اثر محدودیت غذایی بر غلظت سرمی گلوکز، تری‌آسیل گلیسرول، بتاهیدروکسی بوتیرات، اسیدهای چرب غیراستریفیه و اوره در میش‌های آبستن

علی رضاپور[1*]، مهدی تقی‌نژاد[1]، غلامرضا اسدنسب[2]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی، تبریز، ایران.
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، تبریز، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات: a.rezapour@gmail.com

(دریافت مقاله: ۸۹/۱۰/۲٤، پذیرش نهایی: ۹۰/۳/۱۸)

Archive of SID

چکیده

محدودیت غذایی در میش‌های آبستن، عاملی است که به‌صورت خواسته یا ناخواسته سلامتی جنین در حال رشد را تهدید می‌کند. هدف از این مطالعه بررسی اثر محدودیت غذایی بر غلظت سرمی گلوکز، تری‌آسیل گلیسرول، اسیدهای چرب غیراستریفیه، بتاهیدروکسی بوتیرات و اوره در گوسفندان قزل (بومی آذربایجان) در هشت هفته آخر آبستنی بود. الگوی طرح مورد استفاده اسپلیت پلات در زمان و تعداد نمونه مورد بررسی ١٤ رأس میش بود. پس از آماده سازی و سازگاری دام‌ها و استفاده از جیره فلاشینگ، در خارج از فصل زایش همزمان‌سازی فحلی توسط سیدر گوسفندی ایجاد شد. القاء آبستنی به‌صورت جفت‌گیری طبیعی انجام گرفت. در هفته چهارم آبستنی، نمونه اولیه اخذ (P_0) و سپس گوسفندان به گروه‌های شاهد (T_2) و تیمار محدودیت غذایی (T_1) تقسیم‌بندی شدند. در دوره‌های مختلف آبستنی (P_1 تا P_3) نیز نمونه‌گیری انجام و غلظت سرمی هر یک از پارامترهای اشاره شده اندازه‌گیری شد. نتایج این مطالعه نشان داد که علی‌رغم ایجاد محدودیت غذایی به‌میزان ۲۷/۵-۱٦/۵٪، این محدودیت اثر معنی‌داری بر غلظت سرمی گلوکز و تری‌آسیل گلیسرول نداشت ولی از همین لحاظ تفاوت آماری معنی‌دار در مقایسه میانگین غلظت سرمی بتاهیدروکسی‌بوتیرات، اسیدهای چرب غیر استریفیه و اوره وجود دارد ($p<۰/۰۵$). محدودیت غذایی در تعدادی از دام‌های مورد مطالعه کتوز ملایم تا متوسط ایجاد کرد. بنابراین، در محدودیت غذایی متعاقب فلاشینگ غذایی در ابتدای آبستنی، میش‌های آبستن با استفاده از ذخیره چربی و گلوکونئوژنز اقدام به حفظ هومئوستاز گلوکز و ادامه روند آبستنی می‌نمایند، در حدی که از ۱۰ رأس دام گروه تیمار محدودیت غذایی تنها یک رأس میش در انتهای آبستنی سقط کرد.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۹۰، دوره ۵، شماره ۱، پیاپی ۱۷، صفحات: ۱۰۹۲-۱۰۸۳.

کلید واژه‌ها: اسیدهای چرب غیراستریفیه، اوره، بتاهیدروکسی بوتیرات، تری‌آسیل گلیسرول، گلوکز، محدودیت غذایی، میش قزل

مقدمه

علوفه قسمت عمده و به‌طور کلی ارزان‌ترین منبع غذایی برای گوسفند می‌باشد. از اینرو عمده‌ترین روش تغذیه گوسفند در کشور به ویژه در مواقعی که قیمت مواد خوراکی دانه‌ای افزایش می‌یابد، چرای مرتعی و استفاده از علوفه است. بدون استفاده از کنسانتره و مواد دانه‌ای تأمین انرژی نگه‌داری و آبستنی (۳/٦ مگاکالری انرژی قابل متابولیسم در روز) به ویژه در اواخر آبستنی عملاً امکان پذیر نیست. طبق توصیه NRC (۱۹۸۵) میزان انرژی مورد نیاز میش‌ها در زمان آبستنی ۲۰٪

www.SID.ir

افزایش می‌یابد. در طول هفته‌های آخر آبستنی، احتیاجات شدید به گلوکز (برای میش‌های آبستن تک‌قلو ۱/۵ برابر و در دوقلو آبستن ۲ برابر سطح نگه‌داری) برای مادر به وجود می‌آید که به خاطر وزن‌گیری چند برابر جنین می‌باشد (۱). بنابراین در صورت چرای مرتعی در این برهه، در واقع گوسفندان در یک محدودیت غذایی به سر می‌برند و انرژی مصرفی آنها کمتر از حد مورد نیاز است. این در حالی است که مصادف بودن بره‌زایی با فصل زمستان (نظیر کشور ما) موجب محدودیت دام در استفاده از علوفه با کیفیت غذایی مطلوب می‌شود. بنابراین، در صورت عدم تأمین احتیاجات غذایی میش از طریق کنسانتره، گوسفندان آبستن ناچار به تحمل درجاتی از محدودیت غذایی می‌باشند.

