Archive of SID

Evaluation of frozen thawed cauda epididymal sperms and *in vitro* fertilizing potential of bovine sperm collected from the cauda epididymal

Chaveiro, A.[1*]; Cerqueira, C.[2]; Silva, J.[3]; Franco, J.[4] and Moreira da Silva, F.[1]

[1]Department of Agrarian Sciences, Centre for Agricultural Research and Technology of the Azores (CITA-A), University of Azores, 9700-042 Angra do Heroísmo, Portugal; [2]BSc Student, Centre for Agricultural Research and Technology of the Azores (CITA-A), University of Azores, 9700-042 Angra do Heroísmo, Portugal; [3]Graduated from Centre for Agricultural Research and Technology of the Azores (CITA-A), University of Azores, 9700-042 Angra do Heroísmo, Portugal; [4]MVSc, Department of Agrarian Sciences, Centre for Agricultural Research and Technology of the Azores (CITA-A), University of Azores, 9700-042 Angra do Heroísmo, Portugal

[*]***Correspondence:*** *A. Chaveiro, Department of Agrarian Sciences, Centre for Agricultural Research and Technology of the Azores(CITA-A), University of Azores, 9700-042 Angra do Heroísmo, Portugal. E-mail: antoniochaveiro@uac.pt*

(Received 30 Jun 2014; revised version 3 Mar 2015; accepted 14 Mar 2015)

Summary

In the present study, the fertilizing potential of semen recovered from slaughtered bulls epididymis was evaluated after cryopreservation, by conventional techniques and flow cytometry methods. The cauda epididymal was dissected and sperm were recovered and evaluated for volume, sperm concentration, and membrane and acrosome integrity using a flow cytometer. Sperm fertility potential was tested by *in vitro* fertilization (IVF). For each bull, three trials of IVF were performed. Before freezing, on average, the sperm concentration was 216 ± 27.5 × 10^6 sperm/ml. Sperm viability averaged 86.5 ± 4%. The mean percentage of sperm with intact plasma membrane and acrosome before and after cryopreservation was 90.7 ± 2.9% and 90.8 ± 1.9% ($P \geq 0.05$), respectively. The fertilization rate using frozen/thawed epididymal semen averaged 64.1 ± 3.9% fertilization with no significant differences between bulls ($P > 0.05$). For the bull considered as control, the fertilization rate was 72.2 ± 4.5%, differing significantly ($P > 0.05$) from the frozen/thawed epididymal semen's fertilization rate. In conclusion, it is possible to use *in vitro* techniques with cryopreserved spermatozoa obtained from bull's epididymis using a controlled rate freezing method with a predetermined freezing curve, and with assessment of sperm's viability by conventional techniques and flow cytometry methods, together with the fertilizing ability of cryopreserved epididymal spermatozoa.

Key words: Bovine, Cryopreservation, Epididymis, IVF, Semen

Introduction

The development of appropriate techniques for the preservation and storage of semen enables better utilization of high-value livestock animals. Technology has advanced in a way that makes the cryopreservation of semen through recovery of epididymal sperm possible, enabling the reproduction of elite bulls that can accidentally die. Freezing epididymal sperm samples has been performed in different species: dogs (Martins *et al*., 2007b), cats (Axner *et al*., 2004), equine (Barker and Gandier, 1957) bulls (Martins *et al*., 2007a) and bucks (Turri *et al*., 2014), with the aim to develop techniques suitable for storage of genetic material from these animals. To determine the quality and decay of sperm stored in epididymis post-mortem, some studies have been carried out in species such as mice (Sankai *et al*., 2001), boar (Kikuchi *et al*., 1998), dog (Yu and Leibo, 2002), some African wild species (Killian *et al*., 2000; Lubbe *et al*., 2000), mouflon (Pérez *et al*., 1995) and Iberian red deer (Soler *et al*., 2003).

The recovery of the epididymal spermatozoa from dead animals, the cryopreservation and subsequent *in vitro* fertilization (IVF) are useful tools to rescue genetic material that otherwise would be lost, either from highly productive animals or from endangered species (Martins *et al*., 2007b).

The fortuitous discovery of glycerol as an effective cryoprotective agent (Polge, 1949) introduced a completely new system of bull semen storage, a method which is widely in practice today. The cryopreserved bovine semen generally provides lower fertility rates compared to fresh semen. When comparisons were made based on a similar number of motile sperm, the results of fertility of the frozen semen are inferior to those obtained using fresh semen (Watson, 2000). The main factors involved in the decrease of fertility temperature are changes during the biotechnological process, the toxic and osmotic stress depicted by exposure to cryoprotectants and the formation and dissolution of extracellular ice crystals (Watson, 2000). Cryo-preservation is stressful for sperm, affecting membrane integrity, acrosomal and mitochondria (Januskauskas *et al*., 2003).

Concerning epididymal sperm characteristics, there seems to be a difference in sperm movement

www.SID.ir

Archive of SID

characteristics between ejaculated and epididymal semen. Cauda epididymal sperm is less motile than ejaculated semen. In comparison to ejaculated semen, epididymal semen has a lower velocity, and its movement shows less straightness and linearity. Moreover, the quality of the semen from paired caudae epididymides of a bull is not fully comparable, except for the parameters of linearity and percentage of live spermatozoa (Goovaerts *et al*., 2006). Sperm quality and the potential effects of retrieval and storage protocols on it, are traditionally assessed by the evaluation of morphological parameters. The desire to assess sperm quality in a more objective way is reflected by the increased use of flow cytometry techniques (Hossain *et al*., 2011b). The present study aimed to evaluate the effect of cryopreservation of bovine semen taken from the cauda epididymal using a controlled rate freezing method with a predetermined freezing curve, and further the assessment of sperm's viability by conventional techniques and using flow cytometry methods, together with the fertilizing ability of cryopreserved epididymal spermatozoa.

Materials and Methods

Unless stated otherwise, chemicals were obtained from Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, USA).

To develop this study we used spermatozoa collected from epididymides of Holstein Friesian bulls (n=7), ranging in age from 2 to 5 years. Testes with attached epididymis were obtained from the bulls slaughtered at the local abattoir (IAMA, Angra do Heroismo). Immediately after removal, the testis were placed into plastic bags with sterile isotonic saline solution at room temperature (19-22°C) and transferred to the laboratory within 2 h. In the laboratory the epididymides were dissected and separated from the testis, as described by Yu and Leibo (2002), with some modifications. Briefly, each cauda epididymis was dissected free, rinsed with 0.9% saline and placed into a 35 mm Petri dish. Caudae epididymides were held with forceps, and multiple incisions were made in the tubuli with abistoury. The semen was aspirated into a glass pipette and transferred to a 15 ml tube with 4 ml of Trisegg-yolk medium, (van Wagtendonk-de Leeuw *et al*., 2000). Each suspension of spermatozoa was filtered with a metal tamis and then transferred into a 15 ml plastic tube, with a final volume of filtered semen of approximately 4 ml.

