود خصوصیات اسپرم موثر باشد. این مواد با کاهش سرعت اکسیداسیون، باعث حفظ سلول از آسیب های شدید اکسیده شدن می شوند. مکانیزم بدین صورت است که با دادن یک اتم هیدروژن به رادیکال آزاد تشکیل شده، از گسترش واکنش های زنجیره ای اکسیداسیون جلوگیری می کنند. با توجه به موارد ذکر شده هدف از انجام این تحقیق بررسی توان تحرک و زنده مانی اسپرم بز مرخز در رقیق کننده های شیر و تریس با استفاده از کوئرسیتین و ویتامین E در شرایط منجمد بود (۶).

مواد و روشها

این تحقیق در مزرعه تحقیقاتی دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی گرگان در طی پاییز و زمستان ۱۳۹۰ انجام شد. برای انجام این تحقیق از شش راس بز نر از نژاد مرخز موجود در فارم دانشگاه استفاده شد. بزها با روش اسپرم گیری به وسیله مهبل مصنوعی سازگاری داده شدند و از این طریق نمونه های منی جمع آوری گردید. نمونه های بدست آمده، در رقیق کننده های شیر و تریس به نسبت ۳ به ۱ رقیق شده و سه سطح مختلف کوئرسیتین (۰، ۳۰، ۶۰ میکروگرم در میلی لیتر) و ویتامین E (۰، ۱۵۰، ۳۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) به آنها اضافه شدند. نمونه ها منجمد شده و پس از ۱۰ روز یخ گشایی شدند و از لحاظ درصد تحرک و زنده مانی مورد ارزیابی قرار گرفتند. به منظور تعیین درصد تحرک اسپرماتوزوا، یک قطره کوچک از نمونه منی رقیق شده بر روی یک لام تمیز گرم شده قرار داده شد. سپس بر روی آن یک لامل گذاشته شد تا نمونه به طور یکنواخت در زیر سطح لامل پخش شود. در مرحله بعد با استفاده از بزرگنمایی $\times 40$ میکروسکوپ و با بررسی چند ناحیه از لام درصد اسپرم هایی که حرکت پیش رونده داشتند شمارش شدند. برای اندازه گیری درصد اسپرم های زنده از محلول رنگ آمیزی ائوزین و نکرورژین استفاده شد. برای رنگ آمیزی ابتدا یک قطره از منی رقیق شده در یکی از دو انتهای لام تمیز و گرم شده قرار داده شد و سپس یک قطره از رنگ بر روی منی رقیق شده ریخته شد. بعد از مدت یک دقیقه از ترکیب فوق گسترش تهیه شد و سپس به مدت ۵ دقیقه لام در مجاورت هیتر قرار داده شده تا خشک شود. در مرحله بعد با استفاده از بزرگ نمایی $\times 40$ میکروسکوپ در چند ناحیه از لام تعداد اسپرم های زنده شمارش شدند.

این آزمایش به صورت فاکتوریل 3×3 در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. داده های بدست آمده از این تحقیق با استفاده از تست نرمالیتیه مورد بررسی قرار گرفتند و به دلیل نرمال بودن داده ها از تبدیل زاویه ای استفاده نشد. داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون دانکن استفاده شد (۱۰).

نتایج

درصد اسپرم های متحرک در رقیق کننده تریس: نتایج نشان داد که تاثیر کوئرسیتین بر درصد اسپرم های متحرک پس از یخ گشایی در رقیق کننده تریس معنی دار بود ($P > 0.01$). تاثیر ویتامین E و همچنین اثر متقابل کوئرسیتین و ویتامین E بر درصد اسپرم های متحرک معنی دار نبود ($p > 0.05$). مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن نشان داد که بیشترین درصد اسپرم متحرک پس از یخ گشایی در سطح ۳۰ میکروگرم در میلی لیتر کوئرسیتین و کمترین درصد اسپرم متحرک پس از یخ گشایی در سطح ۰ میکروگرم در میلی لیتر کوئرسیتین حاصل می گردد.

درصد اسپرم های زنده در رقیق کننده تریس: نتایج این تحقیق نشان داد که تاثیر کوئرسیتین در رقیق کننده تریس بر درصد اسپرم های زنده پس از یخ گشایی معنی دار بود ($p < 0.01$). تاثیر ویتامین E و همچنین اثر متقابل کوئرسیتین و ویتامین E بر درصد اسپرم های زنده معنی دار نبود ($p > 0.05$). مقایسه میانگین ها بر اساس آزمون دانکن نشان داد که



بیشترین درصد اسپرم زنده در سطح ۳۰ میکروگرم در میلی لیتر کوثرسیتین و کمترین درصد اسپرم زنده در سطح ۰ میکروگرم در میلی لیتر کوثرسیتین حاصل می گردد.

درصد اسپرم های متحرک در رقیق کننده شیر: نتایج این تحقیق نشان داد که تاثیر کوثرسیتین بر درصد اسپرم های متحرک پس از یخ گشایی در رقیق کننده شیر معنی دار بود ($p < 0/01$). تاثیر ویتامین E و همچنین اثر متقابل کوثرسیتین و ویتامین E بر درصد اسپرم های متحرک معنی دار نبود ($p > 0/05$). مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن نشان داد که بیشترین درصد اسپرم متحرک پس از یخ گشایی در سطح ۳۰ میکروگرم در میلی لیتر کوثرسیتین و کمترین درصد اسپرم متحرک پس از یخ گشایی در سطح ۰ میکروگرم در میلی لیتر کوثرسیتین حاصل می گردد. میانگین درصد اسپرم های متحرک پس از یخ گشایی در رقیق کننده شیر در سطوح ۰، ۱۵۰، ۳۰۰ میکروگرم در میلی لیتر ویتامین E به ترتیب $43/91 \pm 0/50$ ، $44/12 \pm 0/40$ ، $46/70 \pm 0/70$ بود. درصد اسپرم های زنده در رقیق کننده شیر: نتایج نشان داد که تاثیر کوثرسیتین در رقیق کننده شیر بر درصد اسپرم های زنده پس از یخ گشایی معنی دار بود ($p < 0/01$). تاثیر ویتامین E و همچنین اثر متقابل کوثرسیتین و ویتامین E بر درصد اسپرم های زنده معنی دار نبود ($p > 0/05$). میانگین درصد اسپرم های زنده پس از یخ گشایی در رقیق کننده شیر در سطوح ۰، ۳۰، ۶۰ میکروگرم در میلی لیتر کوثرسیتین، به ترتیب $45/43 \pm 0/041$ ، $49/61 \pm 0/052$ ، $50/18 \pm 0/028$ بود. مقایسه میانگین ها بر اساس آزمون دانکن نشان داد که بیشترین درصد اسپرم زنده در سطح ۳۰ میکروگرم در میلی لیتر کوثرسیتین و کمترین درصد اسپرم زنده در سطح ۰ میکروگرم در میلی لیتر کوثرسیتین حاصل می گردد. میانگین درصد اسپرم های زنده پس از یخ گشایی در رقیق کننده شیر در سطوح ۰، ۱۵۰، ۳۰۰ میکروگرم در میلی لیتر ویتامین E، $46/70 \pm 0/71$ ، $46/82 \pm 0/72$ ، $46/70 \pm 0/70$ بود.

بحث و نتیجه گیری

یکی از عوامل مهم در کاهش تحرک اسپرماتوزوا، خسارت های ساختاری ناشی از فشارهای اکسیداتیو می باشد. کاهش تمامیت غشاء منجر به افزایش نفوذ پذیری غشاء و کاهش توانایی تنظیم سطوح داخلی سلولی یون ها می شود که مجموعه این شرایط برای تحرک اسپرم مضر می باشد (۱۲). مواد آنتی اکسیدانی مانند ویتامین های E و C در منی وجود دارند، اما به دلیل ضعیف بودن خصوصیات آنتی اکسیدانی اکثر رقیق کننده ها مانند شیر و تریس و کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی منی در طی نگهداری در شرایط انجماد، استفاده از این ترکیبات می تواند در بهبود خصوصیات اسپرم موثر باشد (۲۰).

عدم وجود آنزیم های آنتی اکسیدانی مثل کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز در زرده تخم مرغ می تواند دلیلی برای ضعف سیستم آنتی اکسیدانی موجود در رقیق کننده تریس، گلوکز و زرده تخم مرغ باشد. دلیل دیگر برای پایین بودن خصوصیات آنتی اکسیدانی زرده تخم مرغ، وجود آهن و فلزات واسطه ای در زرده است که تاثیر پراکسید هیدروژن را افزایش می دهند (۱۷). پراکسید هیدروژن باعث اختلال در روند فسفریلاسیون اکسیداتیو در اسپرم می شود (۱۱).

در تحقیق حاضر استفاده از کوثرسیتین در رقیق کننده های شیر و تریس باعث افزایش تحرک و زنده مانی اسپرم بز مرخز در شرایط نگهداری به صورت منجمد گردید بیشترین درصد تحرک اسپرم در رقیق کننده های ($46/45 \pm 0/085$) و تریس ($48/48 \pm 0/087$) در سطح ۳۰ میکروگرم در میلی لیتر کوثرسیتین به دست آمد. انواع اکسیژن های واکنش پذیر از توانایی لازم جهت جلوگیری از فعالیت آنزیم های موثر در فرایندهای فسفریلاسیون اکسیداتیو، گلیکولیز یا دیگر مسیرهای تولید کننده ATP برای سلول اسپرم برخوردار می باشند.

استفاده از کوثرسیتین می تواند سبب خنثی شدن اثر اکسیژن های فعال بر این آنزیم ها شود و از این طریق از کاهش تحرک اسپرم جلوگیری نماید. ویتامین E نیز به عنوان یک ماده آنتی اکسیدانی شناخته شده است که می تواند در بهبود خصوصیات اسپرم در طی نگهداری سرمای موثر واقع گردد. در تحقیق حاضر استفاده از ویتامین E نتوانست همانند کوثرسیتین در بهبود



تحرک و زنده مانی اسپرم بز مرخز در رقیق کننده های شیر و تریس موثر باشد. براساس نتایج این آزمایش، استفاده از کوئرسیتین (۳۰ میکروگرم در میلی لیتر) در رقیق کننده های شیر و تریس در شرایط نگهداری به صورت منجمد موجب بهبود تحرک و زنده مانی اسپرم بز مرخز می گردد.

منابع

1. Aboagla, E.M.E., and Terada, T. 2004. Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. *Theriogenology*. 62:1160-1172.
2. Amoah, E.A., and Gelaye, S. 1997. Biotechnological advances in goat reproduction. *J. Anim. Sci.* 75:578-585.
3. Biswas, D., Bari, F.Y., Shamsuddin, M., Rahman, M.M., and Rahman, M.M. 2002. Determination of glycerol percentages for preserving the Black Bengal buck (*Capra hircus*) spermatozoa for long time. *Pakistan j. Bio. Sci.* 5:715-718.
4. Cabrera, F., Gonzalez, F., Batista, M., Calero, P., Medrano, A., and Gracia, A. 2005. The effect of removal of seminal plasma, egg yolk level and season on sperm freezability of Canary buck. *Reprod. Dom. Anim.* 40:191-195.
5. Evans, G., and Maxwell, W.M.S. 1987. Salamon's artificial insemination of sheep and goat. Butterworth. Co.ltd. P:523.
6. Farshad, A., and Holtz, W., 1993. The cryopreservation of goat semen under special consideration of sucrose. DGZF. Goettingen, Germany.
7. La Falci, V.S.N., Tortorella, H., Rodrigues, J.L., and Brandelli, A. 2002. Seasonal variation of goat seminal plasma proteins. *Theriogenology*. 57:1035-1048.
8. Leboeuf, B., Restall, B., and Salamon, S. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 62:113-141.
9. Santiago-Moreno, J., Toledano-Diaz, A., Pulido-Pastor, A., Dorado, J., Gomez-Brunet, A., and Lopez-Sebastian, A. 2006. Effect of egg yolk concentration on cryopreserving Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) epididymal spermatozoa. *Theriogenology*. 66:1219-1226.
10. SAS Institute Inc. 2001, SAS® Proprietary Software Release 8.1. SAS Institute Inc., Cary.
11. Funahashi, H., and Sano, T. 2005. Selected antioxidants improve the function of extender boar semen stored at 10 degree C. *Theriogenology*. 63:1605-1616.
12. JafariAhangari, Y. 1996. An investigation on the effect of various buffers (Tris, Citrate and Skimmed milk) on ram semen motility and survival characteristics in liquid storage. Final report of Research Plan. Animal Science Research Institute. 37p.



13. Kankofer, M., Kolm, G., Aurich, J., and Aurich, C. 2005. Activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase and lipid peroxidation intensity in stallion semen during storage at 5 degree C. *Theriogenology*. 63:1354-1365.
14. Salamon, S., and Maxwell, W.M.C. 2000. Storage of ram semen. *Anim. Reprod. Sci.* 62:77-111.
15. Sarlos, P., Molnar, A., Kokai, M., Gabor, G., and Ratkey, J. 2002. Comparative evaluation of the effect of antioxidants in the conservation of ram semen. *Acta. Vet. Hun.* 50:235-245
16. Smith, R., Vantman, D., Ponce, J., Escobar, J., and Lissi, E. 1996. Total antioxidant capacity of human sperm. *Hum. Reprod.* 11:1655-1660.
17. Sonmez, M., and Demirci, E. 2004. The effect of ascorbic acid on the freezability of ram semen diluted with extenders containing different proportions of glycerol. *Turk. J. Anim. Sci.* 28:893-899.
18. Sreejith, J.N., Brar, A.S., Ahuja, C.S., and Sangha, S.P.S. 2006. A comparative study on lipid peroxidation activities of antioxidant enzymes and viability of cattle and buffalo bull spermatozoa during storage at refrigeration temperature. *Anim. Reprod. Sci.* 96:21-29
19. Upreti, G.C., Jensen, K., Oliver, J.E., Duganzich, D.M., and Munday, R. 1997. Motility of ram spermatozoa during storage in chemically defined diluent containing antioxidants. *Anim. Reprod. Sci.* 48:269-278.
20. Yamamoto, Y., and Omori, M. 1994. Antioxidative activity of egg yolk lipoproteins. *Biosci.Biothech. Biochem.* 58:1711-1730.
21. Yousef, M.I., Abdollad, G.A., and Kamel, K.I. 2003. Effect of ascorbic acid and vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. *Anim. Reprod. Sci.Reprod.* 76:99-111.

Investigation the effect of various levels of Anti oxidants Quercitin and Vitamin E in milk and tris extenders on characteristics of Markhoz Goat semen in frozen condition

Ehsan Shahbazi far¹, Yousef Jafari Ahangari², Seyed Reza Hashemi³, Amin Ravangardi⁴,
Seyed Emadoddin Tayebi⁵

Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural
Resources^{1,2,3,4,5}

*Eshahbazi60@hotmail.com

Abstract:

The objective of present study was to investigate the effect of various levels of Quercitin and Vit.E in milk and tris extenders on Markhoz Goat semen characteristics in frozen condition. Semen were collected from 6 Markhoz Goats using artificial vagina and suitable samples were mixed together and subjected to different treatments in milk and tris extenders. Spermatozoa characteristics including percentage of motile and viable cells were assessed by



electronic microscope. This experiment was carried out in 3×3 factorial arrangement on the basis of completely randomized design. First factor was various levels of Quercitin (0,30 and 60 µg/ml) and second factor was various levels of Vitamin E (0,150 and 300µg/ml). Results indicated that in frozen condition, the effect of Quercitin on motility and viability percentage of spermatozoa in milk and tris extenders was significant ($p<0.01$). The effect of Vit.E on motility and viability percentage of spermatozoa in milk and tris extenders was not significant ($p>0.05$). Mean comparison on the basis of Duncan test showed that the highest motility of spermatozoa in tris (48.48 ± 0.087) and milk extenders (46.45 ± 0.085) were obtained in level 30µg/ml Quercitin. In conclusion, use of Quercitin(30µg/ml) in milk and tris extenders is recommended for storage of Markhoz Goat semen in frozen condition.

