

# Analysis of chromatin integrity and DNA damage of buffalo spermatozoa

Mahmoud, K. Gh. M.<sup>1\*</sup>; El-Sokary, A. A. E.<sup>2</sup>; Abdel-Ghaffar, A. E.<sup>3</sup>;  
Abou El-Roos, M. E. A.<sup>3</sup> and Ahmed, Y. F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Reproduction and Artificial Insemination, National Research Center, Dokki, Giza, Egypt; <sup>2</sup>General Organization for Veterinary Services, Dokki, Giza, Egypt; <sup>3</sup>Department of Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, Benha University, Kaliobia, Egypt

\*Correspondence: K. Gh. M. Mahmoud, Department of Animal Reproduction and Artificial Insemination, National Research Center, Dokki, Giza, Egypt. E-mail: karima\_mahmoud@hotmail.com

(Received 12 Aug 2014; revised version 26 Oct 2014; accepted 22 Nov 2014)

## Summary

This study was conducted to determine chromatin integrity and DNA damage by DNA electrophoresis and comet assays of buffalo fresh and frozen semen. Semen samples were collected from four buffalo bulls and evaluated after freezing for semen motility, viability, sperm abnormalities, chromatin integrity and DNA damage. A significant variation was found in semen parameters after thawing. Highly significant differences ( $P < 0.001$ ) in chromatin integrity were observed between fresh and frozen semen. For the fresh semen, there was no significant difference between the bulls for chromatin integrity; however, a significant variation ( $P < 0.05$ ) was detected in their frozen semen. No DNA fragmentation was observed by agarose gel electrophoresis. The percentage of sperm with damaged DNA detected by comet assay differed significantly between fresh and frozen semen. A significant negative correlation was recorded between motility and DNA damage ( $r = -0.68$ ,  $P < 0.05$ ). Sperm abnormalities and DNA fragmentation were significantly positively correlated ( $r = 0.59$ ,  $P < 0.05$ ). In conclusion, DNA damage evaluation can provide reassurance about genomic normalcy and guide the development of improved methods of selecting spermatozoa with intact DNA to be used in artificial insemination.

**Key words:** Buffalo bull, Chromatin integrity, DNA damage, Semen quality

## Introduction

Artificial insemination is one of the major reproductive biotechnologies extensively used for rapid genetic improvement of livestock in developed countries. To raise the genetic potential of livestock, AI with frozen-thawed spermatozoa was introduced in most developing countries more than three decades ago, yet it has not been applied in buffaloes on a large scale (Andrabi, 2009). Semen evaluation is extremely important for the success of AI with cryopreserved semen, by which hundreds of straws are produced from an ejaculate (Barros *et al.*, 2007).

Sperm genome anomaly is one of the important factors involved in conception failure (Filatov *et al.*, 1999). Sperm chromatin is a highly organized, compact structure consisting of DNA and heterogeneous nucleoproteins, which are condensed and insoluble in nature. These features protect genetic integrity and facilitate the transport of the paternal genome through male and female reproductive tracts (Manicardi *et al.*, 1998).

Spano *et al.* (2000) suggested that markers of sperm DNA integrity may be better measures of male fertility potential than conventional measures. The impact of DNA fragmentation on fertilization and pregnancy rates has been reported in the past (Virro *et al.*, 2004). Sperm DNA fragmentation tests are liable indices that may help identify animals at risk of failing to initiate a healthy

pregnancy (Agarwal and Said, 2003). In Egypt, a number of studies were conducted to evaluate sperm DNA damage in buffalo using the acridine orange test (El-Sheshtawy *et al.*, 2010) and the comet assay (Abd El-Fatah *et al.*, 2008). Few reports exist on DNA damages in animal frozen semen as related to semen parameters. Therefore, this study was conducted to determine chromatin integrity and DNA damage by acridine orange test, DNA electrophoresis and comet assays in buffalo frozen semen and its relationship with conventional semen parameters.

## Materials and Methods

### Semen collection

Using the artificial vagina method, semen samples were collected from four healthy buffalo bulls, at Abassia Frozen Semen Centre, General Organization for Veterinary Services, Egypt. The Egyptian buffalo bulls were 4-8 years old. Two ejaculates were collected 10 min apart twice weekly, all over the year, assessed for subjective motility analysis. Semen was checked for volume, sperm motility, sperm abnormalities and sperm cell concentration. All seminal attributes were within the acceptable limit.

### Semen cryopreservation

Each ejaculate was diluted with prewarmed (37°C)

Bioxcell extender (IMV Technologies-France) to provide a concentration of 60 million sperm/ml. The extended semen was examined for individual motility at 37°C. Semen with more than 65% motile sperm was used for further processing. The diluted semen was cooled from 37°C to 5°C in a cold cabinet for 2 h, and packed into 0.25 ml polyvinyl French straws (0.25 ml; IMV, L'Aigle, France). The straws were placed on trays for at least 4 h at (5°C) for further equilibration, and were then kept at -95°C in a temperature controlled chamber for at least 8 min. The straws were then plunged into liquid nitrogen at -196°C (Mohammed *et al.*, 1998).

### Post-thaw semen evaluation

Semen was thawed in a water bath at 37°C for 45 s. The percentage of motile sperm was estimated at 37°C using a heated stage, by viewing 5-6 fields per slide with the aid of a television monitor attached to a phase contrast microscope (×400). Percentages of live and abnormal spermatozoa in stained smears were recorded using eosin-negrosine stain (Campbell *et al.*, 1956).

### Chromatin integrity by acridin orange test (AOT)

Frozen semen was washed in 5 ml of phosphate buffered saline. After centrifugation, the sperm pellet was re-suspended in 0.5 ml of phosphate buffered saline. A small aliquot (50 µL) of the sperm suspension was then glass smeared. Three smears from each sample were prepared on glass slides, air dried and then fixed overnight in Carnoy's solution (methanol/acetic acid, 3:1) according to Liu and Baker (1994). Once rinsed and air dried, the slides were stained for 5 min with freshly prepared acridine orange (AO) stain as follows: 10 ml 1% AO in distilled water was added to a mixture of 40 ml 0.1 M citric acid and 2.5 ml 0.3 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O. The AO solution was stored in a dark place at 4°C for four weeks. After washing and drying, the slides were examined using a fluorescent microscope (Leitz, Germany; excitation of 450-490 nm). Sperm with intact chromatin or normal DNA content had green fluorescence, whereas sperm with an abnormal DNA content emitted fluorescence in a spectrum varying from yellow-green to red.

### DNA electrophoresis

DNA was extracted from frozen semen of four buffalo bulls according to Giusti *et al.* (1986) with some modifications. After centrifugation of sperm cells at 5000 rpm for 5 min, 500 µL of a lysis buffer (50 M Tris-HCl, pH 8 + 10 mM EDTA, pH 8 + 100 mM NaCl + 1% SDS) and 15 µL of a proteinase K solution (20 mg/ml) were added. Cells were incubated overnight at 55°C. Nucleic acids were extracted once with phenol-chloroform-isoamyl alcohol (25:24:1), followed by extraction with chloroform-isoamyl alcohol (24:1). After centrifugation, the top layer was carefully transferred to another tube for the next extraction. Then, 1/10 of a volume of 3 M sodium acetate (pH = 5.2) and two volumes of 96% cold ethanol (stored at 20°C) were

added to precipitate DNA. The supernatant was removed and the pellet (DNA) was washed with 1 ml of 70% ethanol. The DNA was dissolved in an appropriate volume of 1 X Tris EDTA (TE) buffer. After RNase (40 µg/ml) incubation for 2 h at 37°C, the samples were applied and analyzed on agarose gel (1.5%) with ethidium bromide (0.5 µg/ml).

### Comet assay (single cell electrophoresis assay)

Sperm DNA damage was investigated using the single cell gel electro-phoresis (COMET) assay, generally performed at neutral conditions. The neutral comet assay allows the detection of double strands, breaks by subjecting lysed cell nuclei to an electrophoretic field at neutral pH. The protocol was similar to Bucak *et al.* (2010) with few modifications. The straws were thawed by gently shaking in a 37°C water bath for 10 s, and centrifuged at 600 g for 10 min. The remaining sperm cells were washed with PBS (Ca<sub>2</sub> + and Mg<sub>2</sub> + free). Each pre-cleaned slide was pre-coated with a layer of 1% normal melting point agarose in PBS and dried at room temperature. Approximately, 100,000 sperm cells (18 µl) were mixed with 0.8% low melting point agarose (50 µl) at 37°C, and this suspension was dropped onto the first agarose layer. Slides were allowed to solidify for 20 min at 4°C. The cover slips were removed and the slides were immersed in freshly prepared cold lysis buffer. The slides were then incubated at 37°C in the lysis buffer with 20 mg/ml proteinase for 2 h. The lysis buffer contained NaCl, EDTA, TRIS, DTT, Triton X 100 and 20 mg/ml proteinase K. The slides were incubated for 2 h at 4°C followed by 24 h at 37°C. They were then removed from the lysis buffer, drained and placed in a horizontal electrophoresis unit filled with a fresh neutral electrophoresis buffer for 20 min incubation to allow the DNA to unwind. Electrophoresis was performed at room temperature, at 25V for 20 min. Following electrophoresis, the slides were neutralized with a TRIS-HCl buffer (pH = 7.5) for 5 min and subsequently stained with 50 µl of 10 µl/ml proidium iodide and covered with a cover slip. The images of 200 randomly chosen nuclei were analyzed visually. Observations were made at a magnification of 400 using a green light fluorescent microscope (Olympus, Japan).

Damage was detected by a tail of fragmented DNA that migrated from the sperm head, causing a "comet" pattern, whereas whole sperm heads without any comet were not considered as damaged. The high molecular weight, unbroken DNA were found to remain in the sperm head, while smaller broken pieces of DNA migrated out to take on the form of a comet, thus the name.

### Statistical analysis

The results were tabulated in to indicate the mean values of the various studied parameters and their standard errors. Data were subjected to an ANOVA using SPSS for Windows version 13.0, statistical software. Comparison of means was carried out by Duncan's Multiple Range Test. Correlation coefficients

among different semen parameters were calculated. Differences were considered to be significant at  $P < 0.05$ .

