اثر سطح انرژی مصرفی، امتیاز وضع بدن و تزریق هورمون لپتین بر میزان تخمکگذاری در میش

دکتر آرمین توحیدی[1] دکتر همایون خزعلی[1] دکتر علی نیکخواه[2] دکتر امیر نیاسری نسلجی[3] دکتر سید احمد میرهادی[4]

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ٥٦، شماره ٤، ١٢٤-١١٩، (١٣٨٠)

اثر سطح انرژی مصرفی و امتیاز وضع بدن بر میزان تخمکگذاری در گوسفند دنبه دار ایرانی و نیز نقش احتمالی هورمون لپتین در این فرایند مشخص نیست. لذا در این پژوهش طی آزمایش اول، اثر سطح انرژی مصرفی در بلند مدت بر وزن بدن، امتیاز وضع بدن، میزان تخمکگذاری و ارتباط آنها، و در آزمایش دوم، اثر سطح انرژی مصرفی در کوتاه مدت و نیز تزریق هورمون لپتین بر میزان تخمکگذاری در گوسفند شال مورد بررسی قرارگرفته است. در آزمایش نخست، در طی پنج دوره فحلی گروه تیمار (n =۱۴) در حد ۶۰ درصد و گروه شاهد (n =۱۴) در حد ۱۰۰ درصد انرژی نگهداری تغذیه شدند. در آزمایش دوم، ۲۴ رأس میش همزمان شده، در سه گروه هشت رأسی به مدت چهار روز تیمارهای زیر را دریافت نمودند. گروه اول ضمن تغذیه در حد ۱۰۰ درصد انرژی نگهداری، روزانه ۱ µg /Kg لپتین نو ترکیب انسانی به صورت وریدی دریافت کردند. گروه دوم در حد ۱۸۰ درصد و گروه سوم به عنوان شاهد در حد ۱۰۰ درصد انرژی نگهداری تغذیه شده و به علاوه ۱ml سرم فیزیولوژیکی به صورت وریدی دریافت نمودند. درهر دوره فحلی، وزن، امتیازوضع بدن و میزان تخمکگذاری تعیین شد. نتایج آزمایش اول نشان داد، وزن و امتیاز وضع بدن در گروه تیمار کاهش معنی دار (P <۰/۰۱) داشته و در عین حال یک رابطه خطی مثبت معنی‌دار (P <۰/۰۱) بین این دو صفت برقرار است (R^2=۰/۶۲). هنگامی که امتیاز وضع بدن به کمتر از ۲ رسید، میزان تخمکگذاری در گروه تیمار نسبت به شاهد و نیز نسبت به زمانهای قبل کاهش معنی دار(P <۰/۰۱) نشان داد. زمانی که امتیاز وضع بدن به حدود یک رسید، تخمکگذاری در گروه تیمار متوقف گردید. در آزمایش دوم، هیچ‌گونه اختلاف معنی‌دار در وزن بدن و میزان تخمکگذاری بین گروههای آزمایشی مشاهده نشد. از نتایج این تحقیق چنین استنباط می‌شود که میزان تخمکگذاری در گوسفندان دنبه‌دار در مقایسه با نژادهای بدون دنبه به تغییرات انرژی مصرفی، وزن و امتیاز وضع بدن دیرتر پاسخ می‌دهد.

واژه های کلیدی: انرژی، امتیاز وضع بدن، لپتین، میزان تخمکگذاری، میش.

افزایش سطح انرژی مصرفی و وزن بدن به دو صورت استاتیک (وزن ثابت بدن) و دینامیک (تغییرات وزن بدن در واحد زمان) موجب افزایش میزان تخمکگذاری در گوسفند می‌شود (۳۲، ۳۱، ۲۷، ۲۳، ۱۸، ۱۵، ۹، ۱). البته وزن یکی از مهمترین عوامل تعیین وضعیت متابولیکی حیوان می‌باشد، ولی چون جثه و نژاد حیوانات بر روی وزن بدن اثر دارد (۱۴)، امتیاز وضع بدن (Body condition score) به عنوان معیار بهتری مدنظر قرار گرفت (۱۴،۲۸). علاوه بر آن میزان همبستگی امتیاز وضع بدن با میزان چربی که با فرآیندهای جنسی و میزان تخمکگذاری ارتباط نزدیکی دارد (۱۴)، نسبت به وزن بدن بیشتر بوده و در حدود ۰/۹۴ گزارش شده است (۲۰).

در گوسفند امتیاز وضع بدن بر مبنای سیستم صفر (بسیار نحیف) تا پنج (بسیار چاق) تعیین می شود و تاکنون عمدتاً جهت استفاده در گوسفندان بدون دنبه به کار رفته است (۲۸).در این سیستم، بهترین امتیاز برای وضع بدن در زمان جفتگیری بسته به نژاد میش بین ۲/۵ تا ۳/۵ ذکر شده است (۱۸). فلاشینگ بلند مدت یا افزایش سطح تغذیه میشها در طی چند هفته قبل و بعد از قوچ اندازی روشی است که جهت دستیابی به این امتیاز و در پی آن افزایش میزان تخمکگذاری استفاده می‌شود (۳۲، ۳۱، ۲۷، ۲۳، ۱۸، ۱۵، ۹، ۱)، اما فلاشینگ تنها در گوسفندانی مؤثر است که از نظر امتیاز وضع بدن در محدوده متوسط (دو تا سه) قرار داشته باشند (۱). با توجه به آنکه اطلاعاتی در زمینه اثر سطح انرژی مصرفی و امتیاز وضع بدن بر میزان تخمکگذای در گوسفندان دنبه‌دار ایرانی در دسترس نبوده و از سویی بهترین امتیاز برای وضع بدن در زمان جفتگیری بستگی به نژاد میش دارد، لذا هدف نخست از این پژوهش، بررسی اثر سطح انرژی مصرفی در بلند مدت بر وزن بدن، امتیاز وضع بدن و میزان تخمکگذاری و ارتباط آنها در گوسفندان دنبه دار شال می‌باشد.

