

تأثیر افزایش انرژی جیره با استفاده از منابع کربوهیدرات یا چربی بر روی فعالیت تخمدانی و برخی فراسنجه‌های خونی در میش‌های قزل

فاطمه آذری^۱، فرهاد فرخی اردبیلی^{۲*}، حامد خلیل‌وندی بهروزیار^۲ و محسن اسلامی^۳

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۲۲

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

^۲ به‌ترتیب دانشیار و استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

^۳ استادیار گروه مامایی و بیماری‌های طیور دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

* مسئول مکاتبه: f.farrokhi@urmia.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: انرژی جیره غذایی در دوره پیش از آبستنی عاملی تأثیرگذار بر فعالیت‌های تولیدمثلی است. هدف: بررسی اثر افزایش سطح انرژی جیره با استفاده از منابع کربوهیدراتی یا مکمل چربی بر فعالیت‌های تخمدانی و برخی فراسنجه‌های خونی میش‌های قزل. روش کار: این آزمایش با استفاده از ۱۲ رأس میش بالغ قزل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ گروه ۳ راسی انجام شد. جیره‌ی غذایی گروه شاهد مطابق با احتیاجات انرژی نگهداری و جیره‌ی غذایی سایر گروه‌های باهدف تأمین ۲۰ درصد انرژی بیشتر نسبت به نیاز نگهداری تنظیم شد. در گروه دوم، دانه‌ی جو به‌عنوان منبع انرژی و در تیمارهای سوم و چهارم بخشی از دانه‌ی جو به ترتیب با نمک‌های کلسیمی غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-۶ جایگزین شدند. همزمان‌سازی چرخه استروس میش‌ها با دو تزریق متوالی پروستاگلاندین انجام و معاینه سونوگرافی تخمدان‌ها از روز تزریق دوم پروستاگلاندین شروع و به مدت سه چرخه کامل ادامه یافت. تغذیه گروه‌های آزمایشی با جیره‌های اختصاصی از ابتدای چرخه دوم آغاز و تا انتهای چرخه سوم ادامه یافت. خونگیری در روز ۱۲ فاز لوتئال در هر سیکل، حدود ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی صبح انجام شد. نتایج: شاخصه‌های مختلف چرخه استروس میش‌ها شامل تعداد موج‌های فولیکولی، طول چرخه استروس، قطر فولیکول تخمک‌گذاری کننده و تعداد تخمک‌گذاری در گروه‌های آزمایشی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطح انرژی جیره و منبع آن قرار نگرفت ($P > 0.05$). با این‌حال، تغییر در سطح انرژی جیره و منبع تأمین آن تأثیر معنی‌داری بر الگوی اسیدهای چرب و غلظت برخی فراسنجه‌های پلاسما داشت ($P < 0.05$). نتیجه‌گیری نهایی: به‌طور کلی براساس نتایج تحقیق حاضر تغذیه طولانی مدت میش‌ها با جیره حاوی انرژی بالا و با منبع مختلف هرچند بر روی فراسنجه‌های مختلف خون تأثیر معنی‌داری داشت ولی دینامیسم فولیکولی آنها را بطور قابل توجهی تحت تأثیر قرار نداد.

واژگان کلیدی: اسیدهای چرب امگا-۳، اسیدهای چرب امگا-۶، فعالیت تخمدانی، سونوگرافی

مقدمه

براساس آخرین اطلاعات منتشر شده در آمارنامه محصولات کشاورزی، جمعیت گوسفند کشور بیش از ۵۰ میلیون رأس برآورد شده و محصولات مختلف حاصل از آن نقش مهمی در تضمین امنیت غذایی و معیشت بسیاری از مردم دارند (آمارنامه محصولات کشاورزی ۲۰۱۴). علاوه بر اهمیت پرورش گوسفند در اغلب نقاط کشور در امرار معاش جمعیت روستایی و عشایری، پرورش صنعتی آن نیز در سال‌های اخیر در حال گسترش است. با وجود اهمیت بسیار زیاد کارایی تولیدمثلی و درصد بره‌زایی در سودآوری تولید در سیستم‌های پرورش شبانی روستایی و علی‌الخصوص صنعتی، عوامل مختلفی از جمله عوامل ژنتیکی و وضعیت نامناسب تغذیه‌ای از مهمترین دلایل نامناسب بودن کارایی تولیدمثلی و کاهش سودآوری پرورش گوسفند در کشور است. گزارش‌های تحقیقاتی متعددی در ارتباط با تأثیر تغذیه بر جمعیت فولیکولی، فولیکولوژنز و نرخ تخمک‌گذاری در گوسفند وجود دارد. تغذیه یک سیستم کم هزینه به‌منظور مدیریت تولید مثل و نرخ تخمک‌گذاری در مناطق خشک و نیمه خشک است (مارتین و همکاران ۲۰۰۴). تعادل انرژی دام و اثر ثانویه آن بر متابولیسم از طریق تأثیر بر غلظت مواد مغذی، هورمون‌ها و عوامل رشد مختلف از جمله سطح کلسیم، انسولین، هورمون رشد و عامل رشد شبه انسولینی را می‌توان مهمترین مکانیسم در ارتباط با توجیه اثر انرژی بر فرایندهای تولیدمثلی با تحت تأثیر قراردادن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تخمدان دانست (هاگوبیان و همکاران ۲۰۰۹). مهار ترشح ضربانی هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH)، عدم تخمک‌گذاری و آنستروس از مهمترین نتایج تعادل منفی انرژی گزارش شده است (کیما و همکاران ۲۰۰۴). افزایش غلظت اسیدهای چرب غیراستریفه و کتون‌بادی‌ها در اثر افزایش اتکا به ذخایر بدنی در تأمین انرژی از دیگر عوامل مهم در کاهش بازده تولیدمثلی در نشخوارکنندگان پرتولید عنوان شده است. با این حال بهبود توازن انرژی با افزایش غلظت

گلوکز، لپتین و انسولین خون و تأثیر مستقیم بر تخمدان باعث افزایش فولیکولوژنز و نرخ تخمک‌گذاری در گوسفند میشود (پار و همکاران ۱۹۹۳). تغییر متابولیسم کبدی استروئیدها و در نهایت اختلال در فیدبک منفی بین تخمدان و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز از مهمترین مکانیسم‌های بهبود نرخ تخمک‌گذاری در حیوانات دارای تعادل مثبت انرژی بدون تأثیر افزایشی بر وزن بدن و حجم ذخایر انرژی بدن است (هاگوبیان و همکاران ۲۰۰۹).

