14(3) 19-26, Autumn 2022

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Effect of omega-3 fatty acid and antioxidant sources during flushing period on some blood parameters and lambing performance of breeding ewes

Mahdi Hatami, Hosein Mansoori Yarahmadi [*], Jafar Fakhraei, Abbas Ahmadi

Department of Animal Science, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

Key Words
Antioxidants
Bloods parameters
Fish oil
Flushing
Reproductive traits

Abstract

Introduction: This study was conducted to investigate the effect of using omega-3 fatty acid and antioxidant sources during flushing period on some blood parameters and lambing performance of breeding ewes. Recent experience has shown that the use of omega-3 and antioxidants improves reproduction performance.

Materials & Methods: 256 ewes were randomly divided into 8 groups with 32 ewes. The ewes daily received diets containing vitamin E (800 IU/day), fish oil (35 g/kg DM), and L-carnitine (500 mg/kg DM) or a combination of these. The blood samples were collected to investigate HDL-C, LDL-C, VLDL-C, triglycerides and cholesterol. Number of follicles, twinning, viability and abortion were investigated.

Results: Adding fish oil into diet, decreased LDL-C and VLDL-C ($P<0.05$). The highest number of follicles at the time of lambing, the highest number of twinning and the lowest number of abortions were observed in the groups of combined use of fish oil and antioxidants ($P<0.05$). Also, the lowest number of follicles, the lowest number of twinning and the highest number of abortions were observed in the fish oil group alone ($P<0.05$).

Conclusion: The results showed that a combination of fish oil and antioxidants in the diet during the flushing period is recommended to improve reproduction in ewes during the flushing period.

* Corresponding Author's email: h-mansouri@iau-arak.ac.ir
Received: 25 July 2021; Reviewed: 28 August 2021; Revised: 31 October 2021; Accepted: 2 December 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.305116.2638

مقاله پژوهشی

تأثیر اسید چرب امگا-۳ و آنتی‌اکسیدان طی دوره فلاشینگ بر برخی فراسنجه‌های خون و خصوصیات بره‌زایی گوسفندان داشتی

مهدی حاتمی، حسین منصوری یاراحمدی، جعفر فخرایی، عباس احمدی*

گروه علوم دامی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

کلمات کلیدی

آنتی‌اکسیدان
روغن ماهی
صفات تولیدمثلی
فراسنجه‌های خونی
فلاشینگ

چکیده

مقدمه: این مطالعه به‌منظور بررسی تأثیر استفاده از منابع اسید چرب امگا-۳ و آنتی‌اکسیدان طی دوره فلاشینگ بر برخی فراسنجه‌های خونی و خصوصیات بره‌زایی گوسفندان داشتی انجام شد. تجربیات اخیر نشان داده است که استفاده از امگا ۳ و آنتی‌اکسیدان‌ها عملکرد تولیدمثل را بهبود می‌بخشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ۲۵٦ رأس گوسفند، به‌طور تصادفی در ۸ گروه آزمایشی و در هر گروه آزمایشی ۳۲ رأس میش مورد مطالعه قرار گرفتند. میش‌ها، روزانه جیره‌های حاوی ویتامین E (۸۰۰ واحد بین‌المللی/ روز)، روغن ماهی (۳۵ گرم/کیلوگرم ماده خشک) و ال-کارنیتین (۵۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ماده خشک) و یا ترکیبی ازاین‌ها را دریافت کردند. نمونه‌های خون برای بررسی میزان لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا، پایین، بسیار پایین، تری‌گلیسرید و کلسترول اخذ شد. تعداد فولیکول‌ها، دوقلوزایی، زنده‌مانی و سقط بررسی شد.

نتایج: غلظت سرمی لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین و لیپوپروتئین‌های با دانسیته بسیار پایین در تیمارهای روغن ماهی در مقایسه با دیگر تیمارها به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود (P<۰/۰۵). بیش‌ترین تعداد فولیکول در زمان قوچ اندازی، بیش‌ترین دوقلوزایی و کم‌ترین سقط در گروه‌های استفاده توام روغن ماهی و آنتی‌اکسیدان‌ها مشاهده شد (P<۰/۰۵). هم‌چنین کم‌ترین تعداد فولیکول‌ها، کم‌ترین دوقلوزایی و بیش‌ترین سقط در گروه روغن ماهی به تنهایی مشاهده شد (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج حاکی از این یافته‌ها نشان داد، ترکیبی از روغن ماهی و آنتی‌اکسیدان‌ها در جیره طی دوره فلاشینگ، برای بهبود تولیدمثل در میش‌ها در دوره فلاشینگ توصیه می‌شود.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: h-mansouri@iau-arak.ac.ir

تاریخ دریافت: ۳ مرداد ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ٦ شهریور ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۹ آبان ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۱ آذر ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.305116.2638

