

ارزیابی بهبود درصد آبستنی در میش‌های نژاد لری بختیاری با استفاده از هورمون‌های eCG و اکسی‌توسین

رضا مسعودی^۱، حمید کهرام^۲، علی هاتفی^۳، سلمان نصراللهی^۳ و عباس اکبری‌شریف^۴

تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۱

تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۳۱

خلاصه

هدف از این مطالعه ارزیابی اثر هورمون‌های eCG و اکسی‌توسین بر میزان بروز فحلی و درصد آبستنی میش‌های نژاد لری بختیاری در فصل تولیدمثلی بود. در این مطالعه از ۸۴ میش سه تا چهار ساله نژاد لری بختیاری با میانگین وزنی $56 \pm 2/5$ کیلوگرم استفاده شد. میش‌ها به مدت ۱۲ روز سیدرگذاری شدند و هنگام سیدربرداری به سه گروه مساوی ($n=28$) تقسیم شدند و به ترتیب صفر، ۴۰۰ و ۵۰۰ واحد هورمون eCG دریافت نمودند. قبل از تلقیح هر یک از گروه‌ها به دو زیرگروه ($n=14$) تقسیم شده و به یکی از زیرگروه‌ها ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین تزریق شد و زیرگروه دیگر اکسی‌توسین دریافت نکرد. میزان باز شدن سرویکس با میزان نفوذ پیپت تلقیح مصنوعی در سرویکس قبل و بعد از تزریق اکسی‌توسین اندازه‌گیری شد. میش‌ها ۵۴ ساعت پس از سیدربرداری تلقیح شدند و درصد آبستنی ۵۰ روز پس از تلقیح با استفاده از سونوگرافی ارزیابی شد. نتایج این مطالعه نشان داد استفاده از هورمون eCG سبب بهبود نرخ فحلی نسبت به گروه شاهد ($78/56$ در مقابل $42/85$ درصد، $P < 0/05$) شده است. ولی اثر هورمون اکسی‌توسین بر بروز فحلی معنی‌دار نبود (50 در مقابل $42/85$ درصد، $P > 0/05$). اکسی‌توسین سبب باز شدن سرویکس در میش‌های دریافت‌کننده اکسی‌توسین شد ($88/09$ در مقابل $11/9$ درصد، $P < 0/05$). تزریق هورمون eCG سبب افزایش درصد آبستنی میش‌ها شد ($57/14$ در مقابل $14/28$ درصد، $P < 0/05$) و همچنین درصد آبستنی در میش‌های دریافت‌کننده اکسی‌توسین نسبت به گروه شاهد بالاتر بود ($42/85$ در مقابل $14/28$ درصد، $P < 0/05$). میزان دوز هورمون eCG تاثیری در افزایش درصد آبستنی نداشت ($57/14$ در مقابل $57/14$ درصد بدون استفاده از اکسی‌توسین و $71/42$ در مقابل $78/57$ درصد با استفاده از اکسی‌توسین، $P > 0/05$). تمایل به افزایش میزان آبستنی در میش‌هایی که هورمون eCG و اکسی‌توسین را دریافت کرده بودند مشاهده شد ($74/99$ در مقابل $57/14$ درصد، $P < 0/01$). استفاده از هورمون eCG به همراه اکسی‌توسین سبب بهبود درصد آبستنی در میش‌های نژاد لری بختیاری در فصل تولیدمثلی می‌شود.

کلمات کلیدی: اکسی‌توسین، eCG، درصد آبستنی، سرویکس، میش لری بختیاری

مقدمه

قابلیت توسعه دارد که البته کمبود مراتع از محدودیت‌های افزایش تعداد گوسفند است و در نتیجه لازم است سیستم‌های بسته پرورش گوسفند راه‌اندازی و توسعه یابد. سودآوری پرورش گوسفند در سیستم‌های بسته به میزان بره‌زایی ارتباط مستقیم دارد. متأسفانه نژادهای بومی ایران

امروزه با افزایش جمعیت، نیاز جامعه بشری به مواد پروتئینی افزایش یافته است. در ایران نیز افزایش تولید گوشت قرمز از اهداف برنامه‌های در دست اجرای دولت است. با وجود ۵۳ میلیون رأس گوسفند (۱۰)، تنوع ژنتیکی بالقوه و تاریخ کهن، صنعت پرورش گوسفند

^۱ کارشناس ارشد فیزیولوژی تولید مثل دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تهران

^۲ استادیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

(نویسنده مسئول)

E-mail: Hamid_kohram@yahoo.com

^۳ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

^۴ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم دامی، ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند زندی‌پشوا، ورامین

لاپاراسکوپی است. امروزه روش تلقیح مصنوعی و انتقال جنین در گوسفند با استفاده از روش لاپاراسکوپی معمول بوده و دارای درصد بالای آبستنی و دریافت رویان می‌باشد. ولی این روش دارای معایبی مثل هزینه بالا، زمان‌بر بودن، نیاز به تخصص و نیاز به استفاده از داروهای آرام‌بخش می‌باشد (۷).

