The University of Tehran Press

Iranian Journal of Animal Science

Online ISNN: 2008-4773

Homepage: http:// ijas.ut.ac.ir/

Effects of vitamin A injection on antioxidant status, ovarian function, and reproduction performance in repeat breeder Holstein cows

Farhad Kamali Dehkordi1[1], And Hamid Amanlou[2]✉

1. Corresponding author, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail: Farhad.kamali@znu.ac.ir
2. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail: Amanlou@znu.ac.ir
Kamali Dehkordi

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 5 February 2022

Received in revised form: 11 June 2022

Accepted: 19 June 2022

Published online: 23 September 2023

Keywords:

repeat breeder cow,

vitamin A, fertility,

ovarian follicles,

antioxidant.

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the effect of vitamin A injection on reproductive performance in repeat breeder cows. One hundred and sixty-two multiparous Holstein cows with at least three consecutive unsuccessful inseminations were randomly assigned to experimental treatments. Treatments included (1) control: twice intramuscular injection 10 ml placebo30 days apart: 0.9% sodium chloride (n=87) and (2) vitamin A: twice intramuscular injection 10 ml retinol palmitate 30 days apart (n=75). Animals submitted to double-ovsynch protocol and received their experimental treatments on the tenth day of the protocol (the day of the second injection of GnRH). The injection of retinol palmitate significantly increased the number of ovarian follicles larger than 10 mm compared to the control ($P < 0.05$). Plasma concentration of superoxide dismutase enzyme tended to increase ($P = 0.09$) and malondialdehyde concentration tended to decrease ($P = 0.08$) under the influence of vitamin A injection. The conception rate at first artificial insemination was 25.29% and 34.66% for control and vitamin A treatments respectively, this difference was not significant ($P = 0.19$). The odds ratio of conception in the first service for vitamin A treatment was 1.57 times higher than the control treatment but was not statistically significant ($P = 0.19$). In conclusion, vitamin A injection improved antioxidant function and ovarian function. The reproductive performance improved, although not statistically significant.

Cite this article: Kamali Dehkordi, F., & Amanlou, H. (2023). Effects of vitamin A injection on antioxidant status, ovarian function, and reproduction performance in repeat breeder Holstein cows. *Iranian Journal of Animal Science*, 54 (4), 433-444. DOI: http//doi.org10.22059/IJAS.2022.337887.653872

© The Author(s).

DOI: http//doi.org10.22059/IJAS.2022.337887.653872

Publisher: The University of Tehran Press.

Extended Abstract

Introduction

Repeat breeder cows (RBCs) are infertile cows that fail to conceive after three or more consecutive estrous cycles of normal during (17-25 days), without anatomical abnormalities or infections. This syndrome causes economic losses in dairy farms by increasing open days, the number of services per conception, the calving interval, and the culling rate. Embryonic mortality due to luteal deficiency is a major cause of returning to estrus in dairy cows. Researchers have suggested that oxidative stress affects the luteal function by inhibiting the activity P450 SCC enzyme, which is involved in the intracellular translocation of cholesterol to mitochondria, and by impairing hormone (LH) receptors, causes a decrease in progesterone levels and pregnancy disruption in repeat breeder cows. Some studies have shown that vitamin A can support antioxidant defense systems against oxidative stress. The purpose of this study was to investigate the effect of intramuscular injection of vitamin A on the reproductive performance in repeat breeder cows.

Material and method

One hundred and sixty-two repeat breeder Holstein cows were used in a completely randomized design. Treatments included (1) control: twice intramuscular injection 10 ml placebo30 days apart: 0.9% sodium chloride (n=87) and (2) vitamin A: twice intramuscular injection 10 ml retinol palmitate (100000 IU/ml, Nasr Pharmaceutical Company, Iran) 30 days apart (n=75). The Synchronization protocol and experimental activities (the time of injection of experimental treatments, blood sampling and ultrasound of the ovarian) are shown in Figure 1. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasound between 32 and 35 d post-AI. Data were analyzed using the mixed and GLIMMIX procedure of SAS (version 9.3). Means were separated by the Tukey-Kramer multiple range test.

Result

Plasma concentration of superoxide dismutase enzyme tended to increase (P = 0.09, 120.39 vs 127.00) and malondialdehyde concentration tended to decrease (P = 0.08, 1.60 vs 1.39) under the influence of vitamin A injection, indicating vitamin A maybe enhance antioxidant defense systems against oxidative stress. Plasma concentration of progesterone was similar between treatments ($p>0.05$). The number of ovarian follicles larger than 10 mm was affected by treatment injection and was greatest in cows treated with vitamin A injection compared to control (1.59 vs 2.02 respectively, $p=0.02$). The conception rate and odd ratio of conception were not affected by experimental treatments ($p>0.05$).

Conclusion

The results of this experiment indicated an improvement in antioxidant function and a higher number of large follicles affected by vitamin A injection, but reproductive performance was not affected by treatment. Additional research with a higher number of animals is needed to further determine the best number and dosage best time for vitamin A injection.

انتشارات دانشگاه تهران

نشریه علوم دامی ایران، دوره ۵۴، شماره ۴

شاپا الکترونیکی: ۷۹۴۹-۲۴۲۳

Homepage: http://ijas.ut.ac.ir//

اثر تزریق ویتامین A بر وضعیت آنتی اکسیدانی، کنش تخمدان و عملکرد تولیدمثلی گاوهای هلشتاین با فحلی مکرر

فرهاد کمالی دهکردی [۱]✉ | حمید امانلو [۲]

۱. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: farhad.kamali@znu.ac.ir

۲. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: amanlou@znu.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۳/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۹

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۷/۰۱

کلیدواژه‌ها:

گاو با فحلی مکرر، ویتامین A باروری، فولیکول‌های تخمدانی، آنتی اکسیدان.

