

تأثیر تزریق هورمون‌های اکسی توسین و گنادوتروپین جفت اسب بر ویژگی‌های منی قوچ زل در فصل غیر تولید مثلی

ی. جعفری آهنگری^۱، ش. ا. قره ویسی^۲، م. نوروزی^۳ و ب. پریزادیان کاوان^۴

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی ویژگی‌های کمی و کیفی منی قوچ زل پس از تزریق هورمون‌های اکسی توسین و گنادوتروپین جفت اسب در فصل غیر تولید مثلی بود. این آزمایش در قالب طرح مربع لاتین چند مشاهده‌ای در اواخر بهار و اوایل تابستان انجام شد. برای انجام این آزمایش از شش رأس قوچ با وزن تقریبی ۴۵ کیلوگرم استفاده شد. هورمون اکسی توسین در سطوح صفر، ۵ و ۱۰ و هورمون گنادوتروپین جفت اسب در سطوح صفر، ۴۰۰ و ۶۰۰ واحد بین‌المللی مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که تزریق سطوح مختلف اکسی توسین تأثیر معنی‌داری بر اندازه محیط کیسه بیضه، درصد اسپرم متحرک و غیر طبیعی نداشت ($P > 0/05$)، اما تفاوت معنی‌داری در تزریق سطوح ۵ و ۱۰ واحد بین‌المللی اکسی توسین نسبت به تیمار شاهد در ویژگی‌های حجم منی، امتیاز حرکت موجی، درصد اسپرم زنده، غلظت اسپرم در میلی‌لیتر منی و کل انزال مشاهده شد ($P < 0/05$). تزریق سطوح مختلف گنادوتروپین جفت اسب تأثیر معنی‌داری بر حجم منی نداشت ($P > 0/05$)، اما در بقیه ویژگی‌های مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و سایر تیمارها مشاهده شد ($P < 0/05$). بنابراین تزریق عضلانی ۱۰ واحد بین‌المللی اکسی توسین و ۶۰۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین جفت اسب باعث بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی منی قوچ زل در فصل غیر تولید مثلی پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اکسی توسین، گنادوتروپین جفت اسب، قوچ زل، خصوصیات منی

۱- دانشیار دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی قائم‌شهر

۴- دانشجوی دکتری تغذیه دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

ذخیره و نگهداری مناسب اسپرم، انتقال موفقیت‌آمیز اسپرم را از مناطق دورتر تسهیل می‌کند و گسترش استفاده از ذخایر ژنتیکی بهتر را امکان‌پذیر می‌سازد (۷). معمولاً اسپرم در مدت نگهداری در دماهای پایین با کاهش خواص حیاتی خود مثل تحرک و زنده‌مانی روبرو می‌شود که این امر می‌تواند یک عامل نامطلوب در توسعه استفاده از تلقیح مصنوعی باشد (۲۲). با توسعه تلقیح مصنوعی، هزینه‌های پرورش قوچ در گله‌ها حذف شده و می‌توان از اسپرم‌هایی که از نظر ژنتیکی در سطح بالاتری قرار دارند، جهت آبستن کردن میش‌های ماده و به حداکثر رساندن توسعه ژنتیکی استفاده کرد (۷). از سویی نیاز است که کیفیت منی قوچ‌ها برای جفت‌گیری با میش‌ها در خارج از فصل تولید مثل بهبود یابد، زیرا هورمون‌های موثر جنسی در قوچ‌ها مانند تستوسترون در فصل غیرتولید مثلی کاهش می‌یابند. بنابراین استفاده از روش‌های هورمونی می‌تواند موجب بهبود ویژگی‌های منی قوچ شود (۱۷).

اکسی توسین هورمونی پروتئینی و نانو پپتیدی، با وزن مولکولی ۱۰۰۰ دالتون و نیمه عمر کوتاه در حدود چند دقیقه است که سریعاً به اجزای تشکیل دهنده خود یعنی اسیدهای آمینه تجزیه می‌شود (۲ و ۲۹). در قوچ‌ها، اکسی توسین علاوه بر آزاد سازی از هیپوفیز، توسط سلول‌های لیدیک بیضه نیز ترشح می‌شود و به وسیله هورمون LH و فاکتورهای متعددی از اپیتلیوم منی‌ساز تنظیم می‌شود (۱۸). این هورمون نقش کلیدی در تنظیم

نعوظ آلت تناسلی داشته و با مکانیسم انقباضی باعث حرکت اسپرم در طول لوله‌های بیضه می‌شود (۱۶). مشخص شده است که تزریق هورمون اکسی توسین به قوچ، حجم منی و مقدار اسپرم در انزال را افزایش می‌دهد. این موضوع به دلیل خاصیت انقباضی هورمون می‌باشد که با تأثیر بر گیرنده‌های موجود در بیضه و غدد ضمیمه موجب حرکت اسپرم در طول لوله‌های اسپرم‌ساز می‌شود (۳). هورمون گنادوتروپین جفت اسب، گلیکوپروتئینی با وزن مولکولی ۶۲۰۰۰ دالتون می‌باشد که دارای زیر مجموعه‌های آلفا و بتا است و از لحاظ ساختاری شباهت زیادی به FSH و LH دارد. همچنین این هورمون به دلیل داشتن مقدار قابل توجه اسید سیالیک، نیمه عمر طولانی‌تری نسبت به گنادوتروپین‌های FSH و LH دارد و نیمه عمر آن دو تا پنج روز می‌باشد (۷). گنادوتروپین جفت اسب در حیوان نر اثرات قابل توجهی روی رشد مجاری اسپرم‌ساز، تحریک اسپرماتوژنز و افزایش میل جنسی دارد (۱۱). گزارش شده است که تزریق گنادوتروپین جفت اسب اختلالات تولید مثلی و هیپوگنادی (بیضه‌های کوچک) موش‌های نر را بهبود می‌بخشد (۸). یافته‌های وگلمایر (۲۸) نشان داد که تزریق درون سیاهرگی اکسی‌توسین به قوچ‌ها سبب افزایش حجم منی به دلیل تحریک انقباضات ماهیچه صاف لوله‌های اسپرم‌ساز می‌شود. بزکورت و همکاران (۳) گزارش کردند که تزریق درون سیاهرگی اکسی‌توسین به مقدار ۵ واحد بین‌المللی در قوچ‌ها باعث افزایش حجم منی می‌شود. یونگرفلد و بیلی (۲۷) مشاهده کردند که استفاده از

