تحليل مقارن لشكل الجريبات ونموها وأبعاد الأجنة لدى نعجات العواس بعد المعاملة بـ rFSH أو eCG

عبير أحمد العبدالله* أ. د. أميرة أومري** د. منصور أحمد***

الملخص

أجريت الدراسة على 16 نعجة عواس ولدت مرة واحدة على الأقل لتقييم إمكانية استبدال rFSH بـeCG في برامج تحريض الشبق خارج موسم التناسل .

قسمت النعجات عشوائياً إلى مجموعتين في كل منها 8 نعجات، وُقّت الشبق عند المجموعة الأولى (eCG) ببرنامج الإسفنجات المهبلية التقليدي المعتمد على البروجستيرون وحقن موجه المناسل المشيمائي الخيلي eCG عند سحب الإسفنجة، وعند المجموعة الثانية بحقن الهرمون المنشط للجريب المؤشب rFSH عند سحب الإسفنجة والهرمون المحرر لموجهات المناسل GnRH بعد 52 ساعة لتحريض الإباضة.

لقحت النعجات صنعياً عند أول ظهور للشبق، وتمّ مراقبة الجريبات المبيضيّة بجهاز الأمواج فوق الصوتيّة المزوّد بمسبرٍ خطيٍ عبر المستقيم بتردد 7.5 MHz. تمّ تشخيص الحمل بجهاز الأمواج فوق الصوتية في اليوم 35 بعد التلقيح، وقد كُررت العملية في اليوم 42 و44 و56 بعد التلقيح لتثبيت النتائج وقياس أبعاد الأجنة.

* طالبة ماجستير في قسم البيولوجيا الحيوانية، كلية العلوم، جامعة دمشق.
** أستاذ في قسم علم الحياة الحيوانية، كلية العلوم، جامعة دمشق.
*** باحث في إدارة بحوث الثروة الحيوانية، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق.

حللت البيانات الناتجة للتحليل الإحصائي باستخدام برنامج SAS 9.2.

لم تسجل فروق معنوية ($P>0.05$) في متوسطات أعداد الجريبات الصغيرة والمتوسطة بين مجموعتي الـ eCG والـ rFSH بعد 24 و48 ساعة من المعاملة بكلا الهرمونين، ولم يسجل وجود جريبات كبيرة الحجم عند النعجات مطلقاً، ولم تؤثر المعاملة الهرمونية بصورة معنوية في معدل النمو الجريبي ولا في طول الأجنة وعرضها عند النعجات.

بالنتيجة تبين أنه يمكن استخدام هرمون الـ rFSH لتحريض النمو الجريبي عند نعجات العواس خارج موسم التناسل.

الكلمات المفتاحية: eCG – rFSH – تحريض الشبق– نعجات عواس.

Comparative analysis of follicular morphology, growth and fetus dimensions of Awassi ewes after rFSH or eCG treatment

Abeer Ahmed Al Abdullah* **Dr.. Amera omri** **
Dr.. Mansour Ahmed***

Abstract

The study was carried out on 16 pluriparous Awassi ewes to assess the potential for replacing recombinant follicle stimulating hormone (rFSH) for Equine chorionic gonadotropin (eCG) in estrus induction programs during the non-breeding season.

The ewes were divided randomly into two groups, 8 ewes of each. The estrus was induced in the first experimental group using the traditional vaginal sponge program based on progesterone and eCG injection at sponges removal, and in the second experimental group with the administration of rFSH at sponges withdrawal, and with Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) after 52 hours for ovulation induction.

The ewes were artificially inseminated at the first estrus. The ovarian follicles were monitored by ultrasound with a rectal linear probe with a frequency of 7.5 MHz. Pregnancy was diagnosed ultrasonographicaly on

*Master's student at the Department of Animal Biology, Faculty of Science, Damascus University.
**Professor in the Department of Animal Biology, Faculty of Science, Damascus University.
***Researcher at the Department of Livestock Research, General Commission for Scientific Agricultural Research, Damascus.

days 35, 42, 44 and 56 after A.I. All data were analyzed statistically using the SAS® 9.2 software.

Non-Significant differences (P>0.05) were recorded in the mean numbers of small and medium follicles in both the eCG and rFSH groups. No large follicles were recorded after 24 and 48 hours of treatment with both hormones, and the hormonal treatment did not significantly affect the rate of follicular growth, the CRL and width of fetuses in ewes.

As a result, rFSH can be substituted for stimulate follicular growth in Awassi ewes during the nonbreeding season.

Keywords: eCG – rFSH – estrus induction - Awassi ewes.