چکیده

به‌منظور بررسی اثر تزریق ویتامین A بر عملکرد تولیدمثلی گاوهای با فحلی مکرر، تعداد ۱۶۲ راس گاو هلشتاین با دو بار زایش یا بیشتر و کمینه سه تلقیح پی‌درپی ناموفق به‌طور تصادفی به دو تیمار آزمایشی اختصاص داده شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱- شاهد: دو بار تزریق عضلانی ۱۰ میلی‌لیتر سدیم‌کلراید ۰/۹ درصد به عنوان دارونما با فاصله ۳۰ روز (۸۷ راس) و ۲- ویتامین A: دوبار تزریق عضلانی ۱۰ میلی‌لیتر رتینول پالمیتات با فاصله ۳۰ روز (۷۵ راس). گاوها وارد پروتکل دابل آوسینک شده و روز دهم پروتکل (روز تزریق دومین GnRH پروتکل) تیمارهای آزمایشی را دریافت کردند. تزریق ویتامین A باعث افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) تعداد فولیکول‌های تخمدانی بزرگ‌تر از ۱۰ میلی‌متر نسبت به تیمار شاهد شد. غلظت پلاسمایی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با تزریق ویتامین A تمایل به افزایش (P=۰/۰۹) و غلظت مالون‌دآلدهید تمایل به کاهش داشت (P=۰/۰۸). درصد گیرایی در اولین تلقیح مصنوعی برای تیمارهای شاهد و ویتامین A به‌ترتیب ۲۵/۲۹ و ۳۴/۶۶ درصد بود (P=۰/۱۹). احتمال وقوع آبستنی در گروه ویتامین A نسبت به گروه شاهد ۱/۵۷ برابر شد اما از نظر آماری معنی‌دار نبود (P=۰/۱۹). بر اساس نتایج این آزمایش اگر چه تزریق ویتامین A باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش تعداد فولیکول‌های تخمدانی بزرگ‌تر از ۱۰ میلی‌متر شد اما تاثیری بر عملکرد تولیدمثلی نداشت.

استناد: کمالی دهکردی، فرهاد؛ و امانلو، حمید (۱۴۰۲). اثر تزریق ویتامین A بر وضعیت آنتی اکسیدانی، کنش تخمدان و عملکرد تولیدمثلی گاوهای هلشتاین با فحلی مکرر . *نشریه علوم دامی ایران*، ۵۴ (۴)، ۴۴۴-۴۳۳. DOI: http//doi.org10.22059/IJAS.2022.337887.653872

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: http//doi.org10.22059/IJAS.2022.337887.653872