از سویی دیگر علی‌رغم آنکه فلاشینگ موجب افزایش میزان تخمکگذاری می‌شود، اما همواره منجر به افزایش بره زایی نشده (۱۸،۲۳) و علاوه بر آن موجب تحمیل هزینه خوراک اضافی به دامدار نیز می‌گردد، بنابراین طی سالهای اخیر کوششهایی در جهت کوتاه کردن مدت فلاشینگ انجام گرفته است. فلاشینگ کوتاه مدت (چهار تا ده روز) با تغذیه مواد حاوی مقادیر زیاد انرژی و پروتئین بدون آنکه اثری بر وزن بدن داشته باشد، موجب افزایش میزان تخمکگذاری در گوسفند مرینوی استرالیایی شده است (۱۳،۱۸،۱۹،۲۱،۲۵). با توجه به آنکه به نظر می‌رسد، انرژی عامل مهمتری در فرایندهای تولید مثلی است (۱۸،۳۰،۳۴،۳۵)، هدف بعدی از این تحقیق، بررسی اثر سطح انرژی مصرفی در یک دوره کوتاه مدت بر میزان تخمکگذاری در گوسفند شال می‌باشد.

همچنین در طی سالهای اخیر مشخص شده است، هورمون لپتین که از بافت چربی ترشح شده و به عنوان شاخص میزان چربی و انرژی بدن عمل می‌کند (۴)، دارای اثرات مثبتی بر فرایندهای جنسی می باشد (۱۶،۱۷،۲۲). در حیوانات تک معده‌ای نظیر موش، موش صحرایی و میمون که به دلیل محدودیت غذایی با قطع سیکل فحلی مواجه شده اند، تزریق این هورمون موجب تجدید تخمکگذاری شده است (۱۱، ۸). علاوه بر این، یک گزارش نشان می‌دهد، سطح لپتین خون در طی فحلی در گوسفندانی که مکمل غذایی مصرف کرده و میزان تخمکگذاری بیشتری داشته اند، نسبت به گوسفندان گروه شاهد بالاتر است (۲۹). چند مطالعه نیز حاکی از همبستگی مثبت بین سطح تغذیه، میزان چربی (۵،۶) و نیز امتیاز وضع بدن (۱۲) با سطح لپتین خون در گوسفند است. با توجه به آنکه میزان تخمکگذاری تحت تأثیر وضعیت متابولیکی بدن می‌باشد (۱۴) و از سویی هورمون لپتین به عنوان یک سیگنال متابولیکی برای فرآیندهای تولیدمثلی در حیوانات تک معده ای مطرح شده است (۳،۱۱)، هدف دیگر از این پژوهش، بررسی اثر تزریق هورمون لپتین بر میزان تخمکگذاری در گوسفند شال می‌باشد.

مواد و روش کار

آزمایش اول: در شهریور ماه سال ۱۳۷۹، ۲۸ رأس میش سالم

۱) گروه آموزشی علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران - ایران.
۲) گروه آموزشی علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج - ایران.
۳) گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
٤) مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج - ایران.

جدول ۱- اجزای جیره‌های آزمایشی و ترکیبات مربوطه برحسب ماده خشک و مقدار مواد مغذی مصرفی در روز

شماره جیره / اجزای جیره	۱[۱]	۲[۲]	۳[۳]
کاه گندم (گرم در روز)	۱۰	۲۶۰	۶۰۰
یونجه (گرم در روز)	۵۰	۵۰	۵۰
ذرت (گرم در روز)	۱۰	۲۲۰	۵۴۰
کنجاله گلوتن ذرت (گرم در روز)	۲۱۰	۸۵	--
آرد استخوان (گرم در روز)	۱/۳۴	۰/۴۷	۲/۵
نمک (گرم در روز)	۱/۶۶	۱/۲۲	۰/۴۷
اکسید منیزیوم (گرم در روز)	۰/۶۹	--	--
مکمل ویتامینه ومعدنی (گرم درروز)	۳/۵۰	۳/۵۰	۳/۵۰
انرژی متابولیسمی (مگاکالری درروز)	۳/۷۴	۶/۰۳	۱۰/۹۰
پروتئین متابولیسمی (گرم در روز)	۵۶/۰۰	۵۵/۳۷	۵۷/۹۵
کلسیم (گرم در روز)	۱/۵۰	۱/۵۰	۲/۶۷
فسفر (گرم در روز)	۱/۵۰	۱/۵۰	۲/۶۵
سدیم (گرم در روز)	۱/۳۰	۱/۳۰	۱/۳۰
ماده خشک مصرفی (گرم درروز)	۲۸۷/۱۹	۶۲۰/۱۹	۱۱۹۶/۴۷

۱) جیره حاوی ٦۰ درصد انرژی متابولیسمی نگهداری و سایر احتیاجات در حد نگهداری، ۲) جیره حاوی ۱۰۰ درصد احتیاجات نگهداری، ۳) جیره حاوی ۱۸۰ درصد انرژی متابولیسمی و سایر احتیاجات در حد نگهداری.