## Results

Post thaw semen characteristics are shown in (Table 1). Post thaw sperm motility ranged between 39.33 and 45.87%. Live sperm percentage ranged between 58.73 and 65.67%. For the third bull, the percentage of spermatozoa with abnormalities achieved the highest percentage (17.07%). A significant variation could be found among bulls in semen parameters after thawing (Table 1). Live sperm percentage and sperm abnormalities were significantly different ( $P < 0.05$ ) among the bulls. A highly significant difference ( $P < 0.01$ ) for motility was also found.

**Table 1:** Post-thaw semen characteristics in buffalo bulls (means  $\pm$  SE)

Bull number	Motility (%)	Live sperm (%)	Sperm abnormalities (%)
1	45.87 $\pm$ 1.12 <sup>a</sup>	65.67 $\pm$ 0.58 <sup>a</sup>	12.87 $\pm$ 0.80 <sup>a</sup>
2	43.84 $\pm$ 0.90 <sup>ab</sup>	63.33 $\pm$ 2.84 <sup>ab</sup>	14.67 $\pm$ 1.24 <sup>ab</sup>
3	39.33 $\pm$ 0.88 <sup>c</sup>	59.30 $\pm$ 2.6 <sup>ab</sup>	17.07 $\pm$ 0.77 <sup>b</sup>
4	41.00 $\pm$ 1.15 <sup>bc</sup>	58.73 $\pm$ 0.93 <sup>b</sup>	16.17 $\pm$ 1.11 <sup>ab</sup>
Total means	42.51 $\pm$ 0.88	61.76 $\pm$ 1.22	15.19 $\pm$ 0.64

Values with different superscript within the same column differ significantly ( $P < 0.05$ - $P < 0.01$ )

The chromatin integrity of sperm was analyzed using acridine orange staining (Table 2). The overall means of spermatozoa with intact chromatin were 99.25% and 97.21% for fresh and frozen semen, respectively. Highly significant differences in chromatin integrity were observed between fresh and frozen semen ( $P < 0.001$ ). There were no differences between the bulls for chromatin integrity in fresh semen but a significant variation among bulls was detected in frozen semen ( $P < 0.05$ ). Sperm with normal intact chromatin or normal DNA had a green fluorescence, whereas sperm with damaged chromatin or abnormal DNA content had a red fluorescence. Green sperm indicated that the stain intercalates into native DNA and fluorescence green, but the sperm with single stranded DNA or damaged chromatin turned fluorescence red (Fig. 1).

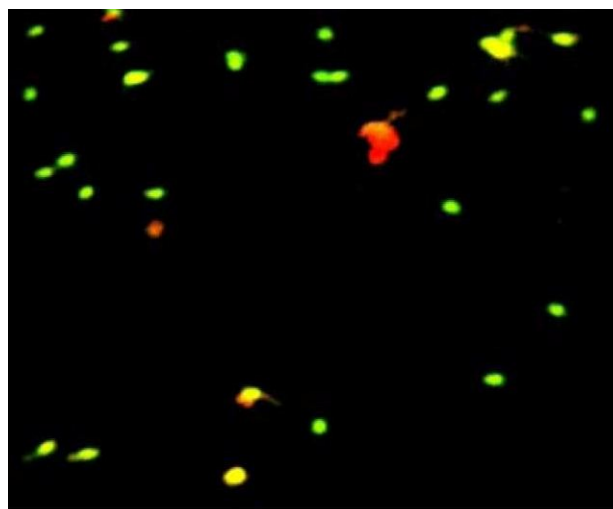
**Table 2:** Percentage of buffalo sperm cells with intact chromatin detected by acridine orange test in semen from four buffalo bulls (mean  $\pm$  SE)

Bull number	Fresh	Frozen
1	99.67 $\pm$ 0.33	98.33 $\pm$ 0.88 <sup>a</sup>
2	99.50 $\pm$ 0.28	97.50 $\pm$ 0.29 <sup>ab</sup>
3	99.00 $\pm$ 0.58	97.00 $\pm$ 0.58 <sup>ab</sup>
4	98.83 $\pm$ 0.44	96.00 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>
Total means	99.25 $\pm$ 0.21 <sup>**</sup>	97.21 $\pm$ 0.37

Values with different superscripts within the same column differ significantly ( $P < 0.05$ ). \*\*  $P < 0.001$  (t-test) between fresh and frozen semen

Sperm DNA was extracted from the frozen semen of the four buffalo bulls and analyzed on agarose gel. DNA

fragmentation could not be observed when measured by agarose gel electrophoresis in the frozen semen of buffalo bulls as DNA appeared normal (Fig. 2).



**Fig. 1:** Fluorescence microscopy displaying buffalo spermatozoa with damaged chromatin as shown by yellow or red colours of the acridine orange stain, and normal chromatin with green colour ( $\times 400$ )



**Fig. 2:** DNA profile of frozen semen after electrophoresis. M is  $\lambda$  DNA hind III molecular weight marker (23130, 9416, 6557, 4361, 2322, 2027 and 564 bp). 1, 2, 3 and 4 represent frozen semen samples of four buffalo bulls

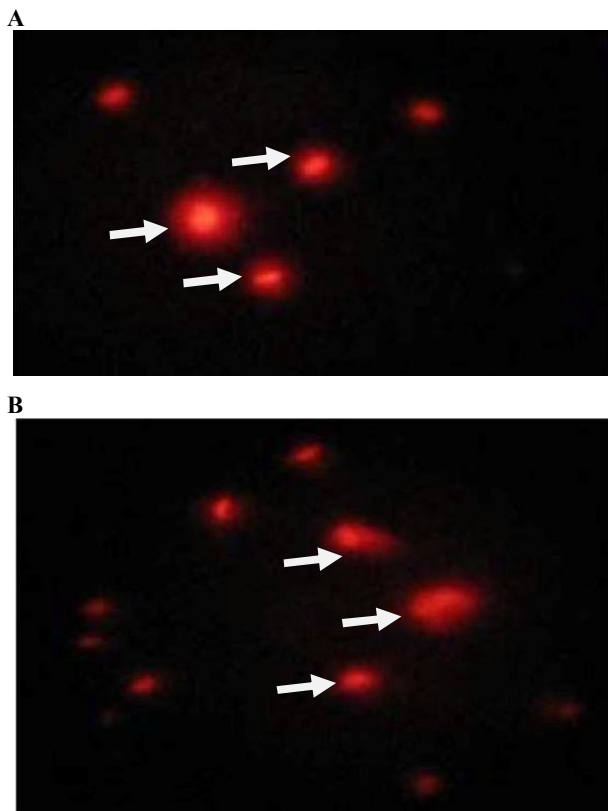
Low levels of DNA damage assessed by comet in fresh and frozen spermatozoa are presented in Table 3. The percentage of spermatozoa with damaged DNA ranged from 1.73 to 2.37 for frozen semen and 0.63 to 1.00 for fresh semen. The highest comet percentage in frozen semen was for bull three and the lowest for bull one. A significant difference was observed in DNA

damage between fresh and frozen semen by the comet assay ( $P < 0.01$ ). The intact DNA sperm and DNA damage with DNA migration from nuclei is shown in Figs. 3A and B.

**Table 3:** Analysis of DNA fragmentation percentage by comet assay of four buffalo bulls (means  $\pm$  SE)

Bull number	Fresh	Frozen
1	0.67 $\pm$ 0.20	1.73 $\pm$ 0.35
2	0.63 $\pm$ 0.27	2.07 $\pm$ 0.18
3	0.63 $\pm$ 0.18	2.37 $\pm$ 0.20
4	1.00 $\pm$ 0.12	2.07 $\pm$ 0.37
Total means	0.68 $\pm$ 0.10	2.06 $\pm$ 0.14**

\*\*  $P < 0.001$  (t-test) between fresh and frozen semen



**Fig. 3:** Fluorescence photomicrograph of buffalo spermatozoa ( $\times 400$ ) following neutral microgel electrophoresis showing different forms of fragmentation (A and B). Spermatozoa with non-fragmented DNA do not have a comet (without arrows) and spermatozoa with fragmented DNA exhibit the characteristic formation of comet (arrows)

Correlation coefficients between semen parameters are presented in Table 4. Significant negative correlations were found between motility and sperm

abnormalities ( $r = -0.64$ ,  $P < 0.05$ ) and motility and DNA damage ( $r = -0.68$ ,  $P < 0.05$ ), whereas a significant positive correlation ( $r = 0.59$ ,  $P < 0.05$ ) was reported between sperm abnormalities and DNA fragmentation. On the other hand, no significant correlation was found between chromatin integrity evaluated by acridine orange stain and other sperm parameters including DNA fragmentation detected by comet assay.

### Discussion

In the present study, motility and live sperm percentage significantly reduced by freezing as much as 42.5% and 61.76%, respectively. Similar findings for a decline in motility due to freezing and thawing have been reported for buffalo (El-Sisy *et al.*, 2007). Watson (1995) also reported that more than 50% of spermatozoa are usually injured by the cryopreservation process. These injuries are most likely due to the formation of ice crystals in the extra and intracellular environment, increasing solute concentration (Mazur, 1984). Ice crystal formation in mitochondria and axonemes during cryopreservation impairs sperm motility (Courtens *et al.*, 1989). The post-thawing semen characteristics including motility, live sperm percentage and sperm abnormalities in the current study were within the range reported in Egyptian buffalo bulls (Scholkamy *et al.*, 2009; El-Sheshtawy *et al.*, 2010). A significant variation was also found in semen parameters among bulls after thawing, which is in accordance with the report by Scholkamy *et al.* (2009) on buffaloes.

In this study, chromatin integrity detected by the acridine orange stain was affected by freezing. Similarly, Mukhopadhyay *et al.* (2011) reported significant differences in the percentage of sperm nuclear DNA fragmentation in fresh and cryopreserved semen samples ( $P < 0.01$ ). Conversely, Koonjaenak *et al.* (2007) maintained that previously frozen thawed buffalo sperm chromatin integrity is not seriously damaged by cryopreservation. Other researchers found that the cryopreservation of bull semen had no effect on sperm chromatin stability or DNA integrity (Martin *et al.*, 2004). The study of Duran *et al.* (1998) indicated that when acridine orange score was normal ( $< 11\%$ ), the likelihood of fertilization was found to be superior to that of all other parameters. Barth and Oko (1989) stated that the presence of sperm nuclear chromatin damage in freshly ejaculated semen cannot be accepted at levels greater than 15-20% of spermatozoa.