اثر نوع منبع انرژی بر فعالیت‌های تولیدمثلی در تحقیقات مختلفی با استفاده از گاوهای شیری مورد ارزیابی قرار گرفته است. در این میان نتایج برخی از تحقیقات نمایانگر بهبود عملکرد تولیدمثلی در حیوانات مصرف کننده چربی در مقایسه با منابع کربوهیدراتی است. با وجود اینکه، افزایش سطح انرژی جیره و متعاقباً افزایش میزان انرژی دریافتی دام هدف اولیه در استفاده از مکمل‌های چربی است، بخشی از اثرات منابع چربی بر عملکرد تخمدان، رحم و نرخ آبستنی را می‌توان به افزایش فراهمی اسیدهای چرب ضروری به‌منظور سنتز کلاسترول و پروستاگلاندین‌ها و بهبود وضعیت ایمنی نسبت داد (کلدر و همکاران ۲۰۰۲).

اطلاعات کمی در خصوص اثر سطح و منبع انرژی جیره بر فعالیت‌های تولیدمثلی در میش‌های دنبه دار ایرانی وجود دارد. دقیق کیا و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه‌ای بر روی گوسفندهای مغانی گزارش کردند که در طی ایجاد استروس خارج از فصل استفاده از دانه‌های روغنی منجر به بهبود درصد باروری و بره‌زایی شد. با توجه به نوع سیستم پرورشی و وضعیت مراتع در اغلب مناطق کشور، می‌توان تصور نمود که در صورت عدم استفاده از سیستم‌های تغذیه حمایتی در فصل تولیدمثلی (اواخر تابستان اوایل پاییز)، وضعیت مناسبی از نظر توازن انرژی در میش‌های ایرانی وجود نداشته باشد. با توجه به موارد فوق‌الذکر این مطالعه به‌منظور بررسی اثر فراهمی انرژی به میزان بالاتر از نیاز نگهداری با استفاده از یک منبع کربوهیدراتی و منابع چربی محافظت شده در شکمبه

چهارم، صرف نظر از منبع تأمین انرژی، دارای مقادیر انرژی و پروتئین یکسانی بودند (جدول ۱).

روش انجام آزمایش

این آزمایش به مدت سه چرخه کامل استروس به طول انجامید. با توجه به عدم امکان استفاده از تعداد دام بیشتر به دلیل گستردگی ثبت داده های سونوگرافی، باهدف تعیین مقادیر پایه ی فراسنجه های مختلف عملکرد تخمدانی و پلازما، در چرخه اول استروس، جیره غذایی میش های هر چهار گروه یکسان و به منظور تأمین نیاز نگهداری در اختیار آن ها قرار گرفت. تغییر جیره های غذایی بر اساس تیمار آزمایشی از ابتدای چرخه دوم آغاز شد. ثبت داده ها در چرخه اول به منظور ثبت مقادیر پایه، در چرخه دوم بعنوان دوره عادت دهی و در چرخه سوم به منظور ارزیابی اثرات بلندمدت انجام شد. در طی انجام تحقیق برای سونوگرافی میش های مورد مطالعه از رهیافت ترنس واژینال با فرکانس ۹ مگاهرتز، استفاده شد. این رهیافت با پروب میکروکانوکس و در وضعیت ایستاده انجام گرفت. در هر سونوگرافی داده های مربوط به تعداد و ابعاد فولیکول های بزرگتر از ۲ میلی متر و اجسام زرد ثبت شده و براساس آنها زمان شروع و طول هر موج، تعداد امواج فولیکولی، زمان و تعداد تخمک گذاری و طول سیکل استروس (فاصله بین دو تخمک گذاری) محاسبه گردید. ۴ ساعت پس از خوراک دهی صبح در روز ۱۲ فاز لوتئال هر سیکل، نمونه خون از طریق ورید و داج و با استفاده از لوله های خلأ دار حاوی ماده ضد انعقاد، پتاسیم اگزالات و سدیم فلوراید به منظور جداسازی پلازما و بدون ماده ضد انعقاد به منظور جمع آوری سرم، تهیه شد. نمونه های خون بلافاصله پس از انتقال به آزمایشگاه برای جداسازی پلازما و سرم سانتریفیوژ شده و سرم و پلازما تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. به منظور اندازه گیری فراسنجه های مختلف خونی از نمونه پلازما و به منظور تعیین غلظت استروژن و پروژسترون از نمونه سرم استفاده شد. به منظور اندازه گیری فراسنجه های خونی از کیت های

با الگوی متفاوت اسیدهای چرب بر دینامیسم فولیکولی، غلظت استروژن و پروژسترون و سطوح پلاسمایی متاولیت های مرتبط با متابولیسم انرژی با استفاده از میش های بالغ نژاد قزل انجام شد.

مواد و روش ها

محل انجام آزمایش، حیوانات مورد استفاده و تیمارهای آزمایشی

این پژوهش در واحد گوسفندداری و آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه ارومیه با استفاده از ۱۲ راس میش بالغ قزل (وزن 63 ± 3 ؛ با میانگین سنی ۳ سال و چند بار زایش کرده) و بدون حضور قوچ در گله، در طی فصل تولیدمثلی (مهر تا آذر ۱۳۹۴) انجام گرفت. چرخه استروس میش ها پس از انتخاب و عادت پذیری به جایگاه، با استفاده از دو تزریق متوالی پروستاگلاندین به فاصله ۹ روز از هم، همزمان گردید. کلیه حیوانات مورد استفاده در این آزمایش بر اساس راهنمای نگهداری و استفاده از حیوانات مزرعه ای در تحقیقات علوم دامی (FASS, 2010) و در جایگاه تمیز و بهداشتی، با دسترسی دایمی به مکمل مواد معدنی و ویتامینی و آب نگهداری شدند. جیره های آزمایشی بر اساس احتیاجات مواد مغذی گوسفند برگرفته از نشریه احتیاجات مواد مغذی نشخوارکنندگان کوچک (NRC, 2007) و با استفاده از نرم افزار جیره نویسی SRNS تنظیم شد. حیوانات گروه شاهد جیره ی غذایی مطابق با احتیاجات انرژی نگهداری دریافت نمودند. جیره ی غذایی در تیمارهای آزمایشی دو، سه و چهار به منظور تأمین انرژی به میزان ۲۰ درصد انرژی بالاتر از نیاز نگهداری و به ترتیب با استفاده از دانه ی جو، مکمل چربی محافظت شده پرشیافت امگا-۳، غنی از اسیدهای چرب بلندزنجیر ماهی (ایکوزاپنتانوئیک اسید و دکوزاهگزانوئیک اسید) و مکمل چربی محافظت شده پرشیافت امگا-۶، غنی از لینولئیک اسید، تنظیم شدند. منابع مکمل چربی توسط شرکت دانش بنیان کیمیا دانش لوند تأمین شدند. جیره های غذایی تیمارهای دوم، سوم و

استروژن و پروژسترون به ترتیب از کیت MediTec و DiaPlus و دستگاه الیزا ریدر (گارنی ریزپرداز، ایران) استفاده شد.

