

اثر استفاده از مکمل سلنیوم آلی و معدنی همراه با ویتامین E بر بهبود ویژگی‌های فحلی در میش‌های قزل سیدرگذاری شده

سامان ساعدی^۱، حسین دقیق‌کیا^{۲*}، غلامعلی مقدم^۳ و علی حسین‌خانی^۲

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۶ تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۲۹

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشگاه تبریز

^۲ دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

^۳ استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

*مسئول مکاتبه: Email: daghighkia@tabrizu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: بررسی‌ها بیانگر نقش مهم عناصر و ویتامین‌ها در عملکرد فعالیت‌های تولیدمثلی است. هدف: تحقیق حاضر جهت بررسی تأثیر مکمل‌های سلنیوم آلی و معدنی همراه با ویتامین E بر بهبود ویژگی‌های فحلی در میش‌های قزل سیدرگذاری شده انجام شد. **روش کار:** ۴۴ رأس میش قزل (سن: ۲-۳ ساله، وزن: 55 ± 2 کیلوگرم، نمره وضعیت بدن ۳) مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات در چهار گروه مشتمل بر ۱۱ میش در هرکدام قرار گرفتند. تیمارها مشتمل بر چهار گروه: گروه اول یا شاهد (جیره پایه)، گروه دوم (جیره پایه + جو سرک)، گروه سوم (جیره پایه + جو سرک + مکمل ویتامین E + سلنیوم آلی)، گروه چهارم (جیره پایه + جو سرک + مکمل ویتامین E + سلنیوم معدنی) بودند. فحلی با استفاده از سیدر همزمان‌سازی شد. **نتایج:** بیشترین میزان بازگشت به فحلی مربوط به گروه شاهد (۵۰٪) و کمترین میزان مربوط به گروه چهارم (۱۸٪/۲) بود ($P < 0/01$). همچنین اولین فحلی مشاهده شده بعد از سیدربرداری، مربوط به میش‌های گروه سوم بود که نسبت به سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0/01$). میزان استروژن خون میش‌های گروه‌های چهارم و سوم در زمان پرواستروس و استروس و غلظت پروژسترون خون گروه‌های چهارم و سوم، ۲۱ روز پس از جفت‌گیری نسبت به گروه‌های شاهد و دوم تفاوت معنی‌داری داشتند ($P < 0/01$). **نتیجه‌گیری نهایی:** بنظر می‌رسد که استفاده از جیره‌های فلاشینگ حاوی سلنیوم آلی و معدنی همراه با ویتامین E باعث افزایش فحلی، افزایش احتمال لقاح و کاهش میش‌های غیرآبستن شده است.

واژگان کلیدی: سلنیوم آلی، سلنیوم معدنی، میش قزل، ویتامین E، ویژگی‌های فحلی

مقدمه

همزمان‌سازی فحلی به دامدار اجازه می‌دهد که رسیدگی و تلقیح دام‌ها را به صورت یک برنامه کاری منظم و متناسب با دیگر فعالیت‌های مورد نیاز خود، برنامه‌ریزی نماید. همزمان‌سازی فحلی موجب تشخیص سریع و دقیق فحلی و کوتاه نمودن فصل تولیدمثل و کاهش درصد میش‌های غیر آبستن در پایان فصل تولیدمثلی شده و در نهایت باعث سهولت مدیریت زمان زایش دام‌ها می‌شود (کراو ۲۰۰۸). امروزه همزمان‌سازی فحلی به طور گسترده‌ای برای مدیریت تولیدمثلی گوسفند انجام می‌شود. بدین منظور مطالعات زیادی در خصوص استفاده از سیدر برای همزمان‌سازی فحلی و تخمک‌ریزی و افزایش درصد موفقیت جفت‌گیری در گوسفند انجام شده است. مطالعه انجام یافته در خصوص مقایسه اثر استفاده از سیدر و اسفنج پروژسترون در همزمان‌سازی فحلی میش‌های نژاد رومانوف نشان داد که درصد جفت‌گیری انجام شده در میش‌های دریافت کننده سیدر نسبت به میش‌های دریافت کننده اسفنج پایین‌تر بود (۸۴٪ در مقابل ۹۴٪) که یکی از دلایل آن دفع بیشتر سیدر نسبت به اسفنج بود (شاکل ۱۹۹۱). بنابر این نمی‌توان فقط به سیدر به عنوان یک عامل همزمان‌سازی فحلی اتکا کرد.

عوامل زیادی در عدم لقاح اووسیت و در نتیجه برگشت فحلی تأثیر گذارند. تعداد و کیفیت اووسیت‌های بدست آمده از گاوهای شیری مبتلا به تکرر فحلی، بطور معنی‌داری کمتر از گاوهای سالم است که نشان می‌دهد رشد ناکافی و یا کیفیت پایین اووسیت‌ها احتمالاً از دلایل برگشت فحلی باشد (کوریکین و همکاران ۲۰۱۱). کیست‌های تخمدانی یکی دیگر از عوامل کاهش فحلی و در نتیجه بروز تکرر فحلی است. مطالعات ماکاوی و همکاران (۲۰۱۴) بر روی گوسفند نژاد آواسی نشان داد که مکمل ویتامین E و سلنیوم به طور معنی‌داری باعث افزایش تعداد لوکوسیت‌ها (TLC) در مایع فولیکولی

شده که در نهایت باعث کاهش ابتلا به کیست‌های تخمدانی می‌شود.

کاهش غلظت برخی از آنتی‌اکسیدان‌ها مانند سلنیوم و ویتامین E و A باعث کاهش نرخ فحلی و باروری می‌شود (جوکولا و همکاران ۱۹۹۶). مطالعات آی و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که کاهش غلظت بتاکاروتن در سرم خون باعث به تأخیر انداختن فحلی و افزایش فحلی خاموش در گاوهای شیری می‌شود.