ساختار سرویکس میش مانعی برای تلقیح مصنوعی درون رحمی و جمع‌آوری رویان بدون جراحی است. ساختار آناتومیک سرویکس در گوسفند دارای خاصیتی منحصر به فرد است که معمولاً از تلقیح مصنوعی و انتقال رویان از طریق سرویکس جلوگیری می‌کند. سرویکس میش نسبتاً دراز می‌باشد و از لوله‌ای فیبری از بافت پیوندی تشکیل شده است. میانگین طول کانال سرویکس ۶/۵ تا ۶/۷ سانتی‌متر می‌باشد (۱۳ و ۲۳). بخش داخلی سرویکس دارای ۴ تا ۷ چین حلقوی است که به عنوان سدی در برابر ورود عوامل خارجی عمل می‌کند (۱۸). معمولاً حلقه دوم و سوم برخلاف مسیر حلقه اول است. مجرا در سه حلقه اول سطوح باریکی دارد و پیهت تلقیح مصنوعی به ندرت بیش از یک سانتی‌متر در زمان فحلی به داخل آن نفوذ می‌کند (۱۳). بر طبق مطالعات بافت‌شناسی سرویکس، حلقه‌های داخلی سرویکس مهمترین مانع در برابر ورود پیهت تلقیح مصنوعی می‌باشند (۱۸). اکسی‌توسین هورمونی ارزان است که می‌توان از آن برای باز نمودن سرویکس و عبور ترانس‌سرویکال پیهت تلقیح مصنوعی استفاده نمود. با باز شدن سرویکس به راحتی، با سرعت بالا و بدون نیاز به جراحی می‌توان تلقیح درون رحمی (۳۷) و جمع‌آوری رویان (۳۵ و ۳۶) را در گوسفند انجام داد و سبب بهبود بازده تولیدمثلی حاصل از تلقیح مصنوعی شد. سرویکس گوسفند ۱۰ تا ۱۵ دقیقه پس از تزریق هورمون اکسی‌توسین باز می‌شود که به این وسیله به آسانی می‌توان تلقیح درون رحمی را انجام داد.

در مطالعات گذشته برای باز شدن سرویکس معمولاً از یک تزریق درون‌رگی استرادیول و ۱۲ ساعت بعد با

نسبت به سایر نژادهای دیگر دارای نرخ تولیدمثلی پایینی می‌باشند که در سیستم‌های بسته جوابگوی افزایش بهره‌زایی مناسب نیستند و سبب کاهش تمایل پرورش‌دهندگان گوسفند به گسترش نژادهای بومی شده است. توان تولیدی گوشت گوسفند با به کارگیری برخی روش‌های تولیدمثلی و با افزایش بهره‌زایی می‌تواند بهبود یابد. استفاده از هورمون‌های eCG و اکسی‌توسین می‌تواند نقش مهمی در بهبود بازده تولیدمثلی در گوسفند و در نتیجه افزایش تولید گوشت قرمز داشته باشد. در واقع با افزایش بهره‌زایی و توسعه پرواربندی‌ها می‌توان تولید گوشت قرمز را افزایش و از فشار به مراتب نیز کاست. هورمون eCG از دهه ۶۰ میلادی به عنوان روشی کارا در القای فحلی در هر دو فصل تولیدمثلی و غیرتولیدمثلی به کار می‌رود (۱۴ و ۲۵). تزریق این هورمون سبب تحریک رشد فولیکول‌ها، بهبود نرخ آبستنی و افزایش بهره‌زایی می‌شود (۲۲).