هورمون گنادوتروپین جفت اسب در سه سطح (صفر، ۴۰۰ و ۶۰۰ واحد بین‌المللی) و برای مدت سه هفته انجام شد.

برای تزریق سطوح صفر، ۵ و ۱۰ واحد بین‌المللی اکسی‌توسین، به ترتیب ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک و ۰/۵ و ۱ میلی‌لیتر اکسی‌توسین استفاده شد. برای تزریق سطوح صفر، ۴۰۰ و ۶۰۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین جفت اسب، به ترتیب ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک و ۲ و ۳ میلی‌لیتر پرگنکول استفاده شد. هر دو هورمون به روش عضلانی و در داخل عضله کشاله ران تزریق شدند. اندازه‌گیری محیط کیسه بیضه بعد از اثرگذاری هورمون، توسط نوار متری مخصوص انجام شد (۷). اسپرم‌گیری از قوچ‌ها، ۱۵ دقیقه بعد از

تزریق اکسی‌توسین و ۳۰ ساعت بعد از تزریق گنادوتروپین جفت اسب و با استفاده از دستگاه شوک الکتریکی انجام شد. لوله‌های آزمایش حاوی منی قوچ‌ها برای محفوظ ماندن از شوک حرارتی تا زمان ارزیابی اسپرم، بلافاصله بعد از اسپرم‌گیری درون بشری که حاوی آبی با دمای ۳۵ الی ۳۷ درجه سانتی‌گراد بود، قرار داده و سریعاً به آنکوباتور ۳۷ درجه انتقال داده شدند. رنگ منی بلافاصله بعد از جمع‌آوری در لوله آزمایش، مورد بررسی قرار گرفت. حجم منی با خواندن درجه لوله مدرجی که برای جمع‌آوری استفاده شد، تعیین شد (۷). برای تعیین درصد تحرک اسپرم، یک قطره کوچک از نمونه منی رقیق شده روی یک لام تمیز گرم شده قرار داده شد، سپس روی آن یک لامل گذاشته شد تا نمونه به طور یکنواخت در زیر سطح لامل پخش شود. در مرحله بعد با استفاده از

گنادوتروپین جفت اسب (۱۰۰ و ۴۰۰ واحد بین‌المللی) در بره‌های نر هیچگونه تغییری در وزن بدن، محیط کیسه بیضه، ویژگی‌های منی و رفتار جنسی در هنگام بلوغ ایجاد نمی‌کند. گزارش فاجز و همکاران (۶) حاکی از افزایش معنی‌دار تحرک اسپرم‌های گاو پس از افزودن اکسی‌توسین به منی در شرایط آزمایشگاهی بود.

با توجه به موارد فوق، هدف از انجام این تحقیق بهبود خصوصیات کمی و کیفی منی قوچ زل در فصل غیر تولید مثلی، پس از تزریق هورمون‌های اکسی‌توسین و گنادوتروپین جفت اسب بود.

مواد و روشها

این تحقیق در آزمایشگاه گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد قائمشهر انجام شد. برای انجام آزمایش از ۶ رأس قوچ نژاد زل با وزن تقریبی 45 ± 5 کیلوگرم استفاده شد. قوچ‌ها در قفس‌های متابولیک نگهداری شدند و براساس احتیاجات نگهداری روزانه تغذیه شدند. قوچ‌ها دو هفته قبل از اجرای آزمایش تحت دوره عادت‌دهی قرار گرفتند و سپس آزمایش اصلی انجام شد. زمان انجام آزمایش منطبق با فصل غیرتولید مثلی قوچ‌ها یعنی از اردیبهشت تا اواسط تیرماه ۱۳۸۸ بود. در این تحقیق ابتدا هورمون اکسی‌توسین در سه سطح (صفر، ۵ و ۱۰ واحد بین‌المللی) به مدت سه هفته استفاده شد. بعد از پایان انجام آزمایشات در مرحله اول، یک هفته برای تطبیق‌پذیری قوچ‌ها برای آزمایش دوم در نظر گرفته شد. در آزمایش دوم، تزریق

