

Pemetaan folikel ovarium induk lembu menggunakan kaedah pengimejan ultrasonik

(Ovaries follicular mapping in cows using ultrasonic imaging technique)

Azizah Amri, Ahmad Johari, Ajis Hassan dan Musaddin Kamaruddin

Pengenalan

Folikel merupakan unit asas reproduktif ternakan betina yang terletak pada permukaan ovarium. Ia adalah kantung berisi ovum iaitu sel pembiakan induk betina. Diameter folikel akan membangun dan saiznya akan membesar bergantung pada proses kematangan oosit di dalam folikel dalam satu tempoh kitaran estrus. Folikel ovarium akan membangun dan membesar dalam satu gelombang. Ramai beranggapan bahawa dalam satu tempoh estrus, hanya satu folikel sahaja yang akan membangun, membesar dan menjadi dominan. Namun, sebenarnya dalam satu tempoh kitaran estrus, induk lembu akan mengalami sama ada satu, dua, tiga atau empat gelombang pembangunan folikel pelbagai peringkat. Kefahaman berkenaan gelombang folikel boleh diperolehi melalui pengimejan ultrasonik transrektal folikel ovarium. Teknik pengimejan ultrasonik transrektal dan ukuran pembangunan folikel ovarium biasanya dibuat dalam satu tempoh kitaran estrus. Bilangan gelombang folikel adalah faktor yang menyumbang kepada tempoh masa satu kitaran estrus sama ada 18, 21 atau 24 hari. Pembangunan folikel dikawal atur oleh interaksi hormon endokrina terutamanya hormon perangsang folikel (FSH) dan hormon menglutin (LH), faktor intrafolikel seperti TGF- β dan juga laluan molekul intrasel yang melibatkan isyarat transduksi dan apoptosis. Walau bagaimanapun, faktor ini akan berubah disebabkan oleh beberapa pengaruh seperti pemakanan, hormon dan pembangunan folikel.

Konsep gelombang folikel

Folikel dominan didefinisikan sebagai folikel yang membangun, berkembang dan berdiameter 8 mm melebihi saiz folikel yang lain dalam sesuatu gelombang. Folikel dominan mencapai diameter maksimum 13–16 mm antara hari ke-6 hingga ke-7 dan menjadi stabil pada hari ke-6 dan ke-10. Pada hari yang ke-15, saiz folikel akan mengecut dan tidak boleh dikenal pasti lagi. Dalam folikel bergelombang tiga, ini merupakan folikel anovulatori/anovulasi. Sebaliknya, dalam folikel bergelombang dua, folikel dominan kedua direkrut pada hari yang ke-10 dalam kitaran estrus. Folikel akan mengalami ovulasi 11 hari kemudian (21 hari setelah ovulasi yang terdahulu), sementara induk dengan tiga gelombang folikel, dominan folikel yang kedua akan muncul sekitar hari ke-16 dan ovulasi 7 hari kemudian. Oleh itu, kitaran estrus dengan dua gelombang folikel adalah pendek berbanding dengan kitaran tiga

gelombang folikel (21 hari berbanding dengan 23 hari). Purata saiz maksimum folikel dominan dalam gelombang kedua adalah serupa dengan folikel dominan pada gelombang pertama (lebih kurang 16 mm). Oleh sebab itu, sekurang-kurangnya satu folikel yang besar (lebih kurang 12 mm) biasanya muncul pada hari ke-4 setiap kitaran estrus.

Corak gelombang folikel

Gelombang folikel adalah merujuk pada corak folikel dominan membangun dan berkembang. Gelombang folikel berlaku dalam fasa folikel dan luteal. Konsep gelombang folikel adalah:

- 1) kohort folikel bermula pada awal gelombang
- 2) folikel yang diambil kira adalah daripada kedua-dua belah ovari dan tidak terbatas hanya kepada sebelah sahaja

Perkembangan folikel dibahagikan kepada tiga fasa iaitu fasa pertumbuhan, plateau atau statik dan regresif. Fasa pertumbuhan adalah tempoh yang bermula daripada kemunculan gelombang sehingga berhenti membangun secara progresif. Fasa statik pula adalah tempoh antara perkembangan diameter folikel mula berhenti dan tempoh diameter folikel dominan mula berkurangan secara progresif, manakala fasa regresif boleh ditakrifkan sebagai tempoh selepas berakhirnya fasa statik yang akan mengecilkan saiz folikel dominan.