مقدمه

عملکرد تولیدمثلی، فراسنجه مهم تولیدی در گوسفندان است، خصوصاً زمانی که تولید شیر و گوشت هدف باشد (۱). عملکرد تولید مثلی، بهره‌وری یک حیوان یا گله می‌باشد و شامل باروری، بره‌زایی، نرخ باروری و سن اولین باروری است (۲). تغذیه نقش مهمی روی عملکرد تولیدمثلی گوسفندان از طریق تأثیرگذاری بر محور هیپوفیزی هیپوتالاموسی دارد (۳). فلاشینگ و یا استفاده از جیره‌های غذایی مناسب، قبل و یا در طول فصل جفتگیری انجام می‌شود و باعث بهبود نرخ تخمک‌گذاری، دوقلوزایی، نرخ باروری و کاهش سقط جنین در اوایل آبستنی می‌شود (۴). در طول دوره فلاشینگ، ویتامین E می‌تواند برای بهبود تولیدمثل استفاده شود. ویتامین E یک ویتامین محلول در چربی می‌باشد که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی می‌باشد و بر سیستم تولیدمثلی، هورمونی تأثیر می‌گذارد، هم‌چنین به‌طور قابل توجهی برای درمان بیماری‌های تولیدمثلی استفاده می‌شود (۵، ۶). غلظت بهینه ویتامین E در طول دوره بره‌زایی به‌سختی حفظ می‌شود، چون در طول این زمان نیاز به آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش می‌یابد و پیش از زایمان برای بهبود دادن ایمنی مصرف می‌شود (۷). در یک مقاله مروری، اثرات مثبتی از ویتامین E بر رشد فولیکولی، فعالیت تخمدانی، کاهش سقط جنین، مرده‌زایی و بهبود سیستم ایمنی مادر و بره گزارش شد (۸). اسیدهای چرب از جمله منابع دیگری هستند که برای افزایش دادن نرخ باروری، بهبود دادن تعادل انرژی جیره، افزایش کیفیت شیر، تحریک رشد فولیکولی، بهبود تولید هورمون‌های تولیدمثلی و غلظت پروژسترون قبل از جفتگیری، می‌تواند به جیره میش‌ها اضافه شود (۹)، هم‌چنین اسیدچرب امگا-۳ باعث بهبود عملکرد سیستم ایمنی در مرغ تخم‌گذار می‌شود (۱۰)، در مطالعه‌ای به تأثیر افزودن ۴۰ گرم در روز روغن ماهی در جیره فلاشینگ میش‌ها برای بهبود عملکرد تولیدمثلی توصیه شد (۱۱). ال-کارنیتین، ساختاری محلول در آب است که برای درمان ناباروری استفاده می‌شود و ساز و کار آن از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی اووسیت، بهبود باروری و رشد جنین در حیوانات است (۱۲). تأثیر مثبتی اضافه کردن ۲۵۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین در جیره بر روی بهبود تولیدمثل در گوسفندان گزارش شده است (۱۳). وضعیت تغذیه‌ای و ساختار اسیدهای چرب جیره نقش کلیدی در تنظیم چربی و کلسترول خون دارند و تجمیع زیاد کلسترول و دیگر لیپیدها اثرات منفی روی باروری حیوانات نر و ماده دارد (۳). مطالعات اثرات مثبتی از ویتامین E (۸)، اسیدهای چرب امگا-۳ (۱۴) و ال-کارنیتین (۱۵) را روی بهبود پروفایل لیپیدی میش‌ها و بره‌ها گزارش کرده‌اند. در مجموع، افزودن ویتامین E، اسیدهای چرب امگا-۳ و ال-کارنیتین به جیره می‌تواند تأثیرات مثبتی روی عملکرد تولیدمثلی بگذارد و هم‌چنین تأثیر مثبتی روی پروفایل لیپیدی دارند که به نوبه خود ارتباط مستقیمی با عملکرد تولیدمثلی دارد. اسیدهای چرب امگا-۳ به‌عنوان یکی از عوامل تأثیرگذار بر افزایش میزان باروری می‌باشد. از طرفی در مقالات گذشته به اثرات آنتی‌اکسیدان و مصرف آن‌ها همراه با اسیدهای چرب اشاره شده است. با توجه به مقالات جدید آنتی‌اکسیدان به تنهایی بر میزان فعالیت‌های تولیدمثل و تأثیر آن بر خصوصیات بره نظر داشته که در این مطالعه مقایسه بین اسیدچرب امگا-۳، ویتامین E و ال-کارنیتین صورت گرفته است که بتوانیم توصیه‌ای جهت استفاده از هرکدام در جهت بهبود پروفایل لیپیدی و تولیدمثل داشته باشیم. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر افزودن ویتامین E، اسیدهای چرب امگا-۳ و ال-کارنیتین به جیره طی دوره فلاشینگ بر برخی فراسنجه‌های خونی و خصوصیات تولیدمثلی در گوسفندان داشتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش، ۲۵۶ رأس گوسفند ۴-۳ ساله از نژاد شال با میانگین وزن ۵±۶۰ کیلوگرم در استان قم و در فصل زمستان مورد مطالعه قرار گرفتند. گوسفندان به‌طور تصادفی در ۸ گروه آزمایشی و ۳۲ رأس میش در هر گروه آزمایشی مورد مطالعه قرار گرفتند. تقسیم گروه‌ها براساس شکم زایش، سن و وزن به گونه‌ای بود که میانگین گروه‌ها یکسان باشد. میش‌ها در ۸ گروه، ۱) شاهد (عدم دریافت ویتامین E، ال-کارنیتین و روغن ماهی)، ۲) ۳۵ گرم/کیلوگرم ماده خشک، روغن ماهی (F)(۶)، ۳) ۵۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ماده خشک ال-کارنیتین (L) (۸)، ۴) ۸۰۰ واحد بین‌المللی/ روز ویتامین E (E) (۱۹)، ۵) روغن ماهی+ویتامین E (FE)، ۶) روغن ماهی+ ال-کارنیتین (FL)، ۷) ویتامین E + ال-کارنیتین (EL) و ۸) روغن ماهی + ویتامین E + ال-کارنیتین (FEL) قرار گرفتند. جیره آزمایشی براساس NRC تنظیم شدند (۱۶) و ساختار جیره در جدول ۱ آورده شده است. در این مطالعه، ۱۰ روز به‌عنوان دوران عادت‌پذیری درنظر گرفته شد که افزودنی‌ها به‌تدریج وارد جیره دام‌ها شد و سپس مدت ۲۰ روز از جیره آزمایشی تغذیه کردند و سپس هم‌زمان‌سازی فحلی صورت گرفت. جیره‌ها در چهار وعده با اختلاف ۶ ساعتی به دام‌ها داده شد. برای هم‌زمان‌سازی فحلی از سیدر (Eazi-Breed™, CIDR; New Zealand) استفاده شد. سیدرها برای مدت ۱۴ روز در ناحیه واژن قرار گرفتند و بعد از خروج سیدر، PMSG (PG-600، ۴۰۰ واحد بین‌المللی PMSG + ۲۰۰ واحد بین‌المللی hCG) برای تمام گروه‌ها تزریق شد و سپس قوچ‌اندازی صورت گرفت. بعد از قوچ‌اندازی جیره به‌مدت ۲۵ روز دیگر ادامه داده شد. در این مطالعه، قبل از آداپته کردن و