تأثیر تزریق هورمون‌های اکسی توسین و گنادوتروپین جفت اسب بر ویژگی‌های ۴۸

بزرگنمایی $\times 40$ میکروسکوپ و بررسی لام، درصد اسپرم‌هایی که حرکت پیشرونده داشتند، شمارش شدند. برای اندازه‌گیری درصد اسپرم‌های زنده و ناهنجار از محلول رنگ‌آمیزی اتوزین و نیگروزین استفاده شد. برای ساخت این محلول، ابتدا ۵ گرم نیگروزین و $0/85$ گرم اتوزین و $1/45$ گرم سیترات سدیم آنیدرات را در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل نموده و محلول به دست آمده برای مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد. پس از رسیدن دمای محلول به دمای محیط، محلول دوبار از فیلتر عبور داده شد و در شیشه‌ای تیره ریخته شد و دور از نور خورشید در دمای اتاق نگهداری شد. برای رنگ‌آمیزی، ابتدا یک قطره از منی رقیق شده در یکی از دو انتهای لام تمیز و گرم شده قرار داده شد و سپس یک قطره از رنگ روی منی رقیق شده ریخته شد. بعد از مدت یک دقیقه، توسط لبه لام دیگری، گسترش نازکی از آن تهیه شد و سپس به مدت ۵ دقیقه، لام در مجاورت هیتر قرار داده شد تا خشک شود. اسپرم‌های زنده به دلیل داشتن غشاهای سالم در مقایسه با اسپرم‌های مرده تحت تأثیر محلول رنگ‌آمیزی اتوزین و نیگروزین رنگی را به خود جذب نکرده و از این طریق از اسپرم‌های مرده قابل تشخیص بودند. در مرحله بعد با استفاده از بزرگنمایی $\times 40$ میکروسکوپ و بررسی لام، تعداد اسپرم‌های زنده و ناهنجار شمارش شدند.

میکروسکوپ بودند. روش کار به این صورت بود که ابتدا لامل روی قسمت مدرج لام شمارش‌گر قرار داده شد، سپس به وسیله پیپت مخلوط کننده، نمونه منی تا درجه $0/5$ کشیده شد و بعد، محلول آب نمک ۳ درصد تا درجه ۱۰۱ بالا کشیده شد. سپس ته پیپت با انگشت سبابه بسته شد و با تکان دادن پیپت، منی با مایع رقیق‌کننده مخلوط گردید. تماس نوک پیپت با لبه شمارش‌گر موجب خارج شدن قطره‌ای از منی رقیق شده و پخش شدن آن در زیر لامل گردید، سپس به مدت ۵ دقیقه اسپرم‌ها روی لام شمارش‌گر ته نشین شدند. در مرحله بعد، لام شمارش‌گر در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی $\times 40$ قرار داده شد. شمارش اسپرم‌ها در پنج مربع بزرگ که هر کدام دارای ۱۶ مربع کوچک بودند، انجام شد. مربع‌های بزرگ که در هر زاویه قرار گرفته بودند، همراه با یک مربع میانی شمارش شدند. غلظت اسپرم‌ها در میلی‌لیتر منی از طریق ضرب کردن تعداد اسپرم‌های موجود در ۵ مربع بزرگ در 10^7 محاسبه گردید (۷).

این آزمایش در قالب طرح مربع لاتین چند مشاهده‌ای انجام شد. برای مقایسه میانگین از آزمون LSD، و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS (۲۳) استفاده شد. مقایسه میانگین در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

الف- تأثیر تزریق سطوح مختلف اکسی توسین بر ویژگی‌های کمی و کیفی منی
نتایج این آزمایش نشان داد که تأثیر سطوح مختلف اکسی توسین بر اندازه محیط

غلظت منی با استفاده از روش هموسیتومتر اندازه‌گیری شد. وسایل کار شامل لام شمارش‌گر، لامل، پیپت مخلوط کننده با لوله خم شونده، محلول آب نمک ۳ درصد و

بیضه معنی‌دار نبود ($P > 0/05$)، اما تیمار دریافت کننده سطح ۵ واحد بین‌المللی اکسی‌توسین، محیط بیضه بیشتری (۲۵/۴۷) نسبت به گروه شاهد (۲۵/۱۰) داشت (جدول ۱). نتایج در مورد حجم منی بیانگر تأثیر معنی‌دار اکسی‌توسین بود ($P < 0/05$)، به طوری که بیشترین حجم منی در گروه دریافت کننده ۱۰ واحد بین‌المللی اکسی‌توسین مشاهده گردید (جدول ۱). سطوح مختلف اکسی‌توسین اثر معنی‌داری بر حرکت موجی اسپرم داشتند ($P < 0/05$). کمترین حرکت موجی اسپرم در گروه شاهد و بیشترین تحریک در گروه دریافت کننده ۱۰ واحد بین‌المللی اکسی‌توسین مشاهده شد. اما بین سطوح ۵ و ۱۰ واحد بین‌المللی اکسی‌توسین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$).

جدول ۱- تأثیر تزریق سطوح مختلف اکسی‌توسین بر ویژگی‌های کمی و کیفی منی

منابع تغییر	محیط کیسه بیضه	حجم منی	حرکت موجی	غلظت اسپرم در میلی‌لیتر	غلظت اسپرم در انزال
سطوح مختلف اکسی‌توسین					
صفر	۲۵/۱۰	۰/۵۳ ^b	۳/۶۶ ^b	۱/۹۷ ^c	۱/۰۷ ^b
۵ واحد بین‌المللی	۲۵/۴۷	۰/۷۹ ^a	۴/۳۳ ^a	۲/۳۴ ^b	۱/۸۹ ^a
۱۰ واحد بین‌المللی	۲۵/۱۵	۰/۸۱ ^a	۴/۵ ^a	۲/۶۸ ^a	۲/۲۳ ^a
خطای استاندارد	۰/۲۷	۰/۰۴	۰/۱۱	۰/۰۴	۰/۱۳

در هر ستون میانگین‌های با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند.