اگرچه اطلاعات کمی در مورد اثرات سلنیوم و ویتامین E بر روی تولیدمثل بویژه تولیدمثل گوسفند در دسترس است اما نشان داده شده است که سلنیوم در شرایط آزمایشگاهی باعث تکثیر سلول‌های گرانولوزای تخمدان و سنتز استرادیول ۱۷-β در دام‌ها می‌شود (باسینی و تمنانی ۲۰۰۰). افزایش استروژن موجود در مایع فولیکولی سبب بهبود ویژگی‌های فحلی، نرخ تخمک‌ریزی، باروری، کلیواژ، آبستنی و در نتیجه عدم برگشت به فحلی می‌شود (رابینسون و همکاران ۲۰۰۲). همچنین در طول دوره فحلی، انواع اکسیژن واکنش‌زا (ROS) در پاسخ به تولید هورمون و تخمک‌ریزی در تخمدان تولید می‌شود (آگاروال و همکاران ۲۰۰۵). تجمع ROS باعث کاهش تولید پروژسترون و افزایش تولید بتاندورفین شده و از این طریق باعث کاهش موفقیت تلقیح مصنوعی و در نهایت افزایش برگشت به فحلی می‌شود (ریزو و همکاران ۲۰۰۷). سلنیوم کوفاکتور آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPx) است که نقش اساسی در حذف رادیکال‌های آزاد و هیدروژن پراکسید (H₂O₂) ایفا می‌کند. کاهش سلنیوم باعث کاهش فعالیت آنزیم GPx در مایع فولیکولی می‌شود که مستقیماً با عدم لقاح اووسیت مرتبط می‌باشد (پازسکوفسکی و همکاران ۱۹۹۵).

افزودن برخی از مکمل‌های طبیعی به جیره غذایی دام‌ها می‌تواند باعث افزایش فحلی و کاهش فحلی خاموش

²Reactive oxygen species³Glutathione peroxidase¹ Total leukocyte count

شوند (ناتل و همکاران ۱۹۹۷). کویونسو و ارلیکیا (۲۰۰۷) نشان دادند که استفاده از ۲۵۰ میلی‌گرم ویتامین E با ۵ میلی‌لیتر سدیم سلنات (سلنیوم معدنی) باعث بهبود فحلی میش‌ها و کاهش برگشت به فحلی در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. از آنجائیکه برای بهبود خصوصیات فحلی دام‌ها، تمرکز ویژه‌ای بر روی اجزای خوراک وجود دارد، بنظر می‌رسد که استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی در جیره نشخوارکنندگان بخصوص گوسفند، قبل و بعد از جفت‌گیری می‌تواند اثرات متفاوتی در خصوصیات فحلی و همزمان‌سازی میش‌ها داشته باشد. با توجه به اینکه مطالعات قبلی اثرات مثبت استفاده از مکمل‌های سلنیوم و ویتامین E بصورت مجزا، بر خصوصیات فحلی میش‌ها را ثابت کرده، بنابر این هدف از این پژوهش، بررسی اثرات ترکیبی مکمل‌های سلنیوم آلی با ویتامین E و سلنیوم معدنی با ویتامین E بر خصوصیات فحلی میش‌های قزل سیدرگذاری شده و کاهش برگشت به فحلی بود.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در فاصله زمانی مردادماه تا اسفندماه ۱۳۹۲ در ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان دانشگاه تبریز انجام شد. در این پژوهش ۴۴ رأس میش قزل ۲-۳ ساله با وزن متوسط 55 ± 2 کیلوگرم با نمره وضعیت بدنی ۳ انتخاب شده سپس همه میش‌ها تحت معاینه و بررسی کامل و دقیق قرار گرفتند تا از نظر سلامت و صحت عملکرد تولیدمثلی آنها اطمینان حاصل شود. میش‌ها بصورت تصادفی در چهار گروه آزمایشی مساوی (۱۱ رأس) مورد استفاده قرار گرفتند. گروه‌های آزمایشی مشتمل بر: گروه اول یا شاهد (دریافت‌کننده جیره پایه)، گروه دوم (دریافت‌کننده جیره پایه + جو)، گروه سوم (دریافت‌کننده جیره پایه + جو + مکمل ویتامین E + سلنیوم آلی)، گروه چهارم (دریافت‌کننده جیره پایه + جو + مکمل ویتامین E + سلنیوم معدنی) بودند. میش‌ها از دو هفته قبل تا سه هفته بعد از جفت‌گیری، جیره‌های

آزمایشی را دریافت کردند. جیره‌های غذایی طبق جداول NRC (۱۹۸۵) تنظیم شده و به صورت کاملاً مخلوط در یک وعده غذایی در اختیار میش‌ها قرار گرفتند (جدول ۱). چهارده روز قبل از جفت‌گیری (همزمان با شروع جیره آزمایشی) میش‌ها با استفاده از سیدر (EAZI-BREED CIDR)، ساخت کشور نیوزلند (شماره ۰۲۰۸-۳۹۰۲۰۴۱۱) همزمان‌سازی فحلی شدند. ۱۴ روز بعد از سیدرگذاری، سیدرها بیرون کشیده شد. بمنظور باروری بهتر و موفق‌تر میش‌ها به هرکدام از آنها به میزان ۴۰۰ واحد بین‌المللی هورمون PMSG بصورت عضلانی تزریق شد. هورمون مورد استفاده با اسم تجاری (Folligon) ساخت USA اینتروت بود. جهت بارورسازی میش‌های آزمایش‌شاز ۸ رأس قوچ قزل ۳-۵ ساله با وزن ۱۰۲-۸۵ کیلوگرم استفاده شد. عملیات قوچ اندازی ۲۴ ساعت پس از تزریق هورمون PMSG انجام شده و به مدت ۳ روز ادامه یافت (دقیق‌کیا و عسگری صفر ۲۰۱۵).