در گوسفند غلظت سرمی گلوکز ۸۰-۵۰ mg/dl و غلظت سرمی اوره ۷/۱٤-۲/۸٦ mmol/l (۴۲/۸۸۲-۱۷/۱۷۷ mg/dl) گزارش شده ولی در همین منبع، مقدار تری‌آسیل گلیسرول و اسیدهای چرب غیر استریفیه سرمی ذکر نشده است (۸). با توجه به این نکته که کربوهیدرات (گلوکز) و چربی عمده‌ترین منابع تأمین انرژی دام هستند (۸)، بنابراین محدودیت غذایی اثر بارزی را بر میانگین سرمی غلظت گلوکز و چربی‌ها خواهد داشت. در صورت محدودیت تأمین انرژی از کربوهیدرات‌ها و تأکید متابولیسم بدن دام بر استفاده از چربی‌ها و فراخوانی چربی از بافت‌های ذخیره‌ای آن، مقدار اسیدهای چرب غیراستریفیه سرمی افزایش خواهد یافت (۱۲). در واقع، در این حالت غیر از غذای دریافتی، بافت چربی تنها منبع تأمین انرژی بدن دام می‌باشد (۱٦). از سویی، به دلیل در دسترس نبودن مقادیر کافی اگزالواستات جهت اکسیداسیون استیل کوآنزیم A حاصل از بتااکسیداسیون لیپیدها، واکنش‌های کتوژنز انجام و اجسام کتونی از جمله بتاهیدروکسی بوتیرات تولید خواهد شد (۱۲). بتاهیدروکسی بوتیرات از مهم‌ترین اجسام کتونی در نشخوارکنندگان است که غلظت پلاسمایی طبیعی آن در گوسفند تا ۰/۵۵ ±۰/۰٤ mmol/l بیان شده است (۸).

در مناطقی از کشور که پرورش گوسفند به‌صورت کاملاً سنتی و بدون توجه به احتیاجات تغذیه‌ای دام انجام می‌گیرد، محدودیت غذایی و عدم تأمین حداقل مقدار انرژی مورد نیاز می‌تواند آثار زیانباری بر تولید بره سالم داشته باشد. با توجه به اثر بارز پارامترهای یاد شده بر سلامتی دام و بره و چگونگی پیشرفت روند آبستنی و زایمان، در این مطالعه به بررسی غلظت سرمی این پارامترها در مراحل مختلف آبستنی در شرایط محدودیت غذایی در قالب طرح اسپلیت پلات در زمان پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

الف. ویژگی‌های زمانی مطالعه: این مطالعه در شهر تبریز با آب و هوای سرد و خشک انجام گرفت. فصل زایش گوسفندان در این منطقه حوالی بهمن ماه می‌باشد. در مطالعه حاضر القاء آبستنی گوسفندان در خارج از فصل آبستنی و در فروردین ماه انجام گرفت (البته فاز آماده‌سازی دام‌ها قبل از این تاریخ بود). در طی این دوره گوسفندان از چرای مرتعی استفاده نکرده و تغذیه آنها به صورت دستی و در محل آغل انجام شد.

ب. انتخاب، آماده‌سازی و سازگاری: تعداد ۲۱ رأس میش بومی هم‌سن غیرآبستن سالم (بر اساس معاینه بالینی و تاریخچه) با متوسط وزن ۵۰±۳kg انتخاب شد. به منظور جبران کمبودهای احتمالی ویتامینی یا مواد معدنی مهم، ویتامین AD_3E و CMP (کلسیم-منیزیوم-فسفر) به مدت ۳ روز به همه دام‌ها تزریق شد. از فرم سوسپانسیون ۲/۵٪ داروی آلبندازول به عنوان داروی ضدانگل وسیع الطیف با دوز ۱۰ mg/kg استفاده شد. جیره این دوره دارای انرژی در حد نگه‌داری و معادل ۱/۹۷ مگاکالری انرژی قابل متابولیسم (Mcal/Kg DM) و پروتئین خام قابل هضم ۸۸ گرم در هر کیلوگرم غذا (۶۰٪ از یونجه و ٤۰٪ کاه) و کل غذای مصرفی روزانه دام ۱/٤ کیلوگرم بود (NRC 1985). انواع خوراک‌های مصرفی در جیره‌های فلاشینگ و سایر جیره‌ها به لحاظ محتوای پروتئینی طبق روش

Archive of SID

مندرج در ۱۹۹۵ AOAC آنالیز شدند. طول این دوره ۲ هفته در نظرگرفته شد.

ج. آماده‌سازی با جیره فلاشینگ: انرژی جیره فلاشینگ ۲/٤ مگاکالری انرژی قابل متابولیسم (Mcal/Kg DM) و پروتئین خام قابل هضم آن ۱۱۰ گرم در هر کیلوگرم غذا (۳۵٪ کنسانتره و مابقی متشکل از یونجه و کاه به نسبت ۳ به ۲) بود (NRC 1985). مقدار غذای مصرفی هر رأس میش در این مرحله، ۱/۵ کیلوگرم ماده خشک درنظرگرفته شد (جدول۱). طول این دوره در مجموع ۵ هفته بود (۳ هفته قبل از قوچ‌اندازی و ۲ هفته نخست قوچ اندازی).

د. آبستنی: یک هفته پس از شروع جیره فلاشینگ، سیدر گوسفندی (هر یک حاوی ۰/۳ گرم پروژسترون) EAZI-BREED CIDR, Pfizer New Zealand Ltd., Batch No H051011) در مهبل گوسفندان قرار داده شد و در صبح روز چهاردهم (بنابه توصیه شرکت سازنده) سیدرها را خارج نموده و به هر میش به‌میزان ۵۰۰ واحد بین المللی هورمون PMSG (اینتروت هلندی) به صورت عضلانی تزریق شد. سپس ۲ رأس قوچ آماده به میش‌ها معرفی شد تا عمل آمیزش به‌صورت طبیعی انجام گیرد. حضور قوچ‌ها به مدت یک هفته در نظر گرفته شد. به‌وسیله سونوگرافی، از ۲۱ رأس دام اولیه، تعداد ١٤ رأس میش آبستن با امتیاز بدنی و وزن یکسان برای انجام پژوهش حاضر انتخاب شدند.

