Archive of SID

بررسی تاثیر نژاد موش بر تحریک تخمدانی

دکتر زهره علیزاده[*1]، نگین مولازاده[2]، دکتر محمدعلی سیف ربیعی[3]

تاریخ دریافت ۸۸/۱۱/۱۶، تاریخ پذیرش ۸۹/۳/۱۲

چکیده

پیش زمینه و هدف: تحریک تخمدانی و لقاح آزمایشگاهی جهت انجام تحقیقات در زمینه مطالعات تولید مثل به‌طور گسترده در موش‌های آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نژادهای مختلف موش به علت تفاوت‌های ژنتیکی پاسخ متفاوتی به این فن‌ها می‌دهند. در این مطالعه پاسخ دو نژاد موش به تحریک تخمدانی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش کار: در این مطالعه پایه، موش‌های ماده نژادهای Balb-c و NMRI با PMSG و hCG تحریک شدند. تخمک‌های به دست آمده شمارش و از نظر ظاهری بررسی شده سپس با اسپرم‌های نر لقاح داده شدند. در ادامه جنین‌های دو سلولی شمارش شده و توسط آزمون‌های آماری مقایسه شدند.

یافته‌ها: پاسخ به تحریک تخمدانی بین نژادها متفاوت بود و تعداد اووسیت‌های طبیعی به ازای هر موش ماده از ۲۰-۰ برای نژاد Balb-c و ۶۰-۰ برای نژاد NMRI شمارش شد. تعداد اووسیت‌های بدست آمده($PV< 0.00$) و تعداد تخمک‌های لیز شده($PV<0.05$) تفاوت آماری معنی‌داری را بین دو نژاد نشان دادند. سایر موارد شامل تعداد اووسیت‌های فراگمنته، اووسیت‌های گرانولر و جنین‌های دو سلولی تفاوت آماری معنی‌داری را نشان ندادند.

بحث و نتیجه گیری: این مطالعه تاثیر نژاد موش را در پاسخ به تحریک تخمدانی و لقاح آزمایشگاهی نشان داد. بدین معنی که نژاد NMRI نسبت به نژاد Balb-c بهتر به تحریک تخمدانی و لقاح آزمایشگاهی پاسخ داده است.

کلید واژه‌ها: تحریک تخمدانی، لقاح آزمایشگاهی، نژاد موش

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و یکم، شماره سوم، ص ۲۵۹-۲۵۵، پاییز ۱۳۸۹

آدرس مکاتبه: همدان، بلوار شهید فهمیده، دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریحی، کدپستی: ۶۵۱۷۸-۳-۸۷۳۶، تلفن: ۰۹۱۸۱۱۱۰۷۰۰

E-mail: alizadeh@umsha.ac.ir

مقدمه

موش‌ها دارای ویژگی‌هایی می‌باشند که آن‌ها را برای انجام انواع پژوهش‌ها، به‌عنوان یک حیوان آزمایشگاهی، مناسب می‌نماید. تاکنون ویژگی‌های وراثتی، فیزیولوژیکی و کالبد شناختی آن‌ها به‌خوبی بررسی شده است. موش‌ها حیواناتی هستند که نگهداری و کارکردن با آن‌ها ساده و کم خرج است، جثه‌ای کوچک دارند و می‌توان تعداد بی‌شماری از آن‌ها را مورد استفاده قرار داد. کوتاه بودن زمان زاد و ولد و توانایی تکثیر زیاد آن‌ها، این حیوانات را برای پژوهش‌های وراثتی بسیار مناسب نموده است (۲،۱).

Whitingham برای اولین بار از موش‌ها در مطالعات جنین شناسی استفاده کرد (۳). این حیوانات تعداد زیادی اووسیت یا جنین با کیفیت بالا برای استفاده در این‌گونه مطالعات را فراهم می‌کنند (۲).