خون‌گیری از میش‌ها در فواصل زمانی قبل از شروع آزمایش، ۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری (پرواستروس)، ۲۴ ساعت پس از سیدربرداری (استروس) و ۲۱ روز پس از قوچ اندازی انجام شد. بلافاصله بعد از خون‌گیری، سرم نمونه‌ها با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با دور ۴۰۰۰ در دقیقه و طی ۱۲ دقیقه جدا-سازی شدند. بعد از جداسازی، سرم‌ها تا زمان آنالیز هورمونی داخل میکروتیوب و در فریزر 20°C - نگهداری شدند. هورمون‌های سرم خون (استروژن و پروژسترون) با کیت‌های هورمونی متعلق به شرکت Monobind آمریکا و توسط دستگاه الیزاریدر مدل اورانس ۳۲۰۰ آمریکا اندازه‌گیری شدند.

درمدل آماری فوق Y_{ijk} برابر با داده مشاهده شده برای فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده، μ = میانگین جامعه، $Treat_i$ = اثر تیمار i ام، $Type_k$ = اثر تیپ زایش k ام، $Treat^* Type$ = اثر متقابل زمان در تیمار، $Animal_l$ = اثر حیوان و e_{ijkl} = اثر باقیمانده یا خطا بود. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون توکی کرامر استفاده گردید.

نتایج

نتایج نشان داد که درصد میش‌های فعل در بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). اما درصد بازگشت به فعلی بین تیمارهای مختلف با هم تفاوت معنی‌داری داشتند ($P < 0.01$)، بطوریکه کمترین درصد بازگشت به فعلی در تیمار سلنیوم معدنی با ویتامین E (۱۸٪/۲) و بیشترین درصد بازگشت به فعلی در تیمار شاهد (۴۵٪/۵) مشاهده شد. همچنین درصد بازگشت به فعلی در تیمار سلنیوم معدنی با ویتامین E کمتر از تیمار سلنیوم آلی با ویتامین E بود (جدول ۲). بدنبال برداشتن سیدرها و تزریق هورمون PMSG، میش‌های مربوط به تیمار سوم زودتر از گروه‌های دیگر و با میانگین زمانی $39/15 \pm 0/78$ ساعت، علائم فعل را نشان دادند؛ این در حالیست که بیشترین میانگین فاصله زمانی فعلی و با $65/87 \pm 1/23$ ساعت مربوط به تیمار شاهد بود، که البته با تیماردوم تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). اما تیمارهای سوم و چهارم با تیمارهای شاهد و دوم تفاوت معنی‌داری داشتند ($P < 0.01$).

نتایج موجود در جدول ۳ نشان‌دهنده وجود تفاوت‌های معنی‌دار غلظت استروژن سرم خون در زمان پرواستروس و استروس بین تیمارهاست. تیمارهای چهارم (سلنیوم معدنی با ویتامین E) و سوم (سلنیوم آلی با ویتامین E) بترتیب با $37/66$ و $37/43$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر استروژن در مرحله استروس دارای بیشترین غلظت استروژن در بین تیمارهای آزمایشی بودند، اگرچه میزان هورمون استروژن در زمان

جدول ۱- جیره‌های آزمایش

اجزای جیره (درصد ماده خشک جیره)	تیمار اول	تیمار دوم	تیمار سوم	تیمار چهارم
سبوس کندم	-	۱۱	۱۱	۱۱
کنجاله سویا	-	۸/۵	۸/۵	۸/۵
مکمل مواد معدنی (Ca, P)	-	۱	۱	۱
دانه جو	-	۷۳	۷۳	۷۳
نمک	-	۰/۵	۰/۵	۰/۵
ملاس	-	۶	۶	۶
مکمل های ویتامین E و سلنیوم جیره برای هر راس میش در هر روز (گرم)				
سلنیوم معدنی	-	-	-	۰.۱۳۵
سلنیوم آلی	-	-	۰.۱۳۵	-
ویتامین E	-	-	۰.۰۴۸	۰.۰۴۸
اجزای شیمیایی				
TDN (%)	-	۷۸	۷۸	۷۸
پروتئین (%)	-	۱۳/۲	۱۳/۲	۱۳/۲
انرژی قابل هضم (Mcal/kg)	-	۳/۴۱	۳/۴۱	۳/۴۱
انرژی قابل متابولیسم (Mcal/kg)	-	۳/۰۱	۳/۰۱	۳/۰۱

تیمار اول: شاهد (دریافت کننده جیره پایه)؛ تیمار دوم (دانه جو)؛ تیمار سوم (دانه جو + ویتامین E + سلنیم آلی)؛ تیمار چهارم (دانه جو + ویتامین E + سلنیم معدنی).

آنالیز داده‌ها

آزمایش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. پس از آزمون نرمال بودن داده‌های بدست آمده، نتایج حاصل توسط نرم افزار آماری SAS آنالیز شدند. برای صفت مربوط به فعلی از آنالیز کای اسکور استفاده شد. مدل آماری طرح به صورت $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ بود که در آن: T_i : اثر تیمارها؛ μ : میانگین جامعه، Y_{ij} : مقدار هر مشاهده و e_{ij} : اثر اشتباه بود.

برای تجزیه عوامل مؤثر بر روی غلظت هورمون‌ها از رویه Mixed نرم افزار (۲۰۰۳) SAS استفاده شد.

$$Y_{ijkl} = \mu + Treat_i + Time_j + (Treat * Time)_{ij} + Type_k + Animal_l + e_{ijkl}$$

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح خطای یک درصد می باشد.