تلقیح مصنوعی در گوسفند به طور معمول با اسپرم تازه و از طریق سرویکس انجام می‌شود. درصد باروری در این روش حدود ۴۰ تا ۶۰ درصد است (۳ و ۸). تلقیح مصنوعی با اسپرم تازه با محدودیت‌هایی از قبیل کمبود قوچ با ویژگی‌های خاص در گله، گرفتن همزمان اسپرم و تلقیح در گله، عدم امکان استفاده مفید از قوچ‌های برتر در سطح وسیع‌تر و محدودیت در حمل و نقل اسپرم مواجه است. تلقیح مصنوعی با اسپرم منجمد عاملی برای به حداکثر رساندن استفاده از قوچ‌های برتر و کنترل بیماری‌های مسری میان گله‌ها می‌باشد، ولی متأسفانه درصد آبستنی حاصل از تلقیح مصنوعی با اسپرم منجمد با روش تلقیح سرویکال بسیار پایین است (۲۷). باروری پایین اسپرم منجمد به دلیل مشکل اسپرم در عبور از سرویکس ناهموار میش است (۲۱). 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 ارائه شده است. یکی از این روش‌ها تلقیح مصنوعی به روش

استفاده از استرادیول باعث باز شدن حداکثری سرویکس شود.

اندازه‌گیری میزان اتساع سرویکس

میزان باز شدن سرویکس می‌شود در گروه‌های دریافت کننده اکسی‌توسین، قبل از تزریق و ۱۰ تا ۱۵ دقیقه پس از تزریق اکسی‌توسین با استفاده از یک اسپیکولوم گوسفندی متصل به منبع نور و یک پیپت مدرج تلقیح مصنوعی مورد ارزیابی قرار گرفت. اختلاف نفوذ میان قبل و بعد از تلقیح در هر میش به عنوان مقدار نفوذ پیپت تلقیح مصنوعی و باز شدن سرویکس محاسبه می‌شد. بر اساس میزان نفوذ پیپت تلقیح بین صفر تا ۲۰ و ۳۵ تا ۵۵ میلی‌متر به داخل سرویکس به ترتیب به عنوان سرویکس بسته و باز تعریف شد (۱۹). بر این اساس، میش‌ها بعد از تزریق به دو گروه با سرویکس بسته و باز تقسیم شدند.

جمع‌آوری منی و رقیق کردن اسپرم

منی با استفاده از واژن مصنوعی از قوچ‌های نژاد لری بختیاری گرفته می‌شد و سپس با استفاده از شیر کم‌چرب به نسبت ۱ به ۱ رقیق شده و با مکش وارد پایت اسپرم می‌شد. میزان جنبایی و حرکت پیش‌رونده اسپرم‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری سنجیده شده و نمونه‌هایی که کمتر از ۶۰ درصد حرکت پیش‌رونده داشتند حذف می‌شد.

اندازه‌گیری میزان بروز فحلی

بروز فحلی با توجه به میزان تراوشات واژنی در هنگام تلقیح مصنوعی سنجیده شد. در این مطالعه میش‌هایی که در زمان تلقیح مصنوعی دارای تراوشات واژنی زیادی بودند به عنوان میش فحل در نظر گرفته می‌شدند. برای افزایش دقت تشخیص درصد فحلی از طریق ترشحات واژنی از کارشناسی خبره استفاده شد (بر اساس تجربه شخصی).

تزریق درون‌رگی با دوزهای بالای ۲۰۰ واحد اکسی‌توسین استفاده شده است (۱۹ و ۲۸). در مطالعه حاضر و بر اساس یک پیش‌آزمایش دوز ۱۰۰ واحدی اکسی‌توسین به صورت درون‌عضلانی و بدون استفاده از استرادیول اعمال شد. تزریق درون‌عضلانی و دوز کمتر می‌تواند این روش را برای باز شدن سرویکس در زمان تلقیح مصنوعی عملی‌تر نماید. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثر هورمون‌های eCG و اکسی‌توسین بر میزان بروز فحلی و بهبود درصد آبستنی پس از تلقیح مصنوعی در میش‌های نژاد لری بختیاری در فصل تولیدمثلی است. در این مطالعه از تزریق ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین به روش عضلانی استفاده شده است.