تجاری پارس آزمون (پارس آزمون، تهران، ایران) و دستگاه اتوآنالایزر (BT-3000 Auto analyzer; Biotechnica, Rome, Italy) و به منظور تعیین میزان

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیب مواد مغذی جیره های آزمایشی بر اساس ماده خشک

Table1- Dietary ingredients and chemical composition of experimental diets (DM %)

Feed Ingredient (DM%)	Treatments			
	Control	Barley Based Diet	Omega-3 Diet	Omega-6 Diet
Alfalfa hay	35.00	29.00	30.00	30.00
Corn silage	17.50	14.00	14.50	14.50
Barley straw	46.00	38.00	40.00	40.00
Barley grain		14.50	5.00	5.00
Canola meal		3.00	4.50	4.50
Min-Vit Mix*	1.50	1.50	1.50	1.50
Fish oil Ca-salts (PersiaFat® Omega3)			4.50	
Soybean oil Ca-salts (PersiaFat® Omega6)				4.50
Metabolisable energy (Mcal/kg)	1.84	2.1	2.1	2.1
Crude protein	10.70	11.80	12.20	12.20
Crude fat	2.2	2.2	5.8	5.8

قبل از استخراج چربی به منظور تعیین الگوی اسیدهای چرب، ۱۰ میلی‌گرم نونادکانوئیک اسید (*Sigma-Aldrich, Germany*) به عنوان استاندارد داخلی به نمونه پلاسما افزوده شد. به منظور استخراج چربی پلاسما و از روش فولچ و حلال متانول-کلروفرم با نسبت ۲:۱ استفاده شد (فولچ و همکاران ۱۹۵۷). تهیه متیل استر اسیدهای چرب بر اساس روش ایکیهارا و همکاران (۲۰۱۰) و با استفاده از اسیدکلریدر یک متانولی (*HCl/MeOH*) صورت گرفت. فاز هگزان پس از جداسازی برای آنالیز با دستگاه کروماتوگرافی گازی (*Varian CP-3800*) مجهز به شناساگر *FID* و ستون کاپیلاری ویژه آنالیز متیل استر اسیدهای چرب (*CP-Sil88*) با مشخصات، $100\text{ m} \times 250\mu\text{m} \times 0.2\mu\text{m}$ ، (*Chrompack, Middelburg, The Netherlands*) با استفاده از نیتروژن به عنوان گاز حامل انجام و پیک‌های مربوط به هر اسید چرب با توجه به پیک اسید چرب متناظر در مخلوط استاندارد اسیدهای چرب (*GLC 463 reference mixture, http://www.nu-*

chekprep.com/10_11_catalog.pdf) شناسایی و مقادیر هر اسیدچرب با مقایسه سطح زیر منحنی متیل استر اسیدهای چرب با سطح زیر منحنی استاندارد داخلی و غلظت اسیدهای چرب در مخلوط استاندارد تعیین شد. آنالیز آماری داده‌ها به منظور ارزیابی اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های مورد ارزیابی، با استفاده از رویه *Mixed* نرم افزار آماری *SAS* (۹،۴) انجام گرفت. معادله مدل شامل اثر تصادفی دام، اثر ثابت تیمار و دوره و اثر متقابل تیمار و دوره بود. مقایسه جفتی میانگین‌های حداقل مربعات با استفاده از گزینه *PDIFF* و آزمون توکی انجام و در ارتباط با برخی فراسنجه‌ها از مقایسه اورتوگونال به منظور تعیین اثر اعمال تیمار استفاده شد.

نتایج و بحث

دینامیسم فولیکولی: نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر مشخصات چرخه استروس میش‌ها از لحاظ

شواهدی مبنی بر نقش کلیدی تغذیه در تنظیم فعالیت های تولیدمثلی حیوانات مزرعه ای وجود دارد. سطوح پایین تغذیه مادری باعث کاهش نرخ تخمک گذاری و چندقلوزایی نتاج می شود (ایونس و همکاران ۲۰۱۱). تغذیه ی مناسب باعث افزایش فولیکول های بزرگ و افزایش تعداد سلول های گرانولوزای فولیکول می شود (وینولس و همکاران ۲۰۱۴).

گزارشی مبنی بر نقش مثبت افزایش غلظت گلوکز، انسولین و لپتین پلازما در افزایش طول عمر آخرین فولیکول غیر تخمک گذاری، تاخیر در آترزی و کاهش میزان جایگزینی فولیکولی (با فولیکول های جدید) و در نهایت کاهش تعداد امواج فولیکولی وجود دارد (وینولس و همکاران ۲۰۰۴). در تحقیق حاضر افزایش سطح انرژی جیره غذایی، صرف نظر از منبع انرژی تاثیر قابل توجهی بر تعداد امواج فولیکولی، طول چرخه استروس و اندازه فولیکول تخمک گذاری کننده نداشت. یکی از دلایل عدم مشاهده تغییرات قابل توجه در دینامسم فولیکولی را می توان ناشی از این دانست که تحقیق حاضر بر روی میش های با وضعیت بدنی ضعیف انجام نگرفته است. همچنین در تحقیق حاضر تغذیه با جیره غذایی با سطح انرژی بالا در طولانی مدت انجام گرفت که می تواند باعث تغییر در پاسخ مشاهده شده در تخمدان ها گردد. افزایش تعداد تخمک گذاری یکی از اثرات تغذیه بلندمدت میش ها با جیره غذایی حاوی انرژی بالا است (وینولس و همکاران ۲۰۰۴). هر چند در تحقیق حاضر اختلاف معنی داری بین گروه های مختلف از لحاظ تعداد تخمک گذاری مشاهده نشد ولی تعداد تخمک گذاری در میش های تغذیه شده با جیره حاوی اسید چرب امگا ۳ و ۶ (گروه های سوم و چهارم) از لحاظ عددی در طی سیکل استروس سوم بیشتر از گروه شاهد و گروه مصرف کننده جیره حاوی دانه جو بود. وضعیت بدنی میش ها و کم بودن تعداد دام را می توان یکی از مهمترین دلایل عدم معنی داری اختلافات دانست.