جدول ۱- ترکیب بخش کنسانتره جیره در دوره‌های مختلف آزمایش بر حسب درصد ماده خشک مصرفی

اجزای ترکیب جیره‌غذایی	فلاشینگ	۱۳ هفته اول آبستنی	شاهد	محدودیت‌غذایی I	محدودیت‌غذایی II
یونجه	٤۲/۸	٤۰	٤۲/۸	٦٦/٦	–
کاه	۲۲/۲	٦۰	۲۲/۲	۲۳/٤	۱۰۰
دانه ذرت	۱٤/۳	–	۱٤/۳	–	–
دانه جو	۱٤/٤	–	۱٤/٤	–	–
سبوس گندم	۳/۵	–	۳/۵	–	–
کنجاله سویا	۱/۸	–	۱/۸	–	–
پرمیکس ویتامین و مینرال	۰/٤	–	۰/٤	–	–
کربنات کلسیم	۰/۲	–	۰/۲	–	–
دی‌کلسیم‌فسفات	۰/۲	–	۰/۲	–	–
نمک طعام	۰/۲	–	۰/۲	–	–
مقدار خوراک مصرفی هر رأس (برحسب ماده خشک)	۱/۵	۱/۲	۱/۵	۱/۵	۱/۵

www.SID.ir

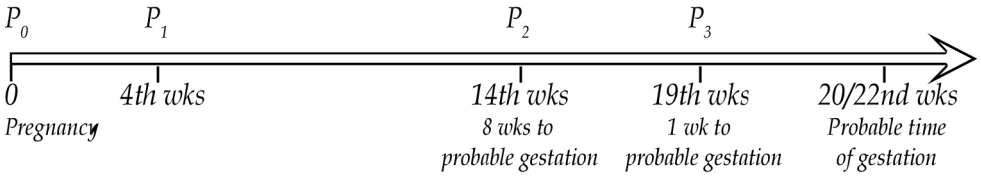
جدول ۲ - آنالیز شیمیایی جیره گوسفندان در مراحل مختلف آزمایش (بر اساس ماده خشک)

	فلاشینگ	۱۳ هفته اول آبستنی	شاهد	محدودیت I	محدودیت II
ماده خشک جیره (درصد)	۸۹/۱	۸۹	۸۸/۷	۸۸/۲	۹۱/۱
انرژی قابل متابولیسم (Mcal/kg)	۲/٤	۱/۸	۲/٤	۲	۱/۷٤
پروتئین خام (درصد)	۱۱/٦	۸/۲	۱۱/۲	۱۱	٤/۸
کلسیم (درصد)	۰/۷۷	۰/۷٤٤	۰/۸۳	۰/۹۹	۰/۱۸
فسفر (درصد)	۰/۳	۰/۱۱	۰/۲۷	۰/۱۸	۰/۰۵

ه. دسته‌بندی دام‌ها و جیره‌های آزمایشی: جیره‌های آزمایشی برای تمام گروه‌ها بر اساس احتیاجات غذایی گوسفندان (NRC 1985) تهیه شد. پس از اتمام مرحله فلاشینگ و قوچ اندازی، تمامی گوسفندان با جیره حاوی انرژی قابل متابولیسم ۲/۱۲ مگاکالری انرژی قابل متابولیسم (Mcal/Kg DM) و پروتئین خام ۸/۹٪ (جدول ۱) تغذیه شدند (NRC 1985). تعداد ٤ رأس میش آبستن به عنوان گروه شاهد (T_2)، جیره‌ای با انرژی قابل متابولیسم ۲/٤ مگاکالری انرژی قابل متابولیسم (Mcal/Kg DM) و پروتئین خام ۱۱/۲٪ تا آخر آبستنی (P_0, P_1, P_2 & P_3) دریافت نمودند. برای ۱۰ رأس بقیه از ابتدای هفته ۱٤ آبستنی (۸ هفته مانده به تاریخ زایش احتمالی) محدودیت غذایی (T_1) به‌صورت زیر اعمال گردید: ابتدا به مدت ٤ هفته (P_1) جیره‌ای با انرژی قابل متابولیسم ۲/۰ مگاکالری انرژی قابل متابولیسم (Mcal/Kg DM) و پروتئین خام ۱۱٪ دریافت داشتند. سپس این میش‌ها به مدت ۳ هفته با جیره محدودیت غذایی (P_2) که فقط دارای کاه گندم با محتوی انرژی قابل متابولیسم ۱/۷٤ مگاکالری (Mcal/Kg DM) و پروتئین خام ٤/۸٪ بود، تغذیه شدند.

و. نمونه‌برداری: نمونه‌گیری در ٤ دوره انجام شد: ۱) ابتدای آبستنی؛ ۲) هفته چهارم آبستنی؛ ۳) هشت هفته مانده به زایمان احتمالی؛ ٤) یک هفته مانده به زایمان احتمالی (شکل ۱). برای اخذ نمونه سرمی از ورید وداج استفاده شد. پس از جداسازی سرم، نمونه‌ها تا انجام آزمایشات در فریزر $-۷۰^{\circ}C$ نگه‌داری شد.