۲/۵ ساله شال با میانگین وزن ۲/۳۵±۴۵/۱۶ کیلوگرم و امتیاز وضع بدن ۰/۴۱±۲/۹۳ که حداقل یکبار در سالهای گذشته زایش کرده بودند، انتخاب شدند. گوسفندان در طی دوره آزمایش در موسسه تحقیقات علوم دامی کشور واقع در شهرستان کرج با طول '۵۱°/۲ شرقی و '۳۵°/۴۸ عرض شمالی در قفسهای انفرادی نگهداری شدند. در طی دو هفته اول، کلیه اقدامات بهداشتی و مدیریتی لازم اجرا گردید. پس از طی مرحله عادت دهی، گوسفندان به طور تصادفی به دو گروه مساوی ۱۴ رأسی تقسیم شده و در طی پنج دوره فحلی تحت آزمایش اصلی قرار گرفتند. گروه اول به عنوان تیمار از جیره مخلوط شده شماره یک (جدول ۱) که حاوی ۶۰ درصد انرژی متابولیسمی و سایر احتیاجات در حد نگهداری است، مصرف کردند تا در طی دوره آزمایش از وزن و امتیاز وضع بدن آنها بتدریج کاسته شود. گروه دوم به عنوان شاهد از جیره مخلوط شده شماره دو (جدول۱) که حاوی کلیه نیازهای غذایی دامی در حد نگهداری می‌باشد، مصرف نمودند. جیره‌های غذایی مورد استفاده براساس(Agricultural and food research council "AFRC ") سال ۱۹۹۵ تهیه شده و خوراک روزانه هر صبح پس از توزین دقیق بر مبنای وزن بدن در اختیار حیوانات قرار گرفت (۲). در طی مدت عادت دهی و آزمایش، گوسفندان به آب تازه و سنگ نمک دسترسی آزاد داشتند. در این مدت جهت همزمان ساختن فحلی در گوسفندان، از هفت تزریق متوالی آنالوگ پروستاگلندین F2α (کلوپرستنول، شرکت نصر، ایران) به میزان ۲۵۰ µg به ازای هر میش و به فواصل ۱۴ روزه استفاده شد. دامها در طی دوره عادت دهی و آزمایش و هر هفته یکبار قبل از شروع هر دوره فحلی جدید، توزین و امتیاز وضع بدن آنها بر مبنای سیستم صفر تا پنج تعیین شد (۲۸). علاوه بر آن، در طی هر دوره فحلی، تخمکگذاری در هر دو گروه تیمار و شاهد به روش لاپاروسکوپی تعیین شد.

داده‌های حاصل از تعیین وزن بدن دامها در قالب طرح اندازه‌گیری‌های مکرر و به روش مدل خطی عمومی (General linear model) با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفته و میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن مقایسه شد. همچنین جهت تعیین میزان ارتباط وزن بدن و امتیاز وضع بدن از روش رگرسیون استفاده شد. داده های حاصل از تعیین میزان تخمکگذاری با استفاده از آزمون مربع کای طبقه بندی شده بر مبنای تعداد تخمکگذاری (دو تخمکگذاری یا کمتر از دو تخمکگذاری) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

آزمایش دوم: در شهریور ماه سال ۱۳۷۹، ۲۴ رأس میش سالم ۲/۵ ساله شال با میانگین وزن ۳/۰۰±۴۳/۷۱ کیلو گرم و امتیاز وضع بدن ۰/۲۷±۲/۹۱ انتخاب و به طور تصادفی به سه گروه هشت رأسی تقسیم شدند. حیوانات در طی دوره اجرای طرح در موسسه تحقیقات علوم دامی کشور در قفسهای انفرادی نگهداری شده و دوره عادت دهی را مشابه با آزمایش اول طی کردند. جهت همزمان کردن فحلی، از دو تزریق متوالی آنالوگ پروستاگلندین F2α (کلوپرستنول، شرکت نصر، ایران) به میزان ۲۵۰µg به ازای هر میش و به فاصله ۱۴ روزه استفاده شد. پس از تزریق دوم ، حیوانات تیمارهای زیر را به مدت چهارروز دریافت کردند. گروه اول با جیره مخلوط شده شماره دو و در حد نگهداری تغذیه شده و به علاوه روزانه ۱µg /Kg لپتین نو ترکیب انسانی (Recombinant human leptin) (Mediagonist Ltd, U.S.A.) به صورت وریدی دریافت نمودند. گروه دوم از جیره مخلوط شده شماره سه (جدول۱) که حاوی ۱۸۰ درصد انرژی متابولیسمی نگهداری و سایر احتیاجات در حد نگهداری است، تغذیه کرده و به علاوه روزانه یک میلی لیتر سرم فیزیولوژیکی بصورت وریدی دریافت نمودند. گروه سوم به عنوان شاهد، جیره مخلوط شده شماره دو را در حد نگهداری دریافت کرده و علاوه بر آن روزانه یک میلی لیتر سرم فیزیولوژیکی به صورت وریدی به آنها تزریق شد. ده روز پس از شروع تیمار، میزان تخمکگذاری در میشها به روش لاپاروسکوپی تعیین شد. وزن و امتیاز وضع بدن دامها قبل و بعد از دوره آزمایش نیز تعیین وثبت گردید. جیره‌های مورد استفاده در این آزمایش بر اساس AFRC سال ۱۹۹۵ تهیه شده و روزانه پس از توزین در اختیار گوسفندان قرار گرفت (۲). در طی دوره اجرای طرح، میشها به آب تازه و سنگ نمک دسترسی آزاد داشتند.

