نشریه دامپزشکی
در
پژوهش و سازندگی شماره ۱۱۴ بهار ۱۳۹۶
DOI: 10.22034/vj.2017.107802

تأثیر گرسنگی کوتاه مدت در خلال فاز لوتئال بر قطر و تعداد فولیکول تخمدانی، اندازه جسم زرد، هورمون‌های استروئیدی و برخی از هورمون‌های متابولیک در تلیسه‌های شیری هلشتاین

• **اکبر پیرستانی (نویسنده مسئول)**
استادیار و عضو هئیت علمی گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)،
• **شبنم درستکار**
دانش آموخته گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴-۰۹-۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵-۰۱-۲۴
Email: a.pirestani@khuisf.ac.ir

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر گرسنگی کوتاه مدت در فاز لوتئال بر قطر و تعداد فولیکول، اندازه جسم زرد، هورمون‌های استروئیدی و برخی از هورمون‌های متابولیکی در تلیسه انجام شد. در این مطالعه ۶۰ رأس تلیسه هلشتاین با سن و وزن یکسان بطور کاملا تصادفی به دو گروه ۳۰ رأسی تیمار و کنترل تقسیم‌بندی شدند. پس از همزمان‌سازی سیکل فحلی با ورود تلیسه‌ها به فاز لوتئال، گروه کنترل جیره تنظیم شده بر اساس NRC را روزانه در دو وعده و گروه تیمار همان جیره را یک وعده برای ۱۲ روز (جهت گرسنگی کوتاه مدت در مدت زمان فاز لوتئال) دریافت کردند. جهت بررسی تعداد و اندازه فولیکول با مشاهده فحلی و جهت تعیین قطر جسم زرد به صورت یک روز در میان، ۳۰ ساعت پس از اتمام فحلی، تخمدان‌ها مورد سونوگرافی قرار گرفتند. هورمون استروژن در فاز فولیکولار و هورمون پروژسترون در فاز لوتئال بصورت یک روز در میان، ارزیابی شدند. گلوکز در دوران گرسنگی به فاصله ۵ روز، هورمون رشد در انتهای فاز فولیکولار و IGF۱ در اواسط فاز لوتئال ارزیابی شد. نتایج تحقیق نشان داد که تعداد فولیکول‌ها و اندازه جسم زرد در تخمدان سمت چپ، هورمون پروژسترون و IGF۱ در گروه تیمار دارای افزایش معنی داری ($p < ۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کنترل می‌باشند. اندازه فولیکول و هورمون‌های استروژن و رشد، تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند. گلوکز در نوبت اول نمونه‌گیری دارای افزایش معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) در گروه تیمار بود. میانگین تعداد تلقیح منجر به آبستنی در گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بود. در کل نتیجه‌گیری می‌شود که گرسنگی کوتاه مدت بر روی تولید مثل تلیسه تأثیرگذار می‌باشد.

کلمات کلیدی: گرسنگی کوتاه مدت، فاز لوتئال، هورمون‌های استروئیدی، هورمون‌های متابولیکی، تلیسه‌های هلشتاین

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 114 pp: 100-111

Influence of short-term fasting during the luteal phase on ovarian follicular diameter and number, corpus luteum size, steroid and metabolic hormones in Holstein dairy heifers

By: Pirestani, A., (Corresponding Author) Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Isfahan (Khorasgan) Branch, Isfahan, Iran. and Dorostkar, SH., Graduated of Animal Science, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Isfahan (Khorasgan) Branch, Isfahan, Iran.

Received: 2015-12-14 Accepted: 2016-04-12

Email: a.pirestani@khuisf.ac.ir

The aim of this study was to evaluate the short-term fasting in the luteal phase on follicular diameter, the size of corpus luteum (CL), steroid hormones and some metabolic hormones in Holstein dairy heifers. In this study 60 heifers were allocated randomly to 2 groups, control and treatment, that contained 30 heifers with the same age and weight. After estrous synchronization, heifers entered the luteal phase; diet was used in control group based on NRC at one meal, and the treatment group at two meals during 12 days (for short-term fasting during the luteal phase). Number and size of follicles were evaluated by ultrasonography at observation of heat, and CL diameter was estimated by ultrasonography as every other day at 30 h after heat. Also, estrogen hormone was measured at follicular phase and progesterone hormone at luteal phase as every other day. Two glucose samples were estimated within 5 days during short-term fasting. Also, GH hormone and IGF1 was measured at the end of follicular phase and mid-luteal phase, respectively. Results of study showed that number of follicles, CL diameter on left ovary, and the level of progesterone and IGF1 were significantly different ($P<0.05$) between the treatment group compare and control. However, glucose was significantly higher ($P<0.05$) in treatment group in the first sample but wasn't significantly different in the second sample. Also, AI/pregnancy was higher in the treatment group than control. It was concluded that short-term fasting had an effect on reproduction of heifers.

Keyword: Short-term fasting, Luteal phase, Steroid hormones, Metabolic hormones, Holstein heifers

مقدمه

بسیاری از مشکلات تولید مثلی با تغذیه دارای ارتباط نزدیکی بوده چنانکه کمبودهای تغذیه‌ای یا جیره‌های نامتعادل، یکی از علل کاهش راندمان تولید مثلی می‌باشند. علی رغم تمام پیشرفت‌ها در علم تغذیه، مشکلات مربوط به تغذیه هنوز تولیدمثل را تحت تأثیر خود قرار می‌دهد. امروزه بسیاری از کارشناسان، برنامه‌های غذایی را به عنوان مشکل اصلی در ضعف باروری گله می‌دانند. کمبود مواد معدنی، میزان ناکافی ویتامین‌ها، عدم تعادل انرژی و پروتئین و دریافت بیش از حد پروتئین به عنوان عوامل ناباروری و کاهش راندمان تولید مثل شناخته می‌شوند (۳). انرژی دریافتی در بسیاری از گله‌ها مهم‌ترین فاکتور موثر بر راندمان تولید مثل است. انرژی دریافتی ناکافی در تلیسه‌ها و گاوهای بالغ شیرده در اوایل دوره، راندمان باروری را کاهش می‌دهد. دریافت بیش از حد انرژی نیز در اواخر دوره‌ی شیردهی یا در دوره‌ی خشکی می‌تواند سبب چاقی گاوها و کاهش بازده تولیدمثل در دوره‌ی بعد شود (۹). استفاده از پروتئین جیره در سطح بالاتر از نیاز، باعث کاهش میزان آبستنی و افزایش دفعات تلقیح به ازای هر آبستنی و روزهای باز بیشتر می‌شود. کمبود پروتئین در گاوهای شیری نیز سبب فحلی خاموش و کاهش آبستنی شده و اگر پروتئین به جیره اضافه شود. بعد از ۲ تا ۳ روز، افزایش در تولید شیر را می‌توان مشاهده کرد اگرچه میزان تولید هیچگاه به حد طبیعی خود بر نمی‌گردد. تلیسه‌ها نسبت به گاوهای بالغ و چند شکم زایش، در مقابل کمبود پروتئین حساس‌تر هستند. تلیسه‌هایی که دچار کمبود شدید پروتئین باشند کاهش در رشد اسکلت را بخصوص در بخش لگن نشان می‌دهند. این تلیسه‌ها سیکل فحلی را دیر شروع می‌کنند و در زایمان نیز دچار مشکل می‌شوند (۱۱). از طرفی تأثیر حاد محدودیت غذایی بر توان تولید مثلی گاو و گوسفند هنوز بطور کامل مشخص نگردیده که در محدودیت طولانی مدت یا در محدودیت کوتاه مدت دارای تأثیرات سوء بر تولید مثل نشخوارکنندگان می‌باشد. همچنین در تحقیقات مشخص شده است که محدودیت انرژی جیره، توسعه رشد فولیکول تخمدانی را کاهش داده است و محدودیت کوتاه مدت، ترشح هورمون‌های استروئیدی (استروژن) و نیز هورمون تستوسترون و گلوکز را در حیوانات کاهش داده است. از سویی نتایج محدودیت غذایی بسته به درجه محدودیت و حالات تولید مثلی در زمان محدودیت غذایی می‌تواند منجر به کاهش کارایی تولید مثلی گردد که در تحقیقی میزان تخمک‌گذاری در گوسفند، در محدودیت

