

### چکیده

جهت بررسی اثر اسفنج آغشته به پروژسترون در ایجاد همزمانی در فعلی و اثر هورمون گونادوتروپین سرمی مادایان آبستن (eCG) در ایجاد سوپراوولاسیون در دو فصل بهار و پاییز در گوسفند نژاد مغانی و همچنین بررسی اثر تجویز گونادوتروپین جفتی انسان (HCG) در تخمک‌گذاری، دو آزمایش در دو فصل بهار و پاییز انجام شد. در آزمایش اول ۱۳ میش در ۳ گروه مورد مطالعه قرار گرفتند. همه میشها به مدت ۱۳ روز اسفنج داخل واژنی آغشته به پروژسترون دریافت کردند. سی و شش ساعت قبل از برداشت اسفنج به گروه اول (n=۵) ۱۲۰۰ واحد eCG و به گروه دوم (n=۵) ۸۰۰ واحد eCG به طور داخل عضلانی تجویز شد. در گروه سوم تزریقی انجام نگرفت (شاهد). به تمام میشها

حدود ۴۰ ساعت بعد از برداشت اسفنج (زمان تلقیح مصنوعی) ۱۰۰ واحد HCG تجویز شد. در آزمایش دوم (پاییز) میشها به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول (n=۱۰) ۲۴ ساعت قبل از برداشت اسفنج ۱۲۰۰ واحد eCG تزریق شد. در گروه دوم (n=۴) تزریقی انجام نگرفت (شاهد). در این فصل میشها در هنگام تلقیح مورد تجویز داروی HCG یا داروی مشابه قرار نگرفتند. نتایج به دست نشان داد که در هر دو فصل به دنبال استفاده از اسفنج داخل واژنی آغشته به پروژسترون میش‌هایی که مورد تجویز eCG قرار گرفتند ۲۴ ساعت بعد از برداشت اسفنج در فعلی بودند اما میش‌هایی که این هورمون را دریافت نکرده بودند حدود ۴۸ ساعت بعد از برداشت اسفنج در فعلی بودند. متوسط تعداد فولیکول ایجاد شده (پاسخ به

سوپراوولاسیون) در فصل بهار با تجویز ۱۲۰۰ و ۸۰۰ واحد eCG بهتر تبیین ۹/۲±۱/۲۸ و ۴/۴±۰/۵ و در گروه شاهد ۰/۳±۰/۳ بود که به طور معنی‌داری با هم اختلاف داشتند (P<۰/۰۰۱). این میزان در فصل پاییز و با تجویز ۱۲۰۰ واحد eCG برابر ۷/۶±۰/۷۴ بود که اختلاف معنی‌داری با گروه مشابه در فصل بهار نداشت و در گروه شاهد در این فصل ۱/۲۵±۰/۲۱ بود. در گروهی که هورمون HCG تجویز نشده بود ۴۸±۱۰ درصد فولیکولها اوولاسیون انجام ندادند و تبدیل به فولیکول مقاوم شدند اما در گروهی که در هنگام تلقیح مصنوعی HCG دریافت کرده بودند هیچ فولیکول مقاومی دیده نشد. بعلاوه عدم همزمانی در اوولاسیون نیز در گروهی که HCG دریافت نکرده بودند شدیدتر و واضحتر بود.

✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۳۷، زمستان ۱۳۷۶

# همزمانی و تحریک تخم‌گذاری به منظور انتقال جنین در گوسفند مغانی در فصل تولید مثلی و غیر تولید مثل

● خسرو حسینی پژوه، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران - پژوهشکده بیوتکنولوژی  
● فرامرز فراگوزلو، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ● یوسف جعفری، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور ● پرویز تاجیک، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

### مقدمه

چند دهه است که تکنیک‌های سوپر اوولاسیون و انتقال جنین در دامها انجام می‌شود. با وجود انجام تجربیات متعدد و ارائه تکنیک‌های مختلف در باره انتقال جنین در گوسفند، این روش در مقایسه با گاو، هنوز نتوانسته است کاملاً به صورت تجارتي در آید. این علل عبارتند از: موفقیت نسبتاً پایین و متغیر (بر حسب نژادهای مختلف) سوپر اوولاسیون و انتقال جنین در میش، ارزش پایین یک رأس میش در مقابل گاو (Evans و همکاران ۱۹۸۴) و همچنین تأخیر در ارائه و تکامل روشهای غیر جراحی در جمع‌آوری و انتقال جنین در گوسفند. با این حال بهبود سریع کارائی و خصوصیات ژنتیکی گله‌ها بخصوص در کشورهایی که برنامه اصلاح نژادی موثری از قبل نداشته‌اند می‌تواند بخوبی با این تکنیک حاصل شود. همزمان کردن استروس و تحریک تخم‌گذاری از مقدمات ضروری انتقال جنین است. در گوسفند با استفاده از پروژسترون بخوبی می‌توان در یک گله میش ایجاد همزمانی در استروس کرد (Boundly و همکاران ۱۹۸۵، Buckrell و همکاران ۱۹۹۰) برای این منظور باید میشها حدود ۱۰ تا ۱۴ روز تحت تجویز پروژسترون قرار گیرند. معمول‌ترین روش تجویز پروژسترون جهت ایجاد همزمانی استفاده از وسیله‌ای است که پروژسترون را در