داده‌های حاصل از تعیین وزن و امتیاز وضع بدن در قالب طرح کاملا تصادفی متعادل و با استفاده از نرم افراز SPSS، آنالیزواریانس (ANOVA) شد و میانگین های حاصل بااستفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن مورد مقایسه قرار گرفت. داده‌های حاصل از تعیین میزان تخمکگذاری نیز با استفاده از آزمون مربع کای طبقه بندی شده بر مبنای تعداد تخمکگذاری (دو تخمکگذاری یا کمتر از دو تخمکگذاری) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

آزمایش اول: سطح انرژی مصرفی، زمان و اثر متقابل آنها دارای اثر بسیار معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) بر وزن و امتیاز وضع بدن بود، به طوری که در گروه تیمار

جدول ۲- میانگین (± خطای معیار) وزن بدن گوسفندان در دو سطح تغذیه ۶۰ درصد و ۱۰۰ درصد انرژی نگهداری برحسب کیلوگرم

زمان / گروه	۱	۲	۳	۴	۵	۶
۶۰٪ انرژی نگهداری	۴۵/۱۴[1 a]±۰/۶۸	۴۱/۶۴[b]±۰/۷۲	۴۱/۳۱[b]±۰/۸۹	۳۹/۷۳[bc]±۰/۹۷	۳۷/۹۶[c]±۰/۷۵	۳۵/۳۱[d]±۰/۶۲
۱۰۰٪ انرژی نگهداری	۴۵/۱۸[a]±۰/۶۰	۴۶/۲۵[a]±۰/۷۴	۴۵/۲۹[a]±۰/۵۹	۴۵/۵۰[a]±۰/۶۶	۴۴/۸۲[a]±۰/۵۷	۴۵/۰۷[a]±۰/۶۵

۱- مقادیری که دارای حروف لاتین مشترک نیستند، دارای اختلاف معنی‌دارند (P < ۰/۰۵).

جدول ۳- میانگین (± خطای معیار) امتیاز وضع بدن گوسفندان در دو سطح تغذیه ۶۰ درصد و ۱۰۰درصد انرژی نگهداری

زمان / گروه	۱	۲	۳	۴	۵	۶
۶۰٪ انرژی نگهداری	۲/۹۱[1 a]±۰/۱۱	۲/۳۰[b]±۰/۱۰	۲/۱۵[b]±۰/۰۹	۱/۷۵[c]±۰/۰۶	۱/۳۵[d]±۰/۰۶	۱/۰۴[c]±۰/۰۴
۱۰۰٪ انرژی نگهداری	۲/۹۵[a]±۰/۱۱	۲/۹۱[a]±۰/۱۰	۲/۹۸[a]±۰/۰۶	۲/۹۶[a]±۰/۰۸	۳/۰۰[a]±۰/۱۲	۲/۹۸[a]±۰/۰۷

۱) مقادیری که دارای حروف لاتین مشترک نیستند، دارای اختلاف معنی دارند (P < ۰/۰۵).

میانگین وزن زنده (جدول ۲) و امتیاز وضع بدن (جدول ۳) در طی زمان کاهش یافت. در گروه شاهد هیچ‌گونه تفاوت معنی داری در زمانهای مختلف مشاهده نشد.

نتایج حاصل از محاسبات رگرسیون بر روی داده‌های گروه تیمار، نشان داد یک رابطه خطی مثبت بسیار معنی دار (P<۰/۰۱) میان وزن و امتیاز وضع بدن برقرار می‌باشد. جهت پیش بینی امتیاز وضع بدن (Y) از روی وزن بدن (X) معادله Y =-۳/۳۴+۰/۱۳X محاسبه شد. R^2 این مدل رگرسیون ۰/۶۲می‌باشد.

فراوانی تخمکگذاری دوتایی نسبت به تخمکگذاری کمتر از دو، در گروه تیمار در زمانهای اول تا سوم تفاوت معنی دار نداشت، در نتیجه میزان تخمکگذاری در این زمانها نسبت به هم و نیز نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی دار نداشت. در زمان چهارم، فراوانی تخمکگذاری دوتایی در گروه تیمار به طور معنی دار (P <۰/۰۵) کاهش یافته و در نتیجه منجر به کاهش میزان تخمکگذاری نسبت به زمانهای قبل و گروه شاهد شد. در زمان پنجم نیز فراوانی تخمکگذاری دوتایی به طور معنی دار (P <۰/۰۱) کاهش یافت، به‌طوری‌که هیچ‌گونه تخمکگذاری دوتایی مشاهده نشد. علاوه بر آن در پنج حیوان تخمکگذاری بطور کامل متوقف شد و در نتیجه از میزان تخمکگذاری نسبت به زمانهای قبل و گروه شاهد به طور محسوسی کاسته شد. در زمان ششم فراوانی تخمکگذاری دو تایی به طور بسیار معنی دار (P <۰/۰۱) کاهش یافت، به‌طوری‌که نه تنها هیچ‌گونه تخمکگذاری دوتایی رخ نداد، بلکه فقط در یک میش تخمکگذاری مشاهده شد و در نتیجه منجر به کاهش شدید در میزان تخمکگذاری گردید (جدول ۴).

لازم به ذکر است مقادیر موجود در جداول ۴،۳،۲ در زمان یک، مربوط به یک دوره فحلی قبل از شروع تیمار غذایی و در زمانهای دو تا شش مربوط به پنج دوره فحلی آزمایش اصلی می باشد. ضمناً در حین لاپاروسکوپی دوم، یک رأس از حیوانات تلف شد. بنابراین میانگینهای وزن و امتیاز وضع بدن در زمانهای سوم تاششم و میانگین میزان تخمکگذاری در زمانهای سوم تا پنجم حاصل از ۱۳ تکرار می باشد. همچنین به دلیل از بین رفتن یک رأس گوسفند دیگر قبل از لاپاروسکوپی ششم، میانگین میزان تخمکگذاری در زمان ششم مربوط به ۱۲ میش است.

آزمایش دوم: نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده ها نشان داد، سطح انرژی مصرفی و تزریق هورمون لپتین در طی دوره چهار روزه آزمایش، اثر معنی داری بر وزن زنده، امتیاز وضع بدن و فراوانی تخمکگذاری دو تایی و در نتیجه میزان تخمکگذاری در میشها نداشته است (جدول ۵).

بحث

کاهش سطح انرژی مصرفی در گروه تیمار موجب کاهش وزن و امتیاز وضع بدن در طی زمان شده است، ولی در گروه شاهد که جیره نگهداری دریافت می‌نمودند، وزن و امتیاز وضع بدن در طی زمان ثابت بود. تغییرات وزن و امتیاز وضع بدن دارای روند هماهنگ بوده و با سایر تحقیقات مشابهت دارد (۷،۳۳).