مواد و روش کار

برنامه همزمانی گوسفندان و درمان هورمونی

این تحقیق در شهریور ۱۳۸۹ در مزرعه پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام شد. در این مطالعه ۸۴ رأس میش سه تا چهار ساله از نژاد لری بختیاری با میانگین وزنی $56 \pm 2/5$ کیلوگرم استفاده شد. میش‌ها برای ۱۲ روز سیدر^۱گذاری شده و هنگام سیدربرداری به سه گروه مساوی (n=۲۸) تقسیم شدند. گروه اول به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و به گروه‌های دوم و سوم به ترتیب ۴۰۰ و ۵۰۰ واحد هورمون eCG^۲ به عضله ران تزریق شد. قبل از تلقیح هر یک از گروه‌ها به دو زیرگروه مساوی (n=۱۴) تقسیم شده و به یکی از زیرگروه‌ها ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین^۳ به صورت درون‌عضلانی تزریق شد و به زیرگروه بعدی اکسی‌توسین تزریق نگردید. اکسی‌توسین باعث باز شدن سرویکس و تسهیل عبور پیپت تلقیح مصنوعی می‌شود و دلیل استفاده از تزریق ۱۰۰ واحد درون‌عضلانی، انجام یک پیش‌آزمایش بوده است که نشان داد این دوز می‌تواند بدون

1- EAZI-BREED™, CIDR®, Progesterone

2- Sanofi Animal Health, Libourne Cedex, France

۳- داروسازی ابوریحان، ۱۰ واحد اکسی‌توسین در هر میلی‌لیتر

تلقیح مصنوعی

تلقیح مصنوعی ۵۴ ساعت پس از خروج سیدر، در میش‌هایی که اکسی‌توسین دریافت نکردند و ۱۰ تا ۱۵ دقیقه پس از تزریق هورمون اکسی‌توسین در گروه‌های دریافت کننده اکسی‌توسین، به صورت ترانس‌سرویکال انجام شد. روش تلقیح به این صورت بود که میش‌ها روی یک خرک قرار داده می‌شدند به طوری که 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 گان تلقیح تا جایی که در سرویکس به آسانی نفوذ می‌کرد وارد سرویکس شده و در همان محل اسپرم تخلیه می‌شد.

تشخیص آبستنی

تشخیص آبستنی با آزمایش اولتراسونوگرافی به وسیله یک دستگاه اولتراسوند^۱ مجهز به یک پراب سکتور ۷/۵ مگاهرتز، در روز ۵۰ پس از تلقیح انجام شد. در آزمایش سونوگرافی، ترانس‌دیوسر سونوگرافی با اتصال به پوست کنار پستان در حالت ایستاده گوسفند آبستنی میش را نشان می‌داد.

آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS 9.1 استفاده شد. میزان باز شدن سرویکس با استفاده از رویه GLM تجزیه و تحلیل شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. داده‌های حاصل از بروز فحلی و درصد آبستنی با استفاده از رویه Genmod نرم‌افزار

SAS در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شدند و $P < 0/05$ به عنوان تفاوت معنی‌دار تلقی شد.

نتایج

نتایج حاصل از این مطالعه به طور کامل در جدول ۱ نشان داده شده است. استفاده از هورمون eCG سبب بهبود نرخ فحلی نسبت به گروه شاهد شد (۷۸/۵۶ در مقابل ۴۲/۸۵ درصد، $P < 0/05$)، ولی اثر هورمون اکسی‌توسین بر بروز فحلی معنی‌دار نبود (۵۰ در مقابل ۴۲/۸۵ درصد، $P > 0/05$). تزریق هورمون eCG همچنین سبب افزایش درصد آبستنی میش‌ها شد (۵۷/۱۴ در مقابل ۱۴/۲۸ درصد، $P < 0/05$). ولی میزان دوز تزریقی تأثیری در میزان بروز فحلی (۸۵/۷۱ در مقابل ۷۱/۴۲ درصد) و درصد آبستنی (۵۷/۱۴ در مقابل ۵۷/۱۴ درصد) نداشت (۰/۰۵ $P >$). میزان نفوذ پپیت در میش‌های دریافت کننده اکسی‌توسین نسبت به میش‌هایی که اکسی‌توسین را دریافت نکرده بودند، بیشتر بود و اکسی‌توسین سبب باز شدن سرویکس در میش‌های دریافت کننده اکسی‌توسین شد (۸۸/۰۹ در مقابل ۱۱/۹۰ درصد، $P < 0/05$). درصد آبستنی در میش‌های دریافت کننده اکسی‌توسین نسبت به گروه شاهد بالاتر بود (۴۲/۸۵ در مقابل ۱۴/۲۸ درصد، $P < 0/05$). میزان دوز هورمون eCG تأثیری در افزایش درصد آبستنی نداشت (۵۷/۱۴ در مقابل ۵۷/۱۴ درصد بدون استفاده از اکسی‌توسین و ۷۱/۴۲ در مقابل ۷۸/۵۷ درصد با استفاده از اکسی‌توسین، $P > 0/05$). تمایل به افزایش درصد آبستنی در میش‌هایی که هورمون eCG و اکسی‌توسین را دریافت کرده بودند مشاهده شد (۷۴/۹۹ در مقابل ۵۷/۱۴ درصد، $P < 0/05$).