قبل از قوچ‌اندازی سونوگرافی با پروب رکتالی ۷/۵ مگاهرتز روی فولیکول، فولیکول‌های بالای ۳ میلی‌متر اندازه‌گیری و یادداشت شدند و ۲۵ روز بعد از قوچ‌اندازی سونوگرافی با همان پروب رکتالی ۷/۵ مگاهرتز برای تشخیص میزان سقط در زمان زایمان انجام شد، هم‌چنین دوقلوزایی و زنده‌مانی پس از زایمان مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، قبل از دوره عادت‌پذیری و در زمان قوچ‌اندازی، نمونه‌های خون از ورید وداج میش‌ها گرفته شد و در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شد و بعداز سانتریفیوژ (بادور ۳۰۰۰) به‌مدت ۱۵ دقیقه، میزان لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا، لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین، لیپوپروتئین‌های با دانسیته بسیار پایین، تری‌گلیسرید و کلسترول با استفاده از کیت الایزای شرکت پارس آزمون بررسی شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه شماره ۹/۴) آنالیز شدند. تست نرمالیته کالموگروف اسمرینف و مقایسه میانگین تیمارها از طریق آزمون دانکن انجام پذیرفت.

جدول ۱: اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده (درصدی از ماده خشک)

اجزای جیره	ماده خوراکی (درصد)
یونجه خشک (Alfalfa)	۴۰/۰۰
کاه گندم (Wheat straw)	۴۵/۰۰
دانه جو (Milled barley)	۳/۰۰
دانه ذرت (Milled corn)	۷/۵۰
کنجاله سویا (Soybean meal)	۰/۵۰
ملاس نیشکر (Molasses Beet Sugar)	۱/۵۰
تفاله چغندر قند (Beet Sugar Pulp)	۱/۵۰
مکمل ویتامینی-معدنی (Mineral and vitamin supplements)[1]	۱/۰۰
ترکیبات شیمیایی خوراک	
ماده خشک مصرفی (Dry Matter Intake)	۱۱۵۰ گرم/روز
انرژی قابل متابولیسم (Metabolizable energy)	۲/۲۶ مگا کالری/روز
پروتئین خام (Crude protein)	۱۱/۴ درصد
الیاف نا محلول در شوینده خنثی (Neutral Detergent Fiber)	۵۴ درصد
کلسیم (Calcium)	۰/۶ درصد
فسفر (Phosphorus)	۰/۳ درصد

۱. مکمل ویتامینی-معدنی: ۱۹/۶درصد کلسیم، ۹/۶ درصد فسفر، ۷/۱ درصد سدیم، ۱/۹ درصد منیزیم، ۰/۳ درصد آهن، ۰/۰۳ درصد مس،۰/۲ درصد منگنز، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۱/۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۵۰×۱۰^{۵} واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰×۱۰^{۵} واحد بین‌المللی ویتامین D، فاقد ویتامین E.

نتایج

تأثیر تیمارهای آزمایشی روی لیپیدهای خونی در دوره فلاشینگ در جدول ۲ نشان داده شده است. در دوره قبل از عادت‌پذیری، فراسنجه‌های خونی غیر از لیپوپروتئین‌های با دانسیته بسیار پایین تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند اما در دوره بعد از عادت‌پذیری غلظت سرمی لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین و لیپوپروتئین‌های با دانسیته بسیار پایین به‌صورت معنی‌داری اختلاف بین تیمارهای آزمایشی را نشان داد ($P<۰/۰۵$). نتایج نشان داد که غلظت سرمی لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین و لیپوپروتئین‌های با دانسیته بسیار پایین در تیمارهای روغن ماهی در مقایسه با دیگر تیمارها به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود ($P<۰/۰۵$). مقادیر کلسترول و تری‌گلیسرید خون تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. تأثیر تیمارهای آزمایشی روی فولیکول‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. در دوره قبل از عادت پذیری، تعداد فولیکول‌های بالای ۳ میلی‌متر تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. تعداد فولیکول‌ها در سونوگرافی دوم که قبل از قوچ‌اندازی اندازه‌گیری گردید تغییرات معنی‌داری را بین تیمارها نشان داد. بیش‌ترین مقدار فولیکول در تیمار دریافت‌کننده روغن ماهی با ویتامین E مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$)، هر چند که با گروه‌های ترکیب روغن ماهی با ال کارنتین و آنتی‌اکسیدان‌ها (FEL, FL) تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. کم‌ترین تعداد فولیکول در میش‌های دریافت کننده روغن ماهی مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$). اثرات تیمارهای آزمایشی روی درصد دوقلوزایی، زنده‌مانی و سقط در جدول ۴ نشان داده شده است. درصد زنده‌مانی، دوقلوزایی و سقط تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند ($P<۰/۰۵$). گروه‌های دریافت‌کننده روغن ماهی با ترکیب آنتی‌اکسیدان‌ها بیش‌ترین درصد دوقلوزایی را نشان داد ($P<۰/۰۵$). درصد زنده‌مانی اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد اما بیش‌ترین درصد زنده‌مانی مربوط به گروه دریافت‌کننده ویتامین E، اسید چرب امگا-۳ و ال-کارنیتین بود، هم‌چنین این گروه کم‌ترین درصد سقط را نسبت به دیگر تیمارها نشان داد ($P<۰/۰۵$). میش‌های استفاده‌کننده از روغن ماهی به‌عنوان منبع اسیدچرب امگا-۳ کاهش درصد دوقلوزایی و افزایش درصد سقط را نشان دادند ($P<۰/۰۵$).

