

DOI: 10.22034/AS.2021.35761.1519

تاثیر واکسیناسیون بیماری تب‌برفکی بر پارامترهای کیفی و کمی مایع منی گاو نژاد هلشتاین

عفت فروغی^{۱*}، مریم رهبر^۲، محمد رسول خوش نیت^۳ و سیده بشری موسوی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۷/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۱۷

^۱ دکترای دامپزشکی، مرکز تولید مواد ژنتیکی گاوهای شیری و گوشتی ایران

^۲ دکترای تخصصی فناوری تولید مثل در دامپزشکی، مرکز تولید مواد ژنتیکی گاوهای شیری و گوشتی ایران

^۳ کارشناسی ارشد مدیریت دامپروری، مرکز تولید مواد ژنتیکی گاوهای شیری و گوشتی ایران

^۴ دکترای دامپزشکی، مرکز تولید مواد ژنتیکی گاوهای شیری و گوشتی ایران

* مسئول مکاتبه: Email: ee878@yahoo.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: مطالعه حاضر به بررسی اثر واکسن تب‌برفکی بر ویژگی‌های مایع منی ۲۰ راس گاو نر از نژاد هلشتاین با سن ۳ تا ۵ سال که در مرکز تولید مواد ژنتیکی شرکت نهاده‌های دامی جاهد نگهداری می‌شد می‌پردازد. هدف: هدف از طراحی این مطالعه انجام درمان‌های حمایتی و استراحت جنسی در صورت مشاهده اثر منفی واکسن بر کیفیت مایع منی در دوره پس از تزریق واکسن می‌باشد. روش کار: زمان انجام این تحقیق از آبان ماه سال ۱۳۹۷ تا فروردین سال ۱۳۹۸ بود و گاوهایی که اسپرم آن‌ها در این تحقیق مورد ارزیابی قرار گرفته است دارای تغذیه و مدیریت پرورشی یکسان بودند. به طور کلی تعداد ۵۷۱ پرش در بازه زمانی دو هفته قبل، دو هفته اول و دو هفته دوم بعد از تزریق واکسن تب‌برفکی جمع آوری گردید. واکسن مورد استفاده واکسن تب‌برفکی نوع کشته چند ظرفیتی ساخت موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی می‌باشد. هر انزال از نظر پارامترهای حجم انزال، غلظت، انواع تحرک نمونه اسپرم تازه و پس از انجماد و انکوباسیون و همچنین یکپارچگی غشای پلاسمایی مورد ارزیابی قرار گرفت. برای آنالیز آماری نتایج حاصل، از نرم‌افزار آماری SPSS، از روش وان وی آنووا استفاده شد و $p < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری داده‌ها در نظر گرفته شد. نتایج: نتایج بدست آمده نشان داد که واکسیناسیون تاثیر معنی‌داری ($p < 0/05$) بر تحرک پیشرونده، آرام، لوکال و درصد اسپرم‌های بی‌تحرک پس از انجماد و انکوباسیون در هر دو بازه زمانی پس از تزریق دارد. در حالیکه تاثیری بر حجم، غلظت، تحرک پیشرونده و درصد اسپرم‌های بی‌تحرک نمونه‌های تازه ندارد ($p < 0/05$). نتیجه گیری نهایی: مشاهدات نشان می‌دهند که واکسیناسیون باعث تغییر در کیفیت مایع منی گاوهای نژاد هلشتاین می‌شود.

واژه‌های کلیدی: کیفیت مایع منی، هلشتاین، واکسیناسیون بیماری تب‌برفکی

مقدمه

اصلی در تامین بهداشت و تولید دام و فراورده‌های دامی محسوب می‌گردد. به دلیل انتشار سریع آن، شدت و آگیری در دام‌های حساس بسیار بالا (۱۰۰ درصد) ولی میزان مرگ‌ومیر پایین است و اغلب دام‌های جوان را در

هر ساله تعداد زیادی از موارد ابتلا به بیماری تب‌برفکی در سراسر کشور گزارش می‌گردد. ویروس بیماری تب‌برفکی عامل یکی از بیماری‌هایی است که باعث زیان‌های اقتصادی زیادی در حیوانات می‌شود و یکی از موانع

بر می‌گیرد. از نظر مرکز بین‌المللی بیماری‌های واگیردار، تب‌برفکی مهم‌ترین بیماری عفونی در تجارت بین‌المللی حیوانات و محصولات حیوانی است (گروومن و بکست ۲۰۰۴). بیماری تب‌برفکی واگیردارترین بیماری در بین تمام بیماری‌های حیوانات می‌باشد که حیوانات زوج سم را درگیر می‌کند. کنترل بیماری از طریق رعایت قرنطینه و امنیت زیستی و واکسیناسیون صورت می‌پذیرد. به منظور حصول ایمنی واکسیناسیون باید ۳ بار در سال انجام شود (کارپنتر و تیم ۱۹۷۹).

در مراکز تولید مواد ژنتیکی علاوه بر رعایت نکات مربوط به امنیت زیستی و قرنطینه به منظور مقابله با انواع بیماری‌های ویروسی و باکتریایی گاوهای مولد واکسن دریافت می‌نمایند. اما واکسیناسیون یکی از عوامل ایجاد تنش آنافیلاکتیک است که کیفیت مایع منی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (بهاکات و همکاران ۲۰۰۸). گزارشات موجود نشان می‌دهد اثر واکسن تب‌برفکی بر پارامترهای کیفی مایع منی بسیار متناقض می‌باشد.