P_{0-3}: periods of sampling



ز. انجام آزمایشات: برای اندازه‌گیری غلظت سرمی گلوکز، تری‌آسیل گلیسرول و اوره از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و برای اندازه‌گیری غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات از کیت تجاری شرکت رندوکس استفاده شد. کلیه پارامترها در مرکز خدمات دارویی تبریز (پشمینه) با اتوآنالایزر مدل Alycon 300 ساخت ایالات متحده اندازه‌گیری شد. در ادامه به طور خلاصه روش کار در هر مورد ذکر می‌شود:

ز.۱. اندازه‌گیری گلوکز: اندازه‌گیری گلوکز سرم به روش کلری‌متری (رنگ سنجی) انجام گرفت. اساس آزمایش: آنزیم گلوکزاکسیداز کیت از گلوکز نمونه، اسید گلوکونیک و آب

www.SID.ir

اکسیژنه تولید می‌کند که در حضور پراکسیداز با فنل و ٤-آمینوآنتی‌پیرین تولید رنگ قرمز می‌نماید. شدت رنگ حاصله در طول موج ۵۵۰–٤۹۰ نانومتر با غلظت گلوکز نمونه متناسب است.

ز۲. اندازه‌گیری تری‌آسیل گلیسرول: تری‌آسیل‌گلیسرول سرم به روش کلری‌متری اندازه‌گیری شد. اساس آزمایش: تری‌گلیسرید موجود در نمونه توسط آنزیم لیپاز هیدرولیز شده، گلیسرول آزاد می‌شود. گلیسرول حاصل تحت اثر آنزیم‌های مختلف قرار گرفته، در نهایت وارد واکنش رنگی تریندر می‌شود. شدت رنگ حاصله در طول موج ۵۳۰ – ٤۹۵ نانومتر، متناسب با غلظت تری‌گلیسرید موجود در نمونه است.

ز۳. اندازه‌گیری اوره: اساس آزمایش کلری‌متری: دی‌استیل مونوکسیم در محیط اسیدی با آب ترکیب شده تولید دی‌استیل می‌کند که از ترکیب آن با اوره مشتق دیازینی زرد رنگ حاصل می‌شود. حضور تیوسمی کاربازید در محیط عمل موجب پیدایش رنگ صورتی پررنگ خواهد شد. شدت رنگ حاصله در طول موج ۵۲۰ نانومتر با غلظت اوره نسبت مستقیم دارد.

ز٤. اندازه‌گیری بتاهیدروکسی‌بوتیرات: از کیت تجاری Ranbut (شرکت Randox) استفاده شد. این کیت به روش کینتیک آنزیمی و بر اساس اکسیداسیون بتاهیدروکسی بوتیرات به استواستات توسط آنزیم بتاهیدروکسی بوتیرات دهیدروژناز و احیاء همزمان NAD^+ به $NADH,H^+$ و تغییر متناسب در جذب نوری این ماده که متناسب با غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات است، می‌باشد. غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات به‌صورت میلی‌مول در لیتر سرم از تقسیم میانگین اختلاف جذب نوری تست در ۳ دقیقه بر میانگین اختلاف جذب نوری استاندارد در ۳ دقیقه، حاصل می‌شود. غلظت محلول استاندارد این آزمایش، یک میلی‌مول در لیتر است.

$$(\Delta Abs\ T / \Delta Abs\ St) \times St = BHB\ (mmol/l)$$

ز۵. اندازه‌گیری اسیدهای چرب غیراستریفیه: بدین منظور از کیت تجاری شرکت Randox استفاده شد. این کیت به روش کینتیک آنزیمی و بر اساس تبدیل اسیدچرب غیراستریفیه ابتدا به فرم فعال آن و سپس اکسیداسیون و نهایتاً پروکسیداسیون آن و تولید محصول ارغوانی رنگ است که شدت جذب نوری این ماده متناسب با غلظت اسیدچرب غیراستریفیه می‌باشد. غلظت اسیدچرب غیراستریفیه به‌صورت میلی‌مول در لیتر سرم و از رابطه زیر بدست می‌آید:

$$(Abs\ T / Abs\ St) \times St = NEFA\ (mmol/l)$$

ح. آنالیز آماری داده‌ها: آزمایش مورد استفاده اسپلیت پلات در زمان در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی است. فاکتور اصلی (T) دارای دو سطح (T_2: شاهد، T_1: تیمار محدودیت غذایی) و فاکتور دوم (p) دارای ٤ سطح (p_0: شاهد یا ابتدای آبستنی، p_1: هفته چهارم آبستنی، p_2: هفته ١٤ آبستنی یا ٨ هفته مانده به زایمان، p_3: یک هفته مانده به زایمان) و تعداد تکرار مورد استفاده ١٤ رأس دام بود. مقایسه میانگین داده‌ها با روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گرفت.

یافته‌ها

نتایج حاصل از اندازه‌گیری پارامترهای سرمی فوق و مقایسه میانگین داده‌ها به روش دانکن در جداول ۳ تا ٦ آورده شده است. تجزیه واریانس آزمایش در قالب طرح ترکیبی فاکتوریل برای صفات مورد مطالعه (جدول ۳) نشان داد بین تیمارها از نظر میانگین غلظت سرمی اسیدهای چرب غیراستریفیه (NEFA)، بتاهیدروکسی بوتیرات و اوره (به ترتیب $p<۰/۰۵$، $p<۰/۰۵$ و $p<۰/۰۱$) و نیز به لحاظ دوره‌های مختلف آزمایش از نظر تری‌آسیل گلیسرول (TG)، اسیدهای چرب غیراستریفیه، بتاهیدروکسی بوتیرات و اوره، در سطح احتمال ۵٪ اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد. اثر متقابل (treatment × period) و یا مقایسه میانگین ترکیبات تیماری برای صفات اوره و بتاهیدروکسی بوتیرات در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳- تجزیه واریانس آزمایش طرح ترتیبی فاکتوریل برای صفات مورد مطالعه