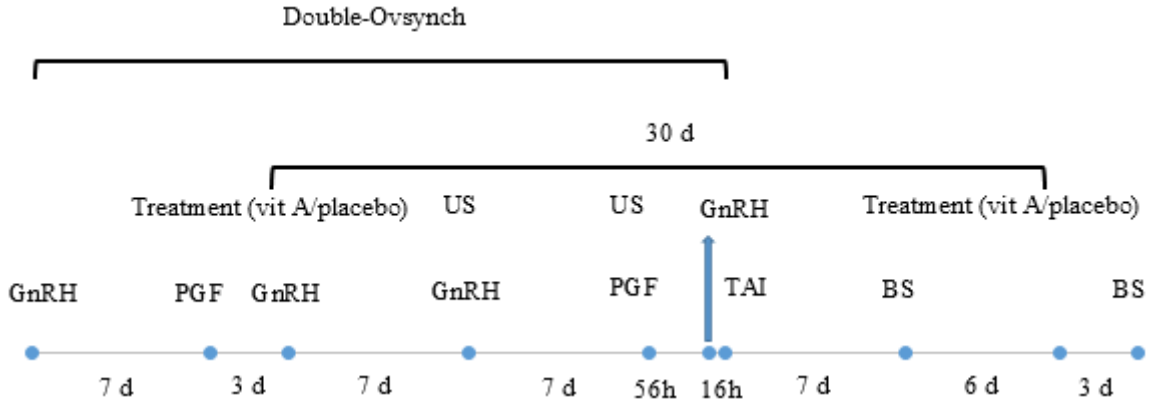
مقدمه

گاوهای با فحلی مکرر (RBCs[1]) به گاوهای ناباروری اطلاق می‌شود که بدون ناهنجاری‌های آناتومیک و بدون بیماری‌های عفونی دستگاه تولیدمثل، شکست در آبستنی را طی سه تلقیح پی‌درپی یا بیشتر با چرخه‌های فحلی منظم تجربه می‌کنند (Perez-Marin *et al.*, 2011). عارضه فحلی مکرر با افزایش روزهای باز، افزایش تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی و افزایش حذف گاوها باعث زیان اقتصادی به مزارع پرورش گاو شیری می‌شود (Bartlett *et al.*, 1986). سبب‌شناسی RBC به طور دقیق مشخص نشده است ولی چندین عامل در وقوع آن نقش دارند. عوامل مختلفی از جمله مدیریت، ژنتیک و تغذیه (Ayalon, 1978) و اختلالات هورمونی (Katagiri & Takahashi, 2004) به عنوان دلایل این عارضه به شمار می‌روند. مرگ رویان یکی از دلایل سهیم در بروز عارضه فحلی مکرر است و نارسایی جسم زرد یک دلیل شناخته شده مرگ رویان می‌باشد (Villarroel *et al.*, 2004). وظیفه اصلی جسم زرد تولید پروژسترون است که برای ایجاد محیط مناسب رحم برای توسعه رویان و نگه‌داری آبستنی مورد نیاز می‌باشد. سطوح پایین‌تر پروژسترون خون در گاوهای با فحلی مکرر نسبت به گاوهای نرمال در روزهای ۱۲ تا ۱۶ پس از تلقیح مصنوعی که روزهای بحرانی برای بقای جسم زرد و ابقای آبستنی می‌باشد گزارش شده است (Rizzo *et al.*, 2007, Soni *et al.*, 2014) این پژوهشگران پیشنهاد کرده‌اند که تنش اکسیداتیو باعث نقص در عملکرد لوتئال، کاهش سطح پروژسترون و گسیخته شدن آبستنی در گاوهای با فحلی مکرر می‌شود. تنش اکسیداتیو در نتیجه تولید بیش از حد ترکیبات دارای اکسیژن واکنش‌دهنده (ROS[2]) نسبت به سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی ایجاد می‌شود. ترکیبات دارای اکسیژن واکنش دهنده سنتز پروژسترون را به‌وسیله محدود کردن آنزیم P450 scc[3] که در انتقال داخل سلولی کلسترول به میتوکندری نقش دارد و به‌وسیله اختلال در گیرنده‌های هورمون ایجاد کننده جسم زرد (LH[4]) محدود می‌کند (Celi, 2011). برخی مطالعات نشان دادند ویتامین A می‌تواند سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی را در مقابل تنش اکسیداتیو تقویت کند (Jin *et al.*, 2014; Kleczkowski *et al.*, 2004; Palace *et al.*, 1999). پیشنهاد شده است که ویتامین A آنزیم P450 scc که در تبدیل شدن کلسترول به پرگنی‌نولون[5] نقش دارد و آنزیم ۳ بتا–هیدروکسی‌استروئید دهیدروژناز که در تبدیل شدن پرگنی‌نولون به پروژسترون نقش دارد را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Islabão, 1982). (Talavera and Chew 1987) گزارش کردند که رتینوئیک اسید و بتا کاروتن دسترسی لیپوپروتئین‌های کم‌چگال برای سنتز پرژسترون در جسم زرد را تحریک می‌کنند. با توجه به اثرات آنتی اکسیدانی ویتامین A و اثرات سودمند آن بر روند سنتز پروژسترون به نظر می‌رسد که استفاده از سطوح بالای ویتامین A ممکن است بر بهبود عملکرد تولیدمثل گاوهای با فحلی مکرر موثر باشد. مطالعات انجام شده بر روی شکمبه در آزمایشگاه نشان داد زمانی که مایع شکمبه از گاوهای تغذیه شده با ۵۰ یا ۷۰ درصد کنسانتره به دست آمده بود، ۶۷ تا ۷۲ درصد رتینول در ۱۲ ساعت انکوباسیون تخریب می‌شود (Weiss, 1998). با توجه به پرتولید بودن گاوهای امروزی و درصد بالای کنسانتره مصرفی در جیره آن‌ها که ممکن است باعث تخریب بخش قابل توجهی از ویتامین A در شکمبه شود، به احتمال در صورت استفاده از این ویتامین به شکل تزریقی افزون بر مصرف خوراکی، عملکرد تولیدمثلی به‌طور موثرتری تحت تاثیر قرار گیرد. افزایش درصد گیرایی تحت تاثیر تزریق ویتامین Ä گزارش شده است (Trojačanec *et al.*, 2012) . هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر تزریق درون عضلانی یک میلیون واحد بین‌المللی ویتامین A دو بار و با فاصله ۳۰ روز بر عملکرد تولیدمثلی گاوهای با فحلی مکرر بود.

1Repeat Breeder Cow
2Reactive Oxygen Species
3Cholesterol side-chain cleavage enzyme
4Luteinizing Hormone
5Pregnenolone
6Conception rate

مواد و روش‌ها

این پژوهش در شرکت کشت و دامداری فکا متعلق به سازمان تأمین اجتماعی کشور واقع در استان اصفهان از ابتدای پاییز سال ۱۳۹۷ تا پایان بهار ۱۳۹۸ انجام شد. جهت انجام این آزمایش تعداد ۱۶۲ راس گاو هلشتاین با فحلی مکرر به طور تصادفی به یکی از دو تیمار آزمایشی اختصاص داده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- شاهد (دو بار تزریق عضلانی ۱۰ میلی‌لیتر سدیم کلراید ۰/۹ درصد به عنوان دارونما با فاصله ۳۰ روز) و ۲- ویتامین A (دو بار تزریق عضلانی ۱۰ میلی لیتر رتینول پالمیتات با فاصله ۳۰ روز) بودند. هر میلی‌لیتر رتینول پالمیتات حاوی ۱۰۰،۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A بود (رتیناویت ساخت شرکت داروسازی نصر، ایران). گاوهای وارد شده به طرح دارای میانگین روزهای شیردهی ۵۱ ± ۱۹۶ و ۴۲ ± ۲۰۱ ، میانگین دوره شیردهی ۱/۰۱ ± ۲/۹۸ و ۱/۱۱ ± ۲/۹۵ و میانگین تولید شیر ۸/۲۲ ± ۴۴/۷۴ و ۶/۲۸ ± ۴۴/۴۳ به‌ترتیب برای تیمارهای شاهد و ویتامین A بودند. گاوها با کمینه سه تلقیح پی‌درپی ناموفق و دارای چرخه‌های فحلی منظم بدون نقص‌های آناتومیک دستگاه تولید مثل و بدون سابقه بیماری‌های تولیدمثلی از جمله متریت و جفت‌ماندگی وارد طرح آزمایشی شدند. سلامت دستگاه تولید مثلی گاوها و عدم ابتلا به کیست‌های تخمدانی در زمان ورود به طرح آزمایشی توسط فرد متخصص در مزرعه بررسی شد و از لحاظ عدم ابتلا به اندومتریت تحت درمانگاهی به وسیله نوار آزمون (Multistix 10 SG, Bayer Corporation, Elkart, IN) تایید شدند به این صورت که به وسیله سیتوبراش از ترشحات رحمی از عقب سرویکس (به طرف رحم) نمونه‌برداری انجام شد و بر اساس تغییر رنگ نوار و توصیه شرکت سازنده نوار، گاوهای دارای اندومتریت رحمی شناسایی و از طرح خارج شدند. گاوها وارد پروتکل دابل آوسینک شده و در روز تزریق دومین گنادورلین پروتکل (روز ۱۰ از شروع پروتکل هورمونی) تیمارهای آزمایشی را دریافت کردند و در پایان برنامه هورمونی بر اساس پروتکل تلقیح شدند. ۳۰ روز پس از اولین تزریق تیمارها، دومین تزریق تیمارهای آزمایشی انجام شد. تشخیص آبستنی در روز ۳۲ تا ۳۵ پس از تلقیح با استفاده از سونوگرافی انجام شد. پروتکل هورمونی و زمان تزریق تیمارهای آزمایشی در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱. نمودار روند انجام آزمایش. پروتکل هم‌زمانی دابل آوسینک (Double-Ovsynch)، تزریق تیمارهای آزمایشی (vit A/placebo)، سونوگرافی تخمدان (US)، تلقیح مصنوعی زمان‌بندی شده (TAI) و نمونه‌گیری از خون (BS)