جدول ۱: میانگین بروز فحلی، میزان نفوذ پیت، اثر اکسی توسین (OT) بر باز شدن سرویکس و درصد آبستنی در میش‌های گروه شاهد و دریافت کننده eCG با دوزهای متفاوت

بدون اکسی توسین			با اکسی توسین			دوز eCG
۵۰۰IU	۴۰۰IU	شاهد (صفر)	۵۰۰IU	۴۰۰IU	شاهد (صفر)	
۱۴	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴	تعداد میش
۸۵/۷۱ ^a (۱۲)	۷۱/۴۲ ^a (۱۰)	۴۲/۸۵ ^b (۶)	۸۵/۷۱ ^a (۱۲)	۷۸/۵۷ ^a (۱۱)	۵۰ ^b (۷)	٪ بروز فحلی (تعداد)
۰/۸۷ ^a	۰/۶۵ ^a	۰/۹۵ ^a	۱/۱ ^a	۰/۸۲ ^a	۰/۷۵ ^a	* میزان نفوذ به سرویکس قبل از تزریق OT (cm)
۱/۰ ^b	۰/۹۵ ^b	۱/۱۲ ^b	۴/۸۸ ^a	۵/۱۱ ^a	۴/۴۵ ^a	# میزان نفوذ به سرویکس بعد از تزریق OT (cm)
۸۵/۷۱ ^b (۱۲)	۸۵/۷۱ ^b (۱۲)	۹۲/۸۵ ^b (۱۳)	۱۴/۲۸ ^a (۲)	۷/۱۴ ^a (۱)	۱۴/۲۸ ^a (۲)	٪ سرویکس بسته (تعداد)
۱۴/۲۸ ^b (۲)	۱۴/۲۸ ^b (۲)	۷/۱۴ ^b (۱)	۸۵/۷۱ ^a (۱۲)	۹۲/۸۵ ^a (۱۳)	۸۵/۷۱ ^a (۱۲)	٪ سرویکس باز (تعداد)
۵۷/۱۴ ^{ab} (۸)	۵۷/۱۴ ^{ab} (۸)	۱۴/۲۸ ^c (۲)	۷۸/۵۷ ^a (۱۱)	۷۱/۴۲ ^a (۱۰)	۴۲/۸۵ ^b (۶)	٪ آبستنی (تعداد)

* میزان SEM در این ردیف ۰/۳۷ بود. # میزان SEM در این ردیف ۰/۵۱ بود.

a و b نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میان تیمارها در هر ردیف جدول است (P<۰/۰۵).

بحث

eCG نسبت به گروه شاهد بالاتر بوده و همچنین در گروه شاهد نیز زیرگروهی که اکسی توسین دریافت نموده بود، دارای درصد آبستنی بیشتری بود. Zaleke و همکاران (۲۰۰۵) گزارش نمودند که استفاده از eCG سبب بهبود نرخ آبستنی نسبت به گروه شاهد در دوره انتقال فصلی می‌شود (۳۹). Zarkawi (۲۰۰۱) نشان دادند که استفاده از ۶۰۰ واحد eCG به همراه ۶۰ میلی‌گرم MPA^۱ سبب بهبود نرخ بره‌زایی در فصل غیرتولیدمثلی می‌شود (۳۸). علاوه بر این پژوهشگران، Gokcen و همکاران (۱۹۹۲) نیز نشان دادند که استفاده از ۵۰۰ واحد eCG در میش‌های مریوس علاوه بر افزایش علائم فحلی سبب افزایش نرخ آبستنی می‌شود (۱۱). با این حال

هدف عمده پرورش گوسفند در ایران تولید گوشت است. در حال حاضر استفاده از گنادوتروپین‌ها به عنوان یک روش مؤثر در بهبود بازده تولیدمثلی گوسفند به شمار می‌آید. در این میان استفاده از گنادوتروپین جفتی eCG توانسته بازده تولیدمثلی را بهبود بخشد به طوری که سبب تحریک در رشد فولیکول‌ها، افزایش تخم‌ریزی، بهبود نرخ آبستنی و بره‌زایی می‌شود. در این پژوهش، استفاده از این هورمون سبب افزایش نرخ آبستنی در نژاد لری بختیاری شد و نتایج حاصل از آن با نتایج پژوهش‌های دیگر محققین مطابقت داشت (۹ و ۳۳). همچنین، اثر توام eCG و اکسی توسین دارای اثر مثبت بر بهبود درصد آبستنی بود. درصد آبستنی در گروه‌های دریافت کننده

