نشریه علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران؛ ۱۴۰۳؛ ۱۸(۱): ۹۱-۹۹.
http://doi.org/10.22034/IJVCS.2024.14303.1043

بررسی ارتباط غلظت سرمی مس، مولیبدن، آهن و استروژن با میزان زایمان میش‌های شهرستان شهر بابک در تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی

حسن رضائی[۱]، سید مرتضی آقامیری[۲*]، ندا اسکندرزاده[۳]، احسان الله سخایی[۲]، سعید نظیفی[۴]، فرنوش بخشائی[۵]

۱. دکتری حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان- ایران.
۲. گروه علوم درمانگاهی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان- ایران.
۳. گروه علوم پایه، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان- ایران.
۴. گروه علوم درمانگاهی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۵. دکتری تخصصی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.

دریافت: ۶ فروردین‌ماه ۱۴۰۲ **پذیرش:** ۱۹ اسفندماه ۱۴۰۲

چکیده

آلاینده‌های ناشی از کارخانه ذوب مس شهرستان شهربابک حاوی مقادیر قابل توجهی مس است که می‌تواند به شکل گرد و غبار روی گیاهان این منطقه نشسته و سبب مسمومیت با مس در گوسفندان شود. هدف از این پژوهش بررسی همبستگی غلظت سرمی عناصر معدنی کمیاب شامل مس، مولیبدن و آهن با میزان زایمان در تلقیح مصنوعی لاپاروسکوپی میش‌های شهربابک بود. به این منظور در ۵۰۰ راس میش از گله‌های شهرستان شهربابک واقع در فواصل مختلف از کارخانه مس همزمان‌سازی فحلی صورت گرفت. همزمان با فحلی و پیش از تلقیح مصنوعی، خون‌گیری از ۱۷ درصد از میش‌های هر گله برای ارزیابی غلظت عناصر معدنی کمیاب: مس، مولیبدن و آهن و همچنین هورمون استروژن انجام شد. سپس تلقیح مصنوعی با اسپرم منجمد به روش لاپاروسکوپی، ۴±۵۲ ساعت پس از تزریق هورمون eCG انجام گردید. نتایج نشان داد که گله خاتون‌آباد با کمترین فاصله نسبت به کارخانه مس (۱۰ کیلومتر) دارای سطوح بالای مس، مولیبدن و آهن در مقایسه با سایر گله‌ها بود (P<۰/۰۵)؛ با این حال، هیچ ارتباطی بین غلظت مس، مولیبدن و استروژن با میزان زایمان وجود نداشت. بین غلظت آهن سرم و میزان زایمان رابطه وجود داشت، به این صورت که با افزایش آهن به‌صورت حد مرزی شانس زایمان افزایش یافت (P<۰/۰۵). از این رو، یافته‌های حاضر نشان می‌دهد که فاصله کم گله از کارخانه مس منجر به سطوح بالای مس، مولیبدن و آهن در سرم میش می‌شود. با این حال، تاثیری بر میزان زایمان در تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی ندارد؛ هر چند پژوهش‌های بیشتری برای اثبات این ادعا لازم است.

واژه‌های کلیدی: تلقیح مصنوعی؛ آبستنی؛ گوسفند؛ عناصر کمیاب

مقدمه

سطح سرمی عناصر معدنی کمیاب تحت تأثیر طیف وسیعی از عوامل پاتولوژیک (نظیر انواع بیماری‌های عفونی و غیر عفونی) و فیزیولوژیک (همچون تغذیه، سن، جنس، آبستنی، شیرواری و شرایط محیطی) قرار دارد (۴، ۱۵ و ۲۱). بنابراین بررسی تغییرات سطح سرمی این عناصر در ارزیابی وضعیت متابولیکی و سلامتی دام‌ها حائز اهمیت است. میزان ماده معدنی خاک به‌عنوان یک عامل اصلی تعیین کننده‌ی مواد معدنی گیاه و در نتیجه مواد خوراکی مورد استفاده در دام‌ها است. بنابراین یکی از علل زیادی یا کمبود مواد معدنی در تغذیه دام به خاک محل پرورش گیاهان منطقه مربوط می‌شود (۱۸). شهربابک یکی از شهرستان‌های غربی استان کرمان در ایران است که دارای معادن غنی مس است. به‌خاطر وجود معادن مس و آلودگی‌های کارخانه ذوب مس در این منطقه، گرد و غبار موجود روی گیاهان حاوی مقادیر بسیار زیادی از مس

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: aghamirimorteza@uk.ac.ir

است که گاهی باعث مسمومیت گوسفندان منطقه نیز می‌شود (۱). بررسی‌ها نشان می‌دهد که با فاصله گرفتن از معدن از درجه آلودگی به مس در مسیر کاسته می‌شود که نشان‌دهنده نقش معدن در ایجاد آلودگی به عنصر مس در خاک‌های این منطقه است (۱). علاوه بر مقدار مس خاک، جذب مس تحت تاثیر عوامل مختلفی از قبیل فرم شیمیایی مس، میزان مواد آلی و سایر مواد معدنی جیره قرار می‌گیرد. به‌عنوان مثال مقادیر بالای مولیبدن، روی، کادمیوم، آهن و سرب موجود در جیره باعث اختلال در جذب مس و مقادیر کم این عناصر باعث تجمع مس در بدن می‌شود (۱۴).