Figure1. Diagram of the experimental activities. Synchronization protocol (Double-Ovsynch), injection of experimental treatments (vit A/placebo), ovarian ultrasonography (US), timed artificial insemination (TAI) and blood samples (BS).

خوراک‌دهی روزانه سه بار در ساعت‌های ۰۱:۰۰، ۰۹:۰۰ و ۱۷:۰۰ به صورت جیره‌های کاملا مخلوط (TMR[1]) و در حد اشتها انجام شد به این صورت که ۵ درصد از خوراک (بر اساس ماده خشک) صبح روز بعد در آخور باقی می‌ماند. اجزای تشکیل دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. اجزای تشکیل دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره استفاده شده در آزمایش

اجزا	درصد
یونجه	۱۱/۰۷
ذرت سیلو شده	۲۳/۶۰
کاه گندم	۲/۶۲
تفاله چغندر قند	۲/۹۲
دانه ذرت	۶/۰۱
دانه جو	۲۷/۳۴
کنجاله سویا	۱۰/۰۳
کنجاله کلزا	۴/۵۱
ضایعات کشتارگاه طیور	۳/۹۸
پنبه دانه	۲/۴۰
پودر چربی	۱/۵۰
اوره	۰/۳۲
نمک	۰/۴۶
کربنات کلسیم	۰/۸۶
دی کلسیم فسفات	۰/۲۳
جوش شیرین	۱/۳۰
اکسید منیزیم	۰/۲۱
متیونین	۰/۰۵
بنتونیت	۰/۳۰
مونسین	۰/۰۱
مکمل ویتامینه و معدنی	۰/۲۸
ترکیب شیمیایی	
انرژی خالص شیردهی (مگاکالری در کیلوگرم)	۱/۵۷
پروتئین خام (درصد)	۱۷/۴
پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (درصدی از پروتئین خام)	۶۲
پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه (درصدی از پروتئین خام)	۳۸
چربی خام (درصد)	۵/۰۰
کربوهیدرات‌های غیرالیافی (درصد)	۴۱/۷
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)	۲۹/۳
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد)	۱۷/۲۰
کلسیم (درصد)	۱/۱۴
فسفر (درصد)	۰/۵۷

مکل ویتامینه و معدنی حاوی ۲۰۰۰۰۰۰ واحد بین المللی درکیلوگرم ویتامین A، ۳۷۵۰ واحد بین المللی در کیلوگرم ویتامین E، ۵۵۰۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم ویتامین D_3، ۱۲ گرم در کیلوگرم مس، ۸/۴گرم در کیلوگرم آهن، ۲۳/۵گرم در کیلوگرم منگنز، ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم سلنیوم، ۳۶۰ میلی گرم در کیلوگرم ید، ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم کبالت

1Total mixed ration

جهت اندازه‌گیری شاخص‌های آنتی اکسیدانی و پروژسترون پلاسما، در روز شروع آزمایش، روزهای هفتم و شانزدهم پس از تلقیح اول، دو ساعت پس از خوراک‌دهی نوبت صبح از نیمی از گاوهای اختصاص داده شده به هر تیمار به وسیله لوله‌های هپارین‌دار تحت خلأ از سیاهرگ دمی نمونه‌گیری از خون به‌عمل آمد. نمونه‌های خون در ۳۰۰۰ دور (**g**) به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و پلاسمای جدا شده در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد جهت آنالیزهای بعدی ذخیره شدند. غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز پلاسما به‌وسیله کیت‌های تشخیصی شرکت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر (Mindray auto-analyzer BS200, China) و غلظت مالون‌دآلدهید به‌روش شرح داده شده توسط بوگ و اوست (Buege and Aust, 1978) اندازه‌گیری شد. غلظت پروژسترون پلاسما با استفاده از دستگاه الایزا (Elisa Biotech ELX800, USA) و کیت (Inc, Lake Forest, CA Monobind) تعیین شد. اندازه و تعداد فولیکول‌های تخمدان در روز تزریق اولین گنادورلین آوسینک و روز تزریق پروستاگلاندین آوسینک با استفاده از دستگاه سونوگرافی (Draminiski, 4VET mini, Poland) مجهز به پروب ۷/۵ مگاهرتز ثبت شد. فولیکول‌ها بر اساس اندازه به سه گروه کوچک (۴/۹-۳ میلی‌متر)، متوسط (۹/۹-۵ میلی‌متر) و بزرگ (بزرگ‌تر از ۱۰ میلی‌متر) طبقه‌بندی شدند. داده‌های جمع آوری شده در نرم افزار اکسل (Excel 2016) مرتب و به وسیله نرم افزار SAS (ویرایش ۹/۳) با رویه Mixed در قالب طرح کاملا تصادفی آنالیز شدند. مقایسه میانگین‌ها به روش توکی انجام شد. مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

$$y_{ij} = \mu + Ti + C(Ti) + \beta(x_{ij} - \bar{X}..) + eij$$

y_{ij} = مقدار هر مشاهده، μ = میانگین، Ti = اثر تیمار، C(Ti) = اثر حیوان در تیمار (عامل تصادفی)، β (xij – X̄..) = اثر کوواریت (داده‌های شروع آزمایش)، eij = اثر باقیمانده