تزریق واکسن‌های ویروسی و باکتریایی باعث آسیب سلولی و دژنراسیون بیضه می‌گردد که منجر به افزایش ناهنجاری‌های ریخت‌شناسی، کاهش تحرک اسپرم، غلظت و سلول‌های زنده می‌شود (رائو و همکاران ۲۰۱۷). منگورکار و همکاران (۲۰۰۰) مشاهده نمودند که واکسیناسیون با واکسن تب‌برفکی اثری بر حجم انزال، تحرک اولیه و تحرک بعد از انجماد-یخ‌گشایی ندارد. در دوره پس از واکسیناسیون تب باعث افزایش دمای بدن و همچنین دمای بیضه می‌گردد (گاهلوت و کوهلی ۱۹۸۱، ونکاتاردی و همکاران ۱۹۹۱ و موروگاوال و همکاران ۱۹۹۷). این افزایش دما همانند فاکتور تنش عمل می‌کند و باعث کاهش تحرک پیشرونده، کاهش اسپرماتوزوای زنده و افزایش بروز ناهنجاری‌های مورفولوژی بخصوص سر ناقص می‌شود (بارت و اوکو ۱۹۸۹). بازگشت به حالت اولیه بستگی به شدت و مدت شوک گرمایی دارد. تمام مراحل اسپرماتوزنز به افزایش دما حساس است و هرچه شدت و مدت زمان افزایش دما

بیشتر باشد شدت آسیب هم بیشتر می‌شود (ویتس و ستچل ۱۹۹۰). این اتفاق ممکن است موجب کاهش نرخ باروری و افزایش مرگ جنینی گردد (برفنینگ و اولبرگ ۱۹۶۸). تزریق واکسن همچنین می‌تواند باعث اختلال در عملکرد اپیدیدیم و بنابراین باعث افزایش ناهنجاری در اسپرماتوزوآ در مراحل اولیه و کاهش تحرک گردد (رائو و ونکاتاسومی ۱۹۷۴ و رائو ۱۹۷۶). متعاقباً ذخیره اسپرم اپیدیدمی شروع به کاهش می‌کند، باز جذب اسپرم‌های ناهنجر افزایش می‌یابد؛ بنابراین غلظت مایع منی کاهش می‌یابد. البته باید به این نکته اشاره کرد که تمامی این آثار مخرب قابل برگشت هستند و پس از گذشت مدتی مایع منی دارای کیفیت مطلوب خواهد بود (رائو و همکاران ۱۹۸۰). با توجه به اینکه واکسن‌های ویروسی نسبت به واکسن‌های باکتریایی اثر مخرب بیشتری دارند، با تزریق واکسن ویروسی فعالیت متابولیکی و مقاومت به شوک سرمایی اسپرم در حد قابل توجهی کاهش می‌یابد (ونکاتاسومی و همکاران ۱۹۷۲).

بدلیل اینکه کیفیت مایع منی در مراکز تولید مواد ژنتیکی اهمیت بسیاری دارد و از طرفی با توجه به اندمیک بودن بیماری تب‌برفکی در ایران واکسیناسیون علیه آن اجباری می‌باشد، هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر تزریق واکسن تب‌برفکی بر ویژگی‌های کیفی و کمی مایع منی گاوهای نژاد هلشتاین می‌باشد تا در صورت مشاهده تاثیر منفی با درمان‌های حمایتی و استراحت جنسی کیفیت مایع منی بهبود بخشیده شود.

روش کار

در مرکز تولید مواد ژنتیکی شرکت نهاده‌های دامی جاهد سه بار در سال به تمامی گاوهای نر موجود واکسن تب-برفکی تزریق می‌گردد. در این مطالعه اثر واکسن تب-برفکی بر کیفیت مایع منی گاوهای نژاد هلشتاین در دو فصل بهار و پاییز در سال‌های ۱۳۹۷-۱۳۹۸ بررسی گردید. تزریق واکسن در نیمه اول آذر ماه فصل پاییز سال ۱۳۹۷ و در نیمه اول فروردین ماه فصل بهار سال

اول و دوم بروی خرک مصنوعی، جمع آوری گردید. بلافاصله پس از جمع‌آوری نمونه به آزمایشگاه انتقال و در حمام آب گرم با دمای ۳۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. حجم مایع منی توسط لوله مندرج به میلی لیتر اندازه‌گیری شد.

تحرك اسپرم تازه بلافاصله بعد از انزال توسط سیستم آنالیز کامپیوتری اسپرم (کاسا) مدل آندروویژن شرکت مینی‌تیوب مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا ۲۰ میکرولیتر مایع منی با ۹۸۰ میکرولیتر رقیق کننده مخلوط و سپس ۳ میکرولیتر از آن را در حفره‌های لام لجا (با ارتفاع ۲۰ میکرون) که از قبل به دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رسیده است قرار داده شد. این سیستم از قبل برای آنالیز اسپرم گاو تنظیم شده است. حداقل ۲۰۰ سلول اسپرماتوزوآ توسط کاسا مورد ارزیابی قرار می‌گیرد و تحرك پیش‌رونده، تحرك آرام و تحرك لوکال و درصد اسپرم‌های بدون تحرك را گزارش می‌کند.

غلظت اسپرماتوزوآ توسط دستگاه فتومتر مدل اکوسل شرکت آی‌ام‌وی اندازه‌گیری شد. بلافاصله پس از جمع‌آوری، نمونه توسط رقیق کننده تجاری آندرومد مینی-تیوب رقیق شد. در هر پایوت ۲۰ میلیون اسپرماتوزوآ قرار داده شد. مایع منی در پایت‌های ۰/۵ میلی لیتر شرکت آی‌ام‌وی بسته بندی و با استفاده از دستگاه‌های قابل برنامه ریزی انجام توربو فریزر شرکت مینی‌تیوب منجمد گردید.

تحرك پس از انجماد و تحرك بعد از انکوباسیون بعد از گذشت ۲۴ ساعت از فرایند انجماد با قرار دادن پایت در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه به صورت فوری و پس از گذشت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد توسط سیستم آنالیز کامپیوتری اسپرم مورد ارزیابی قرار گرفت.

ارزیابی غشای پلاسمایی اسپرم توسط آزمایش تورم هیپواسموتیک (هاست) انجام شده است (ریول و مرود ۱۹۹۴). ۳۰ میکرولیتر نمونه مایع منی با ۳۰۰ میکرولیتر محلول هیپوسموتیک که حاوی ۱۳/۵ گرم فروکتوز و

۱۳۹۸ انجام شد. میانگین دمای دوره قبل از واکسیناسیون در فصل پاییز از 21 ± 10 تا 25 ± 10 و دوره پس از آن 11 ± 6 تا 21 ± 10 ثبت گردیده است. تغییرات دمایی در فصل بهار در بازه زمانی قبل از تزریق واکسن از 14 ± 8 تا 17 ± 10 و پس از آن از 17 ± 10 تا 10 ± 25 گزارش شده است.

