نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۴، پاییز ۱۳۹۸
ص‌ص: ۷۷~۹۰

اثر تغذیه کوتاه مدت جیره پرانرژی و تزریق گونادوتروپین‌های جفتی بر دینامیک فولیکولی، متابولیت‌های خون و عملکرد تولیدمثلی میش‌های نایینی

- **جواد حبیبی زاد**

دانش آموخته دکتری تخصصی فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان - ایران و استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج - ایران

- **احمد ریاسی** (نویسنده مسئول)

دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان - ایران.

- **حمید کهرام**

استادیار، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران - ایران.

تاریخ دریافت : مرداد ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش : آبان ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۲۲۶۶۷۳۴

Email: ariasi@iut.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.122885.1746

چکیده

در این مطالعه اثر مصرف کوتاه‌مدت جیره حاوی انرژی زیاد و تزریق گنادوتروپین جفت اسب[1] (eCG) و گنادوترپین جفت انسان[2] (hCG) بر دینامیک فولیکولی، متابولیت‌های خون و پاسخ تولید مثلی میش‌های نائینی بررسی شد. از ٤٥ رأس میش نایینی ۳ تا ٤ ساله استفاده شد که به سه گروه ۱۵ رأسی تقسیم شدند. تیمارها شامل: ۱- جیره نگهداری همراه با تزریق eCG (Me)، ۲- جیره کوتاه‌مدت پر انرژی همراه با تزریق eCG (HEe) و ۳- جیره کوتاه‌مدت پر انرژی همراه با تزریق eCG و hCG (HEeh). چرخه فحلی تمام میش‌ها با اسفنج حاوی پروژسترون به‌مدت ۱۲ روز در فصل تولیدمثلی، همزمان شد. تغذیه کوتاه مدت جیره پرانرژی به‌مدت ٦ روز (از ٤ روز قبل گذاشتن اسفنج تا ۱ روز پس از برداشتن آن) انجام شد. تزریق eCG یک روز قبل از برداشتن اسفنج و تزریق hCG در روز برداشتن اسفنج و یک روز پس از آن انجام شد. نتایج نشان داد که صرف نظر از نوع هورمون تزریق شده، مصرف کوتاه مدت جیره پرانرژی جمعیت فولیکول‌های متوسط و بزرگ را افزایش ($P<۰/۰۵$) داد. در گروه‌های مصرف کننده جیره پرانرژی غلظت گلوکز، کلسترول و انسولین بیشتر ($P<۰/۰۵$) و غلظت نیتروژن اوره‌ای سرم کمتر ($P<۰/۰۵$) از گروه Me بود. قبل از برداشتن اسفنج، غلظت استرادیول در گروه‌های HEe و HEeh کاهش ($P<۰/۰۵$) و پس از آن افزایش ($P<۰/۰۵$) یافت. گروه HEeh بیشترین ($P<۰/۰۵$) نرخ دوقلوزایی (٤۲/۹٪) را داشت. به‌طور کلی تغذیه کوتاه‌مدت جیره پرانرژی همراه با تزریق گنادوتروپین‌های جفتی موجب افزایش توسعه فولیکولی، تغییر فراسنجه‌های خونی و بهبود عملکرد تولیدمثلی میش‌های نایینی شد.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 124 pp: 77-90

Effect of short-term feeding high energy diet and chorionic gonadotropins injection on follicular dynamics, blood metabolites and reproductive performance in Naeini ewes

By: Javad Habibizad [1], Ahmad Riasi [2], Hamid Kohram [3].
1. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.
2. Associate Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

Received: August 2018 **Accepted: November 2018**

Effect of short-term feeding high energy diet along with eCG and hCG injection on follicular dynamics, blood metabolites, double ovulation and twinning rates in Naeini ewes was evaluated. For this purpose, 45 Naeini ewes (3-4 years old) were randomly assigned to 3 experimental groups: 1- Maintenance diet + eCG (Me), 2- Short-term high energy diet + eCG (HEe) and 3- Short-term high-energy diet + eCG and hCG (HEeh). All ewes were synchronized by inserting intravaginal progesterone sponges for a period of 12 days during the breeding season. The short-term feeding was started 4 d before until 1 d after sponge removal (for a 6 d period). The eCG injection was done 1 d before sponge removal and hCG injection was done on the day of sponge removal and 1 d later. Results showed that regardless of the kind of hormone injection, feeding high energy diet increased (P<0.05) the medium and large follicles population. The HEe and HEeh groups had higher (P<0.05) serum glucose, cholesterol and insulin, but lower (P<0.05) serum urea nitrogen compared with Me group. In HEe and HEeh groups, (P<0.05) serum oestradiol decreased before sponge removal and increased (P<0.05) after that. The HEeh ewes had highest (P<0.05) twinning rate (42.9%). In general, short-term feeding (6-day) high energy diet along with chorionic gonadotropins injection improved the follicular development, blood parameters and reproductive performance in Naeini ewes.

Key words: Energy; Chorionic gonadotropin; Follicular development; Twinning rate, Naeini ewes.

مقدمه

یکی از مشکلات اساسی گوسفندداری در ایران، بازده کم تولیدمثلی توده‌های بومی است که بخشی از آن ناشی از عوامل ژنتیکی و بخشی ناشی از عوامل محیطی می‌باشد. در بین فاکتورهای محیطی تاثیرگذار بر عملکرد تولیدمثلی گوسفند، تغذیه از اهمیت زیادی برخوردار است (Vinoles و همکاران، ۲۰۱۴). افزایش سطح تغذیه موجب تحریک فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تخمدان می‌شود و بر زمان فحلی میش‌ها و نرخ تخمک‌ریزی آنها تاثیر می‌گذارد (Scaramuzzi و همکاران، ۲۰۰۶). سطح انرژی جیره و بالانس انرژی حیوان یکی از مهمترین موضوعات مرتبط با اثر متقابل تغذیه و تولیدمثل در نشخوارکنندگان است که در سال‌های اخیر بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (Habibizad و همکاران، ۲۰۱۵؛ Scaramuzzi و همکاران، ۲۰۱۵). در گوسفند استفاده از فلاشینگ سابقه بسیار طولانی دارد و بخوبی نشان داده شده است که افزایش سطح تغذیه میش‌ها از حدود دو هفته پیش از جفت‌گیری تا دو هفته پس از جفت‌گیری سبب بهبود افزایش وزن میش‌ها شده و نرخ بره‌زایی آنها را افزایش می‌دهد (Hulet و همکاران، ۱۹۶۲). اما، پاسخ به فلاشینگ در شرایط مختلف یکسان نیست و به عواملی مانند نژاد