This study revealed no damage to any of the bulls sperm DNA detected by agar gel electrophoresis. Martin

**Table 4:** Correlation coefficients between post-thaw sperm parameters and DNA damage

Parameters	Motility	Live sperm (%)	Sperm abnormalities	Chromatin intact	DNA damage
Motility		0.482 (0.112)	-0.642* (0.024)	0.510 (0.090)	-0.681* (0.015)
Live sperm (%)			-0.308 (0.330)	0.564 (0.056)	-0.094 (0.772)
Sperm abnormalities				-0.414 (0.181)	0.585* (0.045)
Chromatin integrity					-0.301 (0.342)
DNA damage					

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

*et al.* (2004) reported that cryopreservation had no effect on DNA fragmentation. Mammalian sperm nuclei are very stable and highly condensed with a unique DNA organization (Yanagimachi, 1994), with a 6-fold more compact and a 40-fold lower volume than somatic cells (Ward, 1994). This unique DNA packing is essential to protect the cell and minimize damages caused by exogenous agents before fertilization. Perreault *et al.*, (1988) suggested that the bovine sperm has a more stable nuclear packing than other species.

In the present investigation, the percentage of spermatozoa with damaged DNA detected by comet averaged from 0.63 to 1.00 and 1.73 to 2.37 for fresh and frozen semen, respectively. A similar low percentage of DNA damage was previously recorded in Egyptian buffalo semen (Badr *et al.*, 2010). The mean percentage of comet-detected spermatozoa with damaged DNA was significantly higher for frozen than fresh semen. This level of DNA damage shows that the neutral comet assay may be used as an additional parameter for assessing the quality of frozen semen. Compared to gel electrophoresis and acridine orange test, comet assay appears to be the most sensitive of all the procedures for detecting DNA fragmentation.

Mukhopadhyay *et al.* (2011) added that a sperm nuclear DNA protamination below 10% in cattle and buffalo bulls was not an important cause of semen poor quality. It has been shown that spermatozoa which carry an altered genome are able to achieve fertilization, thereby posing concerns about the transmission of abnormal genetic material to the offspring (Barroso *et al.*, 2009).

The obtained results showed that motility may be a marker for semen quality as significant correlations were found between motility and many sperm parameters such as sperm abnormalities and DNA damage. In this respect, Ramos and Wetzels (2001) maintained that motility may be a relevant physiological marker for DNA intact sperm. The present study revealed a significant negative correlation between DNA damage and post-thawing motility. This result was in accordance with (Badr *et al.*, 2010) in Egyptian buffalo semen. Sperm motility is often used as a predictive measure in semen analyses; high motility being a prerequisite of normal sperm parameters. Irvine *et al.* (2000) reported sperm samples with low motility to carry higher loads of DNA damage. In contrast, Morris *et al.* (2002) revealed that the higher the semen sperm motility, the higher the DNA damage load carried by the sperm populations.

In conclusion, DNA damage evaluation may provide reassurance about genomic normalcy and improve methods of selecting spermatozoa with intact DNA to be used in artificial insemination.

## References

- Abd El-Fatah, EM; El-Behairy, AM; Amin, AS and Eltablawy, NA (2008). Effect of cryopreservation on DNA integrity, lipid peroxidation and antioxidation enzyme activity in buffalo spermatozoa. *Egypt J. Basic Appl. Physiol.*, 7: 467-481.
- Agarwal, A and Said, TM (2003). Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. *Hum. Reprod. Update.* 9: 331-345.
- Andrabi, SMH (2009). Factors affecting the quality of cryopreserved buffalo (*Bubalus bubalis*) bull spermatozoa. *Reprod. Dom. Anim.*, 44: 552-569.
- Badr, MR; Mary, G and Hassan, MH (2010). Effect of trehalose on cryopreservation, oxidative stress and DNA integrity of buffalo spermatozoa. *J. Reprod. Infert.*, 1: 50-57.
- Barros, PMH; Nichi, M; Cortada, CNM; Carvalho, NAT; Baruselli, PS; Barnabe, RC and Barnabe, VH (2007). Semen evaluation of Murrah buffalo bulls using sperm functional tests. *Ital. J. Anim. Sci.*, 6: 772-774.
- Barroso, G; Valdespin, C; Vega, E; Kershenovich, R; Avila, R; Avendano, C and Oehninger, S (2009). Developmental sperm contributions: fertilization and beyond. *Fertil. Steril.*, 92: 835-848.
- Barth, AD and Oko, RJ (1989). *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*. 1st Edn., Ames, USA, Iowa State University Press. P: 285.
- Bucak, MN; Tuncer, PB; Sariözkan, S; Başpınar, N; Taşpınar, M; Çoyan, K; Bilgili, A; Akalm, PP; Büyükleblebici, S; Aydos, S; Ilgaz, S; Sunguroğlu, A and Öztuna, D (2010). Effects of antioxidants on post-thawed bovine sperm and oxidative stress parameters: antioxidants protect DNA integrity against cryodamage. *Cryobiology*. 61: 248-253.
- Campbell, RC; Dott, HM and Glover, TD (1956). Nigrosin-eosin as stain for differentiating live and dead spermatozoa. *J. Agric. Sci.*, 44: 1-8.
- Courtens, JL; Ekwall, H; Paquignon, M and Ploen, L (1989). Preliminary study of water and some element contents in boar spermatozoa, before, during and after freezing. *J. Reprod. Fertil.*, 87: 613-626.
- Duran, EH; Gurgan, T; Gunalp, S; Enginsu, ME; Yarali, H and Ayhan, A (1998). A logistic regression model including DNA status and morphology of spermatozoa for prediction of fertilisation *in vitro*. *Human Reprod.*, 13: 1235-1239.
- El-Sheshtawy, RI; El-Sisy, GA; Mohamed, AA and El-Natat, WS (2010). Effect of egg yolk from different avian species on cryopreservability of buffalo semen. *Global J. Biotechnol. Biochem.*, 5: 211-215.
- El-Sisy, GA; El-Natat, WS and El-Sheshtawy, RI (2007). Buffalo semen quality, antioxidants and peroxidation during chilling and cryopreservation. *Online J. Vet. Res.*, 11: 55-61.
- Filatov, MV; Semenova, EV; Vorob'eva, OA; Leont'eva, O and Drobchenko, EA (1999). Relationship between abnormal sperm chromatin packing and IVF results. *Mol. Hum. Reprod.*, 5: 825-830.
- Giusti, A; Baird, M; Pasquale, S; Balazs, I and Glassberg, J (1986). Application of deoxyribonucleic acid (DNA) polymorphisms to the analysis of DNA recovered from sperm. *J. Forensic Sci.*, 31: 409-417.
- Irvine, DS; Twigg, JP; Gordon, EL; Fulton, N; Milne, PA and Aitken, RJ (2000). DNA integrity in human spermatozoa: relationships with semen quality. *J. Androl.*, 21: 33-44.
- Koonjaenak, S; Johannisson, A; Pongpeng, P; Wirojwuthikul, S; Kunavongkrit, A and Rodriguez-Martinez, H (2007). Seasonal variation in nuclear DNA integrity of frozen thawed spermatozoa from Thai AI swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*). *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.*, 54: 377-383.

- Liu, DY and Baker, HW** (1994). Disordered acrosome reaction of spermatozoa bound to the zona pellucida: a newly discovered sperm defect causing infertility with reduced sperm-zona pellucida penetration and reduced fertilization *in vitro*. *Hum. Reprod.*, 9: 1694-1700.
- Manicardi, GC; Tombacco, A; Bizzaro, D; Bianchi, U; Bianchi, P and Sakkas, D** (1998). DNA strand breaks in ejaculated human spermatozoa: comparison of susceptibility to the nick translation and terminal transferase assays. *Histochem. J.*, 30: 33-39.
- Martin, G; Sabido, O; Durand, P and Levy, R** (2004). Cryopreservation induces an apoptosis-like mechanism in bull sperm. *Biol. Reprod.*, 71: 28-37.
- Mazur, P** (1984). Freezing of living cells: mechanisms and implications. *Am. J. Physiol.*, 247: 125-142.
- Mohammed, KME; Ziada, MS and Darwish, GM** (1998). Practical trials for freezing semen of buffalo and Friesian bulls. Effect of various regimens of freezing, different milk extenders and types of straws packages on post thawing semen characters. *Assiut. Vet. Med. J.*, 39: 70-75.
- Morris, ID; Ilott, S; Dixon, L and Brison, DR** (2002). The spectrum of DNA damage in human sperm assessed by single cell gel electrophoresis (comet assay) and its relationship to fertilisation and embryo development. *Hum. Reprod.*, 17: 990-998.
- Mukhopadhyay, CS; Gupta, AK; Yadav, BR; Chauhan, IS; Aparna Gupta, A; Mohanty, TK and Raina, VS** (2011). Effect of cryopreservation on sperm chromatin integrity and fertilizing potential in bovine semen. *Livest. Sci.*, 136: 114-121.
- Perreault, SD; Barbee, RR; Elstein, KH; Zucker, RM and Keefer, CL** (1988). Interspecies differences in the stability of mammalian sperm nuclei assessed *in vivo* by sperm microinjection and *in vitro* by flow cytometry. *Biol. Reprod.*, 39: 157-167.
- Ramos, L and Wetzels, AM** (2001). Low rates of DNA fragmentation in selected motile human spermatozoa assessed by the TUNEL assay. *Hum. Reprod.*, 16: 1703-1707.
- Scholkamy, TH; Mahmoud, KGhM; El Zohery, FA and Ziada, MS** (2009). Evaluation of sephadex filtration for freezability and *in vitro* fertilizing ability of buffalo semen. *Global Veterinaria*. 3: 144-150.
- Spano, M; Bonde, JP; Hjollund, HI; Kolstad, HA; Cordelli, E and Leter, G** (2000). Sperm chromatin damage impairs human fertility. *Fertil. Steril.*, 73: 43-50.
- Virro, MR; Larson-Cook, KL and Evenson, DP** (2004). Sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and ongoing pregnancy *in vitro* fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil. Steril.*, 81: 1289-1295.
- Ward, WS** (1994). The structure of the sleeping genome: implication of sperm DNA organization for somatic cells. *J. Cell Biochem.*, 55: 77-82.
- Watson, PF** (1995). Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reprod. Fertil. Dev.*, 7: 871-891.
- Yanagimachi, R** (1994). Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity. *Zygote*. 2: 371-372.