تعداد ۲۰ راس گاو نر از نژاد هلشتاین در محدوده سنی بین ۳ تا ۵ سال در مرکز تولید مواد ژنتیکی گاوهای شیری و گوشتی ایران (شرکت نهاده‌های دامی جاهد) در سیستم نیمه بسته با مدیریت پرورشی و تغذیه‌ای یکسان به صورت انفرادی نگهداری شدند. جیره غذایی تمام گاو-ها به روش جیره کاملاً مخلوط بود.

به تمامی گاوها واکسن تب‌برفکی نوع کشته چند ظرفیتی موثر بر سویه‌های (O2016, A13, A15, Asia1) ساخت موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی به مقدار ۵ میلی لیتر و به روش زیر جلدی تزریق گردید.

در فصل پاییز تعداد ۸۳ انزال در بازه زمانی ۲ هفته قبل از واکسیناسیون و ۶۰ انزال دو هفته اول پس از واکسیناسیون و ۶۰ انزال ۲ هفته دوم پس از تزریق واکسن از گاوها جمع‌آوری گردید. در فصل بهار تعداد ۱۴۷ انزال دو هفته قبل و ۷۸ انزال دو هفته اول پس از واکسیناسیون و ۱۴۳ انزال ۲ هفته دوم پس از تزریق واکسن جمع آوری گردید. هر انزال از نظر حجم، غلظت، تحرك اولیه، تحرك پس از انجماد و تحرك پس از دو ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در بازه‌های زمانی دو هفته قبل و دو هفته اول و دوم بعد از واکسیناسیون مورد ارزیابی قرار گرفت. تعداد ۶۰ نمونه اسپرم تازه و ۶۰ نمونه بعد از انجماد از نظر یکپارچگی غشای پلاسمایی توسط آزمون تورم هیپواسموتیک مورد ارزیابی قرار گرفت.

مایع منی گاوهای مورد مطالعه با استفاده از واژن مصنوعی استریل مطابق با دستورالعمل جمع‌آوری منی و آماده سازی صحیح جنسی با دو پرش کاذب با فاصله یک دقیقه ممانعت از پرش و فاصله ۲۰ دقیقه بین پرش

بعد از تزریق واکسن تغییر معنی‌داری در غلظت مایع منی مشاهده نشد ($p < 0/05$). میانگین غلظت نمونه‌های انزال پس از واکسیناسیون کاهش ناچیزی داشت ($p < 0/05$). واکسیناسیون تاثیر معنی‌داری بر تحرک پیشرونده، آرام، لوکال و درصد اسپرم‌های بدون تحرک نمونه اسپرم تازه نداشت ($p < 0/05$). در فصل پاییز تحرک پیشرونده و آرام نمونه‌های منجمد شده پس از تزریق واکسن به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0/05$). همچنین در فصل بهار کاهش معنی‌داری در تحرک پیشرونده، آرام و لوکال پس از انجام مشاهده گردید ($p < 0/05$). درصد اسپرم‌های بدون تحرک در نمونه‌های پس از انجام در هر دو فصل افزایش معنی‌داری یافت ($p < 0/05$). همچنین پس از تزریق واکسن تب‌برفکی کاهش معنی‌داری در تحرک پیشرونده و آرام اسپرماتوزوآ پس از گذراندن ۲ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید ($p < 0/05$). درصد اسپرم‌های بدون تحرک در فصل بهار افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) و در فصل پاییز افزایش ناچیز یافت ($p < 0/05$).

تفاوت معنی‌داری در نتیجه آزمون هیپواسموتیک مربوط به نمونه‌های اسپرم تازه مشاهده نگردید ($p < 0/05$). اما انجام این آزمون بروی نمونه‌های پس از انجام افزایش معنی‌داری در تعداد اسپرم‌های با غشای پلاسمایی آسیب دیده بعد از تزریق واکسن نشان داد ($p < 0/05$).

۷/۳۵ گرم سیترات سدیم در ۱ لیتر آب می‌باشد مخلوط گردید و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه انکوبه شد. بعد از قرار دادن یک قطره از محلول حاصل بر روی لام و پوشاندن آن با لامل، توسط میکروسکوپ فاز کنتراست مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع ۲۰۰ سلول اسپرماتوزوآ حداقل در شش زمینه مختلف میکروسکوپ شمارش شد. درصد اسپرم با دم پیچ خورده به عنوان اسپرم سالم و دم‌های بدون پیچ (مستقیم) به عنوان اسپرم آسیب دیده گزارش گردید. یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم‌ها بعد از انجام نیز بعد از ذوب کردن پایوت‌ها در آب ۳۷ درجه، مطابق روش فوق مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای آنالیز داده‌ها از نرم افزار SPSS 32 از روش وان وی آنووا برای مقایسه پارامترهای اسپرم قبل و بعد از واکسیناسیون استفاده شد و $p < 0/05$ به عنوان مرز معنی‌داری داده‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج مطالعه بروی ۲۰ راس گاو از نژاد هلشتاین در بازه‌های زمانی دو هفته قبل، دو هفته اول پس از واکسیناسیون و ۲ هفته دوم بعد از تزریق واکسن در فصل پاییز سال ۱۳۹۷ و بهار سال ۱۳۹۸ به ترتیب در جدول شماره ۱ و ۲ مشاهده می‌گردد. تزریق واکسن تب‌برفکی تاثیر معنی‌داری بر حجم انزال نداشته است ($p < 0/05$). میانگین حجم انزال‌های جمع‌آوری شده در بازه زمانی دو هفته اول پس از واکسیناسیون و دو هفته دوم پس از آن اختلاف معنی‌داری با میانگین حجم نمونه‌های جمع‌آوری شده در بازه زمانی دو هفته قبل از تزریق واکسن نداشت. در این مطالعه افزایش ناچیزی در حجم نمونه‌ها پس از واکسیناسیون مشاهده گردید (شکل ۱).