جدول ۲: اثرات تیمارهای آزمایشی روی لیپیدهای خونی (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) در دوره قبل از عادت‌پذیری (۱) و قبل از قوچ‌اندازی (۲) در میش‌ها طی دوره فلاشینگ

گروه‌های آزمایشی[1] (Experimental treatments)	شاهد	E	L	LE	F	FE	FL	FEL	SEM	P-Value
لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین LDL (۱)	۲۱/۳۵	۲۰/۸۹	۲۰/۹۹	۲۱/۰۳	۲۰/۴۸	۱۹/۷۱	۱۹/۷۲	۱۸/۸۲	۲/۱۷	۰/۹۴۳
لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین LDL (۲)	۱۹/۹۹^{a}	۱۸/۲۷^{ab}	۱۹/۲۸^{ab}	۱۸/۵۰^{ab}	۱۵/۱۰^{bc}	۱۲/۷۰^{c}	۱۲/۹۸^{c}	۱۳/۲۰^{c}	۰/۴۶	۰/۰۰۷
لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا HDL (۱)	۲۰/۴۷	۲۱/۶۲	۲۱/۶۸	۲۲/۲۱	۲۳/۸۲	۲۴/۹۳	۲۵/۰۲	۲۵/۱۳	۰/۶۰	۰/۳۴۸
لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا HDL (۲)	۲۱/۴۰	۲۴/۳۰	۲۴/۳۴	۳۳/۹۳	۲۵/۰۷	۲۶/۳۶	۲۶/۳۵	۲۶/۶۴	۰/۶۴	۰/۳۳۸
کلسترول Cholesterol (۱)	۴۸/۶۹	۴۸/۵۹	۴۵/۸۰	۴۶/۰۱	۴۷/۲۷	۴۴/۰۲	۴۴/۰۴	۴۴/۰۶	۱/۱۱	۰/۹۷۴
کلسترول Cholesterol (۲)	۴۵/۹۱	۴۴/۱۴	۴۴/۱۹	۴۴/۵۰	۴۲/۳۸	۴۰/۴۰	۴۰/۰۶	۴۰/۳۱	۱/۰۲	۰/۸۰۹
تری‌گلیسرید TG (۱)	۱۴/۷۹	۱۳/۵۷	۱۳/۳۹	۱۳/۵۵	۱۴/۳۹	۱۳/۸۶	۱۳/۷۹	۱۳/۶۹	۰/۳۱۰	۰/۹۷۴
تری‌گلیسرید TG (۲)	۹/۳۶	۹/۳۲	۹/۳۳	۹/۳۵	۹/۳۷	۹/۴۳	۹/۳۱	۹/۳۴	۰/۲	۱/۰۰
لیپوپروتئین‌های دانسیته بسیار پایین VLDL (۱)	۳/۹۴^{a}	۳/۶۴^{ab}	۳/۵۵^{ab}	۳/۵۵^{ab}	۳/۲۶^{ab}	۳/۰۷^{b}	۲/۹۹^{b}	۲/۹۸^{b}	۰/۰۹۵	۰/۰۶۶
لیپوپروتئین‌های دانسیته بسیار پایین VLDL (۲)	۲/۷۴^{a}	۲/۶۵^{a}	۲/۵۸^{ab}	۲/۴۱^{ab}	۲/۱۰^{bc}	۱/۸۸^{c}	۱/۸۱^{c}	۱/۸۵^{c}	۰/۰۸۸	۰/۰۰۲

^{a,b,c}حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نماینگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارها می‌باشد.

۱. شاهد (عدم دریافت ویتامین E، ال-کارنیتین و روغن ماهی)، روغن ماهی (F)، ال-کارنیتین (L)، ویتامین E (E)، روغن ماهی+ ویتامینE (FE)، روغن ماهی+ ال-کارنیتین (FL)، ویتامین E + ال-کارنیتین (EL)، روغن ماهی + ویتامین E + ال-کارنیتین (FEL).

جدول ۳: اثرات تیمارهای آزمایشی روی فولیکول‌ها قبل از عادت‌پذیری (۱) و قبل از قوچ‌اندازی (۲) در میش‌ها در دوره فلاشینگ (بزرگ‌تر از ۳ میلی‌متر)

گروه‌های آزمایشی[1] (Experimental treatments)	شاهد	E	L	LE	F	FE	FL	FEL	SEM	P-Value
فولیکول follicle (۱)	۱/۱۲	۱/۱۳	۱/۱۴	۱/۰۸	۱/۰۵	۱/۱۴	۱/۱۰	۱/۱۱	۰/۰۲۴	۰/۹۹۳
فولیکول follicle (۲)	۱/۰۳^{b}	۱/۱۴^{b}	۱/۱۵^{b}	۱/۲۲^{b}	۰/۸۱^{c}	۱/۵۰^{a}	۱/۴۶^{a}	۱/۶۷^{a}	۰/۰۵۸	۰/۰۰۰۱

^{a,b,c}حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نماینگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارها می‌باشد.

۱. شاهد (عدم دریافت ویتامین E، ال-کارنیتین و روغن ماهی)، روغن ماهی (F)، ال-کارنیتین (L)، ویتامین E (E)، روغن ماهی+ ویتامینE (FE)، روغن ماهی+ ال-کارنیتین (FL)، ویتامین E + ال-کارنیتین (EL)، روغن ماهی + ویتامین E + ال-کارنیتین (FEL).