امروزه پژوهش‌گران در مطالعه فرآیندهای تولید مثل، بوجود آوردن حیوانات با تغییرات ژنتیکی، انتقال جنین‌های فریز شده و همچنین مطالعات مولکولی به‌طور گسترده از فن‌های کمک باروری استفاده می‌کنند (۵،۴،۲). استفاده از موش‌ها در این‌گونه فن‌ها رایج است، در این مطالعات از تزریق گنادوتروپین‌ها به عنوان روشی برای القا رشد تعداد زیادی از فولیکول‌ها و تخمک‌گذاری استفاده می‌شود که در نتیجه آن تعداد زیادی تخمک برای تولید جنین در مطالعات آزمایشگاهی بدست می‌آید(۵،۴).

[1] استادیار علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان (نویسنده مسئول)

[2] دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

[3] استادیار پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان

www.SID.ir

Archive of SID

نژادهای موش را از نظر پاسخ به تحریکات تخمدانی به دو دسته تقسیم می‌کنند (۶):

۱- موش‌هایی که به تحریک تخمدانی خوب پاسخ می‌دهند و در این موارد از هر موش می‌توان ۵۰-۳۰ تخمک بدست آورد مانند نژادهای C57BL/6J و BABLB/cByJ.

۲-موش‌هایی که به تزریق گنادوتروپین‌ها به خوبی پاسخ نمی‌دهند و بعد از هر دوره تزریق ۱۵ تخمک یا کم‌تر از آن بدست می‌آید مانند نژادهای C57/L و 129/J.

عوامل متعددی شناخته شده اند که در پاسخ موش‌ها نسبت به تحریک تخمدانی تاثیر می‌گذارند، از مهم‌ترین این عوامل سن و نژاد موش‌های ماده می‌باشد، موش‌های ماده ای که ۶-۳ هفته سن دارند (البته با توجه به نژاد آن‌ها) پاسخ بهتری به تحریک تخمدانی می‌دهند(۶). همچنین حساسیت به تزریق هورمون‌ها و توانایی رشد تا مرحله‌ی بلاستوسیت در محیط کشت از علل دیگر پاسخ بهتر به سوپراوولاسیون است (۷).

داده‌های مختلفی در مورد پاسخ به تحریک تخمدانی، لقاح آزمایشگاهی و دیگر روش‌های بیولوژی تولید مثل در مقالات در دسترس است (۸،۷). این داده‌ها با استفاده از پروتوکل‌ها، شرایط و نژادهای مختلف بدست آمده اند، که مقایسه صحیح بین آن‌ها را دشوار می‌سازد.

این مطالعات پاسخ نژادهای مختلف موش را نسبت به این‌گونه فن‌ها و دیگر روش‌ها بررسی نموده تا نژاد مناسب برای مطالعه در شرایط خاص آزمایشگاهی را بدست آورند(۱۱-۸). با توجه به شرایط متفاوت نگهداری موش‌ها و شرایط آزمایشگاهی بهتر است تا این‌گونه بررسی‌ها در شرایط خاص از جمله در ایران بررسی شود.

در ایران دو نژاد موش که عبارتند از، Balb/c وNMRIدر انیستیتو پاستور در دسترس است.

NMRI یک نژاد outbred بوده و در سال ۱۹۷۳ توسط National Institutes of Health امریکا و سپس توسط(NMRI[1]) معرفی و مورد استفاده قرار گرفت(۱۲). Balb/c یک نژاد inbred بوده که در سال ۱۹۱۳ توسط Memorial Hospital, New York, استفاده شده و سپس به صورت inbred تهیه گردید (۱۳).

در ایران در مطالعات جنین شناسی از این دو نژاد به‌طور گسترده استفاده می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر تزریق گنادوتروپین‌ها بر تعداد و کیفیت تخمک‌های بدست آمده و میزان موفقیت لقاح آزمایشگاهی و مقایسه آن‌ها در این دو نژاد موش است، تا نژاد مناسب جهت مطالعه انتخاب شود.

[1] Naval Medical Research Institute

مواد و روش کار

در این مطالعه پایه، دو نژاد موش ماده مورد مطالعه یعنی NMRI و Balb-c به سن ۴- ۶ هفته از انستیتو پاستور ایران تهیه شد و قبل از شروع تزریق جهت تطابق با شرایط جدید به مدت یک هفته در حیوان خانه دانشکده پزشکی با شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. موش‌های نر نژاد NMRI نیز در قفس‌های جداگانه با شریط مشابه نگهداری شدند. در این مطالعه از ۳۲ سر موش نژاد Balb-c و ۳۵ سر موش نژاد NMRI استفاده شد.

