

اثر محدودیت انرژی مصرفی بر غلظت لپتین پلازما و میزان تخمک‌گذاری در میش‌های شال

*آرمین توحیدی^۱، همایون خزعلی^۲، علی نیکخواه^۱، امیر نیاسری^۳ و مهدی ژندی^۴

^۱گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، ^۲گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید بهشتی تهران، ^۳گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ^۴دانش آموخته گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۸۳/۶/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۸۴/۹/۲۷

چکیده

هدف از این آزمایش، مطالعه اثر محدودیت مصرف انرژی بر غلظت لپتین پلازما و میزان تخمک‌گذاری در گوسفندان دنبه‌دار بود. بیست و هشت رأس میش شال سیکلیک همزمان انتخاب شده و به دو گروه (n=۱۴) با شرایط مساوی تقسیم شدند. در طی شش دوره فحلی (۱۲ هفته) توسط دو سطح ۶۰ و ۱۰۰ درصد انرژی نگهداری تغذیه شدند. جهت اندازه‌گیری غلظت هورمون لپتین در پلازما از چهار حیوان در هر گروه، هر دو هفته یک بار خونگیری انجام شد. در هر دوره فحلی، میزان تخمک‌گذاری به روش لاپاروسکوپی، وزن زنده و امتیاز وضعیت بدن در سیستم صفر تا پنج مشخص گردید. تفاوت در میزان تخمک‌گذاری به روش کای مربع بدست آمد و داده‌های حاصل از تعیین غلظت لپتین پلازما، وزن بدن و امتیاز وضعیت بدن با استفاده از طرح اندازه‌گیری‌های مکرر و به روش مدل خطی عمومی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در گروه تحت محدودیت انرژی، میانگین وزن ($P < 0/01$) و امتیاز وضعیت بدن ($P < 0/01$) از چرخه فحلی دوم تا ششم آزمایش، میانگین غلظت لپتین پلازما ($P < 0/01$) از ابتدای چرخه فحلی سوم تا انتهای آزمایش و میزان تخمک‌گذاری ($P < 0/05$) به تدریج از چرخه فحلی چهارم تا انتهای آزمایش به‌طور معنی‌داری کاسته شد. در عین حال یک رابطه خطی معنی‌دار بین وزن و امتیاز وضعیت بدن ($P < 0/01$; $r = +0/79$)، وزن و غلظت لپتین پلازما ($P < 0/05$; $r = +0/50$) و نیز امتیاز وضعیت بدن و غلظت لپتین پلازما ($P < 0/01$; $r = +0/70$) مشاهده شد. نتایج حاصله بیانگر وجود ارتباط قوی میان غلظت لپتین پلازما با سطح انرژی دریافتی، وزن بدن، امتیاز وضعیت بدن و میزان تخمک‌گذاری در میش‌های دنبه‌دار شال می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: لپتین، سطح انرژی، میزان تخمک‌گذاری، میش شال

مقدمه

در نظر گرفته می‌شود (دان و ماس، ۱۹۹۲). علاوه بر آن، میزان همبستگی بین امتیاز وضعیت بدن و ذخایر چربی بدن که با فرآیندهای جنسی و میزان تخمک‌گذاری ارتباط نزدیکی دارد، نسبت به وزن بدن بیشتر و در حدود

وزن یکی از مهمترین عوامل تعیین‌کننده وضعیت متابولیکی و ذخایر انرژی بدن می‌باشد، ولی به علت آن که جثه و نژاد حیوان بر روی وزن زنده اثر دارد (دان و ماس، ۱۹۹۲)، امتیاز وضعیت بدن به‌عنوان معیار قوی‌تری

مواد و روش‌ها

حیوانات: در شهریور ماه ۱۳۷۹، ۲۸ رأس میش سالم سیکلیک ۲/۵ ساله از نژاد گوسفندان دنبه دار شال انتخاب شدند. میش‌ها دارای میانگین وزنی (±خطای معیار) ۴۵/۱۶±۲/۳۵ کیلوگرم و امتیاز وضعیت بدن (±خطای معیار) ۲/۹۳±۰/۴۱ بودند و حداقل یک بار زایش داشته‌اند. حیوانات در طول دوره آزمایش در قفس‌های انفرادی و در جایگاه بسته در مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور واقع در شهرستان کرج با طول جغرافیایی ۵۱°/۲' شرقی و عرض جغرافیایی ۴۸°/۳۵' شمالی نگهداری شدند.

طرح آزمایش: در این آزمایش، پس از طی دوره عادت‌دهی به مدت دو هفته، ۲۸ رأس میش به‌طور تصادفی به دو گروه ۱۴ رأسی تقسیم شده و در طی شش دوره فحلی به مدت ۱۲ هفته تحت تیمار قرار گرفتند. گروه اول (تیمار) از جیره‌ای حاوی ۶۰ درصد و گروه دوم (شاهد) از جیره‌ای حاوی ۱۰۰ درصد انرژی متابولیسمی نگهداری، تغذیه کردند. در صورتی که روز شروع تیمار غذایی را روز اول آزمایش در نظر بگیریم، جهت همزمان کردن فحلی، از هفت تزریق متوالی کلورپستنول (آنالوگ پروستاگلندین F_{2α}، شرکت نصر، ایران) به میزان ۲۵۰ μg به ازای هر میش در روزهای ۱۱-، صفر، ۱۴، ۲۸، ۴۲، ۵۶ و ۷۰ استفاده شد. در کلیه دام‌ها، وزن و امتیاز وضعیت بدن به روش لمس ناحیه پشتی مهره سیزدهم کمری (بر مبنای سیستم صفر تا پنج) در روزهای ۱-، ۱۳، ۲۷، ۴۱، ۵۵ و ۶۹ تعیین شد. نمونه‌های خون به‌صورت تصادفی از چهار حیوان که به‌طور تصادفی از هر گروه انتخاب شدند در روزهای ۱، ۱۵، ۲۹، ۴۳، ۵۷ و ۷۱ جمع‌آوری شد. همچنین، در روز هشتم تشکیل جسم زرد در هر چرخه فحلی و در روزهای ۱۰، ۲۴، ۳۸، ۵۲، ۶۶ و ۸۰ تعداد تخمک‌گذاری به روش لاپاروسکوپی شمارش شد.