نتایج حاصل از تعیین معادله رگرسیون نشان داد، به ازای هر کیلوگرم کاهش وزن در محدوده وزنی ۴۹-۳۱ کیلوگرم، تقریباً ۰/۱۳ از امتیاز وضع بدن در گوسفند شال کاسته می‌شود. به عبارت دیگر به ازای هر ۷/۷ کیلوگرم کاهش وزن، یک امتیاز از وضع بدن کم می‌شود. گزارشهای موجود از گوسفندان بدون دنبه اروپایی و استرالیایی نشان می‌دهد، جهت کاهش یک امتیاز از وضع بدن، باید در حدود ۵ تا ۱۲ کیلوگرم از وزن بدن کاسته شود (۷). دامنه بالایی این تغییرات مربوط به گوسفندان سنگین وزن و دامنه پایینی مربوط به گوسفندان سبک وزن است. با توجه به آنکه گوسفند شال جزء نژادهای سنگین وزن ایرانی است، اختلاف مشاهده شده، احتمالاً مربوط به تفاوتهای نژادی از جمله وجود دنبه در گوسفند شال است. R^2 حاصل از تعیین مدل رگرسیون بر روی دو صفت فوق در گوسفندان خارجی بین ۰/۱۶ تا ۰/۸۸ می‌باشد (۷)، لذا R^2 به دست آمده از این آزمایش (R^2=۰/۶۲)، در محدوده سایر گزارشها است.

فراوانی تخمکگذاری دوتایی در گروه تیمار، در زمانهای اول تا سوم با وجود اختلاف معنی دار بین وزن و امتیاز وضع بدن در زمانهای اول با دوم و سوم، تفاوت معنی دار نشان نداد، لذا میزان تخمکگذاری تغییرات معنی دار نداشت. همچنین برغم وجود اختلاف معنی دار بین وزن و امتیاز وضع بدن در گروه شاهد و تیمار، فراوانی تخمکگذاری دو تایی و در نتیجه میزان تخمکگذاری در این دو گروه تفاوت معنی دار نداشت. با کاهش بیشتر وزن (در حدود ۱۲ درصد از وزن اولیه) و نیز امتیاز وضع بدن (تنزل به زیر دو) در زمان چهارم، فراوانی تخمکگذاری دو تایی و در نتیجه میزان تخمکگذاری در گروه تیمار به طور معنی داری کاهش یافت. در زمان پنجم نیز به دلیل کاسته شدن بیشتر از وزن و امتیاز وضع بدن (تنزل به زیر ۱/۵) هیچ‌گونه تخمکگذاری دوتایی مشاهده نشد و حتی در برخی از گوسفندان، تخمکگذاری قطع شد. در زمان ششم با کاهش ۲۲ درصد از وزن اولیه (حدود ۱۰کیلو گرم به‌طور متوسط) و نیز تنزل امتیاز وضع بدن به محدوده یک (بسیار لاغر)، تخمکگذاری در میشها به استثناء یک مورد کاملاً متوقف شد. لازم به ذکر است، در این مرحله امتیاز وضع بدن درکلیه میشهایی که با توقف تخمکگذاری مواجه شده‌اند، در حدود یک تخمین زده شد و فقط در مورد تنها گوسفندی که تخمکگذاری داشت، در حدود ۱/۵ تعیین شده بود.

مطالعات انجام شده بر روی گوسفند مرینوی استرالیایی نشان می دهد. در صورتی‌که امتیاز وضع بدن در محدوده دو تا سه باشد، به ازای هر کیلوگرم تغییر وزن بدن، میزان تخمکگذاری ۲ تا ۴ درصد (۹)، ۲/۵ تا ۳ درصد (۱۰) یا ۲ درصد (۳۲) در جهت یکسان تغییر می یابد. اما در این پژوهش، تغییرات وزن و امتیاز وضع بدن در محدوده امتیاز وضع بدن دو تا سه اثر معنی داری بر میزان تخمکگذاری در میشهای شال نداشت که احتمالاً ناشی از تفاوتهای نژادی بین

جدول ٤- میانگین (± خطای معیار) میزان تخمکگذاری گوسفندان در دو سطح تغذیه ۶۰ درصد و ۱۰۰ درصد انرژی نگهداری.

زمان / گروه	۱	۲	۳	۴	۵	۶
۶۰٪ انرژی نگهداری	۱/۲۹±۰/۱۶	۱/۱۴±۰/۰۲	۱/۳۱±۰/۱۸	۱/۰۰*±۰/۱۶	۰/۶۲**±۰/۱۴	۰/۰۸**±۰/۰۸
۱۰۰٪ انرژی نگهداری	۱/۳۶±۰/۱۳	۱/۲۱±۰/۱۵	۱/۲۹±۰/۱۶	۱/۳۶±۰/۱۳	۱/۴۳±۰/۱۴	۱/۳۶±۰/۱۳

*) تفاوت معنی دار (P <۰/۰۵) در فراوانی تخمکگذاری دو تایی نسبت به کمتر از دو. **) تفاوت بسیار معنی دار (P <۰/۰۱) در فراوانی تخمکگذاری دوتایی نسبت به کمتر از دو.

