

مقایسه پاسخ تخمدانی و سوپراوولاسیون ایجاد شده ناشی از HMG و PMSG در خارج از فصل تولید مثلی در گاو میش رودخانه‌ای شبه جزیره میانکاله

سید محمد حسینی^{۱*}، پرویز تاجیک^۲، حمید قاسم‌زاده‌نوا^۳، بهرنگ اکرامی^۴، سعید بکایی^۲، شکیبا کردجزی^۵
تاریخ دریافت: ۸۹/۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۲/۱۲

چکیده

در این بررسی ۲۰ راس گاو میش واجد شرایط لازم تولیدمثلی در ۲ گروه ۱۰ راسی مورد مطالعه قرار گرفتند، تمامی گاو میش‌ها در روز اول تحت سیدر گذاری قرار گرفتند و روز بعد یک دوز GnRH دریافت نمودند. سپس در گروه اول در روز ۴ بعد از سیدر گذاری تزریق هورمون HMG به مدت ۳ روز انجام شد و در گروه دوم ۴۸ ساعت قبل از برداشت سیدر PMSG تزریق شد. در هر دو گروه در زمان بروز علائم فحلی همچنین در روز ۵ پس از تلقیح التراسونوگرافی جهت بررسی وضعیت موجهای فولیکولی و سایز فولیکولها صورت پذیرفت. در ۱۰ راس گاو میش گروه HMG، در ۶ راس تعدادی جسم زرد اعم از جسم زرد کیستیک و جسم زردهای اوولاسیون نموده مشاهده گردید و از لحاظ سایز مورد بررسی قرار گرفت و مقایسه‌ای بین تخمدان چپ و راست و نحوه عملکرد آنها صورت پذیرفت که به صورت جدولی ارائه می‌گردد. در گروه دوم PMSG اکثر فولیکولها در مرحله اوولاسیون تغییرات کیستیک و لوتئینزاسیون (لوتئینه شدن) دیواره را نشان دادند که حاکی از عدم پاسخ مناسب تخمدانی به PMSG و ترشح ناکافی هورمون LH بوده است. در مقایسه دو گروه باید گفت در مجموع پاسخگویی تخمدانها در گاو میش رودخانه‌ای شبه جزیره میانکاله در خارج فصل تولیدمثلی در پی ایجاد سوپراوولاسیون در گروه HMG نسبت به گروه PMSG نتایج بهتری را در پی داشته است و مطابق انتظار تخمدانهای راست در هر دو گروه از فعالیت بیشتری برخوردار بوده‌اند.

واژگان کلیدی: گاو میش رودخانه‌ای، اوولاسیون، التراسونوگرافی، HMG، PMSG

مقدمه

جمعیت گاو میش‌های دنیا حدود ۱۵۰ میلیون رأس یک هشتم گاوهای دنیا است. گاو میش آبی در بسیاری از

کشورهای جهان (حدود ۴۰ کشور) مهمترین نشخوارکننده اصلی است که از نیروی کار، گوشت و شیر آن استفاده می‌شود. گاو میش حیوانی است که دارای پتانسیل بالایی در تولید گوشت و نیروی کار می‌باشد و از محسنات این حیوان تغذیه ارزان و مقاومت بالای این حیوان به امراض بوده که منجر به تولید شیر و گوشت سالم می‌گردد. گاو میش نسبت به گاو در سن بالاتری بالغ می‌شود. (۱ و ۲)

۱- استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران

۲- استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- دانشیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۴- استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس، چالوس، ایران

۵- دامپزشک بخش خصوصی، ساری، ساری، ایران.

*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: dr_hosseini2323@yahoo.com

در این بررسی مقایسه تاثیرات تحریکات تخمدانی و القاء سوپراوولاسیون در گاو میش های شبه جزیره میانکاله صورت گرفته است و ارزیابی میزان پاسخ‌دهی تخمدانها در برابر دو هورمون HMG, PMSG و ارزیابی و مقایسه عملکرد آنها در گاو میش رودخانه ای شبه جزیره میانکاله گامی در راستای ایجاد سوپراوولاسیون بهتر و در پی آن در مراحل بعدی دریافت بیشتر جنین جهت انتقال جنین و همچنین اصلاح نژاد صورت پذیرد.