مس در عملکرد چندین کوپروآنزیم نقش دارد که برای زندگی ضروری هستند. سرولوپلاسمین که حاوی مس است تبدیل یون فریک را به فرو تسهیل کرده و به این ترتیب باعث افزایش جذب آهن از دستگاه گوارش و همچنین گردش آهن از بافت‌های ذخیره‌ای به پلاسما می‌شود (۱۳). مس نقش مهمی در فعالیت دوپامین بتا-مونواکسیژناز دارد که کاتالیز هیدروکسیلاسیون دوپامین به نورآدرنالین را انجام می‌دهد. این کاتکول آمین‌ها انتقال‌دهنده عصبی دخیل در ترشح هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH) هستند که موجب ترشح FSH و در نتیجه القای تخمک‌گذاری می‌شود (۲۰).

پژوهش‌های درون‌تنی نشان دادند که دریافت سولفات مس باعث ایجاد اثرات زیان‌آوری بر روی اندامک‌های فولیکول در تخمدان موش صحرایی می‌شود (۵). این پژوهش‌ها نشان دادند که دریافت خوراکی سولفات مس با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در کوتاه مدت (۱۴ روز) باعث کاهش تعداد فولیکول‌های انترال شد و این در حالی بود که دریافت دوزهای بالاتر (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و یا دریافت بلندمدت مس (۳۵ روز) باعث کاهش انواع فولیکول‌ها، کاهش جسم زرد و همچنین تخریب میتوکندری شد (۵).

آثار تخریبی وابسته به دوز مس توسط پژوهش‌های برون‌تنی نیز اثبات شده است. به طوریکه اضافه کردن سولفات مس به محیط کشت سلول‌های گرانولوزای تخمدان خوک بر استروئیدوژنز و فولیکوژنز این سلول‌ها تاثیر گذاشت (۲۰). اضافه کردن ۲ میکرولیتر سولفات مس به ازای هر میلی‌لیتر محیط کشت، باعث کاهش تولید پروژسترون، آزاد شدن فاکتور رشد شبه‌انسولینی و افزایش پپتیدهای مرتبط با اپوپتوزیز شد. این نتایج در صورتی است که اضافه کردن دوزهای پائین‌تر مس به محیط کشت باعث کاهش اپوپتوزیز سلول‌های گرانولوزا شد. در این مطالعه همچنین نشان داده شد که تداخل دوزهای بالای مس با مسیرهای رشد و تکثیر سلول‌های گرونولوزا به واسطه هورمون‌ها و پپتیدهای داخل سلولی نظیر سیکلین بی۱ انجام می‌شود (۲۰).

گوسفند نسبت به سایر نشخوارکنندگان به افزایش مس حساس است و مسمومیت مزمن مس به‌عنوان یک خطر در تولید مثل شناخته می‌شود (۶). به‌عنوان مثال، Murawski و همکاران اثر دوزهای متفاوت مس را در مدت ۳۰ روز بر روی سیستم تولید مثلی گوسفند بررسی کردند و مشاهده کردند که در دو گروه میش‌هایی که در معرض ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم مس بودند، غلظت مس در خون و کبد افزایش یافت و همچنین الگوی موج‌های فولیکولی مختل و مشکلاتی در باروری و آبستنی در هر دو گروه رخ داد. در گروه شاهد همه میش‌های تلقیح شده آبستن شدند و هیچ جنین در حال مرگ یا ختم زودرس آبستنی مشاهده نشد. با این حال، تنها ۵۰ درصد از میش‌های گروه دریافت‌کننده ۵۰ میلی گرم مس، بره به دنیا آوردند. این پژوهشگران عنوان کردند که پس از ۱۰ ماه در معرض قرار گرفتن روزانه ۱۰ میلی گرم مس، هیچ نشانه‌ای از سمیت در شرایط فیزیولوژیکی و تولید مثل در میش‌ها مشاهده نشد (۱۶).

جذب عناصر در حیوانات، به نوع جیره غذایی و تداخل عمل بین اجزای جیره بستگی دارد. مشخص شده است که افزایش اندک مقادیر مولیبدن، گوگرد و آهن جیره می‌تواند سبب کاهش قابل ملاحظه جذب مس در نشخوارکنندگان شود. مولیبدن و سولفات بالای جیره وقتی وارد شکمبه دام‌ها شود، به واسطه سنتز میکروبی تیومولیبدات، به یک ترکیب غیر قابل جذب با مس در شکمبه تبدیل شده که از جذب مس در شکمبه جلوگیری می‌کند. همچنین مقادیر بالای آهن جیره پس از ترکیب با گوگرد سبب تشکیل کمپلکس محلول سولفید آهن شده که این ترکیب می‌تواند در شکمبه و در ترکیب با مس، نامحلول و غیر قابل جذب گردد (۱۸).

فولیکولوژنز یک فرآیند طولانی است که منجر به ایجاد یک فولیکول قبل از تخمک گذاری می‌شود. این شامل چندین مرحله بلوغ است، که در نهایت یک فولیکول غالب را آزاد می‌کند. رشد فولیکول بعد از مرحله پیش آنترال وابسته به گنادوتروپین است و با افزایش تولید استروژن، عمدتاً استرادیول 17b (E2) مرتبط است. این نتیجه اثر گنادوتروپین‌ها بر روی سلول‌های تیکا و گرانولوزای فولیکول در حال رشد است. حداکثر تولید استروژن در سطح فولیکول قبل از تخمک گذاری اتفاق می‌افتد، به دلیل ارتباط نزدیک بین مراحل پیشرفته فولیکولوژنز و تولید استروژن، استروژن به عنوان نشانگر رشد فولیکولی هم در چرخه طبیعی و هم در چرخه تحریک شده استفاده شده است (۱۰).