# Summaries in Persian

## خلاصه‌ی مقالات به زبان فارسی

مقاله کامل: تأثیر استرس گرمایی بر پروفایل بیان ژن‌های مربوط به آپوپتوز در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی گاو دوره انتقالی نژاد ساهییوال

آنجلی سومال<sup>۱</sup>، آنجلی آگاروال<sup>۲</sup> و رامش چاندرا یوپیادیوای<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکترای تخصصی فیزیولوژی دامپزشکی، بخش فیزیولوژی و اقلیم‌شناسی (P&C)، پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناگار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی، یوتر پردش، هند؛ <sup>۲</sup> بخش فیزیولوژی گاو شیری، پژوهشکده ملی تحقیقات گاو شیری، کرنال-۱۳۲۰۰۱، هریانا، هند

(دریافت مقاله: ۱ دی ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۳ اسفند ۱۳۹۳)

این مطالعه به منظور بررسی اثر استرس گرمایی بر الگوی بیان ژن‌های مرتبط با آپوپتوز در حوالی زایمان گاوهای دوره انتقالی (فاز انتقالی قبل و بعد از زایمان) نژاد ساهییوال انجام گرفت. برای این منظور، ۱۲ گاو ساهییوال آبستن خشک از مرکز تحقیقات دام‌های اهلی در پژوهشکده ملی تحقیقات گاو شیری، کرنال انتخاب شدند. گاوها به دو گروه شامل شش گاو ساهییوال در هر گروه تقسیم شدند. گاوهای گروه I تحت شرایط دمایی معتدل ( $THI= ۶۷/۳$ ) و گاوهای گروه II در فصل تابستان ( $THI= ۷۹/۹$ ) زایمان کردند. نمونه‌های خونی در روزهای ۱۵-، ۰ و ۱۵+ نسبت به روز زایمان جمع‌آوری گردیدند. سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMC) مشخص شده و کل RNA برای بیان mRNAs مربوط به BCL-2 (لنفومای سلول B-۲)، BAX (کشنده آنتاگونیست BCL-2)، BAK (پروتئین X مرتبط با Bcl-2)، CASP-3 (سیستئین-آسپارتیک پروتئازهای-۳) و P53 (پروتئین توموری-۵۳) جدا شدند. اثر تنظیمی بالای CASP-3 بر روی روز زایمان در طی هر دو شرایط دمایی مشخص داشت. مقایسه بین دو شرایط دمایی نشان داد که بین CASP-3، BAK، P53 و نسبت BAX/BCL-2 در PBMC در فصل تابستان در مقایسه با وضعیت دمایی معتدل افزایش یافت که حساسیت این سلول‌ها به آپوپتوز را متبادر به ذهن می‌کند. بر اساس یافته‌های بالا می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که هنگام زایمان PBMC نسبت به آپوپتوز حساس‌تر بوده و تابستان که استرس‌زاتر می‌باشد آپوپتوز PBMC در گاوهای ساهییوال را تشدید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: آپوپتوز، PBMC، ساهییوال، استرس گرمایی، گاو دوره انتقالی

## مقاله کامل: جداسازی اولیه گونه‌های مایکوباکتریوم در گونه‌های مولوس در ترکیه

پینار سویم<sup>۱</sup>، سلمین اُزر<sup>۲</sup> و فریت راد<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>وزارت غذا، کشاورزی و دامداری، اداره کل استان کوروم، کوروم، ترکیه؛ <sup>۲</sup>گروه آبی‌پروری، دانشکده شیلات دانشگاه مرسین، مرسین ۳۳۱۶۹، ترکیه

(دریافت مقاله: ۲۸ اسفند ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۱۷ دی ۱۳۹۳)

گونه‌های مایکوباکتریوم اکتیوزئونوتیک خطرات بهداشتی در ماهی و انسان دارد. در این مطالعه، وجود گونه‌های مایکوباکتریوم اکتیوزئونوتیک در شاه ماهی (مولوس بارباتوس) و شاه ماهی قرمز (مولوس سورمولیتوس)، گونه‌های بسیار صید شده در دریای مدیترانه و ازه مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۲۰۸ نمونه ماهی تهیه شده از ماهیگیرهایی در شهرستان مرسین (ترکیه) مورد مطالعه قرار گرفتند. گونه‌های مایکوباکتریوم با استفاده از روش‌های قراردادی جداسازی شده و توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در سطح جنس و به وسیله PCR-RFLP در سطح گونه شناسایی شده‌اند. ۱۳ گونه مایکوباکتریوم در ۱۳ نمونه ماهی (۶/۲۵٪) شناسایی شدند. چهار گونه مایکوباکتریوم به عنوان مایکوباکتریوم ژناونس، سه گونه به عنوان مایکوباکتریوم فورتوتوم، سه گونه به عنوان مایکوباکتریوم اسکروفلاستوم، یک گونه به عنوان مایکوباکتریوم مارینوم، یک گونه به عنوان مایکوباکتریوم واسه و یک گونه به عنوان مایکوباکتریوم اوروم شناسایی شدند. هیچ گونه‌ای از مایکوباکتریوم در نمونه‌های ماهی مشاهده نشد. یافته‌های این مطالعه می‌توانند به مطالعات بعدی بر روی گونه‌های مایکوباکتریوم اکتیوزئونوتیک در غذاهای دریایی کمک نمایند.

**واژه‌های کلیدی:** بیماری ماهی، ایمنی غذا، گونه‌های مایکوباکتریوم، شاه ماهی (مولوس بارباتوس)، شاه ماهی قرمز (مولوس سورمولیتوس)

## مقاله کامل: تعیین خصوصیات گونه‌های توکسین‌زای اسپرژیلوس فلاوس و اسپرژیلوس پارازیتیکوس جدا شده از خوراک دام در شمال شرق ایران

الهام داوری<sup>۱</sup>، محمد محسن‌زاده<sup>۲</sup>، غلامرضا محمدی<sup>۳</sup>  
و رویا رضائیان دلویی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛ <sup>۲</sup>گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛ <sup>۳</sup>گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛ <sup>۴</sup>گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

(دریافت مقاله: ۱۰ اسفند ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۵ آذر ۱۳۹۳)

آفلاتوکسین‌ها، متابولیت‌های ثانویه تولید شده به وسیله بعضی از گونه‌های اسپرژیلوس به ویژه اسپرژیلوس فلاوس و اسپرژیلوس پارازیتیکوس می‌باشند که باعث آلودگی مواد غذایی و یا خوراک دام می‌شوند. این مطالعه با هدف ارزیابی آلودگی خوراک دام به انواع اسپرژیلوس و تشخیص ژن‌های موثر در مسیر سنتز آفلاتوکسین در اسپرژیلوس فلاوس و اسپرژیلوس پارازیتیکوس جدا شده از خوراک دام انجام گرفت. تعداد ۱۱۰ نمونه خوراک دام شامل سیلو، کنسالتره، علوفه و خوراک آماده از ۳۰ گاوداری صنعتی و نیمه صنعتی استان خراسان رضوی جمع‌آوری و با استفاده از



روش کشت آزمایشگاهی و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز مورد ارزیابی قرار گرفت. تعداد ۶۸ (۶۱/۸۲٪) سویه آسپرژیلوس از ۱۱۰ نمونه خوراک دام مورد بررسی، جداسازی گردید. بیشترین میزان آلودگی به انواع آسپرژیلوس فومیگاتوس (۲۱/۸۱٪)، سپس آسپرژیلوس فلاوس (۱۷/۲۷٪)، آسپرژیلوس نایجر (۱۰٪)، آسپرژیلوس پارازیتیکوس (۸/۱۸٪) و آسپرژیلوس اروزیه (۴/۵۴٪) تعلق داشت. از بابت میزان آلودگی قارچی بین گاو‌داری‌های صنعتی و نیمه صنعتی هیچگونه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $P>0.05$ ). از آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز چندگانه برای تشخیص چهار ژن اصلی (*nor-1*, *ver-1*, *omtA*, *aflR*) مسؤول تولید آنزیم‌های کلیدی در چرخه بیوسنتز آفلاتوکسین در آسپرژیلوس فلاوس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس استفاده گردید. از ۲۸ سویه آسپرژیلوس فلاوس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس جدا شده تعداد ۱۰ جدایه (۳۵/۷۱٪) واجد چهار ژن اصلی با باندهای مشخص بودند. کلیه جدایه‌ها از بابت تولید آفلاتوکسین با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه نازک مورد تایید قرار گرفتند. ۱۸ جدایه (۶۴/۲۹٪) دارای ۱، ۲ یا ۳ باند بودند. نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که تشخیص سریع و اختصاصی قارچ‌های توکسین‌زا برای اطمینان از سلامت میکروبیولوژیکی خوراک دام حائز اهمیت می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** آفلاتوکسین، گونه‌های آسپرژیلوس، خوراک دام، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز چندگانه

## مقاله کامل: تاثیر افزودن امولسیون کننده به جیره‌های حاوی منابع مختلف چربی بر عملکرد اردک‌های خاکی کمپل

زُسانگپوای<sup>۱</sup>، آملان کومار پاترا<sup>۱</sup> و گوتام سامانتا<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد، گروه تغذیه دام، دانشکده دامپزشکی و علوم دامی دانشگاه علوم دامی و شیلات بنگال غربی، سارانی، K. B. ۳۷، بلگاچیا، کلکته، ۷۰۰۰۳۷، بنگال غربی، هند؛ <sup>۲</sup> گروه تغذیه دام، دانشکده دامپزشکی و علوم دامی دانشگاه علوم دامی و شیلات بنگال غربی، سارانی، K. B. ۳۷، بلگاچیا، کلکته، ۷۰۰۰۳۷، بنگال غربی، هند

(دریافت مقاله: ۸ بهمن ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۲۹ بهمن ۱۳۹۳)