داخل واژن آزاد می‌کند (CIDR). یکی از فواید استفاده از پروژسترون آن است که در خارج از فصل فعلی نیز می‌تواند استفاده شود و باعث شروع سیکل فعلی در میش می‌شود (Raymond و همکاران ۱۹۸۳). از پروستاگلاندین‌ها نیز می‌توان برای ایجاد همزمانی استفاده کرد، که البته فقط در میشهای

سیکلیک مؤثر است زیرا برای تأثیر نیاز به جسم زرد فعال دارد. برای تحریک تخم‌گذاری از هورمونهای محرک فولیکولی مثل FSH و eCG و HMG استفاده می‌شود. مطالعات قبلی Dharsana و همکاران ۱۹۸۶، Sttelton و همکاران (۱۹۶۷) نشان داده است که تجویز

شکل شماره ۱- قرار دادن اسفنجهای آغشته به پروژسترون در داخل واژن میشها



مقادیر بالای گونادوتروپین‌ها با وجود افزایش پاسخ تخمدانی، به دلیل پاره نشدن تعداد زیادی از فولیکولها و تبدیل شدن آنها به فولیکولهای مقاوم باعث کاهش تعداد جنین‌های جمع‌آوری شده می‌شود. یکی دیگر از دشواریهای مربوط به سوپر اوولاسیون نا همزمانی در اوولاسیون است که می‌تواند باعث کاهش میزان لقاح شود (Walker و همکاران ۱۹۸۹).

هدف از این تجربه که مرحله اول طرح انتقال جنین در گوسفند به روش لاپاروسکوپی است، مطالعه اولیادهای در مورد پاسخ گوسفند نژاد مغانی نسبت به همزمانی با اسفنج پروژسترون و درمان سوپر اوولاتوری با ECG در دو فصل بهار و پاییز بوده است.

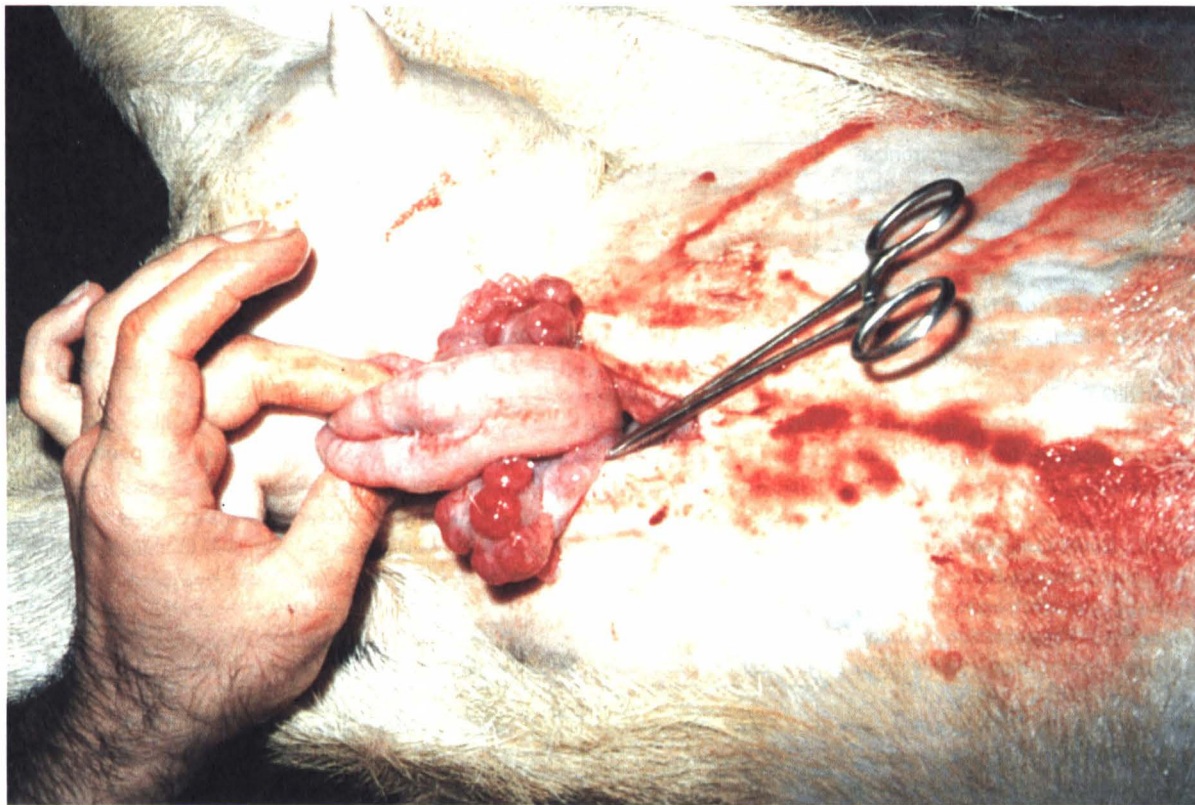
۱ و ۲ در هنگام تلقیح مصنوعی (۴۰-۳۵ ساعت بعد از برداشت اسفنج آغشته به پروژسترون) ۱۰۰ واحد HCG تزریق شد.