اطلاعات اندکی در رابطه با اثر سطح عناصر معدنی کمیاب سرم در میزان آبستنی نشخوار کنندگان کوچک وجود دارد (۳ و ۲۳). بنابراین هدف از انجام این مطالعه بررسی غلظت سرمی عناصر معدنی کمیاب مس، مولیبدن و آهن و همچنین هورمون استروژن در میش‌های شهرستان شهربابک پیش از تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی اندازه‌گیری شد و ارتباط بین میزان این فاکتورهای خونی و ارتباط بین مسافت گله تا کارخانه با میزان آبستنی و زایمان بود.

مواد و روش کار

در این پژوهش به گله‌های مستقر در شهرستان شهربابک در استان کرمان در فصل تابستان مراجعه شد و در ۵۰۰ میش همزمان سازی فحلی صورت گرفت. میش‌های بالغ ۲ تا ۵ سال سن با وزن ۳±۴۳ کیلوگرم انتخاب شدند. تغذیه گوسفندان با استفاده از مراتع اطراف محل نگهداری آنها بود. برای همزمان سازی به مدت ۱۳ روز اسفنج مهبلی حاوی پروژسترون (ESPONJAVET®, HIPRA, Spain) استفاده شد. همزمان با برداشت اسفنج، میزان ۴۰۰ واحد هورمون گونادوتروپین جفتی اسب (equine Chorionic Gonadotropin (eCG)) (GONASER®, HIPRA, Spain) تزریق و عملیات تلقیح مصنوعی لاپاروسکوپی ۴±۵۲ ساعت پس از برداشت اسفنج و تزریق هورمون انجام شد. پیش از انجام لاپاروسکوپی، میش‌ها ۲۴ ساعت پرهیز آب و غذا داشتند.

جهت انجام تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی میش‌ها در تخت‌های ویژه به پشت مهار شدند. این تخت‌ها متحرک بوده و با زاویه ۴۵ درجه قرار می‌گیرند. با استفاده از دو تروکار، دو منفذ در حدود ۸ سانتی‌متری قدام سرپستانک‌ها ایجاد شده و به‌منظور ایجاد فضای کافی برای انجام عملیات تلقیح، گاز دی‌اکسیدکربن به داخل شکم فرستاده شد. از یکی از منافذ اندوسکوپ سخت برای دیدن رحم و از دیگری پیپت تلقیح مصنوعی به داخل محوطه شکمی فرستاده شد. در مجرای هر یک از شاخ‌های رحم ۰/۲ میلی‌لیتر منی ذوب شده از نژاد Romanov تهیه شده توسط مرکز اصلاح نژاد دام ایران تخلیه شد. اسپرم‌ها در پایوت‌های ۰/۵ میلی‌لیتری با غلظت ۶۰ تا ۸۰ میلیون اسپرم در هر پایوت منجمد شده و حداقل ۵۰ درصد حرکت پیشرونده پس از ذوب داشتند. اسپرم‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد ذوب و پس از حداکثر ۵ دقیقه نگهداری در دمای ۳۵ درجه تلقیح می‌شدند. پس از انجام تلقیح، بر محل منافذ پوستی آنتی بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین اسپری شده و میش‌ها با دریافت ۴۰۰،۰۰۰ واحد بین‌المللی پنیسیلین جی پروکائین و ۴۰۰ میلی‌گرم دی‌هیدرواستریتومایسین رها شدند.

در هنگام تلقیح مصنوعی لاپاروسکوپی، قوام و رنگ شاخ‌های رحم ارزیابی شد. شاخ‌های رحم در دام‌های با فحلی ضعیف سفید مایل به خاکستری و با قوام کم و در میش‌های با فحلی مناسب قرمز رنگ و با قوام سفت بودند. هر چند تلقیح مصنوعی در تمامی دام‌ها (۵۰۰ راس) انجام شد لیکن نمونه‌های خون از دام‌های دارای فحلی مناسب گرفته و پس از حذف نمونه‌های دارای عوامل مخدوش کننده، ۸۹ نمونه (۱۷ درصد) در تجزیه و تحلیل آماری قرار داده شد.

قوچ اندازی میش‌ها دو هفته پس از تلقیح مصنوعی لاپاروسکوپی و با قوچ‌های بومی انجام شد و هیچ یک از گله‌ها دارای قوچ نژاد رومانوف نبودند.

بلافاصله پس از تلقیح مصنوعی لاپاروسکوپی، نمونه خون از طریق سیاهرگ وداج اخذ شده، در لوله آزمایش بدون ماده ضدانعقاد نگهداری و پس از لخته شدن با

استفاده از دستگاه سانتریفیوژ سرم خون جدا شد و تا زمان انجام آزمایشات در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سرعت در دستگاه سانتریفیوژ معادل ۴۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۱۰ دقیقه در نظر گرفته شد.