داده‌های مربوط به تعداد فولیکول‌های تخمدان با رویه Mixed و اندازه‌گیری‌های تکرار شده آنالیز شد. درصد گیرایی با رویه GLIMMIX با استفاده از رگرسیون لجستیک مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج و بحث

سوپراکسید دیسموتاز آنزیم آنتی‌اکسیدانی کلیدی است که از سلول‌ها در برابر اثرات سمی و مخرب ترکیبات دارای اکسیژن واکنش دهنده به‌ویژه رادیکال‌های سوپراکسید محافظت می‌کند (Al-Gubory *et al.*, 2005). میانگین غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برای تیمارهای شاهد و ویتامین A به‌ترتیب ۱۲۰/۳۹ و ۱۲۷/۰۰ واحد در میلی‌لیتر بود (جدول ۲)، اختلاف بین تیمارها تمایل به معنی‌داری داشت (P.=۰/۰۹). افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تاثیر ویتامین A در پژوهش‌های پیشین گزارش شده بود (Jin *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2019). مالون‌دآلدهید یک شاخص بسیار مهم است که وسعت حمله به‌وسیله رادیکال‌های آزاد را بازتاب می‌کند (Sehirli *et al.*, 2008) . غلظت مالون‌دآلدهید برای تیمارهای شاهد و ویتامین A به‌ترتیب ۱/۶۰ و ۱/۳۹ نانومول در میلی‌لیتر بود (جدول ۲)، اختلاف بین تیمارها تمایل به معنی‌داری (P.=۰/۰۸) داشت. مالون‌دآلدهید ارتباط منفی با فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز دارد (Fraile-Bermúdez *et al.*, 2015. در مطالعه) Shi *et al.*, 2016)مشاهده شد که مقدار مالون دآلدهید و ترکیبات دارای اکسیژن واکنش دهنده، در تیمار ویتامین A به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از تیمار شاهد بود که نشان می‌دهد ویتامین A فعالیت آنتی‌اکسیدانی سلولی را افزایش می‌دهد. در مطالعات دیگر (Jin *et al.*, 2014) نیز با افزایش سطح ویتامین A در جیره گاوهای شیری کاهش معنی‌دار در غلظت مالون دآلدهید مشاهده شد. (Vašková(et al., 2008 یافتند که دز بالای ویتامین A به‌طور معنی‌داری فعالیت گلوتاتیون پروکسیداز را در کبد موش افزایش می‌دهد. همه این نتایج نشان می‌دهد که ویتامین A یک نقش مثبت در بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی در حیوانات ایفا می‌کند. پیشنهاد شده است که ویتامین A به‌وسیله تنظیم کاهشی بیان اینترلوکین-۱،

اینترلوکین-۶ و عامل نکروز کننده تومور آلفا که باعث کاهش فعالیت نیتریک اکسید سنتاز و بیان mRNA آن می‌شود منجر به کاهش تولید نیتریک اکسید می‌شود، نقش محافظتی در مقابل آسیب‌های تنش اکسیداتیو دارد (Shi *et al.*, 2016).

جدول ۲. اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد آنتی اکسیدانی گاوهای با فحلی مکرر

صفت اندازه گیری شده	تیمارهای آزمایشی		SEM	P-value
	شاهد	ویتامین **A**		
سوپر اکسید دیسموتاز (واحد درمیلی لیتر)	۱۲۰/۳۹	۱۲۷/۰۰	۲/۵۸	۰/۰۹
مالون دی آلدئید (نانو مول در میلی لیتر)	۱/۶۰	۱/۳۹	۰/۰۷	۰/۰۸

تیمار شاهد تزریق دارونما و تیمار ویتامین **A** تزریق عضلانی ۱۰ میلی‌لیتر رتینول پالمیتات

تولید مثل طبیعی در گاو به غلظت مناسب پروژسترون و استروژن‌ها در زمان مناسب وابسته است (Miller *et al.*, 1993). میانگین غلظت پروژسترون پلاسما برای تیمارهای آزمایشی در روز هفتم و شانزدهم پس از تلقیح برای تیمارهای آزمایشی در جدول ۳ نشان داده شده است. غلظت پروژسترون پلاسما هم در روز هفتم و هم روز شانزدهم پس از تلقیح هم در گاوهای آبستن و هم گاوهای غیر آبستن برای تیمار ویتامین A از نظر عددی بالاتر از تیمار شاهد بود اما هیچ‌یک از این تفاوت‌ها معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). در یک پژوهش (Trojačanec *et al.*, 2012) اثر ویتامینA، بتا کاروتن و ترکیبی از ویتامین A و بتاکاروتن را بر وضعیت تولیدمثل گاوهای شیری بررسی و افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) در غلظت پرژسترون خون را تحت تاثیر ویتامین A نسبت به گروه شاهد گزارش کرده‌اند، به‌نظر می‌رسد تفاوت نتایج پژوهش این محققان با پژوهش حاضر به دلیل متفاوت بودن دز ویتامین A تزریق شده و متفاوت بودن فاصله زمانی بین تزریق تا نمونه‌گیری از خون باشد. (Rizzo *et al.*, 2007) غلظت رادیکال‌های آزاد و بتا-اندورفین‌ها را در گاوهای با فحلی مکرر بررسی و نتیجه‌گیری کردند که تنش (به‌عنوان مثال تولید شیر بالا) در گاوهای با فحلی مکرر ممکن است منجر به افزایش غلطت رادیکال‌های آزاد و بتا-اندورفین‌ها شود که ممکن است سنتز پروژسترون در گاوهای با فحلی مکرر را محدود کند.