(جدول ۲). از نظر درصد اسپرم زنده بین گروه شاهد و سطح ۵ واحد بین‌المللی اکسی‌توسین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$)، اما بین گروه شاهد و سطح ۱۰ واحد بین‌المللی اکسی‌توسین و سطح ۵ و ۱۰ اکسی‌توسین، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$). بالاترین درصد اسپرم زنده در سطح ۱۰ واحد

ب- تأثیر تزریق سطوح مختلف اکسی‌توسین بر درصد اسپرم‌های متحرک، زنده و غیرطبیعی

تأثیر سطوح مختلف اکسی‌توسین بر درصد اسپرم‌های متحرک معنی‌دار نبود ($P > 0/05$)، اما بیشترین درصد اسپرم متحرک در سطح ۱۰ واحد بین‌المللی اکسی‌توسین مشاهده شد

تأثیر تزریق هورمون‌های اکسی توسین و گنادوتروپین جفت اسب بر ویژگی‌های ۵۰
 بین‌المللی اکسی توسین و کمترین در گروه مختلف اکسی توسین بر درصد اسپرم
 شاهد مشاهده شد (جدول ۲). تأثیر سطوح غیرطبیعی معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

جدول ۲- تأثیر تزریق سطوح مختلف اکسی توسین بر درصد اسپرم‌های متحرک، زنده و غیرطبیعی

منابع تغییر	درصد اسپرم متحرک	درصد اسپرم زنده	درصد اسپرم غیرطبیعی
سطوح مختلف اکسی توسین			
صفر	۷۶/۳۲	۷۹/۰۰ ^b	۹/۲۳
۵ واحد بین‌المللی	۷۷/۵۲	۷۹/۵۹ ^b	۹/۲۲
۱۰ واحد بین‌المللی	۸۰/۳۶	۸۳/۵۷ ^a	۸/۹۲
خطای استاندارد	۱/۶۳	۱/۰۱	۰/۱۰

در هر ستون میانگین‌های با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند.

نشان داد ($P < 0.05$)، اما در این ارتباط بین سطوح ۴۰۰ و ۶۰۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین جفت اسب تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$)، اما تفاوت میان گروه شاهد و گروه‌های دریافت کننده سطوح ۴۰۰ و ۶۰۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین جفت اسب از نظر حرکت موجی معنی‌دار بود ($P < 0.05$). بیشترین غلظت اسپرم در میلی‌لیتر نیز در گروه دریافت کننده ۶۰۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین جفت اسب مشاهده شد (جدول ۳).

ج- تأثیر تزریق سطوح مختلف گنادوتروپین

جفت اسب بر ویژگی‌های کمی و کیفی منی نتایج نشان داد که تأثیر سطوح مختلف گنادوتروپین جفت اسب بر محیط کیسه بیضه معنی‌دار بود ($P < 0.05$)، به طوری که بیشترین محیط کیسه بیضه در سطح ۶۰۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین جفت اسب به دست آمد (جدول ۳). اثر سطوح مختلف گنادوتروپین جفت اسب بر حجم منی معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). حرکت موجی اسپرم تحت تأثیر گنادوتروپین جفت اسب تفاوت‌های معنی‌داری

جدول ۳- تأثیر تزریق سطوح مختلف گنادوتروپین جفت اسب بر ویژگی‌های کمی و کیفی منی

منابع تغییر	محیط کیسه بیضه	حجم منی	حرکت موجی	غلظت اسپرم در میلی‌لیتر	غلظت اسپرم در انزال
سطوح مختلف گنادوتروپین جفت					
صفر	۲۵/۵۱ ^c	۰/۶۷	۳/۵۰ ^b	۱/۹۰ ^c	۱/۲۷ ^b
۴۰۰ واحد بین‌المللی	۲۵/۸۸ ^b	۰/۸۰	۴/۱۶ ^a	۲/۳۳ ^b	۱/۸۸ ^a
۶۰۰ واحد بین‌المللی	۲۶/۰۸ ^a	۰/۷۹	۴/۵۰ ^a	۲/۶۸ ^a	۲/۱۴ ^a
خطای استاندارد	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۱۷	۰/۰۶	۰/۱۱

در هر ستون میانگین‌های با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند.

د- تأثیر تزریق سطوح مختلف گنادوتروپین جفت اسب بر درصد اسپرم‌های متحرک، زنده و غیر طبیعی

گنادوتروپین جفت اسب مشاهده شد (جدول ۴). اثر گنادوتروپین جفت اسب بر درصد اسپرم‌های زنده معنی‌دار بود ($P < 0/05$). کمترین درصد اسپرم زنده در گروه شاهد و بیشترین درصد اسپرم زنده در سطح ۶۰۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین جفت اسب مشاهده گردید (جدول ۴). بیشترین درصد اسپرم غیر طبیعی در گروه شاهد و درصد آن سطح ۶۰۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین جفت اسب مشاهده شد ($P < 0/05$).