Sperm motility, morphology and concentration

The sperm progressive motility was determined by Phase-Contrast microscopy (×200), on a warm stage at 37°C. Spermatozoa were assessed for a percentage of motile spermatozoa with a scale of 0-100%. In parallel, the percentage of sperm carrying cytoplasmic droplets (proximal, medial and distal) was also assessed on a fixed sample (Melo *et al*., 2005).

Sperm concentrations of the original suspensions were determined in a hemocytometer (Neubauer Improved, Marienfeld, Germany) (Atiq *et al*., 2011) and results are presented as sperm cells/ml.

Membrane integrity-sperm's viability

The integrity of sperm plasma membrane was assessed by a method modified from that described by Garner and Johnson (1995) using the fluorescent double stain. Briefly, the percentage live sperm was assessed by flow cytometry, using SYBR14 (Molecular Probes, Eugene, OR, USA) and propidium iodide (PI). Before measurement, a staining solution was prepared by adding 5 µL of a 2 mM solution of PI (in water) and 2 µL of a 100 mM solution of SYBR-14 to 2 ml of PBS. Prior to measurement 295 µL of the staining solution was added to 5 µL of semen (final concentration of 1×10^6 cells/ml). After 10 min incubation at 37°C, two-colour flow cytometry was performed using a FacsCalibur flow cytometry equipped with a 15 mW argon Laser (Becton and Dickinson, San Jose, CA, USA), collecting fluorescent data in a logarithmic mode and forward and side light scatter data in a linear mode from 10,000 events per sample, at a rate of 400-600 events/s. Fluorescence of SYBR-14 was detected using the FL1 530/30 nm "band-pass" filter, and fluorescence of PI was detected using the FL3 650 nm "long-pass" filter. Data were analyzed using CellQuest™ (software Pro version 4.0.2). Through inspection of light scatter data, non-sperm events ("debri") were gated out. Then regions were defined from which the relative proportion of the sperm subpopulations was calculated. Figure 1 shows an example of a dot plot, depicting the way these regions were defined, and showing the population of sperm with high SYBR 14 and low PI staining (R1; live sperm), the population of sperm with low SYBR 14 and high PI staining (R2; dead sperm) and population of sperm that is found in between the two populations with intermediary PI and SYBR14 staining (moribund sperm). Non-sperm events that are not gated out on the basis of their light scatter characteristics do not show significant fluo-rescence and appear as separate region (R3).

Acrosome integrity

The evaluation of the viability and the acrosomal status was examined by staining the incubated samples with PI as a marker for cell viability (Garner *et al*., 1986) and Pisumsativum agglutinin conjugated to fluorescein isothiocyanate (FITC-PSA) as a marker for acrosomal status (Casey *et al*., 1993; Hossain *et al*., 2011a), as described by Rathi *et al*. (2001). Briefly, the FITC-PSA conjugate was added to a working solution of 0.1 mg/ml in PBS without BSA, and PI was dissolved in PBS to make up a working solution of 2 mg/ml.

Prior to measurement, 30 µL FITC-PSA (0.1 mg/ml) and 2 µL PI (2 mg/ml) were added to 500 µL of semen. After incubation for 10 min at 37°C, the proportions of FITC-PSA bound and PI-stained sperm cells were quantified by two-color flow cytometry using a FacsCalibur (Becton and Dickinson, San Jose, California, USA).

For the conjugation of fluorochromes, four subpopulations of sperm were identified, as described by

www.SID.ir

Archive of SID

Maxwell and Johnson (1997) live sperm with intact acrosome, unstained PI and unstained FITC-PSA (LL); live sperm with damaged acrosome, unstained PI and stained FITC-PSA (LR); dead sperm with intact acrosome, stained PI and unstained FITC-PSA (UL); dead sperm with damaged acrosome, stained PI and stained FITC-PSA (UR).

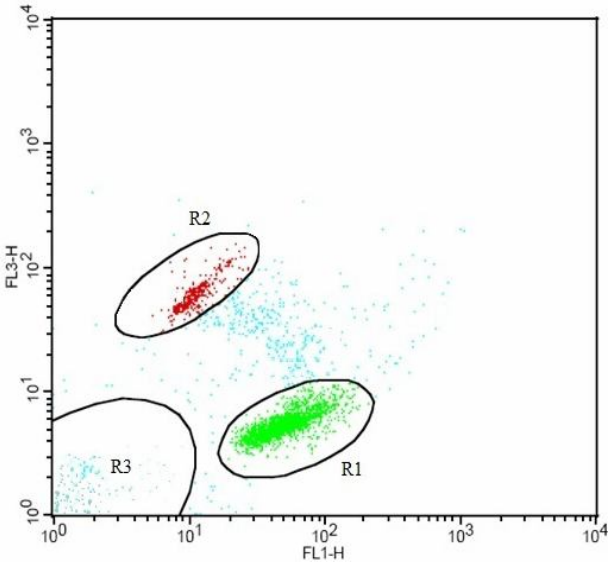

Fig. 1: Flow cytometric analysis of frozen-thawed bull sperm. Typical example of a dot-plot depicting the distribution of flow cytometric "events" as functions of their fluorescence intensities of SYBR-14 (FL1-H) and propidium iodide (PI) (FL3-H). Region R1 (live spem), R2 (dead sperm) and R3 (non sperm events) are defined as shown

Cryopreservation and thawing of semen

The cauda epididymal sperm cells from each bull were diluted slowly to a final concentration of 50×10^6 spz/ml, using Tris egg-yolk medium (van Wagtendonk-de Leeuw *et al*., 2000). Semen was processed as previously described by Chaveiro *et al*. (2006). Briefly, the diluted semen was packed in 0.25 ml "french" straws (i.d.=1.6 mm, IMV. L'Aigle, France), at room temperature, and closed with a plug of polyvinyalcohol. The straws were placed horizontally in a Styrofoam box, in a place at 5°C for 2 h (slow cooling and equilibration period). Then, the straws were frozen in horizontal position in a programmable freezer (IceCube 14S; SyLab, Austria). The freezer was preset at 5°C. After placing the rack of straws inside the freezing chamber, it was cooled at a rate of -4°C/min to -10°C. Then, the straws were cooled from -10°C to -145°C at a rate of -40°C/min, and subsequently plunged into liquid nitrogen and stored for at least 48 h before thawing.

Thawing was achieved by immersingthestraws for 20 s in a waterbath set at 37°C. Immediately after thawing the semen was processed for assessment as previously described.

Oocyte collection and *in vitro* fertilization with cauda epididymal semen

Ovaries were obtained at a local abattoir from adult animals, trimmed of adhering tissue and transported to the laboratory in Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS) at temperature ranging from 34 to 37°C within 2 h postslaughtering.