Fenomena gelombang folikel melibatkan perkembangan folikel yang boleh didefinisikan sebagai satu siri kohort folikel matang yang ovulasi bawah pengaruh rangsangan hormon gonadotropin daripada pituitari. Pembangunan folikel lembu disifatkan sebagai perkembangan sekumpulan folikel kecil diikuti dengan pemilihan folikel dominan dan seterusnya berlaku penyusutan folikel subordinat. Folikel subordinat kemudiannya mengalami atresia (jasad hitam yang telah mati) sementara folikel dominan menambah saiz diameternya. Folikel dominan yang pertama dikesan sebagai satu kohort berdiameter 2–5 mm yang terdapat pada hari ovulasi. Pemilihan folikel dibuat pada hari yang ke-2 atau ke-3 kitaran estrus dan akan menjadi dominan pada hari ke-4 dan ke-5. Folikel ovari ruminan yang membangun sama ada dalam dua atau tiga gelombang folikel akan berlaku secara berturutan pada setiap kitaran estrus. Terdapat pembangunan folikel dalam dua gelombang semasa kitaran estrus bovin. Manakala semasa folikel membangun, terdapat tiga tempoh pembangunan aktif-estrogen berlaku.

Kajian di Malaysia terhadap lembu betina baka Kedah-Kelantan dan kacukannya mendapati sebanyak dua dan tiga gelombang folikel dominan berlaku dalam satu tempoh kitaran estrus dengan 20% folikel dominan membangun melalui dua gelombang manakala 80% membangun melalui tiga gelombang. Min tempoh kitaran estrus antara dua dan tiga gelombang ialah 20.2 hari dan min tersebut adalah tidak signifikan.

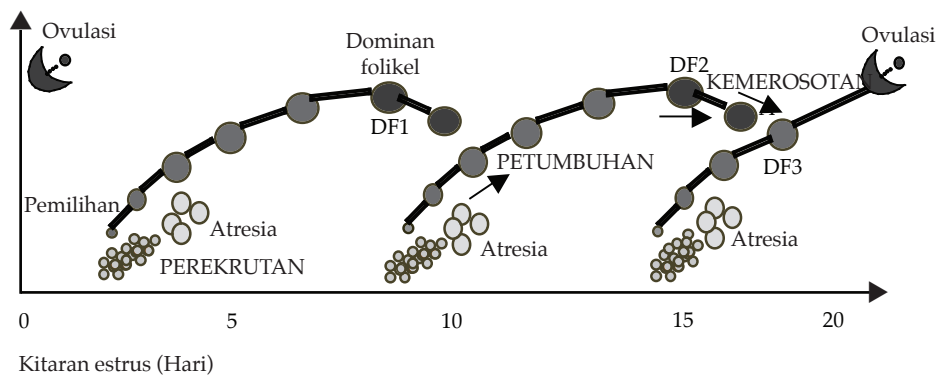
Dinamik gelombang folikel

Dinamik folikel dominan melibatkan tiga peringkat, iaitu perekrutan, pemilihan dan dominan. Hari kemunculan folikel dianggap sebagai hari pertama atau bermulanya gelombang folikel apabila kohort folikel yang sedang membangun berdiameter 4–5 mm boleh dikesan melalui alat ultrasonografi. Proses yang membentuk kohort folikel daripada beberapa folikel bersaiz kecil membangun dan berkembang menjadi saiz yang lebih besar dipanggil sebagai perekrutan. Satu folikel setiap kohort akan terpilih dan terus membangun untuk menjadi dominan dan menghalang folikel lain dalam kohort daripada berkembang. Perekrutan adalah fasa pembangunan folikel apabila kohort folikel yang kecil mula membangun dan menghasilkan estradiol. Folikel membesar pada kadar 1–2 mm selama 2–3 hari semasa fasa pertumbuhan, sementara folikel subordinat akan menyusut dan mengakhiri pembangunannya. Oosit dalam folikel akan membesar dan mengalami kapasitasi dengan melalui beberapa perubahan sehingga mencapai pembangunan saiz yang maksimum.

