



## تأثیر افزایش سطوح انرژی و پروتئین متابولیسمی در گامه انتهایی آبستنی بر رشد و تکامل پستان بزه‌های سیستانی

فرهود شیرندی<sup>۱</sup>، عیسی دیرنده<sup>۲</sup>، زربخت انصاری پیرسرای<sup>۳</sup> و اسدالله تیموری یانسری<sup>۳</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری  
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسؤول: dirandeh@gmail.com)  
تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۷

### چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر افزایش سطح انرژی و پروتئین متابولیسمی بر رشد و تکامل پستان بزه‌های سیستانی در گامه انتهایی آبستنی بود. ۲۸ رأس بز سیستانی آبستن با میانگین وزن برابر و سن دو سال انتخاب شدند. بزه‌های در ابتدای گامه پایانی آبستنی (روز ۱۰۰ آبستنی) به طور تصادفی در بین چهار گروه زیر قرار گرفتند: ۱- گروه شاهد دارای انرژی و پروتئین متابولیسمی در سطح توصیه شده NRC (۲۰۰۷)، ۲- گروه دارای ۱۰ درصد انرژی متابولیسمی بیشتر از سطح توصیه شده، ۳- گروه دارای ۱۰ درصد پروتئین متابولیسمی بیشتر از سطح توصیه شده و ۴- گروه دارای ۱۰ درصد انرژی و پروتئین متابولیسمی بیشتر از سطح توصیه شده. پس از اعمال تیمارهای آزمایشی در دو ماه آخر آبستنی، ۲۴ الی ۳۶ ساعت بعد از زایش برای مطالعات بافت‌شناسی از بافت پستان نمونه برداری شد. عکس‌های تهیه شده از هر بز با استفاده از نرم‌افزار Image J مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد تعداد سلول‌های اپیتلیال در بزه‌هایی که با جیره ۱۰ درصد انرژی متابولیسمی بیشتر یا ۱۰ درصد پروتئین متابولیسمی بیشتر تغذیه شده بودند تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشتند ولی در گروهی که انرژی و پروتئین متابولیسمی هر دو با هم افزایش یافت به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ( $35/8 \pm 3/70$  در مقابل  $26/4 \pm 2/64$ ). مساحت اپیتلیوم (میکرومتر مربع) تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت و در جیره‌هایی که انرژی متابولیسمی و پروتئین متابولیسمی هر دو افزایش یافت بیشتر از گروه کنترل بود ( $P=0/03$ ). درصد استروما تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت ( $P=0/01$ ) و با افزایش انرژی متابولیسمی، پروتئین متابولیسمی و یا هر دو در جیره کاهش یافت. درصد اپیتلیوم تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت ( $P=0/008$ ) و در جیره‌هایی با ۱۰ درصد انرژی متابولیسمی بیشتر یا ۱۰ درصد انرژی و پروتئین متابولیسمی بیشتر، به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود. به‌طور کلی افزایش ۱۰ درصدی سطح انرژی و پروتئین متابولیسمی جیره در گامه انتهایی آبستنی با افزایش تعداد و درصد سلول‌های اپیتلیال، مساحت آلونول و مساحت اپیتلیوم و کاهش درصد استروما سبب بهبود رشد و تکامل پستان شد که این امر می‌تواند در تولید آغوز و راندامان تولید شیر در دوره شیردهی بعدی تأثیر مثبتی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آلونول، انرژی متابولیسمی، بافت پستان، بز سیستانی، سلول اپیتلیال

### مقدمه

ناکافی خوراک طی اواخر آبستنی ممکن است وزن تولد، کمیت و کیفیت آغوز تولیدی، رشد پستان و تولید شیر در دوره شیردهی بعدی را کاهش دهد.