یک آزمایش به منظور مطالعه اثرات یک امولسیون کننده (گلیسرول پلی اتیلن گلیکول رسینولات، GPGR) و منابع مختلف چربی بر روی عملکرد اردک‌های خاکی کمپل انجام گرفت. اردک‌ها به پنج گروه با سه تکرار (۱۰ اردک به ازای هر تکرار) در هر گروه تقسیم‌بندی شدند. درمان‌ها، جیره کنترل (C1)، بدون افزودن روغن و امولسیون کننده، جیره کنترل افزوده شده با ۲٪ روغن سویا (C2) بودند. برای سه گروه دیگر، بلال ذرت با سبوس برنج جایگزین و به ۲٪ روغن سویا به همراه امولسیون کننده (T1)، ۲٪ روغن خرما به اضافه امولسیون کننده (T2)، و ۲٪ چربی خوک به اضافه امولسیون کننده (T3) افزوده شد. مصرف خوراک تحت تأثیر هیچ یک از درمان‌های غذایی قرار نگرفت ( $P>0.1$ ). همچنین اثری از درمان غذایی بر روی افزایش وزن بدن و بازدهی خوراک به استثنای گروه T3، که افزایش وزن بدن در مقایسه با سایر درمان‌ها کمتر و بازدهی خوراک کمتر از C2، T1 و T2 بود، وجود نداشت. قابلیت متابولیزه کردن ماده خشک در گروه‌های T1، T2 و T3 نسبت به گروه‌های C1 و C2 میل به کاهش داشت ( $P=0.08$ ). مقادیر انرژی قابل متابولیزه به طور معنی‌داری در گروه C2 نسبت به گروه C1 بیشتر بوده ( $P<0.05$ )، ولی در میان گروه‌های C1، T1، T2 و T3 مشابه بودند. قابلیت متابولیزه کردن چربی و سایر مواد مغذی تحت تأثیر درمان‌های غذایی قرار نگرفتند ( $P>0.10$ ). صفات اصلی لاشه در میان درمان‌ها تحت تأثیر قرار نگرفتند ( $P>0.10$ ). به عنوان نتیجه‌گیری، روغن سویا و روغن خرما همراه با GPGR به عنوان امولسیون کننده می‌توانند به جیره‌های حاوی مقادیر زیاد سبوس برنج بدون اثر بر عملکرد افزوده شوند، در حالی که چربی خوک ممکن است عملکرد اردک‌ها را به طور معکوس تحت تأثیر قرار دهد.

**واژه‌های کلیدی:** امولسیون کننده، چربی‌ها، رشد، اردک‌های خاکی کمپل، مصرف مواد مغذی

## مقاله کامل: آنالیز انسجام کروماتین و آسیب DNA اسپرما توزوآی بوفالو

کریم غ. ام. محمود<sup>۱</sup>، عبدالحامد ای. ای. السوگری<sup>۲</sup>، آلا ای. عبدالغفار<sup>۳</sup>،  
محمود ای. ای. ابو الروز<sup>۳</sup> و یوسف اف. احمد<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه تولید مثل دام و تلقیح مصنوعی، مرکز تحقیقات ملی، الدقی، الجیزه، مصر؛ اداره کل خدمات دامپزشکی، الدقی، الجیزه، مصر؛ <sup>۲</sup> گروه مامایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه بنها، الکالیوبیا، مصر

(دریافت مقاله: ۲۱ مرداد ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۱ آذر ۱۳۹۳)

این مطالعه به منظور تخمین انسجام کروماتین و آسیب DNA به وسیله الکتروفورز DNA و سنجش کامت در مایع منی تازه و منجمد بوفالو انجام گرفت. نمونه‌های مایع منی از چهار بوفالوی نر جمع‌آوری شدند، و مایع منی بعد از فریز از لحاظ تحرک اسپرم، زنده مانی، ناهنجاری‌های اسپرم، انسجام کروماتین و آسیب DNA بررسی شد. اختلاف معنی‌داری در پارامترهای مایع منی در میان گاوهای نر بعد از آب شدن پیدا شد. اختلاف‌های بسیار معنی‌داری ( $P < 0.001$ ) در انسجام کروماتین بین مایع منی تازه و منجمد مشاهده شدند. اختلاف معنی‌داری بین گاوها از نظر انسجام کروماتین در مایع منی تازه وجود نداشت، اما در مایع منی منجمد در میان گاوها اختلاف معنی‌داری شناسایی شد ( $P < 0.05$ ). قطعه قطعه شدن DNA به وسیله الکتروفورز ژل آگاروز دیده نشد. درصد اسپرم با DNA آسیب دیده با سنجش کامت به طور معنی‌داری بین مایع منی تازه و منجمد فرق می‌کرد. رابطه منفی معنی‌داری بین تحرک و آسیب به DNA ( $r = -0.68, P < 0.05$ ) وجود داشت و ناهنجاری‌های اسپرم و قطعه قطعه شدن DNA به طور قابل توجهی به شکل مثبت در ارتباط بودند ( $r = 0.59, P < 0.05$ ). در نتیجه، ارزیابی آسیب DNA ممکن است اطمینان از نرمال بودن ژنوم را میسر ساخته و بتواند تکامل روش‌های اصلاح شده انتخاب اسپرما توزوآی با DNA سالم را به منظور استفاده در تلقیح مصنوعی هدایت نماید.

**واژه‌های کلیدی:** بوفالو نر، انسجام کروماتین، آسیب DNA، کیفیت مایع منی

## مقاله کامل: تاثیر مایع آمینون جنین جوجه بر روی بازسازی عصب سیاتیک موش صحرایی

غلامحسین فرجاه<sup>۱</sup> و فرزانه فضلی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> مرکز تحقیقاتی نوروفیزیولوژی، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران؛ <sup>۲</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریحی، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

(دریافت مقاله: ۱۹ شهریور ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۰ دی ۱۳۹۳)

هدف از این مطالعه تجربی ارزیابی تاثیر مایع آمینون جوجه بر برش عرضی عصب سیاتیک موش صحرایی است. ۳۰ سر موش نر صحرایی (اسپراگو-داولی) بالغ به وزن ۲۷۵ تا ۳۰۰ گرم به طور تصادفی به سه گروه شامل (۱) مایع آمینون، (۲) نرمال سالین و (۳) شم جراحی تقسیم شدند. مایع آمینون از حفره آمینون جنین جوجه ۱۴ روزه کشیده شد. عصب سیاتیک نمایان شد و به طور عرضی قطع شد. بلافاصله ترمیم اپی نورئال انجام شد. به حیوانات تحت درمان با مایع آمینون ۲ میلی لیتر بر کیلوگرم به صورت زیر جلدی و به طور روزانه، ۵ بار در هفته و به مدت دو هفته تزریق شد. همه حیوانات توسط شاخص حرکتی عصب سیاتیک، الکتروفیزیولوژی، بافت شناسی و ایمونوهیستوشیمی در ۲۸ و ۵۶ روز پس از

جراحی ارزیابی شدند. شاخص حرکتی عصب سیاتیک در روزهای ۲۱ و ۲۸ پس از جراحی در بین گروه‌های مایع آمیون و نرمال سالین از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). در روز ۲۸، تعداد آکسون‌های میلین‌دار در گروه مایع آمیون از لحاظ آماری بیشتر از گروه نرمال سالین بود ( $P < 0.05$ ). در روزهای ۲۸ و ۵۶ پس از جراحی، میانگین سرعت هدایت عصب در گروه مایع آمیون نسبت به گروه نرمال سالین سریع‌تر بود، اما این اختلاف معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مایع آمیونیتیک جنین جوجه، بازسازی عصب محیطی را تقویت می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: مایع آمیون، جنین جوجه، بازسازی عصب، موش صحرایی

## مقاله کامل: شناسایی و تفریق سویه‌های وحشی و واکسن ویروس دیستمپر سگ سانان توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز داپلکس با رونویسی معکوس

زیبا<sup>۱</sup>-بینگ دونگ<sup>۱، ۲</sup>، ون-هو لی<sup>۳</sup>، جون-لینگ ژو<sup>۴</sup>، ون-جون لیو<sup>۱</sup>،  
مینگ-کیو ژا<sup>۵</sup>، یونگ-ون لوان<sup>۱</sup> و جین-دینگ چن<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه طب پیشگیری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه کشاورزی جنوب چین، منطقه تیان هی، گوانگژو ۵۱۰۶۴۲، چین؛ <sup>۲</sup>گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی و مهندسی بینگ دونگ، دانشگاه شائگوان، شائگوان ۵۱۲۰۰۵، چین؛ <sup>۳</sup>آکارشناس ارشد ویروس، گروه طب پیشگیری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه کشاورزی جنوب چین، منطقه تیان هی، گوانگژو ۵۱۰۶۴۲، چین؛ <sup>۴</sup>آکارشناس ویروس، گروه طب پیشگیری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه کشاورزی جنوب چین، منطقه تیان هی، گوانگژو ۵۱۰۶۴۲، چین؛ <sup>۵</sup>آکارشناس ارشد واکسن، گروه طب پیشگیری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه کشاورزی جنوب چین، منطقه تیان هی، گوانگژو ۵۱۰۶۴۲، چین

(دریافت مقاله: ۲۳ دی ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۲۵ آذر ۱۳۹۳)

ویروس دیستمپر سگ سانان (CDV) عامل دیستمپر سگ سانان (CD) است که بیماری شدید و بسیار واگیری در سگ‌ها می‌باشد. در مطالعه حاضر، یک روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز داپلکس با رونویسی معکوس (RT-PCR) برای شناسایی و تمایز سویه‌های نوع وحشی و واکسن CDV تهیه شد. چهار پرایمر به منظور شناسایی و افتراق بین ویروس‌ها به ترتیب به وسیله تولید فراورده‌های ۶۳۸ و ۷۸۱ cDNA bp طراحی شدند. علاوه بر این، روش RT-PCR دو رشته‌ای برای شناسایی ۶۷ نمونه مزرعه مشکوک به CD از استان گوانگ دونگ در چین استفاده گردید. به عنوان نتیجه، ۳۳ نمونه مشابه نوع وحشی بودند. روی هم رفته، روش RT-PCR دو رشته‌ای ویژگی و حساسیت بالایی دارد که می‌تواند برای شناسایی و تفریق مؤثر واکسن CDV و سویه نوع وحشی مورد استفاده قرار گیرد و نشان دهنده آن است که می‌تواند در شناسایی بالینی و بررسی اپیدمیولوژیکی به کار رود.