نمونه‌های سرمی جهت اندازه‌گیری عناصر معدنی کمیاب شامل مس، مولیبدن و آهن مورد استفاده قرار گرفتند. مقادیر عناصر با استفاده از روش اسپکتروسکوپی جذب اتمی با استفاده از دستگاه (Shimadzu AA670) ساخت شرکت شیمادزو کشور ژاپن از طریق حل‌کردن نیم میلی‌لیتر نمونه‌های سرمی در محلولی از اسید نیتریک و پرکلریک اسید در حمام آب ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت انجام شد. این محلول با توجه به دستورالعمل دستگاه در ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه شده، رقیق شد. برای هر کدام از عناصر معدنی کمیاب حجم مناسبی از این محلول رقیق شده، در بازه جذب اتمی اختصاصی قرار گرفت. به‌منظور اندازه‌گیری هورمون استروژن از کیت استرادیول ساخت شرکت مونوبایند آمریکا بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. اساس این کیت ایمونواسی آنزیمی رقابتی است که غلظت هورمون استرادیول را در سرم و یا پلاسما از طریق رنگ‌سنجی اندازه‌گیری می‌کند. حساسیت کیت استرادیول (*pmol/L*) ۳۰ بود.

هنگام تلقیح مصنوعی، اطلاعات میش‌ها مانند شماره گوش، سن و وضعیت فحلی و اطلاعات مربوط به گله مانند آدرس و مسافت از کارخانه مس به طور کامل ثبت شد. پس از انجام زایش‌ها به گله‌ها مراجعه و ثبت اطلاعات میش‌های زایمان کرده از تلقیح مصنوعی لاپاروسکوپی با توجه به نژاد بره‌ها و تاریخ زایش انجام شد.

به‌منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار IBM SPSS Statistics 25 استفاده شد. به این منظور پس از بررسی توصیفی گله‌ها و انجام تست نرمالیتی، ارزیابی ارتباط بین غلظت سرمی عناصر معدنی کمیاب با میزان زایمان با استفاده از آزمون رگرسیون لجستیک صورت گرفت. همچنین به‌منظور بررسی همبستگی بین مس با مولیبدن، آهن و استروژن از آزمون همبستگی اسپیرمن استفاده شد. اختلاف بین گله‌ها از نظر عناصر معدنی و استروژن توسط آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه One-way ANOVA و Kruskal-Wallis H انجام شد. لازم به‌ذکر است که در تمامی مراحل آنالیز سطح معنی‌داری آزمون کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

غلظت سرمی پارامترهای خونی مس، مولیبدن، آهن و استروژن در میش‌های شهر بابک پیش از تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی در جدول ۱ آورده شده است. همان‌گونه که در جدول شماره ۱ مشخص است، گله شماره ۱ (خاتون‌آباد) که کمترین مسافت را با کارخانه مس شهربابک داشته است (۱۰ کیلومتر) به‌صورت معنی‌داری بیشترین مس و مولیبدن نسبت به سایر گله‌ها داشت. همچنین میزان آهن سرم در گله شماره ۱ به طور معنی‌داری بالاتر از گله‌های شماره ۳، ۴ و ۷ بود. هیچ اختلاف آماری معنی‌داری از نظر استروژن بین گله‌ها دیده نشد.

بر اساس نتایج مدل رگرسیون لجستیک، با احتمال (P>۰/۰۵)، ارتباطی بین مسافت (مسافت گله تا کارخانه مس شهربابک) و میزان زایمان با تلقیح مصنوعی لاپاروسکوپی مشاهده نشد.

داده‌های زایمان مربوط به گله‌ها جمع‌آوری و همبستگی میان غلظت عناصر و استروژن با میزان زایمان آنالیز گردید. بر اساس نتایج مدل رگرسیون لجستیک، با احتمال (P>۰/۰۵)، ارتباطی بین میزان مس، مولیبدن و استروژن با میزان زایمان وجود ندارد. ارتباط آماری معنی‌داری بین میزان آهن و میزان زایمان وجود داشت (P=۰/۰۱)؛ البته با افزایش آهن شانس زایمان ناشی از تلقیح مصنوعی به‌صورت حد مرزی افزایش می‌یابد زیرا نسبت شانس کمی بیشتر از عدد یک می‌باشد (Exp (B) =۱/۱۱). همانگونه که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است، با استفاده از آزمون اسپیرمن بین میزان مس و مولیبدن سرم همبستگی مثبت معنی‌داری وجود داشت (r=۰/۳۹ و P=۰/۰۰). همچنین بین میزان مس و آهن سرم (r=۰/۱ و P=۰/۳۴) و بین میزان مس و استروژن سرم همبستگی معنی‌داری وجود نداشت (r=۰/۰۷ و P=۰/۴۹).

جدول ۱- غلظت سرمی (میانگین ± انحراف از معیار) عناصر معدنی کمیاب مس، مولیبدن، آهن و استروژن در میش‌های شهرستان شهر بابک

شاخص‌های ارزیابی شده	کد گله*							
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
تعداد میش در هر گله	۱۳	۷	۸	۲۹	۸	۴	۱۱	۹
درصد آبستنی در هر گله	۳۰	۰	۰	۲۷	۲۵	۰	۱۸	۰
فاصله هر گله تا کارخانه (km)	۱۰	۲۰	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۷۰	۱۱۰
مس (µmol/L)	۳۰/۱±۳۴/۵۹^{a}	۱۱/۰±۳۷/۷۰^{b}	۱۲/۰±۶۸/۶۹^{b}	۱۱/۰±۳۰/۳ ^{b}	۱۱/۰±۹۱/۳ ^{b}	۱۱/۰±۲۳/۳ ^{b}	۱۱/۰±۸۷/۵ ^{b}	۱۱/۰±۴۱/۵ ^{b}
مولیبدن (µmol/L)	۰/۰±۶۳/۰۱^{c}	۰/۰±۲۸/۰۱ ^{d}	۰/۰±۲۹/۰۱ ^{d}	۰/۰±۳۱/۰۰ ^{d}	۰/۰±۳۱/۰۱ ^{d}	۰/۰±۳۰/۰۲ ^{d}	۰/۰±۳۲/۰۱ ^{d}	۰/۰±۳۲/۰۱ ^{d}
آهن (µmol/L)	۳۸/۱±۲۵/۰۱^{e}	۳۲/۲±۹۴/۶۳ ^{f}	۲۹/۱±۸۱/۵۰ ^{f}	۳۱/۱±۳۵/۱۴ ^{f}	۳۶/۴±۱۶/۵۵ ^{f}	۳۳/۳±۳۷/۰۰ ^{f}	۳۰/۱±۸۹/۹۲ ^{f}	۳۳/۲±۱۸/۱۱ ^{f}
استروژن (pmol/L)	۴۵/۳±۵۴/۵۶	۳۹/۵±۳۷/۵۶	۳۸/۵±۷۷/۸۸	۴۴/۲±۷۸/۳۵	۴۳/۵±۱۸/۰۷	۴۸/۴±۵۲/۲۴	۴۰/۳±۶۲/۴۷	۳۹/۳±۵۰/۷۵