پروتئین کاهش یافته اســت (۱). روند تحقیقات در زمینهٔ اثرات تغذیه روی تولید مثل آهسته است، چرا که ظهور اثرات تغذیه، بطئی بوده و پژوهش‌های بلند مدتی را می‌طلبد. تحقیقات جدید بیانگر مکانیسم‌هایی است که توسط آن‌هــا تغذیه، تولیدمثــل را تحت تأثیر قرار می‌دهد. ســوء تغذیه عمومی و همچنین کمبود یک ماده مغذی خاص، می‌تواند ســبب اختلال در ســنتز هورمون‌های دخیل در تولید مثل گردد (۱۰). لذا هدف از این تحقیق بررسی تأثیر گرســنگی کوتاه مدت در خلال فــاز لوتئال بر قطر و تعداد فولیکول‌ها، انــدازه جســم زرد تخمدانی، هورمون‌های اســتروئیدی و نــرخ باروری در تلیسه‌های شیری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

دام‌ها و مدیریت

ایــن تحقیق در مجتمــع گاوداری در ۲۵ کیلومتری غــرب اصفهان از تاریخ ۹۲/۱/۲۰ تا ۹۲/۳/۱۰ انجام گرفت و در آن از تعداد ۱۸۵ رأس تلیســه هولشتاین، ۶۰ رأس با سن ۱۲ تا ۱۴ ماه در قالب یک طرح کاملا تصادفی انتخاب شدند. تلیسه های انتخابی که همگی از نظر سلامتی، سن و وزن در شرایط تقریبا یکسان بودند به طور تصادفی به دو گروه کنترل و تیمار تقسیم شدند.

در ابتــدای اجرای طرح، ۶۰ رأس تلیســه هلشــتاین در دو گروه مجزا نشــانه‌گذاری شــدند و در دو مرحله با تزریق ۳ میلی لیتر پروســتاگلندین (کلوپروستنول سدیم، سینکرومات-شرکت داروسازی برمر-واربورگ آلمان) با فاصله ۱۱ روز مورد همزمان‌ســازی قرار گرفتند. پس از پایان علائم فحلی و وارد شــدن تلیسه‌ها به فاز لوتئال، تلیســه‌های گروه تیمار در یک بهاربند جداگانه منتقل شــده و بطور اختصاصی تغذیه شــدند و برای مدت ۱۲ روز تحت محدودیت غذایی قرار گرفتند.

جیره غذایی

در طول این آزمایش از یک جیره غذایی اســتفاده شــده اســت. جیره غذایی بر اســاس تعداد تلیسه‌های شیری و با توجه به وزن، سن و احتیاجات دام، با اســتفاده از جداول استاندارد غذایی (NRC، ۲۰۰۱) و با کمک نرم افزار Amino cow تهیــه و تنظیم گردید. جیره غذایی گروه کنترل و تیمار از نظر ترکیب یکسان بود. تلیسه‌های گروه کنترل در طول روز دو وعده جیره غذایی دریافت کردند درحالی‌که تلیســه‌های گروه تیمار فقــط یک وعده از همان جیره غذایی (نصف مقدار خوراک گروه کنترل) را دریافت می‌کردند. در طول روز به ازای هر رأس تلیســه گروه کنترل تقریبــاً ۱۴ کیلوگرم و به ازای هر تلیســه گروه تیمار تقریبا ۷ کیلوگرم خوراک داده می‌شد. جداول (۱) و (۲) اجزاء و ترکیبات جیره مورد اســتفاده جهت تلیسه‌های گروه کنترل و تیمار که از نظر اجزا و ترکیب یکســان بوده و تنها از نظر میزان دسترسی متفاوت می‌باشند را نشان می‌دهد.

روش نمونه‌گیری

بعد از پایان یافتن مدت زمان گرسنگی، تمام تلیسه‌ها مورد همزمان‌سازی

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده جیره غذایی مورد استفاده در تلیسه‌های گروه کنترل و تیمار

نوع ماده	مقدار (درصد ماده خشک)
سیلوی ذرت	۲۳/۰۷
جو	۱۲/۰۸
یونجه	۱۹/۷۸
کاه گندم	۱۴/۶۷
کنجاله سویا	۲/۴۴
بلغور ذرت	۳/۴
سبوس گندم	۱۹/۵۶
تفاله چغندر	۰/۰۰
سنگ آهک	۱/۰۹
مکمل معدنی	۱/۳
مکمل ویتامینه	۱/۳
نمک	۱/۰۹
اوره	۰/۲۲
مجموع	**۱۰۰**

مجدد توسط هورمون پروستاگلندین قرار گرفتند و با مشاهده علائم فحلی (در فاز فولیکولار) به مدت سه روز پیاپی جهت سنجش میزان هورمون استروژن، نمونه خون جمع‌آوری شد. جهت سنجش هورمون پروژسترون ۳۰ ساعت پس از اتمام فحلی (در فاز لوتئال) به صورت یک روز در میان، نمونه خون جمع‌آوری گردید. جهت اندازه‌گیری میزان گلوکز در دوران گرسنگی به فاصله ۵ روز دو نمونه خون گرفته شد. میزان هورمون رشد (GH) در انتهای فاز فولیکولار و میزان IGF۱ در اواسط فاز لوتئال مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. تمام نمونه‌های خون به میزان ۱۰ میلی‌لیتر به وسیله لوله‌های آزمایش خلأدار ونوجکت، از ورید دمی تمامی تلیسه‌ها گرفته شد و پس از قرار دادن در مخزن حاوی یخ جهت جلوگیری از فساد سریعا به آزمایشگاه ارسال گردید. سرم نمونه‌ها در همان روز توسط دستگاه سانتریفیوژ طی ۵ دقیقه و در ۳۰۰۰ دور با دقت جدا گردید و در ظرف‌های پلاستیکی مخصوص با ذکر شماره دام و تاریخ در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافته تا بصورت همزمان مورد بررسی آزمایشگاهی قرار گیرند. سپس نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ذوب شده و به دمای اتاق منتقل گردیده تا از شکسته شدن پروتئین‌های سرمی جلوگیری شود و در نهایت تحت آزمایش الایزای رقابتی برای اندازه‌گیری هورمون‌های مورد نظر قرار گرفت. انجام تست‌های آزمایشگاهی با روش الایزا و به وسیله کیت‌های مخصوص هر هورمون (استروژن کیت DRG آمریکا، پروژسترون کیت Biovet ایتالیا، هورمون رشد کیت Monobind آمریکا، IGF۱ کیت mediagnost آلمان و گلوکز کیت تشخیص کمی (GOD) شرکت پارس آزمون) صورت پذیرفت. همچنین جهت تعیین تعداد و اندازه فولیکول‌ها و اجسام زرد، در طول دوره بصورت یک روز درمیان از هر تلیسه سونوگرافی توسط دستگاه SIUI مدل ۹۰۰V-CTS انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های حاصل در نرم‌افزار Excel در کامپیوتر ثبت گردید و با استفاده از آزمون یک طرفه t-Student مستقل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی همچنین در برخی موارد با استفاده از نرم افزار SPSS آنالیز شدند. مقایسات میانگین با آزمون T مستقل در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج

تعداد و اندازه فولیکول‌های تخمدانی

شکل (۳) مقایسه میانگین تعداد فولیکول‌ها در گروه‌های کنترل و تیمار در سونوگرافی‌های مختلف را نشان می‌دهد. در این نمودار مشاهده می‌شود که میانگین تعداد فولیکول‌ها در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل بیشتر بوده و از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری ($P<0/05$) می‌باشد.

همچنین داده‌های این تحقیق نشان می‌دهد که در گروه تیمار تعداد فولیکول‌ها در تخمدان چپ بیشتر از تخمدان راست بوده و در گروه کنترل تعداد فولیکول‌ها در تخمدان راست بیشتر می‌باشد. این مطلب در جدول (۳) مشخص می‌باشد.

در جدول (۴) مقایسه میانگین‌های دو گروه در دو بار سونوگرافی بر روی اندازه فولیکول‌های اول و دوم در تخمدان‌های چپ و راست صورت گرفته است. این مقایسه نشان می‌دهد که تنها اندازه اولین فولیکول‌های ساخته شده تحت تأثیر میزان خوراک مصرفی قرار دارند، درصورتی‌که فولیکول‌های دوم به بعد تحت تأثیر این پارامتر قرار نگرفته بلکه در گروه کنترل فولیکول‌ها بزرگتر نیز شده‌اند. همچنین از این جدول چنین برمی‌آید که در سونوگرافی اول، فولیکول اول تخمدان راست در گروه تیمار بزرگتر از فولیکول اول در تخمدان چپ گروه تیمار و حتی بزرگتر از فولیکول‌های اول

جدول۲-ترکیبات جیره غذایی مورد استفاده در تلیسه‌های گروه کنترل و تیمار

ترکیب	میزان
پروتئین خام (درصد ماده خشک)	۱۳/۲۹
الیاف نامحلول در شوینده های اسیدی (درصد ماده خشک)	۲۵/۲۵
الیاف نامحلول در شوینده های خنثی (درصد ماده خشک)	۴۴/۱۲
کربوهیدرات های غیرالیافی (درصد ماده خشک)	۳۰/۱۷
پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه (درصد پروتئین خام)	۲۸/۸۸
پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (درصد پروتئین خام)	۷۱/۱۲
چربی (درصد ماده خشک)	۲/۷۷
کلسیم (درصد ماده خشک)	۱/۰۵
فسفر (درصد ماده خشک)	۰/۵۶
انرژی خالص (مگاکالری در کیلوگرم)	۱/۳۷

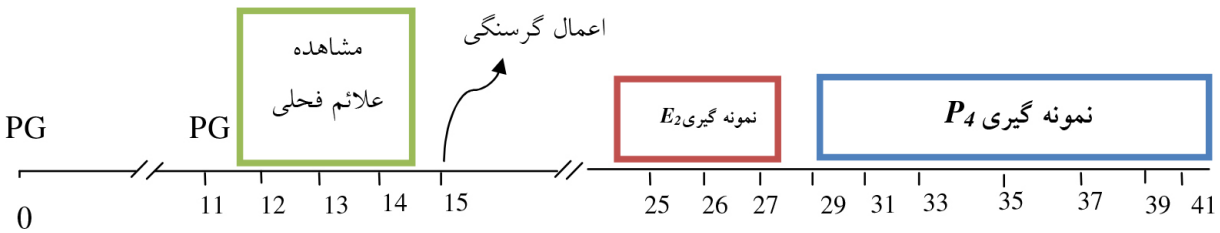
موجود در تخمدان راســت و چپ گروه کنترل می باشد درحالی‌که فولیکول دوم در تخمدان‌های راســت هر دو گروه بزرگتــر از فولیکول‌های موجود در تخمدان‌های چپ بوده و در گروه کنترل بزرگتر هســتند به اســتثنای گروه تیمار که فولیکول دوم در تخمدان سمت چپ نسبت به تخمدان سمت راست بزرگتر بوده است. درضمن در سونوگرافی دوم فولیکول‌های اول در تخمدان راســت در هر دو گروه بزرگتر از تخمدان چــپ و در گروه کنترل بزرگتر از گروه تیمار می‌باشد.

شکل (۴) مقایســه میانگین اندازه اجسام زرد در تخمدان راست و چپ را در دو گروه آزمایشی در مراحل مختلف سونوگرافی نشان می‌دهد. با توجه بــه تخمک‌گذاری فولیکــول غالب باید در هر رأس تلیســه در یک تخمدان جســم زرد مشــاهده گردد و با توجه به تعداد متعدد تلیسه‌ها که در هر یک تخمک‌گذاری متفاوت می‌باشــد، پس جســم زرد در تخمدان سمت چپ و راســت بصورت مجزا نوشته شــده و با هم نیز مورد مقایسه قرار گرفت. لذا با توجه به اندازه‌های به دســت آمده از اجســام زرد در طول سونوگرافی‌های متوالی، مشــاهده شد که اندازه جســم زرد در تلیسه‌های گروه تیمار بزرگتر بوده و رشــد بهتری داشته است. در آخرین مرحله از سونوگرافی اندازه جسم زرد در گروه تیمار به شدت تحلیل رفته است. همچنین داده‌ها نشان می‌دهد که میزان تخمک‌گذاری در تخمدان ســمت راست بیشتر از تخمدان سمت چپ بوده و نیز با پیشرفت در فاز لوتئال، اندازه جسم زرد در تخمدان سمت راست بیشتر شده است.

میزان هورمون‌های استروئیدی

در این طرح هورمون اســتروژن به مدت ســه روز متوالی مورد بررسی قرار گرفت. شــکل (۵) مقایســه میانگین هورمون اســتروژن در دو گروه را در نمونه‌گیری‌های مختلف نشــان می‌دهد و بر اســاس این نمودار مشاهده می‌گردد که در گروه تیمار میزان این هورمون به مراتب بیشتر از تلیسه‌های گروه کنترل می‌باشــد، هرچند از نظر آماری تفــاوت معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) وجود ندارد. از طرف دیگر در این نمودار مشاهده می‌گردد که بیشترین میزان هورمون استروژن در هر دو گروه مورد بررسی در اولین نمونه‌گیری بوده است و در دو نمونه‌گیری بعدی تقریباً یکســان بوده و فقط در گروه تیمار افزایش مختصری از خود نشان داده است.