جدول ۵- میانگین (±خطای معیار) وزن بدن،امتیاز وضع بدن و میزان تخمکگذاری در سه گروه آزمایشی

صفت / گروه	وزن بدن	امتیاز وضع بدن	میزان تخمکگذاری
انرژی نگهداری+لیتین	۴۳/۶۳±۱/۰۳	۲/۹۴±۰/۱۰*	۱/۳۸±۰/۱۸
۱۸۰٪انرژی نگهداری	۴۳/۸۸±۰/۹۹	۲/۸۱±۰/۰۹	۱/۳۸±۰/۱۸
انرژی نگهداری	۴۳/۶۳±۱/۲۸	۲/۹۷±۰/۱۰	۱/۲۵±۰/۲۵

وسفند شال و مرینو است. نتایج حاصل نشان می‌دهد، میزان تخمکگذاری در وسفندان دنبه دار به تغییرات وزن و امتیاز وضع بدن و به عبارتی تغییرات صیت متابولیکی دیرتر پاسخ داده و حیوان در جهت حفظ نقطه تعادل موستازی (Homestasis) و تلئوفورزی (Teleophoresis) خود بسیار کوشا ست. این امر احتمالاً به دلیل وجود ذخایر چربی و در نتیجه انرژی اضافی در نبه و نیز عملکرد خاص این نوع بافت چربی بوده و نشانگر سازگاری وسفندان دنبه دار با شرایط سخت زیست محیطی از جمله محدودیتهای غذایی ست. بنابراین با توجه به یافته‌های این آزمایش به نظر می‌رسد، نگهداری امتیاز ضع بدن میشهای شال در زمان آمیزش در محدوده دو، احتمالاً اثر سویی بر زان تخمکگذاری نخواهد داشت.

در این آزمایش همچنین مشخص شد، فرایند تخمکگذاری تا زمانی که از وزن و امتیاز وضع بدن به مقدار زیادی کاسته نشود، همچنان ادامه دارد. نتایج مشاهده شده در گوسفند شال مشابه با سایر گزارشها بوده (۱،۳۳) و بیانگر ادامه فعالیتهای تولید مثلی حتی در شرایط سخت متابولیکی است.

فلاشینگ بلند مدت یا افزایش سطح تغذیه میشها در طی چند هفته و بعد از قوچ اندازی روشی است که جهت افزایش امتیاز وضع بدن و در پی آن افزایش میزان تخمکگذاری استفاده می‌شود (۱،۹،۱۵،۱۸،۲۳،۲۷،۳۱،۳۲). مطلوبترین امتیاز برای وضع بدن در زمان آمیزش جهت کسب بهترین میزان تخمکگذاری، بسته به نژاد میش بین ۲/۵ تا ۳/۵ ذکر شده است (۱۸). در هر حال فلاشینگ بلند مدت همواره منجر به افزایش درصد بره زایی نمی‌گردد، زیرا گاهی موجب کاهش تعداد اووسیتهای زنده، کاهش کیفیت اووسیتهای آزاد شده، کاهش ماندگاری یا افزایش مرگ و میر جنین و در نهایت کاهش میزان آبستنی می‌شود (۱۸،۲۳) که معمولاً ناشی از کاهش سطح پروژسترون به دلیل افزایش سطح متابولیسم کبدی در سطوح بالای تغذیه می‌باشد (۲۴). حتی در یک گزارش افزایش کوتاه مدت تغذیه (فلاشینگ کوتاه مدت) پیش از زمان جفتگیری با استفاده از دانه لوپین (Lupinus angustifolius) نیز علی‌رغم افزایش میزان تخمکگذاری، موجب افزایش مرگ و میر جنین شده است (۲۶). از اینرو به نظر می رسد، شرایط غذایی مطلوب برای رشد مناسب فولیکولها با جنین متفاوت است (۱۸،۲۳).

جهت جلوگیری از اثرات نامطلوب سطوح بالای تغذیه و نیز به دلیل آنکه اثرات استاتیک و دینامیک تغذیه و وزن بدن در محدوده امتیاز وضع بدن دو تا سه در این آزمایش مشاهده نشد، لذا استفاده از فلاشینگ در گوسفند شال حداقل در این محدوده پیشنهاد نمی‌شود. دلایل ارایه این پیشنهاد با توجه به هزینه تغذیه اضافی و نیز افزایش هزینه نگهداری دام سنگین تر در طی دوره آبستنی (به دلیل افزایش وزن بدن در طی دوره فلاشینگ)، بیش از پیش روشن می‌شود. بدیهی است بهبود وضع تغذیه جهت افزایش وزن و امتیاز وضع بدن در میشهایی که از لحاظ این امتیاز در زیر دو قرار دارند، امری کاملاً ضروری است.

نتایج حاصل از آزمایش دوم نشان داد، افزایش سطح انرژی مصرفی در گوسفندان شال در یک دوره چهار روزه قبل از تخمکگذاری اثر معنی داری بر میزان تخمکگذاری نداشته است. نتایج این آزمایش اولویت صرف انرژی در فرایندهای تولید مثلی (۱،۳۱،۳۴،۳۵) حداقل در میزان تخمکگذاری را تأیید نمی‌کند. با توجه به آنکه تغذیه کوتاه مدت مقادیر متنابهی از انرژی و پروتئین به طور همزمان در گوسفند مرینو منجر به افزایش میزان تخمکگذاری می‌شود (۱۳،۱۸،۱۹،۲۱، ۲۵)، بنابراین به نظر می‌رسد در فلاشینگ کوتاه مدت، تغذیه توأمان انرژی و پروتئین ضروری است. گرچه با توجه به نتایج آزمایش اول، این احتمال نیز وجود دارد که گوسفندان دنبه‌دار به دلیل مقاوت بیشتر به تغییرات غذایی به افزایش کوتاه مدت انرژی دریافتی پاسخ ندهند.

نتایج حاصل از تزریق هورمون لپتین نوترکیب انسانی در میشهای شال، بیانگر آن است که مصرف۱μg /Kg از این هورمون در طی یک دوره چهار روزه قبل از تخمکگذاری، اثر معنی‌داری بر میزان تخمکگذاری ندارد. این تحقیق اولین مطالعه بر روی اثر احتمالی تزریق لپتین بر میزان تخمکگذاری در گوسفند است.