* با توجه به مسافت گله نسبت به کارخانه مس به هر گله یک کد اختصاص داده شده است؛ به این‌صورت‌که کد کوچکتر نشان‌دهنده مسافت کمتر گله نسبت به کارخانه مس است.

^{abcdef} حروف غیریکسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۲- همبستگی عناصر معدنی کمیاب مس، مولیبدن، آهن و استروژن در میش‌های شهرستان شهر بابک.

فاکتور خونی	آهن	مولیبدن	استروژن
مس	۰/۱ [b]	۰/۳۹ [a]	۰/۰۷ [b]

[ab] حروف غیریکسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد.

بحث

اختلال در میزان عناصر معدنی سرم می‌تواند منجر به کاهش عملکرد تولیدمثلی در دام‌های اهلی شود که در نهایت عواقب اقتصادی برای تولیدکنندگان ایجاد می‌کند؛ لیکن نقش تعادل این عناصر در دام‌های اهلی دست کم گرفته شده است (۲۴). وضعیت عناصر معدنی در خون دام آبستن، از طریق تأثیر بر کیفیت تخمک، سلامت جنین در طول بارداری و کیفیت آغوز، بر سلامت حیوانات به دنیا آمده اثر دارد (۵، ۱۵، ۱۷ و ۲۴). با این حال اطلاعات اندکی در رابطه با اثر سطح عناصر معدنی کمیاب سرم در میزان آبستنی نشخوارکنندگان کوچک وجود دارد. در این پژوهش غلظت سرمی عناصر مس، مولیبدن و آهن و همچنین هورمون استروژن در میش‌های شهرستان شهربابک پیش از تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی اندازه‌گیری و ارتباط بین میزان این فاکتورهای بیوشیمیایی با میزان زایمان بررسی شد. همچنین به‌دلیل اینکه نمونه‌ها از گله‌های متفاوت با مسافت مختلف از کارخانه پالایش مس انتخاب شدند، ارتباط بین مسافت گله تا کارخانه با میزان زایمان بررسی شد. نتایج نشان داد که گله خاتون‌آباد (گله شماره ۱) که کمترین مسافت (۱۰ کیلومتر) را با کارخانه مس شهربابک داشت، به‌صورت معنی‌داری دارای بیشترین غلظت سرمی مس، مولیبدن و آهن را نسبت به سایر گله‌ها بود. لیکن ارتباطی بین میزان مس، مولیبدن و استروژن با میزان زایمان وجود نداشت. همچنین ارتباطی بین مسافت گله تا کارخانه مس و میزان زایمان وجود نداشت. ارتباط بین میزان آهن و میزان زایمان وجود داشت به این‌صورت‌که با افزایش آهن شانس زایمان افزایش یافت. بین میزان مس و مولیبدن سرم همبستگی مثبت معنی‌داری وجود داشت.

در پژوهش حاضر گله شماره ۱ با کمترین مسافت نسبت به کارخانه مس، دارای بیش از دو برابر مس و مولیبدن نسبت به سایر گله‌ها بود و همچنین از نظر مس و آهن از محدوده طبیعی بیشتر بود. در گوسفند غلظت طبیعی برای مس، ($\mu mol/L$) ۹-۱۲ و برای آهن، ($\mu mol/L$) ۳۵/۱-۱۲/۵ است (۱۹). میزان مس به‌دست آمده در تمامی گله‌ها بجز گله شماره ۱ در محدوده‌ای کمتر از پژوهش Mohebbi-Fani و همکاران (۲۰۱۴) ($\mu mol/L$) ۲۲/۵ در گوسفندان دنبه‌دار آبستن (۱۵) همچنین میزان مس به‌دست آمده در تمامی گله‌ها از میزان مس سرمی پژوهش Aghajani و همکاران در سال ۱۴۰۰ در گوسفندان منطقه تالش بیشتر بود (۲). تفاوت بین گونه‌ای و همچنین عوامل محیطی نظیر نوع جیره، فصل و مولفه‌های میزبانی نظیر سن، تعداد شکم زایش، وضعیت آبستنی و میزان تولید شیر را می‌توان به‌عنوان عامل این تفاوت مطرح کرد (۱۵). کمبود مس در بهار و تابستان بیشتر شایع است چون دراین فصل‌ها میزان مس مزارع پایین است (۱۵). در پژوهش حاضر با وجود اینکه نمونه‌گیری در فصل تابستان انجام شد، مس سرمی تمامی گله‌ها در حد بالایی دامنه طبیعی بود اما گله شماره ۱ میزان مس بالاتری از آن داشت. بنابراین می‌توان گفت میزان مس بالای میش‌ها به‌دلیل حضور کارخانه مس است. مطالعات نشان دادند به‌دلیل وجود معادن مس و آلودگی‌های کارخانه ذوب مس در شهرستان شهربابک، گرد و غبار موجود بر روی گیاهان، حاوی مقادیر بسیار زیادی از مس است که برخی اوقات باعث مسمومیت گوسفندان منطقه می‌شود (۱). بررسی‌ها همچنین نشان دادند که با فاصله گرفتن از معدن از درجه آلودگی مس در مسیر کاسته می‌شود که نشان‌دهنده نقش معدن در ایجاد