شکل (۶) مقایســه میانگین هورمون پروژســترون را در گروه کنترل و



روزهای مورد آزمایش

شکل ۱-نمونه‌ای از جسم زردهای سونوگرافی شده در تلیسه ها

شکل ۲-نمونه‌ای از فولیکول های تخمدانی سونوگرافی شده در تلیسه ها

تیمار در نمونه‌گیری‌های مختلف نشـــان می‌دهد. بـــا توجه به داده‌های این نمودار مشـــخص می‌شـــود که میزان هورمون پروژســـترون در گروه تیمار با افزایش فعالیت جســـم زرد بیشـــتر از گروه کنترل می‌باشد و از نمونه‌گیری چهارم به بعد (روز ۵ فاز لوتئال) میزان هورمون پروژســـترون در گروه تیمار بطور معنـــی‌داری (P<۰/۰۵) نســـبت به گروه کنترل افزایش یافته اســـت. همچنین در نمونه‌گیری هفتـــم (روز ۱۲ فاز لوتئال) میزان این هورمون نیز کاهش یافته اســـت و این کاهش در گروه تیمار دارای شیب نزولی بیشتری نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

در ایـــن تحقیق میزان هورمون‌های FSH و LH نیـــز مورد ازریابی قرار گرفـــت و نتایج در هر دو هورمون در گروه تیمـــار مطلوب تر از گروه کنترل بود ولی با توجه به عدم جواب آزمایشـــگاهی مناسب بدلیل استفاده از کیت هورمون‌های انسانی، از آوردن نتایج این دو هورمون صرف نظر گردید.

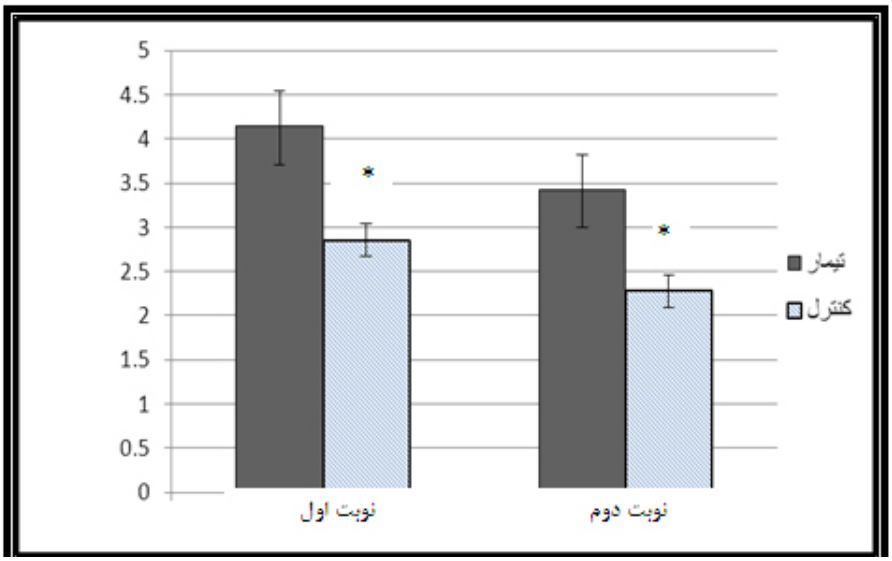
میزان هورمون‌های متابولیکی

شکل (۷) مقایسه میانگین میزان هورمون رشد (GH) را در گروه کنترل و تیمار را نشـــان می‌دهد. بر اساس این نمودار میزان هورمون رشد در گروه کنترل نســـبت به گروه تیمار بیشـــتر بوده ولی از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) نمی‌باشد.

شـــکل (۸) مقایســـه میانگین میزان هورمـــون IGF۱ را در گروه کنترل و تیمـــار نشـــان می‌دهد. طبق این جـــدول میزان هورمـــون IGF۱ در گروه تیمار بیشـــتر از گروه کنترل بـــوده و از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) می‌باشد.

شـــکل (۹) مقایســـه میانگین میزان گلوکز در گروه کنتـــرل و تیمار را نشـــان می‌دهد. میزان گلوکز در نوبت اول نمونه‌گیری (روز ۵ گرسنگی) در گروه تیمار بیشـــتر از گروه کنترل بـــوده و دارای اختلاف آماری معنی‌داری

شکل ۳- تأثیر گرسنگی کوتاه مدت بر میانگین تعداد فولیکول‌ها
*** معنی‌داری در هر نوبت سونوگرافی در سطح ۵ درصد**



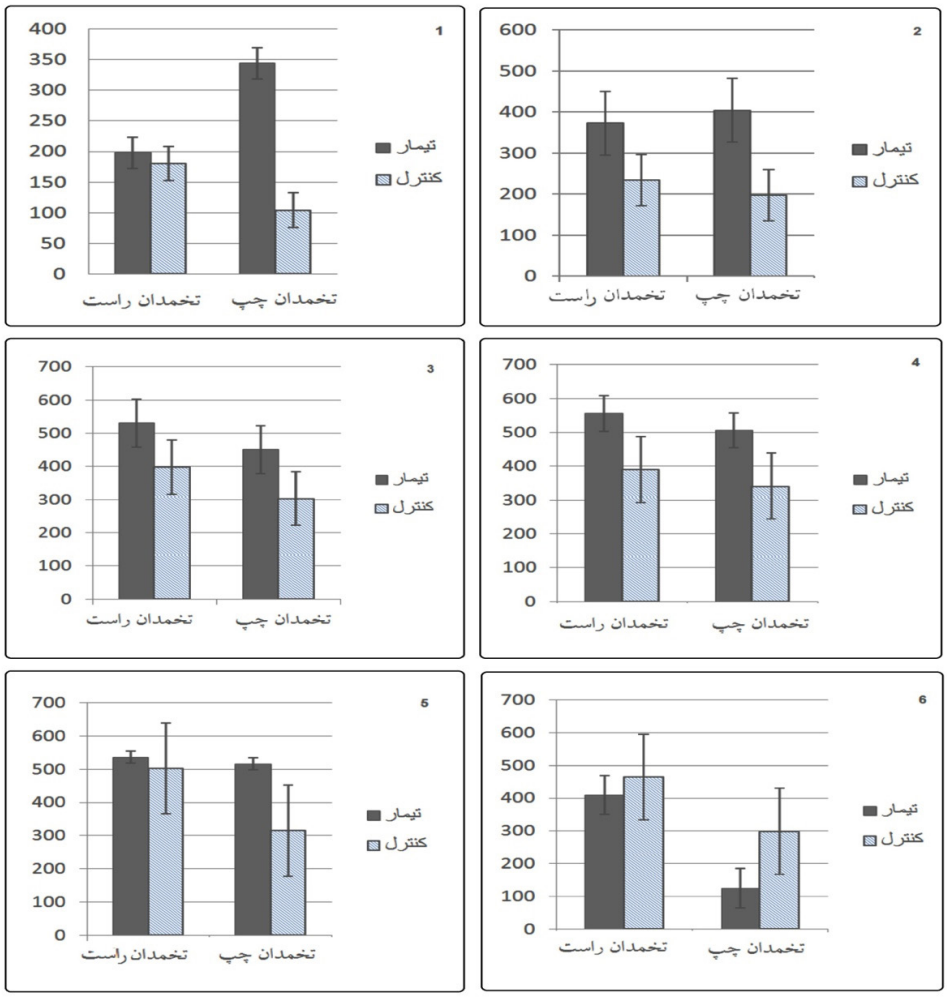
جدول ۳-تأثیر گرسنگی کوتاه مدت بر میانگین تعداد فولیکول‌ها در تخمدان های چپ و راست در گروه‌های آزمایشی