Keywords: Quercitin-Vitamin E-Sperm characteristics-Frozen condition-Markhoz Goat



اثر دگزامتازون بر بیان برخی از ژن‌های موثر بر رشد ماهیچه‌های اسکلتی در جوجه‌های گوشتی

اردشیر شیخ احمدی^{۱*}، ژینگانگ سانگ^۲، ناصر کارشی^۱

۱- گروه علوم دامی - دانشکده کشاورزی - دانشگاه کردستان - سنندج ۲- گروه علوم دامی - دانشگاه کشاورزی شاندونگ -

چین

* نویسنده مسئول: اردشیر شیخ احمدی، گروه علوم دامی - دانشکده کشاورزی - دانشگاه کردستان - سنندج،

a.sheikhahmadi@uok.ac.ir

چکیده

در این مطالعه، اثر دگزامتازون (گلوکوکورتیکوئید سنتتیک) بر رشد و نمو ماهیچه‌های اسکلتی جوجه‌های گوشتی ارزیابی شد. به جوجه‌های نر آربرایکروز در سن یک هفتهگی دگزامتازون یا محلول سرم فیزیولوژیک به مدت ۳ روز تزریق شد. تزریق دگزامتازون موجب تأخیر در رشد گردید که می‌تواند ناشی از افت در میزان افزایش وزن بدن و کاهش وزن عضله سینه و ران باشد. سطوح mRNA ژن‌های فاکتور تعیین کننده مایوژنیک (MyoD) و فاکتور ۵ مایوژنیک (Myo5) در عضله اسکلتی تحت تأثیر تزریق دگزامتازون قرار نگرفتند. با این حال بیان ژنی مایواستاتین (MSTN) به طور معنی‌داری کاهش یافت، در حالی که سطوح mRNA دومین^۱ WW که دارای پروتئین لیگاز ۱ یوبی کینون E3 (WWP1) می‌باشد به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش یافت. این نتایج نشان داد که دگزامتازون اثر جانبی بر تولید میوبلاست‌ها ندارد و کاهش دسترسی مواد مغذی و افزایش تجزیه پروتئین مسئول تأخیر رشد عضله در جوجه‌های تحت استرس فیزیولوژیکی می‌باشد. واژه‌های کلیدی: دگزامتازون- بیان ژن- رشد عضله- مایواستاتین- جوجه‌های گوشتی.

مقدمه

در طی بروز تنش، گلوکوکورتیکوئیدها به عنوان مرحله نهایی از بخش قشری غده فوق کلیوی ترشح می‌شوند که مجموعه‌ای از پاسخ‌های فیزیولوژیکی ضروری را که باعث کاهش فرآیندهای غیر ضروری در بدن (مانند رشد) به نفع فرآیندهای ضروری و حیاتی بدن (تنظیم غلظت گلوکز پلاسما)، می‌شوند را آغاز می‌کنند. کورتیکوسترون که گلوکوکورتیکوئید اصلی در پرندگان می‌باشد، آمینو اسیدهای موجود در پروتئین‌های بدن (عضلات اسکلتی) را بسج می‌کند و در همان زمان آنزیم‌های گلوکونئوزنیک کبدی را برای تبدیل آمینو اسیدها به گلوکز و اسید اوریک القا می‌کند. بنابراین کورتیکواسترون، در هنگام بروز تنش باعث تحلیل عضلات اسکلتی بدن پرندگان می‌شود. به طور کلی، مقدار پروتئین در هر سلول یا بافت به وسیله تعادل بین ساخت و تجزیه آن‌ها کنترل می‌شود. شواهدی وجود دارد که تحلیل عضله اسکلتی القا شده توسط گلوکوکورتیکوئیدها در ارتباط با افزایش بیان ژن مایواستاتین (MSTN) است (۴). مایواستاتین که سابقاً به عنوان فاکتور ۸ رشد و تمایز سلولی، عضوی از خانواده بزرگ فاکتور تغییر رشد - شناخته می‌شد، یک فاکتور مهم در کاهش توده عضلات اسکلتی می‌باشد. تحلیل عضلانی القا شده در موش‌های صحرایی قرار گرفته در معرض کاهش کشش سطحی زمین^۲، در ارتباط با افزایش بیان پروتئین مایواستاتین بوده است (۴). داده‌های جمع‌آوری شده نشان می‌دهد که در پستانداران لیگاز یوبی‌کیتین و بویژه دومین^۳ WW حاوی پروتئین لیگاز ۱ یوبی‌کیتین E3 (WWP1) که عضوی از خانواده لیگاز

¹ Domain

² microgravity

³ domain



Nedd4 شبه یوبی کیتین E3 می باشد، در تحلیل عضلانی نقش دارد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر دگزامتازون بر مسیرهایی است که در رشد و تحلیل عضلات اسکلتی در جوجه های گوشتی موثر می باشند. دگزامتازون افینیت به بالایی به گیرنده های گلوکوکورتیکوئید نشان می دهد. در این مطالعه بیان ژن مایو استاتین به عنوان تنظیم کننده توده عضلات اسکلتی، فاکتور تعیین کننده میوژنیک (MyoD) و فاکتور ۵ میوژنیک (Myo5) که مارک های مربوط به رشد عضلات اسکلتی هستند و همچنین بیان ژن WWP1 ارزیابی شدند.

مواد و روش ها

در این آزمایش تعداد ۹۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه آریورایکرز از سن ۷ روزگی، بر اساس وزن بدن به ۹ پن به طور تصادفی برای هر کدام از دو تیمار تزریق زیرجلدی دگزامتازون (۲ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) و تیمار شاهد (تزریق ۰/۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژیک، کنترل)؛ به مدت ۳ روز اختصاص داده شدند. بیان ژن های مورد نظر در ماهیچه اسکلتی عضله دوسر ران سمت چپ^۱ (BF) با استفاده از تکنیک ریل تایم کمی^۲ اندازه گیری شد. RNA کل با استفاده از روش گوانیدیوم ایزوتیوسیانات با معرف تریزول جداسازی شد. برای آنالیز ریل تایم^۱ توالی های پرایمری مطابق با گورنس و همکاران (۲۰۰۳) تهیه شدند (۵). از رنگ فلوئورسنت سایبرگرین برای مشاهده مقدار محصول PCR در انتهای هر سیکل استفاده شد. اختصاصی بودن محصول تکثیر یافته به وسیله الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸٪ و به وسیله تعیین توالی DNA تأیید شد. تمام داده ها به وسیله آنالیز ANOVA یک طرفه با استفاده از پکیج نرم افزار آماری SAS آنالیز شدند و اثر اصلی تیمار دگزامتازون ارزیابی شد. اختلاف معنی دار میانگین ها نیز در سطح $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

جوجه هایی که در معرض دگزامتازون قرار گرفتند، تغییر معنی داری در بیان ژن MyoD و Myf5 در مقایسه با شاهد نشان ندادند، اما کاهش معنی داری در بیان مایو استاتین و بیان ژن WWP1 وجود داشت ($P < 0.01$) (تصویر ۱). برای مایو استاتین، سطح mRNA در عضله BF در جوجه های تزریق شده با دگزامتازون تنها حدود ۰/۲۵ برابر شاهد بود. در یک مطالعه، سطح پروتئین مایو استاتین پس از تیمار با دگزامتازون بدون تغییر باقی مانده است (۱). و بنابراین پیشنهاد شده است که سطوح پروتئین مایو استاتین به وسیله مکانیسم های پس از رونویسی تنظیم می شود. MyoD و Myf5، از فاکتورهای تنظیم کننده ساخت عضلات اسکلتی هستند که برای تمایز نهایی عضله اسکلتی حیاتی هستند (۳). مطالعات قبلی انجام شده برای بررسی اثرات گلوکوکورتیکوئیدها در شرایط برون تنی^۳ در میوبلاست های موش نشان داده است که مقادیر بالای تزریق دگزامتازون مرگ سلولی و تجزیه MyoD را از طریق مسیر یوبی کیتین-پروتئازوم^۴ القا کرده است (۷). اگرچه ما سطوح پروتئین های MyoD و Myf5 را اندازه گیری نکرده ایم، اما این احتمال وجود دارد که افزایش سطح WWP1 (تصویر ۱) در جوجه های دریافت کننده دگزامتازون، پروتئین های MyoD و Myf5 را تجزیه کرده و باعث تحلیل عضلانی مشاهده شده در عضلات اسکلتی جوجه های گوشتی شده باشد (۲). مسیر لیگازهای یوبی کیتین نقش مهمی در تجزیه پروتئین های تنظیمی با طول عمر کوتاه ایفا می کند. در مطالعه ما ژن WWP1 که آنزیمی از خانواده لیگازهای یوبی کیتین E3 شبه Nedd4 را بیان کرده است، در جوجه های تیمار شده با دگزامتازون، افزایش یافته و به نظر می رسد که افزایش سطح WWP1 در عضله جوجه های دگزامتازون تجزیه پروتئین را افزایش داده و در نتیجه متابولیسم عضله را به طرف مسیرهای

¹ biceps femoris

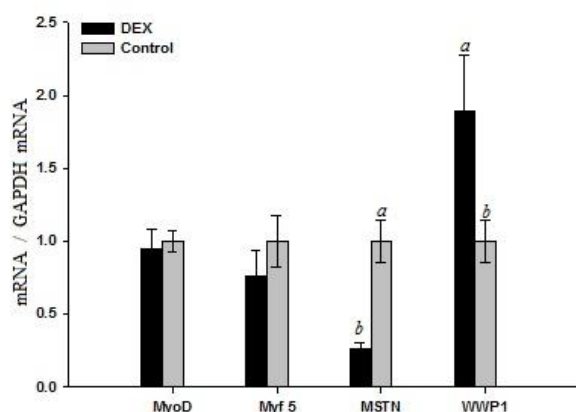
² quantitative real-time PCR

³ In Vivo

⁴ ubiquitin-proteasome pathway



کاتابولیسیم تغییر داده است. همچنین نشان داده شده است که جهش در ژن WWP1 مسئول تحلیل عضله در جوجه‌های گوشتی است (۶). این محققان همچنین نشان داده‌اند که کاهش سطح WWP1 در عضله جوجه‌های گوشتی باعث تحلیل عضله شده است و این احتمال وجود دارد که در طی شرایط گرسنگی نیز نتایج مشابهی بتواند مشاهده شود. در نتیجه، نتایج ما از این ایده که ۳ روز تیمار دگزامتازون بیان مایواستاتین را در عضله اسکلتی کاهش داده است، حمایت می‌کند. با این حال،



افزایش WWP1 در جوجه‌های گوشتی تیمار شده با دگزامتازون ممکن است مسئول تحلیل رفتن عضله در عضلات اسکلتی شود.

تصویر ۱: اثر دگزامتازون بر بیان ژن‌های MyoD، Myf5، MSTN و WWP1 در عضله دوسر ران جوجه‌های گوشتی. حروف غیر مشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

منابع

1. Allen, D. L., Cleary, A. S., Hanson, A. M., Lindsay, S. F. & Reed, J. M. (2010). CCAAT/Enhancer Binding Factor-Delta Expression is Increased in Fast Skeletal Muscle by Food Deprivation and Regulates Myostatin Transcription In Vitro. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 299: 1592-1601.
2. Belanto, J. J. & Silvia, V. (2010). Dexamethasone induces dysferlin in myoblasts and enhances their myogenic differentiation. *Neuromuscul. Disord.* 20: 111-121.
3. Berkes, C. A. & Tapscott S. J. (2005). MyoD and the transcriptional control of myogenesis. *Semin. Cell Dev. Biol.* 16: 585-595.
4. Gilson, H., Schakman, O., Kalista, S., Lause, P., Tsuchida, K. & Thissen, J. P. (2009). Follistatin induces muscle hypertrophy through satellite cell proliferation and inhibition of both myostatin and activin. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 297: 157-164.



5. Guernec, A., Berri, C. and Chevalier, B., Wacrenier-Cere, N., Le Bihan-Duval, E. & Duclos, M. J. (2003). Muscle development, insulin-like growth factor-I and myostatin mRNA levels in chickens selected for increased breast muscle yield. *Growth Horm IGF Res.* 13: 8-18.
6. Matsumoto, H., Maruse, H., Inaba, Y., Yoshizawa, K., Sasazaki, S., Fujiwara, A., Nishibori, M., Nakamura, A., Takeda, S., Ichihara, N., Kikuchi, T., Mukai, F. & Mannen, H. (2008). The ubiquitin ligase gene (WWP1) is responsible for the chicken muscular dystrophy. *FEBS Lett.* 582: 2212-2218.
7. Sun, L., Trausch-Azar, J. S., Muglia, L. J. & Schwartz, A. L. (2008). Glucocorticoids differentially regulate degradation of MyoD and Id1 by N-terminal ubiquitination to promote muscle protein catabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 3339-3344.

Effect of Dexamethasone on Expression of Some Growth Related Genes in Skeletal Muscle of Broiler Chickens

Ardashir Sheikhhahmadi^{1*}, Zhigang Song², Naser Karashi¹

¹Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

²Department of Animal Science, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China

* Corresponding E-mail address: A.sheikhhahmadi@uok.ac.ir

Abstract:

Effect of dexamethasone (DEX, a synthetic glucocorticoid) on skeletal muscle development in broiler chicks was investigated. Male Arbor Acres chickens (1 wk old, n=90) were injected with DEX or saline for 3 days. DEX administration resulted in growth retardation as evidenced by decreased body-weight gain and reduced breast and thigh muscle weights. The mRNA levels of myogenic determining factor (MyoD) and myogenic factor 5 (Myo5) genes in skeletal muscle was not affected by DEX injection. However, the gene expression of myostatin (MSTN) were significantly down-regulated, while the mRNA levels of chicken WW domain containing E3 ubiquitin protein ligase 1 (WWP1) were significantly up-regulated. These results suggested that DEX had no adverse effect on the generation of myoblasts, and the decreased nutrient supply and increased protein degradation were responsible for the retarded muscular development in stressed chickens.

Keywords: Broiler chickens, Dexamethasone, Gene expression, Muscle development, Myostatin.



تأثیر مراحل آبستنی روی غلظت پلاسمایی مس، روی، منگنز، سلنیوم، آهن و منگنز در میش‌های افشاری
اسلام عبداللهی^۱، حمید کهرام^{۲*}، محمد حسین شهیر^۱، محمد حسین نعمتی^۱، مراد پاشا اسکندری نسب^۱
۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

* نویسنده مسئول: حمید کهرام، تلفن: ۰۲۶۱ ۲۲۴۸۰۸۲؛ فکس: ۰۲۶۱ ۲۲۴۶۷۵۲؛ آدرس ایمیل:

kohram@can.ut.ac.ir

چکیده

هدف از تحقیق حاضر بررسی غلظت پلاسمای موادمعدنی مس، روی، آهن، سلنیوم و منگنز در میش‌های افشاری در مراحل مختلف آبستنی بود. ۸۰ رأس میش ۴ ساله از نژاد افشاری در فصل جفت‌گیری به طور تصادفی انتخاب شدند. میش‌ها از مراتع (تغذیه آزاد) تغذیه شده و در جایگاه بسته نگه‌داری می‌شدند و برای همزمانی فحلی به مدت ۱۴ روز سیدرگذاری شدند و ۴۰۰ واحد eCG در زمان برداشت سیدر به صورت عضلانی به میش‌ها تزریق شد. ۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری تعداد ۲۰ قوچ برای جفت‌گیری به گله وارد شده و قوچ‌اندازی در دو نوبت صبح و عصر صورت گرفت. در روز ۳۰ آبستنی، تشخیص آبستنی و همچنین تشخیص تعداد جنین با استفاده از دستگاه اولتراسونوگرافی به روش Transabdominal انجام گرفت و ۴۰ رأس میش تک‌قلو انتخاب شدند. طول دوره آبستنی به سه مرحله تقسیم‌بندی شد، مرحله ۱: روزهای ۵۰-۳۰ آبستنی، مرحله ۲: روزهای ۱۰۰-۵۱ آبستنی و مرحله ۳: روزهای ۱۵۰-۱۰۱ آبستنی تقسیم شد که در این مراحل خون از سیاهرگ وداج گرفته شد. اندازه‌گیری مواد معدنی در نمونه‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی صورت گرفت. داده‌ها با رویه GLM آنالیز شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری مقایسه شدند. نتایج نشان داد که با پیشرفت آبستنی غلظت عناصر مس، روی، آهن و سلنیوم پلاسما کاهش یافته به طوری که در اواخر آبستنی این روند، معنی‌دار بوده است ($p < 0.05$).