Source of variation	df	Mean Square				
		Glucose	TG	NEFA	BHB	Urea
treatment (T)	۱	۱۵۰/٤۲ ns	۵/۰۰۷ ns	۰/٤۸۸۹*	۰/٤۲۸۹*	۱۵٦۹/۱۱**
error I (R/T)	۲٤	٤۳/۲۱	۲٦/۷۲	۰/۰۳٦۳	۰/۰۵۷۸	٦۹/٦۷
period (P)	۳	۵۸/٦٦ ns	۹٤/۳٦*	۰/۲۹۳٤*	۰/۰۷۰٤*	۸۱۸/۳ **
P*T	۳	۳٤/۸٤ ns	۷۱/۵۹ ns	۰/۰۹۵۵ ns	۰/۱۲۵ **	۱۱۵۳/۸٤ **
error II	۲٦	۲۳/۵۱	۳۱/۳۳	۰/۰۵۷۲	۰/۰۱۸۸	۵۳/۵۸
C.V.		۱٦/۷	۲٤/۹۷	۳۲/۲۱	۳۲/٤۲	۱۹/۷۱

بیانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۵٪ است.

** بیانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۱٪ است.

ns بیانگر فقدان اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۵٪ است.

جدول ٤- مقایسه میانگین بین تیمارها (T)، دوره‌ها (P) و اثرات متقابل (T×P) برای صفات مورد مطالعه به روش دانکن

Treatments	Mean				
	Glucose mg/dl	TG mg/dl	NEFA mmol/l	BHB mmol/l	Urea mg/dl
Restricted energy (T_1)	٤۰/۵ a	۲۳/۱۳a	۰/۹ a	۰/۵٦ a	۳۲/۸۷ b
Control (T_2)	٤٦/۸۷۵ a	۲۱/۷۵ a	۰/٦b	۰/۳ b	٤۱/۱٦ a
Periods					
P_0	۵۱/۷۵ a	۱۵/۰ b	۰/۵۱ b	۰/۲۷ b	۲۰/۰ b
P_1	٤٤/۲۲ a	۲۱/۸۹ a	۰/۵٤ b	۰/۳۱ b	٤۰/٦۷ a
P_2	٤۲/٦۱ a	۲۳/۳۳ a	۰/۸۲ a	۰/۵۳ a	۳۸/٦۱ a
P_3	٤۱/۰ a	۲۵/۳۳ a	۰/۹۷ a	۰/۵۰ a	۳۷/۷۸ a
Periods × Treatments					
T_1P_1	٤۳/۸ a	۱۸/۰ a	۰/٤٤۷ a	۰/۳۰ b	۳۷/٤۰ b
T_1P_2	٤۱/۱ a	۲٤/٦ a	۰/۹۱۸ a	۰/۷۳ a	٤۱/٤ a
T_1P_3	٤۲/۷ a	۳٤/۵ a	۰/۸۳۸ a	۰/٦٤ a	٤۰/۸ a
T_2P_0	٤۹/۰ a	۱٦/۱ a	۰/۲۲۹ a	۰/۲۷ b	۱۹/۱ d
T_2P_1	٤٦/۰ a	۲٦/۰ a	۰/۲٦۳ a	۰/۳۲ b	۳٤/۳ bc
T_2P_2	٤۷/۸ a	۲۱/۸ a	۰/۲۹۲ a	۰/۲۹ b	۳٦/٤ b
T_2P_3	٤۲/۰ a	۲٤/۳a	۰/۷۸۲ a	۰/۳۱ b	۳٦/۱ b

حروف غیر مشابه در هر ستون (a, b) نشانگر وجود تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

با وجود اعمال محدودیت غذایی در جیره میش‌های آبستن در ۸ هفته پایانی آبستنی و کاهش انرژی مصرفی آنها در دو مرحله به‌ترتیب به میزان ۱۶/۵٪ و ۲۷/۵٪ مقدار توصیه شده (NRC 1985)، از ۱۰ رأس دام موجود در گروه تیمار محدودیت غذایی، تنها یک مورد سقط (در هفته آخر آبستنی) مشاهده گردید. که این امر شاید می‌تواند بیانگر مقاومت نسبی گوسفندان قزل بومی آذربایجان به این میزان از محدودیت غذایی باشد. از منظر دیگری نیز می‌توان این مورد را توجیه نمود، به این ترتیب که: با عنایت به فلاشینگ ابتدای دوره پرورش در مطالعه حاضر، این احتمال نیز وجود دارد که عدم بروز سقط علی‌رغم محدودیت یاد شده شاید به دلیل انجام فلاشینگ در ابتدای دوره است کمااینکه برخی مطالعات (۱۳) بیانگر این نکته است که دام‌های به درستی تغذیه شده در زمان قبل از جفت‌گیری که دارای ذخایر کافی از چربی‌ها می‌باشند، در مقابله با محدودیت انرژی بسیار مقاوم‌تر از دام‌هایی هستند که ذخایر چربی آنها به میزان کافی نبوده است. طبق اطلاعات همین منبع، محدودیت غذایی زمانی بیشترین اثر را بر عملکرد میش آبستن (وزن بره در هنگام تولد و میزان توسعه جفت) دارد که محدودیت غذایی در فاصله ۵۰ تا ۹۰ روزگی (حدود ۱۳-۷ هفتگی) آبستنی القاء شود. چرا که اصلی‌ترین زمان تکثیر سریع سلول‌های جفتی در همین زمان است. با توجه به این نکته که محدودیت غذایی در مطالعه حاضر از هفته ۱٤ آبستنی بوده است، بنابراین طبیعی است که دام‌ها مقاومت نسبی به محدودیت غذایی القاء شده در این مطالعه داشته باشند.