آلودگی عنصر مس در خاک‌های منطقه است (۱) که با پژوهش حاضر همخوانی دارد.

در نشخوارکنندگان کمبود مس مادری با ناباروری، سقط جنین و همچنین به دنیا آمدن نوزادان با بیماری‌های اکتسابی سیستم عصبی همراه است (۱۲). به نظر می‌رسد که اضافه کردن مکمل عناصر کمیاب باعث افزایش میزان باروری در شرایط کمبود این عنصر می‌شود. Uslu و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که پائین بودن میزان مس و روی سرم باعث کاهش میزان باروری در گوسفندان می‌شود. این پژوهشگران میزان عناصر کمیاب ۴۰ گوسفند را قبل از جفت‌گیری اندازه‌گیری کرده و نشان دادند که ۹ گوسفندی که باردار نشدند همگی دارای مس و روی پائین‌تر از دامنه طبیعی در هنگام جفت‌گیری بودند (۲۳).

مسمومیت مزمن مس به خوبی به‌عنوان یک خطر در تولید مثل گوسفند شناخته شده است که معمولاً با کاهش شاخص‌های تولید و کاهش توانایی سازگاری با شرایط محیطی همراه است. اختلال در تولیدمثل گوسفند احتمالاً به‌دلیل جایگزینی مس با دیگر کوفاکتورهای فلزی مانند روی در دامنه انگشت روی (zinc finger) در گیرنده استروژن است (۱۶ و ۲۲).

مطالعات آزمایشگاهی اثر تراتوژنیک مس را بر روی رشد رویان موش ۹ روزه بررسی کردند. به این منظور پژوهشگران رویان را به مدت ۴۸ ساعت در سرم موش که با کلرید مس غنی شده بود قرار دادند و اثر مستقیم مس را بررسی کردند. در این رویان‌ها طناب نخاعی در سر تکامل نیافت و به‌صورت معنی‌داری تاخیر قابل توجه در رشد جنین مشاهده شد (۸). در پژوهش حاضر میزان زایش در گله ۱ هیچ گونه تفاوت معنی‌داری با سایر گله‌ها نداشت و همچنین تمامی بره‌های متولد شده در تمامی گله‌ها سالم بودند. بنابراین میزان مس زیاد (دو برابر دامنه طبیعی) نتوانست باعث ایجاد اثرات تاخیری در رشد و یا اثرات تراتوژنیک شود.

در نشخوارکنندگان مولیبدن موجود در علوفه از جذب مس پیشگیری می‌کند. به این ترتیب که در شکمبه، مولیبدن به همراه گوگرد ایجاد تیومولیبدات کرده که به‌عنوان شلاتور مانع جذب مس می‌گردد. این مسئله با پژوهش حاضر همخوانی ندارد زیرا نتایج نشان داد بین میزان مس و مولیبدن سرم همبستگی مثبت معنی‌داری وجود دارد که مطابق با سایر مطالعات است که نشان می‌دهد دریافت مزمن مقادیر اندک آنتاگونیست‌های مس مانند مولیبدن، آهن و روی باعث تجمع مس می‌شود (۶).

یافته های آزمایشگاهی نشان داده‌اند که آهن هم در تولید و هم در کیفیت رویان نشخوارکنندگان نقش دارد، اگرچه ممکن است در مراحل اولیه رشد در طول بلوغ تخمک ضروری نباشد (۱۱). Gao و همکاران گزارش کردند که افزودن مکمل آهن به محیط کشت رویان گاو، میزان رشد را تا مراحل ۸ سلولی، مورولا و بلاستوسیست افزایش داد. همچنین مکمل آهن تعداد سلول‌های آپوپتوز کننده را در رویان کاهش داد (۱۱). به‌صورت معمول، آهن به صورت مکمل به دام‌ها داده نمی‌شود، زیرا بسیاری از خوراکی‌های مصرف شده در یک رژیم غذایی، آهن کافی را فراهم می‌کنند. اگر آهن بیش از حد مصرف شود باید مراقب بود زیرا ممکن است اثرات متضاد با سایر مواد معدنی کمیاب مانند مس، منگنز، سلنیوم و روی ایجاد کند (۲۴). مطالعات نشان می‌دهد که افزایش دریافت آهن مانع جذب مس می‌گردد (۷). لیکن اثرات مسمومیت با مس با افزایش دریافت آهن مرتبط است؛ به این‌صورت‌که دریافت مزمن مقادیر اندک آنتاگونیست‌های مس مانند مولیبدن، آهن و روی باعث تجمع مس می‌شود (۶). برخی پژوهشگران اثرات متضاد مس و آهن را به حضور گوگرد مرتبط می‌دانند و اعتقاد دارند که افزایش آهن جیره منجر به کاهش جذب مس نمی‌شود. این پژوهشگران علت اصلی اثر متضاد مس و آهن را به حضور گوگرد در جیره نسبت می‌دهند، چرا که این مسئله در نوزادان که از خوراک دارای گوگرد کم تغذیه می‌کنند دیده نمی‌شود (۱۴). این یافته با نتایج حاضر هم‌خوانی دارد زیرا در این پژوهش گله شماره ۱ از نظر مس و آهن هر دو از دامنه طبیعی بیشتر بود و نه تنها حضور آهن زیاد از جذب مس جلوگیری نکرده است، بلکه به‌نظر می‌رسد افزایش مس سرم باعث افزایش جذب آهن شده باشد و در سایر گله ها افزایش آهن دیده نمی‌شود. حضور مس در پروتئین سرولوپلاسمین می‌تواند عامل این مسئله باشد زیرا که