در سالهای اخیر چند مطالعه نشان می‌دهد، یک همبستگی مثبت قوی بین سطح تغذیه، میزان چربی (۵،۶) و نیز امتیاز وضع بدن با سطح لپتین خون در گوسفند وجود دارد (۱۲). از سوی دیگر طی چند دهه گذشته، وجود ارتباط مستقیم میان وزن، میزان چربی و امتیازوضع بدن با میزان تخمکگذاری در گوسفند به خوبی مشخص شده است (۹،۱۴،۱۵،۱۸،۳۲)، به طوری‌که امروزه میزان تخمکگذاری را تحت تأثیر وضعیت متابولیکی بدن می‌دانند (۱۴). با توجه به آنکه هورمون لپتین به عنوان یک سیگنال متابولیکی مثبت برای فرایندهای تولید مثلی مطرح می باشد (۳،۱۱)، لذا فرض برآن بود که تزریق لپتین احتمالاً می‌تواند منجر به افزایش تخمکگذاری در گوسفند شال شود. در هر حال عدم تأثیر تیمار فوق، احتمالاً با در نظر گرفتن نتایج حاصل از آزمایش اول قابل توجیه است. در آزمایش اول مشاهده شد، میزان تخمکگذاری در گوسفند شال به تغییرات امتیاز وضع بدن و به عبارتی میزان چربی و وضعیت متابولیکی بدن دیرتر پاسخ می دهد، بنابراین امکان دارد علت عدم پاسخ به تزریق لپتین در سطح به کار رفته نیز ناشی از همین مقاومت فیزیولوژیکی و در جهت حفظ نقطه تعادل هموستازی - تلئوفورزی بدن باشد. با توجه به شواهد و مدارک موجود، ادامه آزمایشها با سطوح دیگر لپتین و نژادهای مختلف پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مساعدتهای مسئولین محترم دانشگاه تربیت مدرس و موسسه تحقیقات علوم دامی کشور در جهت تأمین هزینه ها و امکانات لازم تشکر و قدردانی می‌شود. ضمناً از زحمات آقایان دکتر خسرو حسینی پژوه، مهندس منوچهر منعم، مهندس امیرحسین احدی که در اجرای این پژوهش ما را یاری نمودند، صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد. از سرکار خانم کریمی به جهت تایپ کامپیوتری مقاله نیز کمال تشکر را دارد.

References

۱. اسپیدی، ا.و. (۱۳۸۰): پیشرفتهای تحقیقاتی در گوسفند و بز، مترجم: دبیری. ن. و سیاری، م. چاپ اول انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز، صفحه: ۷۸-۳۹.

2. Alderman, G. and Cottrill, B.R. (1995): Energy and protein requirements of ruminants. An advisory manual prepared by the AFRC technical committee on responses to nutrients. 2nd edition. CAB International. Wallingford Uk. PP: 91-106.
3. Barash, I.A., Cheung, C.C., Weigle, D.S., Ren, H., kabigting, E.B., kuijper, J.L., Clifton, D.K. and Steiner, R.A. (1996): Leptin is a metabolic signal to the reproductive systsem. Endocrinology. 137: 3144-3147.
4. Barb, C.R., Barrett, J.B., kraeling, R.R. and Rampacak, G.B. (1999): Role of leptin in modulating neuroendocrine function: A metabolic link between the brain-pituitary and adipose tissue. Reprod. Domes. Anim. 34: 111-125.
5. Blache, D., Tellam, R.L., Chagas, L.M., Blackberry, M.A., Vercoe, P.E. and Martin, G.B. (2000): Level of nutrition affects leptin concentrstion in plasma and cerebrospinal fluid in sheep. Journal of Endocrinol. 165:625-637.
6. Bocquier, F., Bonnet, M., Faulconnier, Y., Guerre-millo, P. and Chilliard, Y. (1998): Effects of photoperiod and feeding level on perirenal adipose tissue metabolic activity and leptin synthesis in the ovariectomized ewe. Reprod. Nutr. Dev. 38: 489-498.
7. Corbett, J.L. (1990): Feeding standard for Australian livestock. Ruminants. 1st edition. CISRO Pulication, PP: 1-76.
8. Clarke, I.J. and Henry, B.A. (1999): Leptin and reproduction. Rev. Reprod. 4: 48-55.
9. Coop, I.E. (1966): Effect of flushing on reproductive performance of ewes. J. Agric. Sci. 67: 305-323.
10. Cumming, I.A. (1977): Relationship in the sheep of ovulation rate with liveweight, breed, season and plane of nutrituion. Aust. J. exp. Agric. Anim. Husb. 17: 234-241.
11. Cunningham, M.J., Clifton, D.k. and Steiner, R.A. (1999): Leptin's actions on the reprodutive axis: Perspectives and mechanisms. Boil. Reprod. 60: 216-222.
12. Delavaud, C., Bocquier, f., Chilliard, Y., Keisler, D.h. and Gertler, A. (2000): Plasma leptin determination in ruminants: Effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. J. endocrinol. 165: 519-529.
13. Downing, J.A., Joss, J., Connell,P. and Scaramuzzi, R.J. (1995): Ovulation rate and cocentrations of gonadotrophic and metabolic hormones in ewes fed lupin grain. J. Reprod. Fertil. 103: 137-145.
14. Dunn, T.G. and Moss, G. E. (1992): Effect of nutrient defficiency and excesses on reproductive efficiency livestock. J. Anim. Sci. 70. 1580-1593.
15. Edey, T.N. (1968): Body weight and ovulation rate in sheep. Proc. Aust. Soc. Anim. Prod. 7: 188-191.
16. Finn, P.D., Cunningham, M.J., Pau, K.Y.F., Spies, H.G., Clifton, D.K. and Steiner, R.A. (1998): The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine axis of the monkey. Endocrinology. 139: 4652-4662.
17. Foster, D.L. and Nagatani, S. (1999): Physiological perspectives on leptin as regulator of reproduction: Role in timing puberty. Biol. Reprod. 60:205-215.
18. Gordon, I. (1997): Controlled reproduction in sheep and goat. 1st edition. CAB International, PP: 205-240.
19. Hinch, G.N. and Roelofs, J.H.W. (1986): Lupin feeding and insulin infusion during the late luteal phase can increase ovulation rate in sheep. Proc. Aust. Reprod. Biol. 18: 43-46.
20. Jefferies, B.C. (1961): Body condition score and its use management. Tasm. J. Agric. 32: 19-23.
21. Leury. B.J., Murray, P.J. and Rowe, J.B. (1990): Effect of nutrition on the response in ovulation rate in merino ewes following short-term lupin supplementation and insulin administration. Aust. J. Agric. Res. 41: 751-759.
22. Nagatani, S., Guthikonda, P., Thompson, P., Tsukamura, R.C., Maeda K-I. and Foster, D.L. (1998): Evidence for GnRG regulation by leptin: Leptin administration prevents reduced pulsatile LH secretion during fasting. Neuroendocrinology. 66: 370-376,
23. O'Callaghan, D. and Boland, M.P. (1999): Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. Anim. Sci. 68: 299-314.
24. Parr, R.A., Davis, A.F., Fairclough, R.G. and Miles, M.A. (1987): Overfeeding during early pregnancy reduces peripheral progesterone concentration and pregnancy rate in sheep. J. Reprod. Fertil. 80: 317-320.
25. Pears, B.H.G., McMeniman, N.P. and Gardner, I.A. (1994): Influence of body condition on ovulatory response to lupin (Lupinus angustifolius) supplemaantation of sheep. Small. Rum. Res. 13: 27-32.
26. Robertson, J.A. and Hinch, G.N. (1994): The effect of lupin feeding on emberyo mortality. Proc. Aust. Soc. Anim. Prod. 18: 544.
27. Robinson, J.J. (1990): Nutrition in the reproduction of farm animal Nutr. Res. Rev. 3: 253-276.
28. Russel, A.J.F., Doney, J.M. and Gunn, R.G. Sunn, R.G. (1969): Subjective assessment of body fat in live sheep. J. Agric. Sci. 72: 451-459.
29. Ryszard, B., Urszula, K.K. and Franco, M. (2001): Plasma leptin in sheep with single and doublle ovulation. Available on the WWW. Medwet.
30. Schillo, K. (1992): Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. J. Anim. Sci. 70:1271-1282.