Pemilihan adalah proses apabila folikel dipilih untuk menjadi dominan dan menghalang folikel subordinat daripada membangun dan seterusnya akan berhenti membesar, menyusut dan mengecut. *Rajah 1* menunjukkan pembangunan dan pembesaran skematik folikel dalam satu tempoh kitaran estrus. Folikel subordinat menjadi atretik pada hari ke-5 selepas gelombang folikel terbentuk. Fasa terakhir pemilihan ditandakan dengan sisihan 2–3 mm diameter folikel terbesar berbanding dengan kedua terbesar gelombang folikel.

Kadar kecapahan pembangunan atau pembesaran folikel dirujuk sebagai sisihan. Mekanisme yang menyebabkan sisihan folikel tidak diketahui dan mungkin disebabkan oleh folikel subordinat bersandarkan FSH terhenti membangun selepas sisihan, diikuti dengan pengurangan kepekatan plasma FSH dan pengambilalihan kerresponsifan LH oleh folikel dominan. Sisihan berlaku 3 hari selepas kemunculan folikel di mana folikel dominan membangun dan membesar kepada diameter 8.5 mm. Dalam sesetengah kes, dua folikel yang *co-dominance* akan membangun dan membesar secara berterusan melebihi diameter 10 mm, walaupun sifat sisihannya masih sama kecuali ia berlaku antara folikel pertama dan ketiga gelombang folikel. Dinamik morfologi yang mempunyai kaitan dengan sisihan adalah konsisten antara semua gelombang pembangunan folikel semasa kitaran estrus. Dalam kajian terhadap lembu betina KK, tempoh yang diperlukan dari alat pelepas hormon terkawal intravaginal (CIDR) mula dikeluarkan ke gelombang folikel pertama ialah 5.9 hari. Manakala jangka masa antara gelombang folikel pertama hingga gelombang kedua dan jangka masa dari gelombang kedua hingga gelombang ketiga masing-masing ialah 7.15 dan 7.25 hari.

Pembangunan atau perkembangan folikel ialah satu proses kohort folikel berkembang dan mengalami kematangan yang dipengaruhi oleh rangsangan hormon gonadotropin daripada



Rajah 1. Gambaran skematik dinamik folikel semasa kitaran estrus dalam lembu yang mempunyai pembangunan folikel ovari sebanyak tiga gelombang

pituitari yang mencukupi untuk proses ovulasi. Regresi CL semasa ovulasi pada fasa folikel mengambil masa kira-kira 3–6 hari dalam lembu dan ia tidak mencerminkan tempoh pembangunan dan perkembangan folikel dominan yang sebenar. Oleh itu, tempoh kitaran estrus adalah berkait rapat dengan tempoh fasa luteal.