تبدیل یون فریک به یون فرو را تسهیل کرده و به دنبال آن باعث افزایش جذب آهن از دستگاه گوارش می‌شود.

لازم به ذکر است که عوامل متعدد خارجی و داخلی می‌تواند بر درصد آبستنی حاصل از تلقیح مصنوعی در گوسفند تاثیر بگذارد. از عوامل خارجی تاثیرگذار می‌توان به کیفیت اسپرم، نحوه نگهداری اسپرم، تکنیک همسان‌سازی فحلی، آب و هوای منطقه جغرافیایی و از عوامل داخلی می‌توان به سن، نژاد، اختلالات ژنتیکی و آناتومی دهانه رحم حیوان اشاره کرد (۹). بنابراین یکی از محدودیت های پژوهش حاضر این است که گله های مورد مطالعه به غیر از فاصله از کارخانه از نظر پارامترهای داخلی ذکر شده نیز شرایط متفاوت داشتند، که احتمالا بر روی درصد زایمان تاثیر داشته است.

از یافته‌های این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که فاصله کم گله از کارخانه مس منجر به سطوح بالای مس، مولیبدن و آهن در سرم میش می‌شود. با این حال، تاثیری بر میزان زایمان در تلقیح مصنوعی لاپاروسکوپی ندارد؛ هر چند پژوهش‌های بیشتری برای اثبات این ادعا لازم است.

منابع

۱- گنجه ای زاده روحانی، فاطمه؛ صباغ، فرید؛ جانباز، محمد؛ یزدانی، صالح؛ رئیسی، سعید؛ شاکری، پیروز؛ کیومرثی، شهناز؛ اراوی، ذبیح؛ ایرانمنش، ایراندخت و امامی فر، محسن؛ بررسی مسمومیت ناشی از مس در گوسفندان منطقه خاتون آباد شهربابک؛ طرح پژوهشی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی؛ ۱۳۹۱.

2- Aghajani, S; Hassanpour, A; Amoughli, T.B. and Ganjkhanloo, A; Seasonal study for deficiency of some trace elements in sheep in Talesh area in 2019-2020. Anim. Sci. Res; 2021; 31(2).

3. Ahmed, W; El Khadrawy, H; Hanafi, E.M; Abd El Hameed, A.R. and Sabra, H; Effect of copper deficiency on ovarian activity in Egyptian buffalo-cows. World J. Zool; 2009; 4(1):01-08.

4. Aliarabi, H. and Fadayifar, A; Effect of slow-release bolus of Zn, Se and Co on performance and some blood metabolites of pregnant ewes and their lambs. Vet. Res. Biol. Prod; 2016; 29(4):45-56.

5. Babaei, H; Roshangar, L; Sakhaee, E; Abshenas, J; Kheirandish, R. and Dehghani, R; Ultrastructural and morphometrical changes of mice ovaries following experimentally induced copper poisoning. Iran. Red Crescent Med. J; 2012; 14(9):558.

6. Borobia, M; Villanueva-Saz, S; Ruiz de Arcaute, M; Fernández, A; Verde, MT; González, J.M; Navarro, T; Benito, A.A; Arnal, J.L; De Las Heras, M. and Ortín, A; Copper poisoning, a deadly hazard for sheep. Animals; 2022; 12(18):2388.

7. Byrne, L. and Murphy, R.A; Relative bioavailability of trace minerals in production animal nutrition: A review. Animals; 2022; 12(15):1981.

8. Checiu, I; Checiu, M; Tuduce, I; Ilut, I. and Hutanu, D; Teratogenic effects of copper upon early postimplantational mouse embryos–in vitro experimental investigation. Ann. West Univ. Timişoara, ser. Biol; 2008; 11:51-6.

9. El Amiri, B. and Rahim, A; Exploring endogenous and exogenous factors for successful artificial Insemination in sheep: A global overview. Vet. Sci; 2024; 11(2):86.

10. Erickson, G.F. and Shimasaki, S; The physiology of folliculogenesis: the role of novel growth factors. Fertil. Steril; 2001; 76(5):943-949.

11. Gao, G; Yi, J; Zhang, M; Xiong, J; Geng, L; Mu, C. and Yang, L; Effects of iron and copper in culture medium on bovine oocyte maturation, preimplantation embryo development, and apoptosis of blastocysts in vitro. J. Reprod. Dev; 2007; 53(4):777-84.

12. Gürdoğan, F; Yildiz, A. and Balikci, E; Investigation of serum Cu, Zn, Fe and Se concentrations during pregnancy (60, 100 and 150 days) and after parturition (45 days) in single and twin pregnant sheep. Turk. J. Vet. Anim; 2006; 30(1):61-64.