Table 1- Mean \pm S.E Of volume, concentration, motility and HOST of fresh semen, post thaw and incubation test before and after vaccination in autumn

Parameter	15 days before vaccination	15 days after vaccination	15-30 days after Vaccination
	Mean \pm S.E	Mean \pm S.E	Mean \pm S.E
Volume(ml)	3.91 \pm 1.38	4.23 \pm 1.41	4.07 \pm 1.12
Concentration (millions/ml)	1453.08 \pm 521.65	1356.95 \pm 456.29	1385.28 \pm 434.45
Fresh progressive motility (%)	69.92 \pm 9.86	67.61 \pm 12.17	70.22 \pm 10.35
Fresh slow motility (%)	11.71 \pm 2.25 ^a	11.96 \pm 3.07 ^a	10.53 \pm 2.13 ^b
Fresh local motility (%)	3.94 \pm 1.09 ^a	4.10 \pm 1.24 ^a	3.42 \pm 1.20 ^b
Fresh immotile (%)	14.44 \pm 9.42	16.28 \pm 11.65	15.93 \pm 9.49
Fresh HOST (%)	78.06 \pm 8.06	73.61 \pm 12.60	74.11 \pm 11.52
Post thaw progressive motility (%)	51.46 \pm 16.98 ^a	44.76 \pm 14.11 ^b	45.35 \pm 9.08 ^b
Post thaw slow motility (%)	24.27 \pm 5.24 ^a	21.30 \pm 7.09 ^b	21.99 \pm 3.72 ^b
Post thaw local motility (%)	6.57 \pm 1.81 ^a	8.11 \pm 3.05 ^b	8.35 \pm 1.94 ^b
Post thaw immotile (%)	17.81 \pm 15.34 ^a	25.82 \pm 14.68 ^b	24.31 \pm 9.98 ^b
Post thaw HOST (%)	61.63 \pm 19.80 ^a	48.79 \pm 19.85 ^b	49.89 \pm 11.28 ^b
Progressive motility of incubation test (%)	38.68 \pm 12.39 ^a	35.73 \pm 9.87 ^b	35.36 \pm 4.39 ^b
Slow motility of incubation test (%)	24.07 \pm 6.09 ^a	20.89 \pm 4.69 ^b	19.19 \pm 6.39 ^b
Local motility of incubation test (%)	7.10 \pm 3.64	5.94 \pm 2.04	6.92 \pm 3.40
Immotile of incubation test (%)	35.09 \pm 11.84	40.13 \pm 5.44	35.21 \pm 16.54

Means within the same row with different letters differ significantly (P<0.05)

Table 2- Mean \pm S.E Of volume, concentration, motility and HOST of fresh semen, post thaw and incubation test before and after vaccination in spring

Parameter	15 days before vaccination	15 days after Vaccination	15-30 days after Vaccination
	Mean \pm S.E	Mean \pm S.E	Mean \pm S.E
Volume (ml)	4.33 \pm 1.43	4.51 \pm 1.34	4.45 \pm 1.32
Concentration (millions/ml)	1333.18 \pm 451.28	1378.74 \pm 467.513	1323.39 \pm 418.83
Fresh progressive motility (%)	68.05 \pm 12.54	67.09 \pm 10.68	67.30 \pm 11.69
Fresh slow motility (%)	12.30 \pm 3.58 ^a	13.34 \pm 1.94 ^b	12.12 \pm 2.89 ^a
Fresh local motility (%)	3.97 \pm 1.02 ^a	4.88 \pm 1.85 ^b	3.92 \pm 1.73 ^a
Fresh immotile (%)	16.14 \pm 11.74	14.66 \pm 10.31	16.67 \pm 11.42
Fresh HOST (%)	74.65 \pm 9.85	72.55 \pm 11.16	71.70 \pm 12.08
Post thaw progressive motility (%)	47.37 \pm 10.46 ^a	42.84 \pm 9.90 ^b	44.29 \pm 9.01 ^b
Post thaw slow motility (%)	27.65 \pm 5.69 ^a	21.52 \pm 6.40 ^b	20.47 \pm 4.43 ^b
Post thaw local motility (%)	7.09 \pm 4.03 ^a	3.36 \pm 2.29 ^b	7.49 \pm 1.54 ^a
Post thaw immotile (%)	22.05 \pm 7.23 ^a	27.62 \pm 9.47 ^b	28.57 \pm 10.19 ^b
Post thaw HOST (%)	56.75 \pm 13.15 ^a	47.65 \pm 10.77 ^b	49.00 \pm 10.41 ^{ab}
Progressive motility of incubation test (%)	38.41 \pm 9.12 ^a	35.24 \pm 7.51 ^b	36.07 \pm 5.20 ^b

Slow motility of incubation test (%)	27.12±3.98 ^a	21.57±5.14 ^b	21.60±4.74 ^{ab}
Local motility of incubation test (%)	8.72±2.06 ^a	7.58±3.83 ^b	7.52±3.73 ^{ab}
Immotile of incubation test (%)	28.92±8.90 ^a	32.44±10.76 ^b	34.81±7.77 ^{ab}

Means within the same row with different letters differ significantly (P<0.05)