تکثیر و تمایز سلول‌های پستانی، پستان را برای دوره شیردهی بعدی آماده می‌کند هر چند مقدار ساخت شیر تحت تأثیر عوامل زیادی مانند تغذیه دام آبستن، دوره خشکی، هورمون‌های گردش خون و عوامل موضعی در پستان است ولی شاخص اصلی تعیین‌کننده مقدار تولید شیر در دام تعداد و مقدار فعالیت سلول‌های ترشحی پستان است (۱۶). در طول دوره شیردهی، تکثیر سلولی نسبتاً کم و ثابت بود (۳) در مقابل، تکثیر سلولی در طول دوره خشکی تا زمان زایش روندی افزایشی داشته و زیادترین مقدار آن در زمان زایش است. در بزه‌هایی که دوره خشکی در آن‌ها حذف شده بود و دوره شیردهی پیوسته بود در مقایسه با بزه‌هایی که دوره خشکی داشتند به دلیل نرخ تکثیر کمتر، جمعیت سلول‌های اپیتلیال پستان سه تا هفت درصد کمتر بود (۱۶). اهمیت نسبی این عوامل در تعیین اوج تولید شیر، دوام شیردهی و تأثیر سطوح مختلف انرژی بر آن‌ها به ندرت در گوسفند و بز مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین اطلاعات کمی در مورد

تغذیه در دوران آبستنی هم به‌طور مستقیم از راه تأمین مواد مغذی مانند گلوکز، اسیدهای آمینه و انرژی ضروری برای رشد جنین و هم غیرمستقیم از راه کنترل ساز و کارهای هورمونی تأثیرگذار بر تسهیم مواد مغذی بین مادر و جنین بر وضعیت رشد جنین مؤثر خواهد بود. حدود ۷۰ درصد رشد جنین و بخش عمده رشد غدد و بافت‌های سلول‌های پستانی طی گامه پایانی آبستنی رخ می‌دهد که به افزایش نیاز به انرژی مادر در این گامه کمک می‌کند. در همین گامه به دلیل فشار وارده از جنین به شکمبه و افزایش غلظت استروژن مصرف ماده خشک کاهش می‌یابد (۵) که ممکن است به افزایش کارایی استفاده از مواد مغذی در گامه پایانی آبستنی منجر شود که امکان دارد برای جبران کاهش ماده خشک مصرفی کافی نباشد در نتیجه دام آبستن به توازن منفی انرژی دچار شود و مادر برای تأمین احتیاجات انرژی از ذخایر بدنی خود یا از سوبستراهای جایگزین برای تولید پروپیونات مورد نیاز برای ساخت گلوکز در جگر (۱۵) استفاده کند. به دلیل تولید آغوز و رشد پستان طی دو هفته آخر آبستنی احتیاجات پروتئین خالص نیز افزایش می‌یابد (۱۳). در نتیجه مصرف

نمونه‌گیری انجام شد (۱۶). پس از اتمام نمونه‌گیری، موضع با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی و سپس به‌منظور قطع سریع‌تر خونریزی، کمپرس با یخ روی موضع انجام شد و روی محل بیوپسی با اسپری تتراسیکلین پوشانده شد (۱۶). نمونه به وزن ۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم با طول تقریبی دو سانتی‌متر و قطر حدود ۰/۲ میلی‌متر از بافت پستان برداشت شد. یکسری از نمونه‌های اخذ شده در فرمالین بافر ۱۰ درصد (برای تثبیت بافت) قرار داده شد و سپس به آزمایشگاه منتقل شد تا برای مطالعات بافت شناختی استفاده شود. در آزمایشگاه فرآوری بافت در سه مرحله آبگیری، شفاف‌سازی و آغشتگی به پارافین توسط دستگاه خودکار هیستوکینت انجام شد. سپس برای قالب‌گیری بافت از قالب‌های لوکهارت استفاده شد. با قالب‌گیری نمونه‌ها برای برش آماده می‌شوند. نمونه‌ها در قالب‌های کوچکی قرار داده شده و هشت تا ده میلی‌لیتر پارافین با دمای تقریبی ۶۵ تا ۷۵ درجه سانتی‌گراد روی بافت ریخته شد. پس از خنک و سفت شدن، پارافین‌های حاوی نمونه بافت به شکل مکعب مستطیل از قالب‌ها جدا شده و در فریزر قرار داده شدند. برای برش بافت از دستگاه میکروتوم (شرکت ترموالکترون، شاندون، بریتانیا) استفاده شد. بافت‌های برش خورده در بن‌ماری حاوی آب مقطر ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس یک لام با زاویه ۴۵ درجه وارد آب مقطر شده و نمونه بافت روی لام قرار داده شد و سپس نمونه خشک شد. نمونه‌های بافت با رنگ‌های هماتوکریلین و ائوزین و توسط دستگاه خودکار (MICROM مدل HMS70) رنگ‌آمیزی شد. پس از رنگ‌آمیزی بافت‌ها، مقداری چسب مخصوص (به نام چسب کانادا بالزام) روی لام ریخته شد و لامل با زاویه ۴۵ درجه و به گونه‌ای که حباب‌ها از بین لام و لامل خارج شوند روی لام قرار داده شد. پس از آماده شدن اسلایدها با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به دروین (ای ۶۰۰، اکلپس، نیکون، کره جنوبی) و بزرگ‌نمایی ۲۰ و ۴۰ نمونه‌ها عکس تهیه شد. عکس‌های تهیه شده از هر بز با استفاده از نرم‌افزار Image J نسخه ۱/۴۷ (آمریکا) مورد بررسی قرار گرفتند و تعداد سلول‌های اپیتلیال، تعداد آلونول، مساحت آلونول (درصد)، مساحت لومن (درصد)، مساحت سلول‌های اپیتلیال (درصد)، محیط آلونول (میکرومتر) و محیط لومن (میکرومتر) مشخص شد. جهت آنالیز داده‌ها، از طرح کامل تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ رویه GLM و مدل آماری زیر استفاده شد. میانگین نمونه‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مقایسه شدند. تمایل به معنی‌داری در سطح ۰/۱۰ < P < ۰/۰۵ گزارش شد.