برای تحریک تخمدانی به موش‌های ماده هر دو نژاد ابتدا ۷/۵واحد PMSG[2] (شرکت نصر فریمان-ایران) و بعد از ۴۸ ساعت ۷/۵ واحد hCG[3] (شرکت دارو پخش- ایران) به طریق داخل صفاقی تزریق شد. برای گرفتن تخمک (متافازII) ۱۳-۱۶ ساعت بعد از تزریق hCG موش‌ها را کشته و لوله رحمی‌جدا شد. تخمک‌ها از لوله رحمی و در محیط کشت خارج شدند. محیط کشت مورد استفاده(LifeGlobal®) HTF با PH(7.2-7.4) بود.

در روز قبل از گرفتن تخمک‌ها محیط کشت به صورت قطراتی داخل پلیت قرار گرفت و روی آن با mineral oil(sigma.m8410) پوشانده شد و بعد داخل انکوباتور (CO2 5%,O2 5%,T=37) قرار گرفت.

اسپرم‌ها از موش نر نژاد NMRI و از ناحیه دم اپیدیدیم در محیطHTF دو ساعت قبل از لقاح داخل آزمایشگاهی جمع‌آوری شده و برای رسیدگی بیشترتا زمان استفاده داخل انکوباتور نگهداری شدند.

به تخمک‌های به دست آمده، اسپرم اضافه شده و بعد از گذشت ۵ تا ۷ ساعت به دلیل کنار رفتن سلول‌های کومولوس از اطراف تخمک‌ها، مورفولوژی آن‌ها بررسی گردید. بدین ترتیب تخمک‌هایی که دارای سیتوپلاسم تیره و دانه دار بودند به عنوان تخمک‌های گرانولر، تخمک‌هایی که سیتوپلاسم آن‌ها به شکل قطعات ریز درامده به‌عنوان فراگمنته و در صورتی که سیتوپلاسم تخمک جمع شده باشد به عنوان لیز شده در نظر گرفته شدند. سپس تخمک‌ها شستشو داده شده و مجددا برای مدت ۳۰ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند تا جنین دو سلولی بدست آید. تعداد جنین‌های بدست آمده نیز شمارش شده و متوسط تعداد بدست آمده در دو نژاد مقایسه گردید.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش‌های t-testو X^2 استفاده شد.

[2] Pregnant Mare's Serum Gonadotropin
[3] human chrionic Gonadotropin

www.SID.ir

Archive of SID

یافته‌ها

تعداد لوله‌های رحمی که به دنبال تحریک تخمدانی توانستیم از آن‌ها تخمک بدست آوریم، در دو نژاد مقایسه شد و به‌طور متوسط در نژاد Balb-c، ۰/۰۹۴ ±۱/۶۸ و در نژاد NMRI ۰/۰۶۰±۱/۸۵بود، که در دو نژاد مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

پاسخ هر نژاد به تحریک تخمدانی از ۰ تا ۲۰ تخمک در موش‌های Balb-c و از ۰ تا ۶۰ در موش‌های NMRI متفاوت بود. تعداد متوسط اووسیت‌هایی که توسط تحریک تخمدانی در این دو نژاد بدست آمد تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد (PV< 0.00) (جدول۱).

جدول شماره (۱): میانگین تعداد تخمک‌های بدست آمده از هر لوله رحمی در دو نژاد مختلف موش پس از تحریک تخمدانی

نژاد موش	تعداد موش‌های ماده	حداقل - حداکثر تخمک‌های بدست آمده از یک موش	*تعداد متوسط اووسیت‌های بدست آمده
Balb-c	۳۲	۰-۲۰	۱۰/۴۶ ± ۰/۸۰
NMRI	۳۵	۰-۶۰	۱۹/۴۵ ± ۱/۶۹

* تعداد متوسط تخمک‌های بدست آمده از هر لوله رحمی ±SEM 2 نشان داده شده است. تعداد متوسط تخمک‌ها در دو نژاد تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد(PV<0.00).