اثر گنادوتروپین جفت اسب بر درصد اسپرم‌های متحرک معنی‌دار بود ($P < 0/05$)، اما تفاوت‌ها بین سطوح ۴۰۰ و ۶۰۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین جفت اسب معنی‌دار نبود ($P > 0/05$) اما با گروه شاهد معنی‌دار بود ($P < 0/05$). به طوری که بیشترین درصد اسپرم متحرک در سطح ۶۰۰ واحد بین‌المللی

جدول ۴- تأثیر تزریق سطوح مختلف گنادوتروپین جفت اسب بر درصد اسپرم‌های متحرک، زنده و غیرطبیعی

منابع تغییر سطوح مختلف گنادوتروپین جفت اسب	درصد اسپرم متحرک	درصد اسپرم زنده	درصد اسپرم غیر طبیعی
	صفر	۶۸/۰۳ ^b	۷۵/۱۳ ^c
۴۰۰ واحد بین‌المللی	۷۳/۵۳ ^a	۷۶/۲۸ ^b	۸/۷۴ ^a
۶۰۰ واحد بین‌المللی	۷۴/۶۸ ^a	۷۸/۴۳ ^a	۸/۲۱ ^b
خطای استاندارد	۱/۱۴	۰/۳۱	۰/۱۵

در هر ستون میانگین‌های با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند.

ذ- تأثیر تزریق اکسی توسین بر ویژگی‌های منی قوچ زل

در هنگام اسپرم‌گیری می‌باشد (۱۰). این نتایج با مطالعه مشابه دیگری که روی قوچ و گاو نر انجام شده بود، مطابقت دارد (۹).

به دلیل اینکه اکسی‌توسین نقش مهمی را در تنظیم انتقال فیزیولوژیک اسپرم دارد، غلظت بالای اکسی‌توسین سرم نرها در طی جفت‌گیری بر کپسول بیضه، لوله‌های سمینی فرس و اپیدیدیم که دارای بافت‌های قابل انقباض حساس به این هورمون هستند، تأثیر گذار می‌باشد (۴). افزایش در حجم منی، غلظت اسپرم‌ها در میلی‌لیتر منی و در کل انزال با تزریق عضلانی اکسی‌توسین در تحقیق حاضر در قوچ‌های زل، احتمالاً ناشی از افزایش اکسی‌توسین سرم و پلازما و اثر آن بر بیضه

پژوهش‌های متعددی به ارتباط میان اکسی‌توسین و دیگر هورمون‌ها اشاره دارند. برای مثال هس (۹) گزارش کرد که اکسی‌توسین آزادسازی تستوسترون را افزایش می‌دهد. اما بزکورت و همکاران (۳) مشاهده کردند که تزریق اکسی‌توسین تأثیری بر سطوح تستوسترون سرم در مقایسه با گروه شاهد در زمان‌های مختلف ندارد، اما به طور قابل توجهی تستوسترون پلاسمای منی را بعد از گذشت ده دقیقه از زمان تزریق افزایش

تأثیر تزریق هورمون‌های اکسی توسین و گنادوتروپین جفت اسب بر ویژگی‌های ۵۲

می‌دهد. این افزایش در تستوسترون پلاسمای منی نسبت به گروه شاهد، احتمالاً ناشی از افزایش در سطوح تستوسترون مایع پروستات است. نیکلسون و جن‌کین (۱۵) گزارش کردند که تزریق اکسی‌توسین، سطوح تستوسترون بافت پروستات را افزایش می‌دهد و احتمال دارد که افزایش صفات کمی و کیفی مورد مطالعه در مورد منی در این تحقیق به علت فوق باشد. از هورمون‌های مهم و مرتبط با اکسی‌توسین، استروژن‌ها و آندروژن‌ها هستند که نقش ضروری در فعالیت متمایز و عملکرد اپیدیدیم دارند (۱۴). تأثیر اکسی‌توسین بر بافت اسفنجی آلت (جسم کاورنوسوم) و انقباض اپیدیدیمی توسط استروژن‌ها تنظیم می‌شود (۹). در طول تحریک جنسی و انزال، اکسی‌توسین از نروهیپوفیز به گردش خون محیطی آزاد می‌شود. به علاوه تزریق اکسی‌توسین جمع‌آوری منی با شوک الکتریکی را تسهیل می‌کند و باعث افزایش غلظت اسپرم‌ها در قوچ‌ها می‌شود (۳). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تزریق عضلانی اکسی‌توسین تأثیر معنی‌داری بر درصد اسپرم‌های متحرک نسبت به تیمار شاهد نداشته است، در حالی که فاجز و همکاران (۶) دریافتند که افزودن اکسی‌توسین به منی در شرایط آزمایشگاهی به طور قابل توجهی درصد اسپرم متحرک را در گاو‌ها افزایش داده است. احتمالاً استفاده از اکسی‌توسین با مقادیر کم باعث افزایش فعالیت هسته پیش‌بینایی در زمان جفت‌گیری می‌شود و در نتیجه نعوظ آلت تناسلی به حداکثر رسیده و دخول صورت می‌گیرد (۱۲). اکسی‌توسین با مقدار کم ممکن است باعث افزایش سنتز