در مطالعه دوم (ماه مهر) میشها به ۲ گروه تقسیم شدند. هر دو گروه ۱۳ روز اسفنج واژینال حاوی پروژسترون دریافت کردند. به گروه اول (n=۱۳) ۲۴ ساعت قبل از برداشت اسفنج ۱۲۰۰ واحد ECG به طور IM تزریق شد. گروه دوم به عنوان کنترل انتخاب شد. میشهای مورد آزمایش در این فصل در هنگام تلقیح مصنوعی (که حدود ۳۵ الی ۴۰ ساعت بعد از برداشت اسفنج آغشته به پروژسترون انجام شد) HCG یا هورمون مشابه دیگری دریافت نکردند. برای تشخیص

## ۲- سوپر اوولاسیون

در آزمایش اول (فصل بهار) در میشهایی که ۱۲۰۰ واحد ECG دریافت کرده بودند، متوسط تعداد فولیکول ایجاد شده (پاسخ به تحریک رشد فولیکولی)  $9/2 \pm 1/28$  و با ۸۰۰ واحد ECG،  $4/4 \pm 0/5$  و در گروه شاهد،  $3 \pm 0/3$  بود. سه گروه به طور معنی‌داری با هم تفاوت داشتند ( $P < 0/001$ ) و در گروه اول (۱۲۰۰ واحد) بیشتر از گروه دوم بود (جدول ۱).

در آزمایش دوم متوسط تعداد فولیکول ایجاد شده (با ۱۲۰۰ واحد ECG)  $9/4 \pm 0/76$  بود. بین ۲ گروه ۱۲۰۰ واحد ECG در فصل بهار و پاییز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول شماره ۱).



شکل شماره ۲- اجسام زرد موجود بدوی تخمدانها حاصل از انجام تحریک تخمگذاری

در مطالعه تخمدانها ۶ روز پس از تلقیح، در آزمایش اول که میشها تحت تجویز HCG قرار گرفتند هیچ فولیکول مقاومی دیده نشد، اما در آزمایش دوم (پاییز) که به میشها HCG یا هورمون مشابه دیگری تجویز نشد، به طور متوسط  $48 \pm 10$  درصد فولیکولها تبدیل به فولیکول مقاوم شده بودند و اوولاسیون انجام نداده بودند. در بعضی از میشها نیز اندازه جسم زردهای موجود در تخمدان با هم تفاوت داشت که نشان دهنده عدم همزمانی آشکار در اوولاسیون بود.

مقایسه پاسخ تخمدان راست و چپ به تحریک رشد فولیکولی نشان داد که تخمدان راست به طور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) تعداد بیشتری فولیکول ایجاد

فحلی در هر دو آزمایش از فوج فعال از نظر جنسی و دارای پیش‌بند استفاده شد. در هر دو مطالعه ۶ روز پس از تلقیح مصنوعی میشها برای بررسی تخمدانها لاپاروتومی یا لاپار اسکوپ می‌شدند.