$$Y_{ij} = \mu + A_i + e_{ij}$$

$Y_{ij}$  = اندازه هر مشاهده از آزمایش

$\mu$  = میانگین جامعه

$A_i$  = اثر تیمارهای مختلف

$e_{ij}$  = اثر اشتباه آزمایشی

اهمیت نسبی تغییر در تعداد سلول‌های ترشحی و ظرفیت ساخت سلولی در کنترل تولید شیر در این حیوانات در دسترس است. لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر افزایش سطح انرژی و پروتئین متابولیسمی در گامه انتهایی آبستنی بر رشد و تکامل پستان بز سیستانی بود.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه آموزشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. ۲۸ رأس بز سیستانی آبستن با میانگین وزن برابر و میانگین سن دو سال انتخاب شدند. در زمان شروع آزمایش بزها برای اطمینان از آبستنی تست شدند. بزها در قفس‌های انفرادی به ابعاد ۱×۱ متر و در جایگاهی سرپوشیده نگهداری شدند. وزن دام‌ها در شروع آزمایش و در فواصل ۱۴ روزه اندازه‌گیری شد. هر یک از قفس‌ها دارای آخور مجزا بودند.

بزها در ابتدای گامه پایانی آبستنی (روز ۱۰۰ آبستنی) به طور تصادفی به چهار گروه هفت رأسی تقسیم شده و چهار جیره مختلف دریافت کردند (جدول ۱) که شامل:

۱- جیره شاهد دارای انرژی و پروتئین متابولیسمی در سطح توصیه شده NRC (۲۰۰۷).

۲- جیره دارای ۱۰ درصد انرژی متابولیسمی بیشتر از سطح توصیه شده NRC (۲۰۰۷).

۳- جیره دارای ۱۰ درصد پروتئین متابولیسمی بیشتر از سطح توصیه شده NRC (۲۰۰۷).

۴- جیره دارای ۱۰ درصد انرژی و پروتئین متابولیسمی بیشتر از سطح توصیه شده NRC (۲۰۰۷).

خوراک روزانه به صورت جیره کاملاً مخلوط و در دو وعده مساوی صبح (ساعت هفت صبح) و عصر (ساعت ۱۸) در اختیار دام‌ها قرار داده شد. جیره‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار جیره نویسی SRNS (۲۱) تنظیم شد. آب و مکمل معدنی نیز به‌طور آزاد در اختیار حیوان‌ها قرار داده شد. مصرف خوراک روزانه با جمع‌آوری باقی مانده خوراک پیش از تغذیه صبح طی آزمایش اندازه‌گیری شد.