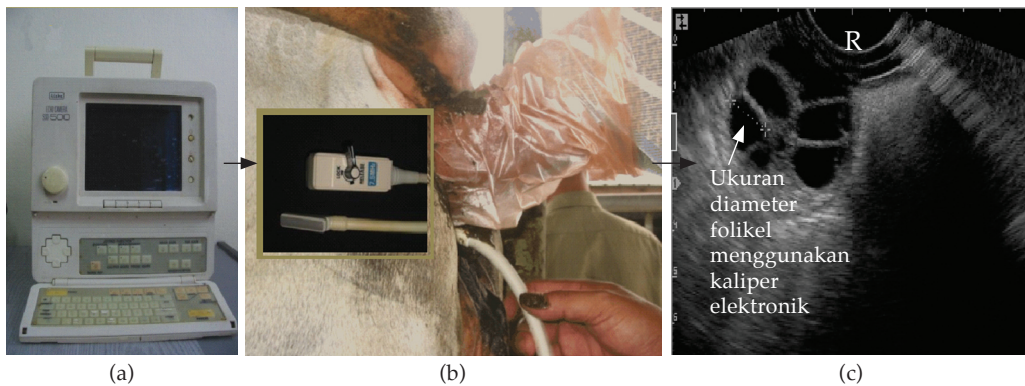
Pengimejan dan pemetaan folikel

Kajian berkenaan dinamik folikel boleh diperoleh melalui pengimejan ovari lembu menggunakan alat ultrasonografi transrektal. *Gambar 1(a)* menunjukkan alat ultrasonografi dan kaedah yang digunakan untuk menjalankan pengimejan folikel. Alat ultrasonografi (SSD 500, Aloka Jepun) dilengkapi dengan monitor yang disambung kepada alat transduser. Seseorang juruteknik akan memasukkan transduser ke dalam rektum induk betina melalui palpasi rektum seperti *Gambar 1(b)*.

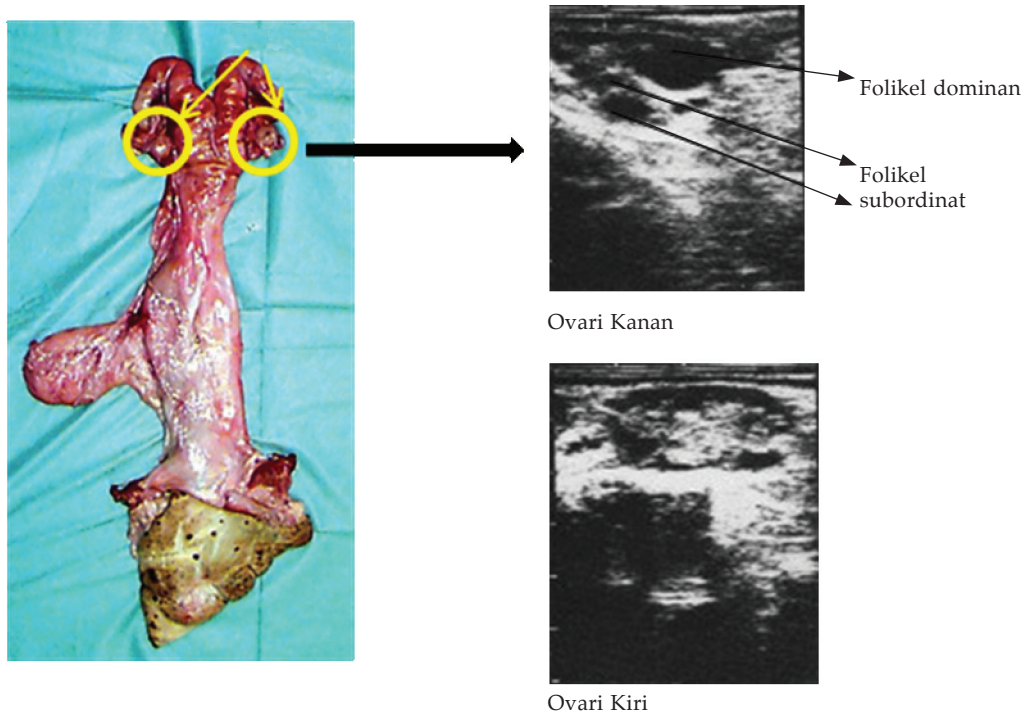
Teknik palpasi rektum adalah sama seperti memeriksa kebuntingan ternakan. Cuma perbezaannya adalah dari segi alat transduser yang digunakan untuk melekap pada permukaan ovari supaya pengimejan folikel dapat dilakukan melalui monitor alat ultrasonografi. Imej folikel dipetakan dan dilukis dalam peta folikel. *Gambar 1(c)* menunjukkan imej folikel yang diukur menggunakan kaliper elektronik pada alat ultrasonografi. Gambaran diameter dan saiz folikel dibuat dan diambil setiap hari dalam satu tempoh kitaran estrus sehingga pengovulan berlaku sama ada pada hari ke-18, ke-21 atau ke-24.