واژه‌های کلیدی: ویروس دستمپر سگ سانان، تمایز، RT-PCR داپلکس، حساسیت، ویژگی

مقاله کامل:

## جداسازی و شناسایی مولکولی مایکوپلاسما کوئی جنیتالیوم

## از دستگاه تناسلی اسب سانان در شمال هند

کاپیل نهرا<sup>۱</sup>، راجنیش رانا<sup>۲</sup>، کوناساگارا ناگالیکار ویسواس<sup>۳</sup>، ناچاپولی رمیش آرون<sup>۱</sup>،  
وِجندرا پال سینگ<sup>۴</sup>، آجی پراتاپ سینگ<sup>۵</sup> و شیاما نارایانا پرابهو<sup>۶</sup>

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناگار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی، یوتر پردش، هند؛ <sup>۲</sup> آزمایشگاه رفرا مایکوپلاسما، بخش باکتری شناسی و قارچ شناسی، پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناگار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی، یوتر پردش، هند؛ <sup>۳</sup> بخش باکتری شناسی و قارچ شناسی، پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناگار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی، یوتر پردش، هند؛ <sup>۴</sup> گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی و علوم دامی (COVs&AH) دانشگاه دامپزشکی پت دین دایال (DUVASU)، ماتورا، ۲۸۱۰۰۱، یوتر پردش، هند؛ <sup>۵</sup> دانشجوی دکترای تخصصی آسیب شناسی دامپزشکی، بخش پاتولوژی، پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناگار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی، یوتر پردش، هند

(دریافت مقاله: ۴ دی ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۱ آذر ۱۳۹۳)

اگر چه به مایکوپلاسما کوئی جنیتالیوم در مشکلات تولید مثلی اسب سانان اشاره شده است، اما به دلیل فقدان آزمایش‌های تشخیصی، اختصاصی شیوع آن تا حد زیادی ناشناخته است. به منظور بر طرف کردن این محدودیت، جفت پرایمرهای اختصاصی گونه را تکامل بخشیده و بهینه‌سازی کرده‌ایم که توالی‌های ژن *rpoB* مایکوپلاسما کوئی جنیتالیوم (RNA پلیمرز تحت واحد B) را مورد هدف قرار می‌دهند. ویژگی روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز تکامل یافته در این مطالعه با استفاده از ۱۲ جدایه مزرعه‌ای شامل سویه مایکوپلاسما کوئی جنیتالیوم و دیگر گونه‌های مایکوپلاسما تعیین شد. در مطالعه مزرعه‌ای، تعداد ۱۲۲ نمونه شامل ۵۰ نمونه بالینی و ۷۲ نمونه تصادفی جمع‌آوری شده از مادیان و نریان به منظور شناسایی مایکوپلاسما کوئی جنیتالیوم در دستگاه تناسلی اسب سانان با آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمرز اختصاصی گونه تحت بررسی قرار گرفتند. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز اختصاصی گونه مایکوپلاسما کوئی جنیتالیوم ۲۲/۱۳٪ از نمونه‌ها را مثبت شناسایی کرد، در حالی که ۹/۰۱٪ از نمونه‌ها با تکنیک قراردادی کشت مثبت بودند. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز فراهم شده در این مطالعه توانست برای تشخیص سریع، اختصاصی و دقیق سویه‌های مایکوپلاسما کوئی جنیتالیوم مورد استفاده قرار گیرد. طبق اطلاعات نویسندگان، این اولین گزارش راجع به تکامل و ارزیابی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز اختصاصی گونه برای شناسایی مایکوپلاسما کوئی جنیتالیوم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تشخیص، مایکوپلاسما کوئی جنیتالیوم، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، ژن *rpoB*

## مقاله کامل: بررسی MMP-2 و MMP-9 در سرم سگ‌های مبتلا به بزرگ شدگی اتساعی قلب

سولماز چگینی<sup>۱</sup>، زهره خاکی<sup>۲</sup>، داریوش شیرانی<sup>۳</sup>، علیرضا وجهی<sup>۴</sup>،  
محمد طاهری<sup>۵</sup>، یارا تمرچی<sup>۶</sup> و عبدالرزاق رستمی<sup>۷</sup>

<sup>۱</sup> رزیدنت کلینیکال پاتولوژی، بخش کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ <sup>۲</sup> بخش کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ <sup>۳</sup> بخش رادیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ <sup>۴</sup> بخش داخلی دام کوچک، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ <sup>۵</sup> آزمایشگاه دکتر رستگار، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ <sup>۶</sup> رزیدنت داخلی دام کوچک، بخش داخلی دام کوچک، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ <sup>۷</sup> دامپزشک خصوصی، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۲۲ شهریور ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۱۲ بهمن ۱۳۹۳)

بزرگ شدن اتساعی قلب (DCM) با تغییراتی در میوسیت‌ها و بافت همبندی قلب همراه است. ماتریکس متالوپروتئینازها (MMPs) نقش

مهمی در سازماندهی و بازسازی قلب ایفا می کنند. به نظر می رسد که ژلاتینازها (MMP-2 و MMP-9) آنزیم های مهمی در بروز کاردیومیوپاتی می باشند. در ۲۲ قلاده سگ (گروه بیمار) شامل ۱۱ نر و ۱۱ ماده وجود بزرگ شدگی اتساعی قلب با کمک معاینات بالینی، گوش کردن صدای قلب، رادیوگراف از قفسه سینه و اکوکاردیوگرافی تایید شد. همچنین ۱۷ قلاده سگ سالم (گروه کنترل) با وزن و نژاد مشابه با بیماران به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند و کلیه روند تشخیصی در مورد آن ها نیز انجام گرفت. سپس MMP-2 و MMP-9 سرم گروه های کنترل و بیمار با روش زایموگرافی نیمه کمی اندازه گیری شد. بررسی ها نشان داد که میزان کلی MMP-9 در گروه بیمار بیشتر از گروه کنترل است و تفاوت معنی داری در میزان کلی MMP-2 بین ۲ گروه مشاهده نمی شود. pro-MMP-2 در گروه بیمار یافت نشد اما شکل فعال آن در هر دو گروه وجود داشت و فعالیت MMP-2 در بیماران از نظر آماری معنی دار بود. شکل فعال MMP-9 تنها در بیماران دیده شد. گرچه pro-MMP-9 در هر دو گروه مشاهده گردید اما میزان آن در گروه کنترل به صورت معنی داری بیشتر از بیماران بود. از نظر آماری تفاوت معنی داری در مقادیر شکل فعال MMP-2 و MMP-9 مابین گروه های مختلف بزرگ شدگی قلب (راست، چپ و هر دو سمت) و VHS (مقیاس اندازه قلب بر حسب اندازه مهره های کمر) در مقایسه با کنترل مشاهده نگردید. اگر چه تغییراتی در مقادیر MMP-2 و MMP-9 سرم سگ های مبتلا به DCM وجود دارد، اما به نظر آمده که افزایش MMP-9 مهم تر از MMP-2 می باشد و هیچکدام از آن ها تحت تاثیر بزرگ شدگی قلب یا درجه VHS نیستند.

واژه های کلیدی: DCM، ماتریکس متالوپروتئیناز، MMP-2، MMP-9، زایموگرافی

## مقاله کامل: ارزیابی اسپرم های منجمد/آب شده از ناحیه دم اپیدیدیم و پتانسیل بارورسازی اسپرم گاوی جمع آوری شده از دم اپیدیدیم در محیط آزمایشگاه

آنتونیو چاویرو<sup>۱</sup>، کارلا سرکوا بیرا<sup>۲</sup>، جواو سیلوا<sup>۳</sup>، جوآنا فرانکو<sup>۴</sup>  
و فرناندو موریارا دا سیلوا<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم مناطق بیابانی، مرکز تحقیقات و فن آوری کشاورزی آژورس (CITA-A)، دانشگاه آژورس، آنگرا دو هروایسمو ۰۴۲-۹۷۰۰، پرتغال؛ <sup>۲</sup> دانشجوی دوره کارشناسی، مرکز تحقیقات و فن آوری کشاورزی آژورس (CITA-A)، دانشگاه آژورس، آنگرا دو هروایسمو ۰۴۲-۹۷۰۰، پرتغال؛ <sup>۳</sup> دانش آموخته مرکز تحقیقات و فن آوری کشاورزی آژورس (CITA-A)، دانشگاه آژورس، آنگرا دو هروایسمو ۰۴۲-۹۷۰۰، پرتغال؛ <sup>۴</sup> کارشناس ارشد، گروه علوم مناطق بیابانی، مرکز تحقیقات و فن آوری کشاورزی آژورس (CITA-A)، دانشگاه آژورس، آنگرا دو هروایسمو ۰۴۲-۹۷۰۰، پرتغال

(دریافت مقاله: ۹ تیر ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۳ اسفند ۱۳۹۳)

در مطالعه حاضر، پتانسیل بارورسازی مایع منی جمع آوری شده از اپیدیدیم گاوهای نر کشتار شده بعد از انجماد به وسیله تکنیک های قراردادی و روش های فلوسیتومتری مورد بررسی قرار گرفت. دم اپیدیدیم برش داده شد، و اسپرم ها جمع آوری شده و از نظر حجم، غلظت اسپرم و انسجام آکروزوم و غشا با استفاده از یک فلوسیتومتر ارزیابی شدند. پتانسیل بارورسازی اسپرم به وسیله لقاح داخل آزمایشگاهی (IVF) مورد آزمایش قرار گرفت. قبل از فریز کردن، غلظت متوسط اسپرم  $1.0 \times 27/5 \pm 216$  sperm/ml بود. زنده مانی اسپرم به طور متوسط  $86/5 \pm 4\%$  بود. درصد متوسط اسپرم با آکروزوم و غشای پلاسمایی سالم قبل و بعد از انجماد به ترتیب  $90/7 \pm 2/9\%$  و  $90/8 \pm 1/9\%$  ( $P \geq 0.05$ ) بود. متوسط میزان بارورسازی، با استفاده از مایع منی منجمد/آب شده ناحیه اپیدیدیم  $64/1 \pm 3/9\%$  بارورسازی بدون اختلاف معنی دار ( $P > 0.05$ ) میان گاوها به دست آمد. در رابطه با گاوهای منظور شده به عنوان گروه کنترل، میزان بارورسازی  $72/2 \pm 4/5\%$  بود، که به طور معنی داری با میزان بارورسازی مایع منی منجمد/آب شده اپیدیدیمی اختلاف داشت ( $P > 0.05$ ). در نتیجه، امکان بهره گیری از تکنیک های آزمایشگاهی با اسپرماتوزوآهای منجمد جمع آوری شده از اپیدیدیم گاوها با استفاده از روش انجماد با سرعت تحت کنترل به همراه نمودار انجماد از قبل تعیین شده، و همراه با ارزیابی زنده مانی اسپرم با تکنیک های معمول و روش های فلوسیتومتری، با قابلیت بارورسازی اسپرماتوزوآهای اپیدیدیمی منجمد وجود دارد.