جدول ۴ مقایسه میانگین غلظت پروژسترون سرم خون را نشان می‌دهد، غلظت پروژسترون در شروع دوره در بین تیمارهای فلاشینگ تفاوت معنی‌داری نداشت. اما نتایج بدست آمده حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار غلظت پروژسترون سرم خون در آخرین مرحله خونگیری (۲۱ روز پس از قوچ اندازی) می باشد ($P < 0.01$). ۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری بخاطر وجود سیدر، غلظت پروژسترون افزایش یافت. غلظت پروژسترون تیمارهای سلنیوم معدنی با ویتامین E و سلنیوم آلی با ویتامین E تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد داشتند ($P < 0.01$)، اما با تیمار فلاشینگ جو تفاوت معنی‌داری نداشتند. ۲۴ ساعت پس از سیدربرداری (استروس) میزان غلظت پروژسترون در تمامی گروه‌ها کاهش یافت. در این مرحله میزان پروژسترون در تیمار فلاشینگ جو بیشترین و در تیمار شاهد کمترین مقدار بود. میزان غلظت پروژسترون در زمان ۲۱ روز پس از قوچ اندازی (دوره آبستنی و لانه‌گزینی رویان) بالا بود، که به نظر می‌رسد به علت وارد شدن میش‌ها به دوره آبستنی و تشکیل رویان باشد.

استروس در تیمارهای چهارم و سوم بیشتر از تیمار دوم (فلاشینگ جو) و اول (شاهد) بود که نشان می‌دهد استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سلنیوم معدنی با ویتامین E و سلنیوم آلی با ویتامین E بطور معنی‌داری باعث افزایش میزان استروژن در فاز استروس نسبت به گروه شاهد می‌شود ($P < 0.01$).

جدول ۲- مقایسه میانگین خصوصیات فحلی در بین تیمارها

تیمار	فحلی (%)	برگشت به فحلی (%)	مشاهده فحلی از زمان برداشت سیدر (ساعت)
اول	۹۰/۹	۴۵/۵ ^a	۶۵/۱±۸۷/۲۳ ^a
دوم	۱۰۰	۳۶/۴ ^b	۶۳/۰±۲۶/۲۶ ^a
سوم	۱۰۰	۲۷/۳ ^c	۳۹/۰±۱۵/۷۸ ^c
چهارم	۱۰۰	۱۸/۲ ^d	۴۷/۰±۷۶/۴۱ ^b

جدول ۳- مقایسه میانگین غلظت استروژن (pg/ml) بین تیمارها در زمان فحلی

تیمار	پرواستروس	استروس
اول	۸/۰±۰۹/۴۵ ^b	۲۸/۱±۹۸/۴۵ ^c
دوم	۷/۰±۶/۴۹ ^b	۳۳/۱±۲/۵۹ ^b
سوم	۱۰/۰±۵۱/۴۵ ^a	۳۷/۱±۶۶/۴۵ ^a
چهارم	۱۱/۰±۳۳/۴۵ ^a	۳۷/۱±۴۳/۴۵ ^a

تیمار اول: شاهد (جیره پایه)؛ تیمار دوم (دانه جو)؛ تیمار سوم (دانه جو + ویتامین E + سلنیوم آلی)؛ تیمار چهارم (دانه جو + ویتامین E + سلنیوم معدنی).

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های بین تیمارها و غلظت پروژسترون (ng/ml) در زمان فحلی و ۲۱ روز پس از جفت‌گیری

تیمار	شروع دوره	۲۴ ساعت قبل از سیدربرداری (پرو استروس)	۲۴ ساعت بعد از سیدربرداری (استروس)	۲۱ روز پس از جفت‌گیری
اول	۱/۰±۲۳/۰۷ ^a	۱/۰±۳۹/۰۹ ^b	۰/۰±۵۹/۰۸ ^b	۳/۰±۳۱/۱۳ ^c
دوم	۱/۰±۳۱/۰۷ ^a	۱/۰±۴۳/۰۹ ^{ab}	۰/۰±۸۷/۰۹ ^a	۴/۰±۱۱/۱۵ ^b
سوم	۱/۰±۳۴/۰۶ ^a	۱/۰±۶۸/۰۸ ^a	۰/۰±۶۴/۰۸ ^{ab}	۵/۰±۱۲/۱۳ ^a
چهارم	۱/۰±۳۵/۰۶ ^a	۱/۰±۶۹/۰۸ ^a	۰/۰±۶۹/۰۸ ^{ab}	۵/۰±۲/۱۳ ^a

*حروف لاتین غیرمشابه در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ($P < 0.01$) می‌باشد.

نسبت به گروه شاهد بیشترین میزان فعلی را نشان دادند؛ اما هیچکدام از این اثرات معنی‌دار نبود (گابریسزوک و کلویک ۲۰۰۲). این کاهش درصد بازگشت به فعلی احتمالاً به دلیل کاهش میزان کیست‌های تخمدانی و افزایش سلامت رحم از طریق افزایش عملکرد نوتروفیل‌ها بود که باعث بهبود عملکرد رحم و تخمدان می‌شود (مشرکی و متری ۲۰۰۰).

گزارش شده است که رادیکال‌های آزاد با فعال کردن فسفولیپاز A2 باعث آپوپتیز و از بین رفتن جسم زرد می‌شوند؛ از بین رفتن جسم زرد باعث شکست جفت‌گیری و در نهایت بازگشت به فعلی می‌شود (لکاتز و همکاران ۲۰۱۰). نشان داده شده است که ROS باعث افزایش تولید $PGF_{2\alpha}$ شده و مقادیر بالای $PGF_{2\alpha}$ بنوبه خود باعث پسروی جسم زرد، از بین رفتن رویان و در نتیجه بازگشت به فعلی می‌شود (لکاتز و همکاران ۲۰۱۰). همچنین کمبود سلنیوم باعث کاهش تحرک رحم (سگرسون و لیبی ۱۹۸۲)، افزایش ابتلا به کیست‌های تخمدانی، لقاح ناموفق و برگشت به فعلی می‌شود (کاتو و سوگینو ۱۹۹۷). آنستروس و فعلی خاموش به دلیل کاهش غلظت ویتامین E پلاسما و افزایش پرکسیداسیون لیپیدی در بوفالو نیز گزارش شده است (آنیتا سانگا و نایار ۲۰۰۴). در حالیکه سانچز و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که استفاده از مکمل سلنیوم ۳ ماه قبل از جفت‌گیری باعث کاهش همزمان‌سازی فعلی و در نتیجه افزایش برگشت به فعلی می‌شود، که با نتایج این پژوهش در تضاد هستند.

بررسی‌ها نشان می‌دهد که شکل آلی سلنیوم (سلنوسیستئین، سلنومیتوئین) فعال‌تر، سالم‌تر و قابل جذب‌تر از شکل معدنی آن (سدیم سلنات و سدیم سلنیت) می‌باشد (ادنس ۲۰۰۲)؛ شاید دلیل عملکرد بهتر سلنیوم آلی در زودتر نشان دادن علائم فعلی بعد از برداشتن سیدر (۳۹/۱۵ ساعت) نسبت به سلنیوم معدنی (۴۷/۷۶ ساعت) باشد. الشحات و عبدل منعم (۲۰۱۱) در آزمایشی بر روی میش‌های نژاد بلدی مصری

جدول ۵ نسبت استروژن به پروژسترون در زمان استروس و ۲۱ روز پس از جفت‌گیری رانشان می‌دهد. در زمان استروس، بیشترین میزان نسبت استروژن به پروژسترون در گروه سوم به میزان ۰/۰۵۹ بود. بعد از برداشتن سیدر، میش‌های این گروه زودتر از سایر گروه‌ها (۳۹/۱۵ ساعت) علائم فعلی را به میزان ۱۰۰٪ فعل شده نشان دادند. کمترین میزان نسبت استروژن به پروژسترون در گروه دوم به میزان ۰/۰۳۸ مشاهده شد. نکته قابل توجه وجود سه میش غیرآبستن در این گروه بود. بنظر می‌رسد کاهش نسبت استروژن به پروژسترون در زمان استروس، میزان میش‌های آبستن نشده (قصر) و یا سقط شده را افزایش می‌دهد. همچنین نسبت استروژن به پروژسترون در ۲۱ روز پس از جفت‌گیری (زمان لانه‌گزینی جنین) در گروه سوم نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی کمترین بود (۰/۰۰۱۶).

جدول ۵- نسبت استروژن به پروژسترون (E_2/P_4)

تیمار	نسبت E_2/P_4 در زمان استروس	نسبت E_2/P_4 در ۲۱ روز پس از جفت‌گیری
اول	۰/۰۴۹	۰/۰۰۲۷
دوم	۰/۰۳۸	۰/۰۰۲۱
سوم	۰/۰۵۹	۰/۰۰۱۶
چهارم	۰/۰۵۴	۰/۰۰۱۹

بحث

نتایج این پژوهش در خصوص کاهش درصد بازگشت به فعلی بین تیمارها با نتایج کوینکو و ایرلیکایا (۲۰۰۷) مشابه بود. اما آزمایش بر روی میش‌های مرینوس نشان داد که تزریق ۱ درصد سدیم سلنات اثر بهتری بر میزان فعلی میش‌ها نسبت به تزریق ویتامین E (۲۵۰ میلی گرم) با ۵ میلی‌لیتر سدیم سلنات ۱ درصد داشته و میش‌هایی که ویتامین E (۲۵۰ میلی گرم) با ۵ میلی‌لیتر سدیم سلنات ۱ درصد دریافت کرده بودند

سیدرگذاری نشده نشان دادند که استفاده از ۵۰ میلی- گرم مکمل ویتامین E، باعث کاهش فاصله زمانی بین دو فحلی در میش‌ها (۱۶/۴ روز) نسبت به گروه‌هایی شد که از مکمل ویتامین E و سلنیوم بصورت ترکیبی استفاده کرده بودند (۱۸ روز)، همچنین گروه‌هایی که از مکمل ویتامین E و سلنیوم بصورت ترکیبی استفاده کرده بودند نسبت به گروه شاهد (۲۱/۳ روز) زودتر فحل شدند، که با نتایج این پژوهش که نشان داد مکمل ویتامین E با سلنیوم معدنی و آلی باعث کاهش فاصله زمانی فحلی از زمان برداشتن سیدر می‌شود همخوانی دارد.

افزایش استروژن موجود در مایع فولیکولی سبب بهبود ویژگی‌های فحلی، نرخ تخمک‌ریزی، باروری، کلیواژ و آبستنی می‌شود (رابینسون و همکاران ۲۰۰۲). فحلی مرتبط با انتخاب یک فولیکول بزرگ و سالم (بیشتر از ۹ میلی‌متر) طی پرواستروس و تکمیل بلوغ نهایی آن است؛ در طول دوره فحلی، غلظت پروژسترون به کمتر از ۱ نانوگرم در میلی‌لیتر کاهش می‌یابد. در واقع فولیکول بزرگ، استرادیول $\beta 17$ تولید می‌کند که با فیدبک مثبت روی هیپوتالاموس-هیپوفیز باعث ایجاد رفتار فحلی می‌شود (مارتین و همکاران ۲۰۰۸). بنابر این بنظر می‌رسد که افزایش در میزان استروژن خون قبل از فحلی (پرواستروس) و در زمان فحلی (استروس)، باعث بهبود ویژگی‌های فحلی و بروز نشانه‌های آن از سوی دام می‌شود. غلظت پلاسمایی هورمون استروژن در بیشترین بخش چرخه فحلی پایین است، اما برای چهار روز پیش از فحلی افزایش یافته و در روز فحلی و یا یک روز پیش از آن به پیک خود می‌رسد. این پیک ترشحی معمولاً پیش و یا همزمان با سرژ LH روی می‌دهد که پیش از تخمک‌ریزی اتفاق می‌افتد. افزایش غلظت استرادیول همگام با افزایش رشد فولیکول برگزیده برای تخمک‌ریزی است که احتمالاً منبع عمده استروژنی است که موجب بروز نشانه‌های فحلی می‌شود (رابینسون و همکاران ۲۰۰۲). نتایج مطالعه بر روی

گوسفندان نژاد سافوک نشان داد که استفاده از سلنیوم معدنی با ویتامین E قبل از تخمک‌گذاری باعث افزایش میزان هورمون استروژن نسبت به تیمار شاهد شد (سن و همکاران ۲۰۱۱).

تیمار چهارم و سوم بترتیب بیشترین میزان هورمون پروژسترون را در ۲۱ روز پس از جفت‌گیری داشتند که با نتایج یوسن و همکاران (۲۰۱۱) بر روی گوسفندان نژاد سافوک که نشان داد که استفاده از سلنیوم معدنی با ویتامین E قبل از تخمک‌گذاری باعث افزایش میزان هورمون پروژسترون در زمان تشکیل رویان نسبت به گروه شاهد می‌شود مطابقت دارد. همچنین لکاتز و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که که افزایش سلنیوم جیره در زمان جفت‌گیری و آبستنی باعث افزایش میزان هورمون پروژسترون سرم میش‌ها در روز ۵۰، ۹۰ و ۱۰۶ آبستنی نسبت به گروه شاهد و در نتیجه حفظ جنین می‌شود.

حدود ۲۵ تا ۵۵ درصد رویان‌های پستانداران در اوایل آبستنی تلف می‌شوند، که بیشتر این تلفات بخاطر عملکرد ناکافی جسم زرد در تولید پروژسترون می‌باشد (اکی فکم و کوران ۲۰۰۴). پروژسترون در پی تخمک‌ریزی از سلول‌های بزرگ جسم زرد ترشح شده و نقش بسیار مهمی در انتقال اووسیت در لوله فالوپ و انتقال جنین از لوله فالوپ به رحم و جایگزینی در رحم دارد و در ضمن باعث افزایش ضخامت آندومتریم رحم، افزایش هیستوتروف و کاهش انقباضات رحم می‌شود (اکی فکم و کوران ۲۰۰۴). در حالیکه مطالعات گرازول-بیلسکا و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که استفاده از مکمل سلنیوم آلی در جیره میش‌ها باعث کاهش هورمون پروژسترون نسبت به گروه شاهد و در نتیجه سقط جنین و برگشت به فحلی می‌شود که با نتایج پژوهش حاضر مغایرت دارد. یکی از مشکلات عمده در بازگشت به فحلی، شکست لانه‌گزینی است که تحت تاثیر هورمون‌ها می‌باشد. از مهم‌ترین این هورمون‌ها می‌توان به استروژن و پروژسترون اشاره

فیزیولوژیکی استروژن در زمان لانه‌گزینی جنین همچنان مورد بحث می‌باشد.

نتیجه

مطالعات گذشته، نتایج متفاوتی در زمینه استفاده از مکمل‌های سلنیوم و ویتامین E بر برخی از ویژگی‌های فحلی داشته است که دلایل آن می‌تواند متفاوت باشد. از مهمترین عوامل موثر در این امر، مقدار و زمان استفاده از این مکمل‌ها می‌باشد. علاوه بر این، عوامل دیگری همچون نژاد، سن، تغذیه و ویژگی‌های فیزیکی دام می‌تواند تأثیرگذار باشد. همچنین برخی از مطالعات پیشین گزارش کرده‌اند که غلظت سلنیوم و ویتامین E در میش‌های جوان‌تر در مقایسه با میش‌های مسن بالاتر می‌باشد. بطور کلی مواد آنتی اکسیدان غیر آنزیمی نظیر سلنیوم و ویتامین E پس از آنتی اکسیدان‌های آنزیمی، به عنوان دومین سد دفاعی در مقابل عوامل اکسید کننده نظیر ROS عمل کرده و از طریق به دام انداختن رادیکال‌های آزاد باعث جمع‌آوری و حذف آنها از محیط عمل سلول‌ها می‌شوند. بنابر این پیشنهاد می‌شود، برای جلوگیری از اکسیداسیون و مقابله با اثرات مضر ROS بر تولیدمثل، کاهش شانس لقاح و در نهایت برگشت فحلی، قبل و بعد از جفت‌گیری، از مکمل‌های آنتی اکسیدانی مثل ویتامین E، C، A و سلنیوم در جیره‌های آزمایشی استفاده شود.

سپاسگزاری

مولفین بر خود لازم می‌دانند تا از حمایت شرکت و تاک برای در اختیار گزاردن سلنیوم آلی و معدنی و ویتامین E برای این مطالعه تشکر و قدردانی نماید.

کرد. تغییر در نسبت استرادیول به پروژسترون یکی از دلایل مهم شکست لقاح و برگشت به فحلی عنوان شده است (گروبر و همکاران ۲۰۰۷). در پژوهش حاضر کمترین میزان نسبت استروژن به پروژسترون در زمان فحلی در گروه دوم به میزان ۰/۰۳۸ بود. نکته جالب توجه در این گروه وجود سه میش غیرآبستن (قصر) بود. بنظر می‌رسد کاهش نسبت استروژن به پروژسترون در زمان استروس، میزان میش‌های قصر و یا سقط شده را افزایش می‌دهد. همچنین در زمان لانه‌گزینی جنین، گروه سوم کمترین نسبت استروژن به پروژسترون را در بین گروه‌های آزمایشی داشت (۰/۰۱۶) و بعد از برداشتن سیدر میش‌های این گروه زودتر از سایر گروه‌ها فحل شدند.

نسبت استروژن به پروژسترون در گردش خون مادر می‌تواند حائز اهمیت باشد، زیرا نشان داده شده است که نسبت بالای استروژن به پروژسترون در زمان لانه‌گزینی جنین موش و انسان می‌تواند مانع از لقاح گردد (سافرو و همکاران ۱۹۹۰). هرچند که در موش افزایش اندک میزان استروژن در زمان لانه‌گزینی جنین برای لانه‌گزینی موفق‌تر می‌تواند مفید باشد (ما و همکاران ۲۰۰۳)، اما افزایش بیش از اندازه هورمون استروژن قبل از لانه‌گزینی جنین می‌تواند باعث شکست لانه‌گزینی شود (دی کاتانزورو و همکاران ۱۹۹۱). در واقع سطوح بالای استروژن، باعث مختل شدن پذیرش آندومتریوم (ان جی اهای و همکاران ۲۰۰۰) و در نهایت کاهش موفقیت لانه‌گزینی جنین می‌شود (سیمون و همکاران ۱۹۹۵). هرچند که نرخ لانه‌گزینی پایین را می‌توان با استفاده از یک رژیم غذایی مرحله‌ای مناسب که باعث کاهش نسبت استروژن می‌شود بهبود بخشید (سیمون و همکاران ۱۹۹۸)، اما اثر سطوح بیش از حد

منابع مورد استفاده

- Agarwal A, Gupta S and Sharma RK, 2005. Role of oxidative stress in female reproduction. Reproductive biology and endocrinology. 3: 1–28.
- Akifcam M and Kura M, 2004. GnRH agonist treatment on day 12 post mating to improve

- reproduction performance in goats. *Small Ruminant Research* 52: 169-172.
- Anitasangha SPS and Nayyar S, 2004. Vitamin E and selenium influence the blood biochemical constituents in postpartum anoestrus buffaloes. *Indian Journal of Animal Sciences* 74: 376-378.
- Grazul-Bilska AT, Neville TL, Borowczyk E, Sharma A, Reynolds LP, Caton JS, Redmer DA and Vonnahme KA. 2014. Ovarian and uterine characteristics and onset of puberty in adolescent offspring: Effects of maternal diet and selenium supplementation in sheep. *Theriogenology* 81: 887-895.
- Ay SS, Kaya D, Kucukaslan I, Agaoglu AR, Emre B, Handler J, Findik M and Aslan S, 2012. Beneficial effects of Beta-carotene injections prior to treatment with PGF_{2α} on the fertility of postpartum dairy cows. *Revue de Médecine Vétérinaire* 163: 387-392.
- Basini G and Tamanini C, 2000. Selenium stimulates estradiol production in bovine granulosa cells: possible involvement of nitric oxide. *Domestic Animal Endocrinology* 18: 1-17.
- Crowe MA, 2008. Resumption of ovarian cyclicity in postpartum beef and dairy cows. *Reproduction in domestic animals* 43(Suppl. 5): 20-8.
- Daghigh Kia H and Asgari Safdar AM, 2015. Effects of calcium salts of fatty acids (CSFA) with different profiles ($\omega 3$ and $\omega 6$) during the flushing period on reproductive performance of 'Afshari' ewes. *Small Ruminant Research* 126(2): 1-8.
- DeCatanaro D, MacNiven E and Ricciuti F, 1991. Comparison of the adverse effects of adrenal and ovarian steroids on early pregnancy in mice. *Psychoneuroendocrinology* 16: 525-536.
- Edens FW, 2002. Practical applications for selenomethionine: broiler breeder reproduction. In: *Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of the 18th Alltech's Annual Symposium*, Edited by Lyons, T. P. and K. A. Jacques, Nottingham University Press, Nottingham, UK. 29-4.
- El-Shahat KH and Abdel Monem UM, 2011. Effects of Dietary Supplementation with Vitamin E and /or Selenium on Metabolic and Reproductive Performance of Egyptian Baladi Ewes under Subtropical Conditions. *World Applied Sciences Journal* 12: 1492-1499.
- Gabryszuk M and Klewicz J, 2002. Effect of injecting 2 and 3-year-old ewes with selenium and selenium-vitamin E on reproduction and rearing of lambs. *Small Ruminant Research* 43: 127-132.
- Gruber I, Just A, Birner M and Lösch A, 2007. Serum estradiol/progesterone ratio on day of embryo transfer may predict reproductive outcome following controlled ovarian hyper stimulation and in vitro fertilization. *Journal of Experimental and Clinical Assisted Reproduction*; 4:1-6.
- Jukola E, Hakkarainen J, Saloniemi B and Sankari S, 1996. Blood selenium, vitamin E, vitamin A, and β - carotene concentrations and udder health, fertility treatments, and fertility. *Journal of Dairy Science* 79: 838-845.
- Kato H, Sugino N, Takiguchi S, Kashida S and Nakamura Y, 1997. Roles of reactive oxygen species in the regulation of luteal function. *Reviews of Reproduction* 2: 81-83.
- Koyuncu M and Yerlikaya H, 2007. Effect of selenium-vitamin E injections of ewes on reproduction and growth of their lambs. *South African Journal of Animal Science* 37: 233-236.
- Kurykin J, Waldmann A, Tiirats T, Kaart T and Jaakma U, 2011. Morphological quality of oocytes and blood plasma metabolites in repeat breeding and early lactation dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals* 46: 253-260.
- Lekatz LA, Caton JS, Taylor JB, Reynolds LP, Redmer DA and Vonnahme KA, 2010. Maternal selenium supplementation and timing of nutrient restriction in pregnant sheep: Effects on maternal endocrine status and placental characteristics. *Journal of Animal Science* 88: 955-971.
- Ma WG, Song H, Das SK, Paria BC and Dey SK, 2003. Estrogen is critical determinant that