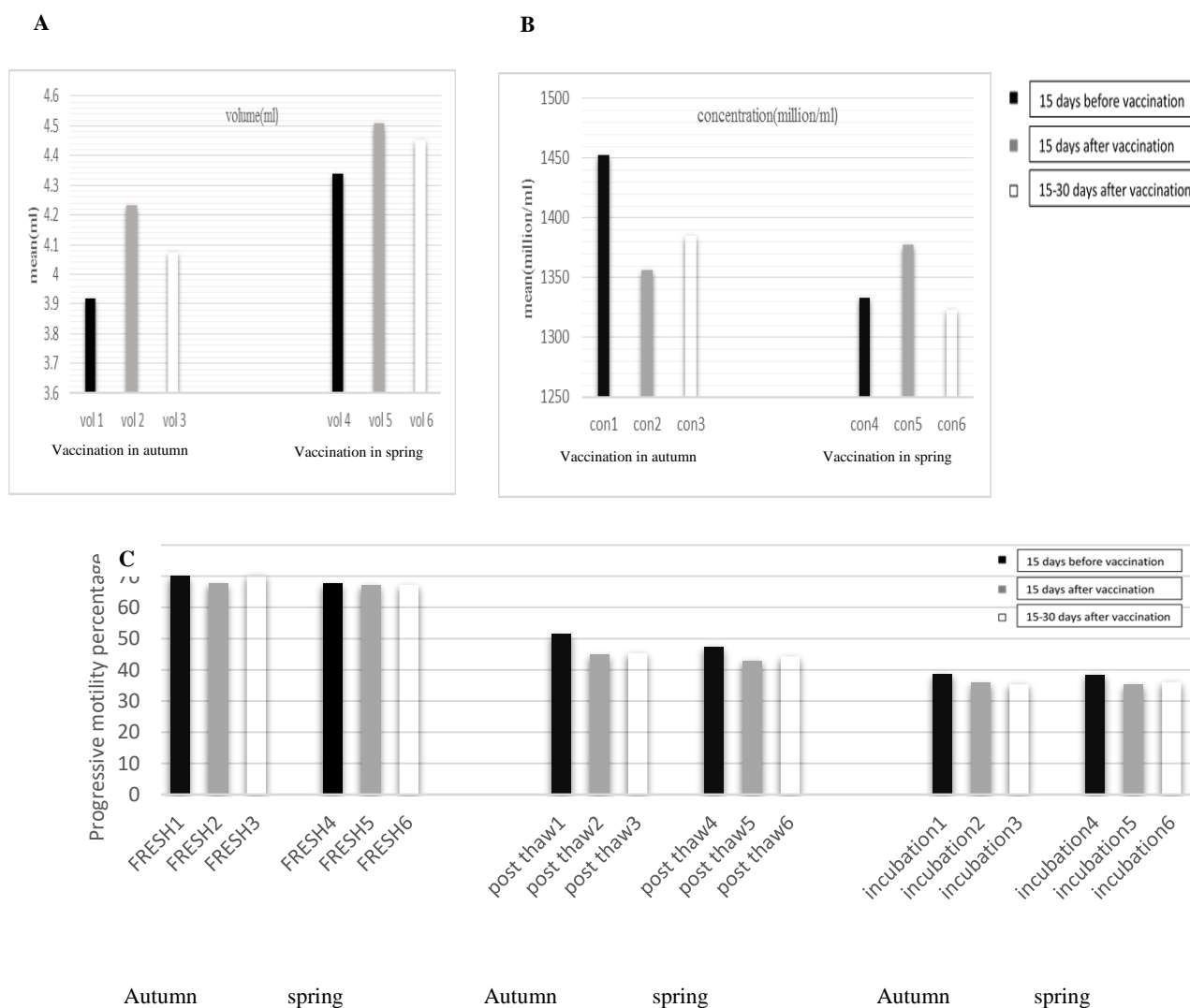


Figure 1-A) Variation of semen volume during 15 days before vaccination and 15 days and 15-30 days after vaccination in autumn and spring. B) Variation of semen concentration during 15 days before vaccination and 15 days and 15-30 days after vaccination in autumn and spring. C) Variation between progressive motility of fresh semen, post thaw and incubation test during 15 days before vaccination and 15 days and 15-30 days after vaccination in autumn and spring

بحث

می‌نمایند. اگرچه مطالعات انجام شده نتایج متفاوتی را در مورد اثر واکسیناسیون بر کیفیت مایع منی گزارش نموده‌اند. واکسیناسیون یکی از فاکتورهای تنش آنافیلاکتیک است که کیفیت مایع منی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (گاهلوت و کوهلی ۱۹۸۱، ونکاتاردی و همکاران ۱۹۹۱ و موروگاول و همکاران ۱۹۹۷). در خصوص اثر

گاوهای نر مورد استفاده جهت اهداف تلقیح مصنوعی باید در محیط‌های عاری از بیماری نگهداری شوند. به همین دلیل در کشورهایی که برخی بیماری‌ها مانند بیماری تب-برفکی و سپتی‌سمی خونریزی‌دهنده شایع‌اند گاوهای مراکز اسپرم‌گیری به صورت دوره ای واکسن دریافت

(۲۰۰۷) کاهش معنی‌داری در حرکت توده‌ای و تحرک اسپرم به دنبال واکسیناسیون گزارش نموده‌اند (بهاکات و همکاران ۲۰۰۸). راثو (۱۹۷۶) کاهش تحرک اسپرم همراه با ناهنجاری‌های مربوط به دم به دنبال عدم عملکرد صحیح اپیدیدیم را گزارش نمود. منگورکار و همکاران (۲۰۰۰) تأثیر معنی‌داری بر تحرک پس از انجماد مشاهده نکرده‌اند. گوپتا و همکاران (۲۰۱۷) روند کاهشی در تحرک اولیه متعاقب واکسیناسیون گزارش نموده‌اند که نتیجه مشابهی در این مطالعه مشاهده گردید. در مطالعه حاضر کاهش معنی‌داری در تحرک پس از انجماد مشاهده شد که این یافته با گزارش بهاکات و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت دارد. سلول اسپرم در زمان عبور از دم اپیدیدیم توانایی حرکت را بدست می‌آورد (مولیکریشان و راماموهان ۱۹۸۶). از آنجایی که تنش آنافیلاکتیک ناشی از واکسیناسیون موجب افزایش قابل توجه دمای بدن و بیضه‌ها می‌شود، عملکرد اپیدیدیم دچار اختلال می‌گردد. افزایش دمای بدن بعد از واکسیناسیون باعث تخریب بافت بیضه می‌شود (ونکاتاردی و همکاران ۱۹۹۱) و این وضعیت می‌تواند باعث کاهش تحرک اسپرماتوزوید شود. علاوه بر این ناهنجاری‌های ثانویه از جمله ناهنجاری‌های مربوط به دم و قسمت میانی افزایش می‌یابد (ونکاتاسومی و راثو ۱۹۷۰). علاوه بر این متابولیسم بیضه نیز افزایش می‌یابد و به دنبال آن نسبت جریان خون به متابولیسم بر هم می‌ریزد و در نتیجه بیضه‌ها دچار هیپوکسی می‌شود (ستچل ۱۹۷۸). همچنین با افزایش دمای بدن پس از واکسیناسیون اسپرماتوسیت‌ها در مرحله پروفاز میوز می‌میرند، اما اسپرم‌های بالغ دچار ناهنجاری‌های ساختاری و متابولیسمی می‌شوند (ستچل و همکاران ۱۹۷۱). علاوه بر آن انجماد نیز تأثیر نامطلوبی بر وضعیت فیزیولوژیکی و ساختار اسپرم می‌گذارد (بیلی و همکاران ۲۰۰۳). تنش‌های شیمیایی، تغییرات فشار اسمزی، تغییرات دمایی و مکانیکی در حین رقیق سازی، سرد سازی،