۰/۹۴ گزارش شده است (دان و ماس، ۱۹۹۲؛ سانسون و همکاران، ۱۹۹۳). تفاوت‌های نژادی میان گوسفندان دنبه‌دار و بدون دنبه وجود دارد، از جمله در نژادهای دنبه‌دار ذخایر چربی بدن بیشتر بوده و این ذخایر به ویژه دنبه دارای عملکرد خاصی است. به‌طور مثال ذخایر چربی دنبه سریع‌تر از سایر منابع چربی بدن موبیلیزه می‌شود (چیلارد و همکاران، ۲۰۰۰). با وجود این، اطلاعات لازم در مورد چگونگی تأثیر سطوح مختلف انرژی مصرفی و امتیاز وضعیت بدن به‌عنوان شاخص منابع چربی موجود بر میزان تخمک‌گذاری در میش‌های دنبه‌دار وجود ندارد.

در سال ۱۹۹۴، پروتئین جدیدی در موش‌های هموزیگوت چاق (ob/ob) کشف شد (ژانگ و همکاران، ۱۹۹۴) که پس از چندی هورمون لپتین نامیده شد. این هورمون از بافت چربی ترشح شده و به‌عنوان شاخص میزان چربی و انرژی بدن عمل می‌کند (هاوسکنج و همکاران، ۱۹۹۸). یافته‌های تحقیقاتی نشان می‌دهد که لپتین می‌تواند به‌عنوان یک عامل متابولیسمی محرک برای سیستم تولید مثلی عمل کند (بارب و همکاران، ۱۹۹۹؛ سنایدر و همکاران، ۲۰۰۰). در پستاندارانی مانند گاو، خوک و گوسفندان بدون دنبه مشخص شده است که ارتباط قوی و مثبتی بین ذخایر چربی بدن، امتیاز وضعیت بدن و غلظت لپتین خون وجود دارد (بلاش و همکاران، ۲۰۰۰؛ دلاوود و همکاران، ۲۰۰۰). همچنین ارتباط قوی بین امتیاز وضعیت بدن و میزان تخمک‌گذاری گزارش شده (دان و ماس، ۱۹۹۲)، در حالی که ارتباط بین سطح لپتین خون و میزان تخمک‌گذاری تاکنون مشخص نشده است.

بنابراین، هدف از این پژوهش، تعیین تغییرات غلظت پلاسمایی لپتین با دو سطح مختلف انرژی مصرفی ۶۰ و ۱۰۰ درصد نگهداری و ارتباط آنها با وزن، امتیاز وضعیت بدن و میزان تخمک‌گذاری در میش‌های شال بود.

لاپاروسکوپي: بیست و چهار ساعت قبل از انجام عمل لاپاروسکوپي، میش‌ها تحت پرهیز آب و خوراک قرار گرفتند. چند دقیقه پیش از لاپاروسکوپي، به کلیه حیوانات ۱۰mg رامپون^۱ تزریق شده و سپس میش‌ها به پشت بر روی تخت مخصوص قرار گرفتند. ناحیه شکم از پستان‌ها تا ناف و از طرفین تا چین‌های تهیگاه تراشیده و با محلول ساولون کاملاً شستشو و با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی شد. پس از بی حس کردن محل برش با تزریق زیرجلدی لیدوکائین ۲ درصد، دو برش در فاصله حدود ۱۰-۷ سانتی‌متر در جلوی پستان‌ها و ۶-۳ سانتی‌متر در طرفین خط وسط و به عمق یک سانتی‌متر با استفاده از اسکالپل بر روی شکم ایجاد شد. تروکار و کانولای لاپاروسکوپي که لوله مربوط به گاز CO₂ نیز به آن متصل است، از برش سمت چپ وارد شکم شده تا گاز از این طریق داخل محوطه احشایی گردد. پس از اتساع شکم، لاپاروسکوپ از طریق کانولای مربوطه و در حالی که منبع نور روشن بود، وارد شده و رحم و تخمدان‌ها مورد جستجو قرار گرفت. سپس تروکار و کانولای دوم در برش سمت راست و به آرامی وارد شکم شده و از طریق سوراخ پدیدار شده، پنس لاپاروسکوپي داخل حفره شکم گردید. با کمک پنس وضعیت تخمدان‌ها بررسی و اجسام زرد فعال شمارش شدند. پس از عمل لاپاروسکوپي جهت جلوگیری از بروز عفونت، کلیه میش‌ها به مدت سه روز تحت تزریق پنی‌سیلین - استرپتومایسین قرار گرفتند (حسینی پژوه، ۱۳۷۸).

تغذیه: ترکیبات شیمیایی خوراک‌ها شامل ماده خشک، انرژی خام، پروتئین خام، چربی خام، خاکستر کل، دیواره سلولی^۲ و دیواره سلولی بدون همی سلولز^۳، کلسیم و فسفر در آزمایشگاه تغذیه مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور تعیین شد (جدول ۱). دو جیره غذایی متفاوت با استفاده از مواد خوراکی یکسان و براساس AFRC^۴ (۱۹۹۵) تنظیم گردید، به طوری که جیره شماره یک حاوی ۶۰ درصد انرژی متابولیسمی و سایر احتیاجات غذایی میش‌ها در حد نگهداری (گروه تیمار) و جیره شماره دو حاوی ۱۰۰ درصد انرژی متابولیسمی و سایر احتیاجات غذایی میش‌ها در حد نگهداری بود (گروه شاهد) (جدول ۲).

خوراک روزانه به صورت حبه شده هر روز صبح پس از توزین دقیق بر مبنای وزن بدن و به صورت انفرادی در اختیار دام‌ها قرار گرفت. در طی دوره آزمایش، گوسفندان به آب تازه، سنگ نمک و آجرهای لیسیدنی معدنی کلسیویت (شرکت کانی دام، ایران) به طور آزاد دسترسی داشتند.

روش خونگیری: در این آزمایش در روزهای ۱، ۱۵، ۲۹، ۴۳، ۵۷ و ۷۱ نمونه‌های خون جهت اندازه‌گیری غلظت هورمون لپتین پلاسما جمع‌آوری شد. خونگیری در ساعت هشت صبح و پیش از خوراک‌دهی با استفاده از لوله‌های خلاءدار حاوی هپارین و از طریق سیاهرگ گردنی (وداج) انجام گرفت. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ (دقیقه/۳۰۰۰/G) و پلاسما حاصله در داخل لوله‌های پلاستیکی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان سنجش هورمونی در فریزر نگهداری شد.