سیکلواکسیژناز-۲ و در پی آن افزایش تولید پروستاگلندین E صورت می‌گیرد (۳۰). پروستاگلندین E سبب Remodeling ماتریکس خارج سلولی سرویکس و در نتیجه باز شدن آن می‌شود (۲۰ و ۳۲). اثر پروستاگلندین E از طریق گیرنده‌های EP2 و EP4 در سرویکس سبب انبساط ماهیچه صاف و ساخت گلیکوزآمینوگلیکان می‌شود که هیالورونان گلیکوزآمینوگلیکان غالب است (۱۷ و ۲۶). تجمع هیالورونان و مولکول‌های آب در میان فیبرهای کلاژن سبب از هم پاشیدگی فیبرهای کلاژن می‌شود (۵) و مقاومت سرویکس کاهش می‌یابد.

در این مطالعه از تزریق درون‌عضلانی اکسی‌توسین استفاده شد زیرا تزریق درون‌عضلانی نسبت به تزریق درون‌وریدی آسان‌تر بوده، زمان کمتری برده و عملیاتی‌تر است. همچنین تزریق درون‌عضلانی اکسی‌توسین باعث باز ماندن طولانی‌تر سرویکس می‌شود و در نتیجه مدت زمان بیشتری به کارشناس تلقیح می‌دهد تا گوسفندان را بعد از تزریق هورمون، تلقیح مصنوعی نماید. باز ماندن بیشتر سرویکس در روش تزریق عضلانی، احتمالاً به دلیل این است که با تزریق عضلانی، اکسی‌توسین بیشتر در بافت باقی می‌ماند و مدت بیشتری طول می‌کشد تا هورمون از ماهیچه آزاد و به خون رفته و در چرخه متابولیسم قرار گیرد. در نتیجه اثرات آن برای مدت بیشتری باقی می‌ماند و سرویکس برای مدت طولانی‌تری باز خواهد ماند. اما در صورت استفاده از تزریق درون‌وریدی هورمون به سرعت به بافت می‌رسد و متابولیسم شده از بافت خارج می‌شود و در نتیجه نسبت به روش درون‌عضلانی طول عمر کوتاه‌تری دارد (۱۵). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین درون ماهیچه‌ای باعث باز شدن سرویکس در ۱۰ تا ۱۵ دقیقه بعد از تزریق شده و این باز شدن سرویکس سبب تلقیح درون‌رحمی اسپرم (به جای تلقیح واژنی) و افزایش درصد آبستنی بعد از تلقیح مصنوعی در میش‌ها شد. درصد آبستنی در گروه‌های دریافت‌کننده

پژوهشگران دیگر مانند Zonturlu و همکاران (۲۰۱۱) و Aköz و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نمودند که استفاده از این هورمون هیچ‌گونه تغییری در نرخ آبستنی میش‌های تحت تیمار نسبت به شاهد در فصل تولیدمثلی نداشته است (۱ و ۴۰). eCG از طریق اثر FSH مانند خود می‌تواند اثرات خود را در فرایند تولیدمثلی اعمال نماید که بر طبق مطالعات صورت گرفته اثر این هورمون در هر دو فصل تولیدمثلی و غیرتولیدمثلی بر درصد آبستنی مثبت است. به خصوص در فصل غیرتولیدمثلی، eCG سبب فعالیت بیشتر تخمدان‌ها و در نهایت افزایش درصد آبستنی می‌شود. البته در مجموع نشان داده شده است که درصد آبستنی در فصل غیرتولیدمثلی نسبت به فصل تولیدمثلی کمتر است (۱۶، ۲۴، ۳۳ و ۳۴).

همچنین، در این مطالعه استفاده از eCG سبب بهبود درصد بروز فحلی در میش‌ها شد که با نتایج حاصل از مطالعات برخی از محققین مطابقت داشت. این هورمون سبب بهبود رشد فولیکول‌ها و در نتیجه آن افزایش ترشح استرادیول می‌شود. استرادیول عامل اصلی بروز فحلی می‌باشد و با افزایش استرادیول میزان فحلی نیز افزایش می‌یابد (۱۱). اما اکسی‌توسین تأثیری بر میزان بروز فحلی نداشت زیرا اکسی‌توسین بر ترشح استرادیول اثری ندارد. اکسی‌توسین سبب ترشح شیر، باز شدن سرویکس و انقباضات رحم می‌شود (۲۸) که هیچ‌کدام از این عوامل تأثیری بر بروز فحلی ندارند.