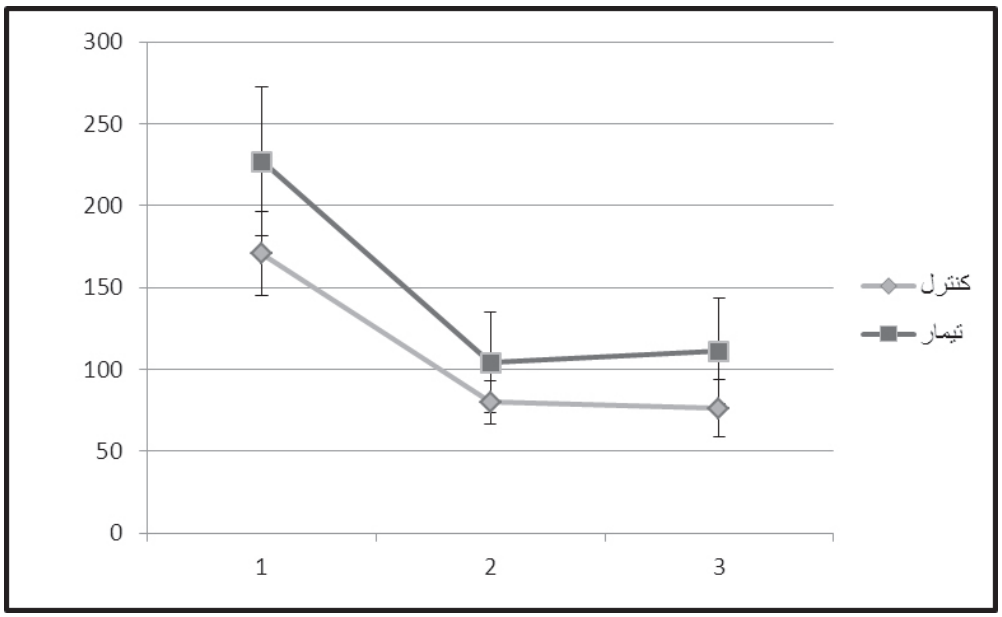
نوبت سونوگرافی	گروه آزمایشی	تعداد فولیکول در تخمدان	
		راست	چپ
اول	کنترل	۱/۶	۱/۳ b
	تیمار	۲	۲/۱۴ a
دوم	کنترل	۱/۴	۰/۶ b
	تیمار	۱/۶	۱/۹ a

جدول ۴-تأثیر گرسنگی کوتاه مدت بر میانگین اندازه فولیکول ها (بر حسب میلی متر) در تست سونوگرافی

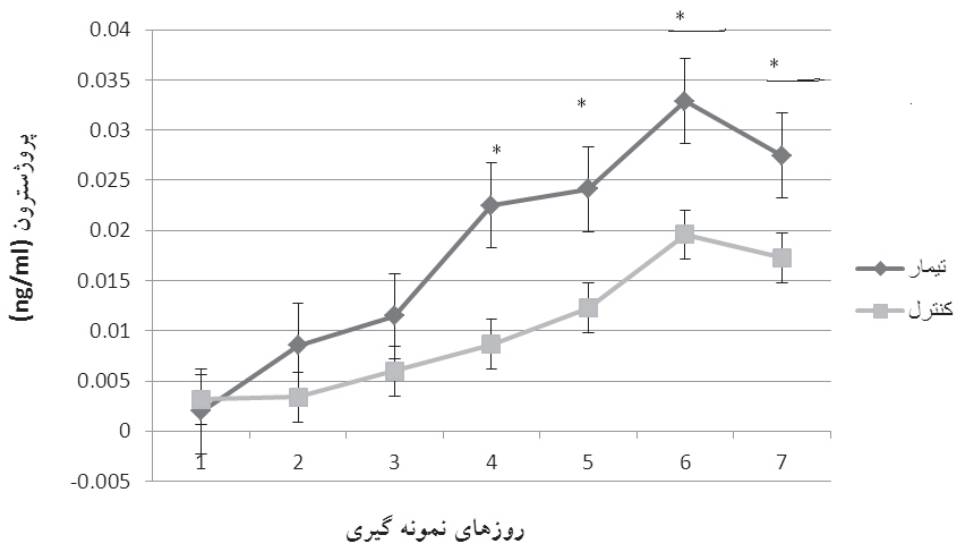
اندازه فولیکول (میلی متر) گروه ها	مرتبه سونوگرافی	تعداد فولیکول در تخمدان		عداد فولیکول در تخمدان	
		راست	چپ	راست	چپ
کنترل	اول	۱۲/۶۹	۱۱/۲۷	۴/۸۲	۳/۹۸
	دوم	۱۴/۶۵	۱۲/۲۰	۶/۸۷	-
تیمار	اول	۱۴/۰۸	۱۲/۴۵	۳/۳۲	۲/۴۸
		۱۱/۰۵	۸/۸۱	۴/۶۷	۸/۴۹

شکل ۴-تأثیر گرسنگی کوتاه مدت بر اندازه جسم زرد (بر حسب میلی متر) در گروه های آزمایشی
* معنی‌داری برای هر نوبت سونوگرافی در سطح ۵ درصد

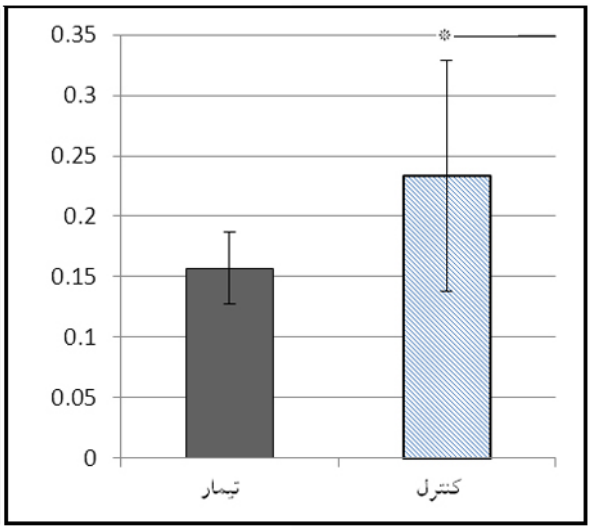




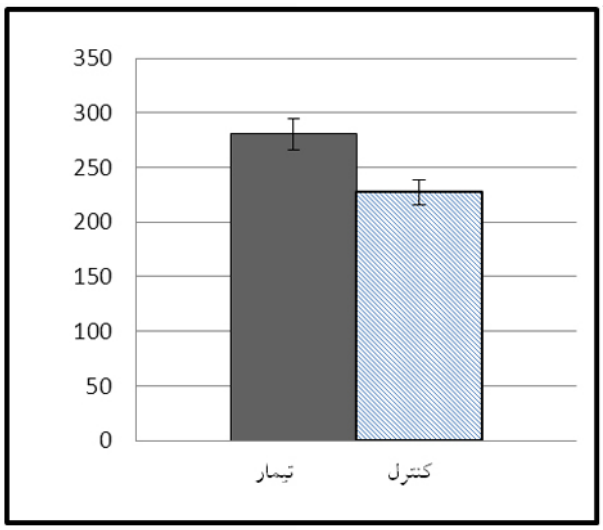
شکل ۵-تأثیر گرسنگی کوتاه مدت بر میانگین میزان هورمون استروژن (pg/ml)