All collected oocytes were counted and only the good quality cumulus-oocyte complexes (COCs) based on their morphological appearance, covered by at least four layers of compacted cumulus cells and evenly granulated ooplasm, were used, as described by Santos *et al*. (2008). COCs were then washed twice in TCM-199 medium supplemented with 2% FBS (fetal bovine serum), 0.3 mg/ml glutamine and 50 µg/ml gentamycin and 20 µg/ml of nystatin, and matured in TCM-199 supplemented with 10% FBS, 5 µg/ml of FSH-LH (Stimufol, Belgium), 1 µg/ml estradiol-17, 0.15 mg/ml glutamine, 22 µg/ml Na-pyruvate and 50 µg/ml gentamycin and 20 µg/ml of nystatin. After 24 h of maturation under 5% CO_2 in a humidified atmosphere at 38.5°C, oocytes were placed in fertilization TALP medium. Briefly, thawed epididymal sperm from each bull (3 replicates per bull) was washed three times by centrifugation, twice in sperm-TALP medium (4 ml each time) and finally washed in IVF-TALP medium supplemented with 10 µg/ml heparin, 6 mg/ml bovine serum albumin (BSA, essentially fatty acid free), 22 µg/ml Na-pyruvate and 50 µg/ml gentamycin and 20 µg/ml of nystatin. After removing the supernatant, sperm pellet was homogenized with 0.25-0.5 ml of IVF TALP to a sperm concentration of 1×10^6 sperm/ml. In parallel, frozen/thawed ejaculated semen from a commercial available bull, used in our laboratory for IVF studies, with high fertility was used as control. Oocytes and sperm were co-cultured in 50 µL of fertilization medium (10-15 oocytes/droplet) for 22-24 h at 38.5°C in 5% CO_2 in air. Presumptive zygotes were denuded by vortexing, washed and cultured in TCM-199 with Hepes supplemented with 3 mg/ml BSA (Fr. V), 22 g/ml Na-pyruvate, 10 L/ml NEAA (MEM, non-essential aminoacids), 20 µL/ml EAA (BME, essential aminoacids) and 50 µg/ml gentamycin and 20 µg/ml of nystatin in incubator at 38.5°C in 5% CO_2 in air. Cleavage rate was determined after 3 days of fertilization (day 0) and the embryonic development was evaluated 8 days (day 8) post insemination.

Statistical analysis

For statistical analysis One-Way ANOVA was performed in order to evaluate the effects of different treatments. When ANOVA revealed a significant effect, the treatments were compared by Tukey test. A difference of $P<0.05$ was considered significant. All analyses were performed using SPSS 17.0 software (SPSS Inc., Chicago, USA).

Results

The mean sperm concentration obtained was 216 ± 27.5×10^6 sperm/ml (Table 1). On average, about 5.4 ± 2.0% of the spermatozoa had proximal cytoplasmatic droplets, and about 33.9 ± 12.8% had median cytoplasmatic droplets (Table 1). As expected the

www.SID.ir

Archive of SID

Table 1: Sperm characteristics, percentage of spermatozoa collected from epididymides of Holstein Friesian bulls (n=7)

Sperm characteristics	Bulls							Mean±SE
	A	B	C	D	E	F	G	
Sperm concentration ($\times 10^6$ cells/ml)	325	165	225	150	250	125	275	216 ± 27.5
% Proximal cytoplasmatic droplets	1.5	2.6	15.6	6.7	1.5	0.3	1.7	5.4 ± 2.0
% Median cytoplasmatic droplets	73.8	81.8	51.1	80.0	16.0	3.25	15.4	33.9 ± 12.8

Table 2: Mean percentage (±SE) of total motility, sperm viability and acrosome integrity of bull epididymal spermatozoa before and after freezing

Sperm characteristics	Before freezing (%)	After freezing (%)
Total progressive motility	78.1 ± 3.9[a]	56.9 ± 4.8[b]
Viable sperm	86.5 ± 4.2[a]	64.5 ± 5[b]
Sperm alive with intact acrosome	90.7 ± 2.9[a]	90.8 ± 1.9[a]
Sperm alive with damage acrosome	0.7 ± 0.2[a]	2.4 ± 0.8[a]

[a, b] Values within the same row with different letters ([a, b]) differ significantly (P<0.05)

Table 3: Cleavage rate and subsequent *in vitro* rates of embryo development using frozen/thawed bovine spermatozoa recovered from epididymides

Treatments	No. of oocytes	Maturation rate (%) (No.)	Cleavage rate (%) (No.)	Rates of embryos development (%)			
				2-cell stage	4-cell stage	Morula	Blastocyst
				(Day 3)		(Day 8)	
Epidydimal sperm	336	94.9±1.5[a] (318)	80.2±2.7[a] (255)	44.5±2.9[a] (113)	26.0±6.5[a] (66)	23.5±3.6[a] (42)	21.8±2.7[a] (39)
Ejaculated sperm-control	288	95.2±0.9[a] (274)	85.4±0.9[b] (234)	46.1±1.5[a] (107)	27.5±3.6[a] (64)	24.3±4.5[a] (41)	22.1±2.8[a] (38)

[a, b] Values within the same column with different letters ([a, b]) differ significantly (P<0.05)

cryopreservation had a detrimental effect on sperm's quality, (Table 2). Epididymal sperm progressive motility evaluation obtained by phase contrast microscopy showed an average of 78.1 ± 3.9%. Upon freezing there was a significant loss (P<0.05) of progressive motility, lowering the value of motility to 56.9 ± 4.8% (P<0.05) (Table 2). Cryopreservation of fresh semen also affected the percentage of viable spermatozoa assessed by flow cytometry. Fresh semen presented an average viability of 86.5 ± 4.2%, while the frozen semen showed a lower (P<0.05) viability value of 64.5 ± 5%, with a decrease of 24.9% on sperm's viability. The average percentage of sperm with intact plasma membrane and intact acrosome before and after thawing was 90.7 ± 2.9% and 90.8 ± 1.9% (P≥0.05), respectively. Prior to freezing, the percentage of live sperm with damaged acrosome was 0.7 ± 0.2%, increasing to 2.4 ± 1.9% after cryopreservation (P≥0.05) (Table 2).

Fertilization rate of *in vitro* produced embryos using frozen/thawed epididymal sperm, showed an average of 64.1 ± 3.9% fertilization with no significant differences between bulls (P≥0.05). For the bull considered as control, the fertilization rate (72.2 ± 4.5%) was significantly higher (P<0.05) when compared to the fertilizing rate obtained from frozen/thawed epididymal sperm.