## نتایج

### ۱- همزمانی

در هر دو فصل میشهایی که مورد تجویز ECG قرار گرفتند در ۲۰ ساعت بعد از برداشت اسفنج فحل بودند. میشهایی که ECG دریافت نکردند حدود ۲۴ ساعت دیرتر در فحلی بودند.

### مواد و روشها

از ۱۵ رأس میش مغانی نگهداری شده در مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور با سنهای مختلف و دارای سابقه تولید مثلی مطلوب استفاده شد. در مطالعه اول (فصل بهار) میشها به ۳ گروه تقسیم شدند. همه میشها به مدت ۱۳ روز اسفنج واژینال آغشته به پروژسترون (45mg Florigeston acetate-Intervet) به طور واژینال دریافت کردند. سی و شش ساعت قبل از برداشت اسفنج به گروه ۱ (n=۵) ۱۲۰۰ واحد ECG (Foligon-Intervet) و به گروه ۲ (n=۵) ۸۰۰ واحد ECG به طور IM تزریق شد. گروه ۳ (n=۳) به عنوان شاهد بودند و تزریقی انجام نشد. به تمام میشهای گروه

Sparpe P.H., and Armstrong D.H., 1984. Australian unool corporation, Technical publication PP. 313-315.

5- Gourley D.D. and Riese R.L., 1990. Laparoscopic artificial insemination in sheep, Veterinary clinics of north America (6) 3: PP. 615-633.

6- Heard T.M. and Unalker S.K., 1992. Premature ovulation and embryo collection in the ewe, Theriogenology (37) 1: P. 220.

7- McKelvey W.A.C., Robinson J.J., Aithen R.P., 1985. Asimplified technique for the transfer of ovine embryo by laparoscopy vet. Rec. 113: PP. 341-353.

8- Raymond W., 1983. Estrus synchronization and superovulation in sheep and goats, Modern veterinary practice, June 1983, PP. 481-485.

9- Sttelton J.M. and Moore N.W., 1967. J. Reprod. Fert. 14: PP. 175-177.

10- Thompson J.G.E., Simpson A.C., Jomse R.W. and Tervit H.R., 1990. Repeated surgical embryo recovery from texel donor ewes, Theriogenology (35) 4: PP. 741-752.

11- Walker S.K., Smith D.H., Faransham A., Ashman. R.J. and Seamark R.F., 1989. The use of synthetic gonadotropin releasing hormon treatment in the collection of sheep embryos, Theriogenology (31) 4: PP. 741-752.

12- Walker S.K., Smith D.H. and Seamark R.F., 1986. Timing of multiple ovulation in the ewe after treatment with FSH or PMSG with or without GnRH. J. Reprod. Fert. (77) P. 135.

13- Ware C.B., Vrosby T.F. and Gordon I., 1986. Influence of progestagen or prostaglandin on the synchronization of superovulation in sheep treated with anterior pituitary extract. Irish veterinary journal (40) 1: PP 13-16.

14- Zanwar S.G. and Deshpande B.R., 1984. Superovulation and embryo transfer in exotic and cross bred sheep, 10th International congress on animal reproduction (paper No. 254).

۳۰ تا ۳۶ ساعت (به ترتیب در استفاده از eCG و FSH) (Walker و همکاران ۱۹۸۹) بعد از برداشت منبع پروژسترون توصیه شده است.

بررسی نتایج به دست آمده در پاسخ سوپراوولاتوری گوسفند معانی مشخص می‌کند که این نژاد می‌تواند در مقایسه با نژادهای مطالعه شده دیگر (Dharsana ۱۹۸۶، Zanwar و همکاران ۱۹۸۴، Waer و همکاران ۱۹۸۶) پاسخ خوبی به درمان سوپر اوولاتوری با eCG بدهد و این پاسخ حتی در دو فصل بهار و پاییز بخوبی وجود دارد، و حداقل در میزان ۱۲۰۰ واحد این هورمون تفاوتی در پاسخ در این دو فصل وجود ندارد. مقدار کمتر از ۱۲۰۰ واحد (۸۰۰ IU) پاسخ ضعیف‌تری را ایجاد خواهد کرد.

کرده است (متوسط تخمدان راست ۴/۷۵± و تخمدان چپ ۴/۳۵±).