جدول ۳. اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت پروژسترون پلاسمای گاوهای با فحلی مکرر

		تیمارهای آزمایشی		SEM	P value
	روزها پس از تلقیح مصنوعی	**شاهد**	**ویتامین A**		
پروژسترون پلاسمای گاوهای	۷	۲/۱۸	۲/۴۶	۰/۲۹	۰/۵۲
غیر آبستن (نانوگرم در میلی لیتر)	۱۶	۳/۴۸	۳/۷۹	۰/۲۸	۰/۴۵
پروژسترون پلاسما گاوهای آبستن (نانوگرم	۷	۳/۶۵	۳/۹۳	۰/۲۰	۰/۳۵
در میلی لیتر)	۱۶	۷/۱۳	۷/۹۷	۰/۴۷	۰/۲۳

۱. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد (تزریق ۱۰ میلی‌لیتر سدیم کلراید ۰/۹ درصد به عنوان دارونما) و ویتامین **A** (تزریق ۱۰ میلی‌لیتر رتینول پالمیتات) تزریق تیمارهای آزمایشی دو بار با فاصله ۳۰ روز انجام شد.

گزارش شده است که رادیکال‌های آزاد در سلول‌های استروئیدوژنیک و فاگوسیت‌های تک‌هسته‌ای در جسم زرد تولید می‌شوند و سنتز پروژسترون را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Behrman *et al.*, 1991, Carlson, 1995). پیشنهاد شده است که ترکیبات دارای اکسیژن واکنش دهنده به‌وسیله غیرفعال کردن آنزیم‌های استروئیدوژنیک می‌توانند سنتز آندروژن‌ها و استروژن‌ها در بافت‌های استروئیدوژنیک را محدود کنند و تولیدمثل را مختل کنند (Turk *et al.*, 2011). در پژوهش حاضر اگرچه اختلاف غلظت پروژسترون بین تیمارهای آزمایشی معنی دار نبود، اما از نظر عددی برای تیمار ویتامین A بالاتر بود و بهبود عملکرد آنتی اکسیدانی یک دلیل احتمالی برای این افزایش می‌باشد. غلظت پروژسترون پلاسما در گاوهای آبستن در

1TNF-α

روز هفتم و روز شانزدهم پس از تلقیح به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) بالاتر از گاوهای غیر آبستن بود. نتایج اثر تیمارهای آزمایش بر میانگین تعداد و اندازه فولیکول‌های تخمدانی در جدول ۴ گزارش شده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده، میانگین تعداد فولیکول‌های بزرگ‌تر از ۱۰ میلی‌متر بر روی تخمدان تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت، میانگین تعداد فولیکول‌های بزرگ برای تیمارهای شاهد و ویتامین A به‌ترتیب ۱/۵۹ و ۲/۰۲ بود که به‌طور معنی‌داری (P=۰/۰۲) برای تیمار ویتامین A نسبت به تیمار شاهد بالاتر بود. افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) در قطر فولیکول پیش از تخمک‌ریزی تحت تاثیر ویتامین A و بتا-کاروتن گزارش شده است (Trojačanec *et al.*, 2012). پیشنهاد شده است که ویتامین A در مایع فولیکولی همبستگی نزدیکی با کیفیت فولیکول و با غلظت استرادیول داخل فولیکولی دارد (Rizzo *et al.*, 2007). هم‌چنین پیشنهاد شده است که ترکیبات دارای اکسیژن واکنش دهنده در فرایندهای متابولیکی در تخمدان از جمله فولیکولوژنز، بلوغ فولیکول و عملکرد جسم زرد درگیر هستند (Turk *et al.*, 2011).

جدول ۴. اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین تعداد و اندازه فولیکول‌های تخمدانی در گاوهای با فحلی مکرر

فولیکول	تیمارهای آزمایش[1]		SEM	P-value
	شاهد	Aویتامین		
تعداد فولیکول‌های با قطر کوچک‌تر از ۵ میلی‌متر	۲/۷۱	۳/۶۲	۰/۶۰	۰/۲۹
تعداد فولیکول‌های با قطر بین ۵ تا ۹/۹ میلی‌متر	۱/۴۱	۱/۰۶	۰/۲۱	۰/۲۵
فولیکول‌های با قطر بزرگتر از ۱۰ میلی‌متر	۱/۵۹	۲/۰۲	۰/۱۳	۰/۰۲
اندازه بزرگترین فولیکول (میلی‌متر)	۱۵/۱۲	۱۵/۵۶	۰/۴۸	۰/۵۲

۱. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد (تزریق ۱۰ میلی‌لیتر سدیم کلراید ۰/۹ درصد به عنوان دارونما) و ویتامین **A** (تزریق ۱۰ میلی‌لیتر رتینول پالمیتات)

تزریق تیمارهای آزمایشی دو بار با فاصله ۳۰ روز انجام شد.