شکل ۶-تأثیر گرسنگی کوتاه مدت بر میانگین میزان هورمون پروژسترون (ng/ml)
* معنی‌داری در سطح ۵ درصد

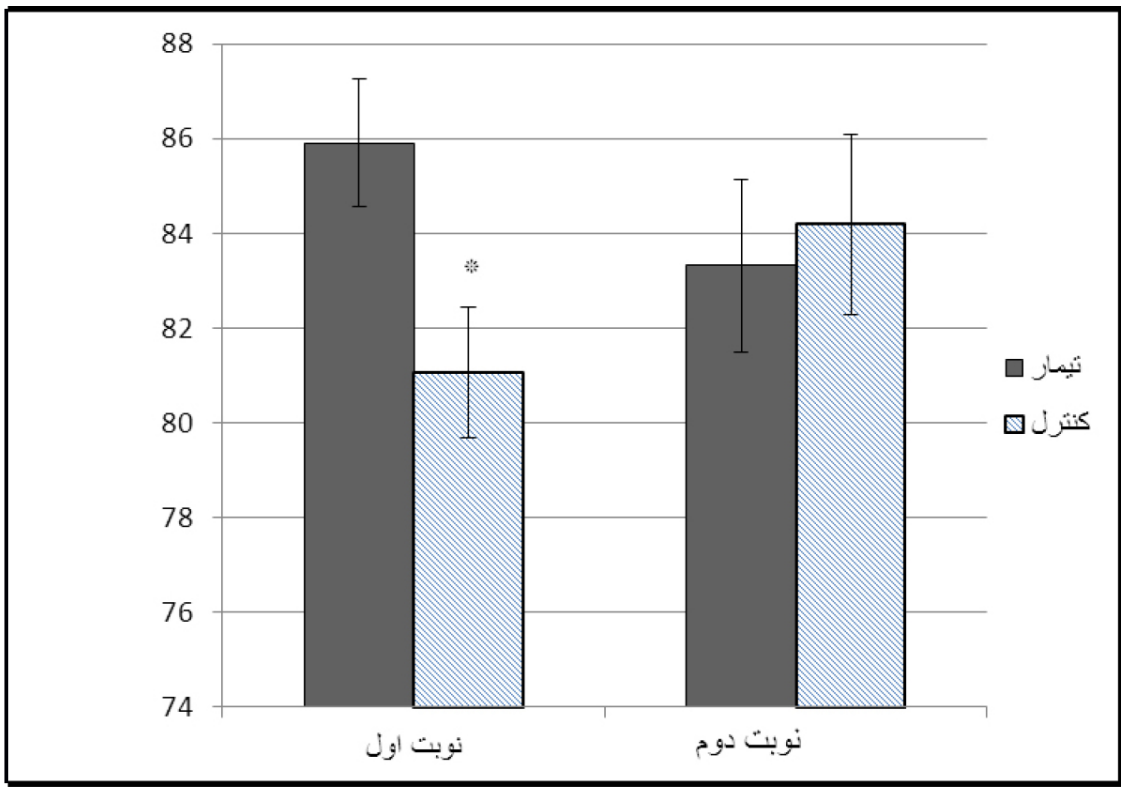


شکل ۷- تأثیر گرسنگی کوتاه مدت بر IGF1 (ng/ml)



شکل ۸-تأثیر گرسنگی کوتاه مدت بر GH (mIU/ml)

* معنی‌داری در سطح ۵ درصد



(P<۰/۰۵) می‌باشد، درحالی‌که در نمونه‌گیری نوبت دوم (روز ۱۰ گرسنگی) میزان گلوکز در گروه کنترل بیشتر از گروه تیمار بوده و از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری نمی‌باشد.

در رابطه با شاخص‌های باروی، با توجه به طولانی بودن مدت زمان آبستنی و زایش فقط نتایج میانگین تعداد تلقیح منجر به آبستنی در تلیسه‌های مورد آزمایش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که در گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل تعداد تلقیح بیشتر بوده (۱/۶ در مقابل ۱/۱) و لذا گروه تیمار با وجود بروز علائم فحلی بیشتر، میزان باروری کمتری داشته است.

بحث و نتیجه‌گیری

تعداد و اندازه فولیکول تخمدانی و اندازه جسم زرد

در این تحقیق به بررسی میانگین تعداد و اندازه فولیکول‌های تخمدانی بواسطه دستگاه سونوگرافی در سیکل فحلی پرداخته شد و مشخص گردید که تعداد فولیکول‌ها در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل بطور معنی‌داری بیشتر بود. همچنین داده‌های این تحقیق نشان می‌دهد که در گروه تیمار تعداد فولیکول‌ها در تخمدان چپ بیشتر از تخمدان راست بوده و در گروه کنترل تعداد فولیکول‌ها در تخمدان راست بیشتر می‌باشد. بالا بودن میزان هورمون استروژن در آغاز فاز فولیکولار باعث شده است که در نوبت اول تعداد فولیکول‌ها بیشتر شده و فولیکول‌ها بیشتر رشد نمایند. با توجه به کاهش استروژن در نمونه دوم و سوم تعداد فولیکول‌های در نوبت دوم در هر دو گروه کاهش یافته است. اما نکته جالب توجه ارتباط مستقیم کاهش استروژن با تعداد فولیکول‌ها به نسبت متناسب با هر گروه می‌باشد که میزان کاهش استروژن در گروه کنترل بیشتر بوده پس تعداد فولیکول‌ها کاهش بیشتری نسبت به گروه تیمار داشته است که این مطلب با تحقیقات گذشته مطابقت دارد (۱۰). نتایج سایر تحقیقات نشان دهنده آن است که به دلیل کاهش میزان متابولیسم در حیواناتی که دچار محدودیت غذایی و گرسنگی هستند، میزان هورمون استروژن نیز کمتر دچار متابولیسم کبدی می‌گردد، بنابراین، با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت دارد (۵، ۷). از طرف دیگر تحقیقات نشان داده‌اند که کاهش میزان متابولیسم در حیوانات منجر به کاهش پاک‌سازی و کلیرنس هورمون آزاد کننده گنادوتروپین‌ها (GnRH) شده که افزایش این هورمون منجر به افزایش هورمون FSH نیز می‌گردد (۴، ۵). همچنین بایستی به ارتباط مستقیم میزان هورمون استروژن با FSH اشاره نمود که افزایش میزان استروژن منجر به افزایش FSH شده که هر دو منجر به افزایش تعداد و اندازه فولیکول‌ها بخصوص فولیکول غالب می‌گردند (۱). اما در رابطه با افزایش تعداد فولیکول‌ها در تخمدان سمت چپ نسبت به تخمدان سمت راست در گروه تیمار می‌توان احتمال داد که با توجه به محدودیت غذایی در این گروه، میزان فعالیت شکمبه کاهش یافته و در نتیجه میزان حرارت تولیدی آن نیز کاهش می‌یابد، پس میزان فعالیت تخمدان سمت چپ افزایش می یابد ولی در گروه کنترل تعداد فولیکول‌ها در تخمدان سمت راست بیشتر است که ممکن است ناشی از افزایش متابولیسم شکمبه و افزایش حرارت تولیدی آن باشد که به نظر می‌رسد این افزایش حرارت شکمبه منجر به کاهش فعالیت تخمدان سمت چپ شده و منجر به رشد تعداد فولیکول کمتری در آن شود و برعکس در تخمدان سمت راست که میزان حرارت پایین تر است، فعالیت بیشتر باشد (۵).