کلمات کلیدی: موادمعدنی - سیدر - eCG - آبستنی - میش‌های افشاری

مقدمه

مواد معدنی نقش اساسی را در متابولیسم، رشد و بقای بافت‌های تولیدمثلی ایفا می‌کند و ممکن است وضعیت آن‌ها در یک بافت در طی آبستنی متناسب با نیاز آن بافت تغییر کند (۸). موادمعدنی اعمال متابولیکی نظیر پاسخ ایمنی، فرایندهای فیزیولوژی مرتبط با رشد، تولیدمثل و سلامتی را برعهده دارند (۸). در گوسفندان، مکمل‌های موادمعدنی باعث بهبود عملکرد تولیدمثلی می‌شوند. گزارش شده است که جنین برای فراهم کردن موادمعدنی موردنیاز خود کاملاً به مادر وابسته است و کمبود موادمعدنی اثرات منفی روی راندمان تولیدمثلی و رشد و نمو جنین دارد (۱). کمبود مس باعث ناباروری، به تاخیر افتادن فحلی و سقط می‌شود (۹). کاهش سطوح روی در میش با کاهش باروری، فحلی غیرنرمال و سقط در ارتباط است (۹). محتوای آهن خون جنین ۲ تا ۳ برابر غلظت آن در خون مادری است و از آنجایی که مقدار آهن متصل به ترانسفرین در مادر و جنین یکسان است، افزایش سطح پلاسمایی آهن در جنین ناشی از افزایش آهن آزاد پلاسمایی است که به کمک انتقال فعال از جفت گرفته شده است. بنابراین کاهش آهن خون می‌تواند باعث بروز مشکلاتی نظیر کم‌خونی در حیوان شود (۳). کمبود سلنیوم باعث ضعف، بی‌نظمی فحلی یا فحلی خاموش، مرگ اولیه رویان، تولد نوزاد ضعیف، سقط جنین در ماده‌ها و کاهش توانایی تحرک اسپرم در نرها می‌شود. مکمل‌سازی سلنیوم باعث بهبود آبستنی در اولین سرویس می‌شود. حیواناتی که کمبود سلنیوم دارند برای شیوع جفت ماندگی، کیست‌های تخمدانی، ورم پستان و عفونت بسیار مستعد هستند که با



مکمل سازی سلنیوم این ناهنجاری ها برطرف می شود (۹). کمبود منگنز منجر به کاهش نرخ آبستنی، ناباروری، فحلی خاموش و یا بی نظمی فحلی می شود (۹). چندین گزارش وجود دارد که اثرات مراحل آبستنی روی غلظت موادمعدنی در نشخوارکنندگان را نشان می دهد (۱). اما تحقیقات بیشتری لازم است تا چگونگی روند تغییرات موادمعدنی را با پیشرفت آبستنی مورد ارزیابی قرار دهد. هدف از تحقیق حاضر بررسی غلظت پلاسمایی موادمعدنی ضروری کمیاب مس، روی، آهن، سلنیوم و منگنز در مراحل مختلف آبستنی می باشد.

مواد و روش ها

۸۰ رأس میش ۴ ساله از نژاد افشاری با وزن $61/18 \pm 1/90$ کیلوگرم در فصل جفت گیری به طور تصادفی از گله گوسفندان دانشکده علوم دامی زنجان انتخاب شدند. میش ها از مراتع (تغذیه آزاد) تغذیه شده و در جایگاه بسته نگهداری می شدند و برای همزمانی فحلی به مدت ۱۴ روز سیدرگذاری (CIDR, Eazi Breed, New Zealand) شده و ۴۰۰ واحد eCG (Bioniche New Zealand, Bioniche Pregnecol Enjection Serum Gonadotropin) در زمان برداشت سیدر به صورت عضلانی به میش ها تزریق شد. ۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری تعداد ۲۰ قوچ برای جفت گیری به گله وارد شده و قوچ اندازی در دو نوبت صبح و عصر صورت گرفت. در روز ۳۰ آبستنی، تشخیص آبستنی و همچنین تشخیص تعداد جنین با استفاده از دستگاه اولتراسونوگرافی (7.5_MHZ, Piomedical, Falco100; Holland) به روش Transabdominal انجام گرفت و ۴۰ رأس میش تک قلو انتخاب شدند. طول دوره آبستنی به سه مرحله تقسیم شده: مرحله ۱: روزهای ۳۰-۵۰ آبستنی، مرحله ۲: روزهای ۵۱-۱۰۰ آبستنی و مرحله ۳: روزهای ۱۰۱-۱۵۰ آبستنی، که در این مراحل خون از سیاهرگ وداج به گرفته شد و در مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و پلاسمای آن جدا شد. اندازه گیری نمونه ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی (Varian - model Spectra AA20) صورت گرفت. داده ها با رویه GLM (SAS Institute, Cary, NC, Version 9.1) آنالیز شد و میانگین ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی داری (Least Significant Difference) مقایسه شدند.

نتایج و بحث

در مطالعه حاضر غلظت پلاسمایی مواد معدنی در طی آبستنی در دامنه طبیعی قرار داشت (۸). با پیشرفت آبستنی غلظت عناصر روی، آهن و سلنیوم پلاسما کاهش یافته به طوری که در اواخر آبستنی این روند، معنی دار بود ($p < 0/05$).

جدول: غلظت پلاسمایی مواد معدنی مختلف در مراحل مختلف آبستنی

مواد معدنی (میکروگرم بر دسی لیتر)	مراحل آبستنی		
	روزهای ۳۰-۵۰	روزهای ۵۱-۱۰۰	روزهای ۱۰۱-۱۵۰
مس	$137/80 \pm 6/11^a$	$135/70 \pm 5/71^a$	$130/45 \pm 5/01^b$
روی	$101/53 \pm 6/22^a$	$97/07 \pm 5/76^a$	$90/80 \pm 4/62^b$
آهن	$125/67 \pm 4/11^a$	$122/33 \pm 5/04^a$	$114/26 \pm 4/62^b$
سلنیوم	$12/47 \pm 2/15^a$	$12/07 \pm 1/91^a$	$8/47 \pm 1/61^b$
منگنز	$119/23 \pm 2/17$	$118/14 \pm 2/32$	$117/18 \pm 2/45$

^{a,b} نشان دهنده اختلاف معنی دار در هر ردیف است ($p < 0/05$).



گزارش شده که غلظت مس در طی آبستنی در میش‌های دورست هورن افزایش ولی در زمان زایش کاهش می‌یابد (۲). همچنین غلظت مس با پیشرفت آبستنی هم در میش‌های تک‌قلو و هم در میش‌های دوقلو افزایش می‌یابد ولی در زمان زایش کمترین مقدار را دارا می‌باشد (۴). این نتایج ممکن است افزایش نیاز جنین به مس را نشان دهد که این کار از طریق سیستم مادری جهت رشد و نمو رویان و جنین انجام می‌گیرد (۵). غلظت روی هم در کبد جنین و هم در کبد گوسفند با پیشرفت آبستنی افزایش می‌یابد و در طی آبستنی غلظت روی کبد جنین نسبت به غلظت روی مادر افزایش می‌یابد. کاهش روی و ذخیره آن در کبد جنین با پیشرفت آبستنی را می‌توان به افزایش نیاز روی جهت رشد و نمو جنین در طی آبستنی نسبت داد (۱). همچنین علت کاهش روی در میش‌ها در نزدیکی زایش به استرس بر می‌گردد که باعث افزایش باز جذب روی در کبد و سنتز متالوتیونین می‌شود که باعث کاهش روی پلاسما می‌شود (۶). کمبود اولیه آهن در نشخوارکنندگان به ندرت اتفاق می‌افتد (۳). کاهش غلظت آهن در اواخر آبستنی در میش‌ها می‌تواند به افزایش نیاز جنین به این عنصر نسبت داده شود زیرا غلظت آهن کبد جنین با پیشرفت آبستنی افزایش می‌یابد به طوری که در ماه پنجم سطوح آن افزایش چشمگیری دارد (۴). غلظت آهن در اواخر آبستنی در کبد جنین میش کاهش می‌یابد که ناشی از کاهش انتقال آن از جفت می‌باشد (۳). در مطالعه حاضر غلظت آهن میش‌ها در اواخر آبستنی کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$) که این یافته پیشنهاد می‌کند احتمالاً میش‌ها از آهن کافی برخوردار بودند و این عنصر از طریق پلاسما به خوبی به جنین انتقال یافت (۱). در مقایسه با چند تا از عناصر معدنی دیگر، جنین منگنز را در کبد در طی آبستنی انباشته نمی‌کند (۵). به نظر می‌رسد محل اصلی ذخیره منگنز در استخوان به دلیل تشکیل استخوان جنین در طی استخوان‌سازی باشد زیرا این عنصر نقش اساسی را در تشکیل کندروئیتین سولفات به عنوان جزء ترکیبی موکوپلی‌ساکاریدها در ماتریکس استخوان دارد (۵). در مطالعه ما غلظت پلاسمایی منگنز در طی آبستنی کاهش داشته اما معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). پیش از این نیز گزارش شده است که غلظت منگنز با پیشرفت آبستنی در میش تغییری نمی‌کند (۱). گزارش شده که غلظت سلنیوم در مایع آلتوتیویک، کبد و کلیه جنین به طور معنی‌داری در اواخر آبستنی در میش افزایش می‌یابد و به طور همزمان غلظت سلنیوم در مایع آمیوتیک و پلاسمای مادر به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد در توافق با یافته فوق، غلظت سلنیوم پلاسما در اواخر آبستنی کاهش داشته است ($p < 0.05$) (۷) و کاهش غلظت پلاسمایی سلنیوم در اواخر آبستنی و زمان زایش را می‌توان به دلیل افزایش نیاز جنین جهت رشد طبیعی و تولد نوزادهای طبیعی نسبت داد (۱). نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که غلظت پلاسمایی مواد معدنی مس، روی، سلنیوم و منگنز در اواخر آبستنی به دلیل افزایش نیاز جنین برای رشد نرمال در این دوره، کاهش می‌یابد.

منابع

1. Abdelrahman, M.M., M.N. Abo-Shehada and R.M. Mukbel. 2006. Effect of stage of gestation on the accumulation of Cu, Mn, Zn, Fe and Ca in fetal tissue of Awassi ewes in northern Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*. 2, (2): 38-45.
2. Elnageeb, M.E and A.M. Abdelatif. 2010. The minerals profile in desert ewes (ovis aries): Effect of pregnancy, lactation and dietary supplementation. *American-Eurasian Journal Agriculture and Environ Science*. 7(1): 18-30.
3. Graham, T.W., M.C. Thurmond, F.C. Mohr, C.A. Holmberg, M.L. Anderson and C.L. Keen. 1994. Relationship between maternal and fetal liver copper, iron, manganese and zinc concentrations and fetal development in California Holstein dairy cows. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*. 6: 77-87.
4. Gürdoğan, F., A. Yildiz and E. Balıkcı. 2006. Investigation of serum Cu, Zn, Fe and Se concentrations during pregnancy (60, 100 and 150 days) and after parturition (45 days)



- in single and twin pregnant sheep. Turkey Journal Veterinary Animal Science. 30: 61-64.
5. Hostetler, C.E., R.L. Kincaid and M.A. Mirando. 2003. The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. Veterinary Journal. 166: 125-139.
 6. Xin, Z., D.F. Waterman, R.W. Hemken and R.J. Harmon. 1993. Copper status and requirement during the dry period and early lactation in multiparous Holstein cows. Journal of Dairy Science. 76: 2711- 2716.
 7. Ghany-Hefnawy, A.E., R. L'opez -Arellano, A. Revilla- V'azquez, E. Ram'irez -Bribiesca and J. T'ortora-P'erez. 2007. The relationship between fetal and maternal selenium concentrations in sheep and goats. Small Ruminant Research. 73:174-180.
 8. Underwood, E.J and N.F. Suttle. 1999. The mineral nutrition of livestock. CABI, publishing, New York, NY.
 9. Upadhyay, S.R., A.K. Singh, N. Sharma, P.R. Kuma, K. Hussain and J.S. Soodan. 2006. Impact of minerals upon reproduction in farm animals. Division of clinical veterinary medicine and jurisprudence, Faculty of Veterinary Science and Animal Husbandry, SKUAST-J, RS Pura, Jammu, 181-102 (J&K).

Effect of stage of gestation on the concentration of Copper, Zinc, Iron, Selenium and Manganese in Afshari ewes

Eslam abdollahi¹, Hamid kohram ^{2*}, Mohmmad Hossein Shahir¹, Mohmmad Hossein Nemati¹, Moradpashah Eskandarinasab¹

¹Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

²Department of Animal Science, Faculty College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

*Corresponding author at: Department of Animal Science, Faculty College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Po. Box 31587-77871, Karaj, Iran. Tel.: +98

261 2248082; Fax: +98 261 2246752. E-mail address: kohram@can.ut.ac.ir.

Abstract

The aim of this study was to monitor changes in concentrations of copper (Cu), zinc (Zn), iron (Fe), selenium (Se) and manganese (Mn) in grazing Afshari ewes at different stages of gestation. Eighty 4 year old Afshari ewes, during breeding season, selected randomly. The ewes synchronized with CIDR for 14 days. 400 IU of eCG injected IM at the time of CIDR removal. Twenty four hours after CIDR removal, all ewes in estrus were mated twice daily (morning and evening) with twenty fertile rams of the same breed. On the thirtieth day , pregnancy and the number of fetuses were determined by transabdominal ultrasonography and forty single pregnant ewes were selected. The pregnancy period were grouped into three stages: stage 1, 30 to 50, stage 2, 51 to 100 and stage 3, 101 to 150 days of pregnancy. Blood samples were collected at these stages from jugular vein. All samples were analyzed for Cu,



Zn, Fe, Se and Mn by atomic absorption spectrophotometry. The general linear model procedure of SAS version 9.1 was used to analyze the data for a completely randomized design. Means were compared using the Least Significant Difference (LSD) test. Results indicated that plasma concentrations of Cu, Zn, Fe, Se decreased with advancing the stages of pregnancy. The levels of these minerals were significant at last stage of pregnancy than early and middle pregnancy ($p<0.05$).