نیتریک اکساید در هسته پیش‌بینایی و اپیتلیوم مجاور جسم غاری آلت تناسلی شده و باعث تسریع در این عمل گردد (۲۰). با توجه به نقش اکسی‌توسین در فعال کردن آنزیم ۵-آلفا رداکتاز که عامل تبدیل تستوسترون به دی‌هیدروتستوسترون می‌باشد و رابطه مستقیم این آنزیم با میزان تستوسترون، تزریق آن احتمالاً باعث افزایش حجم و غلظت منی در تحقیق حاضر شده است (۱۲). علت دیگر افزایش حجم منی، درصد اسپرم‌های زنده، غلظت اسپرم‌ها در میلی‌لیتر منی و در کل انزال، پس از تزریق عضلانی اکسی‌توسین، شتاب و سرعت حرکت اسپرم‌ها می‌باشد، به این صورت که این هورمون در سلول‌های ماهیچه‌ای صاف که گیرنده اکسی‌توسین دارند و در طول انتقال اسپرم‌ها از مجرای افرنت تا اپیدیدیم حضور دارند را تحریک و در نهایت منقبض می‌کند (۲۱). البته ممکن است این انقباضات در قسمت‌های بعدی مجرا، یعنی از قسمت دم اپیدیدیم تا کانال دفران زیادتر شود، زیرا تعداد سلول‌های ماهیچه صاف در این مناطق به طور فزاینده‌ای افزایش می‌یابد (۷) و احتمالاً افزایش انقباض در قسمت دم اپیدیدیم باعث افزایش درصد اسپرم‌های زنده در گروه دریافت‌کننده ۱۰ واحد بین‌المللی اکسی‌توسین در تحقیق حاضر شده است. تحقیقات نشان داده است که اکسی‌توسین در غده پروستات و سمینال جمع می‌گردد، بنابراین احتمالاً افزایش حجم منی در تحقیق حاضر به علت افزایش ترشحات این دو غده و افزایش درصد اسپرم‌های زنده به علت افزایش ترشحات غده پروستات است. چون ترشحات این غده

اسیدپته منی را تنظیم و احتمالاً بر زنده‌مانی اسپرم اثر مثبت دارند (۵ و ۱۴). با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان گفت که تزریق عضلانی ۱۰ واحد بین‌المللی اکسی‌توسین سبب افزایش حجم، غلظت منی، درصد اسپرم‌های زنده و حرکت موجی می‌شود.

ر- تأثیر تزریق گنادوتروپین جفت اسب بر خصوصیات منی قوچ زل

با تزریق گنادوتروپین جفت اسب، ترشح آندروژن توسط سلول‌های لیدینگ صورت می‌گیرد. این موضوع تعداد گیرنده‌های انسولینی را روی سلول‌های لیدینگ افزایش داده و سبب افزایش ساخت استروئیدها می‌شود (۱). با افزایش ترشح تستوسترون از سلول‌های لیدینگ پس از تزریق گنادوتروپین جفت اسب، سلول‌های سرتولی که دارای گیرنده‌های تستوسترون و FSH هستند در پاسخ به این هورمون‌ها مواد شیمیایی گوناگونی چون پروتئین پیوند یابنده به آندروژن^۱ (ABP)، گلایکوپروتئین سولفات^۱ (SGP-1)، ترانسفرین گلایکوپروتئین سولفات^۲ (SGP-2)، اینهیبین و استرادیول می‌سازند. تمامی این محصولات اثر مثبت بر روند اسپرم‌سازی دارند (۱۹). سلول‌های سرتولی به دلیل داشتن آنزیم‌های مختلف از قبیل اسید فسفاتاز، نوکلئوتیداز، سیتوکروم اکسیداز و آنزیم‌های مختلف دهیدروژناز در روند اسپرماتوژنز نقش مهمی دارند. به این معنی که فعالیت این آنزیم‌ها باعث تکامل سلول‌های زاینده می‌شود. در این میان می‌توان به ارتباط سلول‌های زاینده و سرتولی اشاره نمود (۲۶). بنابراین بهبود پارامترهای منی مورد مطالعه در تحقیق حاضر با تزریق

گنادوتروپین جفت اسب، احتمالاً ناشی از افزایش ترشحات سلول‌های لیدینگ و سرتولی می‌باشد که در روند اسپرم‌سازی نقش اساسی دارند. شواهد نشان می‌دهند که تزریق هورمون‌های گنادوتروپین جفت و LH باعث تغییر گردش خون بیضه می‌شود که این تغییرات شامل تغییر در شدت جریان خون، جریان لنف و نفوذپذیری رگ‌های خونی می‌باشد. پاسخ به هورمون گنادوتروپین جفت به حضور سلول‌های لیدینگ و کنترل جریان خون بیضه وابسته است (۲۴). از سویی ارتباط میان کاهش اندازه و تعداد سلول‌های لیدینگ با تحلیل بیضه‌ها در فصل غیر تولید مثلی مشخص شده است. این موضوع باعث افزایش تدریجی لیپید در سیتوپلاسم این سلول‌ها، تحلیل لوله‌های گونادی و کاهش رفتارهای جنسی می‌شود (۲۵). پایان فعالیت سلول‌های لیدینگ باعث کاهش چرخه‌های آندروژن‌سازی شده که ممکن است منجر به تحلیل بیضه‌ها شود (۱۱). احتمالاً این مکانیسم در قوچ‌های خارج از فصل تولید مثل اتفاق می‌افتد، از طرفی با افزایش اندازه و تعداد سلول‌های لیدینگ پس از تزریق گنادوتروپین جفت اسب، ترشح آندروژن‌ها و اکسی‌توسین افزایش می‌یابد. احتمالاً مقادیری از این آندروژن‌ها با فعالیت آروماتازی در بدن به استرادیول‌ها (استروژن‌ها) تبدیل شده و به نظر می‌رسد که این استروژن‌ها در تنظیم فعالیت دستگاه تولید مثلی قوچ (برای مثال کنترل فعالیت انقباضی اپیدیدیمیس توسط اکسی‌توسین) نقش دارند (۱۳). احتمالاً این فرآیند در بهبود خصوصیات منی قوچ در تحقیق حاضر موثر بوده است.