با توجه به اینکه گاو و گاو میش در طول عمر باروری خود فقط چند گوساله تولید خواهند کرد (کمتر از ۱۰ گوساله) از اینرو روش‌هایی که بتواند تعداد گوساله‌های ناشی از حیوانات ماده با ارزش ژنتیکی بالا را افزایش دهد مزایای شایان توجهی خواهد داشت.

مواد و روش کار

در این بررسی ۲۰ راس گاو میش واجد شرایط لازم تولید مثلی (فاقد عفونت و کیست و سایر مشکلات تناسلی و دارای body condition مناسب) ۶-۲ ساله ۸۰۰-۵۰۰ kg انتخاب گردید. توسط دستگاه اولتراسونوگرافی (piomedical) کلیه تخمدان‌های گاو میش‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت و با توجه به چرای آزاد گاو میش‌های نر و ماده و احتمال بروز آبستنی در جفت‌گیری‌های قبل تست آبستنی نیز انجام پذیرفت. ۲۰ راس گاو میش در ۲ گروه ۱۰ راسی تحت یک پروتکل مشابه همزمانی و ۲ پروتکل مختلف سوپراوولاسیون قرار گرفتند (۶). تمامی گاو میش‌ها در روز اول تحت سیدرگذاری قرار گرفته و یک دوز هورمون GnRh (۱۰۰ میکروگرم) $250 \mu\text{g}$ gonadorelin acetate, Gonabreed; Parnell, Australia) به آنها تزریق شد. در گروه اول در روز ۴ بعد از سیدرگذاری تزریق هورمون HMG, Pergonal, (Serono, Switzerland) به صورت ۶۰۰ واحد صبح و ۶۰۰ واحد بعد از ظهر به مدت ۳ روز انجام شد و در روز بعد همزمان با درآوردن سیدر (Parnell, Australia)

گاو میش ماده حیوانی است پلی استروس، و سیکل استروس در این دام ۲۱ روز بوده و طول فحلی تقریباً ۱۹-۲۱ ساعت می‌باشد. علائم اصلی فحلی در گاو بارزتر از گاو میش است. در ایران بروز اولین فحلی در گاو میش‌های تلیسه بین ۳۰ تا ۳۶ ماهگی و فاصله بین دوفحلی در صورت عدم باروری و آبستنی ۳۵ تا ۴۰ روزه است. (۴، ۱). دوران آبستنی ۱۰ تا ۱۱ ماه و متوسط ۳۱۵ روز است. بر اساس آمار ارائه گردیده در مورد درصد آبستنی در اولین تلقیح طبیعی در گاو میش رودخانه ای بین ۷۵%-۵۰ متغیر است. (۴) همچنین درصد وقوع آبستنی به دنبال تلقیح بدون فحل یا تلقیح در زمان ثابت پس از القاء فحلی کمتر از زمانی است که پس از تشخیص فحلی انجام می پذیرد و در گاو میش‌های مازندران درصد تلقیح به دنبال جفت‌گیری طبیعی تقریباً صد درصد می‌باشد. متوسط فولیکولهای اولیه دو گاو میش ۱۲ هزار در مقایسه با گاو ۱۳۳ هزار می باشد که این رقم نشان دهنده ذخایر بسیار پایین فولیکول در زمان تولد می باشد. (۴، ۱)

از جمله هورمون‌های مورد استفاده در گاو میش PMSG می‌باشد که از سرم مادیان آبستن استخراج می‌شود و با دز ۱۵۰۰ تا ۳۰۰۰ واحد به ازای هر راس گاو میش مورد استفاده قرار می گیرد، هورمون FSH با دز ۳۰۰ تا ۶۰۰ میلی‌گرم به مدت ۴ روز صبح و غروب و هورمون HMG ۶۰۰ واحد تزریق عضلانی دوبار در روز به مدت ۳ روز برای ایجاد یک سوپراوولاسیون چند تایی می تواند مورد مصرف قرار گیرد. PMSG روز ۶ پس از سیدرگذاری تزریق شده و یک تزریق $\text{PGF}2\alpha$ ۴۸ ساعت پس از آن صورت گرفته و برداشت سیدر و به دنبال آن فحل یابی یا تلقیح مصنوعی یا جفت‌گیری طبیعی صورت می گیرد. و هورمون HMG به صورت تزریق از روز ۷-۵ پس از سیدرگذاری به صورت صبح و غروب تزریق عضلانی و تزریق $\text{PGF}2\alpha$ در روز بعد انجام می گیرد. (۹ و ۱۰ و ۱۲)

(۱۳)

PGF2 α) به میزان ۲۵۰ میکروگرم تزریق شد.

در گروه دوم ۴۸ ساعت قبل از برداشت سیدر معادل روز ۶، ۳۰۰۰ واحد PMSG (Foligon, Intervet, Australia) تزریق عمیق عضلانی گردید و همزمان با درآوردن سیدر (۴۸ ساعت بعد) PGF2 α به میزان ۲۵۰ میکروگرم تزریق شد. گاو میش‌ها تا زمان بروز علائم فحلی در جایگاه‌های جدا از گاو میش‌های گله نگهداری شده پس از شناسایی و بروز علائم فحلی ۲ نوبت تلقیح به فاصله ۱۲ ساعت با اسپرم گاو میش انجام گردید.

در زمان بروز علائم فحلی همچنین ۵ روز پس از تلقیح تمام ۲۰ راس گاو میش مورد التراسونوگرافی قرار گرفته و وضعیت تعداد فولیکول‌های گراف و سایز فولیکولها بررسی گردید. تحلیل آماری نتایج توسط روشهای آماری chi-square و با استفاده از نرم‌افزار spss16 انجام گرفت.

نتایج

آنچه که مشخص است در گاو میش رودخانه‌ای شبه جزیره میانکاله در خارج از فصل تولید مثلی پاسخ تخمدانی و سوپراوولاسیون در هر دو گروه صورت می‌گیرد.

در گروه HMG در روز فحلی به طور متوسط ۴ فولیکول و در روز ۵ پس از تلقیح به طور متوسط، ۲/۲ کیست فولیکولی در تخمدان راست و در تخمدان چپ در روز فحلی به طور متوسط ۳/۶ فولیکول و در روز ۵ پس از تلقیح، ۲/۴ کیست فولیکولی مشاهده گردید. همچنین در مجموع در روز ۵ پس از تلقیح در تخمدان‌های راست ۶ جسم زرد و ۲ جسم زرد کیستیک و در تخمدان‌های چپ ۲ جسم زرد مشاهده گردید که نشان می‌دهد تخمک گذاری در تخمدان راست به طور معنی داری بیش از تخمدان چپ است (P<0.05). که در مجموع نشان از فعال‌تر بودن تخمدان راست در پاسخ به HMG در گاو میش رودخانه‌ای شبه

جزیره میانکاله دارد. (جدول و شکل ۱)

در گروه PMSG به طور متوسط در روز فحلی در هر تخمدان راست ۳ فولیکول و در روز ۵ پس از تلقیح به طور متوسط در هر تخمدان راست ۳/۱ کیست فولیکولی و در تخمدان چپ به طور متوسط در روز فحلی، ۲ فولیکول و ۵ روز پس از تلقیح به طور متوسط، ۲/۹ کیست فولیکولی مشاهده شد. در روز ۵ پس از تلقیح در تخمدان‌های راست ۱۲ کیست جسم زرد مشاهده گردید. که باز هم می‌توان گفت تخمدان راست نسبت به چپ در پاسخ به PMSG فعال‌تر بوده است (P<0.05). (جدول ۱ و تصویر ۲)

در گروه دوم PMSG اکثر فولیکول‌ها در مرحله اوولاسیون تغییرات کیستیک و لوتئینزاسیون (لوتئینه شدن) دیواره را نشان دادند که حاکی از عدم پاسخ مناسب تخمدانی به PMSG و ترشح ناکافی هورمون LH بوده است که این می‌تواند با توجه به کارهای تحقیقاتی که در سایر کشورها و در گونه‌های مختلف گاو میش صورت گرفته در گاو میش‌های میانکاله منحصر به فرد باشد و نیاز به کارهای تحقیقاتی وسیع‌تر می‌باشد.

در مجموع ۲۴۴ ساختار بر روی تخمدان‌ها در روز ۱ و ۵ در دو گروه دیده شد که از این تعداد ۱۳۹ ساختار در تخمدان راست و ۱۰۵ ساختار در تخمدان چپ وجود داشت که به طور متوسط در روی هر تخمدان ۳/۰۵ ساختار رویت گردید. در مقایسه دو گروه باید گفت در مجموع پاسخگویی تخمدانها در گاو میش رودخانه‌ای شبه جزیره میانکاله در خارج فصل تولید مثلی در پی ایجاد سوپراوولاسیون در گروه HMG نسبت به گروه PMSG نتایج بهتری را در پی داشته است (p<0.05) و مطابق انتظار تخمدان‌های راست در هر دو گروه از فعالیت بیشتری برخوردار بوده‌اند.

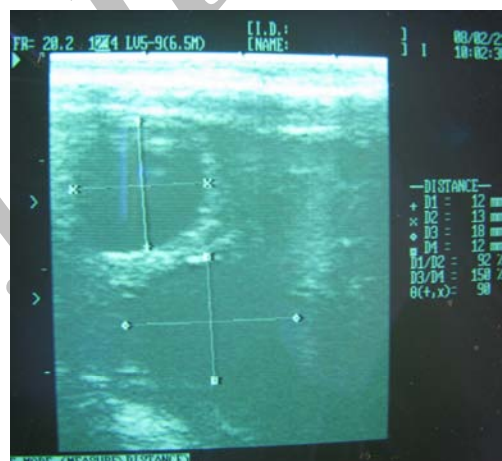
جدول ۱- نتایج مربوط به گروههای HMG و PMSG

تعداد ساختار	میانگین تعداد کیست فولیکولی		میانگین تعداد کیست لوتئال		میانگین تعداد جسم زرد		میانگین تعداد فولیکول		تخمندان چپ	تخمندان راست
	تخمندان چپ	تخمندان راست	تخمندان چپ	تخمندان راست	تخمندان چپ	تخمندان راست	روز فحلی	روز فحلی		
جمع	تخمندان چپ	تخمندان راست	تخمندان چپ	تخمندان راست	تخمندان چپ	تخمندان راست	تخمندان چپ	تخمندان راست	روز فحلی	روز فحلی
۱۳۲	۷۰	۶۲	—	—	۲	—	۶	۲	۲،۲	۴
۱۱۲	۶۹	۴۳	—	۱	۱۲	—	—	—	۲،۷	۳
۲۴۴	۱۳۹	۱۰۵	جمع							