جدول ۴: اثرات تیمارهای آزمایشی روی دوقلوزایی (درصد)، زنده‌مانی (درصد) و سقط (درصد) در میش‌ها در دوره فلاشینگ

گروه‌های آزمایشی[1] (Experimental treatments)	شاهد	E	L	LE	F	FE	FL	FEL	SEM	P-Value
دوقلوزایی Twinning	۲۳/۶۶^{cd}	۲۹/۶۵^{bc}	۳۱/۴۲^{bc}	۳۹/۶۵^{b}	۱۴/۵۷^{d}	۶۳/۱۱^{a}	۶۵/۲۹^{a}	۷۳/۵۰^{a}	۴/۳۸	۰/۰۰۰۱
زنده‌مانی viability	۹۲/۴۴	۹۵/۷۶	۹۵/۷۶	۹۳/۶۷	۹۴/۸۳	۹۵/۲۲	۹۷/۹۱	۱۰۰/۰۰	۲/۱۹	۰/۹۹۷
سقط abortion	۳/۹۶^{b}	۳/۱۷^{c}	۳/۰۸^{c}	۳/۰۰^{c}	۴/۶۴^{a}	۲/۴۰^{d}	۲/۶۸^{cd}	۱/۲۰^{e}	۰/۲۰۸	۰/۰۰۰۱

^{a,b,c}حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نماینگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارها می‌باشد.

۱. شاهد (عدم دریافت ویتامین E، ال-کارنیتین و روغن ماهی)، روغن ماهی (F)، ال-کارنیتین (L)، ویتامین E (E)، روغن ماهی+ ویتامینE (FE)، روغن ماهی+ ال-کارنیتین (FL)، ویتامین E + ال-کارنیتین (EL)، روغن ماهی + ویتامین E + ال-کارنیتین (FEL).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که تنها روغن ماهی توانست غلظت لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین و بسیار پایین خون را کاهش دهد. هم‌سو با نتایج مطالعه حاضر، مطالعات قبلی اثرات کاهندگی لیپید روغن ماهی را در بره‌ها گزارش کرده‌اند (۱۴). مکمل‌های حاوی امگا-۳ و ویتامین E به‌طور قابل توجهی غلظت سرمی تری‌گلیسرید و لیپو پروتئین با دانسیته پایین را کاهش می‌دهند (۱۷). در مطالعه دیگری بر روی جوجه‌های گوشتی با افزودن روغن ماهی به جیره، افزایش میزان لیپوپروتئین با دانسیته بالا و کاهش میزان لیپوپروتئین با دانسیته پایین و کلسترول مشاهده شد (۱۸). نتایج حاکی از تأثیر مثبت روغن ماهی در بهبود لیپیدهای خونی و تأثیر تیمارهای ترکیبی بر خصوصیات بره‌زایی بود. سنتز هورمون‌های استروئیدی در بافت‌های