واکسن تب‌برفکی بر حجم انزال اختلاف نظر وجود دارد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که پس از تزریق واکسن افزایش معنی‌داری در حجم انزال مشاهده می‌گردد (ونکاتاردی و همکاران ۱۹۹۱)، در حالی‌که بعضی محققین تغییری را بر حجم انزال گزارش نکرده‌اند (کامار و گناگادار ۱۹۹۸، منگورکار و همکاران ۲۰۰۰، سینق و همکاران ۲۰۰۳، پنکاج و همکاران ۲۰۰۷ و بهاکات و همکاران ۲۰۰۸). برخی دیگر در گاو میش‌های نژاد مورا روند افزایشی ناچیز در حجم انزال پس از واکسیناسیون مشاهده نموده‌اند (پنکاج و همکاران ۲۰۰۷)، که مشابه با نتیجه مطالعه حاضر می‌باشد. بخش اعظم مایع منی سمینال پلازما می‌باشد که توسط غدد ضمیمه ترشح می‌گردد (روبرتس ۱۹۸۶). این واقعیت که فعالیت‌های غدد ضمیمه جنسی به دنبال واکسیناسیون بدون تغییر می‌ماند (رادهاکریشنان و همکاران ۱۹۷۵) ممکن است دلیل عدم مشاهده تغییرات معنی‌دار بر حجم انزال باشد. اثر منفی واکسیناسیون با واکسن تب‌برفکی بر غلظت اسپرم گزارش شده است (ونکاتاردی و همکاران ۱۹۹۱، سینق و همکاران ۲۰۰۳ و بهاکات و همکاران ۲۰۰۸). کاهش غلظت اسپرم ممکن است مربوط به اثرات منفی مواد موجود در واکسن بر سلول‌های زاینده و در نتیجه افزایش تعداد اسپرم‌های مرده و به دنبال آن فاگوسیت‌شدن توسط لکوسیت‌ها باشد (من و من ۱۹۸۱). برخی دیگر از محققین مانند کامار و گناگادار (۱۹۹۸) اثر منفی بر غلظت اسپرم در دوره پس از واکسیناسیون گزارش نکردند که با نتیجه مطالعه حاضر تطابق دارد. بهاکات و همکاران (۲۰۰۸) افزایش معنی‌دار در حجم مایع منی و کاهش غلظت، تحرک اولیه (تحرک نمونه اسپرم تازه) و تعداد اسپرم‌های زنده پس از واکسیناسیون را گزارش نموده است. در مطالعه ونکاتاردی و همکاران (۱۹۹۱) کاهش معنی‌داری در پارامترهایی از جمله تحرک اسپرم، تعداد اسپرم‌های زنده، درصد مقاومت به شوک سرمایی و افزایش تعداد اسپرم‌های ناهنجار پس از تزریق واکسن تب‌برفکی مشاهده گردید. پنکاج و همکاران

منی در دوره پس از واکسیناسیون، بهتر است اسپرم‌گیری تا زمانی که دام به تولید نرمال برگردد به تعویق بیوفتد.

سیاسگزاری

نویسندگان این مقاله را ضمن تشکر و سپاس بیکران و در کمال افتخار و امتنان به شرکت نهاده‌های دام جاهد تقدیم می‌نمایند.

انجماد و ذوب موجب آسیب‌هایی با درجات مختلف می‌شود (فاروک و همکاران ۲۰۱۳).

کاهش معنی‌دار تحرک پس از انجماد می‌تواند مربوط به تنش گرمایی به وجود آمده پس از واکسیناسیون باشد (گوپتا و همکاران ۲۰۱۷).

نتیجه: با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات مذکور، تزریق واکسن تب‌برفکی اثرات منفی بر پارامترهای کیفی انزال دارد. با توجه به آنالیزهای انجام شده بر ویژگی‌های مایع

منابع مورد استفاده

- Anderson J, 2001. The semen of animals and its use for artificial insemination. Greenworld publishers, Lucknow, India, First Ind, Reprint.
- Bailey J, Morrie A and Cormier N, 2003. Semen cryopreservation, success and persistence in farm species. *Canadian Journal of Animal Science* 83: 393-401.
- Barth AD and Oko RJ, 1989. Abnormal morphology of bovine spermatozoa, Iowa state university press, Ames.
- Bhakat M, Mohanty TK, Gupta AK, Chakravarty AK, Singh P and Abdullah M, 2015. Effect of HS and BQ vaccination on semen quality parameters of Murrah buffalo bulls. *Journal of Infection and Molecular Biology* 3(1): 24-27.
- Bhakat M, Mohanty TK, Gupta AK, Raina VS and Brahma B, 2010. Effect of FMD vaccination on semen quality parameters in Karan Fries and Murrah buffalo bulls. *Tropical Animal Health and Production* 42: 1363-1366.
- Bhakat M, Mohanty TK, Gupta AK, Raina VS, Mondal G and Khan HM, 2008. Effect of FMD vaccination on various semen characteristics of Sahiwal bulls, *Pakistan Journal of Agricultural Science* 45: 327-332.
- Bhakat M, Mohanty TK, Raina VS, Gupta AK and Brahma B, 2011. Effect of TRIOVAC vaccination on semen quality parameters in Karan Fries and Murrah buffalo bulls. *Indian Veterinary Journal* 88(3): 33-34.
- Burfening PJ and Ulberg LC, 1968. Embryonic survival subsequent to culture of rabbit spermatozoa at 38DC and 40DC. *Journal of reproduction and fertility* 15: 87-92.
- Carpenter TE and Thieme A, 1979. A simulation approach to measuring the economic effects of foot-and-mouth disease in beef and dairy cattle. Pp. 511-516. *Proceedings of the 2nd international symposium on veterinary epidemiology and economics*. May, Canberra, Australia.
- Cooper TG, Teung CH, Jones R, Orgebin-Crist MC and Robaire B, 2002. Rebuttal of a role for the epididymis in sperm quality control by phagocytosis of defective sperm. *Journal of Cell Science* 115:5-7.
- Farooq U, Ijaz A, Ahmad N, Rehman H and Zaneb H, 2013. Investigations on semen quality and freezability of Cholistan breeding bulls - A preliminary study from Cholistan desert of Pakistan. *Journal of Animal and Plant Science* 23(2): 359-363.
- Gahlot PS, Bishnoi BL and Kohli TS, 1990. Semen studies during vaccination stress in jersey bulls. *Indian Journal of Animal Reproduction* 11(2): 109-110.
- Gahlot PS and Kohli TS, 1981. Effect of Rinderpest vaccination (freeze dried) on the semen quality of jersey bulls maintained in the arid zone. *Indian Veterinary Journal* 58: 1001-1002.