## نمونه برداری از بافت پستان و بافت شناسی

پس از اعمال تیمارها در دو ماه آخر آبستنی، ۲۴ الی ۳۶ ساعت بعد از زایش برای مطالعات بافت شناسی از بافت پستان نمونه برداری شد. نمونه‌های بافتی با استفاده از سوزن بیوپسی نیمه اتوماتیک با گیج ۱۴ برداشته شدند، بدین صورت که ابتدا دام مهار و دوشیده شده به‌طوری‌که کمی شیر در پستان باقی بماند، سپس پستان ابتدا با آب گرم و سپس با بتادین اسکراب شستشو داده شد. پس از آن موهای قسمت عقبی پستان تراشیده و با مقدار کافی بتادین شستشو داده شد و با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی شد. سپس ۲/۵ سی سی ماده بی حسی (لیدوکائین هیدروکلراید دو درصد) به زیر پوست در کل پستان تزریق و کمی ماساژ داده شده و از ناحیه‌ای در میانه کارتیبه و حدود شش سانتی‌متر پایین‌تر از قاعده پستان (بین محل اتصال پستان با بدن و فضای سیسترنال پستان)

جدول ۱- اجزای خوراکی (درصد ماده خشک) و ترکیب شیمیایی (درصد ماده خشک) و محتوای انرژی (مگا کالری در کیلو گرم) جیره‌های آزمایشی

Table 1. Ingredient (% of dry matter) and chemical composition of experimental diets

اقدام خوراکی	کنترل	۱۰ درصد انرژی متابولسمی بیشتر	۱۰ درصد پروتئین متابولسمی بیشتر	جیره‌های آزمایشی
دانه جو	۱۶/۵۹	۸/۸۳	۱۴/۰۰	۱۸/۱۱
دانه ذرت	۲۳/۳۲	۴۰/۳۵	۲۰/۹۲	۲۳/۸۳
تفاله چغندر	۷/۲۶	۱/۱۶	۱۳/۱۰	۹/۵۳
سبوس گندم	۲/۰۷	۳/۵۹	۰/۰۷۷	-
کنجاله سویا	۲/۰۷	-	۳/۰۰	۱/۹۱
علوفه یونجه	۲۰/۸۴	۷/۳۷	۲۱/۰۰	۲۰/۰۲
کاه گندم	۲۶/۹۵	۳۷/۸۳	۲۷/۰۰	۲۵/۷۴
مکمل ویتامینه و معدنی	۰/۹	۰/۸۷	۰/۹	۰/۸۶
پروتئین خام	۹/۹	۹/۰	۱۰/۶	۹/۸
انرژی متابولسمی (مگا کالری در کیلو گرم ماده خشک)	۲/۱۴۶	۲/۳۵۵	۲/۱۴۶	۲/۳۵۴
پروتئین متابولسمی (گرم در روز)	۷۷	۷۸	۸۳	۸۴
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

## نتایج و بحث

تعداد آلوتول‌های پستان تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ( $P=0/56$ )، جدول ۲). تعداد سلول‌های اپیتلیال در بزهایی که جیره با ۱۰ درصد انرژی متابولسمی بیشتر یا ۱۰ درصد پروتئین متابولسمی بیشتر دریافت کردند تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت ولی در گروهی که انرژی و پروتئین متابولسمی هر دو با هم افزایش یافت به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ( $35/8 \pm 3/70$ ) در مقابل  $26/4 \pm 2/64$ ، جدول ۲).

مساحت اپیتلیوم (میکرومتر مربع) تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت و در جیره‌هایی که انرژی متابولسمی پروتئین متابولسمی هر دو افزایش یافت بیشتر از گروه کنترل بود ( $P=0/03$ )، جدول ۲). مساحت آلوتول (میکرومتر مربع) در جیره‌ای که انرژی و پروتئین متابولسمی هر دو با هم افزایش یافت نسبت به گروه کنترل میل به افزایش داشت ( $P=0/07$ )، جدول ۲). مساحت لومن (میکرومتر مربع) تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ( $P=0/25$ )، جدول ۲).