Keywords: Mineral- CIDR- eCG- pregnancy- Afshari ewes



تاثیر حذف خوراک و تراکم در حمل و نقل پیش از کشتار جوجه های گوشتی بر تغییرات pH گوشت سینه

بهناز رضایی^۱، محمد حسین شهیر^۲، محمد جوکی^۳

۱ - دانشجوی کارشناسی ارشد مدیریت دامپروری دانشگاه زنجان، ۲- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه

زنجان، ۳- مسئول آزمایشگاه بیولوژی مواد غذایی دانشگاه تهران

*نویسنده مسئول: بهناز رضایی، Rezaei.behnaz2011@yahoo.com

چکیده:

برای بررسی تاثیر استرس حمل و نقل بر تغییرات pH گوشت سینه مرغ، تعداد ۱۶۰ جوجه گوشتی نر از نژاد کاب ۵۰۰ در سن ۴۲ روزگی بطور تصادفی از گله انتخاب شدند و در قالب یک آزمایش فاکتوریل ۲×۲×۲ تحت تیمارهای زمان حذف خوراک (بدون حذف خوراک یا ۸ ساعت حذف خوراک پیش از کشتار)، مدت زمان حمل و نقل (۱ یا ۴ ساعت) و تعداد پرند به ازای هر قفس (۶ یا ۱۶ پرند در هر قفس) قرار گرفتند. پس از کشتار pH گوشت سینه در سه زمان (۴۵ دقیقه، ۸ و ۲۴ ساعت) اندازه گیری شد. جهت آنالیز آماری داده ها از رویه اندازه گیریهای مکرر (repeated measure) استفاده شد. نتایج آزمایش نشان داد که قطع مصرف خوراک ($p < 0.05$) و مدت زمان حمل و نقل ($p < 0.01$) بر تغییرات pH گوشت پس از کشتار تاثیر داشته ولی تراکم در قفس تاثیری نداشت. PH گوشت سینه پس از کشتار افت کرده ($p < 0.01$) و پس از ۸ ساعت ثابت ماند. اثرات متقابل زمان حذف خوراک با زمانهای مختلف اندازه گیری pH معنی دار بود ($p < 0.01$). مدت زمان حمل و نقل با زمانهای اندازه گیری pH اثر متقابل معنی داری نشان نداد. مرغهایی که زمان گرسنگی و حمل و نقل بیشتری داشتند pH نهایی گوشت آنها بیشتر بود. در مجموع نتایج تحقیق نشان داد که عوامل مدیریت حمل و نقل بر تغییرات pH گوشت پس از کشتار و در نتیجه کیفیت گوشت کاملاً موثر می باشند.

کلمات کلیدی: استرس حمل و نقل - کیفیت گوشت - جوجه گوشتی - حذف خوراک - تراکم - pH.

مقدمه:

جوجه های گوشتی در زمان ارسال به کشتارگاه تحت تاثیر عوامل مدیریتی مختلفی قرار می گیرند که برای آنها استرس زا هستند. (۳) این عوامل با افزایش ترشح آدرنالین و گلیکولیز بی هوازی موجب تخلیه گلیکوژن عضلانی می شوند که در نهایت باعث عدم افت کافی pH پس از کشتار و افزایش pH نهایی گوشت می شوند. (۴) میزان تغییرات pH عضله پس از کشتار، چندین ویژگی کیفی گوشت از جمله تردی، ظرفیت نگه داری آب، رنگ و نیروی برش را تحت تاثیر قرار می دهد. (۶) اگر pH عضله به سرعت در ساعت اول پس از کشتار به ۵/۴ تا ۵/۵ برسد منجر به ایجاد حالت^۱ PSE (گوشت نرم، رنگ پریده و دارای خاصیت آب آوردگی) می شود. همچنین اگر pH عضله پس از کشتار به میزان ناچیزی افت کند و سپس در سطح نسبتاً بالا، پایدار بماند حالت^۲ DFD (گوشت خشک، تیره رنگ و سفت) را در گوشت ایجاد می کند که هر دو نوع این گوشت ها نامطبوع اند. (۱) از آنجا که pH نقش اساسی در شکل گیری فاکتور های کیفی گوشت دارد این تحقیق برای ارزیابی تغییرات pH پس از کشتار و تاثیر عوامل مدیریتی حمل و نقل بر آن پایه ریزی شد.

مواد و روش ها:

تعداد ۱۶۰ جوجه گوشتی نر از نژاد کاب ۵۰۰ در سن ۴۲ روزگی بطور تصادفی از گله انتخاب شدند و در یک آزمایش فاکتوریل ۲×۲×۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار تحت تیمارهای زمان حذف خوراک (بدون حذف خوراک یا ۸ ساعت حذف خوراک پیش از کشتار)، مدت زمان حمل و نقل (۱ یا ۴ ساعت) و تعداد پرند در هر قفس (۶ یا ۱۶ پرند در هر

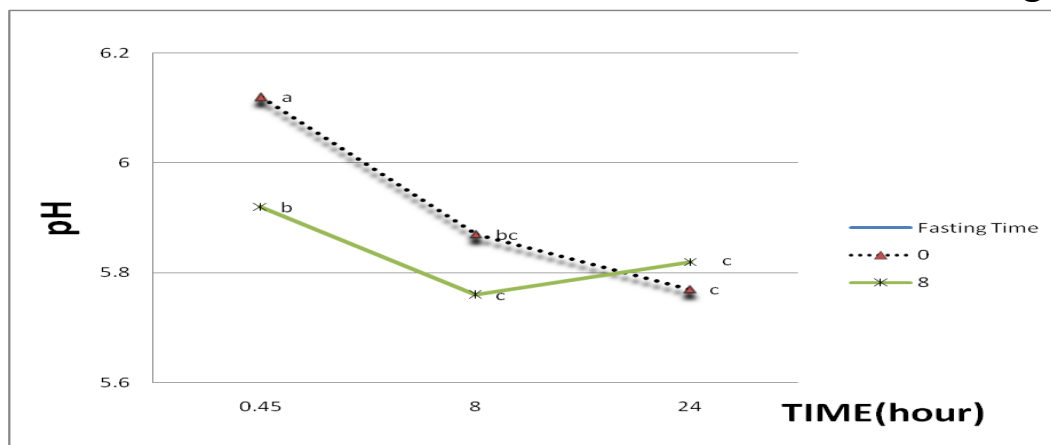
^۱ . pole, soft, exudative

^۲ . dry, firm, dark

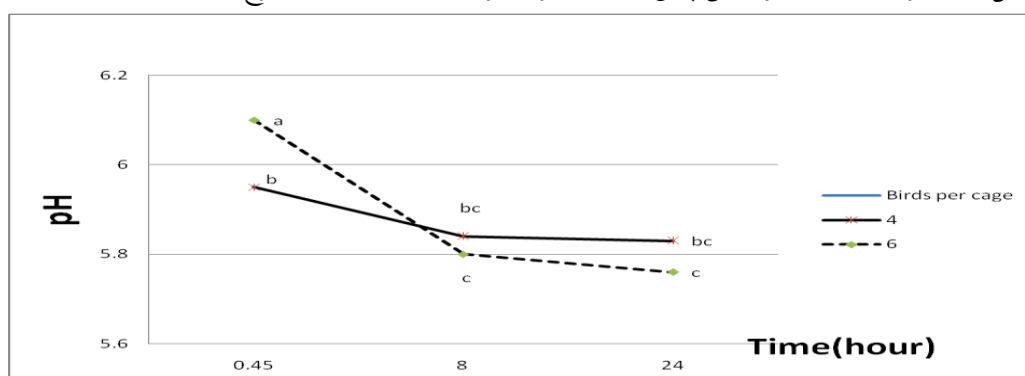


قفس قرار گرفتند. آزمایش در فصل زمستان انجام گرفت. پس از کشتار pH گوشت سینه توسط دستگاه pH متر نیزه ای دیجیتالی Hana در سه زمان (۴۵ دقیقه، ۸ و ۲۴ ساعت) اندازه گیری شد. جهت آنالیز آماری داده ها از رویه اندازه گیریهای مکرر (repeated measure) نرم افزار SPSS18 استفاده شد.

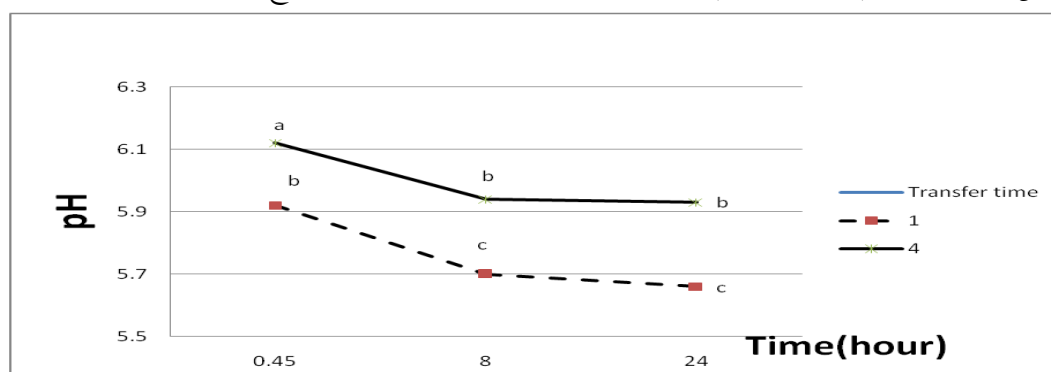
نتایج و بحث :



شکل ۱- تاثیر مدت زمان گرسنگی پیش از کشتار بر تغییرات pH گوشت سینه مرغ بعد از کشتار



شکل ۲- تاثیر تعداد پرنده در قفس پیش از کشتار بر تغییرات pH گوشت سینه مرغ بعد از کشتار



شکل ۳- تاثیر مدت زمان حمل و نقل پیش از کشتار بر تغییرات pH گوشت سینه مرغ بعد از کشتار

نتایج حاصل از این آزمایش در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است. همانگونه که در شکل ۱ نشان داده شده است حذف خوراک پیش از کشتار باعث شده است که منحنی افت pH در طی ۲۴ ساعت پس از کشتار متفاوت باشد ($P < 0.05$). هر چند که pH نهایی (۲۴ ساعت پس از کشتار) معنی دار نیست. pH بلافاصله پس از کشتار (۴۵ دقیقه پس از کشتار) بین دو زمان حذف خوراک متفاوت است ($P < 0.01$) و در جوجه هایی که ۸ ساعت گرسنگی داشته اند pH پایین تری مشاهده شد. تعداد پرنده در هر قفس در مجموع اثر معنی داری بر pH گوشت سینه داشت (شکل ۲) ولی ۴۵ دقیقه پس از کشتار pH پایین تری



در قفس های ۴ تایی مشاهده شد ($P < 0.05$) هرچند که pH نهایی در هر دو گروه یکسان بود. زمان حمل و نقل (شکل ۳) تاثیر معنی داری بر pH گوشت سینه بعد از کشتار داشت ($P < 0.01$). pH نهایی بعد از کشتار در گروه ۴ ساعت زمان حمل و نقل خیلی بالاتر بود (۵/۹ در برابر ۵/۷).

حمل و نقل بعنوان یک عامل استرس زای شدید منجر به تخلیه گلیکوژن عضلانی قبل از مرگ و pH اولیه ی بالا پس از مرگ می شود. (۵) پس از کشتار و خونگیری ذخیره ی اکسیژن به پایان می رسد و متابولیسم هوازی متوقف شده و عضله به سمت متابولیسم بی هوازی تغییر مسیر می دهد. طی این مسیر گلیکوژن ذخیره شده در عضلات به مصرف رسیده و سپس گلیکولیز بی هوازی کند یا متوقف می شود. (۲) در این حالت تراکم اسید لاکتیک در عضلات موجب کاهش pH می شود و pH نهایی گوشت به مقدار گلیکوژن موجود در عضله در زمان خونگیری بستگی دارد. مقادیر نهایی pH در زمان های مختلف پس از مرگ وابسته به گونه، تیپ عضلات، استرس در طول مدیریت قبل از کشتار و بلافاصله قبل از کشتار است. در مدت ۶ تا ۸ ساعت پس از مرگ، کاهش طبیعی pH در عضله از حدود ۷/۰ به ۵/۶ تا ۵/۷ می رسد. البته گاهی استرس های شدید و طولانی مدت قبل از کشتار منجر به تخلیه گلیکوژن عضلانی، تولید اسید لاکتیک و وارد شدن آن به خون می شود. در لحظه ی بعد از کشتار به دلیل مصرف شدن گلیکوژن، pH افت چندانی نخواهد داشت. pH اولیه پایین منجر به ایجاد حالت PSE در گوشت می شود که رنگ پریده، نرم و دارای ظرفیت پذیرش آب پایینی است و در اثر اسیدیته ی بالا پروتئین های عضلانی دناتوره شده و رسوب می کنند و کیفیت گوشت بسیار نامناسب است. حالت DFD در گوشت که گوشتی تیره رنگ، خشک و دارای ظرفیت نگه داری آب بسیار بالاست و مستعد فساد میکروبی سریع تر است. (۴)

توصیه شده است که خوراک ۸ تا ۱۰ ساعت قبل از ارسال جهت کاهش آلودگیهای لاشه حذف شود. (۵) پرندگانی که خوراک در اختیار داشتند بدلیل قرار گرفتن تحت عوامل استرس زای دیگر احتمالاً از منابع گلیکوژن کبدی جهت تامین انرژی انرژي های مرتبط با هضم خوراک، استفاده کرده اند و مقداری از گلیکوژن صرف متابولیسم غذا شده است. بنا بر این پس از کشتار pH اولیه بالاتری داشته اند. در این زمینه نیاز به تحقیقات بیشتری وجود دارد. pH نهایی برای ساعات حذف خوراک معنی دار نبود. در ۴ ساعت حمل و نقل در مقایسه با ۱ ساعت، به دلیل استرس طولانی تر قبل از کشتار گلیکوژن عضلانی بیشتری تخلیه شده و تبدیل به اسید لاکتیک شده و وارد جریان خون شده است و پس از کشتار گلیکوژن موجود در عضله کمتر بوده است. بنا بر این از میان عوامل مورد بررسی قرار گرفته مدت زمان حمل و نقل مهم ترین عامل استرس زای باشد که تاثیر بیشتری بر تغییرات pH و کیفیت گوشت دارد و پس از آن ساعات حذف خوراک و بعد تراکم در قفس اهمیت دارند. بنا بر این پیشنهاد می شود که حتی الامکان فاصله مرگداری تا کشتار گاه کوتاهتر در نظر گرفته شود.

منابع:

1. Addzity, F. 2011. Effect of pre-slaughter animal handling on carcass and meat quality. Internatunal food research jornal, 18:485-491.
2. Eric, P.B. 1998. Effect of stress on meat yield and quality. university of Missouri, MO 65211.
3. Knowles, T.G., D.M. Broom. 1990. The handling and transport of broilers and spent hens. APPL. Anim. Behav. Sci, 28:75-91.
4. Monin, G. 2004. Deviations Conversion of muscle to meat: Colour and texture. Encyclopedia of Meat science. Jenson, W.K., devine, C., and Dikeman, M. (Eds) ELSEVIER.
5. Richardson, R.I., G.C Mead. The Royal Vetrinary College. Poultry Meat Science book. 2002. Edited by: UK. ISBN 0 851992374.



6. Uijtenboogaart, T.G. 1996. Poultry handling slaughter and primary processing. In: Taylor, S.A., Severini, M., Raimundo, A., and Smulders, F.J.M. (Eds) Meat quality and Meat processing, ECCEAMST, Utrecht, the Netherlands, pp:125-136.

Effect of Transport feed withdrawal and density before slaughter on pH changes in broiler breast meat

Behnaz rezaei^{1*}, Mohammad hossein Shahr², Mohammad Jouki³

^{1, 2} Department of animal science, university of Zanjan and ³ Responsible in food Biology Laboratory of Tehran University

*Corresponding E. mail address :Rezaei.behnaz2011@yahoo.com

Abstract:

In order to study the effects of transport stress on postmortem pH change, 160 male Cobb500 broilers were used in a 2×2×2 factorial experiment with 4 replicates. The studied factors were: feed withdrawal time (0 or 8 hours), Transport duration (1 or 4 hours) and birds number per cage (4 or 6). Breast meat's pH were measured at 0.45 min, 8 and 24 hours post slaughter. Data were analyzed using repeated measurement procedure of SPSS. The results showed that feed withdrawal time ($p < 0.05$) and transport duration ($p < 0.01$) had significant effect on breast meat pH, without any significant effect of cage density. The breast meat pH declined until 8 hours post slaughter and then remained constant. The interactions between feed withdrawal and measurement time were significant. The birds that had more fasting and transport time had higher ultimate pH. In conclusion the transport stress may have a considerable effect on pH change and meat quality of broiler meats.