The results of using frozen/thawed epididymal sperm for embryo *in vitro* production are shown in Table 3. As it can be observed, the maturation rate, assessed by cumulus oocyte expansion, showed no significant difference (P≥0.05) between the epididymal group and the control, (94.9 ± 1.5% and 95.2 ± 0.9%, respectively). The percentage of cleaved embryos was significantly different (P<0.05) between the two groups, with 80.3 ± 2.7% and 85.4 ± 0.9% for epidydimal and control groups, respectively. Early embryonic developmental rates from 2-cell and 4-cell stages were not significantly different between groups. At morula and blastocyst stage, although there were no significant differences (P≥0.05) between epidydimal and control groups, epidydimal showed somewhat lower morula and blastocysts rates in comparison with the control.

Discussion

This study evaluated the effects of cryopreservation on epididymal bovine spermatozoa. Progressive motility, viability, sperm's membrane, acrosome integrity and epididymal sperm's fertilization potential were all evaluated after sperm freezing. Salamon and Maxwell (1995) reported that cryopreservation process causes ultrastructural damage, functional, physical and biochemical in spermatozoa. This damage causes changes in membrane fluidity with increased volume and rupture of the plasma and acrosomal membranes (Watson, 1995; Holt, 2000). These modifications lead to decrease in the fertilization rate, since the integrity and functionality of the plasma membrane and acrosomal are necessary for fertilization and subsequent embryo development. The recovery of the epididymal spermatozoa from dead animals, the cryopreservation and subsequent IVF are useful tools to rescue genetic material that otherwise would be lost, either from highly

www.SID.ir

Archive of SID

productive animals or from endangered species (Martins *et al*., 2007b). Despite the well known effects of cryopreservation on bovine sperm cells (Watson, 2000), *in vitro* embryos were obtained from recovered spermatozoa from the cauda epididymal of dead animals (Martins *et al*., 2007b). Martin *et al*. (2007a) concluded that spermatozoa can be obtained from epididymis of either a highly productive animal or of an animal from an endangered species, which can be used for the production of viable embryos.

According to Fernandez-Santos *et al*. (2009), epididymides have adequate conditions to prolong sperm survival, because the cauda epididymal provide the optimal environment for gamete storage in physiological conditions. Cryopreservation of spermatozoa recovered in this study from epididymides, caused a decreased in total motility and percentage of cells with intact membranes and intact acrosomes when compared to ejaculated sperm. Critser *et al*. (1987) stated that, cryopreservation process is responsible for damage in the sperm cells and has an effect of sperm motility and fertilization rate, with considerable focus on the damage to the acrosomal structures. In other species, reports indicate that, spermatozoa recovered from epididymides are less tolerant to freezing/thawing process than ejaculated spermatozoa (Zomborszky *et al*., 1999), which is in agreement with our findings, where despite the high percentage of live sperm with intact acrosome after freezing (90.8 ± 1.9) there was a significant decrease ($P<0.05$) in the total number of motile and viable sperm cells, especially in the sperm recovered from the epididymis.

Although IVF techniques have been widely studied in cattle, few reports were found (Martins *et al*., 2007b) regarding the evaluation of *in vitro* fertilizing potential of epididymal spermatozoa from dead animals. Concerning IVF results, fertilization rate of *in vitro* produced embryos using frozen/thawed epididymal sperm showed no significant differences between animals. In terms of cleavage rate, the values are similar to those obtained by Martins *et al*. (2007b), however, our blastocyst rate was somewhat lower when using semen obtained from epididymis *versus* the ejaculated semen from the control bull. While the quality of the frozen semen obtained from the epididymis was lower, the embryo's development rates were not significantly different between treatments, proving that it is possible the use frozen semen obtained from the bull's epididymis with significant changes of IVF produced embryos.

In conclusion it is possible to use *in vitro* techniques by cryopreserved spermatozoa obtained from bull's epididymis using a controlled rate freezing method with a predetermined freezing curve, and with assessment of sperm's viability by conventional techniques and flow cytometry methods, together with the fertilizing ability of cryopreserved epididymal spermatozoa.

References

Atiq, N; Ullah, N; Andrabi, SMH and Akhter, S (2011). Comparison of photometer with improved neubauer hemocytometer and makler counting chamber for sperm concentration measurement in cattle. Pak. Vet. J., 31: 83-84.

Axner, E; Hermansson, U and Linde-Forsberg, C (2004). The effect of Equex STM paste and sperm morphology on post-thaw survival of cat epididymal spermatozoa. Anim. Reprod. Sci., 84: 179-191.

Barker, CA and Gandier, JC (1957). Pregnancy in a mare resulting from frozen epididymal spermatozoa. Canadian J. Comp. Med. Vet. Sci., 21: 47-51.

Casey, PJ; Hillman, RB; Robertson, KR; Yudin, AI; Liu, IKM and Drobnis, EZ (1993). Validation of an acrosomal stain for equine sperm that differentiates between living and dead sperm. J. Androl., 14: 289-297.

Chaveiro, A; Machado, L; Frijters, A; Engel, B and Woelders, H (2006). Improvement of parameters of freezing medium and freezing protocol for bull sperm using two osmotic supports. Theriogenology. 65: 1875-1890.

Critser, JK; Arneson, BW; Aaker, DV; Husebenda, AR and Ball, GD (1987). Cryopreservation of human-spermatozoa. 2. Postthaw chronology of motility and of zona-free hamster ova penetration. Fertil. Steril., 47: 980-984.

Fernández-Santos, MR; Martínez-Pastor, F; Matias, D; Domínguez-Rebolledo, AE; Esteso, MC; Montoro, V and Garde, JJ (2009). Effects of long-term chilled storage of red deer epididymides on DNA integrity and motility of thawed spermatozoa. Anim. Reprod. Sci., 111: 93-104.

Garner, DL and Johnson, LA (1995). Viability assessment of mammalian sperm using Sybr-14 and propidium iodide. Biol. Reprod., 53: 276-284.

Garner, DL; Pinkel, D; Johnson, LA and Pace, MM (1986). Assessment of spermatozoal function using dual fluorescent staining and flow cytometric analyses. Biol. Reprod., 34: 127-138.

Goovaerts, IG; Hoflack, GG; Van Soom, A; Dewulf, J; Nichi, M; de Kruif, A and Bols, PE (2006). Evaluation of epididymal semen quality using the Hamilton-Thorne analyser indicates variation between the two caudae epididymides of the same bull. Theriogenology. 66: 323-330.

Hossain, MS; Johannisson, A; Siqueira, AP; Wallgren, M and Rodriguez-Martinez, H (2011a). Spermatozoa in the sperm-peak-fraction of the boar ejaculate show a lower flow of Ca^{2+} under capacitation conditions post-thaw which might account for their higher membrane stability after cryopreservation. Anim. Reprod. Sci., 128: 37-44.

Hossain, MS; Johannisson, A; Wallgren, M; Nagy, S; Siqueira, AP and Rodriguez-Martinez, H (2011b). Flow cytometry for the assessment of animal sperm integrity and functionality: state of the art. Asian J. Androl., 13: 406-419.