- Grubman MJ and Baxt B, 2004. Foot-and-mouth disease. *Clinical Microbiology Reviews* 17: 465-493.
- Gupta MD, Rathi G, Sontakke SH, Vinod S, Mushtaque M, Kadam H, Dash S and Khadse JR, 2017. Effect of foot and mouth disease vaccination on seminal traits in pure Holstein Friesian bulls. *Indian Journal of Animal Science* B-3445: 1-4.
- Jayendran RS, Van Der Ven HH, Perez-Pelaez M, Crabo BG and Zaneveld LJD, 1984. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *Journal of Reproduction and Fertility* 70: 219-228.
- Kammar NF and Gangadhar KS, 1998. Effect of foot-and-mouth vaccination on reaction time and some seminal characteristics in Surti bulls. *Indian Journal of Animal Reproduction* 19(2): 149-150.
- Mangurkar BR, Phadnis YP and Bhosrekar MR, 2000. Effect of Foot and mouth disease vaccination on semen characteristics of exotic and cross-breed bulls, *Indian Journal of Animal Reproduction* 21: 135-137.
- Mann T and Mann CL, 1981. *Male Reproductive Function and Semen*. Springer-Verlag Berlin. Heidelberg, New York, USA.
- Mathur AK, Tyagi SK, Mandal DK and Singh SP, 2003. Effect of multiple vaccinations on the semen quality of Frieswal bulls. *Indian Journal of Animal Science* 73(8): 864-866.
- Moulikrishan K and Ramamohan Rao, 1986. Epididymal dysfunction in buffalo bulls. *Indian Veterinary Journal* 63: 1013-1016.
- Murugavel K, Veerapandian C and Subramanian A, 1997. Effect of black quarter vaccination on semen quality in Murrah bulls. *Indian Journal of Animal Science* 67: 597-598.
- Olson GE, NagDas SK and Winfrey VP, 2002. Structural differentiation of spermatozoa during post-testicular maturation. Pp 371-387. In: Robaire B, Hinton BT. (eds). *The Epididymis: From Molecules to Clinical Practice*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Pankaj PK, Raina VS, Roy B, Mohanty TK and Mishra A, 2007. Studies on effect of vaccination on seminal characteristics of riverine buffaloes (*Bubalus bubalis*), *Buffalo Bulletin* 26: 91-103.
- Perumal P, Khate K and Rajkhowa C, 2013. Effect of foot and mouth disease vaccination on seminal and biochemical profiles of Mithun (*Bos frontalis*) semen. *Asian Pacific Journal of Reproduction* 2: 178-184.
- Rao AR, 1976. Sperm akinesia in a hollikar bull. *Indian Veterinary Journal* 53: 414-418.
- Rao AR, Bane A and Gustafsson BK, 1980. Changes in the morphology of spermatozoa during their passage through the genital tract in dairy bulls with normal and impaired spermatogenesis. *Theriogenology* 14(1): 10-12.
- Rao TKS, Kumar B, Sharma VK, Sriranga KR, Baishya A, Bhakat M, Mohanty TK, 2018. Effect of vaccination on performance of dairy animals with special reference to bulls. *Theriogenology Insight* 7(3): 185-197.
- Rao VJ and Venkataswami V, 1974. Histo-pathology of testicular tissue of crossbred bulls in Foot and Mouth disease vaccination. II. *Indian Veterinary Journal* 48: 1101-1103.
- Radhakrishnan R, Venkataswami V and Pattabiraman SR, 1975. Further report on the effect of protective vaccination on semen quality of breeding bulls. *Indian Veterinary Journal* 52: 620-625.
- Revell SG and Mrode RA, 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Animal Reproduction Science* 36(1-2): 77-86.
- Roberts SJ, 1986. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*. Wood stock, Vermont.

- Salisbury GW, Vandemark NL and Lodge JR, 1978. Physiology of reproduction and Artificial Insemination of cattle. p. 574. Freeman W.H. (ed). San Francisco.
- Saxena VB and Tripathi SS, 1977. Effect of foot and mouth disease vaccination on semen quantity, quality and preservability in Jersey bulls. *Indian Veterinary Journal* 54: 959-964.
- Setchell BP, 1978. The scrotum and thermoregulation. pp. 90-108. In: Setchell B.P. (ed). *The mammalian testis*. Ithaca: Cornell University Press.
- Setchell BP, Voglmayr JK and Hinks NT, 1971. The effect of local eating on the flow and composition of rete testis fluid in the conscious ram. *Journal of Reproduction and Fertility* 24: 81-89.
- Singh R, Verma HK and Kumar S, 2003. Effect of the foot and mouth disease vaccination on the semen quality of buffalo bulls. *Indian Journal of Animal Science* 73: 1319-1323.
- Tripathi SS and Saxena VB, 1976. A note on the foot-and-mouth vaccination stress on quantity, quality and preservability of semen of Murrah buffalo bulls. *Indian journal of animal science* 46: 44-47.
- Venkatareddy J, Venkatamunichetty A, Ramachandran SV and Sreeraman, 1991. Effect of foot and mouth disease vaccination on semen quality. *Indian Journal of Animal Production* 12: 13-14.
- Venkataswami V, Pattabiraman D and Sunderavadanam K, 1972. Effect of vaccination on spermatozoa resistance and on their metabolic activity. *Indian Veterinary Journal* 49: 1012-1016.
- Venkataswami V and Rao VJ, 1970. Preliminary report on the effect of foot and mouth disease vaccination on semen quality of crossbred bulls-1. *Indian Veterinary Journal* 47: 23-29.
- Vogler CJ, Bame JH, DeJamette JM, McGilliard ML, and Saackea RG, 1993. Characteristics of ejaculated spermatozoa in the bovine. *Theriogenology* 40:1207-1 219.
- Waites GMH and Setchell BP, 1990. Physiology of the mammalian testis. Pp.1-105. *Marshall's Physiology of Reproduction in the Male*. Lamming G E. (ed). Churchill Livingstone, Edinburg.