پاسخ دو نژاد مختلف به تحریک تخمدانی و تاثیر آن بر کیفیت تخمک‌ها در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. تعداد متوسط اووسیت‌های طبیعی به‌وسیله تقسیم تعداد کل تخمک‌های طبیعی به تعداد موش‌های ماده بدست آمد. همچنین تعداد متوسط اووسیت‌های فراگفته، گرانولر و لیز شده به‌وسیله تعداد کل تخمک‌های هر نوع به تعداد موش‌های ماده محاسبه شد(PV<0.00).

تعداد متوسط اووسیت‌های لیز شده تفاوت معنی‌داری را در دو نژاد نشان می‌دهد(PV<0.05) و بقیه موارد تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهند.

جدول شماره (۲): مقایسه کیفیت اووسیت‌های بدست آمده در دو نژاد مختلف موش پس از تحریک تخمدانی

نژاد موش	تعداد موش	*اووسیت طبیعی	*اووسیت فراگمنته	*اووسیت گرانولر	*اووسیت لیز شده
Balb-c	۳۲	۶/۵۹±۰/۷۹۰	۱/۱۵±۰/۱۷۴	۲/۶۵±۰/۴۹	۰/۱۵±۰/۶۵۲
NMRI	۳۵	۹/۵۷±۱/۰۱۴	۱/۷۷±۰/۲۷۵	۴/۰۸±۱/۰۶۶	۲/۹۱±۰/۵۸۷

* تعداد متوسط اووسیت‌های طبیعی، فراگمنته، گرانولر و لیز شده ±2SEM نشان داده شده است.

نتایج حاصل از لقاح آزمایشگاهی در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. تعداد جنین‌های بدست آمده در دو نژاد تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

جدول شماره (۳): میانگین تعداد جنین‌های بدست آمده در دو نژاد مختلف موش پس از تحریک تخمدانی

نژاد موش	تعداد موش	*موفقیت لقاح آزمایشگاهی
Balb-c	۳۲	۳/۴۳±۰/۶۲
NMRI	۳۵	۳/۵۴±۰/۶۰

* تعداد متوسط جنین‌های دو سلولی بدست آمده ± SEM نشان داده شده است(PV>0.05).

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

تحریک تخمک‌گذاری، لقاح آزمایشگاهی و انتقال جنین به‌طور گسترده در موش‌های آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد، نژادهای مختلف موش به علت تفاوت‌های ژنتیکی پاسخ متفاوتی به این فن‌ها می‌دهند. دانستن این که چگونه نژادهای مختلف به هنگام استفاده در این‌گونه آزمایشات پاسخ می‌دهند به استفاده بهتر از موش‌ها و صرفه‌جویی در وقت و گرفتن پاسخ بهتر منجر خواهد شد.

برخی اطلاعات در مورد این که چگونه نژادهای خاصی از موش‌های هم خون به تحریک تخمدانی پاسخ می‌دهند، از مقالات قابل استخراج است(۹،۷،۱۴). برای مثال suzukiو همکاران ۵۵ نژاد موش را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها در مطالعه خود پاسخ به تحریک تخمدانی و میزان موفقیت لقاح آزمایشگاهی را بررسی کردند (۱۴). در مطالعه آن‌ها تعداد تخمک‌ها و تخمک‌های لقاح یافته تفاوت معنی‌داری را در نژادهای مختلف نشان دادند.Spearow و همکارانش ۱۶ نژاد هم خون را مورد بررسی قرار دادند (۱۵) و نشان دادند تفاوت‌های ژنتیکی در پاسخ به تحریک تخمک‌گذاری موثر است و بعضی از نژادها تا ۱۰ برابر تفاوت در تعداد تخمک‌های تولید شده را نشان می‌دهند.

Wabik-OEliz دو نژاد موش نوترکیب را مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند میزان کیفیت تخمک‌ها در آن‌ها افزایش داشته است (۱۶). Vergara نیز ۱۰ نژاد را مطالعه کرد و تاثیر تحریک تخمدانی بر تخمک‌ها، میزان لقاح آزمایشگاهی و جنین‌های بدست آمده بعد از انتقال آن‌ها به رحم را مورد بررسی قرار داد (۱۰).

Popova و همکارانش در چهار نژاد از موش‌های صحرایی(rat) پاسخ به سوپر اوولاسیون و رشد جنین را مورد بررسی قرار دادند (۹). Shanon و همکاران نیز ۱۰ نژاد inbred را مورد مطالعه قرار داده و بعد از تشکیل جنین در محیط آزمایشگاه، جنین‌ها را به رحم موش منتقل کرده و رشد آن‌ها را مقایسه کردند. آن‌ها تفاوت‌هایی بین تعداد تخمک‌های بدست آمده، میزان لقاح و تعداد جنین‌های زنده به‌دنیا آمده در بین نژادهای مختلف را گزارش کردند. آن‌ها همچنین تاثیر نژاد بر انجماد تخمک‌ها را بررسی و نشان دادند تفاوت معنی‌داری در این مورد بین تعدادی از نژادها وجود دارد (۷).

Martı´n-Coello و همکاران پاسخ سه گونه موش را به تحریک تخمدانی و بلوغ آزمایشگاهی تخمک بررسی کردند. یکی از گونه‌ها به روش‌های معمول تحریک تخمدانی پاسخ نداد ولی در هر سه‌گونه بلوغ آزمایشگاهی و به‌دنبال آن درصد بالایی از لقاح آزمایشگاهی دیده شد (۱۷).

علی‌رغم انجام این مطالعات می‌توان گفت، روش‌ها و شرایط آزمایشگاهی اغلب به قدری متفاوت است که، قضاوت در مورد تفاوت‌ها و تخمین نتیجه، برای محقق در استفاده از نژادهای مختلف در زیر مجموعه آزمایشات کمک باروری را دشوار می‌سازد. علاوه بر آن در این مقالات، بین دو نژادی که در مطالعه حاضر انجام شده مقایسه ای صورت نگرفته است. لازم به ذکر است که استفاده از نژاد NMRI در ایران معمول بوده و به همین دلیل جهت مطالعه حاضر انتخاب شده است.

داده‌های بدست آمده در این مطالعه تخمین بازده فن‌های اساسی کمک باروری با استفاده از نژادهای موش متداول در ایران را امکان‌پذیر می‌سازد.

در این مطالعه پاسخ دو نژاد Balb-c و NMRI به سوپر اوولاسیون و لقاح آزمایشگاهی بررسی شد. تعداد اووسیت‌های بدست آمده و تخمک‌های لیز شده در دو نژاد مورد مطالعه تفاوت‌های معنی‌داری را نشان داد، در حالی که تعداد تخمک‌های گرانولر، فراگمنته، و تعداد لوله‌های فالوپ حاوی تخمک تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌داد، اما در هر دو نژاد متفاوت بود.

در نژادهای مورد مطالعه میزان هورمون استفاده شده یکسان بود و توانستیم در مورد تعداد اووسیت‌ها نتایج متفاوتی بدست آوریم، بنابراین زمینه ژنتیکی نژادهای مختلف می‌تواند نقش مهمی در پاسخ به سوپر اوولاسیون داشته باشد و چون دو نژاد مورد مطالعه از لحاظ ژنتیکی متفاوت بودند، گرفتن پاسخ‌های متفاوت قابل انتظار بود. البته متعادل ساختن روش تحریک تخمدانی برای هر نژاد به وسیله تغییر میزان یا نوع هورمون مورد استفاده، وزن و سن موش می‌تواند نتایج به دست آمده را بهبود بخشد. کیفیت تخمک‌های بدست آمده از سوپر اوولاسیون نیز می‌تواند تحت تاثیر عوامل مختلفی مثل نوع محیط کشت و شرایط محیط تغییر یابد.

در مورد لقاح آزمایشگاهی تفاوت معنی‌داری بین این دو نژاد دیده نشد، اما با توجه به این که نژاد موش نر استفاده شده در این مطالعه یکسان بود، می‌تواند در تعداد جنین‌های بدست آمده موثر باشد. مطالعات بیشتر در زمینه‌ی لقاح در نژادهای مختلف و قابلیت اسپرم‌های نژادهای مختلف جهت لقاح نشان دهنده‌ی تفاوت در تعداد جنین‌های بدست آمده می‌باشد(۶).