در طول سونوگرافی‌های متوالی، مشاهده شد که اندازه جسم زرد در تلیسه‌های گروه تیمار بزرگتر بوده و رشد بهتری داشته اند و در آخرین مرحله از سونوگرافی اندازه جسم زرد در گروه تیمار به شدت تحلیل رفته است. همچنین داده‌ها نشان می‌دهد که میزان تخمک‌گذاری در تخمدان سمت راست بیشتر از تخمدان سمت چپ بوده و نیز با پیشرفت در فاز لوتئال، اندازه جسم زرد در تخمدان سمت راست بیشتر شده است. با توجه به یافته‌های قطر و تعداد فولیکول‌ها، در رابطه با جسم زرد بدین صورت برداشت می‌شود که افزایش تعداد فولیکول در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل منجر به افزایش تخمک‌گذاری در گروه تیمار شده که اندازه جسم زرد نیز در این گروه متعاقبا افزایش می‌یابد (۱). از طرفی با توجه به ارتباط بین میزان هورمون استروژن و LH که افزایش استروژن منجر به افزایش LH می‌شود، با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد (۱۰). همچنین افزایش LH منجر به افزایش تخمک‌گذاری شده که این عمل در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل بیشتر بوده است. همان‌طوری که قبلاً ذکر شد، چون محدودیت غذایی منجر به کاهش متابولیسم حیوان می‌گردد، بنابراین منجر به افزایش میزان GnRH شده و این هورمون افزایش میزان LH و در نتیجه تخمک‌گذاری را به دنبال خواهد داشت (۲). از سویی چون در گروه تیمار میزان تخمک‌گذاری در تخمدان سمت راست بیشتر و همچنین اندازه جسم زرد در فاز لوتئال در تخمدان سمت راست بزرگتر بوده، که همگی ناشی از وجود شکمبه در سمت چپ می‌باشد، با تولید حرارت احتمالا بر فعالیت تخمدان سمت چپ تأثیرگذار بوده که منجر به بزرگتر شدن جسم زرد و نیز میزان بیشتر تخمک گذاری در تخمدان سمت راست می‌گردد (۴).

هورمون‌های جنسی

در ارتباط با میزان هورمون استروژن در این تحقیق مشاهده گردید که در گروه تیمار میزان این هورمون به مراتب بطور غیرمعنی‌داری بیشتر از تلیسه‌های گروه کنترل می‌باشد. به نظر می‌رسد از دلایل این افزایش، با توجه به رابطه مستقیم تعداد فولیکول‌های تخمدانی با میزان هورمون استروژن، تأثیر خود تنظیمی هورمون‌های استروژن و FSH باشد که در این تحقیق مشاهده می‌شود تعداد بالای فولیکول باعث افزایش هورمون FSH و به دنبال آن افزایش هورمون استروژن می‌شود که با تأثیر خود تنظیمی، هر دو هورمون را کنترل و منجر به افزایش خود می‌کند اما بالاتر بودن میزان استروژن در نمونه اول نسبت به دو نمونه بعدی در گروه تیمار ناشی از افزایش FSH و رشد فولیکولی ابتدای موج فولیکولی می‌باشد که همگی باعث افزایش استروژن می‌گردد و با کاهش هورمون FSH میزان هورمون استروژن نیز تا حدودی کاهش یافته است و در ادامه تخمک‌گذاری اتفاق افتاده است که دقیقا قبل از تخمک‌گذاری نسبت میزان هورمون استروژن و پروژسترون عکس می‌گردد یعنی استروژن کاهش و پروژسترون افزایش می‌یابد (۱).

در ارتباط با هورمون پروژسترون در گروه تیمار با افزایش فعالیت جسم زرد، میزان آن بیشتر از گروه کنترل گردیده و از نمونه‌گیری چهارم به بعد (روز ۵ فاز لوتئال) میزان هورمون پروژسترون در گروه تیمار بطور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است و در نمونه‌گیری هفتم (روز ۱۲ فاز لوتئال) میزان این هورمون نیز کاهش یافته است و این کاهش در گروه تیمار دارای شیب نزولی بیشتری نسبت به گروه کنترل می‌باشد. از دلایل این نتایج می‌توان به پیشرفت اندازه جسم زرد اشاره نمود که موجب افزایش میزان

هورمون پروژسترون در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل می‌باشد. افزایش این هورمون در گروه تیمار ممکن است در اثر کاهش متابولیسم غذایی نسبت به گروه کنترل باشد که با توجه به اوج فعالیت جسم زرد و نمونه‌های چهارم، پنجم و ششم افزایش سایز جسم زرد در گروه تیمار، این هورمون نسبت به گروه کنترل بطور معنی‌داری افزایش یافته است (۴). همچنین ممکن است محدودیت غذایی در گروه تیمار منجر به افزایش استفاده بهینه از میزان کلسترول موجود در جیره گردد و افزایش این ماده در سلول‌های لوتئال جسم زرد باعث افزایش هورمون پروژسترون می‌گردد که تحقیقات این افزایش را در روزهای ۵ تا ۱۰ فاز لوتئال نشان داده است (۱۱).

هورمون‌های متابولیکی

در این رابطه می‌توان چنین تفسیر کرد که هورمون رشد رابطه مستقیم با میزان مصرف خوراک دارد. هرچه میزان خوراک دام کمتر باشد این هورمون کاهش یافته و حتی بر روی وزن دام تأثیر می‌گذارد اما از آنجا که این گرسنگی کوتاه مدت است ضرری به وزن و اسکور بدن دام وارد نخواهد کرد، پس طبیعی است که در این طرح میزان هورمون رشد در گروه تیمار کمتر از گروه کنترل باشد ولی از آنجا که تفاوت غیرمعنی‌داری را نشان داده است، با استناد به نتیجه تحقیق لاکومب و همکاران (۸) ثابت می‌شود که گرسنگی کوتاه مدت تأثیر خاصی در کاهش وزن ندارد. از طرف دیگر در تحقیقی مشاهده شده است که محدودیت غذایی منجر به افزایش پاسخ غده هیپوفیز به هورمون آزاد کننده هورمون رشد و سرکوب عملکرد غده تیروئید (فاکتور ممانعت کننده از تولید هورمون رشد) می‌گردد (۸). همچنین مشاهده شده است که فاکتور سن بسیار بر روی میزان تولید هورمون رشد در ارتباط با پاسخ به سوماتوتروپین موثر می‌باشد و در حیوانات جوان در محدودیت غذایی میزان این هورمون کمتر تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۶) که این مطلب با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد.