Key words: Transport stress, Meat quality, pH, Broiler, Feed withdrawal, density.



اثر عصاره هیدروالکلی شبدر قرمز روی پارامترهای حرکتی و سلامت غشا اسپرم قوچ

پریسا صوفی^{۱*}، فرهاد فرخی اردبیلی^۲، حسن ملکی نژاد^۲ و ایرج برنوسی^۲

۲ - دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه ارومیه

۲- عضو هیئت علمی دانشگاه ارومیه

*نویسنده مسئول: پریسا صوفی، Sofiparisa@yahoo.com

چکیده

استروژن نقش مهمی در توسعه و کنترل سیستم تولیدمثلی جنس نر بازی می‌کند. ترکیبات استروژنی خواص بیولوژیکی خود را از طریق اتصال به گیرنده‌های ژنی و غیرژنی استروژن اعمال می‌کنند. هدف این مطالعه بررسی اثر احتمالی عصاره شبدر قرمز (بعنوان منبعی از فیتواستروژن‌های طبیعی) روی تحرک و سلامت غشا اسپرم قوچ می‌باشد. برای این منظور نمونه‌های حاوی اسپرم در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. منی از ۴ راس قوچ بالغ جمع‌آوری شد. مایع منی بوسیله‌ی رقیق‌کننده‌ی تریس که حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌ی برگ شبدر قرمز بود (۰، ۰/۵، ۱ و ۲٪) رقیق شد، در ۴ درجه سانتی-گراد نگهداری و در زمان‌های مختلف (۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) بررسی شد. تحرک اسپرم با استفاده از سیستم Computer Assisted Sperm Analyzer (CASA) بررسی شد. تست Hypoosmotic swelling test (HOST) برای بررسی سلامت غشا اسپرم استفاده شد. طرح فاکتوریل بوسیله نرم‌افزار SAS برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. عصاره شبدر قرمز با افزایش غلظت و زمان تمام پارامترهای حرکتی بجز BCF را بطور معنی‌داری ($p \leq 0.01$) کاهش داد. بعلاوه سلامت غشا اسپرم با استفاده از بیشترین غلظت عصاره شبدر قرمز بیشتر کاهش یافت. داده‌های ما نشان می‌دهد عصاره شبدر قرمز اثر منفی روی تحرک و سلامت غشا اسپرم قوچ دارد.

واژه‌های کلیدی: شبدر قرمز- فیتواستروژن- اسپرم قوچ- تحرک اسپرم

مقدمه

فیتواستروژن‌ها ترکیبات استروژنی هستند که در گیاهان یافت می‌شوند (۸). اخیراً نشان داده‌اند که عصاره شبدر قرمز حاوی مقادیر قابل توجهی از فیتواستروژن‌های دایزئین، بیوجنین و فورموننتین است و این امر نشان می‌دهد که شبدر قرمز می‌تواند جایگزینی برای هورمون درمانی و تعدیل‌کننده‌ی گیرنده‌های استروژنی باشد (۶).

در یک بررسی نشان دادند میش‌هایی که از شبدر استرالیایی استفاده کرده بودند غلظت هورمون‌های آندروژن پلاسمایی آنها غیرطبیعی و باروری آنها پایین بود (۴). اخیراً ثابت کرده‌اند که یک گیرنده غیرژنی استروژن روی غشا اسپرم انسان وجود دارد (۹)، و شبدر قرمز می‌تواند بعنوان لیگاند فعال‌کننده‌ی گیرنده‌ی استروژنی عمل کند (۳). در حیوانات آزمایشگاهی اثرات منفی مصرف استروژن یا ترکیبات شبه استروژنی را روی دستگاه تولیدمثلی جنس نر ثابت کردند (۱۱). بر اساس مطالعات فیتواستروژن‌ها در مردان باعث کاهش کیفیت اسپرم می‌شود (۲). بطورکلی فیتواستروژن‌ها در تولید مثل و باروری جنس نر اثرات آنتی‌آندروژنی دارد، و در جنین و در دوران پس از تولد ممکن است مانع تولید تستوسترون شود (۷). این اثرات فیتواستروژن‌ها روی باروری ممکن است باعث ایجاد این فرضیه شود که ترکیبات استروژنی موجود در شبدر احتمالاً اثرات مضر روی باروری دارد (۱۲).

تاکنون گزارشی در رابطه با اثر عصاره شبدر قرمز روی سلول بالغ اسپرم قوچ انجام نگرفته است. هدف این طرح بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ شبدر قرمز روی پارامترهای حرکتی و سلامت غشا اسپرم قوچ می‌باشد.



مواد و روش‌ها

برگ‌های شبدر قرمز پس از جمع‌آوری از شهرستان ارومیه و شناسایی در مرکز تحقیقات کشاورزی عصاره هیدروالکلی (متانول ۶۰٪) آن تهیه شد. جمع‌آوری منی از ۴ راس قوچ قزل با استفاده از مهبل مصنوعی انجام گردید. نمونه‌های منی پس از ارزیابی اولیه باهم مخلوط شدند و سپس با استفاده از رقیق کننده تریس-زرده تخم مرغ حاوی غلظت‌های مختلف عصاره برگ شبدر قرمز (۰، ۰/۵، ۱ و ۲٪) بصورت ۱۰۰ میلیون اسپرم در میلی‌لیتر رقیق شدند، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، و در ساعات ۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ از لحاظ تحرک و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای بررسی سلامت غشا اسپرم از تست تورم هیپواسموتیک (HOST) استفاده شد. برای این منظور ۲۰ میکرولیتر از هر نمونه با ۲۰۰ میکرولیتر محلول تست مخلوط شد، سپس ۱۰ میکرولیتر از آن توسط میکروسکوپ فازکنتراست (Labomed LX400) با بزرگنمایی ۴۰x مشاهده شد و درصد اسپرم‌های با دم پیچیده (اسپرم‌های با غشا سالم) تعیین شد. برای بررسی پارامترهای حرکتی از سیستم CASA استفاده شد. برای این منظور ۱۰ میکرومول از هر نمونه روی لام قرار گرفت و بوسیله میکروسکوپ و سیستم CASA (sperm 2.1, VideoTest, Russia) مشاهده و بررسی شد. پارامترهای

اندازه‌گیری شده عبارتند از: Average path velocity (VAP ($\mu\text{m/S}$))

Straight line velocity (VSL ($\mu\text{m/S}$)). Curvilinear path velocity (VCL ($\mu\text{m/S}$))

Amplitude of lateral head displacement (ALH (μm)). Linearity (LIN (%))

Beat- cross frequency (BCF (Hz)). Straightness (STR (%))

داده‌ها بصورت طرح کاملاً تصادفی در قالب طرح فاکتوریل و با استفاده از نرم افزار SAS ($p \leq 0.05$) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر غلظت عصاره در مورد همه پارامترها و اثر زمان در مورد همه پارامترها بجز STR معنی‌دار بود ($p \leq 0.01$). اما اثر متقابل زمان و غلظت در مورد هیچ‌کدام از پارامترها معنی‌دار نبود. جدول ۱ نشان می‌دهد که کیفیت تحرک اسپرم‌ها بجز BCF در گروه کنترل بطور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود و با افزایش غلظت عصاره، پارامترهای حرکتی اسپرم‌ها بیشتر کاهش یافت. درصد اسپرم‌های با غشای سیتوپلاسمی سالم در گروه کنترل بطور معنی‌داری بیشتر بوده و با افزایش غلظت عصاره کاهش بیشتری می‌یابد.

با توجه به جدول ۲ با افزایش زمان تمامی پارامترهای مربوط به سرعت حرکت اسپرم‌ها (VAP، VSL و VCL) کاهش معنی‌داری داشتند. و در مورد پارامترهای معرف الگوی حرکتی اسپرم‌ها، تنها مقادیر LIN کاهش معنی‌داری داشت، ولی تغییرات مقادیر STR معنی‌دار نبود. همچنین با افزایش زمان نگهداری اسپرم‌ها درصد اسپرم‌های با غشا سالم نیز کاهش یافت. در این آزمایش اثرات مضر عصاره شبدر روی پارامترهای حرکتی و سلامت غشای سیتوپلاسمی اسپرم قوچ کاملاً مشهود بود.

در یک مطالعه گیاه گل بشقابی که حاوی ترکیبات فیتواستروژنی، فلاونوئیدها و تانن است در رت‌های نر باعث کاهش تحرک اسپرم شد (۱). بر اساس مطالعات فیتواستروژن‌ها در مردان باعث کاهش کیفیت اسپرم می‌شود (۲). در حیوانات آزمایشگاهی اثرات منفی مصرف استروژن یا ترکیبات شبه استروژنی را روی دستگاه تولیدمثلی جنس نر ثابت کردند (۱۱). رژیم غذایی حاوی ۲۰، ۳۰ و ۵۰ درصد سویا که حاوی ترکیبات فیتواستروژنی است در سیستم تولید مثل موش‌های نر آزمایشگاهی اثر



منفی داشت (۲). این نتایج موافق با نتایج ما هستند. لذا احتمالاً اثرات مضر مشاهده شده در آزمایش حاضر ناشی از اثرات فیتواستروژن‌های موجود در عصاره شبدر قرمز باشد.

در یک مطالعه اضافه کردن جنیستین در مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول اثر معنی‌داری روی میزان واکنش آکروزومی اسپرم‌های زنده قوچ نداشت (۵). در مطالعه دیگر افزودن ۱۰ میکرومول جنیستین به محلول انجماد اسپرم انسان، باعث بهبود اندکی در تحرک اسپرم‌ها شد (۱۰)، این تأثیر مثبت جنیستین را ناشی از اثرات آنتی‌اکسیدانتی آن دانسته‌اند. دلیل تناقض این مطالعات با تحقیق حاضر را می‌توان ناشی از اختلاف در غلظت فیتواستروژن‌های مورد استفاده و همچنین احتمالاً بدلیل وجود فیتواستروژن‌های متفاوت در شبدر قرمز، و تفاوت در طول دوره آزمایش دانست. بر اساس این تحقیق اضافه کردن عصاره شبدر قرمز باعث کاهش توانایی رقیق کننده زرده تخم مرغ-تریس در نگهداری اسپرم قوچ می‌شود. برای روشن‌تر شدن نتیجه انجام آزمایشات بیشتر ضروری بنظر می‌رسد.

جدول ۱- میانگین اثر عصاره برگ شبدر قرمز در پنج زمان روی پارامترهای اسپرم قوچ در غلظت‌های مختلف

HOST (%)	پارامترهای حرکتی اسپرم							غلظت عصاره
	STR (%)	LIN (%)	BCF (Hz)	ALH (μm)	VCL (μm/S)	VSL (μm/S)	VAP (μm/S)	
۵۳/۴±۱/۷۲ ^a	۷۰/۹±۱/۰۶ ^a	۲۱/۷±۱/۰۶ ^a	۸/۷±۰/۰۷ ^b	۱/۶±۰/۰۹ ^a	۹۲/۵±۴/۱۰ ^a	۲۳/۲±۱/۶۰ ^a	۳۰/۰±۲/۲۳ ^a	%۰
۴۳/۲±۲/۰۵ ^b	۶۴/۸±۱/۸۵ ^b	۱۸/۹±۱/۳۲ ^b	۹/۱±۰/۰۶ ^b	۱/۲±۰/۰۸ ^b	۷۶/۶±۵/۲۱ ^b	۱۸/۹±۱/۷۹ ^b	۲۵/۳±۲/۷۳ ^b	%۰/۵
۳۸/۶±۲/۱۸ ^c	۶۶/۳±۱/۷۲ ^b	۱۹/۲±۱/۳۱ ^b	۹/۰±۰/۰۴ ^b	۱/۲±۰/۰۷ ^b	۷۵/۶±۴/۶۳ ^b	۱۸/۱±۱/۶۶ ^b	۲۴/۵±۲/۵۲ ^b	%۱
۳۰/۰±۳/۰۱ ^d	۶۲/۷±۱/۶۱ ^b	۱۶/۵±۱/۴۷ ^c	۹/۰±۰/۰۵ ^b	۱/۰±۰/۰۸ ^c	۶۲/۰±۴/۹۸ ^c	۱۳/۷±۱/۶۶ ^c	۱۹/۳±۲/۷۶ ^c	%۲

در هر ستون میانگین‌هایی که با حروف متفاوت مشخص شده‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند. ($p \leq 0.01$)

جدول ۲- میانگین اثر چهار غلظت عصاره برگ شبدر قرمز روی پارامترهای اسپرم قوچ در زمان‌های مختلف

HOST (%)	پارامترهای حرکتی اسپرم							زمان (h)
	STR (%)	LIN (%)	BCF (Hz)	ALH (μm)	VCL (μm/S)	VSL (μm/S)	VAP (μm/S)	
۵۵/۱±۲/۱۳ ^a	۶۵/۱±۱/۷۰	۲۵/۲±۰/۹۶ ^a	۸/۷±۰/۰۷ ^b	۷/۱±۰/۰۶ ^a	۱۰۷/۹±۲/۷۸ ^a	۲۷/۲±۲/۶۱ ^a	۴۱/۸±۱/۵۱ ^a	۰
۴۴/۵±۲/۷۴ ^b	۶۷/۲±۱/۸۲	۲۰/۲±۱/۲۲ ^b	۸/۹±۰/۰۶ ^{a b}	۱/۴±۰/۰۷ ^b	۸۸/۵±۳/۴۷ ^b	۲۱/۶±۱/۴۲ ^b	۲۸/۷±۱/۷۰ ^b	۲۴
۳۸/۳±۲/۹۴ ^{b c}	۶۸/۱±۱/۹۲	۲۰/۳±۱/۳۳ ^b	۸/۹±۰/۰۷ ^{a b}	۱/۲±۰/۰۹ ^{b c}	۷۷/۶±۴/۷۴ ^b	۱۹/۲±۱/۷۸ ^{b c}	۲۵/۷±۲/۴۱ ^b	۴۸
۳۶/۳±۲/۷۵ ^{c d}	۶۴/۰±۰/۰۴	۱۵/۹±۱/۱۶ ^{b c}	۹/۰±۰/۰۶ ^a	۱/۰±۰/۰۷ ^c	۶۳/۸±۴/۱۵ ^c	۱۴/۲±۱/۵۳ ^{c d}	۱۷/۸±۱/۸۱ ^c	۷۲
۳۰/۸±۲/۴۶ ^d	۶۲/۲±۱/۹۲	۱۲/۵±۱/۰۶ ^c	۹/۰±۰/۰۴ ^a	۰/۸±۰/۰۶ ^d	۵۰/۲±۳/۷۹ ^d	۹/۱±۱/۳۳ ^d	۱۴/۱±۱/۶۵ ^c	۹۶

در هر ستون میانگین‌هایی که با حروف متفاوت مشخص شده‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند. ($p \leq 0.01$)

منابع

- ۳ - حیدری، م.، جمشیدی، ا. ح.، اخوندزاده، ش.، غفاری نوین، م.، صادقی، م.، قاضی خوانساری، م.، و اخوندی، م. م. ۱۳۸۵. اثر گیاه گل بشقابی بر روند اسپرماتوژنز. ص ۳۶۷ تا ۳۷۴.
- ۴ - مدرسی، م.، مصری پور، م.، خرمی، ح. ۱۳۸۹. تأثیر تغذیه با دانه سویا بر فیزیولوژی تولیدمثل موش نر آزمایشگاهی. مجله ارماغان دانش دوره ۱۵ شماره ۴ (پیاپی ۶۰).