در گوسفندان میانگین غلظت سرمی گلوکز ۵۰-۸۰mg/dl گزارش شده است (۸). ولی در این مطالعه میزان سرمی گلوکز در گروه شاهد در کل دوره اندکی کمتر از مقدار فوق و در حدود ٤٦/۸۷۵ mg/dl بود. میانگین غلظت سرمی گلوکز در کلیه دوره‌ها و تیمارها (جداول ٤ تا ٦) نسبت به گروه شاهد همان دوره، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵٪ نداشت و لذا محدودیت غذایی موجب کاهش گلوکز سرمی نگردیده است و محدودیت غذایی توسط دام تحمل شده است. شایان ذکر اینکه، منبع اصلی انرژی در نشخوارکنندگان، اسیدهای چرب فرار حاصل از تخمیر کربوهیدرات‌های جیره به‌وسیله میکروارگانیسم‌های شکمبه هستند و از سویی مواد مغذی مورد نیاز برای رشد جنین همان مواد جذب شده از معده و روده نبوده و کبد مادر باید متابولیت‌های غیرقابل استفاده برای جنین را به مواد مغذی قابل استفاده برای جنین تبدیل کند، بیشتر گلوکز مورد استفاده جنین و مادر باید به وسیله گلوکونئوژنز از مواد گلوکوژنیک (گلوکزساز) مانند پروپیونات، لاکتات، گلیسرول و برخی آمینواسیدها حاصل شود (٦ و ۷). در طول هفته‌های آخر آبستنی، احتیاجات شدید به گلوکز (برای میش‌های آبستن تک‌قلو ۱/۵ برابر و در دوقلو آبستن ۲ برابر سطح نگه‌داری) برای مادر به وجود می‌آید که به‌خاطر وزن گیری چند برابر جنین می‌باشد (۱). ولی همان‌طور که اشاره شد، میانگین غلظت سرمی گلوکز دام‌های مورد مطالعه کاهش نیافته بود. با عنایت به اینکه آبستنی باعث تحریک گلوکونئوژنز مادر می‌شود (۱۷) - حتی اگر مصرف خوراک کم باشد- بنابراین ظاهراً قدرت عمل گلوکونئوژنز در حدی بوده است که علی‌رغم القاء محدودیت غذایی و با افزایش مصرف گلوکز توسط جنین، میزان سرمی گلوکز کاهش نیافته است. همانطور که در پاراگراف قبلی نیز اشاره شد، شاید امتیاز مطلوب وضعیت بدنی دام‌ها در بدو آبستنی، همچنین زمان القاء محدودیت غذایی نیز در عدم کاهش معنی‌دار گلوکز سرمی بی‌تأثیر نبوده است.

میانگین غلظت بتاهیدروکسی‌بوتیرات در گروه شاهد (T_2P_0) ابتدای آبستنی ۰/۲۷ mmol/l نسبت به مقدار آن در گروه محدودیت غذایی در دو دوره T_1P_3 (۰/٦٤ mmol/l) و T_1P_2 (۰/۷۳ mmol/l) به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری داشت ($p<$۰/۰۵). اگر یافته‌های Smith و همکاران (۱۹۹٦) که مقدار

Archive of SID
www.SID.ir

بیش از ۱ mmol/l بتاهیدروکسی بوتیرات را ملاک تشخیص مسمومیت آبستنی می‌دانند (۱۵) قرار دهیم، میانگین سرمی هیچکدام از دام‌های مورد مطالعه حتی در سخت‌ترین مراحل، مبتلا به کتوز آبستنی یا مسمومیت آبستنی نبوده‌اند (هرچند فقط در دوره ۲ و یک مورد در دوره ۳ میزان بتاهیدروکسی بوتیرات اندکی بیشتر از یک بود). ولی Kaneko و همکاران (۲۰۰۸) مقدار مرجع این ماده را ۰/۰٤ mmol/l ±۰/۵۵ اعلام نموده‌اند (۸). بنابراین اساس در هر دو دوره T_1P_3 و T_1P_2 محدودیت غذایی منجر به کتوز شده است. با توجه به اختلاف آماری معنی‌دار بتاهیدروکسی بوتیرات گروه محدودیت غذایی در هر دو دوره فوق با گروه شاهد، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که محدودیت غذایی به روشنی موجب افزایش غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات سرمی و ابتلا به کتوز شده است. افزایش بتاهیدروکسی بوتیرات اگرچه نتیجه مکانیسم جبرانی استفاده از چربی در صورت کمبود کربوهیدرات و توقف چرخه کربس است (۹) ولی از سویی هیپرکتونمی می‌تواند چرخه معیوبی را ایجاد کند که موجب تشدید هیپوگلایسمی خواهد شد (۱٤). البته مطالعات نشان می‌دهد که تا ۳۰٪ از بتاهیدروکسی بوتیرات در میش آبستن با محدودیت غذایی می‌تواند به صورت دی‌اکسید کربن از راه بازدم دفع شود (۸). همبستگی مقدار گلوکز و اسیدهای چرب غیراستریفیه با بتاهیدروکسی بوتیرات منفی ولی غیر معنی‌دار بود که در تطابق با یافته‌های سایر محققان است (۱۱).