Lokasi ovari secara relatif dengan organ pembiakan betina dan kaedah pemetaan folikel dibuat untuk mengkaji pembangunan folikel dominan ditunjukkan dalam *Gambar 2*. Gelombang folikel mula dikesan pada diameter 4–5 mm dan membentuk satu siri pembangunan dan perkembangan folikel dominan. Diameter bersaiz 4–5 mm adalah saiz di mana reseptor bersandarkan FSH telah mula terbentuk di sel-sel granulosa.

Perkembangan teknologi pembiakan terkini lembu memerlukan pengetahuan berkenaan pembangunan dan perkembangan folikel ovari untuk menganggarkan masa ovulasi.



Gambar 1. Alat ultrasonografi yang digunakan untuk pengimejan folikel ovari: a) Monitor ultrasound, b) transduser yang disambung ke monitor dan c) imej folikel untuk diukur menggunakan kaliper elektronik



Gambar 2. Urutan bahagian folikel ovari yang digambar, folikel dominan dan subordinat

Daripada kajian terhadap lembu pedaging Kedah-Kelantan, min masa ovulasi dalam gelombang folikel 2 dan 3 yang diperoleh ialah 89.05 jam dikira bermula dari CIDR dikeluarkan. Pengetahuan ini dapat membantu meningkatkan kecekapan teknik pembiakan seperti AI, pemindahan embrio dan pungutan oosit secara transvagina.

Faktor yang mempengaruhi pembangunan dan perkembangan folikel

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi pembangunan dan perkembangan folikel. Faktor-faktor yang boleh mengubah corak, dinamik dan perkembangan folikel termasuklah pemakanan, hormon dan pembangunan folikel.

Pemakanan

Pemakanan merupakan salah satu elemen penting dalam penternakan dan pengurusan ternakan. Ia mengandungi nutrien terutama tenaga yang boleh disimpan di dalam badan. Pengambilan nutrien dalam bentuk tenaga yang tersimpan di dalam badan adalah pengawal atur utama (*major regulators*) dalam menentukan prestasi reproduksi induk lembu pedaging. Sumber makanan utama untuk pembiakan ternakan ialah protein dan tenaga. Ia memainkan peranan utama dalam menyelaras aras plasma progesteron, bilangan folikel dan tindak balas ovulasi. Ketidakseimbangan protein dan tenaga secara relatif dalam pengambilan makanan boleh menjejaskan kecekapan metabolisme tenaga. Imbangan negatif tenaga boleh menyebabkan pembangunan folikel yang tidak normal dan teratur.

Tempoh matang adalah tahap pertama reproduksi yang boleh dikesan apabila nutrien tenaga dalam pemakanan adalah ketara. Nutrien tenaga yang rendah dalam pemakanan menyebabkan tempoh matang yang lewat, kadar konsepsi yang rendah dan keguguran yang tinggi dalam lembu betina muda. Telah dibuktikan bahawa lembu betina muda yang diberi pemakanan mengandungi tenaga yang tinggi akan mencapai kematangan seks yang lewat.

Pemakanan juga adalah elemen yang penting dalam mengubah suai pembentukan diameter dan saiz folikel dominan. Beberapa kajian telah melaporkan bahawa saiz diameter folikel dominan berkurangan apabila sekatan makanan dibuat terhadap ternakan. Selain itu, kajian pada tahun 1997 telah membuktikan sekatan secara akut pengambilan tenaga selama 3–6 hari sebelum ovulasi akan mengurangkan kadar perkembangan dan saiz maksimum folikel dominan ovulasi. Tahap pemakanan mempengaruhi pencetus ovulasi dan penyelenggaraannya. Seterusnya faktor ini akan menyumbang kepada kelewatan kemunculan sebilangan folikel pada gelombang folikel yang kedua dalam kitaran estrus.