- 3- Beck, V., E. Untrieder, L. Krenn, W. Kubelka and A. Jungbaure. 2003. Comparison of hormonal activity of standardized plant extract for large scale use in hormone replacement therapy. *Journal of Molecular Biology*. 84:259-268.
- 4- Bennett, H.W., E.J. Underwood and F.L. Shier. 1946. A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in Western Australia. *Australian Veterinary Journal*. 22:2-12.
- 5- Bryant, W.D., A.A. Grippo, D.W. Kennedy and W.D. Humphrey. 2000. Effects of genistein on viability and acrosome reaction on ram sperm using a dual fluorescent staining procedure. *Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science*. 74: 157-168.
- 6- Dornstauder, E., E. Jisa, I. Unterrieder, L. Krenn and W. Kubelka. 2001. Food supplement on reproductive health in normal males. *Journal Clinical Science*. 100: 613-8.
- 7- Haavisto, T., K. Numela, R. Pohjanvirta, H. Huuskonen, F. El-Gehani and J. Paranko. 2001. Prenatal testosterone and LH levels in male rats exposed during pregnancy to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and diethylstilbestrol. *Journal Molecular and Cellular Endocrinol*. 178:169-179.
- 8- Kurzer, M.S. 1997. Dietary phytoestrogens. *Journal Nutrition Reviews*. 17:353-381.
- 9- Luconi, M., M. Muratori, G. Forti and E. Baldi. 1999. Identification and characterization of an oval functional estrogen receptor on human sperm membrane that interferes with progesterone effects. *Journal Endocrinology and Metabolism*. 84:1670-1678.
- 10- Martinez-Soto, J.C., J. DiosHourcade, A. Gutiérrez-Adán, L.J. Lorenzo Landeras and Gadea, J. 2010. Effect of genistein supplementation of thawing medium on characteristics of frozen human spermatozoa. *Asian Journal of Andrology*. 12:431-441
- 11- Mclachlan, J.A., R.R. Newbold and B. Bullock. 1975. Reproductive tract lesions in male mice exposed prenatally to diethylstilbestrol. *Journal animal Science*. 190: 991-992.
- 12- Shutt. D.A. 1976. The effects of plant oestrogens on animal reproduction. *Journal Endeavour*. 35:110-113.

Effect of red clover hydroalcoholic extract on motility and membrane integrity of ram sperm
Parisa Soufi^{1*}, Farhad Farrokhi Ardebily², Hasan Malekinejad², Eiraj Bernoosy²

1-MSc student of Animal Physiology, urmia University

2- Members of scientific boards, department of urmia University, Iran

* Corresponding: Parisa Soufi, sofiparisa@yahoo.com

Abstract

Estrogens are playing key roles in male reproductive development. Estrogens and estrogen-like compounds exert their biological effects via binding to estrogen receptors. In this study we aimed to investigate the possible effects of red clover (RC) hydroalcoholic extract (as a natural source of phytoestrogens) on ram sperm motility and membrane integrity during the storage period at 4 °C. semen samples, collected from 4 adult rams. The semen samples were diluted with Trice solution containing various concentrations (0, 0.5, 1 and 2 %) of RC leaves extract stored for different periods of time (0, 24, 48, 72 and 96 h) at 4 °C. Sperm motility was assessed using the computer assisted sperm analyzer (CASA). The hypo-osmotic sperm swelling test (HOST) was also performed to evaluate the sperm cells membrane integrity. The factorial procedure of SAS system was used to analysis of data. RC extract in a concentration- and time-dependent fashion declined significantly ($P < 0.01$) all the motility factors except the BCF. Moreover, sperm membrane integrity was attenuated by using high



concentration of RC extract. Our data suggest that RC extract exerts negative impact on sperm motility and membrane integrity.

Key words: Red Clover – phytoestrogen - Ram Sperm - Sperm Motility



تأثیر سطوح مختلف گیاه چویر (*Ferulago angulata*) بر پاسخ سیستم ایمنی در بلدرچین ژاپنی

عاطفه آزادگان^{۱*}، فیروز صمدی^۲، سید رضا هاشمی^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

^۲ عضو هیئت علمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

* عاطفه آزادگان، atefe.azadegan@yahoo.com

مقدمه:

رادیکال‌های آزاد به عنوان یکی از اصلی‌ترین عوامل بروز شرایط پاتولوژیکی در بسیاری از بیماری‌های طیور شناخته شده‌اند، از این رو افزایش قدرت سیستم ایمنی برای مقابله با آن‌ها بسیار حائز اهمیت است. این رادیکال‌ها از منابع داخل (اندوجنوس) و خارج بدن (اگزوجنوس) ایجاد می‌شوند. رادیکال‌های حاصل از فرآیند‌های داخل بدن در نتیجه تنفس هوازی نرمال و متابولیسم، و التهاب تشکیل می‌شوند. رادیکال‌های آزاد اگزوجنوس نیز از فاکتورهای محیطی مانند آلودگی ناشی می‌شوند (۸). در سراسر جهان بیماری‌های عفونی به خاطر تلفات زیاد در حیوانات اهلی و ماکیان باعث نگرانی شده‌اند، از این رو، یکی از راه‌های بهبود ایمنی طیور و کاهش ابتلا به بیماری‌های عفونی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان محرک‌های سیستم ایمنی می‌باشد. این ترکیبات جذب و یا دسترسی به مواد ضروری برای رشد را در بدن حیوان تسهیل می‌کنند و عفونت‌های مخفی و پنهان موجود را نیز از بین می‌برند. در حالی که تعداد زیادی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی جهت درمان یا پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با رادیکال‌های آزاد معرفی شده‌اند، با اثبات اثرات سوء و نامطلوب برخی از آنها بر بدن دام و طیور، گرایش روز افزونی نسبت به جایگزینی نوع طبیعی آن‌ها به وجود آمده است. از این رو محققین ترکیبات گیاهی مختلفی را به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در مواد تولیدی حیوانی مورد مطالعه قرار داده‌اند که باعث بهبود سیستم ایمنی شده و نهایتاً سبب افزایش در عملکرد تولیدی آن‌ها نیز می‌شود (۱). گیاهان دارویی و فرآورده‌های آن‌ها از جمله‌ی این افزودنی‌های طبیعی هستند که می‌توان از آنها به عنوان آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی استفاده کرد (۳). گیاه چویر با نام متداول *Ferulago angulata* در زبان انگلیسی یکی از این گیاهان می‌باشد که دارای خاصیت ضد آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بوده و در صورت استفاده از آن در جیره‌ی غذایی طیور می‌توان از خاصیت محافظت‌کنندگی و ارزش‌های درمانی آن بهره گرفت (۶). بیشترین ترکیب‌های این گیاه را مونوترپن‌ها و سس‌کویی‌ترپن‌ها می‌باشند و از میان مونوترپن‌ها آلفا-پینن، بورنیل استات و سیس-اسمین را به عنوان بیشترین ترکیب‌ها معرفی شده‌اند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. مکانیسم عمل این ترکیبات صدمه وارد کردن به دیواره‌ی لیپوپروتئینی سلول باکتری هاست که منجر به نشت و کاهش ترکیبات سیتوپلاسمی می‌گردد (۱۰ و ۱۱). از سوی دیگر این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، با افزودن برخی از اجزایشان به رادیکال‌های آزاد، این ترکیبات سمی را تثبیت می‌کنند (۸). تاکنون مطالعه‌ای بر روی سیستم ایمنی بلدرچین با استفاده از گیاه چویر صورت نگرفته است لذا هدف از این تحقیق بررسی تأثیر سطوح مختلف گیاه چویر بر عملکرد سیستم ایمنی بلدرچین ژاپنی می‌باشد.

مواد و روشها:

تحقیق حاضر در سالن مرغداری دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. در این تحقیق از ۲۴۰ قطعه بلدرچین ژاپنی استفاده شد که به طور تصادفی به دسته‌های ۱۵ تایی تقسیم شدند و در پن‌های ۱/۵ × ۱ متری روی بستر قرار گرفتند. تیمارهای غذایی شامل شاهد (بدون چویر)، جیره‌ی حاوی ۱/۵ درصد چویر، جیره‌ی حاوی ۳ درصد چویر و جیره‌ی حاوی ویتامین E به میزان ۲۰۰ mg در هر kg جیره بودند. مصرف آب و غذا در طول دوره به صورت آزاد

و برنامه نوری مداوم اعمال شد. برای ارزیابی پاسخ ایمنی جوجه‌ها، محلول ۲۵ درصد SRBC به جوجه‌های مورد آزمایش در سن ۲۸ و ۳۵ روزگی و به میزان ۰/۱ میلی لیتر در عضله‌ی سینه تزریق شد (۸). سپس جهت پاسخ خون‌گیری در روزهای ۷ و ۱۴ بعد از تزریق از سیاهرگ بال همان پرنده انجام گرفت. بدین منظور برای تهیه‌ی سوسپانسیون تزریقی SRBC، از سیاهرگ گردنی ۲ رأس گوسفند خون‌گیری به عمل آمد و نمونه‌های سرم برای تعیین تیتراژ آنتی بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی با استفاده از روش هماگلوتیناسیون میکروتیتر بررسی شدند. دو قطعه پرنده از هر تکرار به طور تصادفی در سن ۴۲ روزگی انتخاب و ذبح شدند. توزین اعضای مربوطه به وسیله‌ی ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم و به صورت درصدی از وزن کل بدن محاسبه و ثبت گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام گردید و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه‌ی میانگین گروه‌های آزمایشی در سطح معنی داری ۰/۰۵ استفاده شد. نتایج و بحث:

نتایج اثرات مربوط به تیمارهای آزمایشی ویتامین E و چویر ۱/۵ و ۳ درصد بر سیستم ایمنی بلدرچین ژاپنی در جدول ۱ آمده است. در بررسی تیتراژ آنتی SRBC در طی تزریق این ماده، تفاوت معنی داری بین گروه کنترل و تیمارهای حاوی پودر چویر ۱/۵ درصد، پودر چویر ۳ درصد و ویتامین E در تمام روزهای نمونه‌گیری مشاهده نشد ($P > 0/05$). البته در روز ۴۲ میزان تیتراژ آنتی SRBC نسبت به روز خون‌گیری پیشین به حداکثر خود رسید. (جدول ۱). نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که اثر تیمارهای دریافت‌کننده ویتامین E و چویر ۱/۵ و ۳ درصد بر وزن اندام‌های ایمنی (طحال و بورس فابرسیوس) در ۴۲ روزگی نسبت به تیمار شاهد معنی دار نبوده است ($P > 0/05$). در این تحقیق اثر ویتامین E بر تیتراژ آنتی بادی علیه SRBC معنی دار نبود که در تحقیقات دیگر نیز این مورد را گزارش کرده است (۹ و ۲). میانگین تیتراژ آنتی بادی علیه SRBC به نحوه‌ی اعمال آنتی‌ژنها، سن ایمن‌سازی و زمینه‌ی ژنتیکی جوجه‌ها بستگی دارد. البته عواملی همچون دز و نحوه‌ی تزریق نیز می‌تواند بر این امر مؤثر باشد. احتمالاً یکی از عواملی که سبب عدم پاسخ جوجه‌های تیمار شده با چویر و ویتامین E به تیتراژ آنتی بادی علیه SRBC شده است، سطوح پایین اعمال شده‌ی این مواد در جیره می‌باشد. در این رابطه جوجه‌هایی که از تیمار ۳ درصد چویر استفاده کرده بودند در روز ۳۵، نسبت به سایر تیمارها تیتراژ آنتی بادی بالاتری نشان دادند و از آنجایی که هر چه تیتراژ آنتی بادی بالاتر باشد نشان‌دهنده‌ی بهبود سیستم ایمنی است لذا می‌توان استنتاج کرد که چویر با افزایش فعالیت سیستم ایمنی سبب بهبود عملکرد دستگاه ایمنی پرنده می‌شود. این عمل در صورتی می‌تواند رخ دهد که سطوح مناسب این گیاه توسط تحقیقات بعدی یافته شود. نتایج بدست آمده در جدول ۱ مبنی بر عدم معنی داری وزن اندام‌های ایمنی (طحال و بورس فابرسیوس) در سطوح یاد شده‌ی چویر و ویتامین E با نتایج حاصل از گزارشات سایر محققین بر روی گیاهان دارویی دیگر و ویتامین E هم‌خوانی دارد (۹ و ۲).

جدول ۱- اثرات سطوح مختلف گیاه چویر و ویتامین E بر تیتراژ آنتی بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی در ۳۵ و ۴۲ روزگی و وزن نسبی اندام‌های لنفاوی در ۴۲ روزگی بر حسب گرم ۱.

تیمار	تیتراژ آنتی بادی (۳۵ روزگی)	تیتراژ آنتی بادی (۴۲ روزگی)	طحال	بورس فابرسیوس
شاهد	۱/۳۳±۰/۳۳	۱/۹۸±۰/۱۲	۰/۰۶۸±۰/۰۰۷	۰/۰۹۷±۰/۰۰۶
۱/۵ درصد چویر	۱/۳۶±۰/۱۷	۱/۴۹±۰/۲۴	۰/۰۷۱±۰/۰۰۵	۰/۰۷۷±۰/۰۰۵
۳ درصد چویر	۱/۵۹±۰/۲۰	۱/۷۹±۰/۲۱	۰/۰۷۴±۰/۰۰۷	۰/۰۷۷±۰/۰۰۷
ویتامین E	۱/۱۶±۰/۱۶	۲/۰۴±۰/۱۴	۰/۰۸۶±۰/۰۱۱	۰/۰۸۲±۰/۰۱۰

اوزن نسبی = عبارتست از درصدی از گرم وزن اندام‌های لنفاوی به صد گرم از وزن بدن.