تعداد امواج فولیکولی، طول چرخه استروس (فاصله بین دو تخمک گذاری)، قطر فولیکول تخمک گذاری کننده و تعداد تخمک گذاری در جداول ۲ و ۳ نشان داده شده است. باوجود تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) در میانگین قطر فولیکول تخمک گذاری کننده چرخه اول (به عنوان چرخه کنترل)، اختلاف معنی داری در سایر فراسنجه ها وجود نداشت. در این چرخه قطر فولیکول تخمک گذاری کننده در میش های گروه سوم بیشتر از گروه چهارم بود (به ترتیب ۸/۵۳ و ۶/۸۶ میلی متر). در چرخه سوم همانند چرخه اول، بین گروه های مختلف اختلاف معنی داری در فراسنجه ها وجود نداشت. علی رغم عدم معنی داری، تعداد امواج فولیکولی در میش های مصرف کننده مکمل محافظت شده اسیدلینولئیک (اسیدچرب امگا ۶) در چرخه سوم بیشتر از گروه مصرف کننده مکمل روغن ماهی (حاوی اسیدهای چرب امگا ۳) و به ترتیب برابر با ۴/۶۶ و ۳/۶۶ موج بود. همانطوریکه در جدول ۳ گزارش شده است، درصد تخمک گذاری دوتایی در میش های مصرف کننده منابع چربی بیش از گروه کنترل و گروه مصرف کننده دانه جو بود. با این حال در چرخه سوم، میزان تخمک گذاری دوتایی در میش های دریافت کننده منبع چربی (گروه های ۳ و ۴) حدود ۳۳ درصد بود. در حالیکه در سایر گروه های آزمایشی تخمک گذاری دوتایی ثبت نشد (جدول ۳).

رشد فولیکول های آنترال در نشخوارکنندگان به صورت گروهی و موجی اتفاق می افتد. با این حال در گونه ها و نژادهای مختلف تعداد متفاوتی از امواج فولیکولی گزارش شده است. تعداد امواج فولیکولی در گاو غالباً ۲ تا ۳ (جینترو همکاران ۱۹۸۹) و در میش ۲ تا ۵ موج (زیبا و همکاران ۲۰۰۲) گزارش شده است. براساس نتایج تحقیق حاضر، رشد فولیکول های آنترال در طی فصل تولیدمثل در میش های قزل به صورت موجی می باشد. از ۲۴ سیکل مورد مطالعه در ۱۲ راس میش قزل، ۳۳/۳ درصد سیکل ها سه موجی، ۴۹/۹ درصد سیکل ها چهار موجی و ۱۶/۷ درصد موج ها نیز پنج موجی بودند.

انرژی نیز قرار گرفت ($P < 0.01$) ولی تفاوت معنی داری بین منابع مختلف چربی مشاهده نشد ($P > 0.05$) (جدول ۴). گزارش‌ها در خصوص مقایسه اثر منابع مختلف چربی بر رشد فولیکول‌ها حاکی از تحریک رشد فولیکول‌های غالب در اثر مصرف جیره‌های غنی از اسید لینولئیک (امگا ۶) و یا اسید لینولنیک (اسیدهای چرب امگا ۳) در مقایسه با منابع چربی غنی از اسید اولئیک است (تانگاول و همکاران ۲۰۰۷). اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه تاثیر بیشتری در افزایش اندازه فولیکول‌ها دارند (بیلی و همکاران ۲۰۰۶). در تحقیق حاضر غلظت استروژن با افزایش سطح انرژی در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. با این حال، اثر منبع تأمین انرژی در این ارتباط معنی‌دار بوده و میش‌های مصرف‌کننده مکمل چربی افزایش غلظت بیشتری را تجربه نمودند. این افزایش در غلظت استروژن در نتیجه استفاده از منابع چربی با نتایج زاگوت و همکاران (۲۰۰۸) و دقیق‌کیا و همکاران (۱۳۹۱) مطابقت دارد. استرادیول اثر تحریکی بر ترشح رحمی $PGF_{2\alpha}$ داشته (هووارد و همکاران ۱۹۹۰) و می‌تواند سبب تحلیل جسم زرد بلافاصله پس از زایمان و حفظ سلامت رحم گردد (کادیوس و همکاران ۱۹۸۲).

گلوکز یک منبع مهم انرژی برای تخمدان‌ها بوده و به عنوان سوخت متابولیکی اولیه مورد استفاده سیستم عصبی مرکزی مطرح می‌باشد. در صورت ناکافی بودن دسترسی به گلوکز قابل استفاده، آزادسازی GnRH از هیپوتالاموس کاهش می‌یابد (رابئی و لین ۲۰۰۰).

استفاده از مکمل چربی باعث افزایش غلظت کلسترول در مایع فولیکولی می‌شود (ماتوس و همکاران ۲۰۰۴). محققین علاوه بر نقش کلسترول به عنوان پیش‌ساز هورمون‌های استروئیدی، از آن به عنوان منبع انرژی تخمدان‌ها نیز اشاره کرده اند (بائو و همکاران ۱۹۹۵).

کلسترول پیش ساز سنتز پروژسترون به وسیله سلول‌های تخمدانی بوده و توسط LDL و HDL به منظور استروئیدوژنز به تخمدان انتقال داده می‌شود (گرومر و همکاران ۱۹۹۱).