جدول ۱- مقدار انرژی خام و ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی مورد مصرف در ماده خشک.

| ترکیبات خوراک | ماده خشک (%) | انرژی خام (مگاژول در کیلوگرم) | پروتئین خام (%) | چربی خام (%) | خاکستر کل (%) | NDF (%) | ADF (%) | کلسیم (%) | فسفر (%) |
|---------------|--------------|-------------------------------|-----------------|--------------|---------------|---------|---------|-----------|----------|
| کاه گندم | ۹۴/۶ | ۱۶/۳ | ۲/۹ | ۰/۵ | ۱۰/۱ | ۷۵/۸ | ۵۳/۴ | ۰/۱۸ | ۰/۰۵ |
| یونجه | ۹۵/۳ | ۱۸/۴ | ۱۴/۳ | ۰/۸ | ۱۲/۰ | ۴۵/۷ | ۳۷/۸ | ۱/۴ | ۰/۲۲ |
| ذرت | ۹۳/۴ | ۱۸/۴ | ۱۱/۳ | ۳/۲ | ۲/۵ | ۹/۰ | ۳/۰ | ۰/۰۲ | ۰/۳۵ |
| آردگلوتن ذرت | ۹۴/۶ | ۲۲/۰ | ۵۳/۰ | ۱/۱ | ۱/۴ | ۱۴/۵ | ۷/۴ | ۰/۱۶ | ۰/۰۵ |

2- ADF

3- NDF

4- Agricultural and food research council

1- Rhompon

جدول ۲- اجزای جیره‌های آزمایشی برحسب ماده خشک، مقدار انرژی و مواد مغذی مصرفی.

| شماره جیره | | اجزای جیره | شماره جیره | | اجزای جیره |
|------------|-------|--|------------|-------|---|
| ۲۲ | ۱۱ | | ۲۲ | ۱۱ | |
| ۱۳/۷۲ | ۴۲/۰۰ | پروتئین خام (%) | ۲۶۰ | ۱۰ | کاه گندم (گرم در روز) |
| ۰/۲۴ | ۰/۵۲ | کلسیم (%) | ۵۰ | ۵۰ | یونجه (گرم در روز) |
| ۰/۲۴ | ۰/۵۲ | فسفر (%) | ۲۲۰ | ۱۰ | ذرت (گرم در روز) |
| ۰/۲۱ | ۰/۴۵ | سدیم (%) | ۸۵ | ۲۱۰ | آرد گلوتن ذرت (گرم در روز) |
| ۰/۱۱ | ۰/۲۴ | منیزیوم (%) | ۰/۴۷ | ۱/۳۴ | پودر استخوان (گرم در روز) |
| ۶۲۰ | ۲۸۷ | ماده خشک مصرفی (گرم در روز) | ۱/۲۲ | ۱/۶۶ | نمک (گرم در روز) |
| ۶/۰۳ | ۳/۷۴ | انرژی متابولیسمی مصرفی (مگاژول در روز) | -- | ۰/۶۹ | اکسید منیزیوم (گرم در روز) |
| ۵۵/۳۷ | ۵۶/۰۰ | پروتئین متابولیسمی مصرفی (گرم در روز) | ۳/۵۰ | ۳/۵۰ | مکمل ویتامینه و معدنی رازک (گرم در روز) |
| | | | ۹/۷۳ | ۱۳/۰۳ | انرژی متابولیسمی (مگاژول در گیلوگرم) |

۱- جیره حاوی ۶۰ درصد انرژی متابولیسمی و سایر احتیاجات در حد نگهداری

۲- جیره حاوی ۱۰۰ درصد احتیاجات در حد نگهداری

یک متغیره استفاده شد. نرم‌افزار آماری مورد استفاده SPSS-9 بود (کاپس و لامبرسون، ۲۰۰۴).

نتایج

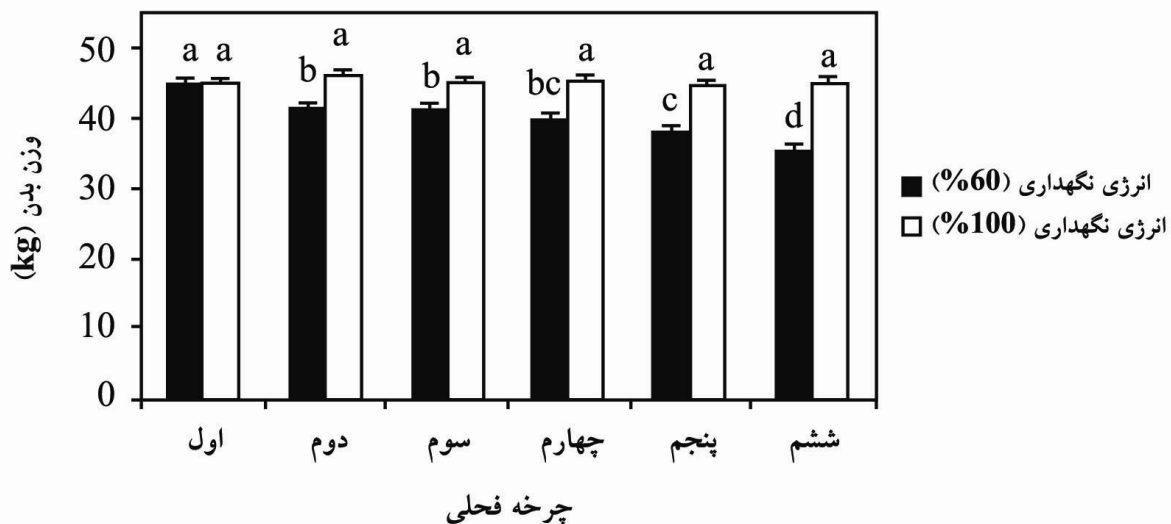
در این آزمایش، سطح انرژی مصرفی، دوره و اثر متقابل آنها دارای اثر معنی‌دار ($P < 0.01$) بر وزن بدن بود. چنانکه در شکل ۱ نشان داده شده است، در گروه تیمار، میانگین وزن بدن از چرخه فحلی دوم تا انتهای دوره آزمایش به تدریج کاهش یافت در حالی که در گروه شاهد این روند تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف نشان نداد.

سطح انرژی مصرفی، دوره و اثر متقابل آنها دارای اثر معنی‌دار ($P < 0.01$) بر امتیاز وضعیت بدن بود. چنانکه در شکل ۲ نشان داده شده است، در گروه تیمار، میانگین امتیاز وضعیت بدن از چرخه فحلی دوم تا انتهای دوره آزمایش به تدریج کاهش یافت در صورتی که گروه شاهد، تفاوت معنی‌داری در دوره‌های مختلف مشاهده نشد.

