وزارت جهادکشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

---

- عنوان پروژه:

**افزایش راندمان پروتکل تولید رویان گاو دو منظوره**

- شماره مصوب پروژه: ۳-۱۳-۱۳۵۱-۱۰۹-۹۶۰۵۸۳
- نام و نام‌خانوادگی مجری مسئول( اختصاص به پروژه‌ها وطرحهای ملی ومشترک دارد):سعید اسماعیل خانیان مشترک با دانشگاه تهران
- نام ونام‌خانوداگی مجری/مجریان :سعید اسماعیل خانیان – احمد زارع شحنه
- نام‌و نام‌خانوادگی ناظران:محسن شرفی (دانشگاه تربیت مدرس)
- نام‌و نام‌خانوادگی مشاور(ان):
- نام و نام‌خانوادگی همکاران: مهدی نیکبختی، حمید کهرام، علی جوانروح علی آباد، محمدحسین بنابازی، مرتضی رضائی، ابوالحسن صادقی پناه، هدی جواهری بارفروشی، نرگس واسجی، نعمت الله اسدی، علیرضا یوسفی، نوید داداش پور دواچی،
- محل اجرا : موسسه علوم دامی کشور – پردیس دانشگاه کشاورزی تهران
- تاریخ شروع :۹۶/۷/۱
- مدت اجرا :۹۹/۱۱/۱
- ناشر:
- شمارگان(تیراژ):۱۰۰۰
- تاریخ انتشار:
- این اثر در مورخ ۹ ۱۴۰۰/۱۰ با شماره ۶۰۸۵۳ در مرکز اطلاعات و مدارک علمی کشاورزی به ثبت رسیده است.

- حق چاپ محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

**چکیده :**

اسید فولیک به عنوان یک کوانزیم در چرخه متیونین–هموسیستئین نقش مهمی در سامانه‌های بیولوژیکی مانند پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسید کننده و متیلاسیون DNA ایفا می‌کند که می‌تواند شایستگی تکاملی تخمک و رویان را بهبود ببخشد. هدف این پژوهش، بررسی اثر مکمل‌سازی محیط کشت با غلظت‌های مختلف اسید فولیک (ویتامین $B_9$) بر بلوغ تخمک، شایستگی تکاملی رویان، محتوای گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و بیان ژن‌های DNMT1، DNMT3A و DNMT3B بود. بدین جهت، در آزمایش اول به منظور تعیین غلظت‌های اسید فولیک و هموسیستئین، فولیکول‌ها به دو دسته کمتر و بیشتر از هشت میلی‌متر تقسیم‌بندی شدند. سپس غلظت اسید فولیک و هموسیستئین در هر دو گروه فولیکولی و همچنین در محیط کشت تجاری اندازه‌گیری شد. در آزمایش دوم، بلافاصله پس از کشتار، تخمدان‌ها به آزمایشگاه منتقل و با آسپیره کردن کمپلکس‌های تخمک–کولوموس از فولیکول‌های دو تا هشت میلی‌متری استحصال شد. تخمک‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه تقسیم، و بر اساس نتایج آزمایش نخست، غلظت‌های مختلف اسید فولیک (صفر، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر) به محیط کشت بلوغ اضافه شد و تخمک‌های بلوغ یافته تحت IVF و IVC قرار گرفتند. به منظور تعیین فعالیت ROS درون سلولی در تخمک‌ها، از روش سنجش نور ۲۰،۷۰–دیکلرولوفلورسئین استفاده شد. RNA از تخمدان‌ها، تخمک‌های بدون سلول‌های کومولوس و بلاستوسیست برای تعیین بیان نسبی DNA متیل ترانسفراز ۱ (DNMT1)، ۳ (DNMT3A) و 3B (DNMT3B) با استفاده از کیت تجاری استخراج شد. غلظت اسید فولیک و هموسیستئین در فولیکول‌های با قطر کمتر از هشت میلی‌متر، بیشتر از فولیکول‌های بزرگ‌تر از هشت میلی‌متر و همچنین بیشتر از غلظت آن‌ها در محیط بلوغ بود. مکمل‌سازی محیط بلوغ با ۱۰۰ نانوگرم اسید فولیک/میلی‌لیتر نسبت به گروه شاهد، موجب افزایش درصد تخمک‌های مرحله متافاز دو شد ($P<$ ۰/۰۵). افزودن اسید فولیک محتوای ROS تخمک را در تمام گروه‌های تحت درمان نسبت به گروه شاهد کاهش داد؛ در ضمن، کمترین میزان آن در سطح ۱۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر نسبت به سایر گروه‌های مربوطه مشاهده شد ($P<$۰/۰۵). نرخ باروری در سطح ۱۰ و ۱۰۰ در مقایسه با گروه شاهد بهبود یافت ($P<$۰/۰۵). هر دو نسبت بلاستوسیست/تخمک و بلاستوسیست/زایگوت کلیواژ یافته در سطح ۱۰۰ در مقایسه با گروه شاهد با نسبت شانس ۲/۶۷ و ۲/۷۲ افزایش یافت ($P<$۰/۰۵). فراوانی رونوشت DNMT1 در تخمک بالغ در تمام تخمکهای تحت درمان با اسید فولیک نسبت به گروه شاهد افزایش یافت، اما بالاترین میزان در سطح ۱۰۰ مشاهده شد ($P<$۰/۰۵). اگرچه فراوانی رونوشت DNMT3A نیز در تخمکهای سطح ۱۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر افزایش یافت اما بیان DNMT3B در همه گروه های تحت درمان با اسید فولیک در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت ($P<$۰/۰۵). فراوانی رونوشت DNMT3A و DNMT3B در بلاستوسیست‌های سطح ۱۰۰ به ترتیب نسبت به گروه شاهد افزایش و کاهش نشان داد ($P<$۰/۰۵). این یافته ها نشان داد که افزودن ۱۰۰ نانوگرم اسید فولیک در میلی‌لیتر براساس غلظت اسید فولیک و هموسیستئین محیط کشت تخمک تأثیر مفیدی بر میزان لقاح و شایستگی تکاملی زیگوات تولیدی دارد.

**کلید واژه ها :**اسید فولیک، بلوغ برون تنی، گاو، لقاح برون‌تنی، هموسیستئین