جدول ۲- اثر جیره‌های آزمایشی بر میانگین طول چرخه، تعداد موج، تعداد فولیکول تخم‌گذاری و قطر فولیکول تخم‌گذاری

Table 2- Effects of experimental diets on estrous cycle length, follicular waves, and ovarian follicle counts and diameter

Treatments	Estrous cycle length (day)		Follicular waves ,Count		Ovarian Follicles Counts		Ovarian Follicle Diameter (mm)	
	1	3	1	3	1	3	1	3
Cycle No.	1	3	1	3	1	3	1	3
Control	17.6	18.6	4.0	4.0	1.3	1.0	7.3	6.2
	6	6	0	0	3	0	3 ^{ab}	0
Barley based diet	18.3	17.3	3.3	4.0	1.6	1.0	7.7	7.2
	3	3	3	0	6	0	0 ^{ab}	0
Omega-3 diet	18.0	17.6	3.0	3.6	1.6	1.3	8.5	7.7
	0	6	0	6	6	3	3 ^a	6
Omega-6 diet	19.0	18.3	4.0	4.3	1.6	1.3	6.6	7.5
	0	3	0	3	6	3	8 ^b	6
SEM	0.923		0.384		0.284		0.532	

Means with different (P<0.05) superscript in each column are significantly different

فراسنجه‌های خونی

غلظت گلوکز، تری آسید گلیسرول، HDL، پروتئین تام، آلبومین، اوره در سطح ($P < 0.05$) و VLDL، استروژن و پروژسترون در سطح ($P < 0.01$) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفته و با افزایش سطح انرژی افزایش معنی‌داری داشت. نوع منبع انرژی (کربوهیدرات در مقایسه با چربی) تفاوت معنی‌داری در غلظت گلوکز، کلسترول، VLDL، گلوبولین، استروژن و پروژسترون ایجاد نمود ($P < 0.05$). بیشترین غلظت گلوکز پلاسما مربوط به گروه دریافت‌کننده منبع جو بود. افزایش سطح انرژی جیره سبب بهبود شاخصه‌های مختلف انرژی دام از قبیل غلظت اسیدهای چرب غیراستریفه و بتاهیدروکسی بوتیرات شد ($P < 0.05$). غلظت تری‌آسید گلیسرول و HDL اختلاف معنی‌داری بین میش‌های مصرف‌کننده منابع مختلف انرژی نداشت ولی با افزایش سطح انرژی جیره افزایش یافت ($P < 0.05$). بیشترین غلظت پلاسمایی کلسترول و لیپوپروتئین‌ها در گروه دریافت‌کننده مکمل چربی غنی از امگا ۳ بود. غلظت استروژن و پروژسترون علاوه بر افزایش سطح انرژی جیره، تحت تأثیر منبع

جدول ۳- تأثیر جیره های غذایی بر روی درصد تخمک گذاری دوتایی و تعداد موج های فولیکولی

Table3- Effects of experimental diets on twin ovulation and the number of follicular waves in the ewes

Treatments	Number of Follicular Waves						Percent of Twin Ovulations	
	Two Waves		Three Waves		Four Waves		1	3
Cycle No.	1	3	1	3	1	3	1	3
Control	0	0	100	100	0	0	33.3	0
Barley based diet	0	33.3	100	66.6	0	0	66.6	0
Omega-3 diet	66.6	100	0	0	33.3	0	66.6	33.3
Omega-6 diet	33.3	33.3	0	33.3	66.6	33.3	66.6	33.3

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت فراسنجه های خونی

Table4- Effects of dietary treatments on blood parameters concentration

	Treatments					Contrast, P values		
	1	2	3	4	SEM	Energy Level	Energy Source	Lipid Supplement type
Glucose (mg/dl)	54.52 ^c	59.09 ^a	57.34 ^b	56.54 ^b	1.066	0.002	0.036	0.480
Insulin (μIu/ml)	11.68	12.24	12.05	11.93	0.212	0.052	0.230	0.621
Triglycerides	23.43 ^b	24.25 ^b	25.12 ^a	24.10 ^b	0.304	0.09	0.379	0.035
Cholesterol (mg/dl)	56.42 ^b	56.19 ^b	58.90 ^a	58.45 ^a	0.686	0.052	0.03	0.606
HDL(mg/dl)	36.16 ^b	37.12 ^a	38.08 ^a	37.38 ^a	0.607	0.025	0.327	0.323
LDL(mg/dl)	20.87	21.70	21.79	20.93	0.355	0.077	0.341	0.052
VLDL(mg/dl)	5.05 ^b	5.22 ^b	5.95 ^a	5.72 ^a	0.093	0.0001	0.0001	0.055
Total protein (g/dl)	7.09 ^b	7.56 ^a	7.49 ^a	7.26 ^b	0.131	0.006	0.135	0.111
Albumin (g/dl)	3.73 ^b	3.97 ^a	3.94 ^a	3.81 ^b	0.068	0.008	0.145	0.107
Globulin (g/l)	46.69	44.72	47.65	45.91	0.858	0.433	0.055	0.069
Urea (mg/dl)	11.08	11.48	11.64	11.62	0.201	0.235	0.435	0.947
NEFA (mM/l)	0.59 ^a	0.50 ^b	0.48 ^b	0.50 ^b	0.018	0.0001	0.585	0.300
BHBA (mM/l)	0.53 ^a	0.49 ^b	0.43 ^c	0.45 ^c	0.018	0.001	0.020	0.187
Estrogen (μg/ml)	14.08 ^c	15.69 ^b	18.69 ^a	18.30 ^a	0.313	0.0001	0.0001	0.257
Progesterone	2.75 ^c	3.10 ^b	3.87 ^a	3.81 ^a	0.099	0.0001	0.0001	0.520

Treatments: 1- Control, 2- Barley based diet, 3-Omega-3 diet, 4- Omega-6 diet

Means with different superscript in each row differ significantly (P < .0.05).

الگوی اسیدهای چرب پلاسما (P < .0/01). با این حال، غلظت پلاسمایی اسیدهای چرب

ترانس به عنوان اسیدهای چرب واسط بیوهیدروژناسیون، و اسیدهای چرب غیراشباع زنجیر بلند (بیش از ۲۰ کربن) در اثر استفاده از مکمل محافظت شده روغن ماهی، افزایش یافت (P < .0/01).