منابع:

۹. اعمی ازغدی، م. پیله‌ور، م. آرشامی، ج. محمد خانی، ع. ۱۳۸۹. تأثیر سطوح مختلف عصاره‌ی آویشن (*Thymus vulgaris*) و زیره‌ی سبز (*Cuminum cyminum*) بر پاسخ ایمنی هومورال در مرغ‌های تخم‌گذار، چهارمین کنگره علوم دامی ایران، دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی پردیس شهرپور ۸۹.
۱۰. اکبری، م. ۱۳۸۷. اثر ویتامین‌های A و E و عنصر روی و پروبیوتیک‌ها در تغذیه و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی. رساله‌ی دکتری تخصصی تغذیه‌ی طیور. دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.
۱۱. تاران، م. قاسم پور، ح. شیرین پور، ا. ۱۳۸۹. اثرات ضد قارچی و ضد باکتریایی اسانس بدست آمده از بخش‌های هوایی و بذر گیاه چویر (*Ferulago angulata*)، مجله‌ی میکروبیولوژی ۲۰۱۰، ص ۱۰-۱۴.
۱۲. جلیلیان، ن. میرزا، م. ۱۳۸۷. بررسی ترکیب‌های اسانس گونه *Ferulago angulata*، مقالات گیاهان دارویی.
۱۳. حسینی و اشان، س. گلپان، ا. یعقوب فر، ا. افصلی، ن. فرهنگ فر، پ. ۱۳۸۶. ارزیابی سیستم ایمنی و ترکیب لاشه جوجه‌های گوشتی (broilers) آراین تغذیه شده با تفاله گوجه‌فرنگی (*Tomato Pomace*) و پودر زردچوبه (*Turmeric Powder*) چهارمین کنگره علوم دامی ایران، دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی پردیس شهرپور ۸۹.
۱۴. خان احمدی، م. ۱۳۸۵. بررسی خواص آنتی اکسیدانی گیاه چویر (*Ferulago angulata*) (مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران، انتشارات دانشگاه تهران، ص ۵۸۵-۵۸۲).
۱۵. رضازاده، ش. یزدانی، د. و شهنازی، س. ۱۳۸۲. شناسایی اجزای روغن فرار سر شاخه‌های هوایی گیاه چویر جمع آوری شده از غرب ایران، فصلنامه گیاهان دارویی، ۵۲-۴۹.
۱۶. شیمی مواد غذایی، جان، ام دمکز، مترجم، بابک قنبرزاده، صفحات ۲۷۴، ۲۹۲، ۲۹۶.
۱۷. هاشمی، م. آرشامی، ج. اسماعیل زاده، ح. مجید زاده، ر. ۱۳۸۹. بررسی تأثیر سیر (*Allium sativum*) بر عملکرد و پاسخ ایمنی هومورال در جوجه‌های گوشتی نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران، جلد ۲، شماره ۱، ص ۴۳-۵۱.
10. Dorman, H.J.D. and Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 83: 308-316



تأثیر پودر کنگر فرنگی بر متابولیسم برخی فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی

مجتبی عفتی، فیروز صمدی، بهروز دستار، مجتبی آهنی آذری و سید رضا هاشمی

به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد، دانشیار، استادیار و دکتری فیزیولوژی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

*نویسنده مسئول: مجتبی عفتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، Effati.mojtaba@yahoo.com

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر پودر کنگر فرنگی بر برخی فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی انجام شد. در این آزمایش از تعداد ۱۶۰ قطعه جوجه‌ی گوشتی سویه راس، با ۴ تیمار (شامل ۱/۵ درصد پودر کنگر فرنگی، ۳ درصد پودر کنگر فرنگی، ۳۰۰ میلی‌گرم ویتامین E و گروه شاهد) و ۴ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل استفاده شد. جهت اعمال تنش گرمایی، دمای سالن ب مدت ۶ ساعت در روز در دمای ۳۴ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. نتایج نشان داد که در مورد غلظت سرمی پروتئین تام اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود داشت به طوری که گروه‌های دریافت کننده ویتامین E و ۱/۵ درصد کنگر فرنگی نسبت به سایر گروه‌ها دارای بیشترین میزان مقدار پروتئین تام بودند ($p < 0/05$). در مورد غلظت سرمی آلبومین خون نیز اختلاف معنی‌دار وجود داشت، به طوری که تیمار ویتامین E دارای بیشترین میزان عددی آلبومین سرم خون بود ($p < 0/05$). در مورد گلوبولین سرم خون، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود نداشت.

واژه‌های کلیدی: تنش گرمایی - کنگر فرنگی - جوجه گوشتی - فراسنجه‌های خونی.

مقدمه

تنش گرمایی یکی از مهمترین عوامل کاهش تولیدات طیور در مناطق گرم و خشک می‌باشد، که در جوجه‌های گوشتی باعث افزایش تلفات، کاهش راندمان مصرف غذا، کاهش رشد، بروز آکالوز تنفسی و سرکوب سیستم ایمنی بدن می‌شود (۶). برای مقابله با اثرات نامطلوب تنش گرمایی از ویتامین‌ها (E, C) و آنتی اکسیدان‌های گیاهی استفاده می‌شود (۴). بنابراین، نیاز به استفاده از گیاهان دارویی جهت تقویت سیستم ایمنی و نیز نابودی میکروارگانیسم‌های مضر دستگاه گوارش یک ضرورت می‌باشد. کنگر فرنگی از جمله این گیاهان است که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی است. کنگر فرنگی یا آرتیشو یک گیاه خوراکی مدیترانه‌ای سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است که خاصیت آنتی اکسیدانی آن بیشتر از طریق متابولیسم فیل‌پروپانویید بدست می‌آید. در بسیاری از سیستم‌های تست دارویی، خواص دارویی عصاره برگ‌های آرتیشو به ترکیبات پلی فنلی عصاره آن نسبت داده شده است (۷). گزارش شده است که مواد موثره موجود در برگ کنگر فرنگی شامل کلروژنیک اسید، سینارین و لوتئولین هستند و بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه مربوط به این ترکیبات می‌باشد (۵). با توجه به مطالب گفته شده، هدف این مطالعه از اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی بررسی میزان فعالیت سیستم ایمنی جوجه‌ها در هنگام مواجه شدن با تنش گرمایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در شهریور ماه ۱۳۹۰ انجام شد. بدین منظور، تعداد ۱۶۰ قطعه جوجه خروس گوشتی یک روزه از سویه تجاری راس ۳۰۸، بر اساس طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل به چهار تیمار تقسیم شدند، به طوری که هر تیمار شامل ۴ تکرار و هر تکرار مشتمل بر ۱۰ قطعه جوجه بود. جوجه‌ها در شرایط بستر پرورش یافتند و از روز ۳۵ به منظور اعمال تنش گرمایی، تیمارها به دو گروه (گروهی که تنش گرمایی اعمال شد و گروه بدون تنش) که شامل ۴ تیمار و ۲ تکرار و تعداد ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار



تقسیم شدند و جهت کاهش خطا از هر تکرار ۶ قطعه جوجه جهت انجام آزمایشات مربوط خون‌گیری به عمل آمد تقسیم شدند. جهت اعمال تنش گرمایی، دمای سالن بمدت ۶ ساعت در دمای ۳۴ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. پرنده‌های گروه شاهد با جیره غذایی پایه فاقد هرگونه محرک رشد، آنتی‌بیوتیک، داروی ضدکوکسیدیوز تغذیه شدند. تیمارهای دو و سه به ترتیب شامل ۱/۵ و ۳ درصد پودر کنگرفرنگی و تیمار چهارم نیز شامل جیره شاهد به علاوه ۳۰۰ میلی‌گرم ویتامین E بود (جدول ۱). برای اندازه‌گیری پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین موجود در خون، در روزهای ۲۱ و ۴۲ دوره پرورشی دو پرنده از هر تکرار انتخاب و خونگیری از سیاهرگ زیر بال انجام گردید. پرنده‌های انتخاب شده از نظر وزنی نزدیک به وزن میانگین بودند و پروتئین کل با روش (۷) و میزان آلبومین موجود در خون با روش (۱۱) توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۴۶ نانومتر و کیت بسته بندی شده شرکت پارس آزمون تهران اندازه‌گیری شد و میزان گلوبولین از تفریق پروتئین کل با آلبومین بدست آمد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌های مربوط به صفات اندازه‌گیری شده از نرم افزار آماری SAS (۱۰) و رویه GLM و برای مقایسه میانگین گروه‌ها از آزمون توکی استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که در مورد پروتئین تام و آلبومین سرم خون اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود داشت به طوری که تیمار ویتامین E نسبت به سایر تیمارها دارای بیشترین مقدار بود (جدول ۲). در مورد گلوبولین سرم تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. نتایج ما با گزارش هاشمی (۱۳۸۳) مبنی بر افزایش معنی‌دار غلظت‌های پروتئین تام و آلبومین سرم خون در شرایط تنش گرمایی همخوانی دارد. به علاوه، این مطالعه نشان داد که تنش گرمایی بر غلظت گلوبولین سرم خون تأثیری ندارد. آلبومین از مهمترین پروتئین‌های کبدی خون می‌باشد که در تنظیم فشار اسمزی خون نقش مهمی دارد (۲، ۱). افزایش آلبومین در زمان تنش گرمایی، مکانیسمی برای جلوگیری از بروز آلکالوز می‌باشد. با توجه به اینکه آلبومین جزء پروتئین‌های تام خون می‌باشد لذا با افزایش آن غلظت پروتئین تام خون نیز افزایش می‌یابد (۳). همچنین ازدیاد غلظت سرمی پروتئین خون در زمان تنش گرمایی می‌تواند به دلیل تجزیه پروتئین‌های بدن توسط هورمون کورتیکوسترون باشد که در شرایط تنش بیشتر می‌شود (۹، ۱۲).

نتایج این آزمایش بیانگر این است که کنگرفرنگی به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا موجب حفظ نسبت پروتئین‌های خون در مقابل اثرات سوء تنش گرمایی می‌گردد.

جدول ۱: متابولیسم پروتئین‌ها در روز ۴۲ پرورش.

تیمارها	توتال پروتئین	آلبومین	گلوبولین
شاهد × تنش	۳/۳۵ ^b	۱/۸۷ ^{ab}	۱/۵۴ ^a
۱/۵ درصد کنگر فرنگی × تنش	۳/۴۲ ^{ab}	۱/۸۵ ^{ab}	۱/۵۴ ^a
۳ درصد کنگر فرنگی × تنش	۳/۳۹ ^{ab}	۱/۸۶ ^{ab}	۱/۵۲ ^a
ویتامین E × تنش	۳/۵۸ ^a	۲/۰۸ ^a	۱/۴۹ ^a
شاهد × بدون تنش	۳/۳۳ ^b	۱/۸۵ ^{ab}	۱/۵۱ ^a
۱/۵ درصد کنگر فرنگی × بدون	۳/۳۱ ^b	۱/۸۲ ^b	۱/۵۱ ^a
تنش	۳/۲۹ ^b	۱/۸۴ ^{ab}	۱/۵۳ ^a
۳ درصد کنگر فرنگی × بدون	۳/۳۰ ^b	۱/۷۵ ^b	۱/۵۴ ^a
تنش	۳/۳۰ ^b	۱/۷۵ ^b	۱/۵۴ ^a



SEM	۰/۰۴	۰/۰۵	۰/۰۷
Pvlaue	۰/۰۸	۰/۰۲	۰/۰۹

حروف غیر مشابه نشان دهنده معنی داری اختلاف در سطوح ۵ و ۱ درصد می باشد.

منابع

۱. دانش مسگران. م. ۱۳۷۸. اسیدهای آمینه در تغذیه دام. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۴۴۴ص.
۲. ظهرالدینی. ه.، میرابی آشتیانی، س.ر.، شیوا آزاد، م.، نیکخواه، ع. ۱۳۸۰. اثر غلظت انرژی و مواد مغذی جیره بر عملکرد جوجه های آمیخته گوشتی آرین. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. جلد ۵. شماره ۲. صفحه ۱۳۵-۱۲۵.
۳. هاشمی، رضا. ۱۳۸۳. تاثیر مکمل بتائین و سطح پروتئین بر عملکرد و پارامترهای خونی جوجه های گوشتی در شرایط تنش گرمایی. دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۲۶ ص.
4. Bartlett, J. R., and M.O. Smith. 2003. Effects of different levels of zinc on the performance and immunocompetence of broiler under heat stress. Poultry Science. 82: 1580 - 1588.
5. Fritsche, J., Ch. Beindorff., M. Dachtler., H. Zhang and J. Lammers. 2002. Isolation, characterization and determination of minor artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaf extract compounds European food. Research and Technology. 215: 149-15.
6. Lin, H., H.C. Jiao., J. Buyse and E. Decuyper. 2006. Strategies for preventing heat Stress in poultry. World, S Poultry Science. 62: 71 - 85.
7. Oser, B. L. 1976. Hawk's Physiological Chemistry. Tata McGraw Hill Publishing Co., New Delhi, India.
8. Paolis, A.D., D. Pignone., A. Morgese and G. Sonnante. 2008. Characterization and differential expression analysis of artichoke phenylalanine ammonia-lyase-coding sequences. Physiologia Plantarum. 132: 33-43.
9. Puvadolpirod, S. and J.P. Taxton. 2000. Model of physiological stress in chickens dosimetry of adrenocorticotropin. Poultry science. 79; 370-376.
10. SAS. 2002. SAS/STAT user's guide, version 9.1. SAS Institute, Cary, NC. UAS.
11. Varley, H., A. H.G. Owen and M. Bell. 1980. Practical Clinical Biochemistry. William and Helnemann Medical Books Ltd., London. UK.



12. Zeinab, M., A. Abdo., L. Radwan and A. Nessrin. 2007. The effect of Artichoke leaves meal on the utilization of dietary energy for broiler chicks. International Journal of Poultry Science 6 (12): 973-982.

EFFECT OF Artichoke POWDER ON SOME BLOOD PARAMETERS IN BROILER CHICKENS UNDER HEAT STRESS CONDITION

M.Effati*, F. Samadi, B.Dastar, M.Ahani.Azari and S.R.Hashemi

Msc student, Professor, Academic assistant, Scientific staff and PhD physiology of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

*Corresponding E-mail address: M.Effati, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Effati.mojtaba@yahoo.com

ABSTRACT

This experiment was conducted to study the effect of artichoke powder on some blood parameters concentrations in broiler chickens under heat stress. For this purpose, 160 day-old broiler chicks (Ross, 308) were factorial assigned (2×4), 2 level, first level are heat stress and on heat stress second level are four dietary treatment included: 1) control diet; 2 and 3) basal dietary groups supplemented with 2 levels of 1.5 and 3 gr/100gr diet artichoke and 4) basal diet supplemented with 30 mg/100gr diet vitamin E, For this purpose heat stress the temperature of salon must be regulated at 34 degree of centigrade for 6 ours. Results showed that there were significant differences for total protein between treatments, in this case, the treatment containing 1.5% artichoke and vitamin E showed greater amount than others ($P < 0.05$). In addition, there were significant differences between treatment for albumin.

In this case, birds receiving diet supplemented with vitamin E showed greater amount of blood serum concentrations of albumin than others ($P < 0.05$). Blood concentrations of globulin were similar among treatments.

Keywords: heat stress- artichoke- broiler chickens- blood parameters.



تأثیر تزریق سطوح مختلف مکمل ویتامین E و سلنیوم در اواخر آبستنی بر غلظت ایمونوگلوبولین G پلاسما و آغوز و عملکرد

تولید آغوز میش های سنجابی و بره های آنها

محمد طاهر جلیلیان^۱، محمد مهدی معینی^۲، کیوان کرکودی^۱

دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه^۱ - دانشگاه رازی کرمانشاه^۲

* نویسنده مسئول: محمد طاهر جلیلیان، mtaherjalilian@gmail.com

چکیده

در این تحقیق اثر سطوح مختلف مکمل ویتامین E و سلنیوم (Se) در اواخر آبستنی میش ها بر مقدار آغوز تولیدی و غلظت ایمونوگلوبولین G موجود در آغوز و پلاسما ی میش ها و بره های آنها مورد بررسی قرار گرفت. بیست و هفت رأس میش بطور تصادفی به ۳ گروه تقسیم شدند. ۴ و ۲ هفته قبل از زایش بترتیب ۵ و ۱۰ میلی لیتر مکمل سلنیوم و ویتامین E به میش های گروه دوم و سوم تزریق شد و گروه اول بعنوان شاهد در نظر گرفته شدند. چهار هفته قبل از زایش و روز زایش از میش ها، بره ها در زمان تولد و در یک هفتگی خونگیری شد. غلظت IgG آغوز و پلاسما به روش الیزا و تولید آغوز ۱۰، ۱۸ و ۱۸ ساعت پس از زایش اندازه گیری شد. میانگین تولید آغوز در گروه سوم در ساعات ۱۰ و ۱۸ پس از زایمان همچنین میانگین غلظت IgG آغوز گروه سوم در ساعت اول پس از زایمان به طور معنی داری افزایش یافت ($p > 0.05$). اما در غلظت IgG پلاسما میش ها چهار هفته قبل از زایش و زمان زایش، همچنین غلظت IgG پلاسما ی بره ها در روز تولد و یک هفتگی و غلظت IgG آغوز در ساعات ۱۰ و ۱۸ پس از زایش اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). لذا نتایج آزمایش حاضر بیان گر آن است که تزریق این مکمل سبب بهبود وضعیت سیستم ایمنی و عملکرد میش های سنجابی و بره هایشان شده است.