### بحث

استفاده از اسفنج آغشته به پروژسترون به طور وائینال برای مدت ۱۳ روز هم در فصل تولید مثل و هم در غیر فصل تولید مثل در گوسفند معانی می‌تواند همزمانی خوب و مؤثری را ایجاد کند. البته در فصل بهار به نظر می‌آید تجویز یک هورمون محرک فولیکولی برای تحریک رشد فولیکولها و برقراری سیکل ضروری باشد. در این مطالعه در هر دو فصل بهار و پاییز می‌شهایی که تحت تجویز eCG قرار داشتند ۲۰ ساعت بعد از برداشت اسفنج در حلی بودند و بنابراین تلقیح مصنوعی این می‌شها در حدود ۴۰ ساعت بعد از برداشت

جدول شماره ۱- پاسخ سوپراوولاسیون در ۲ فصل مختلف و با مقادیر مختلف eCG

فصل آزمایش	تعداد میش	میزان eCG (واحد)	متوسط تعداد فولیکول ایجاد شده *
پاییز	۱۰	۱۲۰۰	۹/۴۰±۰/۷۶
	۴	۰	۱/۲۵±۰/۲۱
بهار	۵	۱۲۰۰	۹/۲۰±۱/۲۸
	۵	۸۰۰	۴/۴۰±۰/۵۰
	۳	۰	۰/۳۳±۰/۲۳

\* میانگین ± اشتباه معیار میانگین

### تشکر و قدردانی

لازم است از مسئولین محترم سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران به خاطر تأمین هزینه انجام طرح انتقال جنین در گوسفند به روش لاپاروسکوپی که مقاله حاضر نتایج قسمتی از مطالعات مربوط به این طرح است و همچنین از مسئولین محترم مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور به خاطر در اختیار قرار دادن مکان و گوسفندان لازم برای انجام این طرح تشکر نمایم.

### منابع مورد استفاده

- 1- Boundey T., Clarkson M.J. and Winter, A.C. 1985. Embryo transfer in sheep under practice conditions. Vet. Rec. (11): PP. 379-381.
- 2- Buckrell B.C., Garty C.J., Mehren K.J. and Goodrowe K.L., 1990. Superovulation in Dall's sheep, Therio. (33) 1: P. 201.
- 3- Dharsana R., 1986. Superovulation and embryo transfer in Indonesian sheep, Ilmu dan Peternakan (2) 4: PP. 155-157.
- 4- Evans G., Holland M.K., Nottle H.B.,

اسفنج می‌تواند زمان مناسبی باشد. در صورتی که به می‌شها یک هورمون محرک رشد فولیکولی تزریق نشده باشد (شاهدهای فصل پاییز) فعلی حدود ۲۴ ساعت دیرتر خواهد بود، که با مطالعات قبلی (Gourley و همکاران ۱۹۹۰، Tompson و همکاران ۱۹۹۰) همخوانی داشت. البته برای تعیین دقیق زمان شروع و خاتمه فعلی به مطالعه بیشتری نیاز است. تحقیقات قبلی (Walker و همکاران ۱۹۸۶) نشان داده است که ایجاد سوپر اوولاسیون در میش توسط گونادوتروپین‌ها ممکن است باعث اوولاسیون زودرس شود و یک و گاهی ۲ فولیکول حتی تا ۲۴ ساعت زودتر از زمان مربوطه پاره شوند. طبق یک مطالعه ۲۴/۳٪ و ۱۸/۹٪ می‌شهایی که با eCG و FSH سوپراووله شده بودند ۲۴ تا ۲۷ ساعت بعد از قطع پروژسترون نیز GnRH دریافت کرده بودند اوولاسیون زودرس را نشان دادند (Heard و همکاران ۱۹۹۲).

همانطور که ذکر شد در می‌شهای مورد مطالعه در پاییز که مورد تزریق HCG (یا GnRH) قرار نگرفتند، علاوه بر مشاهده درصد قابل توجهی فولیکول مقاوم، جسم زردهای با اندازه‌های متفاوت نیز در بعضی از می‌شها دیده شد که نشانه عدم همزمانی شدید در پاره شدن فولیکول و اوولاسیون است، در حالی که در می‌شهای آزمایش ۱ که HCG دریافت کرده بودند این حالت به طور واضحی وجود نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که تزریق HCG (یا GnRH) برای تحریک اوولاسیون و ایجاد همزمانی در تخمگذاری در می‌شهایی که تحریک تخمگذاری شده‌اند ضروری است (تائید کارهای قبلی Walker و همکاران ۱۹۸۲) و می‌تواند به طور آشکاری از عدم اوولاسیون یا ناهمزمانی شدید در اوولاسیون ممانعت کند (بخصوص اگر بخواهیم از تلقیح مصنوعی استفاده کنیم). زمان تجویز GnRH ۲۴ ساعت (Walker و همکاران ۱۹۹۰) یا ۲۴ و