در حیوانات غیرنشخوارکننده ای همانند موش آزمایشگاهی (هولمن و همکاران ۱۹۶۰) و خوک (سول و همکاران ۱۹۶۶) افزایش نسبت اسیدهای چرب ۲۰ کربن

الگوی اسیدهای چرب پلاسما

اثر تیمارهای آزمایشی بر الگوی اسیدهای چرب پلاسما در جدول ۵ گزارش شده است. غلظت اسیدهای چرب اشباع متوسط زنجیر (۱۲ تا ۱۶ کربن) پلاسما در گروه- های آزمایشی دریافت کننده مکمل چربی کاهش معنی- داری نسبت به شاهد و گروه مصرف کننده دانه جو داشت (P < .0/05). مصرف مکمل چربی پرشیافت امگا-۶، سبب افزایش معنی دار غلظت اسیدلینولئیک پلاسما شد

غلظت پروستاگلاندین‌های سری ۲ و در نهایت حفظ سلامت رحمی در دوره بعد از زایش گردد (کادیوس و همکاران ۱۹۸۲). استفاده از مکمل اسیدلینولئیک در این تحقیق سبب افزایش غلظت اسید آراشیدونیک شد ($P < 0.05$). اسیدهای چرب غیراشباع ۲۰ کربنه پیش-ساز مستقیم گروه بزرگی از ترکیبات فعال به نام ایکوزانوئیدها هستند که شامل پروستاگلاندین‌ها، ترومباکسان‌ها، لوکوتراین‌ها و لیپوکسان‌ها می‌باشند (نیدلمن و همکاران ۱۹۸۶).

C20:3 به C20:4 در بافت یا سرم به بیش از ۰/۴، نشان دهنده کمبود لینولئیک اسید است (چیلیارد و همکاران ۲۰۰۰). فراهمی سوپسترا (اسید آراشیدونیک) بخش عمده‌ای از تنظیم تولید رحمی $PGF_{2\alpha}$ است، به طوری که افزایش محتوای اسید آراشیدونیک بافت رحم، ترشح $PGF_{2\alpha}$ را افزایش می‌دهد. بلافاصله بعد از زایمان، پروستاگلاندین‌ها برای پس روی جسم زرد آبستنی ضروری‌اند. استفاده از مکمل اسید لینولئیک در دوره قبل از زایش سبب افزایش سنتز اسید آراشیدونیک، افزایش

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر الگوی اسیدهای چرب پلاسما (گرم در صد گرم اسیدهای چرب)
Table 8. Effects of Dietary treatments on plasma fatty acid profile (g/100g of FA)

	Treatments				SEM	Contrast, P values		
	1	2	3	4		Energy level	Energy source	Lipid supplementation type
12:00	0.299	0.307	0.284	0.288	0.0040	0.2247	0.0003	0.5298
14:00	0.464	0.487	0.436	0.447	0.0063	0.3485	0.0001	0.2342
15:00	0.747	0.773	0.708	0.720	0.0102	0.2703	0.0001	0.4037
16:00	19.060a	19.248a	17.379c	18.357b	0.2580	0.0216	0.0002	0.0131
16:1 cis-9	0.536	0.561	0.505	0.517	0.0073	0.33	0.0001	0.2621
18:00	20.701b	21.815a	19.713c	22.349a	0.2635	0.0639	0.0229	0.0001
18:1 cis-9	12.807	11.298	11.165	11.983	0.1447	0.0001	0.1322	0.0005
trans-11	0.860b	0.773c	1.243a	0.845b	0.0121	0.0001	0.0001	0.0001
trans-10	0.878	0.649	1.141	0.863	0.0193	0.7124	0.0001	0.0001
18:2n-6	34.625c	37.053b	36.091b	38.135a	0.3997	0.0004	0.9362	0.0104
18:3n-3	1.768a	1.188b	1.903a	1.113b	0.0152	0.0001	0.0001	0.0001
20:00	0.352b	0.350b	0.474a	0.345b	0.0041	0.0001	0.0001	0.0001
20:1cis	0.292b	0.280b	0.400a	0.286b	0.0034	0.0001	0.0001	0.0001
20:3n-6	0.325b	0.339b	0.427a	0.319b	0.0038	0.0001	0.0001	0.0001
20:4n-6	0.596c	0.639b	0.774a	0.586c	0.0071	0.0001	0.0015	0.0001
20:5n-3	0.017b	0.020b	0.043a	0.017b	0.0142	0.0001	0.0001	0.0001
22:5n-3	0.393c	0.419b	0.704a	0.386d	0.00571	0.0001	0.0001	0.0001
22:6n-3	0.566c	0.649b	1.469a	0.557c	0.0121	0.0001	0.0001	0.0001

Treatments: 1- Control, 2- Barley based Diet, 3-Omega-3 diet, 4- Omega-6 diet
Means with different superscript in each row differ significantly ($P < 0.05$).

تأثیر قرار داد. غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات با افزایش سطح انرژی کاهش یافت که میزان کاهش در گروه‌های دریافت کننده مکمل چربی بیشتر از گروه مصرف کننده منبع انرژی کربوهیدراتی بود. افزایش سطح انرژی در کل و استفاده از منابع چربی نسبت به کربوهیدرات‌ها، سبب افزایش غلظت استروژن و پروژسترون شد. با این حال، تغذیه طولانی مدت با جیره

نتیجه‌گیری

تغییر در سطح انرژی جیره و منبع تامین آن تاثیر معنی‌داری بر الگوی اسیدهای چرب غیر اشباع مهم پلاسما دارد. تغذیه با مکمل چربی غنی از اسیدلینولئیک (امگا ۶) باعث افزایش غلظت اسیدلینولئیک پلاسما شد. افزایش سطح انرژی جیره علاوه بر افزایش غلظت گلوکز خون، غلظت اسیدهای چرب غیراستریفه پلاسما تحت را تحت

پرانرژی (۲۰ درصد بالاتر از سطح نگهداری) تاثیر قابل

توجهی بر دینامیسم فولیکولی نداشت.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل مستخرج از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد بوده و مولفین از معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه و شرکت دانش بنیان کیمیا دانش الوند به دلیل تأمین هزینه های این پژوهش در قالب طرح ارتباط با صنعت مصوب دانشگاه ارومیه با شماره ۱۰/۳۴۱ سپاسگزاری می نمایند.