1- Androgen binding protein

2- Sulphate-1-glycoprotein

3- Sulphate-2-glycoprotein

عملکرد سلول‌های لیدیگ را تحریک کرده و باعث تولید آندروژن می‌شود و تستوسترون تولیدی هم جهت بهبود اسپرماتوژنز و فعالیت بیضه در حیوانات هیپوفیز برداری شده بسیار موثر می‌باشد (۳۱).

براساس نتایج به دست آمده در این تحقیق، تزریق عضلانی ۶۰۰ واحد بین‌المللی گنادوتروپین جفت اسب موجب افزایش اندازه محیط کیسه بیضه، حرکت موجی، تحرک اسپرم‌ها، درصد اسپرم‌های طبیعی و غلظت اسپرم در فصل غیر تولید مثلی شد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی و مدیریت محترم گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر تشکر می‌گردد.

هاشیزومی و همکاران (۸) دریافتند که تزریق گنادوتروپین جفت اسب، بلوغ اسپرم موش‌های نر با بیضه‌های کوچک را تحریک می‌کند. قبل از استفاده از گنادوتروپین جفت اسب، لوله‌های سمینی فرس در موش‌های دارای بیضه کوچک، باریک بوده و اغلب سلول‌های زایا، شامل اسپرماتوگونی و یا اسپرماتوسیت‌های تحلیل رفته بودند. ۴۵ روز پس از کاربرد گنادوتروپین جفت اسب، اسپرماتوزوآهای بالغ در اپیدیدیم‌ها مشاهده شدند. علت افزایش غلظت اسپرم‌ها و افزایش محیط کیسه بیضه در قوچ‌ها پس از تزریق گنادوتروپین جفت اسب در تحقیق حاضر احتمالاً به دلیل وجود خاصیت FSH در گنادوتروپین جفت اسب می‌باشد که موجب رشد لوله‌های اسپرم ساز و افزایش قابل توجه تعداد اسپرماتیدها می‌شود (۳۰). FSH مانند گنادوتروپین جفت اسب

منابع

1. Arvy, L. 1962. Presence d'une activite steroïdo-3-β-ol-dehydrogenasique chez quelques Sauroïdes. *Cornpt. Acad. Rend. Sci.*, 255: 1803-1804.
2. Assinder, S., M. Cary, T. Parkinson and H. Nicholson. 2000. Oxytocin and vasopressin expression in the ovine testis and epididymis: Changes with the onset of spermatogenesis. *Biol. Reprod.*, 63: 448-456.
3. Bozkurt, T., G. Turk and S. Gur. 2007. Effect of exogenous oxytocin on serologic and seminal steroids and semen characteristics in rams. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 31: 303-309.
4. Ellis, L.C., J.R. Buhrlay and J.L. Hargrove. 1978. Species differences in contractility of seminiferous tubules and tunica albuginea as related to sperm transport through the testis. *Arch. Androl.*, 1(2): 139-146.
5. Ellis, L.C., M.D. Groesbeck and C.H. Farr. 1981. Contractility of seminiferous tubules as related to sperm transport in the male. *Arch. Androl.*, 6(4): 283-294.
6. Fuchs, U., C. Leipnitz and T.H. Lippert. 1989. The action of oxytocin on sperm motility. In vitro experiments with bull spermatozoa. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.*, 16 (4): 95-97.
7. Hafez, E.S.E. and B. Hafez. 2001. Reproductive in farm animals. Philadelphia, USA. Williams and Wilkins, Philadelphia; London. 509 p.
8. Hashizume, K., H. Tsuji, Y. Takagi and M. Rokutanda. 1996. Effects of eCG administration on the reproductive function in hypogonadal (hpg) male mice. *J. Reprod. Develop.*, 42: 47-53.
9. Hess, M.B. 2002. Influence of oxytocin and prostaglandin on semen characteristics and process of ejaculation in buffalo and bulls. M.Sc. thesis. Virginia Polytechnic Institute and State University. 47 pp.
10. Ibrahim, M.A. 1988. Influence of oxytocin and prostaglandin on semen characteristics and process of ejaculation in buffalo bulls. *Acta. Vet. Hung.* 36: 3-10.
11. Jones, R.E. 1970. Effect of season and Gonadotropin on testicular interstitial cells of California Quail. *The Auk.*, 87: 729-737.
12. Koyma, Y., Y. Oomura, S. Aou, L. Fugita and H. Yoshimatsu. 1988. Central control of sexual behavior. *Brain. Res. Bull.*, 20: 863-870.
13. Kridli, R.T., A.Y. Abdollah, B.S. Obeidat, R.I. Qudsieh., H.H. Titi and M.S. Awawdeh. 2007. Seasonal variation in sexual performance of awassi rams. *Anim. Reprod. Sci.*, 4: 38-41.
14. Nicholson, H.D. 1996. Oxytocin: a Paracrine regulator of prostatic function. *Rev. Reprod.*, 1: 69-72.
15. Nicholson, H.D. and L. Jenkin. 1995. Oxytocin and prostatic function. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 395: 529-538.
16. Nicholson, H.D., R.T.S. Worley, S.E. Guldenaar and B.T. Pickering. 1987. Ethan-1, 2-dimethanesulphonate reduces testicular oxytocin content and seminiferous tubule movements in the rat. *Endocrinol.*, 112: 311-316.
17. Palacin, I., J. Abeci, F. Forcada, A. Casao, J. Cebrian, T. Muino, C. Palacios and J. Pontes. 2008. Effects of exogenous melatonin treatment on out-of-season ram fertility. *Ital. J. Anim. Sci.*, 7: 199-206.
18. Paolo, C., V. Riccardo, C. Luigi, C. Simona, S. Guglielmina and V. Coiro. 2000. Effect of systemic oxytocin administration on dexamethasone-induced leptin secretion in normal and obese men. *Clin. Endocrinol. Metab.*, 85: 3683-3684.