- specifies the duration of the window of uterine receptivity for implantation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 2963-2968.
- Makkawi AA, Hamra A and El Abdalla SB, 2014. Effects of vitamin E and Selenium on leukocytic profile and reproductive performance in Awassi ewes. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Production*. 5: 3-10.
- Martin B, Golden E, Carlson OD, Egan JM, Mattson MP and Maudsley S, 2008. Caloric restriction: impact upon pituitary function and reproduction. *Ageing Research Reviews* 7: 209-224.
- Meshreky SZ and Metry GH, 2000. Effect of vitamin E and / or selenium on reproductive performance of New Zealand and White Baladi black doe rabbit under climate conditions of middle Egypt. *Pro.3 Afri. Con. Anim. Agri.* 11th Con. Egyptian Soc Anim Prod, 6-9 Nov. Alex. Egypt.
- Ng Ehy, Yeung WS, Lau EYL, So WW and Ho PC, 2000. High serum estradiol concentration in fresh IVF cycles does not impair implantation and pregnancy rates in subsequent frozen-thawed embryo transfer cycles. *Human Reproduction*. 15: 250-255.
- Nottle MB, Kleemann DO and Seamark RF, 1997. Effect of previous under nutrition on the ovulation rate of Merino ewes supplemented with lupine grain. *Animal Reproduction Science*. 49: 29-36.
- Paszkowski T, Traub AI, Robinson SY and McMaster D, 1995. Selenium dependent glutathione peroxidase activity in human follicular fluid. *Clinica Chimica Acta* 236: 173-80.
- Rizzo A, Minoia G, Trisolini C, Manca R and Sciorsci RL, 2007. Concentrations of free radicals and beta-endorphins in repeat breeder cows. *Animal Reproduction Science* 100: 257-263.
- Robinson RS, Pushpakumara PG, Cheng Z, Peters AR, Abayasekara DR and Wathes DC, 2002. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows. *Reproduction* 124: 119-131.
- Safro E, O'Neill C and Saunders DM, 1990. Elevated luteal phase estradiol: progesterone ratio in mice cause implantation failure by creating a uterine environment that suppresses embryonic metabolism. *Fertility and Sterility* 54: 1150-1153.
- Sanchez J, Jime'nez A, Regodo S and Andre S, 2008. Inhibitory effect of selenium supplementation on the reproductive performance in synchronized merino sheep at range conditions in a selenium-deficient area. *Reproduction in Domestic Animals* 43: 328-332.
- SAS Institute Inc. 2003. *SAS Users Guide*. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Segerson EC and Libby DW, 1982. Ova fertilization and sperm number per fertilized ovum for selenium and vitamin E treated Charolais cattle. *Theriogenology* 17: 333-341.
- Sen W, Fucai C, Yanyan W and Zhangin Zh, 2011. Effects of selenium supplement on the serum hormone concentration and super ovulation effect of Suffolk sheep. *Chinese Agricultural Science Bulletin* 23: 32-35.
- Shackell GH, 1991. The timing of estrus, LH surge and ovulation in ewes following synchronization with MAP sponge, FGA sponges or CIDRs. *Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production* 51: 73-77.
- Simon C, Cano F, Valbuena D, Remohi J and Pellicer A, 1995. Clinical evidence for a detrimental effect on uterine receptivity of high serum estradiol levels in high and normal responder patients. *Human Reproduction* 10: 2432-4.
- Simon C, Garcia-Velasco JJ, Valbuena D, Peinado JA, Moreno C, Remohi J and Pellicer A. 1998. Increasing uterine receptivity by decreasing estradiol levels during the preimplantation period in high responders with the use of a follicle stimulating hormone step-down regimen. *Fertility and Sterility* 70: 234-9.

The effect of organic and inorganic selenium supplementation with vitamin E to improve the estrus characteristics of *Ghezel* ewes CIDR used

S Saedi¹, H Daghigh Kia^{2*}, A Hossein Khani² and Gh Moghaddam³

Received: April 26, 2015 Accepted: September 20, 2015

¹MSc Graduated Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

²Associated Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

³Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

*Corresponding Author: Email: daghighkia@tabrizu.ac.ir

Abstract

BACKGROUND: Studies indicate elements and vitamins play an important role in reproductive function activities. **OBJECTIVES:** The present study was concluded to investigate the effect of organic and inorganic selenium supplements along with vitamin E to improve the properties of estrus in *Ghezel* ewes using CIDR. **METHODS:** Forty-four *Ghezel* ewes (Age: 2-3 years old, weight: 55±2 kg, body condition score 3) were used. Animals allocated in four groups including eleven ewes in each group. Treatments were divided into four groups: first group: As a control group (basal diet), the second group (basal diet + Barley grain), the third group (basal diet + Barley grain + vitamin E + selenium organic), and the forth group (basal diet + Barley grain+ vitamin E + inorganic selenium). Ewes received the experimental diets 2 weeks before mating and continued 3 weeks later. Oestrus was synchronized using CIDR. **RESULTS:** The highest and the lowest rate of return to estrus were observed in control group (45.5%) and in the fourth group (18.2%) respectively ($P<0.01$). Moreover, the first observed estrus after CIDR removal was belonged to third group which was significantly different compared to other groups ($P<0.01$). The estrogen levels of third and fourth groups during proestrus and estrus and progesterone concentration of third and fourth groups in 21 days after mating were significantly different from groups control and second group ($P<0.01$). **CONCLUSIONS:** It seems that the use of flushing diets containing organic and inorganic selenium along with vitamin E increased the estrus, the probability of fertilization and decreased the non-pregnant ewes.

Keywords: Inorganic Selenium, Organic Selenium, Vitamin E, *Ghezel* ewe, Estrus characteristics