طبق نتایج در جدول ۱، استفاده از eCG به همراه اکسی‌توسین باعث افزایش درصد آبستنی نسبت به گروه شاهد شد. تخلیه عمیق‌تر اسپرم در سرویکس میش سبب افزایش درصد باروری می‌شود (۲ و ۶). اکسی‌توسین باعث آغاز یک‌سری فرایند آنزیمی کلاژنولیتیک می‌شود که در نهایت سبب باز شدن سرویکس می‌گردد (۱۲). حداقل دوز لازم برای باز کردن سرویکس ۵۰ واحد می‌باشد (۲۸ و ۲۹). استرادیول بیان‌گیرنده اکسی‌توسین را تحریک می‌کند و اثر اکسی‌توسین بر باز شدن سرویکس به واسطه افزایش موضعی بیان mRNA ژن

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در میش‌های نژاد لری بختیاری همزمانی فحلی شده با سیدر در فصل تولیدمثلی، استفاده از هورمون eCG سبب بهبود درصد بروز فحلی و درصد آبستنی می‌شود و همچنین استفاده از هورمون اکسی‌توسین به همراه eCG سبب بهبود درصد آبستنی می‌شود.

اکسی‌توسین نسبت به گروه‌های فاقد اکسی‌توسین تمایل به افزایش داشت. از طرفی اکسی‌توسین احتمالاً می‌تواند سبب افزایش انتقال اسپرم از کانال اویداکت شود (۴)، در نتیجه اسپرم بیشتری به محل لقاح رسیده و شانس لقاح میان اسپرم و تخمک افزایش می‌یابد (۱۹، ۳۱ و ۳۶).

تشکر و قدردانی

از قطب علمی بهبود کیفیت و کمیت لاشه گوسفندان بومی که تمامی امکان مورد نیاز اجرای این پژوهش را مهیا نمودند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

- 1- Aköz M., Bülbül B., Ataman M.B. and Dere S. (2006). Induction of multiple births in Akkaraman cross-bred sheep synchronized with short duration and different doses progesterone treatment combined with PMSG outside the breeding season. *Bull Veterinary Institute Pulawy*, 50: 97-100.
- 2- Anel L., Alvarez M., Martinez-Pastor F., Garcia-Macias V., Anel E. and De Paz P. (2006). Improvement strategies in ovine artificial insemination. *Reproduction Domestic Animals*, 41 Suppl 2: 30-42.
- 3- Anel L., Kaabi M., Abroug B., Alvarez M., Anel E., Boixo J.C., et al. (2005). Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. *Theriogenology*, 63: 1235-47.
- 4- 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. *Animal Reproduction Science*, 80: 237-250.
- 5- El Mardany E., Kanayama N., Kobayashi H., Hossain B., Khatun S., Liping S., et al. (1997). The role of hyaluronic acid as a mediator and regulator of cervical ripening. *Human Reproduction*, 12: 1080-88.
- 6- Epplston 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. *Animal Reproduction Science*, 36: 211-225.
- 7- Evans G. and Maxwell W.M.C. (1987). *Salmon's artificial insemination of sheep and goats*. Butterworths, Sydney, NSW, Australia. PP: 55-170.
- 8- Fair S., Hanrahan J.P., O'Meara C.M., Duffy P., Rizos D., Wade M., et al. (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.
- 9- Fallah Rad A.H. and Farzaneh N. (2007). Effect of CIDR and different doses of PMSG on pregnancy and lambing rate out of breeding season in Baluchi ewes. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6: 1167-71.
- 10- FAO. (2002). *Goat population*. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Regional office for Asia and the Pacific. <http://www.fao.org/documents>
- 11- Gokcen H., Unal E., Tumen H. and Nak D. (1992). Investigation on the oestrous induction synchronization and the fertility of ewes during anestrus and breeding season. *Journal of Veterinary Medicine*, 2: 71-79.
- 12- 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. *British Journal of Obstetrics Gynaecology*, 96: 1198-1202.
- 13- 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.
- 14- Haresign W. (1992). Manipulation of reproduction in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, 45: 127-135.