Januskauskas, A; Johannisson, A and Rodriguez-Martinez, H (2003). Subtle membrane changes in cryopreserved bull semen in relation with sperm viability, chromatin structure, and field fertility. Theriogenology. 60: 743-758.

Kikuchi, K; Nagai, T; Kashiwazaki, N; Ikeda, H; Noguchi, J; Shimada, A; Soloy, E and Kaneko, H (1998). Cryopreservation and ensuing *in vitro* fertilization ability of boar spermatozoa from epididymides stored at 4 degrees C. Theriogenology. 50: 615-623.

Killian, I; Lubbe, K; Bartels, P; Friedmann, Y and Denniston, R (2000). Evaluating epididymal sperm of African wild ruminants: longevity when stored at 4°C and viability following cryopreservation. Theriogenology. 53: 336 (abst.).

Lubbe, K; Bartels, P; Kilian, I; Friedmann, Y and Godke, RA (2000). Comparing motility and morphology of horse,

www.SID.ir

Archive of SID

zebra and rhinoceros epididymal spermatozoa when cryopreserved with two different cryodiuents or stored at 4°C. Theriogenology. 53: 338 (abst.).

Martins, CF; Bao, SN; Dode, MN; Correa, GA and Rumpf, R (2007a). Effects of freeze-drying on cytology, ultrastructure, DNA fragmentation, and fertilizing ability of bovine sperm. Theriogenology. 67: 1307-1315.

Martins, CF; Rumpf, R; Pereira, DC and Dode, MN (2007b). Cryopreservation of epididymal bovine spermatozoa from dead animals and its uses *in vitro* embryo production. Anim. Reprod. Sci., 101: 326-331.

Melo, MIV; Henry, M and Beker, ARCL (2005). Hypoosmotic test to predict viability of equine chilled semen in different extenders. Arq. Bras. Med. Vet. Zoo., 57: 757-763.

Pérez, S; Aguado, M; Ayllon, E; Garrido, D; Montoro, V and Garde, J (1995). Live birth of hybrid (O. musimon X Q. aries) lambs following intrauterine insemination in domestic sheep with mouflon semen obtained 40 hours postmortem. Theriogenology. 43: 218 (abst.).

Rathi, R; Colenbrander, B; Bevers, MM and Gadella, BM (2001). Evaluation of *in vitro* capacitation of stallion spermatozoa. Biol. Reprod., 65: 462-470.

Salamon, S and Maxwell, WMC (1995). Frozen storage of ram semen. 2. Causes of low fertility after cervical insemination and methods of improvement. Anim. Reprod. Sci., 38: 1-36.

Sankai, T; Tsuchiya, H and Ogonuki, N (2001). Short-term nonfrozen storage of mouse epididymal spermatozoa. Theriogenology. 55: 1759-1768.

Santos, P; Chaveiro, A; Simoes, N and Moreira da Silva, F (2008). Bovine oocyte quality in relation to ultrastructural characteristics of zona pellucida, polyspermic penetration and developmental competence. Reprod. Domest. Anim., 43: 685-689.

Soler, AJ; Perez-Guzman, MD and Garde, JJ (2003). Storage of red deer epididymides for four days at 5 degrees C: effects on sperm motility, viability, and morphological integrity. J. Exp. Zool. Part A, Comp. Exp. Biol., 295: 188-199.

Turri, F; Madeddu, M; Gliozzi, TM; Gandini, G and Pizzi, F (2014). Effect of testicle postmortem storage on goat frozen-thawed epididymal sperm quality as a tool to improve genebanking in local breeds. Anim.: Int. J. Anim. Biosci., 8: 440-447.

van Wagtendonk-de Leeuw, AM; Haring, RM; Kaal-Lansbergen, LM and den Daas, JH (2000). Fertility results using bovine semen cryopreserved with extenders based on egg yolk and soy bean extract. Theriogenology. 54: 57-67.

Watson, PF (2000). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. Anim. Reprod. Sci., 60-61: 481-492.

Yu, I and Leibo, SP (2002). Recovery of motile, membrane-intact spermatozoa from canine epididymides stored for 8 days at 4 degrees C. Theriogenology. 57: 1179-1190.

Zomborszky, Z; Zubor, T; Toth, J and Horn, P (1999). Sperm collection from shot red deer stags (Cervus elaphus) and the utilisation of sperm frozen and subsequently thawed. Acta Vet. Hung., 47: 263-270.

www.SID.ir

Archive of SID

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 ساهیوال**

آنجلی سومال[1]، آنجلی آگاروال[2] و رامش چاندرا یوپدیوای[2]

[1]دانشجوی دکترای تخصصی فیزیولوژی دامپزشکی، بخش فیزیولوژی و اقلیم شناسی (P&C)، پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناگار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی، یوتر پردش، هند؛ [2]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 ساهیوال انجام گرفت. برای این منظور، ۱۲ گاو ساهیوال آبستن خشک از مرکز تحقیقات دام‌های اهلی در پژوهشکده ملی تحقیقات گاو شیری، کرنال انتخاب شدند. گاوها به دو گروه شامل شش گاو ساهیوال 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 ساهیوال را تشدید می‌کند.

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

www.SID.ir

Archive of SID

مقاله کامل:

جداسازی اولیه گونه‌های *مایکوباکتریوم* در گونه‌های *مولوس* در ترکیه

پینار سِویم[1]، سلمین اُزر[2] و فِریت راد[2]

[1]وزارت غذا، کشاورزی و دامداری، اداره کل استان کوروم، کوروم، ترکیه؛ [2]گروه آبزی‌پروری، 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 باربا‌توس*) و شاه ماهی قرمز (*مولوس سورمولیتوس*)، گونه‌های بسیار صید شده در دریای مدیترانه و اژه 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 پلیمراز 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 فورتویتوم*، سه گونه به عنوان *مایکوباکتریوم اسکروفولاسئوم*، یک گونه به عنوان *مایکوباکتریوم مارینوم*، یک گونه به عنوان *مایکوباکتریوم واسه* و یک گونه به عنوان *مایکوباکتریوم اوروم* شناسایی شدند. هیچ گونه علایمی از مایکوباکتریوز 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 باربا‌توس*)، شاه ماهی قرمز (*مولوس سورمولیتوس*)

مقاله کامل:

تعیین خصوصیات گونه‌های توکسین‌زای *آسپرژیلوس فلاوس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* جدا شده از خوراک دام در شمال شرق ایران

الهام داوری[1]، محمد محسن‌زاده[2]، غلامرضا محمدی[3] و رویا رضائیان دلوئی[4]