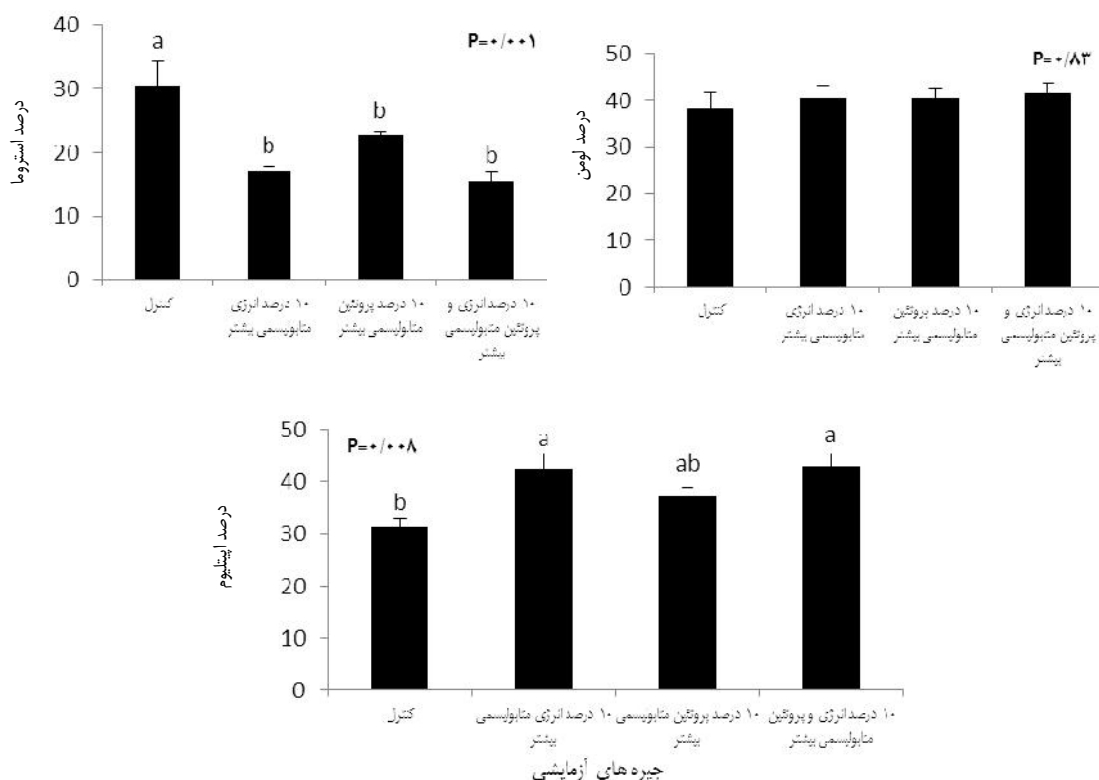
درصد استروما تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت ( $P=0/01$ ) و با افزایش انرژی متابولسمی، پروتئین متابولسمی و یا هر دو در جیره کاهش یافت (شکل ۱). درصد اپیتلیوم در بزهایی که از جیره‌هایی که دارای ۱۰ درصد انرژی متابولسمی بیشتر یا ۱۰ درصد انرژی و پروتئین متابولسمی بیشتر تغذیه کردند میل به افزایش داشت ( $P=0/008$ ) و بیشتر از گروه کنترل بود (شکل ۱). افزایش پروتئین متابولسمی جیره تأثیری بر درصد اپیتلیوم نداشت. درصد لومن تفاوتی بین جیره‌های آزمایشی نداشت ( $P=0/83$ )، شکل ۱).

درصد سلول‌های اپیتلیال و درصد استروما تحت تأثیر افزایش سطح انرژی و پروتئین جیره قرار گرفت. به‌طوری‌که با افزایش سطح انرژی و پروتئین درصد سلول‌های اپیتلیال افزایش و درصد لومن کاهش یافت که با نتایج پژوهش‌های پیشین ( $20/16 \pm 2$ ) مطابقت داشت. در گاو و گوسفند افزایش و کاهش سطح انرژی جیره از نیاز دام در دوره آبستنی سبب