با عنایت به توضیحات فوق که افزایش بتاهیدروکسی بوتیرات به افزایش استفاده از اسیدهای چرب نسبت داده شد، غلظت سرمی اسیدهای چرب غیراستریفیه نیز اندازه‌گیری شد. غلظت این مواد در جیره تیمار محدودیت غذایی نسبت به گروه شاهد (جدول ٤) و نیز میانگین غلظت سرمی اسیدهای چرب در دوره‌های p_2 و p_3 نسبت به دوره‌های p_0 و p_1 معنی‌دار بود ($p<$۰/۰۵) که بیانگر استفاده از ذخایر چربی جهت تأمین انرژی مورد نیاز بوده و به روشنی می‌تواند تأییدگر توجیه یاد شده در فوق باشد.

در مقایسه میانگین بین دوره‌های مختلف برای صفت تری‌آسیل گلیسرول به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن (جدول۵) ملاحظه شد که دوره شاهد (p_0) تفاوت آماری معنی‌داری با سایر دوره‌ها دارد ($p<$۰/۰۵). کمترین مقدار تری‌آسیل گلیسرول در دوره p_0 ملاحظه شد که میانگین آن ۱۵/۰mg/dl بود و لذا با ادامه آبستنی در هر دو گروه تیمار و شاهد، میانگین مقدار تری‌آسیل گلیسرول سرمی افزایش یافته است. این تغییر نه به‌دلیل اعمال محدودیت غذایی (عدم اختلاف آماری معنی‌دار در جدول ٤) که به‌خاطر پیشرفت روند آبستنی و افزایش نیاز دام و جنین به انرژی بیشتر است. میزان تری‌آسیل گلیسرول در اواخر دوره، ٦۰٪ افزایش داشته است که این امر همانطور که سابقاً نیز اشاره شد، بیانگر اهمیت استفاده از چربی در تأمین انرژی مورد نیاز دام می‌باشد.

در خصوص بررسی میانگین سرمی اوره تفاوت‌های آماری معنی‌دار بین تیمارها و دوره‌های مختلف ملاحظه شد (به‌شرح جداول ٤ تا ٦). ولی با عنایت به محدوده ٤۲/۸۸۲ mg/dl– ۱۷/۱۷۷ که در برخی منابع ذکر شده است (۸)، همه این مقادیر در محدوده یاد شده است و هیپراورمی تلقی نمی‌شود. تفاوت آماری معنی‌داری بین میانگین سرمی اوره در گروه تیمار محدودیت غذایی و تیمار شاهد و نیز بین دوره شاهد با شایر دوره‌ها ملاحظه شد ($p<$۰/۰۵). در نگاهی کلی به تفاوت‌های آماری موجود در جدول ٦ بروشنی درمی‌یابیم که محدودیت غذایی ۸ هفته آخر آبستنی به‌طور معنی‌داری موجب افزایش غلظت سرمی اوره شده است ($p<$۰/۰۵). پژوهش‌های دیگر نیز نشان داده‌اند که یکی از علائم سوءتغذیه در اواخر آبستنی افزایش اوره خون است (۱۰). یک بررسی دیگر نیز نشان داد که از روز ۱۲۰ آبستنی تا زایمان، غلظت اورهٔ خون میش‌هایی که جنین‌های سنگین‌تر داشتند، بیشتر بود (۵). به هرحال با لحاظ تفاوت‌های آماری اشاره شده در جداول ٤ تا ٦ می‌توان

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه گرفت میش‌هایی که در محدودیت غذایی انرژی و پروتئینی بسر می‌بردند، پروتئین بیشتری را تجزیه و اسیدهای آمینه به دست آمده را به‌منظور تأمین گلوکز مورد نیاز جنین وارد مسیرهای گلوکونئوژنز کرده‌اند و در اثر دآمیناسیون، اوره خون آنها بالاتر رفته است، یعنی تأمین گلوکز برای جنین به قیمت شکسته شدن آمینواسیدها بوده است.

بر اساس مستندات ارائه شده توسط Robinson و همکاران (۲۰۰۲) استفاده از پروتئین‌های قابل متابولیزاسیون بدن همبستگی مثبتی با محدودیت غذایی دارد و ایشان پروتئولیز عضلات را ازجمله تغییرات سازگاری با آبستنی عنوان می‌نمایند. اهمیت گلوکونئوژنز اسیدهای آمینه در نشخوارکنندگان زمانی بیشتر روشن می‌شود که بدانیم، میزان جذب گلوکز از روده این حیوانات کم است و لذا بایستی به‌میزان زیادی توسط خود دام ساخته شود که بیش از ۹۰٪ از این مقدار در کبد و مابقی در کلیه ساخته می‌شود (۸). مهم‌ترین پیش‌سازهای سنتز گلوکز، اسید پروپیونیک و اسیدهای آمینه هستند. اهمیت اسید پروپیونیک هنگامی است که دام از جیره با غلات زیاد تغذیه می‌شود (۸). بسیار مشکل است که سهم اسیدهای آمینه در گلوکونئوژنز را تعیین نمود. برخی مطالعات تأکید دارند که ۲۵ تا ۱۵ درصد گلوکز از اسیدهای آمینه ساخته می‌شود ولی برخی معتقدند احتمالاً این فرایند ۴۰-۳۰ درصد کل را تشکیل می‌دهد (۲). به اعتقاد Kaneko و همکاران (۲۰۰۸) در علفخواران سهم اسیدهای آمینه در گلوکونئوژنز ۲۰-۱۰ درصد است(۸). بنابراین اهمیت گلوکونئوژنز اسیدهای آمینه جهت تأمین انرژی مورد نیاز دام را می‌توان علت اصلی افزایش اوره سرم در گوسفندان تیمار محدودیت غذایی دانست.