واژه های کلیدی: گاوی، روش انجماد، اپیدیدیم، لقاح داخل آزمایشگاهی، مایع منی

## مقاله کامل: عفونت آئروموناس سوبریا در ماهی لوچ (*Misgurnus mizolepis*) پرورشی در کره جنوبی، یک بررسی باکتریولوژیک

چینها یو<sup>۱</sup>، بن هیونگ کو<sup>۱</sup>، دا هیون کیم<sup>۲</sup>، دونگ وان کیم<sup>۴</sup>  
و سونگ وو پارک<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>بخش قرنطینه و بازرسی، اداره خدمات ملی کیفیت فرآورده‌های شیلات، یانگدو-گو، بوسان، کره جنوبی؛ <sup>۲</sup>آکارشناس ارشد، گروه حیات آبریان، دانشگاه ملی کوسان، گانسان-سی، جئولابوک-دو، کره جنوبی؛ <sup>۳</sup>آگروه حیات آبریان، دانشگاه ملی کوسان، گانسان-سی، جئولابوک-دو، کره جنوبی؛ <sup>۴</sup>دو، کره جنوبی؛ <sup>۵</sup>دو، کره جنوبی؛ <sup>۶</sup>میکروارگانسیم، ایکسان-سی، جئولابوک-دو، کره جنوبی

(دریافت مقاله: ۳ دی ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۳ اسفند ۱۳۹۳)

یک وقوع بیماری در ژوئن ۲۰۱۳ در میان ماهیان لوچ پرورش یافته در مزارع استخر پرورشی در شهر جانگ سئونگ-گان، جئولانام-دو، کره جنوبی رخ داد. میزان مرگ و میر روزانه به ۱/۲٪ در مزرعه رسید. علائم بالینی مشخص زخم خونریزی دهنده در قسمت میانی سر و آروزیون خونریزی دهنده سرپوش بودند. بر اساس خصوصیات بیوشیمیایی، باکتری مسبب جدا شده از ماهی بیمار به عنوان *آئروموناس سوبریا* شناسایی شد. جدایه، دو ژن همولیتیک، ژن‌های آئرولیزین (*sob*) و همولیزین (*asal*) را بیان نمود. از لحاظ هیستوپاتولوژیک، کبد دژنراسانس واکوئولر هیپاتوسلولار و پر خونی غیر فعال در سینوزوئیدها را نشان داد. طحال اسپلنوسیت‌های نکروز شده و پولپ‌های خونریزی دهنده داشت. در کلیه، تخریب گلوبولین‌ها، خونریزی و نکروز توپول‌های کلیوی مشاهده شدند. عفونت تجربی (دوز عفونی  $10^6$  cfu fish<sup>-1</sup> و  $10^7$  و  $10^8$ ) ماهی لوچ پرورشی سالم به همراه جدایه منجر به تکامل علائم بالینی مشابه علائم دیده شده در مزرعه گردید. در تزریق همراه با دوز عفونی  $10^6$  cfu fish<sup>-1</sup>، نرخ مرگ و میر ۱۰/۳٪ در مدت هفت روز پس از عفونت بود. زمانی که دوز عفونی  $10^7$  cfu fish<sup>-1</sup> به ازای هر ماهی استفاده شد، نرخ مرگ و میر طی مدت زمان دو روز به ۶۰/۹٪ رسید. به شیوه دیگر، زمانی که با  $10^8$  cfu fish<sup>-1</sup> تزریق شدند، همه ماهی‌ها در مدت یک روز مردند. نتایج اثبات نمودند که *آئروموناس سوبریا* در شیوع و مرگ و میر ماهی لوچ پرورشی دخالت دارد.

واژه‌های کلیدی: *آئروموناس سوبریا*، همولیزین، میسگورنوس میزولپیس، ماهی لوچ

## مقاله کوتاه: شناسایی مولکولی آلودگی پیروپلاسموز اسبی در الاغ‌های استان خراسان شمالی

ولی عابدی<sup>۱</sup>، غلامرضا رزمی<sup>۱</sup>، حسام سیفی<sup>۲</sup> و ابوالقاسم نقیبی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛ <sup>۲</sup>آگروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(دریافت مقاله: ۲۹ اردیبهشت ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۱۷ اسفند ۱۳۹۳)

پیروپلاسموز اسبی ناشی از *تیلریا اکویی* و *بازیا کابالی* یک بیماری انگلی داخل گلبول قرمزی در تک سمی‌های سراسر جهان می‌باشد. هدف این بررسی شناسایی مولکولی *تیلریا اکویی* و *بازیا کابالی* در الاغ‌های شمال شرق ایران بود و نیز ارتباط میزان آلودگی و فاکتورها خطر وابسته به میزان مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در این مطالعه ۱۰۶ راس الاغ به ظاهر سالم در استان خراسان شمالی مورد خونگیری قرار گرفتند. از خون‌های جمع‌آوری شده گسترش خونی تهیه و با گیمسا رنگ آمیزی گردید. DNA نمونه‌های خون نیز استخراج شده و با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز چندگانه جهت تعیین آلودگی پیروپلاسمی مورد آزمایش قرار گرفتند. در چهار گسترش خونی *تیلریا اکویی* مشاهده شد، همچنین آلودگی *تیلریا اکویی* در ۵۴ نمونه خون (۵۴/۹۴٪) الاغ با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز چندگانه تعیین گردید. آلودگی *بازیا کابالی* در

نمونه‌های خون با دو روش میکروسکوپی و مولکولی تعیین نشد. اختلاف معنی‌داری در میزان آلودگی تیلریا اکویی در الاغ در ارتباط با فاکتورهای وابسته به میزان مشاهده نشد. این اولین گزارش مطالعه مولکولی درباره پیروپلاسموز اسبی در الاغ‌های ایران می‌باشد. نتایج نشان دادند که تیلریا اکویی در الاغ‌های خراسان شمالی شایع است.

واژه‌های کلیدی: بابزیا کابالی، الاغ، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، تیلریا اکویی

## مقاله کوتاه: بازسازی سه بعدی ساعد خرگوش نیوزیلندی به وسیله توموگرافی کامپیوتری با آشکارسازهای متعدد

سماز کادیف<sup>۱</sup>، امرالله اکن<sup>۲</sup>، کمیل بشولوک<sup>۳</sup> و مصطفی اورهان دایان<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>گروه پرستاری، دانشکده بهداشت دانشگاه بتمن، بتمن، ترکیه؛ <sup>۲</sup>گروه آناتومی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سلجوق، کونیا، ترکیه

(دریافت مقاله: ۲۸ اسفند ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۲۹ بهمن ۱۳۹۳)

هدف از انجام این مطالعه تأیید خصوصیات بیومتریکی ساعد (درشت نی و نازک نی) خرگوش نیوزیلندی به وسیله بازسازی تصاویر سه بعدی (3D) حاصل از توموگرافی کامپیوتری با آشکارسازهای متعدد (MDCT) بود. تحت بیهوشی عمومی، ساعدهای تعداد ۱۶ خرگوش از هر دو جنس با استفاده از MDCT تشخیصی عمومی تصویربرداری شد. اندازه‌های بیومتریکی مدل‌های بازسازی شده از تصاویر MDCT با قدرت تفکیک بالا به طور آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در نتیجه، هنگامی که مقادیر اندازه بیومتریکی استخوان‌های مربوطه ساعد مقایسه شدند، تأیید شد که اهمیت آماری داخل دو جنس وجود ندارد، اما بین دو جنس تفاوت‌های مهم معنی‌داری از نظر برخی اندازه‌های بیومتریکی وجود داشت. پیشنهاد شده است که نتایج حاصل از مطالعه می‌توانند مطالعات بعدی بر روی سیستم اسکلتی را روشن ساخته و نظریه جدیدی در آموزش آناتومی شکل دهند.

واژه‌های کلیدی: توموگرافی کامپیوتری، پیش بازو، مورفومتری، خرگوش، بازسازی سه بعدی

## مقاله کوتاه: اولین بررسی سرولوژیک تب کیو در گاومیش‌های آزاد در چین

مینگ-یانگ بین<sup>۱،۲</sup>، کیوای-دونگ تان<sup>۱</sup>، سی-یوان کیواین<sup>۱</sup>، لینگ-یینگ هو<sup>۱</sup>، گوآ-هوآ لیو<sup>۳</sup>، دونگ-هوای ژو<sup>۳،۴</sup> و زینگ-کیوان ژو<sup>۳،۴</sup>

<sup>۱</sup>کارشناس علوم دامپزشکی، آزمایشگاه زیست‌شناسی بر پایه علت‌شناسی دامپزشکی، موسسه تحقیقات دامپزشکی لانژو، آکادمی علوم کشاورزی چین، لانژو، استان گانسو، چین؛ <sup>۲</sup>گروه انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه کشاورزی هونان، چانگشا، استان هونان، چین؛ <sup>۳</sup>آزمایشگاه زیست‌شناسی بر پایه علت‌شناسی دامپزشکی، موسسه تحقیقات دامپزشکی لانژو، آکادمی علوم کشاورزی چین، لانژو، استان گانسو، چین؛ <sup>۴</sup>مرکز نوآوری جیانگسو جهت جلوگیری و کنترل بیماری‌های عفونی دام‌های مهم و بیماری‌های مشترک بین دام و انسان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه زانگژو، زانگژو، جیانگسو، چین

(دریافت مقاله: ۴ آبان ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۱۴ دی ۱۳۹۳)

هدف از مطالعه حاضر بررسی شیوع سرمی عفونت کوکسیلا بورتنتی در گاومیش‌های آزاد در چین بود. تعداد ۵۵۲ نمونه سرمی از گاومیش‌های

استان گانسو، شمال غربی چین بین آوریل ۲۰۱۳ و ژانویه ۲۰۱۴ جمع‌آوری گردیده و آنتی بادی‌های ضد کوکسیلا بورتی با استفاده از روش ایمنوسوربنت متصل به آنزیم (ELISA) مورد ارزیابی قرار گرفتند. به طور کلی، ۱۳/۵۹٪ (۷۵/۵۵۲، ۱۰/۷۳-۱۶/۴۵، ۹۵٪ CI) از حیوانات بررسی شده برای آنتی بادی‌های کوکسیلا بورتی مثبت بودند. تفاوت معنی‌داری در شیوع سرمی کوکسیلا بورتی میان گاومیش‌های ماده (۱۳/۷۸٪، ۱۰/۳۶-۱۷/۱۹، ۹۵٪ CI) و نر (۱۳/۷۸٪، ۷/۸۹-۱۸/۳۶، ۹۵٪ CI) وجود نداشت. شیوع سرمی کوکسیلا بورتی در گاومیش‌ها در گروه‌های سنی مختلف در محدوده ۱۰/۸۸٪ تا ۱۵/۲۶٪ بود، ولی اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ( $P>0.05$ ). شیوع سرمی کوکسیلا بورتی در گاومیش‌های نمونه‌برداری شده در فصل‌های مختلف در محدوده ۱۲/۰۶٪ (پاییز) تا ۱۸/۳۳٪ (تابستان) بودند، اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ( $P>0.05$ ). این اولین گزارش از شیوع سرمی کوکسیلا بورتی در گاومیش‌های آزاد در چین است که نمایانگر نیاز به اندازه‌گیری‌ها جهت کنترل عفونت کوکسیلا بورتی در گاومیش‌های آزاد در چین است.