(Sormunen-Cristian و Jauhiainen، ۲۰۰۲)، زمان و مدت فلاشینگ (Sabra و Hassan، ۲۰۰۸)، میزان و کیفیت مکمل‌های خوراکی (Acero-Camelo و همکاران، ۲۰۰۸) و ... بستگی دارد. در سال‌های اخیر برنامه تغذیه کوتاه مدت ۵ تا ۱۰ روزه (فوکوس فیدینگ[۳]) به همراه برنامه‌های درمان هورمونی به منظور بهبود نرخ تخمک‌ریزی در گوسفند مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (Senosy و همکاران، ۲۰۱۳؛ Habibi و همکاران، ۲۰۱۵). بطور معمول از هورمون eCG برای بهبود عملکرد تولیدمثلی میش‌ها استفاده می‌شود (Mulvaney و همکاران، ۲۰۱۳؛ Martinez و همکاران، ۲۰۱۵). نتایج یک تحقیق نشان داد که تزریق eCG در مرحله قبل و یا در زمان برداشتن اسفنج نرخ تخمک‌ریزی و بدنبال آن دوقلوزایی را در نژادهای با بازده کم تولیدمثل افزایش می‌دهد (Boscos و همکاران، ۲۰۰۲). اما، Pendleton و همکاران (۱۹۹۲) گزارش کردند که با تزریق eCG، رشد فولیکول‌ها در مرحله پس از تخمک‌ریزی نیز ادامه می‌یابد و غلظت استرادیول در مراحل ابتدایی فاز لوتئال همچنان زیاد است که ممکن است سبب سنتز و آزاد سازی PGF2α شود. تزریق hCG در حیوانات سوپراوووله شده با eCG، می‌تواند به پایداری جسم زرد کمک نماید و دو نوبت تزریق hCG موجب حذف فولیکول‌های پایدار (بعنوان عامل افزایش تولید استرادیول) می شود (Kelidari و همکاران، ۲۰۱۰؛ Karami-Shabankareh و همکاران، ۲۰۱۲). اگر چه گزارش‌های متنوعی در ارتباط با اثر تغذیه و درمان هورمونی برای بهبود بازده تولید مثل گوسفند ارایه شده است، اما در ارتباط با تاثیر یک برنامه تغذیه جیره پرانرژی کوتاه مدت (۶ روزه) به همراه هورمون‌های گنادتروپین جفتی اطلاعات زیادی در منابع معتبر علمی ارایه نشده است. بنابراین هدف از انجام این آزمایش بررسی تاثیر مصرف کوتاه مدت یک جیره پرانرژی به همراه تزریق eCG با یا بدون تزریق hCG بر دینامیک فولیکولی، نرخ تخمک‌ریزی، دوقلوزایی و غلظت متابولیت‌ها خون در میش‌های نایینی بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش تعداد ۴۵ رأس میش نایینی غیر آبستن با سن ۴-۳ سال و میانگین وزن ۱/۱±۴۳ کیلوگرم از گله گوسفندداری مزرعه آموزشی- پژوهشی لورک وابسته به دانشگاه صنعتی اصفهان انتخاب شد. میش‌ها به مدت حدود ۴ ماه بدون حضور قوچ در گله نگهداری شدند و برای اطمینان از آبستن نبودن آن‌ها سونوگرافی (Shenzhen Emperor Electronic Technology Co., Ltd. EMP. China) نیز انجام شد. تمام میش‌ها توسط دامپزشک گله معاینه و تست سلامت شدند. برای نگهداری حیوانات از جایگاه‌های انفرادی با امکان دسترسی آزاد به آب و خوراک استفاده شد و میش‌ها به ۳ گروه آزمایشی با ۱۵ حیوان در هر گروه تقسیم شدند، تیمارها شامل: ۱- جیره نگهداری همراه با تزریق eCG (Me)، ۲- جیره کوتاه‌مدت پر انرژی همراه با تزریق eCG (HEe) و ۳- جیره کوتاه‌مدت پر انرژی همراه با تزریق eCG و hCG (HEeh). در این آزمایش از دو جیره‌ی آزمایشی استفاده شد که بصورت کاملا مخلوط شده (TMR) در اختیار حیوانات قرار گرفت (جدول ۱). به گروه آزمایشی ۱ (Me) فقط جیره نگهداری داده شد و در گروه‌های آزمایشی ۲ و ۳ (بترتیب HEe و HEeh)، جیره غذایی پرانرژی به‌مدت ۶ روز (از ۴ روز قبل تا ۱ روز پس از اسفنج برداری) تغذیه شد.

جدول ۱- ترکیب مواد خوراکی و مغذی جیره‌های آزمایشی

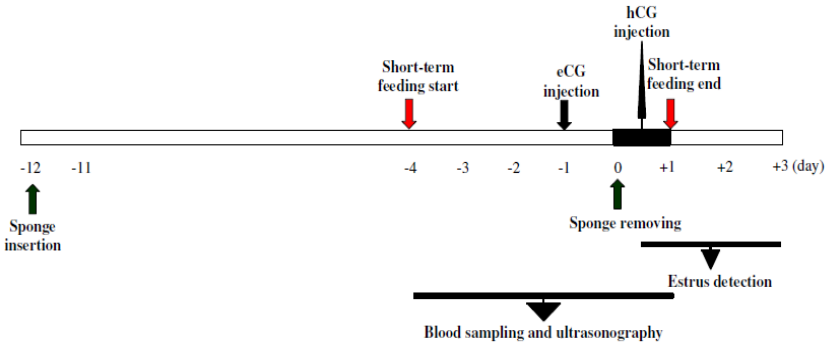
اجزای جیره (درصد)	جیره نگهداری	جیره پرانرژی
یونجه	۲۳	۲۳
کاه گندم	۳۵/۵	۱۲
ذرت	۱۵	۴۹
جو	۹/۵	۹/۵
کنجاله سویا	۳	۲
سبوس گندم	۱۲	۲
مکمل ویتامینه و معدنی	۰/۴	۰/۴
دی‌کلسیم فسفات	۰/۵	۰/۵
کربنات کلسیم	۰/۵	۰/۵
نمک	۰/۶	۰/۶
ترکیب شیمیایی جیره		
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم)	۲/۴	۳/۰۰
پروتئین خام (درصد)	۱۰/۵	۱۰/۵
کلسیم (درصد)	۰/۶۴	۰/۶۴
فسفر (درصد)	۰/۳۶	۰/۳۶

چرخه فحلی تمام میش‌ها با استفاده از اسفنج‌های حاوی پروژسترون (فلوروجستون استات، ساخت استرالیا[۴]) در یک دوره ۱۲ روزه همزمان شد. در تمام گروه‌های آزمایشی یک روز قبل از برداشتن اسفنج، ۴۰۰ واحد بین المللی eCG [۵] به هر میش تزریق شد. در گروه آزمایشی سوم در روز برداشتن اسفنج و یک روز پس از آن ۴۰۰ واحد بین المللی hCG [۶] نیز تزریق شد. برای مشاهده دقیق نشانه‌های فحلی و جفت‌گیری موفق از حدود ۱۲ ساعت پس از برداشتن اسفنج، ۹ رأس قوچ نائینی(۱ قوچ به ازای هر ۵ رأس میش) با سابقه تولید مثلی مطلوب در بین آنها قرار داده شد. میش‌هایی که اجازه پرش کامل به قوچ‌ها می‌دادند به‌عنوان فحل در نظر گرفته شدند و زمان مشاهده اولین پرش با دقت ثبت شد. برای اطمینان از جفت گیری میش‌ها، حداقل بعد از ۳ بار پرش قوچ‌ها، میش‌های جفت‌گیری کرده از بقیه جدا شدند. میش-هایی که علایم فحلی و جفت‌گیری را نشان دادند در یک محیط جداگانه نگهداری شدند.