المقدمة

توظف الأساليب الحديثة لرفع إنتاجية قطعان المجترات الصغيرة برامج تحريض الشبق خارج موسم التناسل وتعتمد هذه البرامج اعتماداً أساسياً على استخدام إحدى موجهات المناسل، ويعد أكثرها استخداماً موجّه المناسل المشيمائي الخيلي equine Chorionic Gonadotropin (eCG)، كونه يُظهر نشاطاً مشابهاً للهرمون الملوتن Lutenizing Hormone (LH) بنسبة 79% وللهرمون المنشط للجريب Follicle-Stimulating Hormone (FSH) بنسبة 59% (Roy وزملاؤه، 1999)، إضافة إلى رخص ثمنه وتوافره بكميات كبيرة وسهولة استخلاصه إذا ما قورن بموجهات المناسل الأخرى (الصالح، 2017).

استخدم هرمون eCG بكثرة عند معظم سلالات الأغنام والماعز ودرس تأثيره في الاستجابة المبيضية وإنتاج الأجنة داخل موسم التناسل وخارجه (El-Mokadem وزملاؤه، 2018 ؛ Fierro وOlivera-Muzante، 2017؛ Fonseca وزملاؤه، 2017 ؛ Knights وزملاؤه، 2015؛ Swelum وزملاؤه، 2015؛ Martemucci وD'Alessandro، 2011). بالرغم من النتائج الإيجابية المحققة بعد استخدام هذا الهرمون، إلا أن معدلات الاستجابة له انخفضت بعد تكرار المعاملة به نتيجة تشكل أضداد له عند الحيوانات المعاملة (Herve وزملاؤه، 2004؛ Roy وزملاؤه، 1999). أجري العديد من الدراسات بغرض تخفيض نسبة تشكل الأضداد لهذا الهرمون، إلا أنها لم تلق قبولاً واسعاً لعدم جدواها الاقتصادية. تجدر الإشارة إلى أن الطرائق البديلة عن طرائق تحريض الشبق خارج موسم التناسل كالدفع الغذائي أو تأثير الذكر أو الإضاءة هي طرائق مكلفة أيضاً ونتائجها متباينة جداً. تبين مؤخراً أن كفاءة موجه المناسل rFSH لاتقل عن eCG في الماعز الشامي (Saleh وAhmad، نتائج غير منشورة)، كما أن استخدامه آمن ولم تثبت الدراسات تشكيل أضداد له بعد المعاملة به.

بالرغم من النتائج الأولية المشجعة لاستخدام موجه المناسل آنف الذكر عند المعز الشامي تحت ظروف القطر العربي السوري إلا أنه لم يختبر على نعجات العواس، كما أن تطبيق استخدامه على تلك الحيوانات بحاجة إلى أمثلة قبل التوصية باعتماده لتحريض النمو الجريبي خارج موسم التناسل، ولذلك فقد هدفت الدراسة إلى استخدام rFSH كبديل عن eCG في برامج تحريض الشبق خارج موسم التناسل ومقارنة تأثيره في مؤشرات النمو الجريبي ونسبة الإخصاب وأبعاد الأجنة لدى نعجات العواس.

مواد البحث وطرائقه

أولاً- مكان تنفيذ البحث

نفذ البحث في محطة بحوث دير الحجر للأغنام، التابعة للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية خارج الموسم التناسلي لعام 2020 (كانون الثاني –أيار).

حُصنت الحيوانات ضد البروسيلا، الحمى القلاعية والتذيفن الدموي، وأجريت عليها الفحوصات الطبية الكاملة للتأكد من خلوها من الأمراض قبل إدخالها في الدراسة.

قدم للنعجات خلال الأشهر الأولى من الحمل عليقة مؤلفة من 0.8 كغ/رأس علف مركز، مؤلف من حبيبات عليقة أبقار حلوب مرتين في اليوم، بالإضافة إلى تقديم تبن الشعير والحجر الملحي والماء بشكل حر، ثم زيدت كمية العلف المركز إلى 2.5 كغ/رأس خلال الشهرين الأخيرين من الحمل.

ثانياً- حيوانات الدراسة

أجريت الدراسة على 16 نعجة عواس، ولدت مرّةً واحدةً على الأقل، بعمر 2–8 سنواتٍ وبوزنٍ تراوح بين 47–69 كغ، من قطيع التربية في محطة بحوث دير الحجر التابعة للهيئة العامّة للبحوث العلميّة الزراعيّة خارج موسم التّناسل 2020. وزعت النعجات إلى مجموعتين ضمت كلٍّ منها 8 نعجات (مجموعة شاهد eCG ومجموعة rFSH) في حظيرةٍ مغلقةٍ مفروشةٌ بالتبن، مُلحقٌ بها مسرحٌ خارجيٌّ ذو أرضيّةٍ إسمنتيّة.