13. Helman, S.L; Zhou, J; Fuqua, B.K; Lu, Y; Collins, J.F; Chen, H; Vulpe, C.D; Anderson, G.J. and Frazer, D,M; The biology of mammalian multi-copper ferroxidases. Biometals; 2023; 36(2):263-281.

14. Hill, G.M. and Shannon, M.C; Copper and zinc nutritional issues for agricultural

animal production. Biol. Trace Elem. Res; 2019; 188:148-159.
15. Mohebbi-Fani, M; Mirzaei, A; Nazifi, S; Tabandeh, M. and Shabbooei, Z; Selenium, copper, zinc, manganese and their relevant antioxidant enzymes in plasma of grazing pregnant ewes during dry season. Istanb.Univ. Vet. Fak. Derg; 2014; 40(2):202-10.
16. Murawski, M; Bydlon, G; Sawicka-Kapusta, K; Wierzchos, E; Zakrzewska, M; Wlodarczyk, S; Molik, E. and Zieba, D; The effect of long term exposure to copper on physiological condition and reproduction of sheep. Reprod. Biol; 2006; 6(Suppl 1):201-6.
17. Nasr Chaleshtori, P; Fadayifar, A; Azizi, A. and Azarfar, A; Effect of different levels of copper as a slow-release bolus on milk yield and composition and some blood metabolites of Lori Bakhtiari ewes. Anim. Prod. Res; 2022;10(4):35-47.
18. Radostists, O.M; Gay, C.C; Hinchcliff, K.W. and Constable, P.D; Diseases associated with deficiencies of mineral nutrients. In: Veterinary Medicine; W.B. Saunders; 10th.Ed.; London, 2007; pp:1707-1717, 1730-1732.
19. Reintke, J; Brügemann, K; Yin, T; Wagner, H; Wehrend, A; Müller, A. König, S; Associations between minerals and metabolic indicators in maternal blood pre- and postpartum with ewe body condition, methane emissions, and lamb body weight development. Animal; 2021; 15(3):100034.
20. Roychoudhury, S; Nath, S; Massanyi, P; Stawarz, R; Kacaniova, M. and Kolesarova, A; Copper-induced changes in reproductive functions: in vivo and in vitro effects. Physiol. Res; 2016; 65(1).
21. Simões, J; Abecia, J; Cannas, A; Delgadillo, J; Lacasta, D; Voigt, K. and Chemineau, P; Managing sheep and goats for sustainable high yield production. Animal; 2021; 15:100293.
22. Tapiero, H; Townsend, Dá. and Tew, K; Trace elements in human physiology and pathology. Copper. Biomed. Pharmacother; 2003; 57(9):386-98.
23. Uslu, B.A; Mis, L; Gulyuz, F; Comba, B; Ucar, O; Tasal, I; Comba, A; Kosal, V; Sendag, S. and Wehrend, A; Is there a relationship between serum minerals (Ca, Mg) and trace elements (Cu, Fe, Mn, Zn) at mating on pregnancy rates in fat-tailed Morkaraman sheep? Indian J. Anim. Res; 2017; 51(2):256-262.
24. Van Emon, M; Sanford, C. and McCoski, S; Impacts of bovine trace mineral supplementation on maternal and offspring production and health. Animals; 2020; 10(12):2404.

Vol. 17 - No. 2
Fall & Winter 2023/2024

Iran. J. Vet. Clin. Sci.; 2024; 18(1):91-99
http://doi.org/10.22034/IJVCS.2024.14303.1043

Investigating the relationship between blood parameters copper, molybdenum, iron, and estrogen with the lambing rate of laparoscopic artificial insemination of ewes in Shahrebabak County

Hassan Rezaei[1]; Seyed Morteza Aghamiri[2*]; Neda Eskandarzade[3]; Ehsanollah Sakhaee[3]; Saied Nazifi[4]; Farnoosh Bakhshaei[5]

1. DVM, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman- Iran.
2. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman- Iran.
3. Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman- Iran.
4. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.
5. PhD, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.

Accepted: 9 March 2024 ***Received:*** 26 March 2023

Summary

Due to the pollution from the copper smelter factory in Shahrebabak County, the dust on the plants of this area contains substantial amounts of copper, which sometimes causes copper poisoning in sheep. This study aimed to investigate the correlation of serum concentration of trace mineral elements: copper, molybdenum, and iron with the lambing rate of ewes in Shahrebabak County using laparoscopic artificial insemination. For this purpose, 500 ewes were oestrus synchronized in herds in Shahrebabak County located at various distances from the copper factory. The laparoscopic artificial insemination was performed 52±4 hours after eCG hormone injection but before the laparoscopy, serum sampling was done from 17% of the herd to assess the concentration of trace mineral elements: copper, molybdenum, and iron as well as estrogen. The results showed that the Khatoon-Abad herd with the shortest distance to the copper factory (10 km) had significantly higher levels of copper, molybdenum, and iron compared with other herds. However, there was no relationship between the concentration of copper, molybdenum, and estrogen with the lambing rate. There was a relationship between the amount of iron and the lambing rate, so the chance of fertility increased marginally with the increase in iron. Hence, the present findings indicate that the low distance of the herd from the copper factory results in high levels of copper, molybdenum, and iron in the ewe's serum; however, it has no effect on the lambing rate by laparoscopic artificial insemination. More research is needed to prove this claim.

***Keywords*:** Artificial insemination; Pregnancy; Sheep; Microminerals

***Corresponding author**: aghamirimorteza@uk.ac.ir