Pengambilan nutrisi mempengaruhi konsentrasi progesteron dengan terdapatnya hubungan korelasi secara negatif antara pengambilan nutrisi dengan konsentrasi progesteron. Keadaan ini disebabkan oleh peningkatan dalam katabolisme progesteron dan sirkulasi hepatic pada aras pemakanan yang tinggi. Manakala pemberian diet tambahan yang mengandungi tenaga dan protein yang tinggi telah meningkatkan kadar ovulasi. Walau bagaimanapun, kandungan progesteron yang rendah boleh menyebabkan pembangunan folikel berpanjangan dan

mengakibatkan kesuburan yang rendah kerana kualiti oosit yang menurun.

Kajian juga telah membuktikan bahawa pengehadan pemakanan secara berterusan selama enam kitaran estrus akan memanjangkan kitaran estrus dengan pembangunan tiga folikel dominan. Oleh itu, pemberian pemakanan yang berkualiti boleh meningkatkan tingkah laku estrus dan bilangan ovulasi. Lembu yang diberi makan dengan sumber protein yang tidak mencukupi boleh menyebabkan tempoh estrusnya menjadi panjang dan penurunan kadar konsepsinya. Pemberian makanan dengan sumber protein yang berlebihan pula boleh menyebabkan degradasi yang sangat tinggi berlaku dalam rumen dan boleh mengakibatkan lembu menjadi tidak subur.

Pengaruh hormon

Pembangunan folikel bermula dengan rembesan hormon pelepasan gonadotropin (GnRH) daripada hipotalamus. Perubahan kadar sintesis dan penghasilan GnRH dan juga kadar degradasi hormon akan mengubah peranan folikel dalam mempengaruhi pembebasan gonadotropin.

Estrus juga berkolerasi dengan pembangunan dan pembesaran folikel ovari dengan merangsang rembesan estrogen. Estrogen ialah hormon sekunder betina yang dirangsang oleh folikel dominan ovari bersaiz besar ketika estrus. Ia bertindak terhadap lembu betina untuk merangsang kelakuan estrus dan pengeluaran prostaglandin daripada uterus yang akan menghapus jangka hayat CL dan merangsang tempoh kitaran estrus.

Pengaruh pembangunan folikel

Kitaran estrus adalah berasaskan fungsi ovari dan terbahagi kepada dua komponen iaitu fasa luteum dan fasa folikel. Perubahan tingkah laku estrus berlaku dalam fasa folikel. Fasa luteum adalah tempoh masa apabila CL berfungsi. CL ialah sumber utama yang menghasilkan progesteron dalam mamalia yang diperlukan untuk menyelenggara peringkat awal kebuntingan. Ia bertahan selama 16–17 hari dalam lembu betina. Fasa folikel pula adalah tempoh dari mula regresi korpora lutea terjadi sehingga ovulasi seterusnya. Tempoh tersebut adalah singkat iaitu kira-kira 3–6 hari dalam lembu betina. Fasa folikel tidak mencerminkan tempoh sebenar pembangunan dan pembesaran folikel dominan. Oleh itu, tempoh kitaran estrus berkait rapat dengan tempoh fasa luteum.

Regresi CL berlaku kesan daripada tindakan luteolisis oleh prostaglandin. Sinkronisasi estrus semasa fasa lutea dalam lembu atau biri-biri selepas rawatan luteolisis prostaglandin menyebabkan aras progesteron berkurangan, kitaran estrus menjadi pendek, pembesaran folikel menjadi lebih cepat dan ovulasi berlaku lebih awal daripada biasa. Dipercayai imbalan negatif tenaga boleh menyebabkan folikel abnormal dan pembangunan dan pertumbuhan yang tidak teratur. Faktor dan

hormon yang mempengaruhi pembangunan dan pertumbuhan folikel ialah *Insulin-like Growth Factor* (IGF), FSH dan LH.