کاهش در روند توسعه غده پستانی و تولید شیر بعد از زایش می‌شود ( $20$ ). سیرسن و همکاران ( $17$ ) گزارش کردند که بافت پارانشیم پستان در دوره خشکی از ۲۰ درصد سلول اپیتلیال، ۴۰ درصد بافت پیوندی و ۳۰ درصد سلول‌های چربی تشکیل شده است. اما این بافت پارانشیمی در دوره شیردهی تغییر معنی‌داری پیدا می‌کند، به‌طوری‌که ۴۰ درصد سلول‌های اپیتلیال، ۲۰ درصد لومن، ۳۰ درصد بافت پیوندی و درصد کمی بافت چربی تشکیل شده است. در میش‌ها ۹۸ درصد رشد غده پستان طی اواخر آبستنی رخ می‌دهد و در این گامه تمایز و رشد سلول‌های اپیتلیال آلوتول در بیشترین مقدار خود است و ۲ درصد باقی مانده رشد طی شیردهی اتفاق می‌افتد ( $1$ ). تکثیر سلول‌ها در غده پستان در میش‌هایی که بیشتر از حد نیاز خوراک مصرف کردند بیشتر از میش‌هایی بود که کمتر از حد نیاز خوراک مصرف کردند ( $16$ ) و همین امر سبب افزایش تولید شیر در این میش‌ها شد. تغذیه محدود جیره در انتهای آبستنی سبب کاهش تکثیر سلولی و اختلال در تکامل پستان جوندگان شد ( $8$ ). رشد و تمایز سلول‌های اپیتلیالی پستان که تولید شیر در پستان را بر عهده دارند به صورت نزدیکی با چندین هورمون و سیگنال متابولیک تنظیم می‌شوند ( $16/2$ ). آزمایشات انجام شده جهت روشن ساختن ساز و کار اثر تغذیه بر رشد پستان، عمدتاً بر نقش محور GH-IGF-I متمرکز شده اند، چرا که هورمون رشد برای تکامل پستان در زمان بلوغ لازم بوده و در همان زمان به وسیله سطح تغذیه تحت تأثیر قرار می‌گیرد. غلظت هورمون رشد خون رابطه مثبتی با رشد پستان داشته و استفاده از هورمون رشد برون تنی رشد پستان در زمان بلوغ را افزایش می‌دهد. اثرات هورمون رشد بر رشد پستان در نشخوارکنندگان به واسطه IGF-I انجام می‌شود. سطح خونی IGF-I با مصرف GH تحریک می‌شود، IGF-I با گیرنده‌های IGF در بافت پستان متصل شده و آثار خود را بر تکثیر سلولی پستان در شرایط برون تنی اعمال می‌کنند ( $19/18$ ). در میان ژن‌های مرتبط با تکثیر سلولی، بیان IGF1R، IGF1 و IGF1R در پستان مورد بررسی قرار گرفت بیان ژن IGF1R