در رابطه با میزان IGF۱ در این تحقیق مشخص شد که میزان این فاکتور رشد در گروه تیمار بطور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل می‌باشد. بطور کلی میزان IGF۱ در محدودیت غذایی در دام کاهش می‌یابد و از طرفی موجب افزایش تحریک سلول‌های گرانولوزایی در تخمدان می‌شود که در تولید استروژن توسط FSH نقش بسزایی را ایفا می‌نماید. همچنین محدودیت غذایی منجر به افزایش میزان FSH و بیان بیشتر گیرنده‌های FSH در سلول‌های گرانولوزا می‌گردد که این نتایج با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارند (۷). از طرف دیگر مشاهده شده است که محدودیت غذایی موجب کاهش IGF۱ و در نتیجه کاهش پاسخ فولیکول به FSH می‌شود که نتایج این تحقیق با نتایج تحقیق حاضر در رابطه با میزان IGF۱ هم‌خوانی داشته است (۱). همچنین مشخص شده است که محدودیت غذایی منجر به کاهش متابولیسم و سوخت و ساز بدن می‌گردد و در نتیجه میزان پاکسازی کبدی هورمون‌ها کاهش می‌یابد و از هورمون‌هایی که در محدودیت غذایی افزایش می‌یابد، میزان هورمون GnRH بوده که افزایش این هورمون منجر به افزایش میزان IGF۱ می‌گردد (۵).

میزان گلوکز در گروه کنترل و تیمار نشان می‌دهد که در نوبت اول نمونه گیری (روز ۵ گرسنگی) در گروه تیمار افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل وجود دارد، درحالی‌که در نمونه‌گیری نوبت دوم (روز ۱۰ گرسنگی) میزان گلوکز در گروه کنترل بطور غیرمعنی‌داری بیشتر از گروه تیمار می‌باشد. بطور کلی در نشخوارکنندگان، کاهش دریافت غذا در دوره محدودیت غذایی می‌تواند منجر به تغییر در تغییرات شکمبه‌ای، بالانس الکترولیت‌ها، هورمون‌ها و یا متابولیت گردد (۷). در دوران محدودیت غذایی گلوکز کاهش یافته و به دنبال آن میزان لپتین در تلیسه‌ها کم می‌شود. با کاهش لپتین، غلظت پلاسمایی گلوکز، انسولین و IGF۱ نیز کاهش می یابد. در افراد چاق این موارد ذکر شده کاهش یافته که کاهش شدید میزان لپتین، انسولین و گلوکز منجر به افزایش NEFA می‌گردد. مکانیسم‌های که موجب می‌شود گرسنگی منجر به کاهش غلظت پلاسمایی لپتین شود مشخص نیست. در حیوانات تک معده‌ای کاهش آن ناشی از افزایش فعالیت سمپاتیک، افزایش کتون‌ها و اسیدهای چرب آزاد و یا ناشی از کاهش غلظت انسولین و گلوکز در پلاسما می‌باشد (۷). حال با توجه به رابطه مستقیم میزان لپتین و گلوکز، در تحقیق حاضر با توجه به عدم اندازه‌گیری میزان هورمون لپتین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که در نوبت اول بدلیل محدودیت غذایی در گروه تیمار جهت سوخت و ساز بدن، دیگر منابع انرژی بدن تبدیل به گلوکز گردیده و افزایش در میزان گلوکز مشاهده می‌شود (۷). این نتایج با نتایج تحقیق کیمیا و همکاران (۷) و اسکارزنسی و همکاران (۱۱) هم‌خوانی دارد. البته در نوبت دوم دلیل کاهش میزان گلوکز در گروه تیمار ممکن است ناشی از کاهش ذخایر انرژی و سوخت و ساز در بدن تلیسه باشد که در اثر محدودیت غذایی دچار بالانس منفی انرژی و کاهش وزن بدن می‌گردد که این نتایج با نتایج تحقیق مک کان و هانسل (۹) نیز هم‌خوانی دارد. همچنین در زمان گرسنگی اسیدهای چرب آزاد و آمینواسیدها (آزاد شده از عضلات) در کبد و کلیه منجر به افزایش گلوکز می‌شود (۵).

در کل نتیجه‌گیری می‌شود که گرسنگی کوتاه مدت در فاز لوتئال در تلیسه‌های هلشتاین منجر به بهبود عملکرد تخمدانی و هورمون‌های استروئیدی گردیده و کاهش هورمون‌های متابولیکی از جمله GH و گلوکز در گرسنگی کوتاه مدت عوارضی بر وزن و نمره بدنی دام وارد نخواهد کرد و مصرف خوراک کمتر در فاز لوتئال مطلوب بوده و از جهت اقتصادی برای دامدار مقرون به صرفه خواهد بود.

پاورقی‌ها

1- Bremer Pharma GmbH, Warburg Germany
2- ADF
3- NDF
4- NFC
5- RUP
6- RDP

منابع مورد استفاده

1- Alexander, B.M., Kiyma, Z., McFarland, M., Van Kirk, E.A., Hallfard, D.M., Hawkins, D.E., Kane, K.K., and Moss, G.E. 2007. Influence of short-term fasting during the luteal phase of the estrous cycle on ovarian follicular development during the ensuing proestrus of ewe. *Animal Reproduction Science,* Vol, 97, pp: 356-363.

2- Almeida, F.R., Kirkwood, R.N., Aherne, F.X., and Foxcroft, G.R.

2000. Consequences of different patterns of feed intake during the estrous cycle in gilts on subsequent fertility. *Journal of Animal Sciences*, 78, pp: 1556-1563.

3- Chelikani, P.K., Ambrose, J.D., Keisler, D.H., and Kennelly, J.J. 2004. Effect of short-term fasting on plasma concentrations of leptin and other hormones and metabolites in dairy cattle. *Domestic Animal Endocrinology,* Vol, 26, pp: 33-48.

4- D'Occhio, M.J., Niasari-Naslaji, A., and Kinder, J.E. 1997. Influence of varied progestogen treatments on ovarian follicle status and subsequent ovarian superstimulatory responses in cows. *Animal Reproduction Science,* Vol, 45: 241-253.

5- Dunn, T.G., and Moss, G.E. 1992. Effects of nutrient deficiencies and excesses on reproductive efficiency of livestock. *Journal of Animal Science,* Vol, 70, pp: 1580-1593.

6- Hamilton, T.D., Vizcarra, A., Wettemann, R.P., Keefer, B.E., and Spicer, L.J. 1999. Ovarian function in nutritionally induced anoestrous cows: effect of exogenous gonadotrophin-releasing hormone in vivo and effect of insulin and insulin-like growth factor I in vitro. *Journal of Reproduction and Fertility*, Vol, 117, pp: 179-187.

7- Kiyma, Z., Alexander, B.M., Van Kirk, E.A., Murdoch, W.J., Hallford, D.M., and Moss, G.E. 2004. Effect of feed restriction on reproductive and metabolichormones in ewes. *Journal of Animal Science,* Vol, 82, pp: 2548-2557.

8- Lacombe, D., and Bird, M.D. 1993. The effect of restricted feeding on plasma growth hormone (GH) concentrations in growthing american kestrel. *The Cooper Ornithological Society*, Vol, 95, pp: 559-567.

9- McCann, J.P., and Hansel, W. 1986. Relationship between insulin and glucose metabolism and pituitary-ovarian functions in fasted heifers. *Biology of Reproduction,* Vol, 34, pp: 630-641.

10 - Niasari-Naslaji, A., Eslami, M., and Nazem, Y. 2011. Ovulatory response of different GnRH analoguse and subsequent corpus luteum lifespan in the presence of norgestomet in Holstein heifers. *Iranian Journal of Veterinary Research,* Vol, 13, pp: 1.

11- Skarzynski, D., Mlynarczuk, J., and Kotwica, J. 2003. Involvement of high-density lipoprotein in stimulatory effect of hormones supporting function of the bovin corpus luteum. *Acta Veternaria Hungarica,* Vol, 51, pp: 111-120.