منابع مورد استفاده

- Bao B, Thomas MG, Griffith MK, Burghardt RC and Williams GL, 1995. Steroidogenic activity, insulin-like growth factor-I production, and proliferation of granulosa and theca cells obtained from dominant preovulatory and nonovulatory follicles during the bovine estrous cycle: effects of low-density and high-density lipoproteins. *Biology of Reproduction* 53: 1271-1279.
- Bilby TR, Block J, Do Amaral BC, Sa Filho O, Silvestre FT, Hansen PJ and Thatcher WW, 2006. Effects of dietary unsaturated fatty acids on oocyte quality and follicular development in lactating dairy cows in summer. *Journal of Dairy Science* 89: 3891-3903.
- Bilby TR, Sozzi A, Lopez MM, Silvestre FT, Ealy AD, Staples CR and Thatcher WW, 2006. Pregnancy, bovine somatotropin, and dietary n-3 fatty acids in lactating dairy cows: I. ovarian, conceptus, and growth hormone-insulin-like growth factor system responses. *Journal of dairy science* 89: 3360-3374.
- Calder PC, Yaqoob P, Thies F, Wallace FA and Miles EA, 2002. Fatty acids and lymphocyte functions. *British Journal of Nutrition* 87: 31-48.
- Chilliard Y, Ferlay A, Mansbridge RM and Doreau M, 2000. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, Trans and conjugated fatty acids. *EDP Sciences. In Annales de Zootechnie* 49: 181-205.
- Daghighkia H and Rahbar B, 2012. Effect of fat supplementation in flushing diets on reproductive performance, blood metabolites and hormones in Ghezel breed ewes. *Animal Science Researches Journal (Agricultural Science)*. 22: 147-160. (in Persian).
- Daghigh Kia H, Aslani Kordkandi Gh, Moghaddam Gh, Alijani S and Hosseinkhani A 2012. The effect of flaxseed and soybean on the diet of flushing of reproductive performance of Moghani sheep out of the breeding season. *Journal of Animal Sciences Researches (Agricultural Science)* 22: 51-63 (in Persian).
- Evans AC, Mossa F, Fair T, Lonergan P, Butler ST, Zielak-Steciwo AE and Ireland JJ, 2011. Causes and consequences of the variation in the number of ovarian follicles in cattle. *Society for Reproduction and Fertility Supplement* 60: 421-429.
- FASS, 2010. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching, 3rd edition. Federation of Animal Science Societies. Champaign, IL, USA
- Folch J, Lees M and Stanley GHS, 1957. A simplified method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226: 497-509.
- Ginther OJ, Kastelic JP and Knopf L, 1989. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Animal Reproduction Science* 20: 187-200.
- Grummer RR and Carroll DJ, 1991. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *Journal of Animal Science* 69: 3838-3852.
- Hagobian TA, Sharoff CG, Stephens BR, Wade GN, Silva JE, Chipkin SR and Braun B, 2009. Effects of exercise on energy-regulating hormones and appetite in men and women. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 296: 233-242.
- Holman RT, 1960. The ratio of trienoic: tetraenoic acids in tissue lipids as a measure of essential fatty acid requirement. *Journal of Nutrition* 70: 405-410.

- Howard HJ, Scott RG and Britt JH, 1990. Associations among progesterone, estradiol-17 β , oxytocin and prostaglandin in cattle treated with hCG during diestrus to extend corpus luteum function. *Prostaglandins* 40: 51-70.
- Ichihara KI and Fukubayashi Y, 2010. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. *Journal of Lipid Research* 51: 635-640.
- Iranian Ministry of Agriculture. Production year Book. IT and statistic center. Iranian ministry of agriculture. Tehran, I.R. Iran. 2014. Available at:
https://www.maj.ir/Index.aspx?page_=form&lang=1&pageid=11583&tempname=amar&sub=65&methodname=showmodulecontent. Accessed March 8, 2019.
- Kaduce TL, Spector AA and Bar RS, 1982. Linoleic acid metabolism and prostaglandin production by cultured bovine pulmonary artery endothelial cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 2: 380-389.
- Kiyama Z, Alexander BM, Van Kirk EA, Murdoch WJ, Hallford DM and Moss GE, 2004. Effects of feed restriction on reproductive and metabolic hormones in ewes. *Journal of Animal Science* 82: 2548-2557.
- Martin GB, Milton JTB, Davidson RH, Hunzicker GB, Lindsay DR and Blache D, 2004. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Animal Reproduction Science* 82: 231-245.
- Mattos R, Staples CR, Arteche A, Wiltbank MC, Diaz FJ, Jenkins TC and Thatcher WW, 2004. The effects of feeding fish oil on uterine secretion of PGF 2 α , milk composition, and metabolic status of periparturient Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 87: 921-932.
- National Research Council. 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/11654>.
- Needleman P, Jakschik BA, Morrison AR and Lefkowitz JB, 1986. Arachidonic acid metabolism. *Annual Review of Biochemistry* 55: 69-102.
- Parr RA, Davis IF, Miles MA and Squires TJ, 1993. Feed intake affects metabolic clearance rate of progesterone in sheep. *Research in Veterinary Science* 55: 306-310.
- Rabiee AR and Lean IJ, 2000. Uptake of glucose and cholesterol by the ovary of sheep and cattle and the influence of arterial LH concentrations. *Animal Reproduction Science* 64: 199-209.
- Sewell RF and McDowell LJ, 1966. Essential fatty acid requirement of young swine. *Journal of Nutrition* 89: 64-68.
- SRNS. 2017. *Small Ruminant Nutrition System*. Texas A& M. Nutrition models.
- Thangavelu G, Colazo MG, Ambrose DJ, Oba M, Okine EK and Dyck MK, 2007. Diets enriched in unsaturated fatty acids enhance early embryonic development in lactating Holstein cows. *Theriogenology* 68: 949-957.
- Viñoles C, Meikle A and Forsberg M, 2004. Accuracy of evaluation of ovarian structures by trans-rectal ultrasonography in ewes. *Animal Reproduction Science* 80: 69-79.
- Viñoles C, Paganoni BL, McNatty KP, Heath DA, Thompson AN, Glover KMM and Martin GB, 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.
- Zachut M, Arieli A, Lehrer H, Argov N and Moallem U, 2008. Dietary unsaturated fatty acids influence preovulatory follicle characteristics in dairy cows. *Reproduction* 135: 683-692.
- Zieba DA, Murawski M, Schwarz T and Wierzechos E, 2002. Pattern of follicular development in high fecundity Olkuska ewes during the estrous cycle. *Reproductive Biology* 2: 39-58.