Kesimpulan

Pembelajaran dan pengetahuan berkenaan gelombang folikel dalam ternakan dapat membantu program pembiakannya secara terancang. Penyelidik akan memperoleh manfaat daripada pembangunan program pembiakan terkawal yang menggabungkan pengsinkronian ovulasi dengan keupayaan untuk menjalankan AI tanpa perlu mengesan estrus manakala hari pungutan oosit secara transvagina pula boleh diramal dengan lebih tepat. Keperluan untuk memperbaiki masa AI dan kaedah pungutan oosit adalah supaya dapat meningkatkan kadar konsepsi dan menghasilkan oosit yang berkualiti baik dan tinggi kuantitinya untuk menjalankan pembiakan secara *in vitro*.

Rujukan

- Lanyasunya, T.P, Musa, H.H., Yang, Z.P., Mekki, D.M. dan Mukisira, E.A. (2005). Effects of Poor Nutrition on Reproduction of Dairy Stock on Smallholder Farms in the Tropics. *Pak. J. Nutri.* 4(2): 117-122
- McDougall, S., Blache, D. dan Rhodes F.M. (2005). Factors affecting conception and expression of oestrous in an oestrous cows treated with progesterone and estradiol benzoate. *Anim. Reprod. Sci.* 88: 203-214
- Vinoles, C., Meikle, A. dan Forsberg, M. (2004). Accuracy of evaluation of ovarian structures by transrectal ultrasonography in ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 80: 69-79

Ringkasan

Pengetahuan berkenaan pembangunan dan corak gelombang folikel boleh membantu penyelidik mengetahui tempoh kitaran estrus ternakan lembu betina. Pemahaman pembangunan dan corak gelombang folikel boleh dipelajari melalui pengimejan ultrasonik transrektal terhadap folikel dalam ovari. Ia dilakukan melalui pemetaan folikel setiap hari atau selang sehari dalam satu kitaran estrus. Pengetahuan tersebut sangat bermanfaat kepada penyelidik kerana boleh digunakan dalam memperbaiki program pembiakan secara terkawal yang menggabungkan teknik sinkronisasi ovulasi, teknik pernian beradas dan membentuk program pernian beradas tepat masa supaya kadar konsepsi dapat ditingkatkan. Kajian terhadap lembu betina Kedah-Kelantan masing-masing mempunyai 20% dan 80% corak 2- dan 3- gelombang folikel. Min masa ovulasi berlaku pada 89.05 jam dikira bermula dari alat pelepas hormon terkawal intravagina (CIDR) dikeluarkan. Pengetahuan berkaitan pembangunan folikel juga penting untuk menjalankan program pungutan oosit secara transvagina daripada induk penderma hidup untuk pengeluaran embrio secara persenyawaan *in vitro*.

Summary

Knowledge on follicular wave pattern and development can help the understanding of the oestrous cycle in cows. The understanding of follicular wave pattern and development can be determined by the ultrasonography through daily or alternate day transrectal ultrasonic imaging of follicles in one oestrous cycle. The knowledge is beneficial to a researcher in controlled breeding program which combines synchronisation of oestrus and ovulation to improve the artificial insemination technique and developing the timed artificial insemination, in order to increase conception rate. Study in Kedah-Kelantan cows had shown 20% and 80% of 2- dan 3- follicular waves development, respectively. On average ovulation occurred 89.05 hours calculated from the time the controlled internal drug releasing device (CIDR) was removed. The knowledge of follicular development is also important in order to harvest oocytes through transvaginal oocyte aspiration of live donor cows for in vitro embryo production.

Pengarang

Azizah Amri

Pusat Penyelidikan Ternakan dan Strategik, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,
Peti Surat 12301, 50774 Kuala Lumpur
E-mel: aziamri@mardi.gov.my

Ahmad Johari dan Ajis Hassan

Pusat Penyelidikan Ternakan Strategik, Stesen MARDI Kluang,
Beg Berkunci No 525, 86009 Kluang, Johor

Musaddin Kamaruddin

Pusat Penyelidikan Ternakan dan Strategik, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,
Peti Surat 12301, 50774 Kuala Lumpur