ممکن است بخشی از این افزایش در تعداد فولیکول‌های بزرگ تحت تاثیر بهبود عملکرد آنتی اکسیدانی باشد. شویگت و زاکر (۱۹۸۸) پیشنهاد کردند که ویتامین A به وسیله تحت تاثیر قرار دادن سنتز هورمون و پروتئین ممکن است پتانسیلی برای تعدیل رشد فولیکولی و عاملی برای انتخاب و رشد فولیکول غالب در گاو باشد. نتایج آنالیز درصد گیرایی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی در جدول ۵ گزارش داده شده است. درصد گیرایی برای تیمار شاهد ۲۵/۲۹ درصد و برای تیمار ویتامین A، ۳۴/۶۶ درصد بوده است که با وجود اختلاف حدود ۹/۳۷ درصد در گیرایی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود (P=۰/۱۹). افزایش سرعت رشد فولیکولی و بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی تحت تاثیر تزریق مکمل ویتامین A و همین‌طور افزایش عددی غلظت پروژسترون در پلاسما می‌تواند دلیل بهبود در درصد گیرایی باشد هر چند که این بهبود یافتن معنی‌دار نیست. افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) در درصد گیرایی تحت تاثیر استفاده از ویتامین A در پژوهش محققان دیگر (Trojačanec *et al.*, 2012) گزارش شده است. (Jukola *et al.*, 1996) ارتباط معنی‌داری بین غلظت ویتامین A در سرم و اختلالات باروری یا موفقیت در اولین تلقیح مصنوعی مشاهده نکردند. (Iwańska and Strusińska 1997) ا تفاوت معنی‌داری در درصد گیرایی تحت تاثیر مکمل ویتامینی AD_3E مشاهده نکردند. در پژوهشی دیگر (شارخیان رضایی و همکاران ۱۳۹۴) (Rezaee *et al.*, 2015) محققان درصد آبستنی پایین‌تر از تیمار شاهد را برای تیمار مکمل ویتامینی AD_3E در ۹۰ روز پس از زایش گزارش کردند.

1Schweigert

جدول ۵. اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد تولید مثلی در گاوهای با فحلی مکرر

صفت اندازه‌گیری شده	تیمارهای آزمایشی[1]		SEM	P-value
	شاهد	A ویتامین		
تعداد گاو	۸۷	۷۵		
گیرایی در اولین تلقیح (درصد)	۲۵/۲۹	۳۴/۶۶	۰/۰۵	۰/۱۹
احتمال وقوع آبستنی (۹۵ درصد فاصله اطمینان)	مرجع	۱/۵۷ (۰/۳-۰۸/۰۹)	-	۰/۱۹
از دست رفتن آبستنی بین روزهای ۳۲ تا ۶۰ پس از تلقیح (درصد)	۹/۳۷	۶/۰۶	/۰۵	۰/۶۲

۱. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد (تزریق ۱۰ میلی‌لیتر سدیم کلراید ۰/۹ درصد به عنوان دارونما) و ویتامین **A** (تزریق ۱۰ میلی‌لیتر رتینول پالمیتات) تزریق تیمارهای آزمایشی دو بار با فاصله ۳۰ روز انجام شد.

تفاوت در نتایج مطالعات مختلف به احتمال به دلیل تفاوت در مقدار و نوع علوفه مصرفی، مقدار کنسانتره مصرفی، سطح ویتامین A در جیره پایه و فصل انجام آزمایش باشد. آبستنی از دست رفته بین روزهای ۳۵ تا ۶۰ پس از تلقیح برای تیمار شاهد ۹/۳۷ و برای تیمار ویتامین A ۶/۰۶ درصد بود که اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت (P=۰/۶۲). نتایج آنالیز احتمال وقوع آبستنی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی در جدول ۵ گزارش شده است. احتمال وقوع آبستنی یا شانس آبستنی برای تیمار ویتامین A نسبت به تیمار شاهد در اولین تلقیح مصنوعی ۱/۵۷ برابر بیشتر بود (P=۰/۱۹) اما از نظر آماری معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش بهبود عملکرد آنتی اکسیدانی و تعداد بالاتر فولیکول‌های بزرگ، تحت تاثیر تزریق ویتامین A را نشان داد اما عملکرد تولید مثلی تحت تاثیر قرار نگرفت. پژوهش‌های بیشتر با تعداد دام بیشتر جهت تعیین بهترین تعداد، دز و نوع تزریق ویتامین A و تعیین مناسب‌ترین زمان تزریق نسبت به زمان تلقیح مورد نیاز است.

سپاسگزاری

با سپاس از پرسنل محترم شرکت کشت و دامداری فکا به ویژه مدیر عامل محترم وقت جناب آقای مهندس جلیل‌نژاد و مدیر تولید محترم وقت جناب آقای مهندس میرزاخانی که در اجرای این آزمایش ما را یاری نمودند.

منابع

شارخیان رضایی، مژگان؛ ریاسی، احمد؛ انصاری مهیاری، سعید؛ خوروش، محمد و خورسندی، سیمین (۱۳۹۴). اثر تزریق GnRH ، hCG و AD3E بر بازده تولیدمثل، متابولیت ها و پروژسترون خون گاوهای شیری پرتولید در فصل تابستان. *نشریه پژوهش‌های علوم دامی*، 25(2)، 30-20.

REFERENCES

Al-Gubory, K. H., Ceballos-Picot, I., Nicole, A., Bolifraud, P., Germain, G., Michaud, M., Mayeur, C. and Blachier, F. (2005). Changes in activities of superoxide dismutase, nitric oxide synthase, glutathione-dependent enzymes and the incidence of apoptosis in sheep corpus luteum during the estrous cycle. Biochim. Biophys. *Acta - Gen. Subj*. 1725(3): 348–357.

Ayalon, N. (1978). A review of embryonic mortality in cattle. *Reproduction* 54(2): 483–493.

Bartlett, P. C., Kirk, J. H. and Mather, E. C. (1986). Repeated insemination in Michigan Holstein-Friesian cattle: Incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. *Theriogenology* 26(3): 309–322.