[1]دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛ [2]گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد ایران؛ [3]گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛ [4]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 *آسپرژیلوس* به ویژه *آسپرژیلوس فلاوس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* می‌باشند که باعث آلودگی مواد غذایی و یا خوراک دام می‌شوند. این مطالعه با هدف ارزیابی آلودگی خوراک دام به انواع *آسپرژیلوس* و تشخیص ژن‌های موثر در مسیر سنتز آفلاتوکسین در *آسپرژیلوس فلاوس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* جدا شده از خوراک دام انجام گرفت. تعداد ۱۱۰ نمونه خوراک دام شامل سیلو، کنسانتره، علوفه و خوراک آماده از ۳۰ گاوداری صنعتی و نیمه صنعتی استان خراسان رضوی جمع‌آوری و با استفاده از

www.SID.ir

Archive of SID

روش کشت آزمایشگاهی و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز 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٪)، *آسپرژیولس 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 پلیمراز 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 پلیمراز چندگانه

مقاله کامل:

تاثیر افزودن امولسیون کننده به جیره‌های حاوی منابع مختلف چربی بر عملکرد اردک‌های خاکی کمپل

زُسانگپوای[۱]، آملان کومار پاترا[۲] و گوتام سامانتا[۲]

[۱]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؛ [۲]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 رسینولئات، 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

www.SID.ir

Archive of SID

مقاله کامل: **آنالیز انسجام کروماتین و آسیب DNA اسپرماتوزوآی بوفالو**

کریما غ. اِم. محمود[1]، عبدالحامد اِی. ای. السوکری[2]، آلا ای. عبدالغفار[3]، محمود ای. اِی. ابو الروز[3] و یوسف اِف. احمد[1]

[1]گروه تولید مثل دام و تلقیح مصنوعی، مرکز تحقیقات ملی، الدقی، الجیزه، مصر؛ [2]اداره کل خدمات دامپزشکی، الدقی، الجیزه، مصر؛ [3]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 اسپرماتوزوآ 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 آمنیون جنین جوجه بر روی بازسازی عصب سیاتیک موش صحرایی**

غلامحسین فرجاه[1] و فرزانه فضلی[2]

[1]مرکز تحقیقاتی نوروفیزیولوژی، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران؛ [2]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 آمنیون 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 آمنیون، (۲) نرمال سالین و (۳) شم جراحی تقسیم شدند. مایع آمنیون از حفره آمنیون جنین جوجه ۱۴ روزه کشیده شد. عصب سیاتیک نمایان شد و به طور عرضی قطع شد. بلافاصله ترمیم اپی نوریال انجام شد. به حیوانات تحت درمان با مایع آمنیون 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

www.SID.ir

Archive of SID

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

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

مقاله کامل:

شناسایی و تفریق سویه‌های وحشی و واکسن ویروس دیستمپر سگ سانان توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز داپلکس با رونویسی معکوس

زیااُ-ییینگ دونگ[۱،۲]، وِن-هو لی[۳]، جون-لینگ ژو[۴]، وِن-جون لیو[۱]، مینگ-کیو ژااُ[۵]، یونگ-وِن لواُ[۱] و جین-دینگ چِن[۱]

[۱]گروه طب پیشگیری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه کشاورزی جنوب چین، منطقه تیان هی، گوانگژو ۵۱۰۶۴۲، چین؛ [۲]گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی و مهندسی ییینگ دونگ، دانشگاه شااُگوان، شااُگوان ۵۱۲۰۰۵، چین؛ [۳]کارشناس ارشد ویروس، گروه طب پیشگیری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه کشاورزی جنوب چین، منطقه تیان هی، گوانگژو ۵۱۰۶۴۲، چین؛ [۴]کارشناس ویروس، گروه طب پیشگیری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه کشاورزی جنوب چین، منطقه تیان هی، گوانگژو ۵۱۰۶۴۲، چین؛ [۵]کارشناس 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 پلیمراز 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

www.SID.ir

Archive of SID

مقاله کامل:

جداسازی و شناسایی مولکولی *مایکوپلاسما اکوئی جنیتالیوم* از دستگاه تناسلی اسب سانان در شمال هند

کاپیل نهرا[1]، راجنیش رانا[2]، کوناساگارا ناگالیکار ویسواس[3]، تاچاپولی رِمِش آرون[1]، ویجندرا پال سینگ[4]، آجِی پراتاپ سینگ[5] و شیاما نارایانا پرابهو[6]

[1]دانش‌آموخته پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناگار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی، یوتر پردش، هند؛ [2]آزمایشگاه رفرال مایکوپلاسما، بخش باکتری شناسی و قارچ شناسی، پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناگار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی، یوتر پردش، هند؛ [3]بخش باکتری شناسی و قارچ شناسی، پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناگار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی، یوتر پردش، هند؛ [4]بخش باکتری شناسی، پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناگار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی، یوتر پردش، هند؛ [5]گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی و علوم دامی (COVs&AH) دانشگاه دامپزشکی پت دین دایال (DUVASU)، ماتورا، ۲۸۱۰۰۱، یوتر پردش، هند؛ [6]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 اکوئی 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 *rpo*B *مایکوپلاسما اکوئی جنیتالیوم* (RNA پلیمراز تحت واحد B) را مورد هدف قرار می‌دهند. ویژگی روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تکامل یافته در این مطالعه با استفاده از ۱۲ جدایه مزرعه‌ای شامل سویه *مایکوپلاسما اکوئی 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 اکوئی جنیتالیوم* در دستگاه تناسلی اسب سانان با آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز اختصاصی گونه تحت بررسی قرار گرفتند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز اختصاصی گونه *مایکوپلاسما اکویی جنیتالیوم* ۲۲/۱۳٪ از نمونه‌ها را مثبت شناسایی کرد، در حالی که ۹/۰۱٪ از نمونه‌ها با تکنیک قراردادی کشت مثبت بودند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز فراهم شده در این مطالعه توانست برای تشخیص سریع، اختصاصی و دقیق سویه‌های *مایکوپلاسما اکوئی جنیتالیوم* مورد استفاده قرار گیرد. طبق اطلاعات نویسندگان، این اولین گزارش راجع به تکامل و ارزیابی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز اختصاصی گونه برای شناسایی *مایکوپلاسما اکوئی جنیتالیوم* می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تشخیص، *مایکوپلاسما اکوئی جنیتالیوم*، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، ژن *rpo*B

مقاله کامل:

بررسی MMP-2 و MMP-9 در سرم سگ‌های مبتلا به بزرگ شدگی اتساعی قلب

سولماز چگینی[1]، زهره خاکی[2]، داریوش شیرانی[3]، علیرضا وجهی[4]، محمد طاهری[5]، یارا تمرچی[6] و عبدالرزاق رستمی[7]