تمّ توقيت الشبق عند نعجات الشّاهد (n=8) بالبرنامج التقليديّ المُعتمد على إدخال إسفنجات مهبليّة من البولي يوريثين مشبّعةٌ كلٌ منها بمقدار 60 مغ من خلّات هيدروكسي بروجيسترون (Esponjavet، ®Hipra إسبانيا) لمدة 14 يوماً مع حقن 500 وحدة دولية من هرمون eCG(Gonaser، ®Hipraإسبانيا) في يوم نزع الإسفنجات وتم توقيت الشبق عند نعجات المجموعة الثانية (n=8) بإدخال الإسفنجات المهبلية لمدة 14 يوماً وحقن25 وحدة دولية من الـ rFSH، بالتزامن مع نزع الإسفنجات المهبليّة، حقنت النعجات بعد 52 ساعة بـ 1مل من هرمون GnRH، ولقحت النعجات صنعياً بعد 12–16 ساعة من جرعة GnRH باستخدام سائل منوي طازج ممدد جمع مباشرة قبل التلقيح.

ثالثاً– الفحص المبيضي وتشخيص الحمل

فُحصت مبايض جميع نعجات الدراسة يومياً، لمدّة 5 أيامٍ اعتباراً من يوم حقن هرمون eCG والـ rFSH، باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتيّة (HS-2000V، Honda Electronics، اليابان) مزوّدٌ بشاشة فيديو مدمجةٍ قياس 9 بوصاتٍ ذات 256 سويّةً رماديّةً. يعمل هذا الجهاز بالطّريقة الخطيّة B-Mode Linear Real Time، وكمشعرٍ للجهاز أُستخدم مسبرٌ خطّيٌّ عبر المستقيم (HLS-475VWF) بترددٍ قدره 7.5MHz لقياس أقطار الجريبات الموجودة على كلّ مبيضٍ بمساعدة مسماكٍ الكترونيٍ وعدّها. كما أُستخدم جلٌّ خاصٌ كوسطٍ ناقلٍ بين رأس المشعر ومخاطيّة المستقيم. قُسّمت الجريبات بحسب قطرها إلى جريباتٍ صغيرةٍ بقطر أقل أو يساوي 3 مم وجريباتٍ متوسطة الحجم بقطر (3– 7 مم) وجريبات كبيرة الحجم بقطر أكبر أو يساوي 7 مم. حُسب معدل النمو الجريبي (مم / يوم) بعد تحديد المواقع النسبيّة للجريبات على المبايض في أيّام الفحص المبيضيّ المتتالية، ومن ثمّ تم حساب متوسط قطر جميع جريبات مبيضي كل نعجة في يوم الفحص المبيضيّ وطرحه من متوسط قطر جريبات مبيضي لذات الحيوان في اليوم السابق.

أُجري تشخيص الحمل في اليوم 35 بعد التلقيح باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتيّة آنف الذكر، وسُجّلت حالات وجود الأجنّة وعددها، وقد كُررت العملية في اليوم 42 و49 و56 بعد التلقيح، لتثبيت النتائج وقياس أبعاد الأجنة.

رابعاً- التحليل الإحصائي

أخضعت جميع البيانات الناتجة للتحليل الإحصائي، باستخدام نظام التحليل الإحصائيّ (SAS 9.2; 2008). حُسبت المتوسطات للمؤشّرات المدروسة بواسطة تعليمة MEANS، وأُختبرت الفروق بين متوسطات وأقطار الجريبات وأعداد الأجنّة وقياساتها بين مجموعتي الدراسة في حال وجودها بحسب اختبار TUKEY المُدرج ضمن تعليمة GLIMMIX.

النتائج

يظهر الجدول (1) نتائج فحص مبايض نعجات مجموعتي الدراسة بحسب أقطارها، إذ لم تسجل فروق معنوية ($p<0.05$) بين متوسطات أعداد الجريبات الصغيرة والمتوسطة بين مجموعتي الـ eCG والـ rFSH بعد 24 و48 ساعة من المعاملة بكلا الهرمونين، ولم يسجل وجود جريبات كبيرة الحجم عند النعجات مطلقاً في كلا المجموعتين.