19. Parkinson, T.J. and B.K. Follett. 1994. Effect of thyroidectomy upon seasonality in rams. *J. Reprod. Fert.*, 101: 51-58.
20. Rettori, V. and G. Canteros. 1997. Interaction between NO and oxytocin: Influence on LHRH release. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 30: 453-457.
21. Rezk, A., H. Al-Inany and M. Bedaiwy. 2004. Multiple intravenous oxytocin injection may yield sperm in azoospermic men scheduled for TESE. *Mid. Eas. Fertil. Societ. J.*, 9: 238-241.
22. Sarder, M.J.U. 2005. Scrotal circumference variation on semen characteristics of Artificial Insemination (AI) bulls. *J. Anim. Vet. Advan.*, 4(3): 335-340.
23. SAS Institute. 1999. *SAS/STAT Users Guide*. SAS Inc., NC.
24. Setchell, B.P. and F.F. Rommerts. 1998. The importance of leydig cells in the vascular response to hCG in the rat testis. *Int. J. Androl.*, 8(6): 436-440.
25. Sluiter, J.W. and G.T. Van Oordet. 1949. The influence of a gonadotrophin on the seasonal changes in the testis and deferent duct of the Chaffinch (*Fringilla coelebs*). *Quart. J. Micro. Sci.*, 90: 1-1
26. Tice, L.W. and R.J. Bennett. 1996. The fine structure localization of some testicular phosphatases. *Anat. Record.*, 147: 43-63.
27. Ungerfeld, R. and A. Bielli. 2008. No change detected in body weight, scrotal circumference, semen characteristics and sexual behaviour during the development of prepubertal Milchschaaf lambs after weekly administration of eCG. *Reprod. Domest. Anim.*, 43: 400-402.
28. Voglmayr, J.K. 1975. Output of spermatozoa and fluid by the testis of ram and its response to oxytocin. *J. Reprod. Fert.*, 43: 119-122.
29. Walch, K., R. Eder, A. Schindler and W. Feichtinger. 2001. The effect of single-dose oxytocin application on time to ejaculation and seminal parameters in men. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 18: 655-659.
30. Warita, K., K. Okamoto, K. Mutoh, Y. Hasegawa, Z.P. Yue, T. Yokoyama, Y. Matsomoto, T. Miki, Y. Takeuchi, H. Kitagawa, T. Sugavara and N. Hoshi. 2008. Activin A and equine chorionic gonadotropin recover reproduction dysfunction induced by neonatal exposure to an estrogenic endocrine disruptor in adult male mice. *Boil. Reprod.*, 78: 59-67.
31. Yokoki, Y. and A. Ogasa. 1980. Effect of FSH and testosterone propionate on spermatogenesis in the hypophysectomized immature male rats. *Jpn. J. Anim. Reprod.*, 26: 165-172.

Effect of Injection of Oxytocin and Equine Chorionic Gonadotropin Hormones on Semen Characteristics in Zel Ram During Nonbreeding Season

Y. Jafari Ahangari¹, Sh.A. Ghareveisi², M. Norozi³ and B. Parizadian Kavan⁴

Abstract

The aim of this research was to investigate the effects average of injection of Oxytocin and Equine Chorionic Gonadotropin hormones on semen characteristics of Zel ram during nonbreeding season. This experiment was carried out in the form of multiple Latin Square from late spring to early summer. Six rams with an weight of 45 kg were used for this research. Levels of 0, 5, 10 of Oxytocin hormone and levels of 0, 400 and 600 international unit (IU) of Equine Chorionic Gonadotropin hormone were injected intramuscularly. Results showed that injection of different levels of Oxytocin had not significant effect on scrotal circumference, sperm motility and abnormal sperm percentages ($P>0.05$). There was a significant differences between the levels of 5 and 10 IU of Oxytocin in comparison with control treatment for semen volume, mass motility, live sperm percentage, spermatozoa concentration per ml of semen and per ejaculation ($P<0.05$). The injection of different levels of Equine Chorionic Gonadotropin did not affect semen volume ($P>0.05$), but there was a significant difference between control treatment and levels of 400 and 600 IU of hormone for other semen characteristics ($P<0.05$). In conclusion, the intramuscular injection of 10 IU of Oxytocin and 600 IU of Equine Chorionic Gonadotropin hormones are recommended to improve Zel ram semen characteristics during nonbreeding season.

Keywords: Oxytocin, Equine Chorionic Gonadotropin, Zel ram, Semen characteristics

-
- 1- Associate Professor, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
 - 2- Assistant Professor, Islamic Azad University, Ghaemshahr Branch
 - 3- Former M.Sc. Student, Islamic Azad University, Ghaemshahr Branch
 - 4- Ph.D Student, of Animal Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources