

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

علی رضاپور^{۱*}، مهدی تقی‌نژاد^۱، غلامرضا اسدنسب^۲

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی، تبریز، ایران.
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، تبریز، ایران.
* نویسنده مسئول مکاتبات: a.rezapour@gmail.com
(دریافت مقاله: ۸۹/۱۰/۲۴، پذیرش نهایی: ۹۰/۳/۱۸)

چکیده

محدودیت غذایی در میش‌های آبستن، عاملی است که به صورت خواسته یا ناخواسته سلامتی جنین در حال رشد را تهدید می‌کند. هدف از این مطالعه بررسی اثر محدودیت غذایی بر غلظت سرمی گلوکز، تری‌آسیل گلیسرول، اسیدهای چرب غیراستریفیه، بتاهیدروکسی بوتیرات و اوره در گوسفندان قزل (بومی آذربایجان) در هشت هفته آخر آبستنی بود. الگوی طرح مورد استفاده اسپلیت پلات در زمان و تعداد نمونه مورد بررسی ۱۴ رأس میش بود. پس از آماده سازی و سازگاری دام‌ها و استفاده از جیره فلاشینگ، در خارج از فصل زایش همزمان‌سازی فحلی توسط سیدر گوسفندی ایجاد شد. القاء آبستنی به صورت جفت‌گیری طبیعی انجام گرفت. در هفته چهارم آبستنی، نمونه اولیه اخذ (P_0) و سپس گوسفندان به گروه‌های شاهد (T_2) و تیمار محدودیت غذایی (T_1) تقسیم‌بندی شدند. در دوره‌های مختلف آبستنی (P_1 تا P_3) نیز نمونه‌گیری انجام و غلظت سرمی هر یک از پارامترهای اشاره شده اندازه‌گیری شد. نتایج این مطالعه نشان داد که علی‌رغم ایجاد محدودیت غذایی به میزان ۲۷/۵-۱۶/۵٪، این محدودیت اثر معنی‌داری بر غلظت سرمی گلوکز و تری‌آسیل گلیسرول نداشت ولی از همین لحاظ تفاوت آماری معنی‌دار در مقایسه میانگین غلظت سرمی بتاهیدروکسی بوتیرات، اسیدهای چرب غیر استریفیه و اوره وجود دارد ($p < 0/05$). محدودیت غذایی در تعدادی از دام‌های مورد مطالعه کتوز ملایم تا متوسط ایجاد کرد. بنابراین، در محدودیت غذایی متعاقب فلاشینگ غذایی در ابتدای آبستنی، میش‌های آبستن با استفاده از ذخیره چربی و گلوکونئوز اقدام به حفظ هومئوستاز گلوکز و ادامه روند آبستنی می‌نمایند، در حدی که از ۱۰ رأس دام گروه تیمار محدودیت غذایی تنها یک رأس میش در انتهای آبستنی سقط کرد.

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

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

مقدمه

استفاده از کنسانتره و مواد دانه‌ای تأمین انرژی نگاه‌داری و آبستنی (۳/۶ مگا کالری انرژی قابل متابولیسم در روز) به ویژه در اواخر آبستنی عملاً امکان‌پذیر نیست. طبق توصیه NRC (۱۹۸۵) میزان انرژی مورد نیاز میش‌ها در زمان آبستنی ۲۰٪

علوفه قسمت عمده و به‌طور کلی ارزان‌ترین منبع غذایی برای گوسفند می‌باشد. از اینرو عمده‌ترین روش تغذیه گوسفند در کشور به ویژه در مواقعی که قیمت مواد خوراکی دانه‌ای افزایش می‌یابد، چرای مرتعی و استفاده از علوفه است. بدون

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

مواد و روش‌ها

الف. ویژگی‌های زمانی مطالعه: این مطالعه در شهر تبریز

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

ب. انتخاب، آماده‌سازی و سازگاری: تعداد ۲۱ رأس میش بومی هم‌سن غیرآبستن سالم (بر اساس معاینه بالینی و تاریخچه) با متوسط وزن $50 \pm 3 \text{ kg}$ انتخاب شد. به منظور جبران کمبودهای احتمالی ویتامینی یا مواد معدنی مهم، ویتامین AD_3E و CMP (کلسیم-منیزیوم-فسفر) به مدت ۳ روز به همه دام‌ها تزریق شد. از فرم سوسپانسیون ۲/۵٪ داروی آلبندازول به عنوان داروی ضدانگل وسیع الطیف با دوز 10 mg/kg استفاده شد. جیره این دوره دارای انرژی در حد نگه‌داری و معادل $1/97$ مگا کالری انرژی قابل متابولیسم (Mcal/Kg DM) و پروتئین خام قابل هضم ۸۸ گرم در هر کیلوگرم غذا (۶۰٪ از یونجه و ۴۰٪ کاه) و کل غذای مصرفی روزانه دام $1/4$ کیلوگرم بود (NRC 1985). انواع خوراک‌های مصرفی در جیره‌های فلاشینگ و سایر جیره‌ها به لحاظ محتوای پروتئینی طبق روش

افزایش می‌یابد. در طول هفته‌های آخر آبستنی، احتیاجات شدید به گلوکز (برای میش‌های آبستن تک‌قلو $1/5$ برابر و در دوقلو آبستن ۲ برابر سطح نگه‌داری) برای مادر به وجود می‌آید که به خاطر وزن‌گیری چند برابر جنین می‌باشد (۱). بنابراین در صورت چرای مرتعی در این برهه، در واقع گوسفندان در یک محدودیت غذایی به سر می‌برند و انرژی مصرفی آنها کمتر از حد مورد نیاز است. این در حالی است که مصادف بودن بره‌زایی با فصل زمستان (نظیر کشور ما) موجب محدودیت دام در استفاده از علوفه با کیفیت غذایی مطلوب می‌شود. بنابراین، در صورت عدم تأمین احتیاجات غذایی میش از طریق کنسانتره، گوسفندان آبستن ناچار به تحمل درجاتی از محدودیت غذایی می‌باشند.

در گوسفند غلظت سرمی گلوکز $80-50 \text{ mg/dl}$ و غلظت سرمی اوره $7/14-2/86 \text{ mmol/l}$ ($42/882-17/177 \text{ mg/dl}$) گزارش شده ولی در همین منبع، مقدار تری‌آسیل گلیسرول و اسیدهای چرب غیر استریفیه سرمی ذکر نشده است (۸). با توجه به این نکته که کربوهیدرات (گلوکز) و چربی عمده‌ترین منابع تأمین انرژی دام هستند (۸)، بنابراین محدودیت غذایی اثر بارزی را بر میانگین سرمی غلظت گلوکز و چربی‌ها خواهد داشت. در صورت محدودیت تأمین انرژی از کربوهیدرات‌ها و تأکید متابولیسم بدن دام بر استفاده از چربی‌ها و فراخوانی چربی از بافت‌های ذخیره‌ای آن، مقدار اسیدهای چرب غیراستریفیه سرمی افزایش خواهد یافت (۱۲). در واقع، در این حالت غیر از غذای دریافتی، بافت چربی تنها منبع تأمین انرژی بدن دام می‌باشد (۱۶). از سویی، به دلیل در دسترس نبودن مقادیر کافی اگزالواتات جهت اکسیداسیون استیل کوآنزیم A حاصل از بتا‌اکسیداسیون لیپیدها، واکنش‌های کتوزن انجام و اجسام کتوننی از جمله بتاهیدروکسی بوتیرات تولید خواهد شد (۱۲). بتاهیدروکسی بوتیرات از مهم‌ترین اجسام کتوننی در نشخوارکنندگان است که غلظت پلاسمایی طبیعی آن در گوسفند تا $0/04 \pm 0/05 \text{ mmol/l}$ بیان شده است (۸).

(EAZI-BREED CIDR, Pfizer New Zealand)

در مهبل گوسفندان قرار داده شد و در صبح روز چهاردهم (بنابه توصیه شرکت سازنده) سیدرها را خارج نموده و به هر میش به میزان ۵۰۰ واحد بین المللی هورمون PMSG (ایتروت هلندی) به صورت عضلانی تزریق شد. سپس ۲ رأس قوچ آماده به میش‌ها معرفی شد تا عمل آمیزش به صورت طبیعی انجام گیرد. حضور قوچ‌ها به مدت یک هفته در نظر گرفته شد. به وسیله سونوگرافی، از ۲۱ رأس دام اولیه، تعداد ۱۴ رأس میش آبستن با امتیاز بدنی و وزن یکسان برای انجام پژوهش حاضر انتخاب شدند.

مدرج در AOAC ۱۹۹۵ آنالیز شدند. طول این دوره ۲ هفته در نظر گرفته شد.

ج. آماده‌سازی با جیره فلاشینگ: انرژی جیره فلاشینگ ۲/۴ مگا کالری انرژی قابل متابولیسم (Mcal/Kg DM) و پروتئین خام قابل هضم آن ۱۱۰ گرم در هر کیلوگرم غذا (۳۵٪ کنسانتره و مابقی متشکل از یونجه و کاه به نسبت ۳ به ۲) بود (NRC 1985). مقدار غذای مصرفی هر رأس میش در این مرحله، ۱/۵ کیلوگرم ماده خشک در نظر گرفته شد (جدول ۱). طول این دوره در مجموع ۵ هفته بود (۳ هفته قبل از قوچ‌اندازی و ۲ هفته نخست قوچ‌اندازی).

د. آبستنی: یک هفته پس از شروع جیره فلاشینگ، سیدر گوسفندی (هر یک حاوی ۰/۳ گرم پروژسترون)

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

محدودیت غذایی II	محدودیت غذایی I	شاهد	۱۳ هفته اول آبستنی	فلاشینگ	اجزای ترکیب جیره غذایی
-	۶۶/۶	۴۲/۸	۴۰	۴۲/۸	یونجه
۱۰۰	۲۳/۴	۲۲/۲	۶۰	۲۲/۲	کاه
-	-	۱۴/۳	-	۱۴/۳	دانه ذرت
-	-	۱۴/۴	-	۱۴/۴	دانه جو
-	-	۳/۵	-	۳/۵	سبوس گندم
-	-	۱/۸	-	۱/۸	کنجاله سویا
-	-	۰/۴	-	۰/۴	پرمیکس ویتامین و مینرال
-	-	۰/۲	-	۰/۲	کربنات کلسیم
-	-	۰/۲	-	۰/۲	دی کلسیم فسفات
-	-	۰/۲	-	۰/۲	نمک طعام
۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۲	۱/۵	مقدار خوراک مصرفی هر رأس (بر حسب ماده خشک)

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

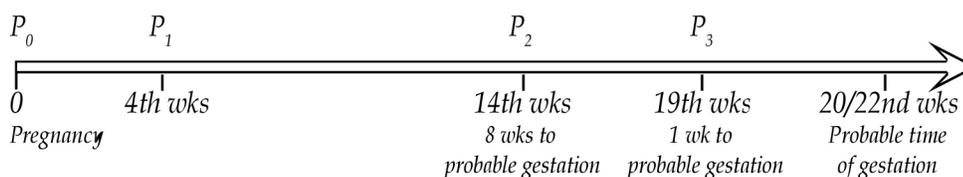
محدودیت II	محدودیت I	شاهد	۱۳ هفته اول آبهستی	فلاشینگ	
۹۱/۱	۸۸/۲	۸۸/۷	۸۹	۸۹/۱	ماده خشک جیره (درصد)
۱/۷۴	۲	۲/۴	۱/۸	۲/۴	انرژی قابل متابولیسم (Mcal/kg)
۴/۸	۱۱	۱۱/۲	۸/۲	۱۱/۶	پروتئین خام (درصد)
۰/۱۸	۰/۹۹	۰/۸۳	۰/۷۴۴	۰/۷۷	کلسیم (درصد)
۰/۰۵	۰/۱۸	۰/۲۷	۰/۱۱	۰/۳	فسفر (درصد)

مدت ۴ هفته (P_1) جیره‌ای با انرژی قابل متابولیسم ۲/۰ مگا کالری انرژی قابل متابولیسم (Mcal/Kg DM) و پروتئین خام ۱۱٪ دریافت داشتند. سپس این میش‌ها به مدت ۳ هفته با جیره محدودیت غذایی (P_2) که فقط دارای کاه گندم با محتوی انرژی قابل متابولیسم ۱/۷۴ مگا کالری (Mcal/Kg DM) و پروتئین خام ۴/۸٪ بود، تغذیه شدند.

و. نمونه برداری: نمونه‌گیری در ۴ دوره انجام شد: (۱) ابتدای آبهستی؛ (۲) هفته چهارم آبهستی؛ (۳) هشت هفته مانده به زایمان احتمالی؛ (۴) یک هفته مانده به زایمان احتمالی (شکل ۱). برای اخذ نمونه سرمی از ورید و داج استفاده شد. پس از جداسازی سرم، نمونه‌ها تا انجام آزمایشات در فریزر -70°C نگهداری شد.

۵. دسته‌بندی دام‌ها و جیره‌های آزمایشی: جیره‌های آزمایشی برای تمام گروه‌ها بر اساس احتیاجات غذایی گوسفندان (NRC 1985) تهیه شد. پس از اتمام مرحله فلاشینگ و قوچ اندازی، تمامی گوسفندان با جیره حاوی انرژی قابل متابولیسم ۲/۱۲ مگا کالری انرژی قابل متابولیسم (Mcal/Kg DM) و پروتئین خام ۸/۹٪ (جدول ۱) تغذیه شدند (NRC 1985). تعداد ۴ رأس میش آبهستن به عنوان گروه شاهد (T_2)، جیره‌ای با انرژی قابل متابولیسم ۲/۴ مگا کالری انرژی قابل متابولیسم (Mcal/Kg DM) و پروتئین خام ۱۱/۲٪ تا آخر آبهستی (P_0)، دریافت نمودند. برای ۱۰ رأس بقیه از ابتدای هفته ۱۴ آبهستی (۸ هفته مانده به تاریخ زایش احتمالی) محدودیت غذایی (T_1) به صورت زیر اعمال گردید: ابتدا به

P_{0-3} : periods of sampling



Alycon 300 ساخت ایالات متحده اندازه‌گیری شد. در ادامه به طور خلاصه روش کار در هر مورد ذکر می‌شود:

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

ز. انجام آزمایشات: برای اندازه‌گیری غلظت سرمی گلوکز، تری‌آسیل گلیسرول و اوره از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و برای اندازه‌گیری غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات از کیت تجاری شرکت رندوکس استفاده شد. کلیه پارامترها در مرکز خدمات دارویی تبریز (پشمینه) با اتوآنالایزر مدل

کیتیک آنزیمی و بر اساس تبدیل اسیدچرب غیراستریفیه ابتدا به فرم فعال آن و سپس اکسیداسیون و نهایتاً پروکسیداسیون آن و تولید محصول ارغوانی رنگ است که شدت جذب نوری این ماده متناسب با غلظت اسیدچرب غیراستریفیه می‌باشد. غلظت اسیدچرب غیراستریفیه به صورت میلی مول در لیتر سرم و از رابطه زیر بدست می‌آید:

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

ح. آنالیز آماری داده‌ها: آزمایش مورد استفاده اسپلیت پلات در زمان در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی است. فاکتور اصلی (T) دارای دو سطح (T_2 : شاهد، T_1 : تیمار محدودیت غذایی) و فاکتور دوم (P) دارای ۴ سطح (P_0 : شاهد یا ابتدای آبتنی، P_1 : هفته چهارم آبتنی، P_2 : هفته ۱۴ آبتنی یا ۸ هفته مانده به زایمان، P_3 : یک هفته مانده به زایمان) و تعداد تکرار مورد استفاده ۱۴ رأس دام بود. مقایسه میانگین داده‌ها با روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰.۵٪ با استفاده از نرم افزار SAS انجام گرفت.

یافته‌ها

نتایج حاصل از اندازه‌گیری پارامترهای سرمی فوق و مقایسه میانگین داده‌ها به روش دانکن در جداول ۳ تا ۶ آورده شده است. تجزیه واریانس آزمایش در قالب طرح ترکیبی فاکتوریل برای صفات مورد مطالعه (جدول ۳) نشان داد بین تیمارها از نظر میانگین غلظت سرمی اسیدهای چرب غیراستریفیه (NEFA)، بتاهدروکسی بوتیرات و اوره (به ترتیب $p < 0.05$ ، $p < 0.05$ و $p < 0.01$) و نیز به لحاظ دوره‌های مختلف آزمایش از نظر تری‌آسیل گلیسرول (TG)، اسیدهای چرب غیراستریفیه، بتاهدروکسی بوتیرات و اوره، در سطح احتمال ۰.۵٪ اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد. اثر متقابل (\times treatment period) و یا مقایسه میانگین ترکیبات تیماری برای صفات اوره و بتاهدروکسی بوتیرات در سطح احتمال ۰.۱٪ معنی‌دار بود.

اکسیژنه تولید می‌کند که در حضور پراکسیداز با فنل و ۴-آمینوآنتی‌پیرین تولید رنگ قرمز می‌نماید. شدت رنگ حاصله در طول موج ۵۵۰-۴۹۰ نانومتر با غلظت گلوکز نمونه متناسب است.

۲. اندازه‌گیری تری‌آسیل گلیسرول: تری‌آسیل گلیسرول سرم به روش کلری متری اندازه‌گیری شد. اساس آزمایش: تری‌گلیسرید موجود در نمونه توسط آنزیم لیپاز هیدرولیز شده، گلیسرول آزاد می‌شود. گلیسرول حاصل تحت اثر آنزیم‌های مختلف قرار گرفته، در نهایت وارد واکنش رنگی تریندر می‌شود. شدت رنگ حاصله در طول موج ۵۳۰ - ۴۹۵ نانومتر، متناسب با غلظت تری‌گلیسرید موجود در نمونه است.

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

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

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

۵. اندازه‌گیری اسیدهای چرب غیراستریفیه: بدین منظور از کیت تجاری شرکت Randox استفاده شد. این کیت به روش

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

Source of variation	df	Mean Square				
		Glucose	TG	NEFA	BHB	Urea
treatment (T)	۱	۱۵۰/۴۲ ns	۵/۰۰۷ ns	۰/۴۸۸۹*	۰/۴۲۸۹*	۱۵۶۹/۱۱**
error I (R/T)	۲۴	۴۳/۲۱	۲۶/۷۲	۰/۰۳۶۳	۰/۰۵۷۸	۶۹/۶۷
period (P)	۳	۵۸/۶۶ ns	۹۴/۳۶*	۰/۲۹۳۴*	۰/۰۷۰۴*	۸۱۸/۳**
P*T	۳	۳۴/۸۴ ns	۷۱/۵۹ ns	۰/۰۹۵۵ ns	۰/۱۲۵**	۱۱۵۳/۸۴**
error II	۲۶	۲۳/۵۱	۳۱/۳۳	۰/۰۵۷۲	۰/۰۱۸۸	۵۳/۵۸
C.V.	۱۶/۷	۲۴/۹۷	۳۲/۲۱	۳۲/۴۲	۱۹/۷۱	

بیانگر وجود اختلاف آماری معنی دار در سطح ۵٪ است.

** بیانگر وجود اختلاف آماری معنی دار در سطح ۱٪ است.

ns بیانگر فقدان اختلاف آماری معنی دار در سطح ۵٪ است.

جدول ۴- مقایسه میانگین بین تیمارها (T)، دوره‌ها (P) و اثرات متقابل (T×P) برای صفات مورد مطالعه به روش دانکن

Treatments	Mean				
	Glucose mg/dl	TG mg/dl	NEFA mmol/l	BHB mmol/l	Urea mg/dl
Restricted energy (T ₁)	۴۰/۵ ^a	۲۳/۱۳ ^a	۰/۹ ^a	۰/۵۶ ^a	۳۲/۸۷ ^b
Control (T ₂)	۴۶/۸۷۵ ^a	۲۱/۷۵ ^a	۰/۶ ^b	۰/۳ ^b	۴۱/۱۶ ^a
Periods					
P ₀	۵۱/۷۵ ^a	۱۵/۰ ^b	۰/۵۱ ^b	۰/۲۷ ^b	۲۰/۰ ^b
P ₁	۴۴/۲۲ ^a	۲۱/۸۹ ^a	۰/۵۴ ^b	۰/۳۱ ^b	۴۰/۶۷ ^a
P ₂	۴۲/۶۱ ^a	۲۳/۳۳ ^a	۰/۸۲ ^a	۰/۵۳ ^a	۳۸/۶۱ ^a
P ₃	۴۱/۰ ^a	۲۵/۳۳ ^a	۰/۹۷ ^a	۰/۵۰ ^a	۳۷/۷۸ ^a
Periods × Treatments					
T ₁ P ₁	۴۳/۸ ^a	۱۸/۰ ^a	۰/۴۴۷ ^a	۰/۳۰ ^b	۳۷/۴۰ ^b
T ₁ P ₂	۴۱/۱ ^a	۲۴/۶ ^a	۰/۹۱۸ ^a	۰/۷۳ ^a	۴۱/۴ ^a
T ₁ P ₃	۴۲/۷ ^a	۳۴/۵ ^a	۰/۸۳۸ ^a	۰/۶۴ ^a	۴۰/۸ ^a
T ₂ P ₀	۴۹/۰ ^a	۱۶/۱ ^a	۰/۲۲۹ ^a	۰/۲۷ ^b	۱۹/۱ ^d
T ₂ P ₁	۴۶/۰ ^a	۲۶/۰ ^a	۰/۲۶۳ ^a	۰/۳۲ ^b	۳۴/۳ ^{bc}
T ₂ P ₂	۴۷/۸ ^a	۲۱/۸ ^a	۰/۲۹۲ ^a	۰/۲۹ ^b	۳۶/۴ ^b
T ₂ P ₃	۴۲/۰ ^a	۲۴/۳ ^a	۰/۷۸۲ ^a	۰/۳۱ ^b	۳۶/۱ ^b

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

بحث و نتیجه‌گیری

لذا محدودیت غذایی موجب کاهش گلوکز سرمی نگردیده است و محدودیت غذایی توسط دام تحمل شده است. شایان ذکر اینکه، منبع اصلی انرژی در نشخوارکنندگان، اسیدهای چرب فرار حاصل از تخمیر کربوهیدرات‌های جیره به‌وسیله میکروارگانیسم‌های شکمبه هستند و از سویی مواد مغذی مورد نیاز برای رشد جنین همان مواد جذب شده از معده و روده نبوده و کبد مادر باید متابولیت‌های غیرقابل استفاده برای جنین را به مواد مغذی قابل استفاده برای جنین تبدیل کند، بیشتر گلوکز مورد استفاده جنین و مادر باید به وسیله گلوکوئوتوزن از مواد گلوکوژنیک (گلوکزساز) مانند پروپیونات، لاکتات، گلیسرول و برخی آمینواسیدها حاصل شود (۶ و ۷). در طول هفته‌های آخر آبستنی، احتیاجات شدید به گلوکز (برای میش‌های آبستن تک‌قلو ۱/۵ برابر و در دوقلو آبستن ۲ برابر سطح نگره‌داری) برای مادر به وجود می‌آید که به‌خاطر وزن گیری چند برابر جنین می‌باشد (۱). ولی همان‌طور که اشاره شد، میانگین غلظت سرمی گلوکز دام‌های مورد مطالعه کاهش نیافته بود. با عنایت به اینکه آبستنی باعث تحریک گلوکوئوتوزن مادر می‌شود (۱۷) - حتی اگر مصرف خوراک کم باشد - بنابراین ظاهراً قدرت عمل گلوکوئوتوزن در حدی بوده است که علی‌رغم القاء محدودیت غذایی و با افزایش مصرف گلوکز توسط جنین، میزان سرمی گلوکز کاهش نیافته است. همان‌طور که در پاراگراف قبلی نیز اشاره شد، شاید امتیاز مطلوب وضعیت بدنی دام‌ها در بدو آبستنی، همچنین زمان القاء محدودیت غذایی نیز در عدم کاهش معنی‌دار گلوکز سرمی بی-تأثیر نبوده است.

میانگین غلظت بتا‌هیدروکسی‌بوتیرات در گروه شاهد (T_2P_0) ابتدای آبستنی 0.27 mmol/l نسبت به مقدار آن در گروه محدودیت غذایی در دو دوره T_1P_3 (0.64 mmol/l) و T_2P_2 (0.73 mmol/l) به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). اگر یافته‌های Smith و همکاران (۱۹۹۶) که مقدار

با وجود اعمال محدودیت غذایی در جیره میش‌های آبستن در ۸ هفته پایانی آبستنی و کاهش انرژی مصرفی آنها در دو مرحله به‌ترتیب به میزان 16.5% و 27.5% مقدار توصیه شده (NRC 1985)، از ۱۰ رأس دام موجود در گروه تیمار محدودیت غذایی، تنها یک مورد سقط (در هفته آخر آبستنی) مشاهده گردید. که این امر شاید می‌تواند بیانگر مقاومت نسبی گوسفندان قزل بومی آذربایجان به این میزان از محدودیت غذایی باشد. از منظر دیگری نیز می‌توان این مورد را توجیه نمود، به این ترتیب که: با عنایت به فلاشینگ ابتدای دوره پرورش در مطالعه حاضر، این احتمال نیز وجود دارد که عدم بروز سقط علی‌رغم محدودیت یاد شده شاید به دلیل انجام فلاشینگ در ابتدای دوره است کما اینکه برخی مطالعات (۱۳) بیانگر این نکته است که دام‌های به درستی تغذیه شده در زمان قبل از جفت‌گیری که دارای ذخایر کافی از چربی‌ها می‌باشند، در مقابله با محدودیت انرژی بسیار مقاوم‌تر از دام‌هایی هستند که ذخایر چربی آنها به میزان کافی نبوده است. طبق اطلاعات همین منبع، محدودیت غذایی زمانی بیشترین اثر را بر عملکرد میش آبستن (وزن بره در هنگام تولد و میزان توسعه جفت) دارد که محدودیت غذایی در فاصله ۵۰ تا ۹۰ روزگی (حدود ۱۳-۷ هفته‌گی) آبستنی القاء شود. چرا که اصلی‌ترین زمان تکثیر سریع سلول‌های جفتی در همین زمان است. با توجه به این نکته که محدودیت غذایی در مطالعه حاضر از هفته ۱۴ آبستنی بوده است، بنابراین طبیعی است که دام‌ها مقاومت نسبی به محدودیت غذایی القاء شده در این مطالعه داشته باشند.

در گوسفندان میانگین غلظت سرمی گلوکز $50-80 \text{ mg/dl}$ گزارش شده است (۸). ولی در این مطالعه میزان سرمی گلوکز در گروه شاهد در کل دوره اندکی کمتر از مقدار فوق و در حدود $46/875 \text{ mg/dl}$ بود. میانگین غلظت سرمی گلوکز در کلیه دوره‌ها و تیمارها (جداول ۴ تا ۶) نسبت به گروه شاهد همان دوره، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح 5% نداشت و

مورد نیاز بوده و به روشنی می‌تواند تأییدگر توجیه یاد شده در فوق باشد.

در مقایسه میانگین بین دوره‌های مختلف برای صفت تری‌آسیل گلیسرول به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن (جدول ۵) ملاحظه شد که دوره شاهد (p_0) تفاوت آماری معنی‌داری با سایر دوره‌ها دارد ($p < 0/05$). کمترین مقدار تری‌آسیل گلیسرول در دوره p_0 ملاحظه شد که میانگین آن $15/0 \text{ mg/dl}$ بود و لذا با ادامه آبستنی در هر دو گروه تیمار و شاهد، میانگین مقدار تری‌آسیل گلیسرول سرمی افزایش یافته است. این تغییر نه به دلیل اعمال محدودیت غذایی (عدم اختلاف آماری معنی‌دار در جدول ۴) که به‌خاطر پیشرفت روند آبستنی و افزایش نیاز دام و جنین به انرژی بیشتر است. میزان تری‌آسیل گلیسرول در اواخر دوره، 60% افزایش داشته است که این امر همانطور که سابقاً نیز اشاره شد، بیانگر اهمیت استفاده از چربی در تأمین انرژی مورد نیاز دام می‌باشد.

در خصوص بررسی میانگین سرمی اوره تفاوت‌های آماری معنی‌دار بین تیمارها و دوره‌های مختلف ملاحظه شد (به‌شرح جداول ۴ تا ۶). ولی با عنایت به محدوده $42/82 \text{ mg/dl}$ - $17/177$ که در برخی منابع ذکر شده است (۸)، همه این مقادیر در محدوده یاد شده است و هیپراورمی تلقی نمی‌شود. تفاوت آماری معنی‌داری بین میانگین سرمی اوره در گروه تیمار محدودیت غذایی و تیمار شاهد و نیز بین دوره شاهد با سایر دوره‌ها ملاحظه شد ($p < 0/05$). در نگاهی کلی به تفاوت‌های آماری موجود در جدول ۶ روشنی‌درمی‌یابیم که محدودیت غذایی ۸ هفته آخر آبستنی به‌طور معنی‌داری موجب افزایش غلظت سرمی اوره شده است ($p < 0/05$). پژوهش‌های دیگر نیز نشان داده‌اند که یکی از علائم سوءتغذیه در اواخر آبستنی افزایش اوره خون است (۱۰). یک بررسی دیگر نیز نشان داد که از روز ۱۲۰ آبستنی تا زایمان، غلظت اوره خون می‌شود که جنین‌های سنگین‌تر داشتند، بیشتر بود (۵). به‌رحال با لحاظ تفاوت‌های آماری اشاره شده در جداول ۴ تا ۶ می‌توان

بیش از 1 mmol/l بتا‌هیدروکسی بوتیرات را ملاک تشخیص مسمومیت آبستنی می‌دانند (۱۵) قرار دهیم، میانگین سرمی هیچ‌کدام از دام‌های مورد مطالعه حتی در سخت‌ترین مراحل، مبتلا به کتوز آبستنی یا مسمومیت آبستنی نبوده‌اند (هرچند فقط در دوره ۲ و یک مورد در دوره ۳ میزان بتا‌هیدروکسی بوتیرات اندکی بیشتر از یک بود). ولی Kaneko و همکاران (۲۰۰۸) مقدار مرجع این ماده را $0/04 \pm 0/05 \text{ mmol/l}$ اعلام نموده‌اند (۸). بنابراین اساس در هر دو دوره T_1P_2 و T_1P_3 محدودیت غذایی منجر به کتوز شده است. با توجه به اختلاف آماری معنی‌دار بتا‌هیدروکسی بوتیرات گروه محدودیت غذایی در هر دو دوره فوق با گروه شاهد، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که محدودیت غذایی به روشنی موجب افزایش غلظت بتا‌هیدروکسی بوتیرات سرمی و ابتلا به کتوز شده است. افزایش بتا‌هیدروکسی بوتیرات اگرچه نتیجه مکانیسم جبرانی استفاده از چربی در صورت کمبود کربوهیدرات و توقف چرخه کربس است (۹) ولی از سویی هیپرکتونمی می‌تواند چرخه معیوبی را ایجاد کند که موجب تشدید هیپوگلاسمی خواهد شد (۱۴). البته مطالعات نشان می‌دهد که تا 30% از بتا‌هیدروکسی بوتیرات در میش آبستن با محدودیت غذایی می‌تواند به صورت دی‌اکسید کربن از راه بازدم دفع شود (۸). همبستگی مقدار گلوکز و اسیدهای چرب غیراستریفیه با بتا‌هیدروکسی بوتیرات منفی ولی غیر معنی‌دار بود که در تطابق با یافته‌های سایر محققان است (۱۱).

با عنایت به توضیحات فوق که افزایش بتا‌هیدروکسی بوتیرات به افزایش استفاده از اسیدهای چرب نسبت داده شد، غلظت سرمی اسیدهای چرب غیراستریفیه نیز اندازه‌گیری شد. غلظت این مواد در جیره تیمار محدودیت غذایی نسبت به گروه شاهد (جدول ۴) و نیز میانگین غلظت سرمی اسیدهای چرب در دوره‌های p_2 و p_3 نسبت به دوره‌های p_0 و p_1 معنی‌دار بود ($p < 0/05$) که بیانگر استفاده از ذخایر چربی جهت تأمین انرژی

در بررسی معادلات خطی درجه اول به منظور برآزش مدل مطالعه در خصوص پارامترهای گلوکز، بتا هیدروکسی بوتیرات، اسیدهای چرب غیراستریفیه و تری آسید گلیسرول اثر معنی دار ($p < 0/05$) مشاهده شد و به عبارتی زمان نمونه گیری که در دوره های مختلف آبستنی انجام گرفته است اثر معنی داری بر پارامترهای یاد شده دارد و نتایج حاصل از هر دوره قابل تعمیم به دوره های دیگر نیست. ولی از همین لحاظ مدل مورد مطالعه اثر معنی داری بر میانگین غلظت سرمی اوره نداشت.

با توجه به نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر می توان چنین پیشنهاد نمود که گوسفندان قزل مورد مطالعه در صورت آبستنی تک قلو با عنایت به پتانسیل ژنتیکی خود، حتی در اواخر آبستنی توان زیادی در تحمل محدودیت غذایی و به پایان رساندن این دوره دارند. علی رغم محدودیت غذایی شدید در حساس ترین دوره آبستنی، آنها می توانند با استفاده از مکانیسم های جبرانی همچنان از کاهش گلوکز سرمی ممانعت کرده، موجب تثبیت هموستاز غلظت گلوکز سرم خون شوند. انجام مطالعات مشابهی در شرایط آبستنی دوقلو در همین نژاد و سایر نژادهای ایرانی پیشنهاد می شود.

سپاسگزاری

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

نتیجه گرفت میش هایی که در محدودیت غذایی انرژی و پروتئینی بسر می بردند، پروتئین بیشتری را تجزیه و اسیدهای آمینه به دست آمده را به منظور تأمین گلوکز مورد نیاز جنین وارد مسیرهای گلوکونئوزن کرده اند و در اثر دامیناسیون، اوره خون آنها بالاتر رفته است، یعنی تأمین گلوکز برای جنین به قیمت شکسته شدن آمینواسیدها بوده است.

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

منابع

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

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

دانشگاه ابوعلی سینا، صفحه ۴۶۳.

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

Effects of food restriction on serum concentration of glucose, triacylglycerol, beta-hydroxy butyrate, non-esterified fatty acids and urea in pregnant ewes

Rezapour, A.^{1*}, Taghinezhad, M.^{1, 2}, Assadnasab, GH.²

1-Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

2-Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

*Corresponding author's email: a.rezapour@gmail.com

(Received: 2011/1/14, Accepted: 2011/6/8)

Abstract

Food restriction is a potential unwanted risk for a developing fetus in pregnant ewe. The objective of this study was to study the effects of food restriction on serum concentration of glucose, triacylglycerol, non-esterified fatty acids, beta-hydroxybutyrate and urea in the last 8 weeks of pregnancy in Ghezel sheep (Azerbaijan native). We used *Split-plot in time* design and the overall sample was 14 Ghezel ewes. After a primary preparation period and using flashing diet, oestrus cycle was synchronized in an out of breeding season with sheep CIDR. Pregnancy induction was carried out through natural mating. Primary sampling (P_0) was done 4 weeks after mating and then the ewes were divided and assigned to two groups: Control (T_2) and food restriction group (T_1). In different stages of pregnancy ($P_1 - P_3$) sampling was performed and the above mentioned parameters were measured. We used 16.5-27.5% food restriction. Our results surprisingly showed that food restriction had no statistically significant effect on serum glucose and triacylglycerol concentration, but it had a statistically significant effect on serum beta-hydroxy butyrate, non-esterified fatty acids and urea concentration ($p < 0.05$). Food restriction resulted in mild to moderate ketosis in some individual animals. We conclude that food-restricted pregnant ewes following initial flashing diet at the beginning of pregnancy could maintain their glucose homeostasis and end her pregnancy period by using fat reserves and gluconeogenesis. Only one ewe aborted during food restriction in the end stage of pregnancy and others tolerated the situation.

Keywords: Beta-hydroxy butyrate, Food restriction, Ghezel ewe, Glucose, Non-esterified fatty acids, Triacylglycerol, Urea