به‌منظور ارزیابی دینامیک فولیکولی، در هر ۳ گروه آزمایشی از ۴ روز قبل تا ۱ روز بعد از برداشتن اسفنج جمعیت فولیکول‌های با قطر بیشتر از ۲ میلی‌متر با روش اولتراسونوگرافی[۷] به‌صورت روزانه بررسی شد. اولتراسونوگرافی با استفاده از پروب خطی و از راه راست روده، در حالی که گوسفند در موقعیت ایستاده قرار داشت انجام می‌شد. فولیکول‌های مشاهده شده در سطح تخمدان بر اساس اندازه به ۳ گروه کوچک (۳/۴-۲ میلی‌متر)، متوسط (۵-۳/۵ میلی‌متر) و بزرگ (میلی‌متر ۵<) دسته‌بندی شدند و تعداد آن-ها شمارش شد (Karami-Shabankareh و همکاران، ۲۰۱۰). به فاصله‌ی۱۰ روز پس از مشاهده علایم فحلی و جفت‌گیری، وضعیت تخمدان‌های هر میش از نظر وجود و تعداد جسم زرد براساس تخمک‌ریزی انفرادی و دوتایی با اولتراسونوگرافی بررسی شد.

به‌منظور بررسی تغییرات غلظت متابولیت‌ها و هورمون‌های مختلف، خون‌گیری از تمام میش‌ها با استفاده از سرنگ‌های ۱۰ سی‌سی از سیاهرگ گردنی در فاصله ۴ روز قبل تا ۱ روز پس از برداشتن اسفنج، بصورت روزانه انجام شد. در مدت نمونه‌گیری،

سرنگ‌ها بدون ماده ضد انعقاد و در کنار یخ نگهداری شده و بلافاصله بعد از اتمام خون‌گیری به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه با سانتریفیوژ (۲۵۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه) نمونه‌های سرم تهیه شد. نمونه‌های سرم در تیوب‌های نیم سی‌سی تا هنگام اندازه‌گیری متابولیت‌ها و هورمون‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. طرح شماتیک مراحل اجرای آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱- نمایش شماتیک مراحل انجام این آزمایش

میش‌هایی که پس از حدود ۵۱ روز (۳ چرخه تولیدمثلی) نشانه‌های فحلی را نشان ندادند، به‌عنوان آبستن در نظر گرفته شدند. در این آزمایش حدود ۱۲ ساعت پس از برداشتن اسفنج‌های حاوی پروژسترون و رها کردن قوچ‌ها در گله، زمان شروع فحلی (ساعت) و میزان پاسخ فحلی [(تعداد میش‌های فحل/ تعداد کل میش‌ها) × ۱۰۰] در هر گروه به صورت مجزا ثبت شد. در زمان زایش، صفات تولیدمثلی شامل تعداد میش‌های زایمان کرده، درصد دوقلوزایی [(تعداد میش‌های دوقلوزا/ تعداد میش‌های زایمان کرده) × ۱۰۰]، فکاندیتی[۸] [(تعداد بره‌های متولد شده/ تعداد کل میش‌ها جفت گیری کرده) × ۱۰۰] و پرولیفیکیسی[۹] [(تعداد بره‌های متولد شده / تعداد میش‌های زایمان کرده) × ۱۰۰] در هر گروه تیماری ارزیابی شد. غلظت گلوکز و کلسترول سرم به‌ترتیب با استفاده از کیت‌های تجاری زیست شیمی[۱۰] و پارس آزمون[۱۱] و با دستگاه الایزاریدر-808 (ELx Ultramicroplate Reader Bio-Tek Instruments INC. U.S.A) اندازه گیری شد. برای تعیین غلظت‌های نیتروژن اوره‌ای سرم از روش اسپکتوفتومتری (UV-Vis Recording Spectrophotometer Shimadzu-UV2100, Japan) و کیت‌های شرکت پارس آزمون استفاده شد. غلظت انسولین سرم با استفاده از کیت‌های تجاری الایزا ویژه گوسفند[۱۲] و غلظت استرادیول با استفاده از کیت‌های تجاری الایزا ویژه گوسفند[۱۳] اندازه گیری شد.

آنالیز آماری

متغییرهایی که اندازه‌گیری آن‌ها در طول یک دوره زمانی تکرار شده بود (تغییرات جمعیت فولیکولی، غلظت متابولیت‌ها و هورمون‌ها)، بر اساس داده‌های تکرار شده در زمان با طرح پایه کاملا تصادفی و با استفاده از رویه MIXED نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اطلاعات مربوط به نرخ پاسخ به فحلی، تعداد جسم زرد، تعداد بره‌های متولد شده، فکاندیتی و پرولیفیکیسی با استفاده از Proc Genmod بررسی شدند. مقایسه میانگین‌ها با روش دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. معادله آماری مورد استفاده بصورت زیر بود:

$$Y_{ijk}=\mu+\alpha_j+\beta_k+\delta_{jk}+\varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = مقدار هر مشاهده

μ = میانگین کل

α_j = اثر تیمار

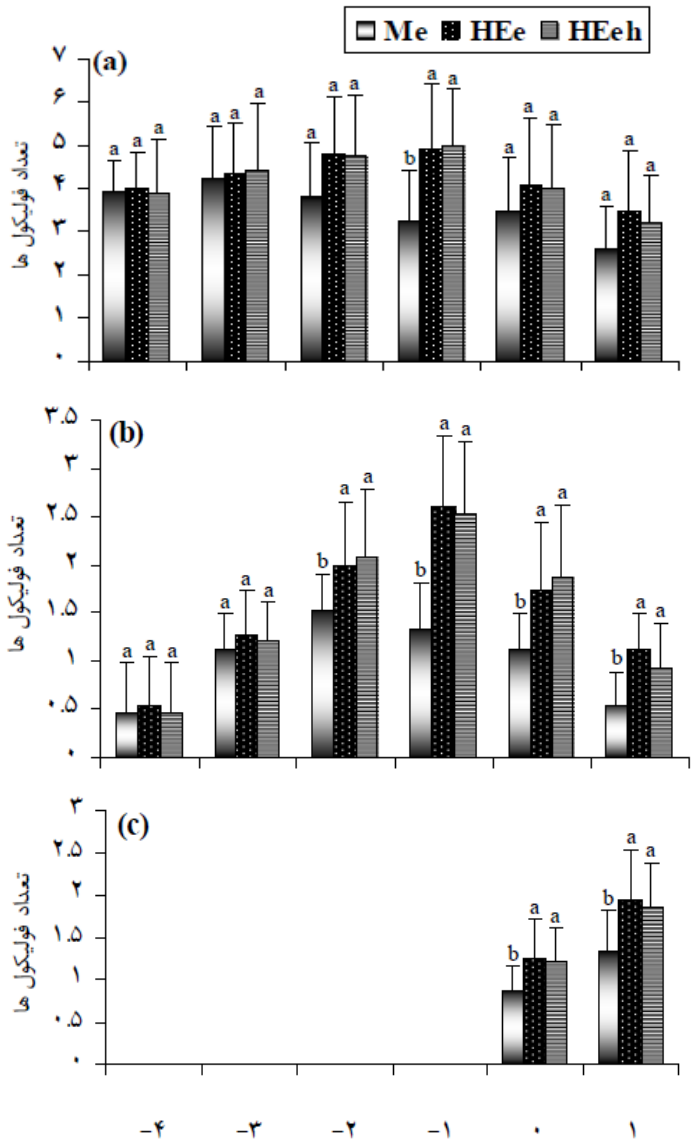
β_k = اثر زمان نمونه‌گیری

δ_{jk} = اثر متقابل زمان و تیمار

ε_{ijk} = اثر باقیمانده

نتایج و بحث

نتایج مربوط به اثر تغذیه کوتاه مدت جیره پرانرژی و تزریق هورمون‌ها بر جمعیت فولیکول‌های کوچک، متوسط و بزرگ در زمان‌های مختلف قبل و پس از برداشتن اسفنج (روزهای ۴- تا ۱+) در نمودار ۱ نشان داده شده است.



نمودار ۱- اثر تغذیه جیره پرانرژی و تزریق هورمون‌های eCG و hCG بر جمعیت فولیکول‌های تخمدانی در میش‌های نایینی (a = کوچک، b = متوسط و c = بزرگ). (Me = جیره نگهداری همراه با تزریق eCG ، HEe = جیره کوتاه‌مدت پر انرژی همراه با تزریق eCG و HEeh = جیره کوتاه‌مدت پر انرژی همراه با تزریق eCG و hCG). حروف نامشابه (a و b) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ است.

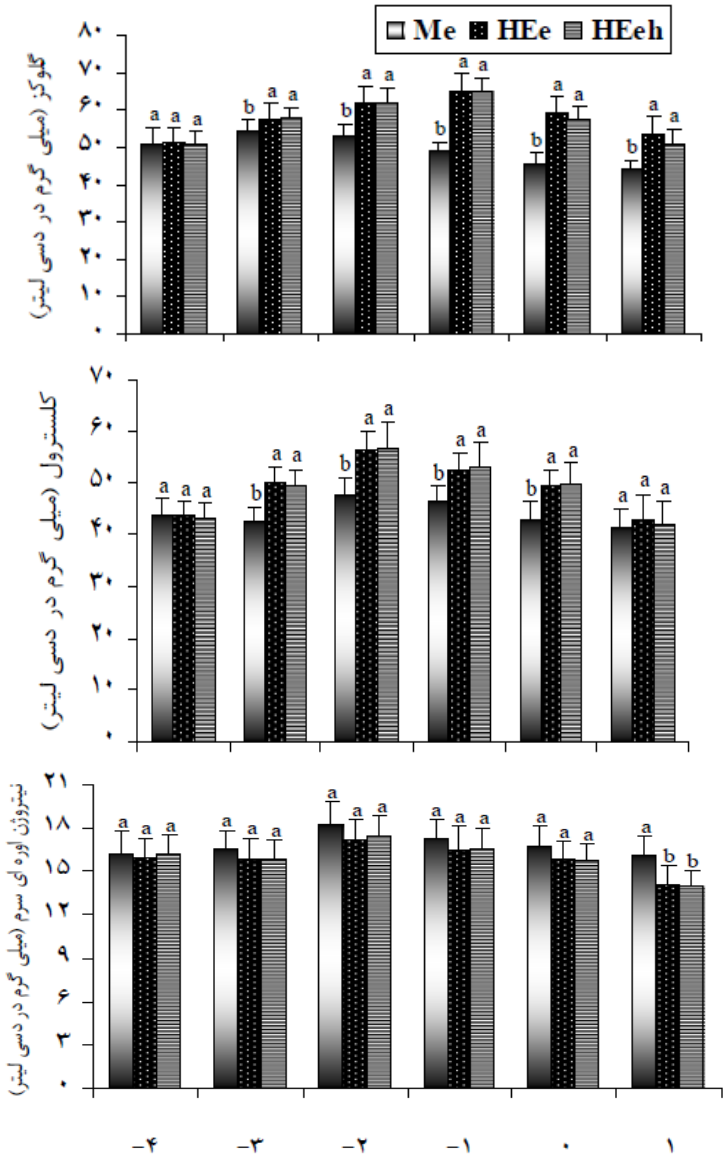
براساس این نتایج مشخص شد که در روز شروع تغذیه کوتاه

مدت (روز ۴-) جمعیت فولیکول‌های کوچک و متوسط بین سه گروه آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین جمعیت فولیکول‌های کوچک در طول مدت بررسی (به استثنای روز ۱-) بین سه گروه آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت. مصرف کوتاه مدت جیره‌ی پرانرژی جمعیت فولیکول‌های متوسط و بزرگ را در گروه های آزمایشی دوم و سوم ($P<۰/۰۵$) افزایش داد، اما تزریق یا عدم تزریق هورمون hCG از این نظر تاثیری نداشت. فولیکول‌های بزرگ تنها در روز برداشتن اسفنج و یک روز پس از آن (روزهای ۰ و ۱+) قابل شناسایی بودند. نتایج به دست آمده در مورد میش‌های نایینی در آزمایش حاضر مطابق با نتایج مطالعات قبلی در دیگر نژادهای گوسفند بود (Munoz-Gutierrez و همکاران، ۲۰۰۴؛ Ying و همکاران، ۲۰۱۱). از آنجا که دو روز پس از شروع برنامه تغذیه‌ای کوتاه مدت تعداد فولیکول‌های متوسط در میش‌های دریافت کننده جیره‌های پرانرژی (HEe و HEeh) افزایش پیدا کرد، می‌توان گفت که میش‌های نائینی به برنامه تغذیه‌ای کوتاه مدت جیره پرانرژی بخوبی پاسخ دادند و درمان هورمونی از این نظر نقش چندانی نداشت. Barrett و همکاران (۲۰۰۴) نیز گزارش کردند که استفاده از eCG در فصل تولیدمثلی تاثیر چندانی بر جمعیت فولیکولی میش‌ها نداشت و تنها به مقدار کمی جمعیت فولیکول‌های بزرگ و نرخ تخمک‌ریزی را افزایش داد.

نتایج مربوط به تغییرات غلظت گلوکز، کلسترول و نیتروژن اوره-ای سرم در نمودار ۲ نشان داده شده است. مشخص شد که یک روز پس از شروع فوکوس فیدینگ غلظت گلوکز افزایش ($P<۰/۰۵$) یافت و این روند تا پایان دوره ادامه پیدا کرد. بیشترین غلظت گلوکز ۳ روز پس از شروع تغذیه جیره پرانرژی اتفاق افتاد و اثر زمان و اثر متقابل زمان و تیمار معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) بود. نشان داده شده است که بین فعالیت تخمدان و سطح گلوکز و انسولین خون گوسفندان ارتباط وجود دارد (Somchit و همکاران، ۲۰۰۷؛ Ying و همکاران، ۲۰۱۱). بنابراین معتقدند که غلظت گلوکز و انسولین خون، میزان دسترسی فولیکول‌ها به گلوکز را افزایش می‌دهد (Scaramuzzi و همکاران، ۲۰۱۰؛ Ying و همکاران، ۲۰۱۳) و در پی آن دینامیک فولیکولی بهبود می‌یابد (Abo El-Maaty و El-Gawad، ۲۰۱۴). در آزمایش ما مشخص شد که بفاصله ۳ روز پس از شروع مصرف کوتاه مدت جیره‌ی پرانرژی غلظت گلوکز (نمودار ۲) و انسولین (نمودار ۳) سرم خون به پیک رسید. در این ارتباط Vinoles و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که افزایش غلظت گلوکز و انسولین طی ۳ روز اول برنامه تغذیه‌ای سبب کاهش آترزی فولیکول‌ها می‌شود.

در روز اول خون‌گیری (روز ۴-) غلظت کلسترول سرم در ۳ گروه آزمایشی مشابه بود، اما یک روز پس از آن غلظت کلسترول میش‌های دریافت کننده جیره پرانرژی از گروه جیره نگهداری بیشتر ($P<۰/۰۵$) شد و این وضعیت تا روز برداشتن اسفنج ادامه یافت که با نتایج دیگر مطالعات در گوسفند توافق دارد (Senosy و همکاران، ۲۰۱۳؛ Habibizad و همکاران، ۲۰۱۵). در عین حال، Kaminski و همکاران (۲۰۱۵)، گزارش کردند که غلظت کلسترول سرم در گروه‌های آزمایشی مختلف (شاهد، محدودیت تغذیه‌ای و تغذیه بیش از حد نیاز) مشابه بود. دلیل این اختلاف می تواند به شیوه اجرای برنامه تغذیه‌ای مرتبط باشد.

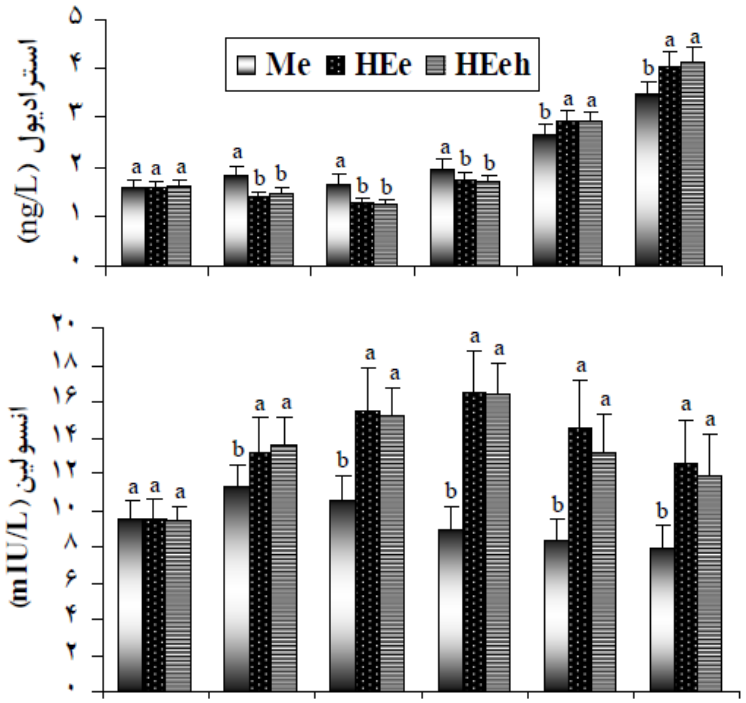
غلظت نیتروژن اوره‌ای سرم در هر ۳ گروه آزمایشی تا روز برداشتن اسفنج پرژسترونی تحت تاثیر تیمار قرار نگرفت، اما ۱ روز پس از آن (روز ۱+) در گروه جیره نگهداری بطور معنی-داری ($P<۰/۰۵$) بیشتر از میش‌های دریافت کننده جیره پرانرژی بود و اثر متقابل زمان وتیمار در این مورد معنی دار ($P<۰/۰۵$) شد. گزارش شده است که افزایش غلظت اوره‌ی خون می‌تواند موجب افزایش غلظت آن در مایع فولیکولی شود و بدنبال آن کیفیت اووسیت‌ها کاهش می‌یابد (Leroy و همکاران، ۲۰۰۵؛ Ying و همکاران، ۲۰۱۳).



نمودار ۲- اثر تغذیه جیره پرانرژی و تزریق هورمون‌های eCG و hCG بر غلظت گلوکز، کلسترول و نیتروژن اوره‌ای سرم در میش‌های (Me = جیره نگهداری همراه با تزریق eCG ، HEe = جیره کوتاه‌مدت پر انرژی همراه با تزریق eCG و HEeh = جیره کوتاه‌مدت پر انرژی همراه با تزریق eCG و hCG). حروف نامشابه (a و b) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ است.

اطلاعات مربوط به تغییرات غلظت هورمون‌های استرادیول و انسولین در نمودار ۳ نشان داده شده است. براین اساس، غلظت هورمون‌های استرادیول و انسولین در شروع برنامه تغذیه‌ای و هورمونی (روز ۴-) در سه گروه آزمایشی مشابه بود. یک روز پس از شروع برنامه تغذیه‌ای کوتاه مدت، غلظت استرادیول سرم در گروه‌های دریافت کننده جیره با انرژی زیاد (HEe و HEeh) نسبت به گروه جیره نگهداری (Me) بطور معنی‌داری ($P<0/05$) کاهش یافت. اما، در دو روز پایانی نمونه‌گیری غلظت استرادیول سرم در همه گروه‌های تیماری به‌ویژه در میش‌های دریافت کننده

جیره پرانرژی افزایش یافت و بیشتر ($P<۰/۰۵$) از گروه جیره نگهداری بود. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های پرانرژی (با یا بدون تزریق hCG) از این نظر مشاهده نشد. در این مورد اثر زمان و اثر متقابل زمان و تیمار معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) بود. غلظت انسولین سرم در گروه‌های دریافت کننده جیره پرانرژی نسبت به گروه جیره نگهداری بطور معنی‌داری بیشتر ($P<۰/۰۵$) بود و بیشترین غلظت انسولین ۳ روز پس از شروع فوکوس فیدینگ اتفاق افتاد. Vinoles و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که تغذیه کوتاه مدت دانه لوپین بعنوان یک منبع با انرژی و پروتئین زیاد در گوسفند غلظت استرادیول سرم را افزایش داد. از سوی دیگر، گزارش شده است که تغذیه دانه لوپین تاثیر معنی‌داری بر غلظت استرادیول سرم نداشت (Somchit و همکاران، ۲۰۰۷). مشخص شده است که گلوکز به‌تنهایی عملکرد تخمدان را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد و به نظر می‌رسد که اینفیوژن همزمان گلوکز و انسولین به‌درون سیاهرگ تخمدان سبب محدودیت در استروئیدوژنسیس می‌شود (Downing و همکاران، ۱۹۹۹). این اطلاعات اثرات محدود کننده گلوکز و انسولین بر سنتز استرادیول بوسیله سلول-های گرانولوزا را در گوسفند پیشنهاد می‌کند (Gallet و همکاران، ۲۰۱۱). بنابراین بیشتر بودن غلظت گلوکز و انسولین و کمتر بودن سطح استرادیول (قبل از زمان برداشتن اسفنج) در گروه‌های مصرف کننده جیره پرانرژی می‌تواند دلیلی بر افزایش تعداد فولیکول‌های بزرگ و نرخ تخمک‌ریزی در این گروه‌ها باشد.



نمودار ۳- اثر تغذیه جیره پرانرژی و تزریق هورمون‌های eCG و hCG بر غلظت استرادیول و انسولین سرم در میش‌های نایینی (Me = جیره نگهداری همراه با تزریق eCG ، HEe = جیره کوتاه‌مدت پر انرژی همراه با تزریق eCG و HEeh = جیره کوتاه‌مدت پر انرژی همراه با تزریق eCG و hCG). حروف نامشابه (a و b) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ است.

نتایج مربوط به اثر تغذیه کوتاه مدت جیره پرانرژی و تزریق هورمون‌ها بر پاسخ فحلی، زمان شروع فحلی، نرخ تخمک‌ریزی، میزان دوقلوزایی و پرولیفیکیسی در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج به دست آمده مشخص کرد که تمام میش‌ها در یک دوره زمانی ۴۸ ساعته علایم فحلی را نشان دادند. اما، شروع نشانه‌های فحلی پس از برداشتن اسفنج پروژسترونی تحت تاثیر ($P<۰/۰۵$) تیمارها قرار گرفت بطوریکه گروه جیره نگهداری همراه با تزریق eCG (Me) برای بروز فحلی نیاز به مدت زمان بیشتر در مقایسه با دو گروه دیگر (HEe و HEeh) داشت. به نظر می‌رسد که پاسخ مناسب فحلی در میش‌های نایینی به دلیل فصل مناسب انجام آزمایش (پائیز) باشد. زمان آغاز فحلی در میش‌های دریافت کننده جیره نگهداری، با سایر مطالعات که شروع فحلی را حدود ۳۷-۳۲ ساعت پس از برداشتن اسفنج گزارش نمودند مطابقت دارد (Fuentes و همکاران، ۲۰۰۱؛ Khiati و همکاران، ۲۰۱۲). از طرف دیگر فوکوس فیدینگ این دوره زمانی را بطور معنی‌داری کاهش داد. از آنجا که استرادیول سبب بروز علایم رفتاری فحلی می‌شود (Kara و همکاران، ۲۰۱۰)، ظهور سریع‌تر نشانه‌های فحلی در میش‌های دریافت کننده جیره پرانرژی (گروه‌های HEe و HEeh) می تواند ناشی از افزایش تعداد فولیکول‌های بزرگ (نمودار ۱) و افزایش غلظت استرادیول در زمان برداشتن اسفنج (نمودار ۳) باشد.

جدول ۲- اثر تغذیه جیره پرانرژی و تزریق هورمون eCG و hCG بر عملکرد تولید مثلی میش‌های نایینی

صفات	گروه‌های آزمایشی*		
	Me	HEe	HEeh
پاسخ فحلی ٪ (تعداد)	۱۰۰ (۱۵/۱۵)	۱۰۰ (۱۵/۱۵)	۱۰۰ (۱۵/۱۵)
شروع فحلی (ساعت)	۳۵/۳±۴/۳۷[a]	۲۶/۲±۲/۵۳[b]	۲۶/۴±۲/۱۴[b]
تخمک‌ریزی انفرادی ٪ (تعداد)	۸۰/۰ (۱۲/۱۵)	۶۰/۰ (۹/۱۵)	۴۶/۷ (۷/۱۵)
تخمک‌ریزی دوتایی ٪ (تعداد)	۲۰/۰ (۳/۱۵)	۴۰/۰ (۶/۱۵)	۵۳/۳ (۸/۱۵)
میش‌های زایمان کرده٪ (تعداد)	۹۳/۳ (۱۴/۱۵)	۹۳/۳ (۱۴/۱۵)	۹۳/۳ (۱۴/۱۵)
تک قلوزایی٪ (تعداد)	۹۲/۸ (۱۳/۱۴) [a]	۷۱/۴ (۱۰/۱۴) [ab]	۵۷/۱ (۸/۱۴) [b]
دوقلوزایی ٪ (تعداد)	۷/۲ (۱/۱۴) [b]	۲۸/۶ (۴/۱۴) [ab]	۴۲/۹ (۶/۱۴) [a]
فکاندیتی (٪)	۱۰۰	۱۲۰	۱۳۰
پرولیفیکیسی (٪)	۱۰۷	۱۲۸	۱۴۲

* Me = جیره نگهداری همراه با تزریق eCG ، HEe = جیره کوتاه‌مدت پر انرژی همراه با تزریق eCG و HEeh = جیره کوتاه‌مدت پر انرژی همراه با تزریق eCG و hCG).

a و b حروف نامشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح ۰/۰۵ است.

بفاصله حدود ۱۰ روز پس از برداشتن اسفنج، مشخص شد که تمام میش‌ها دارای جسم زرد بر روی تخمدان‌ها بودند. اما، میانگین تخمک ریزی‌های انفرادی و دو تایی در بین گروه‌های آزمایشی تفاوت‌هایی داشت. نرخ وقوع تخمک‌ریزی دوتایی در گروه Me ۲۰ درصد (۳ از ۱۵ راس) بود، در حالیکه نرخ وقوع تخمک‌ریزی دوتایی در گروه HEe ۴۰ درصد (۶ از ۱۵ راس) و در گروه HEeh ۵۳/۳ درصد (۸ از ۱۵ راس) بود.

میزان تک قلوزایی و دوقلوزایی میش‌ها تحت تاثیر ($P<۰/۰۵$) گروه‌های آزمایشی قرار گرفت (جدول ۲)، بطوریکه با مصرف کوتاه مدت جیره پرانرژی و تزریق هورمون hCG، تفاوت نرخ تک قلوزایی بین گروه‌های Me و HEeh (بترتیب ۹۲/۸ درصد در برابر ۵۱/۷ درصد)شد معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) شد. از سوی دیگر نرخ دوقلوزایی نیز تحت تاثیر برنامه تغذیه‌ای و تزریق هورمونی قرار گرفت و بیشترین نرخ دوقلوزایی در گروه HEeh (۴۲/۹

درصد) مشاهده شد که بطور معنی داری ($P<۰/۰۵$) بیشتر از گروه Me (۷/۲ درصد) بود و گروه HEe (۲۸/۶ درصد) از این نظر حد واسط دو گروه دیگر بود و با آنها تفاوت معنی‌داری نداشت. فکاندیتی و پرولیفیکیسی در گروه‌های آزمایشی که جیره کوتاه مدت پرانرژی دریافت کرده بودند نسبت به گروه جیره معمول بیشتر بود. گزارش شده است که سطح انرژی جیره تاثیر زیادی بر عملکرد تخمدان دارد (Scaramuzzi و Martin، ۲۰۰۸). به نظر می‌رسد که مصرف کوتاه مدت جیره پرانرژی قبل از تخمک-ریزی، می‌تواند فولیکول‌زایی را تحریک کرده و موجب افزایش فولیکول‌های تخمک‌ریزی کننده شود (Bobowiec و همکاران، ۲۰۱۲؛ Scaramuzzi و همکاران، ۲۰۱۵). افزایش نرخ تخمک-ریزی دوتایی در میش‌هایی که به آن‌ها، hCG تزریق شده بود (گروه HEeh) می‌تواند به دلیل تاثیر این هورمون بر انتخاب فولیکول‌های تخمک‌ریزی کننده باشد، زیرا گزارش شده است که hCG عملکردی مشابه هورمون LH دارد و فرآیند تخمک-ریزی را تسهیل می‌کند (Coyan و همکاران، ۲۰۰۳؛ Karami-Shabankareh و همکاران، ۲۰۱۲).

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد که مصرف جیره پرانرژی کوتاه مدت (۶ روز) بخوبی موجب بهبود پاسخ تولید مثلی میش‌های نایینی در فصل تولید مثل شد و تزریق هورمون‌های گنادوترپین جفتی از این نظر تاثیر چندانی بر توسعه فولیکولی نداشت. هرچند، تزریق همزمان هورمون eCG به همراه تزریق دو نوبتی هورمون hCG موجب پاسخ بهتر به فوکوس فیدینگ شد.

پانویس

[1] equine Chorionic Gonadotropin
[2] human Chorionic Gonadotropin
[3] Focus feeding
[4] Fluorogestone Acetate, Bioniche, Animal Health, PTY, Armidale, NSW, Australia
[5] Bioniche Animal Health (A/Asia), Pty Ltd, ABN, 64006949480, Australia
[6] Daroupakhsh Co, Tehran, Iran
[7] Ultrasonography
[8] Fecundity
[9] Prolificacy
[10] Zeist Chimi, Cat No. 10-505 Ziest Chem Diagnostics Tehran, Iran
[11] Pars Azmoon Co., Karaj, Iran
[12] Hangzhou Eastbiopharm CO., LTD. Cat. No: CK-E90956, Hangzhou, China
[13] Hangzhou Eastbiopharm CO., LTD. Cat. No: CK-E91162, Hangzhou, China

منابع

Abo El-Maaty, A.M. and El-Gawad M.H. (2014). Follicle growth, ovulation rate, body weight change, and antioxidant and metabolic status in three fat-tailed sheep breeds fed a half-maintenance diet. *Open Access Animal Physiology*. 6: 21-31.

Acero-Camelo, A., Valencia, E., Rodrlguez, A. and Randel, P.F. (2008). Effects of flushing with two energy levels on goat reproductive performance. *Livestock Research for Rural Development*. 20(9).

Barrett, D.M., Bartlewski, P.M., Batista-Arteaga, M., Symington, A. and Rawlings, N.C. (2004). Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 IU eCG following a 12- day treatment with progestagen-releasing intravaginal sponges in the breeding and non-breeding season in ewes. *Theriogenology*. 61: 311-327.

Bobowiec, R., Kosior-Korzecka, U., Patkowski, K., Gruszecki, T. and Tusinska, E. (2012). Reproductive performance of PLS and BCP ewes exposed to hCG at the follicular phase of the estrous cycle. *Medycyna Weterynaryjna*. 68: 226-230.

Boscos, C.M., Samartzi, F.C., Dellis, S., Rogge, A., Stefanakis, A. and Krambovitis, E. (2002). Use of progestagen-gonadotrophin treatment in estrus synchronization of sheep. *Theriogenology*. 58: 1261-1272.

Coyan, K., Ataman, M.B., Erdem, H., Kaya, A. and Kasikci, G. (2003). Synchronization of estrus in cows using double PGF2 alpha, GnRH–PGF2 alpha and hCG-PGF2 alpha combination. *Revue de Medecine Veterinaire.* 154: 91-96.

Downing, J.A., Joss, J. and Scaramuzzi, R.J. (1999). The effect of a direct arterial infusion of insulin and glucose on the ovarian secretion rates of androstenedione and oestradiol in ewes with an autotransplanted ovary. *Journal of Endocrinology.* 163: 531-541.

Fuentes, V.R., Sanchez, R. and Fuentes, P.I. (2001). The effect of low doses of Naloxone on the preovulatory surge of LH and on the onset and duration of estrus in the ewe with induced estrus during the non-breeding season. *Animal Reproduction Science.* 65: 225-230.

Gallet, C., Dupont, J., Campbell, B.K., Monniaux, D., Guillaume, D. and Scaramuzzi, R.J. (2011). The infusion of glucose in ewes during the luteal phase increases the number of follicles but reduces oestradiol production and some correlates of metabolic function in the large follicles. *Animal Reproduction Science.*127: 154-163.

Habibizad, J., Riasi, A., Kohram, H. and Rahmani, H.R. (2015). Effect of feeding greater amounts of dietary energy for a short-term with or without eCG injection on reproductive performance, serum metabolites and hormones in ewes. *Animal Reproduction Science.* 160: 82-89.

Hulet, C.V., Blackwell, R.L., Ercanbrack, S.K., Price D.A. and Humphrey, R. D. (1962). Effects of feed and length of flushing period on lamb production in Range ewes. *Journal of Animal Science.* 21: 505-510.

Kaminski, S.L., Redmer, D.A., Bass, C.S., Keisler, D.H., Carlson, L.S., Vonnahme, K.A., Dorsam, S.T. and Grazul-Bilska, A.T. (2015). The effects of diet and arginine treatment on serum metabolites and selected hormones during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology.* 83: 808-816.