31. Smith, J.F. (1985): Protein, energy and ovulation rate. In: Genetics of reproduction in sheep. PP. 349-359, R.B. Land and D.W. Robinson. (eds). Burrerworth. England.
32. Smith, J.F. (1988): Nutrition and ovulation rate in the ewe. Aust J. Biol. Sci. 41: 27-36.
33. Tatman, W.R., Judkins, M.B., Dunn, T.G. and Moss, G.E. (1990): Luteinizing hormone in nutrient-restricted ovariectomized ewes. J. Anim. Sci. 68: 1097-1102.
34. Teleni, E., King, W.R., Rowe, J.B. and McDowell, G.H. (1989): Lupins and energy-yielding nutreint in ewes. I. Glucose and acetate biokinetics and metabollic hormones in sheep fed a supplement of lupin grain. Aust. J. Agric. Sci. 40: 913-924.
35. Teleni, E., Rjowe, J.W., Croker, K.P., Murray, P.J. and King, W.R. (1989): Lupins and energy-yielding nutrients in ewes. II. Responses in ovulation rate in ewes to increased availability of glucose, acetate and amino acid. Reprod. Fertil. Dev. 1: 117-125.

Effect of energy intake level, body condition score and leptin administration on ovulation rate in ewe.

Tohidi, A.[1], Khazali, H.[1], Nik-khah, A.[2], Niasari Naslaji, A.[3], Mirhadi, S.A.[4]

[1]*Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran – Iran.* [2]*Deptartment of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj - Iran.* [3]*Deptartment of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary, Medicine, University of Tehran, Tehran – Iran.* [4] *Iran Animal Science Research Institute, Karaj - Iran.* ***J. Fac. Vet. Med. Tehran . Univ. 56, 4: 119-124, 2001.***

The effect of energy intake level (EIL) and body condition score (BCS) on ovulation rate (OR) in Iranian fat-tailed ewes, and role of leptin in this phenomenon has not been cleared. Therefore, two experiments carried out in fat-tailed Shal ewes. 1st experiment was conducted to study the effect of EIL on body weight (BW), BCS, OR and their relationships in a long period. 2nd experiment designed to study the effect of EIL and leptin administration on OR in a short period. In the 1st experiment, synchronized ewes were fed a ration which provided 60% (0.6M; n=14) or 100% (M; n=14) maintenance energy requirements for 5 oestrous cycles. In the 2nd experiment, 24 synchronized ewes were assigned randomly in to three groups and received the following treatments for 4 days. Group I (n=8) were fed a ration which provided 100% maintenance energy requirements and infused with 1μg/kg recombinant human leptin. Group II (n=8) and III (n=8) were fed a ration which provided 180% and 100% maintenance energy requirements respectively, and infused with 1ml normalsaline saline. BW, BCS and OR were determined in each oestrous cycle. In the 1st experiment, BW and BCS significantly (P<0.01) decreascd in 0.6M group and indicated a positive correlation (R^2 = 0.62). OR in 0.6M group, significantly (P<0.01) decreased when BCS<2. Ovulation was stopped when BCS=1. In the 2nd experiment, there were not any significant differences in BW, BSC and OR between experimental groups. Results suggest that OR in fat-tailed ewes responded to changes of EIL, BW and BCS later than thin-tailed ewes.

Key words: Energy, Body condition score, Leptin, Ovulation rate, Ewe.