تولید مثلی در سلول‌های تکا و گرانولوزا رخ می‌دهد و از کلسترول به‌عنوان بستری برای استروئیدوژنز استفاده می‌شود. HDL و LDL هر دو نقش مهمی در انتقال کلسترول به بافت تخمدان را دارند (۱۹). قبل از جفتگیری، میش‌ها برای ساخت هورمون‌های تولیدمثلی همانند پروژسترون، کورتیزول، کورتیکوسترون و استرادیول به کلسترول نیاز دارند و یک جزء ضروری برای ساخت این هورمون‌ها می‌باشد (۹). مطالعات نشان دادند، هم‌زمان با افزایش اندازه فولیکول‌ها، فعالیت متابولیکی فولیکول و ترکیبات بیوشیمیایی مایع فولیکولی تغییر می‌کند با توجه به این‌که بخشی از ترکیبات مایع فولیکولی منشأ از سرم خون دارند، لذا رشد و بلوغ فولیکول و در نهایت تخمک‌گذاری متأثر از غلظت متابولیت‌های خون ازجمله کلسترول نیز می‌باشند. کلسترول ازجمله متابولیت مهم خون می‌باشد که بر باروری حیوان تأثیر می‌گذارد (۲۰). در مطالعه‌ای به‌وضوح نشان داده شد که تفاوت در تجمع تری گلیسیرید و کلسترول در سلول‌ها به ترکیبات چربی موجود در رژیم غذایی وابسته است و هم‌چنین نشان داده شد که استفاده از روغن ماهی باعث افزایش این امر می‌شود (۲۱)، افزایش کلسترول در بافت‌های تولید مثلی با کاهش باروری و عدم تخمک‌گذاری همراه است و تأثیرات زیان‌باری مانند سقط را به‌همراه خواهد داشت. گفتنی است، میزان کلسترول در تولید هورمون‌های جنسی تاثیرگذار است و کلسترول بالا در بافت‌ها باعث به‌هم زدن تعادل آن‌ها در بدن می‌شود. بررسی‌ها نشان می‌دهند، بین میزان کلسترول و بارداری ارتباط مستقیمی وجود دارد و زیاد بودن میزان آن نمی‌گذارد روند بارداری به‌صورت طبیعی پیش برود (۱۳)، تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال با افزایش میزان کلسترول و تری‌گلیسرید در خون و بافت‌ها گزارش شده است (۲۲، ۲۳). بیش از حد شدن کلسترول در بافت تخمدان باعث کاهش عملکرد فولیکولوژنز می‌شود و روند تولید چرخه فولیکولی را مختل می‌کند که این می‌تواند به‌دلیل تجمع بیش از حد چربی و افزایش اکسیژن فعال در بافت، در نهایت کاهش میزان فولیکول‌ها باشد (۲۴). نتایج نشان داد که افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها به جیره، تأثیری روی زنده‌مانی نداشت، ولی توانست دوقلوزایی را افزایش و سقط جنین را کاهش دهد و هم‌چنین باعث افزایش میزان فولیکل‌ها شود در مشاهده حاضر تیمارهای ترکیبی اثرات بهتری را نشان دادند. استفاده از روغن ماهی بدون وجود آنتی‌اکسیدان باعث کاهش دوقلوزایی، کاهش میزان فولیکول‌های تخمدان و افزایش سقط می‌شود. هم‌خوان با یافته‌های این مطالعه، مطالعات اثرات مثبت ویتامین E بر رشد فولیکولی، فعالیت تخمدانی، کاهش سقط جنین و مرده زایی (۸)، اثرات ال-کارنیتین بر بهبود باروری و رشد جنین در حیوانات (۱۲) و اثرات اسیدچرب امگا-۳ بر بهبود خصوصیات تولیدمثلی در میش‌ها (۲۵)، گزارش کرده‌اند. در مطالعه‌ای پس از استفاده از منابع مختلف اسیدهای چرب امگا-۳، کیست تخمدانی در تخمدان مشاهده نشد و فولیکول‌های سالم با اندازه طبیعی در مراحل مختلف رشد با تخمک، جسم‌زرد و لایه سلول گرانولوزای واضح و قابل مشاهده در رژیم غذایی مورد استفاده از روغن ماهی مشاهده شد (۲۶). مطالعات ارتباط مستقیمی را بین تعداد فولیکول‌های با قطر حداقل ۳ میلی‌متر، با راندمان تولیدمثل پس از زایش گزارش کرده‌اند. در نشخوارکنندگان، الگوی رشد و نمو فولیکول‌های تخمدان موج مانند بوده و هر چه تعداد فولیکول‌هایی که در این امواج فولیکولی به‌کار گرفته می‌شوند بیش‌تر باشد، راندمان تولیدمثلی بهتر خواهدبود (۲۷). جسم‌زرد پس از تخمک‌گذاری تشکیل شده و پروژسترون تولید می‌کند که برای ایجاد و حفظ حاملگی ضروری است اکسیژن‌فعال بر سنتز پروژسترون تأثیر می‌گذارد و مانع اثر بالقوه آن می‌شود (۲۸). با توجه به مطالعات انجام شده روغن ماهی باعث تولید ترانس می‌شود (۲۹)، اسیدهای چرب ترانس ممکن است فعالیت‌های مهارکننده پلاسمینوژن، یک عامل خطر برای از دست‌دادن جنین را افزایش دهد. اسیدهای چرب ترانس ممکن است خطر ناباروری و تخمک‌گذاری در زمانی‌که به‌جای مصرف کربوهیدرات از چربی‌های غیراشباع استفاده می‌شود را افزایش دهد، کاهش اسیدهای چرب ترانس هم‌چنین ممکن است باعث بهبود باروری شود (۳۰). اسیدهای چرب ترانس به‌طور قابل توجهی تولید اکسیژن فعال داخل سلولی را افزایش می‌دهد (۳۱)، گونه‌های اکسیژن فعال می‌تواند با فعال و کنترل تولید فعالیت‌های بیولوژیکی و با فعال کردن مسیرهای اصلی سیگنالینگ سلول عملکرد سلول را تنظیم کند (۳۲، ۳۳)، با این‌حال، تولید مازاد گونه‌های اکسیژن فعال با لیپید، پروتئین و اسیدنوکلئیک تداخل می‌کند، بنابراین، افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال اثرات مخربی بر عملکرد سلول دارد و ممکن است باعث به‌خطر انداختن تولیدمثل و باروری شود (۳۴). هم‌چنین مصرف روغن ماهی باعث شدید شدن استرس اکسیداتیو و افزایش اکسیداسیون فسفولیپیدهای غشایی و کاهش سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی به‌دلیل کاهش توکوفرول می‌شود (۳۵)، هنگامی که تولید بیش از حد اکسیژن فعال ایجاد شود و یا زمانی‌که بدن نتواند مقدار بیش از حد اکسیژن فعال را از بین ببرد، استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود، در طی آن اکسیژن فعال تجمع یافته و به سلول‌ها و بافت‌ها آسیب می‌رساند. علاوه بر اثرات مضر آن‌ها، داده‌های جمع‌آوری شده نشان داده‌اند که استرس اکسیداتیو ممکن است یکپارچگی آناتومیکی و عملکردی دستگاه تناسلی را به‌شدت تهدید کند (۲۸)، سلول‌ها شبکه‌های آنتی‌اکسیدانی دارند تا اکسیژن فعال بیش از حد تولیدشده را حذف کنند. تعادل بین تولید و مهاراکسیژن فعال منجر به هموستاز می‌شود. با این‌حال، با توجه به استفاده از روغن تعادل به نوعی به سمت تشکیل رادیکال‌های آزاد تغییر می‌یابد، که منجر

به آسیب سلول انباشته شده می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند اثرات مخرب اکسیژن فعال را کاهش دهند و بسیاری از وقایع را که به پیری سلول کمک می‌کنند به تأخیر بیندازند (۳۶). یکی از مهم‌ترین عوامل در سقط جنین عدم تعادل بین گونه‌های اکسیژن فعال و سیستم آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است (۳۷)، براساس شواهد مطالعه حاضر، مصرف روغن ماهی باعث افزایش سقط جنین شد که این امر می‌تواند به‌دلیل افزایش گونه‌های اکسیژن فعال در بافت باشد و با افزودن آنتی‌اکسیدان و تعادل بین سطح آنتی‌اکسیدانی و گونه‌های اکسیژن فعال در بافت باعث بهبود سقط شد هم‌چنین افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها منجر به کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش دوقلوزایی را نشان داد. از طرفی، اسیدهای چرب امگا-۳ برای رشد جنین ضروری هستند و کمبود و نقایص آن‌ها باعث مرده‌زایی و سقط جنین می‌شود (۳۸). در مجموع، نتایج حاکی از اثرات مثبت و قوی در تیمارهای ترکیبی بود. در تبیین این یافته می‌توان گفت که ترکیبی از ساختاری‌های آنتی‌اکسیدان و یا ترکیبی از روغن ماهی و آنتی‌اکسیدان‌ها، میزان آنتی‌اکسیدانی را افزایش و اسیدهای چرب لازم برای بهبود تولیدمثل را فراهم می‌سازد، هم‌چنین افزودن ترکیبی از ویتامین E، اسیدهای چرب امگا-۳ و ال-کارنیتین به‌جیره طی دوره فلاشینگ، سقط جنین را کاهش و به چندقلوزایی اثر بخشی بهتر روی فولیکول‌ها کمک می‌کند و استفاده از روغن ماهی به‌تنهایی در جیره فلاشینگ می‌تواند باعث کاهش دوقلوزایی، کاهش میزان فولیکول و افزایش سقط شود. بنابراین استفاده ترکیبی از این مواد مغذی برای کاهش سقط جنین و بهبود تولیدمثل در میش‌ها در دوره فلاشینگ توصیه می‌شود.