الجدول (1) متوسطات أعداد الجريبات عند معاملة نعجات العواس خارج موسم التناسل بـ eCG و rFSH وبعدها بـ 24 ساعة و 48 ساعة

المدة/سا نسبةً لجرعة موجه المناسل	حجم الجريب	مجموعة eCG		مجموعة rFSH		Pr>l t l
		المتوسط	SE	المتوسط	SE	
0	صغير	10.00[a]	0.65	7.88[b]	0.58	0.029
	متوسط	–		–		
	كبير	–		–		
24	صغير	6.00[a]	0.78	7.63[a]	1.77	0.415
	متوسط	4.63[a]	1.18	3.75[a]	1.37	0.636
	كبير	–		–		
48	صغير	4.63[a]	0.80	3.38[a]	0.84	0.84
	متوسط	6.50[a]	0.98	7.38[a]	0.75	0.75
	كبير	–		–		

تشير الأحرف العلوية المتخالفة ضمن السطر الواحد إلى وجود فروق معنوية ($p<0.05$).

ولقد انخفضت أعداد الجريبات الصغيرة في مجموعة eCG بعد 24 ساعة بصورة أكبر من مجموعة rFSH، واستمر الانخفاض في أعدادها بعد 48 ساعة في كلتا المجموعتين، وسجل وجود 4.63 و3.75 جريباً متوسطاً عند مجموعتي eCG وrFSH على التتالي بعد 24 ساعة من المعاملة، وقد ازدادت أعدادها إلى 6.5 و7.38 جريباً بعد 48 ساعة.

الجدول (2) معدّل النمو الجُريبيّ (مم/اليوم) بعد معاملة نعجات العواس خارج موسم التناسل بـ eCG أو rFSH بـ 24 ساعة و48 ساعة

المدة/سا بعد جرعة موجه المناسل	مجموعة eCG		مجموعة rFSH		Pr>l t l
	المتوسط	SE	المتوسط	SE	
24	1.40[a]	0.14	1.44[a]	0.20	0.607
48	1.09[a]	0.16	1.17[a]	0.17	0.296

تشير الأحرف العلوية المتماثلة ضمن السطر الواحد إلى عدم وجود فروق معنوية (p>0.05).

لم تسجل فروق معنوية في معدل النمو الجريبي بين مجموعتي التجربة سواء بعد 24 أو48 ساعة من حقن موجه المناسل (جدول 2)

لم تؤثر المعاملة الهرمونية بالـ eCG والـ rFSH في طول الأجنة (جدول 3) أو عرضها (جدول4) (p>0.05).

الجدول (3) متوسط المسافة (سم) من أعلى الرأس وحتى عجز أجنة نعجات العواس المعاملة خارج موسم التناسل بـ eCG أو rFSH وذلك في الأيام 35 و41 و49 بعد التلقيح

يوم بعد التلقيح	مجموعة eCG		مجموعة rFSH		Pr>l t l
	المتوسط	SE	المتوسط	SE	
35	1.65[a]	0.19	1.43[a]	0.21	0.48
42	1.79[a]	0.22	1.98[a]	0.13	0.58
49	3.89[a]	0.32	3.63[a]	0.38	0.61

تشير الأحرف العلوية المتماثلة ضمن السطر الواحد إلى عدم وجود فروق معنوية (p>0.05).

الجدول (4) متوسط عرض أجنة نعجات العواس (سم) المعاملة خارج موسم التناسل بـ eCG أو rFSH وذلك في الأيام 35 و 41 و49 بعد التلقيح

يوم بعد التلقيح	مجموعة eCG		مجموعة rFSH		Pr>l t l
	المتوسط	SE	المتوسط	SE	
35	1.08[a]	0.18	0.85[a]	0.10	0.42
42	0.90[a]	0.08	1.08[a]	0.14	0.27
49	1.94[a]	0.32	2.02[a]	0.26	0.86

تشير الأحرف العلوية المتماثلة ضمن السطر الواحد إلى عدم وجود فروق معنوية (p>0.05).

الجدول (5) معدلات الحمل عند النعجات المعاملة خارج موسم التناسل بـ eCG أوrFSH

	النعجات	
	مجموعة الـrFSH	مجموعة الـ eCG
نسبة الحمل	%100	%100

المناقشة

أدت المعاملة بـ rFSH أو eCG مع إسفنجات مهبلية إلى نتائج متماثلة بخصوص نماذج التطور الجريبيّ إذ بينت نتائج فحص مبايض نعجات مجموعتي الدراسة بحسب أقطارها عدم وجود فروق معنوية (p>0.05) بين متوسطات أعداد الجريبات الصغيرة والمتوسطة بين مجموعتي الـ eCG والـ rFSH بعد 24 و48 ساعة من المعاملة بكلا الهرمونين ولم يسجل وجود جريبات كبيرة الحجم عند النعجات مطلقاً ،وهذا يتوافق مع نتائج بعض الباحثين (Holtz، 2005؛ Martinez-Ros وGonzalez-Bulnes، 2019).