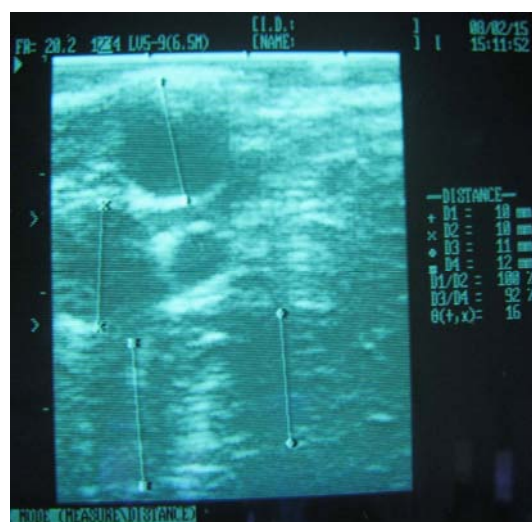
بحث

سوپراوولاسیون از نظر پیش بینی در گاومیش بسیار ضعیف تر از گاو می باشد. با این حال در مطالعه حاضر میزان عملکرد تخمدانی در گاومیش رودخانه ای شبه جزیره میانکاله در گروه HMG نسبت به گروه PMSG با پاسخ بهتری همراه بوده است و همراه با موارد کیستیک کمتری بوده که از این نظر عملکردی مشابه با سایر تحقیقات یافته ایم. ضمن اینکه در هر دو گروه از لحاظ طولی سائز فولیکولها متنوع بودند بطوری که در گروه HMG از ۵-۱۶ mm و در گروه PMSG از ۷-۱۵ mm متغیر بوده است. تعداد و سائز متنوع فولیکولها در شروع سوپراوولاسیون در این مطالعه مشابه سایر مطالعات صورت گرفته در گاومیش می باشد. (تنجا و همکاران ۱۹۹۵ و مانیک و همکاران ۱۹۹۸).

drost و همکاران در ۱۹۸۳ تاثیر بهتر سوپراوولاسیون ایجاد را متعاقب استفاده از FSH نسبت به PMSG در گاومیش گزارش کرده است. همچنین در بررسی دیگر در پی سوپراوولاسیون با افزایش سائز فولیکولی از $8/25 \pm 0/48$ mm به $10/75 \pm 0/25$ mm با فاصله ۵ روز در سونوگرافی Lawson در ۲۰۰۳ به افزایش رشد شایان فولیکول به جهت بلوغ یافتن و افزایش تقسیم سلولی همراه با بیان رسپتورهای سلولهای گرانولوزا



شکل ۱- سونوگرافی تخمدان گاومیش گروه HMG هر دو ساختار موجود فولیکول بوده و اقطار آن مطابق شکل بر حسب میلی متر اندازه گیری شده است.



شکل ۲- سونوگرافی تخمدان گاومیش گروه PMSG ساختار بالای تصویر فولیکول و دو ساختار سمت چپ جسم زرد کیستیک و ساختار سمت راست جسم زرد می باشد.

رحمانی، مهندس داریوش کوهی و آقای رستم‌نژاد، همچنین معاونت محترم دام جهاد کشاورزی استان مازندران که در این بررسی ما را یاری دادند کمال تشکر و قدردانی به عمل آید.

منابع

1. Drost, M., (2007): Bubaline versus bovine reproduction. *Theriogenology* (3): 447-449.
2. Drost, M., Wright, J.M., Cripe, W.S., Richter, A.R., (1983): Embryo transfer in water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology* 20: 579-84.
3. Drost, M., Vlahov, K., Alexiev, A., Cripe, W.S., Karaivanov, C.H., Leonards, A.P., Kacheva, D., Polihronov Nicolov, N., Petrov, M., Dragoev, A., (1988): Successful nonsurgical embryo transfer in buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Bulgaria. *Theriogenology* 30: 659- 668.
4. Drost, M., Cripe, W.S., Richter, A.R., (1985): Oestrus detection in buffaloes (*Bubalus bubalis*): Use of an androgenized female. *Buffalo Journal* 1: 159-61.
5. Etou, T., Ishida, K., Hayakawa, S., Ushijima, H., (1987): Superovulation of Japanese Black cattle with a follicle stimulating hormone and human menopausal gonadotrophin. *Japanese Animals Reproduction Technology*. 9: 121-123.
6. Gianluca, N., Bianca, G., Rossella, D.P., Clemente, D.R., Luigi, Z., (2003): Giuseppe C. Comparison of pregnancy rates with two estrus synchronization protocols in Italian Mediterranean Buffalo cows. *Theriogenology*. 60. 1:125.
7. Hafez, E.S.E., (1955): Puberty in the buffalo cow. *Journal of Agriculture Science*. 46: 137-142.
8. Karaivanov, C.h., (1986): Comparative studies on the superovulatory effect of PMSG and FSH in Water Buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology* 26: 51-61.