- 15- Homeida A.M. and Cooke R.G. (1984). Biological half-life of oxytocin in the goat. *Research of Veterinary Science*, 37: 364-365.
- 16- Karagiannidis A., Varsakeli S., Karatzas G. and Brozos C. (2001). Effect of time of artificial insemination on fertility of progestagen and PMSG treated indigenous Greek ewes, during non-breeding season. *Small Ruminant Research*, 39: 61-71.
- 17- 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.
- 18- Kershaw C.M., Khalid M., McGowan M.R., Ingram K., Leethongdee S., Wax G., et al. (2005). The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology*, 64: 1225-35.
- 19- Khalifa R.M., Sayre B.L. and Lewis G.S. (1992). Exogenous oxytocin dilates the cervix in ewes. *Journal of Animal Science*, 70: 38-42.
- 20- Ledger W.L., Ellwood D.L. and Taylor M.J. (1983). Cervical softening in late pregnant sheep by infusion of prostaglandin E2 into cervical artery. *Journal of Reproduction Fertile*, 69: 511-515.
- 21- 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. *Journal of Reproduction and Fertility*, 22: 385-398.
- 22- McEvoy T.G., Robinson J.J., Aitken R.P. and Robertson I.S. (1998). Melatonin treatment of embryo donor and recipient ewes during anestrus affects their endocrine status, but not ovulation rate, embryo survival or pregnancy. *Theriogenology*, 49: 943-955.
- 23- More J. (1984). Anatomy and histology of the cervix uteri of the ewe: new insights. *Acta Anatomica*, 120: 156-159.
- 24- Okada M., Ishida N., Ogiso T., Itagaki R., Ishikawa D. and Fuku Y. (1999). Effect of dosage of equine chorionic gonadotropin combined with a single injection of porcine follicle-stimulating hormone for superovulation treatment in ewes. *Journal of Reproduction and Development*, 45: 307-313.
- 25- Ozturkler Y., Çolak A., Baykal A. and Guven B. (2003). Combined effect of a prostaglandin analogue and a progestagen treatment for 5 days on oestrus synchronization in Tushin ewes. *Indian Veterinary Journal*, 80: 917-920.
- 26- Perry K., Haresign W., Wathes D.C. and Khalid M. (2010). Intracervical application of hyaluronan improves cervical relaxation in the ewe. *Theriogenology*, 74: 1685-90.
- 27- Salamon S. and Maxwell W.M.C. (1995). Frozen storage of ram semen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Animal Reproduction Science*, 37: 185-249.
- 28- 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: 1523-33.
- 29- 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.
- 30- Shemesh M., Dombrowski L., Gurevich M., Friedman S., Shore L.S., Fuchs A.R. and Fields M.Y. (1997). Regulation of bovine cervical secretion of prostaglandins and synthesis of cyclooxygenase by oxytocin. *Reproduction Fertility and Development*, 9: 525-530.
- 31- 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. *Journal of Animal Science*, 79: 568-573.
- 32- Stys S.J., Dresser B.L., Otte T.E. and Clark L.E. (1981). Effect of prostaglandin E2 on cervical compliance in pregnant ewes. *American Journal of Obstetrics Gynecology*, 140: 415-419.
- 33- Timurkhan H. and Yildiz H. (2005). Synchronization of oestrus in Hamdani ewes: the use of different PMSG doses. *Bulletin-Veterinary Institute in Pulawy*, 49: 311-314.
- 34- Ucar O., Kaya M., Yildiz S., Onder F., Cenesiz M. and Uzun M. (2005). Effect of progestagen/PMSG treatment for oestrus synchronization of Tuj ewes to be breed after the natural breeding season. *Acta Veterinaria Brno*, 74: 385-393.
- 35- 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. *Journal of Animal Sciences*, 77: 2587-93.
- 36- Wulster-Radcliffe 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: 1361-71.

37- 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.

38- Zarkawi M. (2001). Oestrous synchronisation and twinning rate of Syrian Awassi ewes treated with progestagen and PMSG during the breeding season. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 44: 159-163.

39- Zeleke M., Greyling J.P.C., Schwallbach L.M.J., Muller T. and Erasmus J.A. (2005). Effect of progestagen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. *Small Ruminant Research*, 56: 47-53.

40- Zonturlu A.K., Özyurtlu N. and Kacar C. (2011). Effect of different doses PMSG on estrus synchronization and fertility in Awassi ewes synchronized with progesterone during the transition period. *Kafkas University of Veterinary Fak Derg*, 17: 125-129.