منابع

1. **Ali, A., Derar, D.R. and Alshahed, M., 2020.** Management strategies, reproductive performance and causes of infertility in sheep flocks in the central region of Saudi Arabia. Tropical Animal Health and Production. 52(4): 1691-1697.
2. **Assan, N., 2020.** Indicators of reproductive performance in goats and sheep meat production. Scientific Journal of Crop Science. 9(5): 608-619.
3. **Mugabe, L.C., Bagaldo, A.R., Barbosa, L.P., Araújo, F.L.D., Oliveira, B.Y.D.S., Silva, R.V.M.M., Oliveira, R.L. and Pinheiro, E.E.G., 2017.** Biochemical and seminal parameters of lambs fed palm kernel cake under grazing system. Revista Brasileira de Zootecnia. 46: 670-677.
4. **Burritt B., McNeal, L., Miller, R. and Villar, F., 2012.** The effect of flushing ewes on a commercial sheep operation on rangeland in Wyoming. Journal of the Nacca. 10: 1-14.
5. **Luan, X., Yan, Y., Zheng, Q., Wang, M., Chen, W., Yu, J. and Fang, J., 2020.** Excessive reactive oxygen species induce apoptosis via the APPL1-Nrf2/HO-1 antioxidant signaling pathway in trophoblasts with missed abortion. Life Sciences. 254: 117781.
6. **Alemi, M., Samadi, F., Dastar, B. and Hasani, S., 2018.** Effect of different levels Artichoke and vitamin E on humoral immunity in Japanese quail. Journal of Animal Environmental. 9(4): 113-118. (In Persian)
7. **Dønnem, I., Randby, Å.T., Hektoen, L., Avdem, F., Meling, S., Våge, Å.Ø., Ådnøy, T., Steinheim, G. and Waage, S., 2015.** Effect of vitamin E supplementation to ewes in late pregnancy on the rate of stillborn lambs. Small Ruminant Research. 125: 154-162.
8. **Liu, S., Masters, D., Ferguson, M. and Thompson, A., 2014.** Vitamin E status and reproduction in sheep: potential implications for Australian sheep production. Animal Production Science. 54(6): 694-714.
9. **Nurlatifah, A., Khotijah, L., Komalasari, K. and Astuti, D.A., 2020.** January. The effect of flushing with fatty acid supplementation in ewes ration on folliculogenesis. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 411(1): 012036.
10. **Abbasi, S., Fakhraei, J., Mansoori Yarahmadi, H. and Khaghani, Sh., 2020.** Effects of different sources fat on performance immune system and intestinal microflora in commercial laying hens. Journal of Animal Environmental. 12(4): 225-230. (In Persian)
11. **Annett, R.W., Carson, A.F. and Dawson, L.E.R., 2008.** Effects of digestible undegradable protein (DUP) supply and fish oil supplementation of ewes during late pregnancy on colostrum production and lamb output. Animal Feed Science and Technology. 146(3-4): 270-288.
12. **Agarwal, A., Sengupta, P. and Durairajanayagam, D., 2018.** Role of L-carnitine in female infertility. Reproductive Biology and Endocrinology. 16(1): 1-18.
13. **El-Shahat, K.H., 2010.** The effect of dietary supplementation with calcium salts of long chain fatty acids and/or l-carnitine on ovarian activity of Rahmani ewes. Animal reproduction science. 117(1-2): 78-82.
14. **Hernández-García, P.A., Mendoza-Martínez, G.D., Sánchez, N., Martínez-García, J.A., Plata-Pérez, F.X., Lara-Bueno, A. and Ferraro, S.M., 2017.** Effects of

increasing dietary concentrations of fish oil on lamb performance, ruminal fermentation, and leptin gene expression in perirenal fat. Revista Brasileira de Zootecnia. 46: 521-526.

15. **Liu, G., Ding, Y., Chen, Y. and Yang, Y., 2020.** Effect of energy intake and L-carnitine on fattening performance, carcass traits, meat quality, blood metabolites, and gene expression of lamb. Small Ruminant Research. 183: 106025.

16. **National Research Council (NRC). 2007.** Nutrient Requirements of Gots, 7th rev. ed. National Academy of Sciences, Washington, DC.

17. **Asbaghi, O., Choghakhori, R. and Abbasnezhad, A., 2019.** Effect of Omega-3 and vitamin E co-supplementation on serum lipids concentrations in overweight patients with metabolic disorders: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. 13(4): 2525-2531.

18. **Ziaei, N., 2015.** Effect of selenium and vitamin E supplementation on reproductive indices and biochemical metabolites in Raieni goats. Journal of Applied Animal Research. 43(4): 426-430.

19. **Cai, W.Y., Luo, X., Chen, E., Lv, H., Fu, K., Wu, X.K. and Xu, J., 2021.** Serum Lipid Levels and Treatment Outcomes in Women Undergoing Assisted Reproduction: A Retrospective Cohort Study. Frontiers in endocrinology. 12: 633766.