بدنبال استفاده از FSH اشاره نموده است. و Lawson و همکاران در ۲۰۰۲ تسریع لوتئنه شدن فولیکولها در پی استفاده از FSH را گزارش نموده اند. Shallembevgev و همکاران در ۱۹۹۰ متعاقب استفاده از PMSG وقوع بالای فولیکولهای بی که منجر به تخمک‌گذاری نمی‌شود با میزان پایین بازده تولید جنین را گزارش نموده‌اند. کاریوانو در سال ۱۹۸۶ درصد فولیکولهای تخمک‌گذاری نشده در گاو میش رودخانه‌ای را بدنبال دریافت PMSG در مقایسه با گروه FSH را بسیار قابل توجه ارزیابی نمود چنین مقایسه‌ای نزدیک به مطالعه ما در مقایسه دو گروه PMSG نسبت به گروه HMG می‌باشد.

Misra در ۱۹۹۴ پاسخ دهی به FSH را در مقایسه با PMSG ۹۱/۲٪ به ۸۰/۸٪ در پی آزمودن در مقیاس وسیع اعلام نموده است. ضمناً پاسخگویی بهتر تخمدان راست نسبت به چپ نیز با سایر تحقیقات صورت گرفته مشابهت دارد.

Etou و همکاران در ۱۹۸۷ اثرات ناشی از HMG را در گاوهای سیاه ژاپنی گزارش نمودند که در مطالعه ایشان میزان سوپر اوولاسیون و وضعیت تخمدانی و جنین‌های بازایستی و تعداد قابل انتقال این جنین‌ها تفاوتی در دو گروه HMG و FSH نیافتند. Katsumi در ۱۹۹۴ به نتایج مشابهی در گاوهای سیاه ژاپنی دست یافت. در دو مطالعه ذکر شده جنین‌های بازایستی قابل انتقال در گروه HMG دارای کیفیت بالاتری بودند. McGavin و همکاران در ۱۹۸۵ تولید کم کیفیت جنین‌ها و افزایش ناباروری را در پی استفاده از دوز بالای HMG را در گوساله‌های دورگه سمتال-هرفورد گزارش دادند.

تشکر و قدردانی

در پایان بر خود واجب می‌دانیم از حمایت‌های مدیریت واحد و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل همچنین آقایان مهندس جعفر

9. Katsumi, A., Yamaguchi, T., Yamaguchi, C., Yamashita, Y., Ujiie, H., Onodera, M., Ochi, T., (1994): Superovulation of Japanese Black cattle with HMG Pergonal. *Japanese Journal of Veterinary Medicine*. 47: 185–189,
10. Lawson, R., El-Toukhy, T., Kassab, A., Taylor, A., Braude, P., Parsons, J., Seed, P., (2003): Poor response to ovulation induction is a stronger predictor of early menopause than elevated basal FSH: a life table analysis. *Human Reproduction*. 18:527-533.
11. Manik, R.S., Singla, S.K., Palta, P., Madan, M.L., (1998): Real-time ultrasonographic evaluation of follicular populations during oestrous cycle in buffalo. *Indian Journal of Animal Science*. 68. 11: 1157–1159.
12. Misra, A.K., Joshi, B.V., Agrawala, P.L., Kasiraj, R., Sivaiah, S., Rangareddi, N.S., Siddiqui, M.U., (1990): Multiple ovulation and embryo transfer in Indian buffalo. *Theriogenology* 33: 1131-41.
13. McGowan, M.R., Braithwaite, M., Jochle, W., (1985): Superovulation of beef heifers with Pergonal_HMG. a dose response trial. *Theriogenology* 24: 173–184.
14. Shalleberger, E., Wagner, H.G., Papa, R., Hartl, P., Tenhumberg, H., (1990): Endocrinological evaluation of the induction of superovulation with PMSG water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*. 34: 379-392.
15. Taneja, M., Singh, G., Totey, S.M., Ali, A., (1995): Follicular dynamics in water buffalo superovulated in the presence or absence of a dominant follicle. *Theriogenology* 44: 581–597.