Effect of foot and mouth disease vaccination on various semen characteristic in Holstein bulls

E Foroughi^{1*}, M Rahbar², MR Khoshniat³ and SB Moosavi⁴

Received: October 5, 2019

Accepted: November 8, 2021

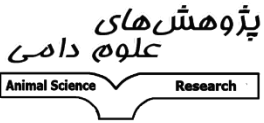

¹ Doctor of veterinary medicine, NDJ AI Center, Karaj, Iran

² PhD of assisted reproductive technologies, NDJ AI Center, Karaj, Iran

³ Master of animal husbandry management, NDJ AI Center, Karaj, Iran

⁴ Doctor of veterinary medicine, NDJ AI Center, Karaj, Iran

*Corresponding author: Email: ee878@yahoo.com

 <p>پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Research</p>	<p>Journal of Animal Science/vol.32 No.4/ 2022/pp 31-42 https://animalscience.tabrizu.ac.ir</p>	
<p>© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/) DOI: 10.22034/AS.2021.35761.1519</p>		

Introduction: Many outbreaks of foot and mouth disease (FMD), an endemic disease of artiodactyl ruminants, occur all over the country every year. FMD is one of the diseases that cause a lot of economic damage to animals and is one of the main obstacles in ensuring health and production of livestock. Preventing the introduction of the disease into a country by controlling the imports of meats and meat products and other sources which might transmit the virus or use of vaccination are two major alternatives in respect to preventing and controlling FMD (Carpenter and Thieme, 1979). Vaccination, with currently available and tested vaccine must be undertaken at least three times annually to maintain immunity. The semen quality may be affected by vaccination due to vaccine stress and anaphylactic shock (Murugavel et al. 1997). The present investigation was carried out to study the effect of FMD vaccination on seminal traits of Holstein bulls.

Material and methods: Twenty Holstein bulls between three and five years old maintained at Nahadehaye Dami Jahed Artificial Insemination center were used in present study, which were housed in individual pens under identical feeding and management regimes. FMD vaccine polyvalent (inactivated, containing virus types O2016, A13, A15 and Asia1 strains) produced by Razi vaccine and serum research Institute was administered for vaccination purpose at 5 ml by SC injection route. Semen samples were collected by artificial vagina technique. Appropriate sexual preparation with two false mount on dummy cow was followed. A total of 571 semen ejaculates were collected at 15 days before, 15 days after and 15-30 days after FMD vaccination during autumn of 2018 and spring of 2019. Seminal traits like fresh and post thaw sperm motility, motility after incubation test, sperm concentration, semen volume and HOS test were evaluated. The ejaculate volume was measured in the divided semen collection tube in milliliters. The concentration of spermatozoa was calculated by photometer. Motility of spermatozoa was analyzed by Computer-assisted sperm analysis (CASA). The integrity of sperm membrane was evaluated using the hypo-osmotic swelling test (HOST). Extended semen was filled in medium straws and were frozen by programmable freezing device. Recorded data were analyzed using SPSS, oneway ANOVA. The differences at $P < 0.05$ were considered to be statistically significant.

Results and discussion: However, the available reports on the effect of such vaccination on semen quality are conflicting, Vaccination is one of the major anaphylactic stress factors that affect the semen quality (Gahlot and Kohli, 1981; Venkatarreddy et al. 1991 and Murugavel et al. 1997).

In this study There was no significant ($P>0.05$) effect of vaccination on the semen volume in Holstein bulls, but a slightly increasing trend was observed. The secondary activities of accessory sex glands remain unaffected following vaccination (Radhakrishnan et al. 1975). So, this can be considered as a possible cause for no change in the ejaculate volume. However, Venkatareddy et al. (1991) in Onqole, Jersey and Ongole \times Jersey breeds reported an increase in the volume of semen. Significant decrease in sperm concentration following vaccination was observed by Venkataswamy and Rao (1970); Venkatareddy et al. (1991) and Singh et al. (2003). On the contrary, Kammar and Gnagadhar (1998) reported no adverse effect of vaccination on sperm concentration during post vaccination period, and in the current study there is no evidence of reduction in sperm concentration ($p>0.05$). The decreased sperm concentration may be due to the adverse effects of therapeutic agents on germinal cells resulting into increase in dead spermatozoa, which are absorbed by leucocytes through phagocytosis (Mann and Mann 1981). The negative effects of vaccination may be due to the adverse effects produced by therapeutic agents or degenerative changes in germinal epithelium. The increased resorption of abnormal spermatozoa leads to reduction in epididymal sperm reserves (Rao et al. 1980), thereby decreasing concentration. The motility of sperm cell develops during their passage through epididymis (Olson et al. 2002). However, vaccination transitory rise in body temperature as well as testes temperature causes derangement in spermatogenesis and epididymal function, and this leads to vaccination mediated declined sperm motility (Arthur 1989). When testicular temperature increases, metabolism increases at a greater rate than blood flow and hence the testes become hypoxic. Therefore, the testes are very susceptible to temperature increases due to endogenous or exogenous factors (e.g. fever, high ambient temperature). As testicular temperature increases, the proportion of defective spermatozoa increases; recovery is dependent upon the nature and duration of the thermal insult (Setchell 1978). Pankaj et al. (2007) reported significant reduction in the mass activity and motility of buffalo bull semen after vaccination. In this study a non-significant effect on initial progressive motility with decreasing trend was observed which is in agreement with observation of Gupta et al. (2017). Our results are in agreement with the findings of Bhakat et al. (2010) who reported a significant decline in post thaw motility during post vaccination. To be specific, there was a significant decrease in frozen semen samples progressive and slow motility, rate of plasma membrane integrity and significant increase in immotile spermatozoa in our study ($p<0.05$). Contrary to this Mangurkar et al. (2000) observed no significant effect on post freezing motility. Both physiological and structural status of sperm get severely affected during cryopreservation (Bailey et al. 2003). The chemical, osmotic, thermal and mechanical stresses during extension, cooling, freezing and thawing result in cryoinjuries of varying degree to the spermatozoa (Farooq et al. 2013). The significant variation in post thaw motility and motility after incubation test can be attributed to the effect of thermal stress developed following vaccination (Gupta et al. 2017).

Conclusion: The observations showed that vaccination changes the seminal characteristics of Holstein bulls. Thus, it is suggested that AI Centers consider sexual rest and prescribe supportive treatment in order to improve semen characteristics after vaccination.

Key words: FMD vaccination, Holstein, Semen quality