[1]رزیدنت کلینیکال پاتولوژی، بخش کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ [2]بخش کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ [3]بخش داخلی دام کوچک، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ [4]بخش رادیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ [5]آزمایشگاه دکتر رستگار، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ [6]رزیدنت داخلی دام کوچک، بخش داخلی دام کوچک، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ [7]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

www.SID.ir

Archive of SID

مهمی در سازماندهی و بازسازی قلب ایفا می‌کنند. به نظر می‌رسد که ژلاتینازها (MMP-2 و MMP-9) آنزیم‌های مهمی در بروز کاردیومایوپاتی می‌باشند. 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 آن‌ها نیز انجام گرفت. سپس MMP-2 و MMP-9 سرم گروه‌های کنترل و بیمار با روش زایموگرافی نیمه کمی اندازه‌گیری شد. بررسی‌ها نشان داد که میزان کلی MMP-9 در گروه بیمار بیشتر از گروه کنترل است و تفاوت معنی‌داری در میزان کلی MMP-2 بین ۲ گروه مشاهده نمی‌شود. 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 معنی‌دار 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 معنی‌داری بیشتر از بیماران بود. از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در مقادیر شکل فعال MMP-2 و MMP-9 مابین گروه‌های مختلف بزرگ شدگی قلب (راست، چپ و هر دو سمت) و VHS (مقیاس اندازه قلب بر حسب اندازه مهره‌های کمر) در مقایسه با کنترل مشاهده نگردید. اگر چه تغییراتی در مقادیر MMP-2 و MMP-9 سرم سگ‌های مبتلا به DCM وجود دارد، اما به نظر آمده که افزایش MMP-9 مهم‌تر از MMP-2 می‌باشد و هیچکدام از آن‌ها تحت تاثیر بزرگ شدگی قلب یا درجه VHS نیستند.

واژه‌های کلیدی: DCM، ماتریکس متالوپروتئیناز، MMP-2، MMP-9، زایموگرافی

مقاله کامل:

ارزیابی اسپرم‌های منجمد/آب شده از ناحیه دم اپیدیدیم و پتانسیل بارورسازی اسپرم گاوی جمع‌آوری شده از دم اپیدیدیم در محیط آزمایشگاه

آنتونیو چاوییرو[۱]، کارلا سرکواییرا[۲]، جواو سیلوا[۳]، جوآنا فرانکو[۴] و فرناندو موریارا دا سیلوا[۱]

[۱]گروه علوم مناطق بیابانی، مرکز تحقیقات و فن‌آوری کشاورزی آزورس (CITA-A)، دانشگاه آزورس، آنگرا دو هروایسمو ۰۴۲-۹۷۰۰، پرتغال؛ [۲]دانشجوی دوره کارشناسی، مرکز تحقیقات و فن‌آوری کشاورزی آزورس (CITA-A)، دانشگاه آزورس، آنگرا دو هروایسمو ۰۴۲-۹۷۰۰، پرتغال؛ [۳]دانش‌آموخته مرکز تحقیقات و فن‌آوری کشاورزی آزورس (CITA-A)، دانشگاه آزورس، آنگرا دو هروایسمو ۰۴۲-۹۷۰۰، پرتغال؛ [۴]کارشناس ارشد، گروه علوم مناطق بیابانی، مرکز تحقیقات و فن‌آوری کشاورزی آزورس (CITA-A)، دانشگاه آزورس، آنگرا دو هروایسمو ۰۴۲-۹۷۰۰، پرتغال

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

در مطالعه حاضر، پتانسیل بارورسازی مایع منی جمع‌آوری شده از اپیدیدیم گاوهای نر کشتار شده بعد از انجماد به وسیله تکنیک‌های قراردادی و روش های فلوسیتومتری مورد بررسی قرار گرفت. دم اپیدیدیم برش داده شد، و اسپرم‌ها جمع‌آوری 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 $۲۱۶ \pm ۲۷/۵ \times ۱۰^{۶}$ sperm/ml بود. زنده مانی اسپرم به طور متوسط ۸۶/۵ ٪ ۴ بود. درصد متوسط اسپرم با آکروزوم و غشای پلاسمایی سالم قبل و بعد از انجماد به ترتیب ۲/۹ ٪ ± ۹۰/۷ و ۱/۹ ٪ ± ۹۰/۸ ($P\geq0.05$) بود. متوسط میزان بارورسازی، با استفاده از مایع منی منجمد/آب شده ناحیه اپیدیدیم ۳/۹ ٪ ± ۶۴/۱ بارورسازی بدون اختلاف معنی‌دار ($P>0.05$) میان گاوها به دست آمد. در رابطه با گاوهای منظور شده به عنوان گروه کنترل، میزان بارورسازی ۴/۵ ٪ ± ۷۲/۲ بود، که به طور معنی‌داری با میزان بارورسازی مایع منی منجمد/آب شده اپیدیدیمی اختلاف داشت ($P>0.05$). در نتیجه، امکان بهره‌گیری از تکنیک‌های آزمایشگاهی با اسپرماتوزوآهای منجمد جمع‌آوری 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 تکنیک‌های معمول و روش‌های فلوسیتومتری، با قابلیت بارورسازی اسپرماتوزوآهای اپیدیدیمی منجمد وجود دارد.

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

www.SID.ir

Archive of SID

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

جینها یو[1]، بُن-هیونگ کو[2]، دااِ-هیون کیم[3]، دونگ-وان کیم[4] و سونگ-وو پارک[3]

[1]بخش قرنطینه و بازرسی، اداره خدمات ملی کیفیت فرآورده‌های شیلات، یانگدو-گو، بوسان، کره جنوبی؛ [2]کارشناس ارشد، گروه حیات آبزیان، دانشگاه ملی کوسان، گانسان-سی، جئولابوک-دو، کره جنوبی؛ [3]گروه حیات آبزیان، دانشگاه ملی کوسان، گانسان-سی، جئولابوک-دو، کره جنوبی؛ [4]دونگ ژیونگ میکروارگانیسم، 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. علایم بالینی مشخص زخم خونریزی دهنده در قسمت میانی سر و اروزیون خونریزی دهنده سرپوش بودند. بر اساس خصوصیات بیوشیمیایی، باکتری مسبب جدا شده از ماهی بیمار به عنوان *آئرومونـاس سوبریا* شناسایی شد. جدایه، دو ژن همولیتیک، ژن‌های آئرولیـزین (*sob*) و همـولیزین (*asa1*) را بیـان نمـود. از لحـاظ هیـستوپاتولوژیک، کبـد دژنرسـانس واکوئـولر هپاتوسلولار و پر خونی غیر فعال در سینوزوئیدها را نشان داد. طحال اسپلنوسیت‌های نکروز شده و پولپ‌های خـونریزی دهنـده داشـت. در کلیـه، تخریب گلومرول‌ها، خونریزی و نکروز توبول‌های کلیوی مـشاهده شـدند. عفونـت تجربـی (دوز عفـونی 10^{6} cfu fish^{-1}، 10^{7} و 10^{8}) مـاهی لـوچ پرورشی سالم به همـراه جدایـه منجـر بـه تکامـل علایـم بـالینی مـشابه علایـم دیـده شـده در مزرعـه گردیـد. در تزریـق همـراه بـا دوز عفـونی 10^{6} cfu fish^{-1}، نرخ مرگ و میر ۱۰/۳٪ در مدت هفت روز پس از عفونت بود. زمانی که دوز عفونی 10^{7} cfu fish^{-1} به ازای هـر مـاهی اسـتفاده شد، نرخ مرگ و میر طی مدت زمان دو روز به ۶۰/۹٪ رسید. به شیوه دیگر، زمانی که با 10^{8} cfu fish^{-1} تزریق شدند، همه ماهی‌ها در مدت یـک روز مردند. نتایج اثبات نمودند که *آئرومونـاس سوبریا* در شیوع و مرگ و میر ماهی لوچ پرورشی دخالت دارد.