Behrman, H. R., Aten, R. F. and Behrman, H. R. (1991). Evidence that hydrogen peroxide blocks

hormone-sensitive cholesterol transport into mitochondria of rat luteal cells. Endocrinology 128(6): 2958–2966.

Buege, J. A. and Aust, S. D. (1978). [30] Microsomal lipid peroxidation. In: *Methods in enzymology*, Vol. 52, 302–310. Elsevier.

Carlson, J. (1995). Stimulation of progesterone secretion in dispersed cells of rat corpora lutea by antioxidants. *Steroids* 60(3): 272–276.

Celi, P. (2011). *Studies on Veterinary Medicine*. (L. Mandelker and P. Vajdovich, Eds.)Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice. (pp191-231). Totowa, NJ: Humana Press.

Fraile-Bermúdez, A. B., Kortajarena, M., Zarrazquin, I., Maquibar, A., Yanguas, J. J., Sánchez-Fernández, C. E., Gil, J., Irazusta, A. and Ruiz-Litago, F. (2015). Relationship between physical activity and markers of oxidative stress in independent community-living elderly individuals. *Exp. Gerontol.* 70: 26–31. Elsevier Inc.

Islabão, N. (1982). Page 201 in Vitamins: *Their metabolism in man and in domestic animals*. Nobel. São Paulo.

Iwańska, S. and Strusińska, D. (1997). The effect of beta-carotene and vitamins A, D3 and E on some reproductive parameters in cows. *Acta Vet. Hung*. 45(1): 95–107.

Jin, L., Yan, S., Shi, B., Bao, H., Gong, J., Guo, X. and Li, J. (2014). Effects of vitamin A on the milk performance, antioxidant functions and immune functions of dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol*. 192: 15–23. Elsevier B.V.

Jukola, E., Hakkarainen, J., Saloniemi, H. and Sankarl, S. (1996). Blood Selenium, Vitamin E, Vitamin A, and β-Carotene Concentrations and Udder Health, Fertility Treatments, and Fertility. *J. Dairy Sci*. 79(5): 838–845. Elsevier.

Katagiri, S. and Takahashi, Y. (2004). Changes in EGF concentrations during estrous cycle in bovine endometrium and their alterations in repeat breeder cows. *Theriogenology* 62(1–2): 103–112.

Kleczkowski, M., Kluciński, W., Sikora, J. and Zdanowicz, M. (2004). Role of antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle--trace elements and enzymatic mechanisms (Part 3). *Pol. J. Vet. Sci*. 7(3): 233–240.

Miller, J. K., Brzezinska-Slebodzinska, E. and Madsen, F. C. (1993). Oxidative Stress, Antioxidants, and Animal Function. *J. Dairy Sci*. 76(9): 2812–2823.

Palace, V. P., Khaper, N., Qin, Q. and Singal, P. K. (1999). Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radic. Biol. Med.* 26(5-6): 746-761

Perez-Marin, C. C., Moreno, L. M. and Calero, G. V. (2011). Clinical approach to the repeat breeder cow syndrome. *A Bird's-Eye View Vet. Med*. 18: 337–362.

Rizzo, A., Minoia, G., Trisolini, C., Manca, R. and Sciorsci, R. L. (2007). Concentrations of free radicals and beta-endorphins in repeat breeder cows. *Anim. Reprod. Sci*. 100(3–4): 257–263.

Schweigert, F. and Zucker, H. (1985). Individual Bovine Follicles of Different Quality. *F. Reprod. Fert* 82(1): 575–579.

Sehirli, O., Tozan, A., Omurtag, G. Z., Cetinel, S., Contuk, G., Gedik, N. and Sener, G. (2008). Protective effect of resveratrol against naphthalene-induced oxidative stress in mice. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 71(1): 301–308. Netherlands.

Shi, H., Yan, S., Jin, L., Shi, B. and Guo, X. (2016). Vitamin A affects the expression of antioxidant genes in bovine mammary epithelial cells with oxidative stress induced by diethylene triamine-nitric oxide. *Czech J. Anim. Sci.* 61(No. 3): 117–126.

Soni, Y. K., Mehrotra, S., Singh, G., Das, G. K., Kumar, A., Awase, M. and Gahlot, M. (2014). Oxidative stress and progesterone profile in repeat breeding cows. *Vet. Pract*. 213.

Trojačanec, S., Boboš, S. and Pajić, M. (2012). Inflfluence of β-carotene and vitamin A supplementation on the ovarian activity of dairy cows with chronic fertility impairment. *Vet. Arh*. 82(6): 567–575.

Turk, R., Samardžija, M. and Bačić, G. (2011). Oxidative stress and reproductive disorders in dairy cows. *Marek, ER, Dairy cows Nutr. Fertil. milk Prod. Nov. Sci. Publ. New York*, USA 57–98.

Vašková, J., Patlevič, P., Vaško, L. and Kluchová, D. (2014). Prenatal effects of retinoic acid on lumbar spinal cord development and liver antioxidants in rats. *Acta Histochem*. 116(5): 855–862.

Villarroel, A., Martino, A., BonDurant, R. H., Dèletang, F. and Sischo, W. M. (2004). Effect of post-insemination supplementation with PRID on pregnancy in repeat-breeder Holstein cows. *Theriogenology* 61(7–8): 1513–1520.

Weiss, W. P. (1998). Requirements of Fat-soluble Vitamins for Dairy Cows: A Review. *J. Dairy Sci.* 81(9): 2493–2501.

Zhang, T., Wang, Z., Wang, X., Sun, W., Cui, X., Li, R. and Li, G. (2019). Effects of vitamin A on antioxidant functions, immune functions and production performance in male sika deer (Cervus nippon) during the first antler growth period. *Ital. J. Anim. Sci*. 18(1): 98–104. Informa Healthcare USA, Inc.