واژه های کلیدی: سلنیوم - ویتامین E - ایمونوگلوبولین G - آغوز - میش سنجابی

مقدمه

ویتامین E و سلنیوم (Se) از جمله مواد مغذی هستند که در اواخر آبستنی غلظت آنها درخون و بافت مادرکاهش می یابد و از آنجاکه Se جزئی از آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز^۱ است، کاهش فعالیت این آنزیم نیز در دام قابل پیش بینی است (۱) و (۲). تجویز این دو ماده با هم باعث بالا رفتن توان ایمنی، افزایش فعالیت فاگوسیتوزی نوتروفیلها و ماکرو فاژها و بهبود عملکرد دام شده است (۱،۳). کریستالدی و همکاران (۱) نیز نشان دادند که افزایش سلنیوم مصرفی در جیره گوسفند باعث افزایش غلظت سلنیوم در سرم شد. حیدر اغلو و همکاران (۵) نشان دادند که بین گروه شاهد و تیمار آزمایشی که مکمل دریافت کرده بودند اختلاف معنی داری در غلظت IgG_1 ، IgG_2 وجود نداشت، اما غلظت IgM در تیمار آزمایشی بالاتر از گروه شاهد بود (۳). در این تحقیق اثرات تجویز سطوح مختلف مکمل ویتامین E و Se بر میزان تولید آغوز و غلظت ایمونوگلوبولین G پلاسما و آغوز میش ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

¹ - Glutathione peroxidase

تعداد بیست و هفت رأس میش نژاد سنجابی اصلاح شده هم سن با خصوصیات ظاهری و ژنتیکی مشابه (همگی کژل) با میانگین وزن 69 ± 4 کیلوگرم (میانگین $\pm$ انحراف معیار) در واحد گوسفند داری ایستگاه تحقیقاتی دامپروری مهرگان شهرستان کرمانشاه انتخاب و بطور تصادفی به ۳ گروه تقسیم شدند. ۴ و ۲ هفته قبل از زایش بترتیب ۵ و ۱۰ میلی لیتر مکمل سلنیوم و ویتامین E به میش های گروه دوم و سوم در دو مرحله تزریق عضلانی صورت گرفت. هر میلی لیتر مکمل حاوی ۰/۵ میلی گرم سلنیوم به فرم نمک سلنیت سدیم و ۵۰ IU ویتامین E بصورت دی ال - آلفاتوکوفرل بود. ۴ هفته قبل از زایش قبل از تزریق اول و در زمان زایش از میش ها و بره ها زمان تولد قبل از خوردن آغوز و در یک هفتگی از ورید و داج گردنی خونگیری و نمونه ها برای تهیه پلاسما در ویال های ونوجکت^۱ ۸ml جمع آوری شده و جهت جدا سازی پلاسما در سانتریفوژ با ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و پلاسما بدست آمده بوسیله سمپلر برای هر نمونه در دو تکرار داخل میکرو تیوب ریخته شده و تا زمان آزمایش در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. میزان تولید آغوز و IgG آغوز در ساعات ۱، ۱۰، و ۱۸ پس از زایمان و میزان IgG پلاسما در میش ها چهار هفته قبل از زایمان و زمان زایمان و در بره ها زمان تولد قبل از خوردن آغوز و یک هفتگی اندازه گیری شد. غلظت IgG آغوز و پلاسما به روش الیزا بر اساس متد کرودر^۲ اندازه گیری گردید. آزمایش بر اساس طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین ها با روش چند دامنه ای دانکن انجام و تجزیه و تحلیل داده ها نیز توسط نرم افزار spss انجام شد.

مدل آماری طرح :

$$X_{ijkm} = \mu + T_j + \varepsilon_{ij}$$

در این فرمول X_{ij} نشان دهنده مقدار عددی هر مشاهده در آزمایش، μ میانگین کل جامعه ای است که از طریق نمونه ها با فرض صفر مورد بررسی قرار گرفتند، T_j نشان دهنده اثر مکمل آزمایشی است و ε_{ij} نشان دهنده اثر خطا است. بنابراین مقدار عددی هر مشاهده از مجموع اثرات تیمار، خطای آزمایشی و میانگین کل جامعه حاصل میشود و تغییرات مربوط به اثر تیمارها و خطای آزمایشی می باشد. سطح معنی دار آزمون برابر ۰/۰۵٪ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

میانگین غلظت IgG پلاسما در گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی ۲ و ۳، چهار هفته قبل از زایش، به ترتیب ۲۰۴۰، ۱۹۹۵ و ۲۰۲۵ میلی گرم در دسی لیتر بود (جدول ۱). با مقایسه میانگین داده ها، از نظر آماری تفاوت معنی داری بین گروه ها مشاهده نشد ($p > 0/05$). علت این امر احتمالاً به شرایط یکسان تغذیه ای، پرورشی، فیزیولوژیکی و محیطی یکسان میش ها مربوط میشود. میانگین غلظت IgG پلاسما در گروه کنترل و تیمارهای آزمایشی، در روز زایش، به ترتیب ۱۸۱۵، ۱۸۶۰ و ۱۸۸۰ میلی گرم در دسی لیتر بود که از نظر آماری تفاوت معنی داری بین گروهها مشاهده نشد ($P > 0/05$). در تمام گروه ها غلظت IgG در روز زایش پایین تر از یک ماه قبل از زایش بود، که احتمالاً به دلیل انتقال IgG از خون به آغوز می باشد. ۱ IgG و IgG₂ با یک مکانیسم بسیار اختصاصی از خون به آغوز منتقل می شوند. بنابراین غلظت IgG در مادر ۲ تا ۳ هفته قبل از زایش کاهش می یابد و چندین هفته زمان لازم است تا غلظت IgG پلاسما، به وضعیت اولیه خود برسد. این نتایج با نتایج لاسترا و همکاران (۵) مطابقت داشت.

جدول ۱ میانگین غلظت IgG پلاسما میش ها (میلی گرم در دسی لیتر)

غلظت ایمونوگلوبولین	گروه شاهد	تیمار ۲	تیمار ۳
پلاسما			

^۱ -Venoject

^۲ -Crowther



میش یک ماه قبل از زایش	$^{a}94 \pm 20.40$	$^{a}90 \pm 19.95$	$^{a}88 \pm 20.25$
میش روز زایش	$^{a}87 \pm 18.15$	$^{a}83 \pm 18.60$	$^{a}78 \pm 18.80$

میانگین $\pm$ خطای استاندارد ($\mu \pm SE$). اعداد موجود در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی داری هستند ($p < 0.05$)

میانگین غلظت IgG پلاسما بره ها (جدول ۲) در زمان تولد و یک هفتگی نیز تفاوت معنی داری در بین گروه های آزمایشی مشاهده نشد ($p > 0.05$).

جدول ۲ میانگین غلظت IgG پلاسما بره ها (میلی گرم در دسی لیتر)

غلظت ایمونوگلوبولین پلاسما	گروه شاهد	تیمار ۲	تیمار ۳
بره زمان تولد (قبل از خوردن آغوز)	$^{a}4 \pm 10.1$	$^{a}5 \pm 10.6$	$^{a}6 \pm 11.0$
بره در یک هفتگی	$^{a}59 \pm 11.80$	$^{a}39 \pm 12.00$	$^{a}61 \pm 11.60$

میانگین $\pm$ خطای استاندارد ($\mu \pm SE$). اعداد موجود در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی داری هستند ($p < 0.05$)

بولند و همکاران در مطالعات متعدد بر روی بره به نتایج مشابه با این مطالعه دست یافتند و نشان دادند که تفاوت معنی داری در غلظت IgG بره های گروه های آزمایشی وجود ندارد (۷ و ۶). حیدر اغلو و همکاران نشان دادند که بین گروه شاهد و تیمار آزمایشی که مکمل ویتامین E دریافت کرده بودند اختلاف معنی داری در غلظت IgG_1 , IgG_2 وجود نداشت، اما غلظت IgM در تیمار آزمایشی بالاتر از گروه شاهد بود. همین محقق در مطالعه دیگری نشان داد غلظت IgG_1 , IgG_2 , IgM, IgG گوساله هایی که ۲۷۰۰ واحد بین المللی مکمل ویتامین E گرفته بودند اختلاف معنی داری با گروه شاهد نداشت (۳).

میانگین غلظت IgG آغوز در گروه های آزمایشی در جدول ۳ مشاهده میشود همانطور که در جدول قابل ملاحظه است غلظت IgG آغوز در ساعت اول پس از زایمان در گروه سوم به صورت معنی داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ولی در ساعات ۱۰ و ۱۸ پس از زایمان تفاوت معنی داری میان گروه ها مشاهده نشد ($P > 0.05$).

جدول ۳ میانگین غلظت IgG آغوز میش ها (گرم در لیتر)

غلظت ایمونوگلوبولین آغوز	گروه شاهد	تیمار ۲	تیمار ۳
یک ساعت پس از زایمان	$^{b}0.84 \pm 8.6/48$	$^{b}0.81 \pm 8.6/78$	$^{a}1.00.6 \pm 9.0/01$
۱۰ ساعت پس از زایمان	$^{a}1.32 \pm 51.04$	$^{a}1.06 \pm 50.30$	$^{a}1.19 \pm 50.25$
۱۸ ساعت پس از زایمان	$^{a}0.92 \pm 21.04$	$^{a}0.81 \pm 20.74$	$^{a}0.74 \pm 19.9$



میانگین $\pm$ خطای استاندارد ($\mu \pm SE$). اعداد موجود در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی داری هستند ($p < 0.05$)

بولند و همکاران نیز نشان دادند که گوسفندانی که سطوح بالاتری ویتامین E و مواد معدنی حاوی سلنیوم مصرف کرده بودند در ساعت اول پس از زایمان IgG آغوز به طور معنی داری نسبت به سایر گروه ها افزایش پیدا کرد (۷). همین محقق در مطالعه دیگری نشان داد که گوسفندانی که درصد بالاتری از بلوک های مواد معدنی را به همراه ویتامین E در اواخر آبستنی مصرف کرده بودند IgG آغوز در ساعت اول پس از زایمان به طور معنی داری افزایش یافت (۸). میانگین تولید آغوز گروه کنترل و تیمارهای آزمایشی گروه دوم و سوم در جدول ۴ نشان داده شده است. با مقایسه میانگین داده ها، از نظر آماری گروه سوم در ساعات ۱۰ و ۱۸ پس از زایمان افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد داشت و در سایر گروهها و ساعات تفاوت معنی داری از لحاظ آماری مشاهده نشد ($P > 0.05$). معینی و همکاران در مطالعه ای نشان دادند که سطوح مختلف سلنیوم و ویتامین E اثر افزایشی معنی داری بر آغوز گاوهای شیری ندارد (۶). اما بولند و همکاران به نتایج مشابهی با این مطالعه دست یافتند (۷).

جدول ۴ میانگین تولید آغوز میش ها (میلی لیتر)

میزان تولید آغوز	گروه شاهد	تیمار ۲	تیمار ۳
یک ساعت پس از زایمان	$^{a}6/61 \pm 50/1/66$	$^{a}7/02 \pm 50/7/77$	$^{a}5/18 \pm 50/3/88$
۱۰ ساعت پس از زایمان	$^{b}6/27 \pm 59/1/11$	$^{b}5/89 \pm 60/2/77$	$^{a}5/83 \pm 65/2$
۱۸ ساعت پس از زایمان	$^{b}6/51 \pm 52/2/77$	$^{b}3/22 \pm 53/0$	$^{a}3/72 \pm 60/8$

میانگین $\pm$ خطای استاندارد ($\mu \pm SE$). اعداد موجود در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی داری هستند ($p < 0.05$)

منابع

1. Cristaldi, L. A., L. R Mc Dowel, CD. Buergelt, P. A. Davis, N. S. Wilkinson, F. G. Martin (2005). Tolerance of inorganic selenium in wether sheep. Small Ruminant Res. 56 : 205-213.
2. Davis, P.A., L.R. McDowell, N.S. Wilkinson, C.D. Buergelt, R. Van Alstyne, R.N. Weldon, T.T. Marshall (2006). Effects of selenium levels in ewe diets on selenium in milk and the plasma and tissue selenium concentration of lamb. Small Ruminant Res. 65: 14- 23.
3. Hidirolou, M., T.R. Batra, L.F. Laflamme, F. Markham (2004). Possible roles of vitamin E in immune response of calves. Int. J. Vit. Nutr. Res. 62:308-311.
4. John R. C, 2009. "The ELISA Guidebook", Second Edition, ISBN: 978-1-60327-253-7, Humana Press, a part of Springer Science + Business Media, LLC 2009.
5. Lacetera, N., U., Bernabuci, B. Ronchi and A. Nardone (1996). Effects of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrum and milk Production



in dairy cows and on passive immunity and growth of their offspring. Am. J. Vet. Res. 57(12): 1776-1780.

6. Moeini. M. M, [Amir Kiani](#), [Elham Mikaeili](#), [Hamed Karami Shabankareh](#). 2011. Effect of Parturition Supplementation of Selenium and Vitamin E on Serum Se, IgG Concentrations and Colostrum of Heifers and on Hematology, Passive Immunity and Se Status of Their Offspring. Biol Trace Elem Res. 144:529 – 537.

7. T. M. Boland, N. Keane, P. Nowakowski, P. O. Brophy and T. F(2005). Crosby. High mineral and vitamin E intake by pregnant ewes lowers colostral immunoglobulin G absorption by the lamb. 2005, 83:871-878. J ANIM SCI.

8. T. M. Boland, P. O. Brophy, J. J. Callan, P. J. Quinn, P. Nowakowski and T. F. Crosby(2004). The effects of mineral-block components when offered to ewes in late pregnancy on colostrum yield and immunoglobulin G absorption in their lambs. Animal Science 2004, 79: 293-302.

9. Thorson, B. J. Karren, M. L. Bauer, C. A. Cavinder, J. A. Coverdale and C. J. Hammer(2009). Effect of selenium supplementation and plane of nutrition on mares and their foals. J ANIM SCI 2010, 88:982-990

Effect of Selenium and vitamin E supplementation during late of pregnancy on plasma and colostrums IgG concentration and colostrums production of Sanjabi ewes and their lambs

Jalilian M.T. ^{*1}, Moeini M.M. ² and Karkodi K. ¹

1-Azad University of saveh, Department of Animal Sciences saveh, Iran

2-University of Razi, Department of Animal Sciences Kermanshah, Iran

*Corresponding E-mail address: mtaherjalilian@gmail.com

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of Selenium and vitamin E supplementation during late of pregnancy on plasma and colostrums IgG concentration and colostrums production of Sanjabi ewes and their lambs. Twenty seven Sanjabi ewes were randomly assigned to three treatments groups. Four and two weeks before expected lambing, the ewes were injected intramuscularly 0 ml (c) 5 ml (T1), 10 ml (T2), selenium and vitamin E respectively. Blood samples were collected from ewes four weeks before expected lambing and lambing day. Blood samples of lambs were taken from the jugular vein at birth and 7 days of age. Colostrums samples were collected after lambing. Colostrums and plasma IgG concentrations were measured by sandwich ELISA method, in accordance with the technique described in the reference (John R. Crowther 2009). The changes of mean values of plasma IgG and colostrums IgG concentrations at 10 and 18 hours postpartum did not differ significantly among ewes and their lambs ($p < 0.05$). The mean colostrums production at 10 and 18 hours postpartum and colostrums IgG concentrations at one hour postpartum increased in ewes of T2 group ($p < 0.05$). Therefore, the present results indicated that Selenium and vitamin E supplementation resulted in improving immune system and performance of ewes and their lambs.

Keywords: Selenium- vitamin E- Immunoglobulin G- colostrums- Sanjabi ewes