در بررسی معادلات خطی درجه اول به‌منظور برازش مدل مطالعه در خصوص پارامترهای گلوکز، بتاهیدروکسی بوتیرات، اسیدهای چرب غیراستریفیه و تری‌آسیل گلیسرول اثر معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) مشاهده شد و به‌عبارتی زمان نمونه‌گیری که در دوره‌های مختلف آبستنی انجام گرفته است اثر معنی‌داری بر پارامترهای یاد شده دارد و نتایج حاصل از هر دوره قابل تعمیم به دوره‌های دیگر نیست. ولی از همین لحاظ مدل مورد مطالعه اثر معنی‌داری بر میانگین غلظت سرمی اوره نداشت.

با توجه به نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر می‌توان چنین پیشنهاد نمود که گوسفندان قزل مورد مطالعه در صورت آبستنی تک‌قلو با عنایت به پتانسیل ژنتیکی خود، حتی در اواخر آبستنی توان زیادی در تحمل محدودیت غذایی و به پایان رساندن این دوره دارند. علی‌رغم محدودیت غذایی شدید در حساس‌ترین دوره آبستنی، آنها می‌توانند با استفاده از مکانیسم‌های جبرانی همچنان از کاهش گلوکز سرمی ممانعت کرده، موجب تثبیت هموستاز غلظت گلوکز سرم خون شوند. انجام مطالعات مشابهی در شرایط آبستنی دوقلو در همین نژاد و سایر نژادهای ایرانی پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت مالی و معنوی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به شماره قرارداد ۹۰۹۵۳-۵-۱۷-۰۲ مورخ ۸۶/۷/۲۲ انجام شده است. بدینوسیله از آن معاونت محترم و همکاران ارجمند گروه علوم دامی دانشکده و زحمات همکاران عزیز آقای مهندس امیرمسعود وطنخواه و آقای مهندس شهرام محمدزاده تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

۱. زارع شحنه، ا. و صادقی پناه، ح. ۱۳۸۳. تأثیر سرعت رشد جنین بر غلظت متابولی تهای پلاسمای میش رگامه‌های پایانی آبستنی و پس از زایش. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. اصفهان، سال هشتم، شماره چهارم، صفحه‌های ۱۲۳-۱۳۰.

Archive of SID
www.SID.ir

۲. طباطبایی، م.م. ۱۳۸۲. جنبه‌های فیزیولوژی تغذیه نشخوارکنندگان. (ترجمه)، تألیف: سو آن، چاپ اول، همدان، انتشارات دانشگاه ابوعلی سینا، صفحه ٤٦٣.

3. Anonymous 1985. NRC: Nutrient requirements of sheep. National Academy Press, Washington D.C., 6th edition, 8p.
4. Anonymous 1995. AOAC: official methods of analysis. Association of official analytical chemists, Arlington, Virginia, 16th edition, 10p.
5. Bell, A., McBride, W., Slepetis, B.W., Early, R.J. and Currie, W.B. 1989. Chronic heat stress and prenatal development in sheep: 1. Conceptus growth and maternal plasma hormones and metabolites. J. Anim. Sci. 67:3289-3299.
6. Bergman, E.N. 1963. Quantitative aspects of glucose in pregnant and non-pregnant sheep. Am. J. Physiol. 204:147-152.
7. Bergman, E.N., Roe, W.E. and Kon, K. 1966. Quantitative aspects of propionate metabolism and gluconeogenesis in sheep. Am. J. Physiol. 211:793-799.
8. Kaneko, J.J., Harvey, J.W. and Bruss, M.L. 2008. Clinical biochemistry of domestic animals. Academic Press, USA. 6th edition, chapters 3-4 & appendices no. VIII.
9. Kerr, M.G. 2002. Veterinary laboratory medicine (clinical biochemistry and hematology). Blackwell science, London, 2nd edition, chapter 8.
10. McNeill, D.M., Slepetis, R., Ehrhardt, R.A., Smith, D.M. and Bell, A.W. 1997. Protein requirements of sheep in late pregnancy: partitioning of nitrogen between gravid uterus and maternal tissues. J. Anim. Sci. 75:809-816.
11. Ramin, A.G., Asri, S. and Majdani, R. 2005. Correlations among serum glucose, beta-hydroxybutyrate and urea concentrations in non-pregnant ewes, Small Ruminant Research, 57: 265–269.
12. Reece, W.O. 2004. Dukes' physiology of domestic animals. Comstock publishing associates a division of Cornell university press, U.S.A., 12th edition, chapter 33.
13. Robinson, J.J., Rooke, J.A. and McEvoy, T.G. 2002. Nutrition for Conception and Pregnancy. P: 198-211, In: Freer, M. and H. Dove (eds.), Sheep nutrition. 1st edition, CAB international, London, chapter 9.
14. Schlumbohm, C. and Harmeyer, J. 2004. Hyperketonemia impairs glucose metabolism in pregnant and non-pregnant ewes. J. Dairy Sci. 87:350-358.
15. Smith, B.P. 1996. Large animal internal medicine. Mosby press, U.S.A., 2nd edition. p 939.
16. Suriayasathaporn, W., Heuer, C., Noordhuizen-Stassen, E.N. and Schukken, Y.H. 2000. Hyperketonemia and the impairment of udder defense: a review. veterinary research. 31:397-412.
17. Wilson, S., MacRae, J.C. and Buttery, P.J. 1983. Glucose production and utilization in non-pregnant, pregnant and lactating ewes. Br. J. Nutr. 50:303- 316.

Archive of SID

www.SID.ir