20. **Leroy, J.L.M.R., Vanholder, T., Delanghe, J.R., Opsomer, G., Van Soom, A., Bols, P.E.J., Dewulf, J. and de Kruif, A., 2004.** Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post partum. Theriogenology. 62(6):1131-1143.

21. **Liu, M., Wang, D.Q.H., Black, D.D. and Tso, P., 2020.** Differential Effect of Four-Week Feeding of Different Dietary Fats on the Accumulation of Fat and the Cholesterol and Triglyceride Contents in the Different Fat Depots. Nutrients. 12(11): 3241.

22. **Kim, S.Y., Chae, C.W., Lee, H.J., Jung, Y.H., Choi, G.E., Kim, J.S., Lim, J.R., Lee, J.E., Cho, J.H., Park, H. and Park, C., 2020.** Sodium butyrate inhibits high cholesterol induced neuronal amyloidogenesis by modulating NRF2 stabilization-mediated ROS levels: involvement of NOX2 and SOD1. Cell death & disease. 11(6): 1-19.

23. **Yulianto, A.B., Lokapirnasari, W.P., Najwan, R., Wardhani, H.C.P., Rahman, N.F.N., Huda, K. and Ulfah, N., 2020.** Influence of Lactobacillus casei WB 315 and crude fish oil (CFO) on growth performance, EPA, DHA, HDL, LDL, cholesterol of meat broiler chickens. Iranian Journal of Microbiology. 12(2): 148-155.

24. **Quiroz, A., Molina, P., Santander, N., Gallardo, D., Rigotti, A. and Busso, D., 2020.** Ovarian cholesterol efflux: ATP-binding cassette transporters and follicular fluid HDL regulate cholesterol content in mouse oocytes. Biology of reproduction. 102(2): 348-361.

25. **Ringseis, R., Keller, J. and Eder, K., 2018.** Regulation of carnitine status in ruminants and efficacy of carnitine supplementation on performance and health aspects of ruminant livestock: a review. Archives of animal nutrition. 72(1): 1-30.

26. **Komal, F., Khan, M.K., Imran, M., Ahmad, M.H., Anwar, H., Ashfaq, U.A., Ahmad, N., Masroor, A., Ahmad, R.S., Nadeem, M. and Nisa, M.U., 2020.** Impact of different omega-3 fatty acid sources on lipid, hormonal, blood glucose, weight gain and histopathological damages profile in PCOS rat model. Journal of Translational Medicine. 18(1): 1-11.

27. **Mossa, F., Jimenez-Krassel, F., Walsh, S., Berry, D.P., Butler, S.T., Folger, J., Smith, G.W., Ireland, J.L.H., Lonergan, P., Ireland, J.J. and Evans, A.C.O., 2010.** Inherent capacity of the pituitary gland to produce gonadotropins is not influenced by the number of ovarian follicles≥ 3 mm in diameter in cattle. Reproduction, Fertility and Development. 22(3): 550-557.

28. **Rizzo, A., Roscino, M.T., Binetti, F. and Sciorsci, R.L., 2012.** Roles of reactive oxygen species in female reproduction. Reproduction in Domestic Animals. 47(2): 344-352.

29. **Abu Ghazaleh, A.A. and Ishlak, A., 2014.** Effects of incremental amounts of fish oil on trans fatty acids and b utyrivibrio bacteria in continuous culture fermenters. Journal of animal physiology and animal nutrition. 98(2): 271-278.

30. **Morrison, J.A., Glueck, C.J. and Wang, P., 2008.** Dietary trans fatty acid intake is associated with increased fetal loss. Fertility and sterility. 90(2): 385-390.

31. **Bryk, D., Zapolska-Downar, D., Malecki, M., Hajdukiewicz, K. and Sitkiewicz, D., 2011.** Trans fatty acids induce a proinflammatory response in endothelial cells through ROS-dependent nuclear factor-κB activation. Journal of Physiology and Pharmacology. 62(2): 229-238.

32. **Brigelius-Flohé, R., Banning, A., Kny, M. and Böl, G.F., 2004.** Redox events in interleukin-1 signaling. Archives of biochemistry and biophysics. 423: 66-73.

33. **Chavarro, J.E., Rich-Edwards, J.W., Rosner, B.A. and Willett, W.C., 2007.** Dietary fatty acid intakes and the risk of ovulatory infertility. The American journal of clinical nutrition. 85(1): 231-237.

34. **Agarwal, A., Gupta, S., and Sharma, R.K., 2005.** Role of oxidative stress in female reproduction. Reproductive biology and endocrinology. 3(1): 1-21.

35. **Xie, H., Heier, C., Kien, B., Vesely, P.W., Tang, Z., Sexl, V., Schoiswohl, G., Strießnig-Bina, I., Hoefler, G., Zechner, R. and Schweiger, M., 2020.** Adipose triglyceride lipase activity regulates cancer cell proliferation via AMP-kinase and mTOR signaling. Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Molecular and Cell Biology of Lipids. 1865(9): 158737.

36. **Poljsak, B., Šuput, D. and Milisav, I., 2013.** Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. Oxidative medicine and cellular longevity. 2013: 956792.

37. **Agarwal, A., Aponte-Mellado, A., Premkumar, B.J., Shaman, A. and Gupta, S., 2012.** The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. Reproductive biology and endocrinology. 10(1): 1-31.

38. **Sanders, L.M., Henderson, C.E., Hong, M.Y., Barhoumi, R., Burghardt, R.C., Wang, N., Spinka, C.M., Carroll, R.J., Turner, N.D., Chapkin, R.S. and Lupton, J.R., 2004.** An increase in reactive oxygen species by dietary fish oil coupled with the attenuation of antioxidant defenses by dietary pectin enhances rat colonocyte apoptosis. The Journal of nutrition. 134(12): 3233-3238.