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

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

ولی عابدی[1]، غلامرضا رزمی[1]، حسام سیفی[2] و ابوالقاسم نقیبی[1]

[1]گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛ [2]گروه 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 *بابزیا کابالی* یک بیماری انگلی داخل گلبول قرمزی در تک سمی‌های سراسر جهان می‌باشد. هـدف این بررسی شناسایی مولکولی *تیلریا اکویی* و *بابزیا کابالی* در الاغ‌های شمال شرق ایران بود و نیز ارتباط میزان آلودگی و فاکتورها خطر وابـسته بـه میزبان مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت. در این مطالعه ۱۰۶ راس الاغ به ظاهر سالم در استان خراسـان شـمالی مـورد خـونگیری قـرار گرفتنـد. از خون‌های جمع‌آوری شده گسترش خونی تهیه و با گیمسا رنگ آمیزی گردیـد. DNA نمونـه‌هـای خـون نیـز اسـتخراج شـده و بـا روش واکـنش زنجیره‌ای پلیمراز چندگانه جهت تعیین آلودگی پیروپلاسمی مورد آزمایش قرار گرفتنـد. در چهـار گـسترش خـونی *تیلریـا اکـویی* مـشاهده شـد، همچنین آلودگی *تیلریا اکویی* در ۵۴ نمونه خون (۵۴/۹۴٪) الاغ با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز چندگانه تعیین گردید. آلودگی *بابزیا کابـالی* در

www.SID.ir

Archive of SID

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 میزبان 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 پلیمراز، *تیلریا اکویی*

مقاله کوتاه:

بازسازی سه بعدی ساعد خرگوش نیوزیلندی به وسیله توموگرافی کامپیوتری با آشکارسازهای متعدد

سما اُزکادیف[1]، امرالله اِکن[2]، کمیل بشولوک[2] و مصطفی اورهان دایان[2]

[1]گروه پرستاری، دانشکده بهداشت دانشگاه بتمن، بتمن، ترکیه؛ [2]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 بیومتریک 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 بیومتریک 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 بیومتریک 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 بیومتریک 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 یین[1،2]، کیوای-دونگ تان[1]، سی-یوان کیواین[1]، لینگ-ییننگ هو[1]، گوآ-هوآ لیو[3]، دونگ-هوای ژو[3،4] و زینگ-کیوان ژو[3،4]

[1]کارشناس علوم دامپزشکی، آزمایشگاه زیست شناسی بر پایه علت شناسی دامپزشکی، موسسه تحقیقات دامپزشکی لانژو، آکادمی علوم کشاورزی چین، لانژو، استان گانسو، چین؛ [2]گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه کشاورزی هونان، چانگشا، استان هونان، چین؛ [3]آزمایشگاه زیست شناسی بر پایه علت شناسی دامپزشکی، موسسه تحقیقات دامپزشکی لانژو، آکادمی علوم کشاورزی چین، لانژو، استان گانسو، چین؛ [4]مرکز نوآوری جیانگسو جهت جلوگیری و کنترل بیماری‌های عفونی دام‌های مهم و بیماری‌های مشترک بین دام و انسان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ژانگژو، ژانگژو، جیانگسو، چین

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

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

www.SID.ir

Archive of SID

استان گانسو، شمال غربی چین بین آوریل ۲۰۱۳ و ژانویه ۲۰۱۴ جمع‌آوری گردیده و آنتی بادی‌های ضد *کوکسیلا بورنتی* با استفاده از روش ایمونوسوربنت متصل به آنزیم (ELISA) مورد ارزیابی قرار گرفتند. به طور کلی، ۱۳/۵۹٪ (۷۵/۵۵۲، ۱۶/۴۵-۱۰/۷۳ :CI ۹۵٪) از حیوانات بررسی شده برای آنتی بادی‌های *کوکسیلا* بورنتی مثبت بودند. تفاوت معنی‌داری در شیوع سرمی *کوکسیلا بورنتی* میان گاومیش‌های ماده (۱۳/۷۸٪، ۱۷/۱۹-۱۰/۳۶ :CI ۹۵٪) و نر (۱۳/۷۸٪، ۱۸/۳۶-۷/۸۹ :CI ۹۵٪) وجود نداشت. شیوع سرمی *کوکسیلا بورنتی* 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 برونتی* 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 بورنتی* در گاومیش‌های آزاد در چین است که نمایانگر نیاز به اندازه‌گیری‌ها جهت کنترل عفونت *کوکسیلا بورنتی* در گاومیش‌های آزاد در چین است.

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

مقاله کوتاه:

اثر عصاره آبی گیاه گل میمون بر مدت زمان نگهداری و کیفیت ماهی قزل آلای رنگین کمان در حالت فوق سرد

اشکان جبلی جوان[۱]، مرضیه بلندی[۲]، زهره جدیدی[۲]، مهنوش پارسایی مهر[۱] و عباس جواهری وایقان[۳]

[۱]گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران؛ [۲]گروه علوم و صنایع غذایی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران؛ [۳]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 آلای 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 آلا 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 آلای رنگین کمان، گیاه گل میمون، شرایط فوق سرد، عصاره آبی

www.SID.ir

Archive of SID

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

اشرف فاطی سعید آواد[1]، سماح رمضان السید خلیل[2] و یاسمینا محمد عبدالحکیم[2]

[1]گروه توسعه فراوانی دام، دانشکده دامپزشکی دانشگاه الزقازیق، الزقازیق ۴۴۵۱۱، مصر؛ [2]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 پرنده 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٪ (*Columba oenas* و *Anas platyrhynchos*) تا ۱۰۰٪ (*Gallus gallus* و *Gallus sonneratii*، *Coturnix coturnix* و *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 بولداگ: گزارش موردی

عباس غضنفر، اِم. اِن. عاصی، اِم. اِن. موغال، اِم. 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 بولداگ 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 سروبیوشیمیایی 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.

www.SID.ir

Archive of SID

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

بهروز نیک احوال[1]، مهرزاد فرود[2]، علیرضا رعایت جهرمی[1] و محمد سعید احراری خوافی[1]

[1]گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران؛ [2]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، نوومدیاستینوم و نوموریتروپریتونئوم 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

www.SID.ir