**واژه‌های کلیدی:** چین، کوکسیلا بورتی، شیوع سرمی، گاو میش‌ها

## مقاله کوتاه: اثر عصاره آبی گیاه گل میمون بر مدت زمان نگهداری و کیفیت ماهی قزل آلی رنگین کمان در حالت فوق سرد

اشکان جبلی جوان<sup>۱</sup>، مرضیه بلندی<sup>۲</sup>، زهره جدیدی<sup>۲</sup>، مهنوش پارسایی مهر<sup>۱</sup>  
و عباس جواهری وایقان<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران؛ <sup>۲</sup>گروه علوم و صنایع غذایی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران؛ <sup>۳</sup>گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

(دریافت مقاله: ۲۵ اسفند ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۵ آبان ۱۳۹۳)

این مطالعه به منظور ارزیابی تاثیر غوطه‌وری در عصاره آبی گیاه گل میمون بر کیفیت و مدت زمان ماندگاری فیله ماهی قزل آلی رنگین کمان در شرایط فوق سرد انجام شده است. در این آزمایش، نمونه‌های ماهی پس از غوطه‌ور سازی در عصاره‌های ۱٪ و ۳٪ گیاه گل میمون به مدت ۲۰ روز در دمای ۲- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. نمونه‌های تیمار شده و شاهد در فواصل معین از نظر ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و ارگانولپتیک مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که استفاده از عصاره آبی گل میمون در فیله ماهی قزل آلی به خوبی توانست پراکسیداسیون چربی و فساد هیدرولیتیک را در نمونه‌های تیمار شده با ۳٪ عصاره در مقایسه با کنترل در روز پایانی آزمایش به تاخیر بیندازد ( $P<0.05$ ). همچنین فیله‌های ماهی حاوی ۳٪ عصاره آبی گل میمون از میزان شمارش میکروبی کمتری نسبت به نمونه‌های تیمار شده با ۱٪ عصاره آبی و شاهد در طول آزمایش برخوردار بودند ( $P<0.05$ ). نتایج آزمون‌های حسی نیز نشان داد که نمونه‌های تیمار شده با ۳٪ عصاره حتی در روز بیستم نگهداری قابل قبول بودند. در مجموع، نتایج حاکی از آن بود که عصاره آبی گیاه گل میمون در حفظ کیفیت مطلوب نمونه‌های ماهی و افزایش مدت زمان نگهداری آن‌ها در حالت فوق سرد تاثیر بسزایی داشت که نتایج آزمون‌های میکروبی، شیمیایی و ارزیابی حسی به خوبی این مطلب را اثبات کردند.

**واژه‌های کلیدی:** کیفیت، قزل آلی رنگین کمان، گیاه گل میمون، شرایط فوق سرد، عصاره آبی



## مقاله کوتاه: فیلوژنی مولکولی برخی گونه‌های پرندگان با استفاده از آنالیز توالی ژن سیتوکروم *b*

اشرف فاطمی سعید آواد<sup>۱</sup>، سماح رمضان السید خلیل<sup>۱</sup> و یاسمینا محمد عبدالحکیم<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه توسعه فراوانی دام، دانشکده دامپزشکی دانشگاه الزقازیق، الزقازیق ۴۴۵۱۱، مصر؛ <sup>۲</sup> گروه پزشکی قانونی و سم شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه الزقازیق، الزقازیق ۴۴۵۱۱، مصر

(دریافت مقاله: ۱۹ بهمن ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۶ آبان ۱۳۹۳)

شناسایی و تفریق واقعی گونه‌های پرندگان گام حیاتی در مداخلات محافظه کارانه، تاکسونومیک، قانونی، حقوقی، و سایر مداخلات مربوط به پرند شناسی است. از اینرو، این مطالعه کاربرد روش مولکولی جهت شناسایی برخی گونه‌های پرندگان از قبیل ماکیان (*Gallus gallus*)، اردک روسی (*Cairina moschata*)، بلدرچین ژاپنی (*Coturnix japonica*)، قمری خانگی (*Streptopelia senegalensis*) و کبوتر راک (*Columba livia*) را در بر داشت. DNA ژنومی از نمونه‌های خون استخراج شد و بخشی از توالی ژن سیتوکروم *b* میتوکندری (۳۵۸ bp) تقویت و با استفاده از پرایمرهای یونیورسال توالی یابی شدند. مسیر توالی‌ها و آنالیزهای فیلوژنی توسط برنامه *workbench* اصلی *CLC* انجام گرفت. پنج توالی به دست آمده در بانک ژن رسوب یافتند و با توالی‌های قبلاً ثبت شده در بانک ژن مقایسه شدند. درصد شباهت بین *Gallus gallus* و *Coturnix japonica* ۸۸/۶۰٪، بین *Gallus gallus* و *Columba livia* ۸۰/۴۶٪ بود. درصد شناسایی بین گونه‌های مورد مطالعه و گونه‌های بانک ژن در محدوده ۷۷/۲۰٪ (*Anas platyrhynchos* و *Columba oenas*) تا ۱۰۰٪ (*Gallus gallus* و *Gallus sonneratii*، *Coturnix coturnix*، *Coturnix japonica*، *Meleagris gallopavo* و *Columba livia*) بود. ثابت گردید که تقویت توالی جزیی ژن سیتوکروم *b* میتوکندری به طور مشخص برای شناسایی گونه‌های پرندگان قابل استفاده است.

واژه‌های کلیدی: گونه‌های پرندگان، ژن سیتوکروم *b*، آنالیز فیلوژنیک

گزارش علمی: هیپراستوز اسکلتی ایدیوپاتیک منتشر در یک سگ نژاد بولدگ:

گزارش موردی

عباس غضنفر، ام. ان. عاصی، ام. ان. موغال،

ام. سقیب و جی. محمد

گروه جراحی و طب بالینی، دانشکده علوم دامپزشکی دانشگاه کشاورزی، فیصل آباد، ۳۸۰۴۰، پاکستان

(دریافت مقاله: ۹ تیر ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۶ آبان ۱۳۹۳)

این گزارش موردی وجود هیپراستوز ایدیوپاتیک منتشر (DISH) در یک بولدگ جنگی را شرح می‌دهد. سگ به بیمارستان آموزشی دامپزشکی، دانشگاه کشاورزی فیصل آباد پاکستان، با ابراز شکایت از سختی در راه رفتن پیشرونده، ناتوانی در ایستادن بر روی اندام خلفی و سفتی عضله در ناحیه کمری-خاجی ارجاع داده شد. معاینات بالینی، هماتولوژی و سربووشیمیایی به استثنای تشکیل وسیع استخوان جدید در رادیوگرافون چهار مهره آخر پشت سر هم کمری (L4-L8) در ناحیه کمری که موازی با لیگامنت نوکال حرکت می‌کند، غیر معنی‌دار بودند.

تشخیص DISH بر اساس علایم بالینی و بررسی رادیوگرافیک که پیشنهاد کننده DISH بود، انجام شد. این گزارش اولین مورد DISH در بولداگ جنگی در پاکستان را ثبت می‌کند.

**واژه‌های کلیدی:** هیپراستوز اسکلتی ایدیوپاتیک منتشر، بولداگ جنگی، لیگامنت نوکال

## گزارش علمی: آمفیزم عمومی زیر جلدی متعاقب شکستگی غضروف کریکوئید و جداشدگی آن از نای در یک قلاده سگ ژرمن شپرد

بهرروز نیک احوال<sup>۱</sup>، مهرزاد فرود<sup>۲</sup>، علیرضا رعایت جهرمی<sup>۱</sup>  
و محمد سعید احراری خوافی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران؛ <sup>۲</sup>دانشجوی دکترای تخصصی جراحی دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

(دریافت مقاله: ۱۳ مرداد ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۴ بهمن ۱۳۹۳)

یک قلاده سگ نژاد ژرمن شپرد با سابقه آمفیزم زیر جلدی پیشرونده عمومی متعاقب درگیری با یک سگ دیگر به بیمارستان دامپزشکی ارجاع شد. ارزیابی رادیوگرافی نشان دهنده آمفیزم زیر جلدی، نومومد یاستینوم و نوموریتروپیریتونئوم بود. در بررسی جراحی شکستگی طولی غضروف کریکوئید و جدایی آن از نای واضح بود. شکستگی غضروف مورد بخیه قرار گرفت و نای توسط بخیه‌های ساده تکی به غضروف کریکوئید اتصال داده شد. وقوع همزمان شکستگی کریکوئید و جداشدگی آن از نای در منابع دامپزشکی گزارش نشده است. از این رو این نوع ضایعه به عنوان یکی از علت‌های آمفیزم زیر جلدی به دنبال ترومای خارجی ناحیه حنجره می‌تواند مد نظر قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** شکستگی غضروف کریکوئید، جداشدگی نای، آمفیزم زیر جلدی