Effects of increasing dietary energy level using carbohydrate or fat supplementation on ovarian activity and some blood parameters in Ghezel ewes

F Azari¹, F Farrokhi Ardabili^{2*}, H Khalilvandi-Behroozyar² and M Eslami³

Received: December 17, 2017

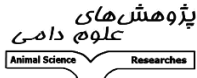

Accepted: May 12, 2019

¹MSc Graduate, Department of Animal Science, Agriculture Faculty, Urmia University, Urmia, Iran

²Associate professor and Assistant professor, respectively, Department of Animal Science, Agriculture Faculty, Urmia University, Urmia, Iran

³Assistant professor, Department of Theriogenology and Poultry, Veterinary Faculty, Urmia University, Urmia, Iran

*Corresponding author: f.farrokhi@urmia.ac.ir

	Journal of Animal Science/vol.29 No.3/ 2019/pp 31-42 https://animalscience.tabrizu.ac.ir	
© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. This is an open access article under the CC BY license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0)		

Introduction: Excellent reproductive performance is paramount to profitable farm animal production systems. This is particularly true in strict seasonal reproductive systems where animals are expected to establish and maintain pregnancy within a short period of time. Low reproductive performance in seasonal breeders such as sheep and goat was considered as a main economic problem in modern and nomadic production systems. There are numerous research reports on the impact of nutrition on follicular population, folliculogenesis, and ovulation rate in sheep. Feeding is a low-cost system for managing reproduction and ovulation rates in arid and semi-arid regions (Martin et al. 2004). Animal energy balance and its secondary effect on metabolism through its influence on nutrient concentrations, hormones and various growth factors such as calcium, insulin, growth hormone and insulin-like growth factor may be the most important mechanism to justify the effect of energy on processes. Reproduction affected the hypothalamic-pituitary-ovarian axis. Dietary energy in pre-conception period is an influential factor in reproductive activities. Also, there are reports about the positive effects of supplementing diets with polyunsaturated essential fatty acids on reproductive performance in farm animals. Fish oil contains EPA and DHA as omega-3 fatty acids and plays a major role in the production of eicosanoids. On the other hand, plant oils rich in omega-6 fatty acids such as linoleic acid have been reported to improve immune status of animals. The positive effects of fat and energy supplementation on the improvements of reproduction in dairy cows are well documented, but the specific effects of omega polyunsaturated fatty acids (n-3 and n-6) on reproductive success in small ruminants have not been examined in detail. While the link between n-3 fatty acids and reproductive markers such as (PGF₂α) are well established, evidences for direct effects of high n-3 fatty acids supplementation on measurable reproductive outcomes in ruminants is limited. There is little information regarding the effect of dietary energy level and energy source on reproductive activity in Iranian fat-tailed lambs. This study was carried out to determine the effects of increasing dietary energy level by carbohydrate or fat supplementation using rumen-protected calcium salts of fish oil as omega-3 fatty acid sources or soybean oil as omega-6 fatty acids on ovarian activity and some blood parameters in Ghezel ewes.

Materials and methods: Twelve Ghezel ewes were assigned into four groups with three animals based on a completely randomized design. Diets were formulated according to small ruminant's nutrient requirement using Small ruminant nutrition system (SRNS, Texas A&M University, version 1.11.7154.28131). The control group received maintenance energy requirements. While the second experimental groups received a diet with 20% extra energy supplied by barley grain. Calcium salt of

fatty acids rich in Omega-3 fatty acids (eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid) and Omega-6 (linoleic acid) were partly replaced with barley grain in third and fourth experimental groups, respectively. The estrous cycle of the ewes was synchronized with two consecutive injections of prostaglandin. Ultrasound examination of the ovaries started after second PG injection and continued for three estrous cycles. Through the first cycle, all of the animals received the control diet. Experimental diets were fed through the second and third estrous cycles. The first cycle for each of the experimental groups was considered as the control for study the effects of different dietary treatments. Blood sampling was done on day 12 of the luteal phase of each experimental cycles, four hours after the morning meal and plasma and serum were analyzed for energy-related parameters such as glucose, triacylglycerol's, insulin, non-esterified fatty acids, beta-hydroxybutyric acid as well as sex hormones.

Results and discussion: Plasma levels of glucose, triacylglycerol's, non-esterified fatty acids, beta-hydroxybutyric acid, and serum levels of estrogen and progesterone were affected by energy levels in the diet. However, effects of energy source were also significant in the case of glucose, BHBA and hormones levels. Concentrations of glucose, triacylglycerol, HDL, total protein, albumin, urea VLDL, estrogen, and progesterone ($P<0.05$) were affected by the experimental treatments and increased with increasing energy levels. The type of energy source (carbohydrate versus fat) showed a significant difference in concentrations of glucose, cholesterol, VLDL, globulin, estrogen, and progesterone ($P<0.05$). The highest plasma glucose concentration was in the barley-receiving group. Increasing the dietary energy level resulted in improvement of various energy indices such as the concentration of non-esterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate ($P<0.05$). Triacylglycerol and HDL concentrations were not significantly different between ewes consuming different energy sources, but increased with increasing dietary energy levels. Supplementing the diet with protected poly-unsaturated fatty acids has resulted in higher plasma unsaturated fatty acids. In this case, energy levels, energy source, and lipid supplementation type exert significant effects. The use of linoleic acid supplementation in this study increased arachidonic acid concentration ($P <0.05$). Twenty-carbon unsaturated fatty acids are a direct precursor of a large group of active compounds called eicosanoids, including prostaglandins, thromboxanes, leukotrienes, and lipoxanes. Omega-6 fatty acid supplemented diet increased ovulatory follicle diameter in the third cycle of the experiment compared with control cycle. However, omega-3 supplementation decreased it. On the other hand, the follicular waves counts were not influenced.

Conclusion: Results showed that higher energy content or even the energy source could not significantly affect the various parameters of the estrous cycle such as follicular waves count, length of the estrous cycle, follicular diameter, and the number of ovulation in each cycle ($P>0.05$). Nevertheless, the change in energy level and the source had been exerted significant effects on plasma fatty acids profile and energy-related metabolites ($P<0.05$). This study was performed in the reproductive season with the limited number of animals and it seems that normal body condition of experimental animals, as well as long term dietary inclusion of high energy supplements, have potentials for affecting the results. Further examination in reproductive and non-reproductive seasons with more replications and also, investigation of the effects of different energy sources and energy levels on reproductive performance could be suggested.

Keywords: Omega3, Omega6, Ovarian activity, Ultrasonography