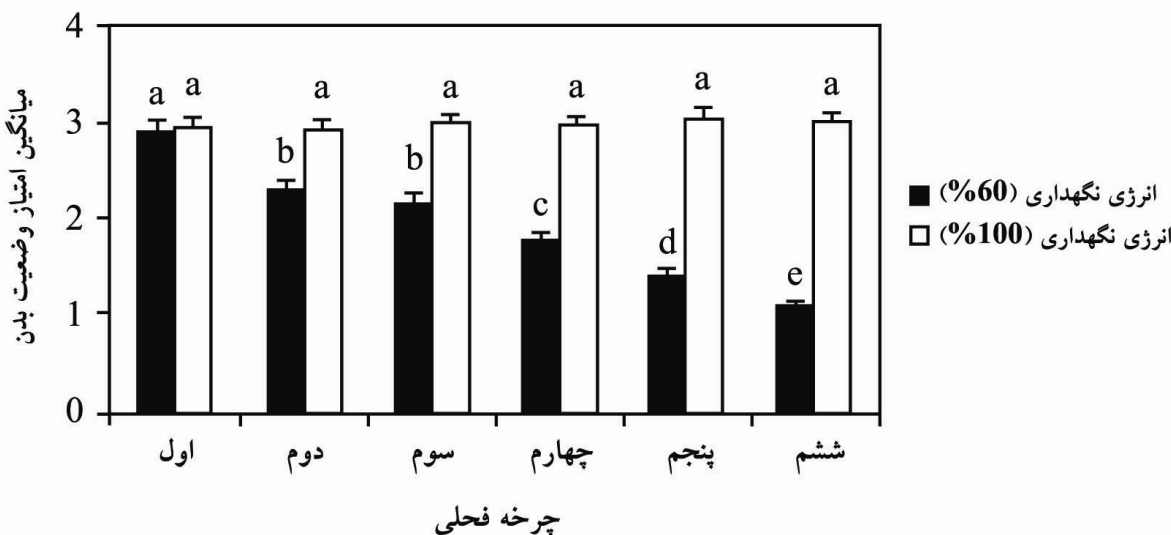
اندازه‌گیری غلظت هورمون لپتین: غلظت هورمون لپتین در نمونه‌های پلاسما به روش رادیوایمنواسی^۱ و با دو تکرار برای هر نمونه و با استفاده از پادتن پلی کلونال گوسفندی (تابشیر نور، ایران) اندازه‌گیری شد. حساسیت سنجش، ضریب تغییرات داخلی و بین سنجش برای اندازه‌گیری غلظت هورمون لپتین به ترتیب معادل ۰/۱ ng/ml، ۶/۳ درصد و ۹/۳ درصد (بلاش و همکاران، ۲۰۰۰).

تجزیه و تحلیل آماری: تفاوت در میزان تخمک‌گذاری با استفاده از آزمون کای مربع طبقه‌بندی شده و بر مبنای تعداد تخمک‌گذاری (دو تخمک‌گذاری یا کمتر از دو تخمک‌گذاری) مورد مقایسه قرار گرفت. داده‌های حاصل از تعیین وزن و امتیاز وضعیت بدن، غلظت پلاسمایی هورمون لپتین با استفاده از طرح اندازه‌گیری‌های مکرر^۲ و به روش مدل خطی عمومی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. جهت تعیین نحوه ارتباط خطی میان فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده، از روش تابعیت خطی

1- Radioimmunoassay
2- Repeated measures



شکل ۱- میانگین (± خطای معیار) وزن بدن (Kg) گوسفندان در دو سطح تغذیه ۶۰ و ۱۰۰ درصد انرژی نگهداری در طی شش چرخه فعلی. ستون‌هایی که دارای حرف لاتین مشترک نیستند، دارای اختلاف معنی دارند ($P < 0.05$).



شکل ۲- میانگین (± خطای معیار) امتیاز وضعیت بدن گوسفندان در دو سطح تغذیه ۶۰ و ۱۰۰ درصد انرژی نگهداری در طی شش چرخه فعلی. ستون‌هایی که دارای حرف لاتین مشترک نیستند، دارای اختلاف معنی دارند ($P < 0.05$).

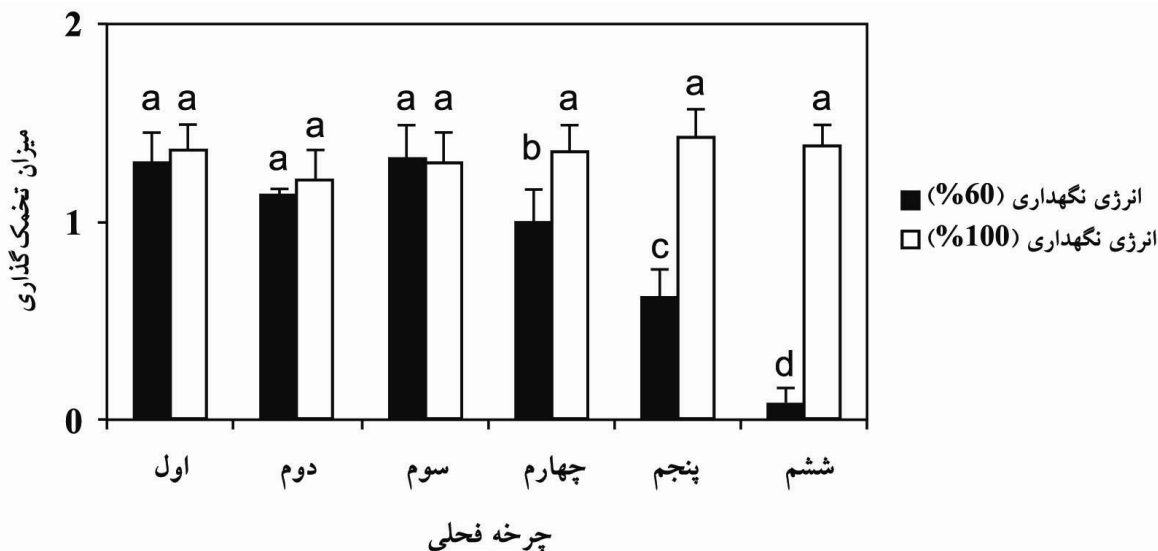
($P < 0.01$) کاهش یافت. به صورتی که هیچ گونه تخمک‌گذاری دوتایی مشاهده نشد. علاوه بر آن در پنج حیوان تخمک‌گذاری به طور کامل متوقف شد و در نتیجه از میزان تخمک‌گذاری نسبت به دوره‌های قبل و گروه شاهد به طور محسوسی کاسته شد. در چرخه فعلی ششم، فراوانی تخمک‌گذاری دوتایی مجدداً به طور معنی‌دار ($P < 0.01$) کاهش یافت و فقط در یک میس تخمک‌گذاری مشاهده گردید. (شکل ۳).

سطح انرژی مصرفی، دوره و اثر متقابل آنها دارای اثر معنی‌دار ($P < 0.01$) بر سطح هورمون لپتین پلاسما بود.

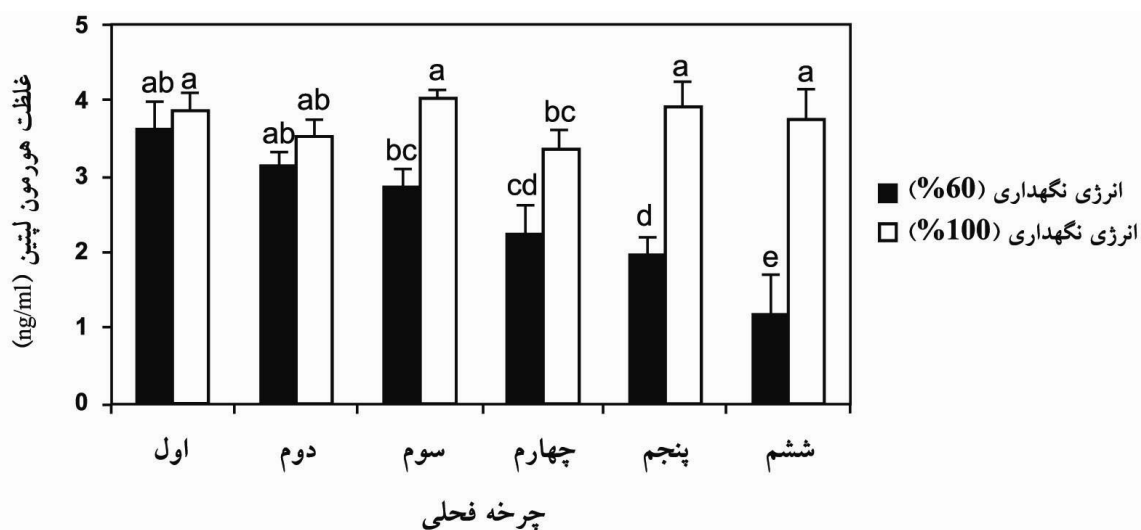
فراوانی تخمک‌گذاری دوتایی نسبت به تخمک‌گذاری کمتر از دو، در گروه تیمار در چرخه‌های فعلی اول، دوم و سوم تفاوت معنی‌داری نداشت. در نتیجه میزان تخمک‌گذاری در این دوره‌ها نسبت به هم و نیز نسبت به گروه شاهد نیز اختلاف معنی‌داری نداشت. در چرخه فعلی چهارم، فراوانی تخمک‌گذاری دوتایی در گروه تیمار به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش یافت و در نتیجه منجر به کاهش میزان تخمک‌گذاری نسبت به چرخه‌های قبل و گروه شاهد شد. در چرخه فعلی پنجم نیز فراوانی تخمک‌گذاری دوتایی به طور معنی‌داری

انتهای دوره آزمایش به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. در گروه شاهد، تفاوت معنی‌داری در دوره‌های مختلف مشاهده نشد.

چنانکه در شکل ۴ نشان داده شده است، در گروه تیمار میانگین غلظت هورمون لپتین در طی دوره و از چرخه فحلی دوم به‌طور غیرمعنی‌دار و از چرخه فحلی سوم تا



شکل ۳- میانگین (± خطای معیار) میزان تخمک‌گذاری گوسفندان در دو سطح تغذیه ۶۰ و ۱۰۰ درصد انرژی نگهداری در طی شش چرخه فحلی. ستون‌هایی که دارای حرف لاتین مشترک نیستند، دارای اختلاف معنی‌دارند ($P < 0.05$).



شکل ۴- میانگین (± خطای معیار) غلظت هورمون لپتین پلاسمای (ng/ml) گوسفندان در دو سطح تغذیه ۶۰ و ۱۰۰ درصد انرژی نگهداری در طی شش چرخه فحلی. ستون‌هایی که دارای حرف لاتین مشترک نیستند، دارای اختلاف معنی‌دارند ($P < 0.05$).

وضعیت بدن به‌عنوان عامل وابسته حاکی از وجود ارتباط خطی معنی‌داری بین غلظت هورمون لپتین با وزن بدن ($P < 0.001$) و امتیاز وضعیت بدن ($P < 0.001$) و وزن بدن با امتیاز وضعیت بدن ($P < 0.001$) بود (جدول ۳).

نتایج محاسبات تابعیت خطی بر روی داده‌های حاصل از تعیین غلظت هورمون لپتین پلاسمای به‌عنوان عامل مستقل و وزن بدن و امتیاز وضعیت بدن به‌عنوان عامل وابسته و نیز وزن بدن به‌عنوان عامل مستقل و امتیاز

جدول ۳- رابطه خطی میان فراسنجه‌های مختلف اندازه‌گیری شده.

| فراسنجه | نتایج آماری | r | R ^۲ | P-value | عرض از مبدأ | شیب خط |
|----------------------------------|-------------|-------|----------------|---------|-------------|--------|
| لپتین پلازما با وزن بدن | | +۰/۵۰ | ۰/۲۵ | ۰/۰۲ | ۳۲/۸۷ | ۲/۷۰ |
| لپتین پلازما با امتیاز وضعیت بدن | | +۰/۷۰ | ۰/۴۹ | ۰/۰۰ | ۰/۶۳ | ۰/۵۱ |
| وزن بدن با امتیاز وضعیت بدن | | +۰/۷۹ | ۰/۶۲ | ۰/۰۰ | -۳/۳۴ | ۰/۱۳ |

بحث

در آزمایش حاضر، کاهش سطح انرژی مصرفی در گروه تحت محدودیت انرژی موجب کاهش وزن و امتیاز وضعیت بدن میش‌ها در طی دوره آزمایش شد، ولی در گروه شاهد که جیره‌ای حاوی صد درصد احتیاجات غذایی را در حد نگهداری دریافت کرده بودند، وزن و امتیاز وضعیت بدن در طی دوره ثابت بود. تغییرات وزن و امتیاز وضعیت بدن دارای روند هماهنگ بوده و با سایر تحقیقات مشابهت دارد (گوتیرز و همکاران، ۱۹۸۷؛ تاتمن و همکاران، ۱۹۹۰). کاسته شدن از وزن بدن در میش‌های بالغ عمدتاً ناشی از کاهش ذخایر چربی بدن است (تاتمن و همکاران، ۱۹۹۰؛ شیلو، ۱۹۹۲). گرچه تغییرات ذخایر چربی بدن در این آزمایش مستقیماً اندازه‌گیری نشد، ولی به دلیل بالا بودن ضریب همبستگی میان امتیاز وضعیت بدن و مقدار کل چربی بدن (سانسون و همکاران، ۱۹۹۳) به نظر می‌رسد که کاهش امتیاز وضعیت بدن به‌طور عمده ناشی از کاهش مقدار چربی بدن است.

نتایج حاصل از تعیین معادله تابعیت در آزمایش حاضر مشخص کرد که به ازای هر کیلوگرم کاهش وزن در محدوده وزنی ۴۹-۳۱ کیلوگرم، ۰/۱۳ واحد از امتیاز وضعیت بدن در میش‌های شال کاسته می‌شود. به‌عبارت دیگر، تقریباً به ازای هر ۷/۷ کیلوگرم کاهش وزن، یک واحد از امتیاز وضعیت بدن کم می‌شود. گزارش‌های موجود از گوسفندان بدون دنبه اروپایی و استرالیایی، حاکی از آن است که جهت کاهش یک واحد از امتیاز وضعیت بدن، باید در حدود پنج تا دوازده کیلوگرم از وزن بدن کاسته شود (کوربت، ۱۹۹۰). حد بالای این تغییرات مربوط به گوسفندان سنگین وزن و حد پایین آن

مربوط به گوسفندان سبک وزن است. با توجه به این که گوسفند شال از نژادهای سنگین وزن ایران محسوب می‌شود لذا اختلاف مشاهده شده، مربوط به تفاوت‌های نژادی از جمله وجود دنبه در این گوسفند است. ضریب تعیین (R^۲) حاصل از تعیین مدل تابعیت بر دو صفت فوق در گوسفندان خارجی بین ۰/۱۶ تا ۰/۸۸ بوده است (کوربت، ۱۹۹۰). لذا R^۲ حاصل از این آزمایش (R^۲=۰/۶۲) در محدوده سایر گزارش‌هاست.

فراوانی تخمک‌گذاری دوتایی در گروه تیمار آزمایشی، در چرخه‌های فحلی اول، دوم و سوم با وجود اختلاف معنی‌دار بین وزن و امتیاز وضعیت بدن در این دوره‌ها، تفاوت معنی‌داری نشان نداد و در نتیجه میانگین میزان تخمک‌گذاری تغییرات معنی‌داری نیز نداشت. همچنین با وجود اختلاف معنی‌دار بین وزن و امتیاز وضعیت بدن در گروه شاهد و تیمار آزمایشی، فراوانی تخمک‌گذاری دوتایی و در نتیجه میزان تخمک‌گذاری در این دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت. با کاهش حدود ۱۲ درصد از وزن اولیه و نیز تنزل امتیاز وضعیت بدن به زیر دو و غلظت لپتین پلازما به حدود ۲ng/ml در چرخه فحلی چهارم، فراوانی تخمک‌گذاری دوتایی و در نتیجه میزان تخمک‌گذاری در گروه تیمار به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد. نه هفته پس از آغاز تیمار، معادل چرخه فحلی پنجم میش‌ها، کاهش بیشتر وزن، امتیاز وضعیت بدن (تنزل به زیر ۱/۵) و غلظت لپتین پلازما (۱/۹۷±۰/۲۲) عدم تخمک‌گذاری دوتایی و یا قطع تخمک‌گذاری در بعضی از گوسفندان مشاهده شد. هفتاد روز بعد از شروع محدودیت انرژی، همزمان با وقوع چرخه فحلی ششم، کاهش ۲۲ درصد از وزن اولیه

(به طور متوسط حدود ۱۰ کیلوگرم)، تنزل بیشتر امتیاز وضعیت بدن (۱/۵) و قرار گرفتن در محدوده یک (بسیار لاغر)، کاهش غلظت لپتین پلاسما تا حدود ۱ng/ml و توقف چرخه فحلی و تخمک گذاری در میش ها به استثنای یک مورد مشاهده گردید.

در چندین مطالعه کاهش سطح انرژی مصرفی با کاهش رشد فولیکول های تخمدان و میزان تخمک گذاری همراه بوده است (هارسین، ۱۹۸۱؛ مک نیلی و فریزر، ۱۹۸۷) که با نتایج این آزمایش هم خوانی دارد. همچنین مطالعات انجام شده در گوسفندان مرینوس استرالیایی نشان داد در صورتی که امتیاز وضعیت بدن در محدوده ۲-۳ باشد، به ازای هر کیلوگرم کاهش وزن بدن، میزان تخمک گذاری ۲ تا ۴ درصد (کوپ، ۱۹۶۶) کاهش می یابد. در پژوهش فعلی، تغییرات وزن یا امتیاز وضعیت بدن در زمانی که امتیاز وضعیت بدن در محدوده دو تا سه قرار دارد، اثر معنی داری بر میزان تخمک گذاری نداشت که این امر احتمالاً ناشی از تفاوت های نژادی بین گوسفندان شال دنبه دار و مرینوس بدون دنبه می باشد. نتایج حاصله بیانگر آن است که میزان تخمک گذاری در گوسفندان دنبه دار به تغییرات وزن و امتیاز وضعیت بدن و یا وضعیت متابولیکی دیرتر پاسخ می دهد.

همچنین در آزمایش حاضر مشخص شد، تا زمانی که از وزن و امتیاز وضعیت بدن مقدار زیادی کاسته نشود، فرآیند تخمک گذاری همچنان فعال است. این نتیجه در گوسفندان دنبه دار شال با سایر گزارش ها در میش های بدون دنبه (تاتمن و همکاران، ۱۹۹۰؛ توماس و همکاران، ۱۹۹۰) مشابه بوده و بیانگر ادامه فعالیت های جنسی در شرایط نسبتاً سخت متابولیکی است. به عبارت دیگر فرآیندهای تولیدمثلی تنها در هنگامی متوقف می شود که سطح انرژی بدن بسیار کم و از یک آستانه معین پایین تر رود.

در این مطالعه، محدودیت انرژی مصرفی موجب کاهش سطح هورمون لپتین با یک روند نسبتاً ثابت گردید که این نتایج با مطالعات پیشین در میش (بوکیر و

همکاران، ۱۹۹۸) و گاو (چیلارد و همکاران، ۱۹۹۸) مشابه می باشد. همچنین روند تغییرات وزن، امتیاز وضعیت بدن و هورمون لپتین هماهنگ می باشند. نتایج حاصل از تعیین رابطه خطی میان غلظت لپتین خون، وزن و امتیاز وضعیت بدن بیانگر آن است که به ترتیب حدود ۰/۲۵ و ۰/۴۹ از تغییرات سطح لپتین خون وابسته به تغییرات وزن و امتیاز وضعیت بدن است. به عبارت دیگر میزان همبستگی بین این عوامل به ترتیب ۰/۷+ و ۰/۵+ می باشد. با توجه به ارتباط قوی میان امتیاز وضعیت بدن با ضخامت چربی پشتی که نشانگر کل ذخایر چربی بدن است (سانسون و همکاران، ۱۹۹۳)، بالاتر بودن میزان ارتباط بین غلظت لپتین خون و امتیاز وضعیت بدن حاکی از وجود ارتباط میان سطح لپتین خون و ذخایر چربی بدن می باشد. بلاش و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کرده اند که غلظت پلاسمایی لپتین همبستگی بسیار قوی با ضخامت چربی پشتی و نیز نسبت ضخامت چربی پشتی به وزن بدن در میش، قوچ و گوسفندان نر اخته شده، دارد. به طوری که حدود ۳۰ درصد از تغییرات لپتین خون ناشی از تغییرات ضخامت چربی پشتی است. دلاوود و همکاران (۲۰۰۰) نیز در میش های دو تا پنج ساله دریافتند که همبستگی مثبت و معنی داری بین سطح لپتین و کل ذخایر چربی بدن ($P < 0.001$ و $r = +0.68$) و امتیاز وضعیت بدن ($P < 0.001$ و $r = +0.72$) وجود دارد. آنها نتیجه گیری کردند، ۳۵ درصد از تغییرات سطح لپتین خون به چربی بدن و ۱۷ درصد به وضعیت تغذیه بستگی دارد. در مطالعه اخیر کاهش سطح تغذیه موجب کاهش شدید غلظت لپتین در پلاسما تا ۵۶ درصد شد. همچنین در مطالعه چیلارد و همکاران (۱۹۹۸) بر روی میش های بدون تخمدان نیز همبستگی بین غلظت پلاسمایی لپتین و کل ذخایر چربی بدن معادل ۰/۶۷+ گزارش شده است. تغییرات غلظت لپتین خون در گاوهای شیری در اواخر دوره شیردهی، ۳۷ درصد و در گوساله های نر در حال رشد، ۸۳ درصد بوده و به امتیاز وضعیت بدن یا میزان چربی بدن ارتباط دارد (ارهارت و همکاران، ۲۰۰۰). ماری

و همکاران (۲۰۰۲) در قوچ‌های نژاد سوی^۱ گزارش کردند که مصرف جیره حاوی ۹۰ درصد احتیاجات نگهداری در طی چند ماه مصرف موجب کاهش شدید وزن، امتیاز وضعیت بدن و قطر سلول‌های چربی سفید در نواحی مختلف و غلظت لپتین خون گردیده است. در خوک‌های ماده نیز هرچه امتیاز وضعیت بدن در زمان زایش بالاتر باشد، سطح هورمون لپتین در خون بیشتر خواهد بود (استاینه و همکاران، ۲۰۰۰). بوکیر و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کرده‌اند که کاهش شدید سطح انرژی تا ۲۰ درصد نگهداری در طی دو هفته در میش موجب کاهش معنی‌دار در سطح لپتین خون می‌شود. نتایج این مطالعه در گوسفندان دنبه‌دار مشابه آن در گوسفندان بدون دنبه، یک ارتباط قوی میان غلظت لپتین پلاسما با سطح انرژی دریافتی، وزن بدن و به‌ویژه امتیاز وضعیت بدن را بیان می‌کند و می‌توان هورمون لپتین را به‌عنوان یک شاخص مهم از میزان ذخایر چربی بدن عنوان نمود. نتایج حاصله نشان داد در میش‌های شالی که سطح لپتین پلاسما در محدوده ۳ng/ml یا بالاتر قرار دارد میزان تخمک‌گذاری بالاتر از یک می‌باشد، اما با کاهش

آن، میزان تخمک‌گذاری کاهش یافته و زمانی که سطح لپتین به محدوده ۱ng/ml برسد، تخمک‌گذاری کاملاً متوقف می‌گردد. به‌طوری‌که گزارش شده است، میزان تخمک‌گذاری به شدت وابسته به وضعیت متابولیسمی بدن به‌ویژه سطح ذخایر چربی و یا امتیاز وضعیت بدن است (دان و ماس، ۱۹۹۲). با توجه به همبستگی قوی بین غلظت لپتین پلاسما با وزن و امتیاز وضعیت بدن در این مطالعه می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که تغییرات در سطح لپتین پلاسما، وزن، امتیاز وضعیت بدن با میزان تخمک‌گذاری در میش‌های شال یک روند هماهنگ و مثبت دارند.

مطالعات پیشین، حاکی از تأثیر محرک هورمون لپتین بر فرآیندهای تولید مثلی از جمله ترشح گونادوتروپین‌ها در پستانداران است (بارب و همکاران، ۱۹۹۹؛ سنایدر و همکاران، ۲۰۰۰). هر چند گزارشی از تأثیر مستقیم لپتین بر میزان تخمک‌گذاری در گوسفند وجود ندارد، ولی نتایج آزمایش حاضر نشان می‌دهد که لپتین می‌تواند به‌عنوان یک سیگنال متابولیسمی از وضعیت انرژی یا ذخایر چربی بدن در فرآیند تخمک‌گذاری عمل کند.

منابع

۱. حسینی پژوه، خ. ۱۳۷۸. انتقال جنین به روش لاپاروسکوپی در گوسفند. گزارش طرح سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران. پژوهشکده کشاورزی.
2. AFRC. 1995. Agricultural and Food Research Council, energy and protein requirements of ruminants. An advisory manual prepared by the AFRC technical committee on responses to nutrients. 2nd edn. CAB International, Wallingford U.K.
3. Barb, C.R., Barrett, J.B., Kraeling, R.R., and Rampacek, G.B. 1999. Role of leptin in modulating neuroendocrine function: A metabolic link between the brain-pituitary and adipose tissue. *Reproduction of Domestic Animal* 34: 111-125.
4. Blache, D., Tellam, R.L., Chagas, L.M., Blackberry, M.A., Verco, P.E., and Martin, G.B. 2000. Level of nutrition affects leptin concentration in plasma and cerebrospinal fluid in sheep. *Journal of Endocrinology* 165: 625-637.
5. Bocquier, F., Bonnet, M., Faulconnier, Y., Guerre-millo, M., Martin, P., and Chilliard, Y. 1998. Effect of photoperiod and feeding level on perirenal adipose tissue metabolic activity and leptin synthesis in the ovariectomized ewe. *Reproduction, Nutrition and Development* 38: 484-498.
6. Chilliard, Y., Bocquier, F., Delavaud, C., Guerre-Millo, M., Bonnet, M., Martin, P., Faulconnier, Y., and Ferlay, A. 1998. Leptin in ruminants: Effects of species, breed, adiposity, photoperiod, beta-agonists and nutritional status. *Proceeding of cornell nutrition conference for feed manufacturers*. U.S.A. 65-75

7. Chilliard, Y., Ferlay, A., Faulconnier, Y., Bonnet, M., Rouel, J., and Bocquier, F. 2000. Adipose tissue metabolism and its role in adaptations to undernutrition in ruminants. *Proceedings of the Nutrition Society* 59: 127-134.
8. Coop, I.E. 1966. Effect of flushing on reproductive performance of ewes. *Journal of Agricultural Science* 67: 305-323.
9. Corbett, J.L. 1990. Feeding standard for Australian livestock ruminants. 1st edition. CISRO publication.
10. Cumming, I.A. 1977. Relationship in sheep of ovulation rate with liveweight, breed, season and plane of nutrition. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* 17: 234-241.
11. Delavaud, C., Bocquier, F., Chilliard, Y., Keisler, D.H., and Gertler, A. 2000. Plasma leptin determination in ruminants: Effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. *Journal of Endocrinology* 165: 519-526.
12. Dunn, T.G., and Moss, G.E. 1992. Effect of nutrients deficiency and excesses on reproductive efficiency of livestock. *Journal of Animal Science* 70: 1580-1593.
13. Ehrehardt, R.A., Slepatis, R.M., Siegal-Willott, J., Van Amburgh, M.E., Bell, A.W., and Boisclair, Y.R. 2000. Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. *Journal of Endocrinology* 166: 519-528.
14. Estienne, M.J., Harper, A.F., Barb, C.R., and Azain, M.J. 2000. Concentration of leptin in serum and milk from sows that differed in body condition at farrowing. *Journal of Animal Science* 78(Suppl. 1): 860.
15. Gilson, T.L., Kennedy, A.D., and Rampersand, T. 1996. Effects of breed and adipose depot location on responsiveness and sensitivity to adrenergic stimulation in ovine adipose tissue. *Comparative Biochemistry and Physiology* 115C: 19-26.
16. Gutierrez, J., Dunn, T.G., and Moss, G.E. 1987. Inanition decreases episodic LH release in ovariectomized ewes. *Journal of Animal Science* 65(Suppl. 1): 406.
17. Haresign, W. 1981. The influence of nutrition on reproduction in the ewe. I. Effects on ovulation rate, and follicle development and luteinizing hormone release. *Animal Production* 32: 197-202.
18. Houseknecht, K.I., Baile, C.A., Matteri, R.L., and Spurlock, M.E. 1998. The biology of leptin: A review. *Journal of Animal Science* 76: 1405-1420.
19. Kaps, M., and Lamberson, W.R. 2004. *Biostatistics for Animal Science*. CABI Publishing. UK.
20. Marie, M., Fiday, P.A., Thomas, L.M., and Adam, C.L. 2002. Long-term effect of food intake on adipose tissue and leptin secretion during long days in Soay rams. *Proceedings of the British Society of Animal Science, U.K.*, 47.
21. McNeilly, A.S., and Fraser, H.M. 1987. Effect of GnRH agonist-induced suppression of LH and FSH on follicle growth and corpus luteum function in the ewe. *Journal of Endocrinology* 115: 273-282.
22. Russel, A.J.F., Doney, J.M., and Gunn, R.G. 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *Journal of Agricultural Science* 72: 451-459.
23. Sanson, D.W., West, T.R., and Tatman, W.R. 1993. Relationship of body composition of mature ewes with condition score and body weight. *Journal of Animal Science* 71: 1112-1116.
24. Schillo, K.K. 1992. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *Journal of Animal Science* 70: 1271-1282.
25. Schneider, J.E., Zhou, D., and Blum, R.M. 2000. Leptin and metabolic control of reproduction. *Hormones and Behavior* 37: 306-326.
26. Smith, J.F. 1988. Nutrition and ovulation rate in the ewe. *Australian Journal of Biological Science* 41: 27-36.
27. Tatman, W.R., Judkins, M.B., Dunn, T.G., and Moss, G.E. 1990. Luteinizing hormone in nutrient-restricted ovariectomized ewes. *Journal of Animal Science* 68: 1097-1102.
28. Thomas, G.B., Mercer, J.E., Karalis, T., Rao, A., Cummins, J.T., and Clarke, I.J. 1990. Effect of restricted feeding on the concentrations of growth hormone (GH), gonadotropins, and prolactin (PRL) in plasma and on the amounts of messenger ribonucleic acid for GH, gonadotropins subunits, and PRL in the pituitary glands of adult ovariectomized ewes. *Endocrinology* 126: 1361-1367.
29. Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., and Freidman, J.M. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-432.

Plasma leptin concentration and ovulation rate in dietary energy-restricted Chal ewes

A. Towhidi¹, H. Khazali², A. Nik-khah¹, A. Niasari³, M. Zhandi⁴

¹Assistant professor and professor of Animal Sciences, Faculty of Agronomy and Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, ²Assistant professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Shahid Beheshti, Tehran, ³Assistant professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, ⁴Ph.D student of Animal Physiology, Faculty of Agronomy and Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran

Abstract

The goal of this experiment was to determine the effect of restricted energy intake on plasma leptin concentration and ovulation rate in fat-tailed Chal ewes. Twenty-eight ewes with synchronized estrous cycles were selected and randomly assigned to control (n=14) or dietary energy-restricted (treated; n=14) groups. The ewes were fed at 60% (treatment) or 100% (control) of maintenance energy requirements level for 12 weeks (or six estrous cycles). Blood samples from four ewes in each group were collected twice weekly to measure plasma leptin concentration. In each oestrous cycle, ovulation number (by laparoscopy), body weight (BW), and body condition score (BCS) were determined. Differences in ovulation rate were compared by a Chi-squared test. RIA kits determined plasma leptin concentrations. BW, BCS and plasma concentrations were analysed by a repeated measures analysis of variance in the GLM procedure. In energy-restricted group, mean BW ($P<0.01$) and BCS ($P<0.01$), from 2nd to 6th oestrous cycle; mean plasma leptin concentration ($P<0.01$), from early 3rd oestrous cycle to the end of experiment; and ovulation rate, from 4th oestrous cycle to the end of experiment, were significantly decreased ($P<0.05$). A positive correlation between BW and BCS ($P<0.01$, $r=+0.79$), between BW and plasma leptin concentration ($P<0.05$, $r=+0.50$), and between BCS and plasma leptin concentration ($P<0.01$, $r=+0.70$) were obtained. The results indicated that there may be a remarkable relationship between plasma leptin concentration and energy intake level, BW, BCS and ovulation rate in fat-tailed ewes.

Keywords: Restricted energy level; Leptin; Ovulation rate; Chal ewes