Kara, C., Orman, A., Topal, E. and Carkungoz, E. (2010). Effects of supplementary nutrition in Awassi ewes on sexual behaviors and reproductive traits. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences.* 4: 15-21.

Karami-Shabankareh, H., Habibizad, J., Sarsaifi, K., Cheghamirza, K. and Kazemein Jasemi, V. (2010). The effect of the absence or presence of a corpus luteum on the ovarian follicular population and serum oestradiol concentrations during the estrous cycle in Sanjabi ewes. *Small Ruminant Research.* 93: 180-185.

Karami-Shabankareh, H., Seyedhashemi, S.B., Torki, M., Kelidari, H. and Abdolmohammadi, A. (2012). Effects of repeated administration of hCG on follicular and luteal characteristics and serum progesterone concentrations in eCG-superovulated Sanjabi ewes. *Tropical Animal Health and Production.* 44: 1865-1871.

Kelidari, H.R., Souri, M., Shabankareh, H.K. and Hashemi, S.B. (2010). Repeated administration of hCG on follicular and luteal characteristics and serum progesterone concentrations in eCGsuperovulated does. *Small Ruminant Research.* 90: 95-100.

Khiati, B., Bacha, S., Hammoudi, S.M. Niard, A. and Guetarn, D. (2012). The use of fluorogestone acetate (FGA) and equine chorionic gonadtrophin (ECG) in out of season breeding improves reproductive performances of Algerian Rembi ewes. *African Journal of Agricultural Research.* 7: 2149-2152.

Leroy, J.L.M.R., Vanholder, T., Mateusen, B., Christophe, A., Opsomer, G., De Kruif, A., Genicot, G. and Van, S.A. (2005). Non-esterified fatty acids on follicular fluid of dairy cows and their effect on development capacity of bovine oocytes in vitro. *Reproduction.* 130: 485-495.

Martinez, M.F., McLeod, B., Tattersfield, G., Smaill, B., Quirke, L.D. and Juengel, J.L. (2015). Successful induction of oestrus, ovulation and pregnancy inadult ewes and ewe lambs out of the breeding season using

aGnRH + progesterone oestrus synchronisation protocol. *Animal Reproduction Science.* 155: 28-35.

Mulvaney, F.J., Morris, S.T., Kenyon, P.R., Morel, P.C.H., West, D.M., Vinoles, C. and Glover, K.M.M. (2013). Comparison between the reproductive performance of ewe hoggets and mature ewes following aprogesterone-based oestrus synchronization protocol. *New Zealand Journal of Agricultural Research.* 56: 288-296.

Munoz-Gutierrez, M., Blache, D., Martin, G.B. and Scaramuzzi, R.J. (2004). Ovarian follicular expression of mRNA encoding the type I IGF receptor and IGF-binding protein-2 in sheep following five days of nutritional supplementation with glucose, glucosamine or lupins. *Reproduction.* 128: 747-756.

Pendleton, R.J., Youngs, C.R., Rorie, R.W., Pool, S.H., Memon, M.A. and Godke, R.A. (1992). Follicle stimulating hormone versus pregnant mare serum gonadotropin for superovulation of dairy goats. *Small Ruminant Research.* 8: 217-224.

Sabra, H.A. and Hassan, S.G. (2008). Effect of new regime of nutritional flushing on reproductive performances of Egyptian Barki Ewes. *Global Veterinary.* 2: 28-31.

Scaramuzzi, R.J., Brown, H.M. and Dupont, J. (2010). Nutritional and metabolic mechanisms in the ovary and their role in mediating the effects of diet on folliculogenesis: a perspective. *Reproduction in Domestic Animal.* 45: 32-41.

Scaramuzzi, R.J., Campbell, B.K., Downing, J.F., Kendall, N., Khalid, M., Munoz-Gutierrez, M. and Somchit, A. (2006). A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition Development.* 46: 339-354.

Scaramuzzi, R.J. and Martin, G.B. (2008). The importance of interactions among nutrition, seasonality and socio-sexual factors in the development of hormone-free methods for controlling fertility. *Reproduction in Domestic Animal Suppliment.* (2). 43: 129-136.

Scaramuzzi, R.J., Zouaidi, N., Menassol, J.B. and Dupont, J. (2015). The effects of intravenous, glucose versus saline on ovarian follicles and their levels of some mediators of insulin signaling. *Reproductive Biology and Endocrinology.* 13: 6.

Senosy, W., Abdel-Raheem, Sh.M., Abd-Allah, M., Fahmy, S., Hassan, E.H. and Derar, R.I. (2013). Effect of transient high-energy diets just after ovulation on ovarian performance and metabolic status in cyclic ewes. *Small Ruminant Research.* 109: 152-155.

Somchit, A., Campbell, B.K., Khalid, M., Kendall, N.R. and Scaramuzzia, R.J. (2007). The effect of short-term nutritional supplementation of ewes with lupin grain (Lupinus luteus), during the luteal phase of the estrous cycle on the number of ovarian follicles and the concentrations of hormones and glucose in plasma and follicular fluid. *Theriogenology.* 68: 1037-1046.

Sormunen-Cristian, R. and Jauhiainen, L. (2002). Effect of nutritional flushing on the productivity of Finnish Landrace ewes. *Small Ruminant Research.* 43: 75-83.

Vinoles, C., Forsberg, M., Martin, G.B., Cajarville, C., Repetto, J. and Meikle, A. (2005). Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction.* 129: 299-309.

Vinoles, C., Paganoni, B.L., Glover, K.M.M., Milton, J.T.B., Blache, D., Blackberry, M.A. and Martin, G.B. (2010). The use of a 'first-wave' model to study the effect of nutrition on ovarian follicular dynamics and ovulation rate in the sheep. *Reproduction.* 140: 865-874.

Vinoles, C., Paganoni, B.L., McNatty, K.P., Heath, D.A., Thompson, A.N., Glover, K.M.M., Milton J.T.B. and Martin, G.B. (2014). Follicle development, endocrine profiles and ovulation rate in adult Merino ewes: effects of early nutrition (pre and post natal) and supplementation with lupin grain.

Reproduction. 147: 101-110.

Ying, S., Wang, Z., Wang, C., Nie, H., He, D., Jia, R., Wu, Y., Wan, Y., Zhou, Z., Yan, Y., Zhang, Y. and Wang, F. (2011). Effect of different levels of short-term feed intake on folliculogenesis and follicular fluid and plasma concentrations of lactate dehydrogenase, glucose, and hormones in Hu sheep during the luteal phase. *Reproduction.* 142: 699-710.

Ying, S.J., Xiao, S.H., Wang, C.L., Zhong, B.S., Zhang, G.M., Wang, Z.Y., He, D.Y., Ding, X.L., Xing, H.J. and Wang, F. (2013). Effect of nutrition on plasma lipid profile and mRNA levels of ovarian genes involved in steroid hormone synthesis in Hu sheep during luteal phase. *Journal of Animal Science.* 91: 5229-5239.