استخدم في هذا البحث هرمون الـ rFSH كبديل مقترح لأن هرمون الـ eCG يحرض تشكيل أضداد عند الحيوانات المعاملة (Roy وزملاؤه، 1999) .

يرجع انخفاض أعداد الجريبات الصغيرة في مجموعة eCG وrFSH بعد 24 و48 ساعة إلى حقيقة أنّ هذه الجريبات نمت لأحجام أكبر بتأثير الهرمونين آنفي الذكر، وما يدعم ذلك أن أعداد الجريبات متوسطة الحجم قد زادت بصورة خطية بعد المعاملة ووصلت إلى 6.5 و7.38 جريباً.

يدل عدم وجود فروق معنوية ($p>0.05$) في معدل النمو الجريبي بين مجموعتي الدراسة بعد المعاملة الهرمونية على أن كفاءة موجه المناسل rFSH لاتقل عن eCG وهذا يتوافق مع دراسة لم تنشر بعد (Saleh وAhmad)، كما أن استخدامه آمن ولم تثبت الدراسات تشكيل أضداد له بعد المعاملة به،إن المعاملة الهرمونية بالـ eCG والـ rFSH لم تؤثر في طول وعرض الأجنة لدى النعجات خلال فترة الدراسة .

يمكن الاستنتاج أن استخدام هرمون الـ rFSH يمكن اعتماده كبديل عن eCG في برامج تحريض الشبق عند نعجات العواس خارج موسم التناسل، تحت ظروف القطر العربيّ السوريّ.

المراجع References

الصالح. م. 2017 . فيزيولوجيا الحيوان. منشورات جامعة دمشق.

El-Mokadem MY, Nour El-Din A, Ramadan TA, Rashad AM, Taha TA, Samak MA, Salem MH. (2018). Effectiveness of controlled internal drug release device treatment to alleviate reproductive seasonality in anestrus lactating or dry Barki and Rahmani ewes during non-breeding season. Reprod Domest Anim. 53(2):319-325.

Fierro S, Olivera-Muzante J. (2017). Long interval prostaglandin as an alternative to progesterone-eCG based protocols for timed AI in sheep. Anim Reprod Sci. 180:78-84.

Fonseca JF, Souza-Fabjan JMG, Oliveira MEF, Cruz RC, Esteves LV, Matos de paiva MPSL, Brandão FZ, Mancio AB.(2017). Evaluation of cervical mucus and reproductive efficiency of seasonally anovular dairy goats after short-term progestagen-based estrous induction protocols with different gonadotropins. Reprod Biol. 17(4):363-369.

Herve V, Roy F, Bertin J, Guillou F, Maurel MC.(2004). Anti-equine chorionic gonadotropin (eCG) antibodies generated in goats treated with eCG for the induction of ovulation modulate the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone bioactivities of eCG differently. Endocrinology. 145(1):294-303.

Holtz, W. (2005). Recent developments in assisted reproduction in goats. Small Rum. Res., 60: 95-110.

Holtz, W., B.Sohnrey, M. Gerland, and Driancourt, M.-A. (2008). Ovsynch synchronization and fixed-time insemination in goats. Theriogenology, 69:785-792.

Knights M, Redhead A, D'Souza K, Baptiste Q.(2015). Effect of stimulation with a gonadotropin mixture on reproductive outcome in nulliparous ewes bred during seasonal anestrus and early breeding season. Anim Reprod Sci. 159:198-204.

Martemucci G, D'Alessandro AG.(2011). Induction/synchronization of oestrus and ovulation in dairy goats with different short term treatments and fixed time intrauterine or exocervical insemination system. Anim Reprod Sci. 126(3-4):187-94.

Martinez-Ros P, Gonzalez-Bulnes A. (2019). Efficiency of CIDER-based protocols including GnRH instead of eCG fo estrus synchronization in Sheep. Animals. 9(4), 146.

Roy F, Maurel MC, Combes B, Vaiman D, Cribiu EP, Lantier I,Pobel T, Delétang F, Combarnous Y, Guillou F.(1999). The negative effect of repeated equine chorionic gonadotropin treatment on subsequent fertility in Alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex. Biol Reprod. 60 (4) 805 -813.

Swelum AA, Alowaimer AN, Abouheif MA.(2015). Use of fluorogestone acetate sponges or controlled internal drug release for estrus synchronization in ewes: Effects of hormonal profiles and reproductive performance. Theriogenology. 84(4):498-503.

تاريخ الموافقة 2021/2/10