دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد دوم، شماره دوم، ۱۳۹۳
http://ejrr.gau.ac.ir

اثر استرادیول/ اکسی‌توسین، سنسی بلکس و دینوپروستون بر بازشدن سرویکس، مدت زمان باز ماندن سرویکس و بازده تولیدمثلی در گوسفندان نژاد زندی

رضا مسعودی[۱]، *احمد زارع‌شحنه[۲]، آرمین توحیدی[۳] و حمید کهرام[۴]
[۱]دانش‌آموخته دکتری، [۲]استاد، [۳]دانشیار، [۴]استادیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم زراعی و دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
تاریخ دریافت: ۹۳/۰۱/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۴/۰۹

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی اثر تزریق هورمون‌های استرادیول/ اکسی‌توسین، سنسی‌بلکس و شیاف واژنی دینوپروستون (آنالوگ پروستاگلندین ای-۲) بر بازشدن سرویکس، مدت زمان بازماندن سرویکس و بازده تولیدمثلی گوسفند نژاد زندی بوده است. در آزمایش اول سه گروه ۲۰ راسی از میش‌های زندی انتخاب شدند. گروه اول ابتدا ۱۰۰ میکروگرم استرادیول و ۱۲ ساعت بعد ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین، گروه دوم دو میلی‌لیتر سنسی‌بلکس و گروه سوم ۲۰۰ میکروگرم شیاف دینوپروستون دریافت کردند. پس از اعمال تیمارها، باز ماندن سرویکس در چهار زمان مورد معاینه قرار گرفت. در آزمایش دوم ۸۰ راس میش به چهار گروه مساوی تقسیم شدند. گروه اول به‌عنوان گروه شاهد تیمار بازکننده سرویکس دریافت نکرد و ٥٤ ساعت پس از خارج کردن سیدر تلقیح شد. سه گروه بعدی به‌ترتیب همان سه تیمار هورمونی آزمایش اول را دریافت کردند و با توجه به بهترین زمان باز بودن سرویکس در آزمایش اول، به‌ترتیب در زمان‌های ۲۰ و ٤٠ دقیقه و پنج ساعت پس از اعمال تیمار هورمونی، هم‌زمان با گروه شاهد تلقیح شدند. در آزمایش اول، هر سه تیمار هورمونی موجب بازشدن سرویکس شدند. در آزمایش دوم، درصد آبستنی و بره‌زایی در گروه استرادیول/اکسی‌توسین در مقایسه با گروه‌های دینوپروستون و سنسی‌بلکس به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (٦٥ و ۷۰ در مقابل ۳۰، ۲۰ و

*نویسنده مسئول: azareh@ut.ac.ir

۱۰، ۱۰ درصد، P<۰/۰۵). در نتیجه، تزریق ۱۰۰ میکروگرم استرادیول و ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین باعث بازشدن سرویکس، بهبود بازده تولیدمثلی در میش‌های زندی می‌شود و می‌توان از آن به‌عنوان روشی برای بهبود بازده تولیدمثل حاصل از تلقیح مصنوعی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: تلقیح مصنوعی گوسفند، استرادیول/ اکسی‌توسین، سنسی‌بلکس، دینوپروستون، بازشدن سرویکس

مقدمه

تلقیح مصنوعی در گوسفند به‌طور معمول با اسپرم تازه و از طریق سرویکس انجام می‌شود. درصد باروری در این روش حدود ٤٠ تا ٦٠ درصد است (آنل و همکاران، ۲۰۰۵؛ فیر و همکاران، ۲۰۰۵). متاسفانه درصد آبستنی حاصل از تلقیح مصنوعی با اسپرم منجمد در تلقیح سرویکال پایین است (سالامون و ماکسول، ۱۹۹۵). باروری پایین اسپرم منجمد به‌دلیل مشکل اسپرم در عبور از سرویکس پیچیده میش و همچنین مشکل بودن نفوذ تفنگ تلقیح به مجرای سرویکس و در نتیجه عدم امکان تلقیح عمیق سرویکال است (لایت فوت و سالامون، ۱۹۷۰). فقدان روش پربازده تلقیح مصنوعی در گوسفند سبب محدود شدن استفاده از این تکنیک شده است. برای بهبود درصد آبستنی حاصل از تلقیح مصنوعی راه‌کارهای متفاوتی ارایه شده است. یکی از این روش‌ها تلقیح مصنوعی به روش لاپاراسکوپی است که موجب افزایش درصد آبستنی می‌شود. ولی این روش دارای معایبی مثل هزینه بالا، زمان‌بر بودن، نیاز به تخصص و نیاز به استفاده از داروهای آرام‌بخش می‌باشد (ایوانز و ماکسول، ۱۹۸۷). لذا ارائه روشی ارزان، سریع و کارآمد برای توسعه تلقیح مصنوعی در گوسفند اهمیّت به سزایی دارد.

ساختار سرویکس میش بافتی لوله‌ای، دراز و فیبری دارد (مور، ۱۹۸٤). کانال سرویکس گوسفند دارای ۱/۰±٤/۹ حلقه می‌باشد (هالبرت و همکاران، ۱۹۹۰) که بر طبق مطالعات بافت‌شناسی، حلقه‌های داخلی سرویکس مهم‌ترین مانع در برابر ورود پیپت تلقیح مصنوعی می‌باشند (کرشاو و همکاران، ۲۰۰۵). اغلب، حلقه دوم یا سوم سرویکس نسبت به دهانه سرویکس در یک خط مستقیم قرار ندارند و سبب ممانعت از نفوذ پیپت تلقیح مصنوعی به درون سرویکس و رحم می‌شود. در هر صورت برای حل این مشکل باید از سد سرویکس عبور نمود. سه روش برای کاهش اثرات فیزیکی

برای عبور از سد سرویکس در میش پیشنهاد شده است. اولین روش راهکار فیزیکی است که شامل ورود به سرویکس با نیروی فشاری می‌باشد (هالبرت و همکاران، ۱۹۹۰). روش دوم راهکار مکانیکی است (بوکرل و همکاران، ۱۹۹٤؛ هالبرت و همکاران، ۱۹۹۰؛ ولستر و همکاران، ۱۹۹۹ و ۲۰۰۲) که شامل تحریک سرویکس و استفاده از پیپت‌های مختلف برای تلقیح می‌باشد که اگر این پیپت‌ها سفت و غیر منعطف باشند، سبب ایجاد جراحت در سرویکس و رحم می‌شوند. ایجاد جراحت در سرویکس می‌تواند سبب تولید مواد ضد اسپرم و ضد رویان شود و در نتیجه باروری کاهش می‌یابد (هاک، ۱۹۸۳؛ سایر و لویس، ۱۹۹۷)، ولی تحریکی که منجربه ایجاد زخم نشود مضر نیست (استیلفلاگ و همکاران، ۲۰۰۱). لذا در روش مکانیکی، پیپت‌های تلقیح ترانس‌سرویکال انعطاف‌پذیر برای عبور از حلقه‌های سرویکس طراحی شدند (هالبرت و همکاران، ۱۹۹۰؛ ولستر و همکاران، ۲۰۰۲)، ولی استفاده از این نوع پیپت در تلقیح مصنوعی فاقد اثر مثبت بر درصد باروری و بره‌زایی بود (ولستر و همکاران، ۲۰۰٤). از طرفی شکل و نوع پیپت نیز بر عبور ترانس‌سرویکال آن مؤثر است. تفنگ تلقیح گوئلف در برخی از مطالعات قابلیت عبور از سرویکس را دارا بود (بوکرل و همکاران، ۱۹۹٤)، اما برخی محققین در استفاده از تفنگ تلقیح گوئلف برای عبور از سرویکس ناموفق بودند (مک کلوی، ۱۹۹۹) که سبب عدم استقبال از این پیپت‌ها در مصارف صنعتی شد. سومین روش عبارت از روش شیمیایی است که در آن برای باز کردن سرویکس از موادی مثل استرادیول، پروستاگلندین ای و اکسی‌توسین استفاده می‌شود (خلیفه و همکاران، ۱۹۹۲؛ مایلن و همکاران، ۱۹۹۲، ولستر و همکاران، ۱۹۹۹). با استفاده از برخی از مواد شیمیایی می‌توان از سد سرویکس عبور کرد ولی اثر آن‌ها بر درصد آبستنی حاصل از تلقیح مصنوعی متفاوت گزارش شده است.

هدف از این تحقیق بررسی اثر تزریق استرادیول/ اکسی‌توسین، سنسی‌بلکس و شیاف دینوپروستون بر بازشدن سرویکس، مدت زمان بازماندن سرویکس و شاخص‌های تولیدمثلی میش‌های نژاد زندی در انتهای فصل تولیدمثلی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

زمان آزمایش، حیوانات آزمایشی و تیمارهای هورمونی: این تحقیق در فروردین ۱۳۹۲ در ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند زندی انجام شد. برای انجام این مطالعه ۸۰ راس میش سه تا چهار ساله از نژاد زندی با میانگین وزنی ۲/۵±۵۵ کیلوگرم به‌طور تصادفی از یک گله ۹۰۰ راسی انتخاب شدند. در آزمایش اول ٦۰ راس میش به‌مدت ۱۲ روز سیدرگذاری شدند و روز هفتم پس از سیدربرداری میش‌ها به سه گروه ۲۰ راسی تقسیم و تیمارهای مربوطه را دریافت نمودند. در گروه اول به هر میش ۱۰۰ میکروگرم استرادیول (داروسازی ابوریحان، ۲ میلی‌گرم استرادیول منوبنزوات در هر میلی‌لیتر) که در پنج میلی‌لیتر سرم نمکی ۰/۹ درصد و اتانول با نسبت ۱:۱ حل شده بود، تزریق گردید و دوازده ساعت بعد به هر میش ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین (داروسازی ابوریحان، ۱۰ واحد اکسی‌توسین در هر میلی‌لیتر) به عضله ران تزریق شد و بازشدن سرویکس در زمان‌های ۰، ۲۰، ٤۰ و ٦۰ دقیقه پس از تزریق اندازه‌گیری شد. در گروه دوم به هر میش دو میلی‌لیتر سنسی‌بلکس (هر میلی‌لیتر محتوی ٤۰ میلی‌گرم دناورین هیدرو کلراید، ۲۰ میلی‌گرم بنزیل الکل و آب تا حجم ۱ میلی‌لیتر می‌باشد) به عضله ران تزریق شد و بازشدن سرویکس در زمان‌های ۰، ۲۰، ٤۰ و ٦۰ دقیقه پس از تزریق اندازه‌گیری شد. در گروه سوم به هر میش ۲۰۰ میکروگرم دینوپروستون، آنالوگ پروستاگاندین ای-۲، به‌صورت شیاف واژنی داده شد و بازشدن سرویکس در زمان‌های ۰، ٤، ٥ و ٦ ساعت پس از اعمال تیمار اندازه‌گیری شد (دلیل تفاوت در زمان اندازه‌گیری بازشدن سرویکس در گروه دینوپروستون مدت زمان اثرگذاری این ماده می‌باشد).

در آزمایش دوم ۸۰ راس میش به‌مدت ۱۲ روز سیدرگذاری شدند و هنگام سیدربرداری ۵۰۰ واحد هورمون eCG به‌صورت تزریق عضلانی دریافت نمودند. میش‌ها به چهار گروه ۲۰ راسی تقسیم شدند. گروه اول به‌عنوان گروه شاهد انتخاب شد و تیمار هورمونی دریافت نکرد و میش‌ها ٥٤ ساعت پس از سیدربرداری به‌صورت سرویکال (ابتدای سرویکس) تلقیح شدند. بر اساس بهترین زمان‌های به‌دست آمده برای هر تیمار هورمونی در آزمایش اول، گروه دوم ۱۲ ساعت از تلقیح، ۱۰۰ میکروگرم استرادیول و ۲۰ دقیقه قبل از تلقیح ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین، گروه سوم ٤۰ دقیقه قبل از تلقیح، دو میلی‌لیتر سنسی‌بلکس و گروه چهارم پنج ساعت قبل از تلقیح، ۲۰۰ میکروگرم شیاف دینوپروستون دریافت کردند و ٥٤ ساعت پس از سیدربرداری، به‌صورت ترانس سرویکال تلقیح شدند.

اندازه‌گیری میزان اتساع سرویکس: در آزمایش اول میزان بازشدن سرویکس با استفاده از یک اسپیکولوم گوسفندی متصل به منبع نور و یک پیپت مدرج تلقیح مصنوعی، مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش پیش از اعمال تیمار میزان نفوذ پیپت اندازه‌گیری شده و اختلاف آن با میزان نفوذ پیپت در زمان‌های پس از اعمال تیمار به‌عنوان میزان نفوذ و بازشدن سرویکس در نظر گرفته شد. بر اساس میزان نفوذ پیپت تلقیح بین ۰ تا ۱۰، ۲۲ تا ۳۰، ۳۵ تا ۵۵ میلی‌متر به داخل سرویکس به‌ترتیب به‌عنوان سرویکس بسته، نیمه‌باز و باز تعریف شدند (خلیفه و همکاران، ۱۹۹۲). بر این اساس، میش‌ها پس از تزریق هورمون به سه گروه با سرویکس بسته، نیمه‌باز و باز تقسیم شدند. علاوه‌بر استفاده از پیپت مدرج در تعدادی از دام‌ها ورود پیپت از راه سرویکس به داخل رحم با سونوگرافی نیز سنجیده شد تا در باقی موارد از ورود صحیح پیپت اطمینان حاصل شود.

جمع‌آوری منی و رقیق کردن اسپرم: منی با استفاده از واژن مصنوعی از قوچ‌های نژاد زندی گرفته و سپس با استفاده از شیر کم‌چرب به نسبت یک به یک رقیق و با مکش وارد پایت اسپرم شد. میزان جنبایی و حرکت پیش‌رونده اسپرم‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری سنجیده شده و نمونه‌هایی که کمتر از ٦٠ درصد حرکت پیشرونده داشتند، حذف شدند.

تلقیح مصنوعی: روش تلقیح به‌این صورت بود که میش‌ها روی یک خرک قرار داده می‌شدند، به‌طوری‌که اندام حرکتی عقبی بالاتر از سطح بدن قرار گیرد و سپس با استفاده از یک اسپیکولوم مجهز به منبع نور واژن میش را باز کرده تا دهانه سرویکس پیدا شود و سپس با استفاده از تفنگ تلقیح مصنوعی میش‌ها به‌صورت ترانس‌سرویکال تلقیح شدند. نحوه تلقیح به‌این صورت بود که تفنگ به درون سرویکس رفته و تا جایی که تنفگ تلقیح در سرویکس به آسانی نفوذ می‌کرد وارد سرویکس شده و در همان محل اسپرم تخلیه می‌شد.

درصد آبستنی، زایش، بره‌زایی و دوقلوزایی: تشخیص آبستنی (تعداد میش آبستن نسبت به تعداد میش تلقیح شده) با آزمایش اولتراسونوگرافی به‌وسیله یک دستگاه اولتراسوند مجهزبه یک پراب سکتور ۳/۵ مگاهرتز، در روز ۵۰ پس از تلقیح انجام شد. درصد زایش (تعداد زایش نسبت به تعداد میش تلقیح شده x ۱۰۰)، بره‌زایی (تعداد بره نسبت به تعداد میش تلقیح شده x ۱۰۰) و دوقلوزایی (تعداد دوقلو نسبت به تعداد میش تلقیح شده x ۱۰۰)، با توجه به تعداد میش زایش کرده، تعداد میش تلقیح شده و تعداد بره ارزیابی شد.

آنالیز آماری: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱، سال ۲۰۰۲) استفاده شد. میزان بازشدن سرویکس با استفاده از رویه Mixed تجزیه و تحلیل شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی استفاده شد. داده‌های حاصل از درصد آبستنی با استفاده از رویه GENMOD نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

بازشدن سرویکس و نفوذ پیپت تلقیح مصنوعی: نتایج حاصل از اتساع و باز ماندن سرویکس گوسفندان نژاد زندی در جداول ۱، ۲ و ۳ گزارش شده است. بر اساس نتایج آزمایش اول، تزریق ۱۰۰ میکروگرم استرادیول به‌همراه ۱۰ میلی‌لیتر (۱۰۰ واحد) اکسی‌توسین موجب بازشدن سرویکس در میش‌ها شد و سرویکس در ۱۰۰ درصد میش‌های دریافت کننده اکسی‌توسین در زمان‌های ۲۰، ٤۰ و ٦۰ دقیقه پس از تزریق، اتساع را نشان داد (جدول ۱، P<۰/۰۵).

جدول ۱- اثر استرادیول/ اکسی‌توسین بر میانگین نفوذ پیپت به سرویکس و باز ماندن سرویکس در طول زمان در میش‌های زندی.

	زمان صفر	۲۰ دقیقه	٤۰ دقیقه	٦۰ دقیقه	خطای استاندارد
میانگین نفوذ پیپت (سانتی‌متر)	۰/۵۹ [b]	٤/۱ [a]	٤/۰ [a]	۳/۸۵ [a]	۰/۱۹
باز بودن سرویکس (درصد)	۰ (۰/۲۰)	۱۰۰ (۲۰/۲۰)	۱۰۰ (۲۰/۲۰)	۱۰۰ (۲۰/۲۰)	-
نیمه باز بودن سرویکس (درصد)	۰ (۰/۲۰)	۰ (۰/۲۰)	۰ (۰/۲۰)	۰ (۰/۲۰)	-
بسته بودن سرویکس (درصد)	۱۰۰ (۲۰/۲۰)	۰ (۰/۲۰)	۰ (۰/۲۰)	۰ (۰/۲۰)	-

عدد درون پرانتز نشان‌دهنده تعداد میش نسبت به کل میش‌ها در هر گروه می‌باشد. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار میان میانگین تیمارها در هر ردیف است (P>۰/۰۵).

در گروه سنسی‌بلکس، ۲۰ دقیقه پس از تزریق، ۵۵ و ۱۰ درصد میش‌ها به‌ترتیب دارای سرویکس باز و نیمه باز بودند. با گذشت زمان تعداد میش‌های دارای سرویکس باز افزایش یافت و در زمان‌های ٤۰ و ٦۰ دقیقه پس از تزریق، به ۷۰ درصد رسید در حالی‌که ۳۰ درصد میش‌ها دارای سرویکس بسته بودند (جدول ۲، P<۰/۰۵).

جدول ۲- اثر سنسی بلکس بر میانگین نفوذ پیپت به سرویکس و باز ماندن سرویکس در طول زمان در میش‌های زندی.

	زمان صفر	۲۰ دقیقه	٤۰ دقیقه	٦۰ دقیقه	خطای‌استاندارد
میانگین نفوذ پیپت (سانتی‌متر)	۰/۳۸ c	۲/۳۷ b	۳/٥٤ a	۳/٦٥ a	۰/۱۹
باز بودن سرویکس (درصد)	۰ (۰/۲۰)	٥٥ (۱۱/۲۰)	۷۰ (۱٤/۲۰)	۷۰ (۱٤/۲۰)	-
نیمه باز بودن سرویکس (درصد)	۰ (۰/۲۰)	۱۰ (۲/۲۰)	۰ (۰/۲۰)	۰ (۰/۲۰)	-
بسته بودن سرویکس (درصد)	۱۰۰ (۲۰/۲۰)	۳٥ (۷/۲۰)	۳۰ (٦/۲۰)	۳۰ (٦/۲۰)	-

عدد درون پرانتز نشان‌دهنده تعداد میش نسبت به کل میش‌ها در هر گروه می‌باشد. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار میان میانگین تیمارها در هر ردیف است (P>۰/۰٥).

در گروه دینوپروستون، چهار ساعت پس از قراردادن شیاف واژنی، ۳۰ و ۳٥ درصد میش‌ها به‌ترتیب دارای سرویکس باز و نیمه باز بودند. با گذشت زمان تعداد میش‌های دارای سرویکس باز افزایش یافت و در زمان‌های پنج و شش ساعت پس از تزریق، به ۸۰ درصد رسید در حالی که ۲۰ درصد میش‌ها دارای سرویکس بسته بودند (جدول ۳، P<۰/۰٥).

جدول ۳- اثر دینوپروستون بر میانگین نفوذ پیپت به سرویکس و باز ماندن سرویکس در طول زمان در میش‌های زندی.

	زمان صفر	٤ ساعت	٥ ساعت	٦ ساعت	خطای استاندارد
میانگین نفوذ پیپت (سانتی‌متر)	۰/٥۱ c	۲/۰٥ b	۳/۸ a	۳/۷٥ a	۰/۱۹
باز بودن سرویکس (درصد)	۰ (۰/۲۰)	۳۰ (٦/۲۰)	۸۰ (۱٦/۲۰)	۸۰ (۱٦/۲۰)	-
نیمه باز بودن سرویکس (درصد)	۰ (۰/۲۰)	۳٥ (۷/۲۰)	۰ (۰/۲۰)	۰ (۰/۲۰)	-
بسته بودن سرویکس (درصد)	۱۰۰ (۲۰/۲۰)	۳٥ (۷/۲۰)	۲۰ (٤/۲۰)	۲۰ (٤/۲۰)	-

عدد درون پرانتز نشان‌دهنده تعداد میش نسبت به کل میش‌ها در هر گروه می‌باشد. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار میان میانگین تیمارها در هر ردیف است (P>۰/۰٥).

بنابراین استفاده از استرادیول/اکسی‌توسین، سنسی‌بلکس و دینوپروستون دارای اثر معنی‌داری بر بازشدن و بازماندن سرویکس میش‌های زندی داشته‌اند (P<۰/۰٥). درصد میش‌های با سرویکس متسع در گروه اکسی‌توسین در زمان‌های ۲۰، ٤۰ و ٦۰ دقیقه پس از تزریق برابر بود. در گروه سنسی بلکس در زمان‌های ٤۰ و ٦۰ دقیقه پس از تزریق درصد میش‌های با سرویکس متسع برابر و بیشتر از درصد سرویکس باز در زمان ۲۰ دقیقه پس از تزریق بوده است. در گروه دینوپروستون در زمان‌های

پنج و شش ساعت پس از قرار دادن شیاف درصد میش‌های با سرویکس متسع برابر و بیشتر از درصد سرویکس باز در زمان چهار ساعت پس از شیاف‌گذاری بوده است (P<۰/۰۵).

درصد آبستنی، زایش، بره‌زایی و دوقلوزایی: نتایج حاصل از شاخص‌های تولیدمثلی تیمارهای دریافت کننده مواد باز کننده سرویکس آزمایش دوم در جدول ٤ آورده شده است. تزریق استرادیول و اکسی‌توسین منجربه بهبود درصد آبستنی، زایش و بره‌زایی (٦٥، ٦٠ و ٧٠ درصد) نسبت به گروه‌های دریافت کننده سنسی بلکس (١٠، ١٠ و ١٠ درصد) و دینوپروستون (٣٠، ٢٠ و ٢٠ درصد) شده است (P<۰/۰۵). درصد آبستنی، زایش و بره‌زایی گروه استرادیول و اکسی‌توسین از گروه شاهد بالاتر بود ولی این اختلاف معنی دار نبود (P>۰/۰۵). درصد آبستنی و زایش گروه شاهد از گروه سنسی‌بلکس (P<۰/۰۵) و دینوپروستون بالاتر بود ولی اختلاف آن در درصد آبستنی با گروه دینوپروستون معنی‌دار نبود. درصد بره‌زایی گروه شاهد از گروه سنسی بلکس و دینوپروستون بالاتر بود (P<۰/۰۵). درصد دوقلوزایی در میان هیچکدام از گروه‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵).

جدول ٤- اثر تیمارهای بازکننده سرویکس بر درصد آبستنی، زایش و بره‌زایی میش‌های زندی.

عملکرد / تیمار	شاهد	استرادیول/ اکسی‌توسین	سنسی بلکس	دینوپروستون
درصد آبستنی	٥٠^{ab} (١٠/٢٠)	٦٥^{a} (١٣/٢٠)	١٠^{c} (٢/٢٠)	٣٠^{bc} (٦/٢٠)
درصد زایش	٤٥^{ab} (٩/٢٠)	٦٠^{a} (١٢/٢٠)	١٠^{b} (٢/٢٠)	٢٠^{b} (٤/٢٠)
درصد بره‌زایی	٥٠^{a} (١٠)	٧٠^{a} (١٤)	١٠^{b} (٢)	٢٠^{b} (٤)
درصد دوقلوزایی	١١/١١ (١)	١٦/١٦ (٢)	٠ (٠)	٠ (٠)

عدد درون پرانتز نشان‌دهنده تعداد میش نسبت به کل میش‌ها در هر گروه می‌باشد. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار میان میانگین تیمارها در هر ردیف است (P>۰/۰۵).

بحث

با افزایش تعداد اسپرم در محل لقاح، درصد آبستنی افزایش می‌یابد (آنل و همکاران، ٢٠٠٦؛ اپلستون و همکاران، ١٩٩٤). آناتومی منحصر به فرد سرویکس میش به‌عنوان مانعی در مقابل عبور تفنگ تلقیح مصنوعی عمل می‌کند و این خاصیت منجر به کاهش درصد آبستنی حاصل از تلقیح مصنوعی به روش سرویکال و ترانس‌سرویکال می‌شود (ولستر و همکاران، ١٩٩٩). در مطالعه حاضر استفاده از دینوپروستون موجب بازشدن سرویکس و نفوذ تفنگ تلقیح به داخل رحم شد که با نتایج

مطالعه لیدونگدی و همکاران (۲۰۰۷) همخوانی داشته ولی درصد آبستنی، زایش و برەزایی گروه دینوپروستون (۳۰، ۲۰ و ۲۰ درصد)، از گروه استرادیول/ اکسی‌توسین (٦٥، ٦٠ و ۷۰ درصد) و شاهد (۵۰، ٤٥ و ۵۰ درصد) کمتر بود. در این آزمایش کمترین درصد آبستنی، زایش و برەزایی (۱۰، ۱۰ و ۱۰ درصد) مربوط به گروه دریافت کننده سنسی‌بلکس بود که بیانگر آن است که این هورمون برای بهبود درصد آبستنی ناشی از تلقیح مصنوعی ترانس سرویکال و درون رحمی بدون جراحی مناسب نمی‌باشد. همان‌طوری که ریلاکسین نیز موجب بازشدن سرویکس می‌شود، ولی نرخ دریافت اووسیت و درصد آبستنی در گروه دریافت کننده این هورمون نسبت به گروه شاهد پایین‌تر است (آکینبامی و همکاران، ۱۹۹۰)، زیرا شل شدن زیاد رحم و سرویکس، در رسیدن مؤثر اسپرم به محل لقاح اختلال ایجاد می‌کند.

در این مطالعه تزریق ۱۰۰ میکروگرم استرادیول و ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین، بازشدن موفقیت‌آمیز سرویکس را در پی داشت. در پژوهشی که در خصوص انتقال رویان به روش ترانس سرویکال انجام شد، مشخص شد که استرادیول و اکسی‌توسین فاقد اثر منفی بر فعالیّت لوتئال بوده و استفاده از آن‌ها سبب کاهش آسیب به سرویکس در هنگام تلقیح و انتقال رویان ترانس‌سرویکال می‌شود و سرعت عمل را در هنگام جمع‌آوری رویان می‌افزاید (ولستر- ردکلیف و همکاران، ۱۹۹۹). استرادیول بیان ژن سیکلواکسیژناز و EP4 را در سرویکس تنظیم می‌کند و ممکن است با ساخت پروستاگلندین ای-۲ و فعال‌سازی گیرنده‌های آن سبب بازشدن سرویکس شود. بیست و چهار تا ٤٨ ساعت پس از تیمار استرادیول مقدار بیان سیکلواکسیژناز افزایش می‌یابد (کرشاو و همکاران، ۲۰۱۰). اکسی‌توسین نیز سبب آغاز یکسری فرایند آنزیمی کلاژنولیتیک شده و در نهایت سبب بازشدن سرویکس می‌گردد (گرن استروم و همکاران، ۱۹۸۹). نتایج تحقیقات پیشین نشان داده است که استفاده از استرادیول و اکسی‌توسین (فلور و همکاران، ۱۹۹۹؛ خلیفه و همکاران، ۱۹۹۲؛ استیلفلاگ و همکاران، ۲۰۰۱؛ ولستر و همکاران، ۱۹۹۹) و یا اکسی‌توسین (خلیفه و همکاران، ۱۹۹۲؛ سایر و لویس، ۱۹۹٦) به‌تنهایی سبب بازشدن سرویکس در میش می‌شود. هرچند استفاده از ٤۰۰ واحد اکسی‌توسین باعث بازشدن سرویکس می‌شود، ولی تزریق این حجم هورمون قبل از تلقیح ممکن است عوارضی را در پی داشته باشد (خلیفه و همکاران، ۱۹۹۲).

گزارش شده است که اکسی‌توسین فاقد اثر منفی در انتقال اسپرم به اویداکت بوده و سبب افزایش انقباضات رحم و بازشدن سرویکس شد. اکسی‌توسین بر باروری تخمک نیز اثر منفی نداشت. حداقل

دوز لازم برای باز کردن سرویکس ۵۰ واحد می‌باشد (سایر و لویس، ۱۹۹٦ و ۱۹۹۷). استرادیول بیان گیرنده اکسی‌توسین را تحریک می‌کند و اثر اکسی‌توسین بر بازشدن سرویکس به‌واسطه افزایش موضعی بیان ژن سیکلواکسیژناز-۲ و در پی آن افزایش تولید پروستاگلندین‌ای صورت می‌گیرد (شمش و همکاران، ۱۹۹۷). پروستاگلندین ای-۲ سبب تغییر شکل ماتریکس خارج سلولی سرویکس و در نتیجه بازشدن آن می‌شود (لدگر و همکاران، ۱۹۸۳؛ استیس و همکاران، ۱۹۸۱). اثر پروستاگلندین ای از طریق گیرنده‌های EP2 و EP4 در سرویکس، سبب انبساط ماهیچه صاف و ساخت گلیکوزآمینوگلیکان می‌شود. هیالورونان، گلیکوزآمینوگلیکان غالب است (کرشاو و همکاران، ۲۰۰۹). تجمع هیالورونان و مولکول‌های آب در میان فیبرهای کلاژن سبب ازهم پاشیدگی فیبرهای کلاژن می‌شود (ال مردانی و همکاران، ۱۹۹۷) و مقاومت سرویکس کاهش می‌یابد. از طرفی هیالورونان با وزن مولکولی پایین دارای اثر بر روند رگ‌سازی می‌باشد و سبب افزایش نفوذ لوکوسیت‌ها و تحریک تغییرات بیوشیمیایی سرویکس می‌شود. نوتروفیل‌ها حاوی مقدار زیادی از کلاژناز و الاستاز هستند، آنزیم‌هایی که در سست نمودن کلاژن و باز کردن سرویکس مهم می‌باشند (پری و همکاران، ۲۰۱۰).

درصد آبستنی، زایش و برەزایی در گروه دریافت کننده ۱۰۰ میکروگرم استرادیول و ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین بالاتر از سایر گروه‌ها بود. تزریق اکسی‌توسین موجب باز شدن سرویکس می‌شود و در پی آن تخلیه اسپرم در انتهای سرویکس یا درون رحم صورت می‌گیرد و در نتیجه تخلیه عمیق‌تر اسپرم در سرویکس میش سبب افزایش درصد باروری بالاتر می‌شود (آنل و همکاران، ۲۰۰٦؛ جعفری آهنگری و همکاران، ۲۰۰۵؛ اپلستون و همکاران، ۱۹۹٤). از طرفی اکسی‌توسین می‌تواند سبب افزایش انتقال اسپرم از کانال سرویکس شود (آیاد و همکاران، ۲۰۰٤) و در نتیجه اسپرم بیشتری به محل لقاح رسیده و شانس لقاح میان اسپرم و تخمک افزایش می‌یابد (خلیفه و همکاران، ۱۹۹۲؛ استیلفلاگ و همکاران، ۲۰۰۱؛ ولستر و همکاران، ۱۹۹۹). بنابراین پیشنهاد می‌شود، برای تسهیل تلقیح مصنوعی و عبور دادن تفنگ تلقیح از کانال سرویکس از تزریق ۱۰۰ میکروگرم استرادیول و ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین استفاده شود تا تکنسین بتواند تلقیح را به گونه‌ای انجام دهد که منی به‌جای واژن در رحم تخلیه شود.

نتیجه‌گیری نهایی

یافته‌های این تحقیق نشان داد که تزریق ۱۰۰ میکروگرم استرادیول ۱۲ ساعت و ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین ۲۰ دقیقه قبل از تلقیح، موجب بازشدن سرویکس در میش‌های زندی می‌شود. این اتساع

امکان تلقیح مصنوعی درون رحمی از طریق سرویکس را در میش مهیا می‌کند. همچنین نتایج درصد آبستنی، زایش و بره‌زایی نشان داد که تزریق این هورمون‌ها دارای نقش مؤثر و مثبت در افزایش درصد آبستنی، زایش و بره‌زایی در میش‌ها می‌باشد.

تشکر و قدردانی

با تشکر فراوان از مدیر و پرسنل محترم ایستگاه پرورش و اصلاح‌نژاد گوسفند زندی جهاد کشاورزی استان تهران که امکان اجرای این طرح را مهیا نمودند. همچنین از صندوق حمایت از پژوهش‌گران و فناوران کشور جهت حمایت و تأمین هزینه این پژوهش (طرح شماره ۹۲۰۰۱۶۷۸) تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Akinbami, M.A., Meredith, S., Warren, J.E., Anthony, R.V., and Day, B.N. 1990. Cervical dilation, conception rate, and concentrations of progesterone and estradiol-17B in postpartum ewes treated with porcine relaxin. Theriogenology, 34: 927-940.

Anel, L., Alvarez, M., Martinez-Pastor, F., Garcia-Macias, V., Anel, E., and De Paz, P. 2006. Improvement strategies in ovine artificial insemination. Reprod. Domest. Anim., 41 Suppl 2: 30-42.

Anel, L., Kaabi, M., Abroug, B., Alvarez, M., Anel, E., Boixo, J.C., Fuente, L.F., and Paz, P. 2005. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. Theriogenology, 63: 1235-1247.

Ayad, V.J., Leung, S.T., Parkinson, T.J., and Wathes, D.C. 2004. Coincident increases in oxytocin receptor expression and EMG responsiveness to oxytocin in the ovine cervix at oestrus. Anim. Reprod. Sci., 80: 237-250.

Buckrell, B.C., Buschbeck, C., Gartley, C.J., Kroetsch, T., McCutcheon, W., Martin, J., Penner, W.K., and Walton, J.S. 1994. Further development of a transcervical technique for artificial insemination in sheep using previously frozen semen. Theriogenology, 42: 601-611.

El Mardani, E., Kanayama, N., Kobayashi, H., Hossain, B., Khatun, S., Liping, S., Kabayashi, T., and Terao, T. 1997. The role of hyaluronic acid as a mediator and regulator of cervical ripening. Hum. Reprod., 12: 1080-1088.

Eppleston, J., Salamon, S., Moore, N.W., and Evans, G. 1994. The depth of cervical insemination and site of intrauterine insemination and their relationship to the fertility of frozen-thawed ram semen. Anim. Reprod. Sci., 36: 211-225.

Evans, G., and Maxwell, W.M.C. 1987. Salmon`s artificial insemination of sheep and goats. Butterworths., 55-170.

Fair, S., Hanrahan, J.P., O'Meara, C.M., Duffy, P., Rizos, D., Wade, M., Donovan, A., Boland, M.P., Lonergan, P., and Evans, A.C.O. 2005. Differences between Belclare and Suffolk ewes in fertilization rate, embryo quality and accessory sperm number after cervical or laparoscopic artificial insemination. Theriogenology, 63: 1995-2005.

Flohr, S.F., Wulster-Radcliffe, M.C., and Lewis, G.S. 1999. Technical note: development of a transcervical oocyte recovery procedure for sheep. J. Anim. Sci., 77: 2583-2586.

Granström, L., Ekman, G., Ulmsten, U., and Malmstrom, A. 1989. Changes in the connective tissue of corpus and cervix uteri during ripening and labour in term pregnancy. Br. J. Obstet. Gynaecol., 96: 1198-1202.

Halbert, G.W., Dobson, H., Walton, J.S., and Buckrell, B.C. 1990. The structure of the cervical canal of the ewe. Theriogenology, 33: 977-992.

Halbert, G.W., Dobson, H., Walton, J.S., and Buckrell, B.C. 1990. A technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. Theriogenology, 33: 993-1010.

Hawk, H.W. 1983. Sperm Survival and Transport in the Female Reproductive Tract. J. Dairy Sci., 66: 2645-2660.

Jafari Ahangari, Y., Gharagozloo, F., and Javan, A. 2005. Comparsion of methods of cervical and uterine artificial insemination o Shall ewes on pregnancy rate in non-breeding season. J. Agric. Sci. Natur. Resour, 12: 52-57. (In Persian)

Kershaw-Young, C.M., Khalid, M., McGowan, M.R., Pitsillides, A.A., and Scaramuzzi, R.J. 2009. The mRNA expression of prostaglandin E receptors EP2 and EP4 and the changes in glycosaminoglycans in the sheep cervix during the estrous cycle. Theriogenology, 72: 251-261.

Kershaw-Young, C.M., Scaramuzzi, R.J., McGowan, M.R., Pitsillides, A.A., Wheeler-Jones, C.P.D., and Khalid, M. 2010. The effect of estradiol on COX-2, EP2, and EP4 mRNA expression and the extracellular matrix in the cervix of the hypogonadotrophic, ovariectomized ewe. Theriogenology, 73: 620-628.

Kershaw, C.M., Khalid, M., McGowan, M.R., Ingram, K., Leethongdee, S., Wax, G., and Scaramuzzi, R.J. 2005. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. Theriogenology, 64: 1225-1235.

Khalifa, R.M., Sayre, B.L., and Lewis, G.S. 1992. Exogenous oxytocin dilates the cervix in ewes. J. Anim. Sci., 70: 38-42.

Ledger, W.L., Elwood, D.L., and Taylor, M.J. 1983. Cervical softening in late pregnant sheep by infusion of prostaglandin E2 into cervical artery. J. Reprod. Fertil., 69: 511-515.

Leethongdee, S., Khalid, M., Bhatti, A., Ponglowhapan, S., Kershaw, C.M., and Scaramuzzi, R.J. 2007. The effects of the prostaglandin E analogue Misoprostol and follicle-stimulating hormone on cervical penetrability in ewes during the peri-ovulatory period. Theriogenology, 67: 767-777.

Lightfoot, R.J., and Salamon, S. 1970. Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method. I. Transport and viability of spermatozoa within the genital tract of the ewe. J. Reprod. Fertil., 22: 385-398.

McKelvey, B. 1999. AI and embryo transfer for genetic improvement in sheep: the current scene. In Practice, 21: 190-195.

More, J. 1984. Anatomy and histology of the cervix uteri of the ewe: new insights. Acta Anat., 120: 156-159.

Perry, K., Haresign, W., Wathes, D.C., and Khalid, M. 2010. Intracervical application of hyaluronan improves cervical relaxation in the ewe. Theriogenology, 74: 1685-1690.

Salamon, S., and Maxwell, W.M.C. 1995. Frozen storage of ram semen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. Anim. Reprod. Sci., 37: 185-249.

Sayre, B.L., and Lewis, G.S. 1996. Cervical dilation with exogenous oxytocin does not affect sperm movement into the oviducts in ewes. Theriogenology, 45: 1523-1533.

Sayre, B.L., and Lewis, G.S. 1997. Fertility and ovum fertilization rate after laparoscopic or transcervical intrauterine artificial insemination of oxytocin-treated ewes. Theriogenology, 48: 267-275.

Shemesh, M., Dombrovski, L., Gurevich, M., Friedman, S., Shore, L.S., Fuchs, A.R., and Fields, M.F. 1997. Regulation of boine cervical secration of prostaglandins and synthesis of cyclooxygenase by oxytocin. Reprod. Fertil., 9: 525-530.

Stellflug, J.N., Wulster-Radcliffe, M.C., Hensley, E.L., Cowardin, E.A., Seals, R.C., and Lewis, G.S. 2001. Oxytocin-induced cervical dilation and cervical manipulation in sheep: effects on laparoscopic artificial insemination. J. Anim. Sci., 79: 568-573.

Stys, S.J., Dresser, B.L., Otte, T.E., and Clark, L.E. 1981. Effect of prostaglandin E2 on cervical compliance in pregnant ewes. Am. J. Obstetr. Gynecol., 140: 415-419.

Wulster-Radcliffe, M.C., Costine, B.A., and Lewis, G.S. 1999. Estradiol-17 beta-oxytocin-induced cervical dilation in sheep :application to transcervical embryo transfer. J. Anim. Sci., 77: 2587-2593.

Wulster-Radcliffe, M.C., and Lewis, G.S. 2002. Development of a new transcervical artificial insemination method for sheep: effects of a new transcervical artificial insemination catheter and traversing the cervix on semen quality and fertility. Theriogenology, 58: 1361-1371.

Wulster-Radcliffe, M.C., Wang, S., and Lewis, G.S. 2004. Transcervical artificial insemination in sheep: effects of a new transcervical artificial insemination instrument and traversing the cervix on pregnancy and lambing rates. Theriogenology, 62: 990-1002.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 2(2), 2014
http://ejrr.gau.ac.ir

Effects of estradiol/oxytocin, sensiblex and dinopeostone on cervix dilation, time of cervical dilation persistency, and reproduction efficiency of Zandi breed sheep

R. Masoudi[1], *A. Zare Shahneh[2], A. Towhidi[3], H. Kohram[4]
[1]Ph.D. Graduated, [2]Professor, [3]Associate Prof., [4]Assistant Prof., Dept. of Animal Science, Faculty of Animal and Agronomy Science, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
Received: 04/15/2014; Accepted: 06/30/2014

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of estradiol (E_2)/oxytocin (OT) and sensiblex injection and dinoprostone (prostaglandin E_2 analogue) vaginal suppository on the cervix dilation, time of cervical dilation persistency and reproduction efficiency resulting from artificial insemination in Zandi ewes. In experiment 1, 60 ewes were assigned to three groups (n=20). The first group received 0.2 mg E_2 and 12 h after that, 100 IU of OT. The second group received 2 ml sensiblex and the third group received 200 µg dinoprostone. Then, cervical dilation and time of cervical dilation persistency were examined at four times. In experiment 2, 80 ewes assigned to four groups (n=20). The control group received no cervical dilator treatment. Three other groups received the same treatments as the first experiment, respectively. According to the best time of cervical dilation in experiment 1, ewes were inseminated transcervically in the times of 20 and 40 min and 5 h after treating, respectively. In experiment 1, all three of hormonal treatments led to cervical dilation ($P<0.05$). Pregnancy rate, parturition rate and lambing rate in E2/OT group was significantly ($P<0.05$) higher than dinoprostone and sensiblex groups (65, 60, 70 % vs 30, 20, 20 and 10, 10, 10 %, respectively). In conclusion, injection of E2/OT dilate the cervical canal and improved pregnancy rate, parturition rate and lambing rate in Zandi ewes, therefore this can be an useful method for improving reproduction efficiency during artificial insemination.

Keywords: Sheep artificial insemination, Estradiol/Oxytocin, Sensiblex, Dinoprostone, Cervix dilation

*Corresponding author; azareh@ut.ac.ir