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده‌ی وجود تفاوت در تعداد تخمک‌های بدست آمده از دو نژاد می‌باشد. استفاده از این نتایج و همچنین متعادل سازی شرایط آزمایشگاهی برای نژادهای مختلف می‌تواند موجب کاهش تعداد حیوانات مورد استفاده و

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش کارآیی بیشتر در بدست آوردن تخمک و تولید جنین در آزمایشگاه‌هایی شود که از این دو نژاد در ایران استفاده می‌کنند.

تقدیر و تشکر

از معاونت تحقیقات و فن‌آوری و مرکز تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی همدان به دلیل حمایت مالی تقدیر و سپاس به عمل می‌آید.

References:

1. Nagy A, Gertsenstein M, Vintersten K, Behringer R. Manipulating the mouse embryo:laboratory manual. 3rd Ed. New York: Cold Spring Harbor Press; 2003.
2. Scoott LF, Sundaram SG, Smith S. The relevance and use of mouse emberyo bio assays for quality control in ART program. Fertil Sertil 1993; 60(3): 559-68.
3. Whitingham DG. Fertilization of mouse eggs in vitro. Nature 1968; 220:592-93.
4. Mohammadi Roushandeh A, Pasbakhsh P, Alizadeh Z, Habibi Roudkenar M. In vitro maturation media, cysteamine concentration and glutathione level affect blstocysts development in mouse. Iranian J Reprod Med 2007;5, (4): 159-63.
5. Alizadeh Z, Pasbakhsh P, Sobhani A, Barbarestani M, Ghafari M, Etaesam F. Time course of degradation and deadenylation of maternal c-mos and cyclin A2 mRNA during early development of one-cell embryo in mouse. Iranian Biomed J 2004; 8(4):179-83.
6. Zudova D, Wyrobek AJ. Bishop J, Marchetti F. Impaired fertility in t-stock female mice after superovulation. Reproduction 2004; 128:573-81.
7. Shanon LB, Payon Sj, Taft RA. Performance of ten inbred mouse strains following assisted reproductive technologies (ARTS). Theriogenology 2006; 65(9): 1716-26.
8. Ertzeid G, Storeng R, Lyberg T. Treatment with gonadotoropins impaired implantation and fetal development in mice. J Assist Reprod Genetics 1993; 10(4): 286-91.
9. Popova E, Bader M, Krivokharchenko A. Strain differences in superovulatory response embryo development and efficiency of transgenic rat prodution. Transgenic Res 2005;14(5):729-38.
10. Vergara GJ, Irwin MLT RJ, Pinkert CA. In vitro fertilization in mice: strain differences in response to superovulation porotocols and effect of cumulus cell removal. Theriogenology 1997; 15: 47(6):1245- 52.
11. Masters W, Wheeler MB. Timing of induced ovulation in c.B-17/Icr-scid and B6SJLF1 mice. Lab Anim Sci 1996; 46(6):663- 6.
12. Aune T, John ABA, Christopher OM, Stig M. Effect of mouse strain and gender on LD50 of yessotoxin. Toxicon 2008; 52(4):535-40.
13. This article is not included in your organization's subscription. However, you may be able to access this article under your organization's agreement with Elsevier.
14. Suzuki O, Asano T, Yamamoto Y, Takano K, koura M. Development in vitro of preimplantations embryos from 55 mouse strains. Reprod Fertil Dev 1996; 8(6):975-80.
15. Speraow JL, Barkley M. Genetic control of hormone-induced ovulation rate in mice. Biol Reprod 1999; 61(4): 851-56.
16. Wabik-OEliz B, Goas A, Krzanowska H. Analysis of oocyte quality in recombinant inbred mouse strains developed from KE and CBA strains that differ in fertilization efficiency. J Appl Genet 2005; 46(2): 163-70.
17. Martı´n-Coello J, Gonza´lez R, Crespo C, Gomendio M, Roldan ERS. Superovulation and in vitro oocyte maturation in three species of mice (Mus musculus, Mus spretus and Mus spicilegus). Theriogenology 2008; 70(6): 1004-13.

www.SID.ir