بره‌ها افزایش داد (۱۲). سطح انرژی و پروتئین طی شیردهی رشد غده پستان، تولید شیر و مقدار DNA موجود در غده پستان را تحت تأثیر قرار داد (۷). افزایش انرژی جیره از ۵/۶ مگاکالری به ۱۰/۵ مگاکالری از روز ۷۵ آبستنی تا زمان زایش وزن پارانشیم پستان و مقدار DNA پارانشیم را کاهش داد (۲۴). پژوهش‌های انجام شده روی حیوانات آزمایشگاهی نشان داد که اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه، موجب تحریک رشد بافت اپیتلیال پستان می‌شود. بر اساس یافته‌های موجود، احتمالاً اسیدهای چرب غیراشباع در جیره با افزایش فراهمی گیرنده‌های هورمون‌های ماموژنیک و نیز با تأثیر مستقیم بر آنزیم‌های کلیدی درگیر در متابولیسم سلول، اثر خود را اعمال می‌کنند (۱۲، ۶). در یک مطالعه نشان داده شد در بره‌های که جیره‌های حاوی اسیدهای چرب غیراشباع دریافت نموده بودند، نه تنها رشد پستان پیش از بلوغ در آنها افزایش یافت، بلکه مقدار بیشتری نیز از حجم صفحه چربی خالی باقی ماند که امکان توسعه بیشتر بخش‌های پارانشیمی را فراهم می‌آورد (۶). مطالعات نشان داده که اسیدهای چرب، به‌ویژه اسیدهای چرب غیراشباع رشد سلول‌های اپیتلیالی پستان را تحریک نموده و در واقع می‌توانند اثرات برون تنی سایر عوامل رشد مانند IGF-I و EGF را افزایش دهند (۱۰). اگر جیره‌های میش‌ها در مراحل پایانی آبستنی با مکمل‌های پروتئینی تقویت شوند. سبب رشد و بهبود عملکرد جفت و بافت پستانی شده و از این راه اثرات مثبتی را روی جنین درحال رشد خواهد داشت (۲۰، ۱۶، ۱۴، ۲). اهمیت استفاده از منابع پروتئین عبوری در تغذیه میش‌های آبستن این امکان را به میش می‌دهد تا از ذخایر بدنی خود به نحو خوبی برای رشد جنین استفاده کند. با این راهکار می‌توان شکاف بین انرژی متابولیسمی تأمین شده از خوراک و بخش‌های حاصل از ذخایر بدنی را پوشش داد (۴). از طرف دیگر، افزایش مصرف پروتئین (۳۳۰ در مقابل ۲۱۶ گرم در روز) تأثیری بر ماموژن نداشت (۲۴). در همین راستا گزارش شد مصرف ۴، ۸ و ۱۶ گرم در روز لیزین بین روزهای ۲۵ تا ۱۰۵ آبستنی تأثیری بر تکامل پستان در زمان زایش نداشت (۹).

در طول دوره خشکی بالا بود، که تأییدی بر نقش IGF1 در تحریک تکثیر سلولی است (۸). تعداد بیشتر گیرنده IGF1 سبب تکثیر بیشتر سلولی در غده پستان می‌شود (۲). تعداد آلوئول‌ها، مساحت آلوئول و مساحت سلول‌های اپیتلیال تحت تأثیر افزایش سطح انرژی و پروتئین جیره قرار گرفت. به‌طوری‌که با افزایش سطح انرژی و پروتئین شاخص‌های فوق افزایش داشت که با نتایج پژوهش‌های پیشین (۱۴، ۲۰) مطابقت داشت. پیشنهاد شده تکثیر آلوئول‌ها و اندازه آن‌ها بر مبنای سطح تغذیه تغییر می‌کند (۲۰). افزایش سطح انرژی سبب تحریک رشد آلوئول و افزایش شاخص تکثیر آلوئولی شد. فزون بر این، افزایش شاخص تکثیر آلوئولی نشان‌دهنده تمایز زودتر غده پستان بوده همانطور که نشان داده شد میش‌هایی که بیشتر از حد نیاز (۱۴۰ درصد احتیاجات) تغذیه شدند در مقایسه با گروه کنترل (۱۰۰ درصد) و گروهی که کمتر از حد نیاز (۶۰ درصد) تغذیه شدند غلظت استروژن و پروژسترون کمتری داشتند (۲۳). کاهش استرادیول سبب کاهش پروتئین‌های باند شونده به گلوکوکورتیکوئیدها شده و این اجازه را به کورتیزول آزاد می‌دهد تا تمایز سلولی را برای شروع لاکتوژن تکمیل کند (۲۲). پروژسترون برای رشد مجاری آلوئولی در غده پستان مورد نیاز است. سطح پروژسترون پلازما در میش‌هایی که بیشتر از حد نیاز خوراک مصرف کردند در مقایسه با گروه کنترل (۱۰۰ درصد) و گروهی که کمتر از حد نیاز (۶۰ درصد) تغذیه شدند بیشتر بود و این افزایش دوره بالا بودن غلظت پروژسترون ممکن است سبب افزایش تکامل لوبول‌های آلوئولی شده در نتیجه محیط لومن آلوئولی را افزایش می‌دهد. میش‌هایی که بیشتر از حد نیاز خوراک مصرف کردند در مقایسه با میش‌هایی که کمتر از حد نیاز خوراک مصرف کردند تعداد آلوئول بیشتری داشتند. به همین دلیل میش‌هایی که در اواخر دوران آبستنی محدودیت مصرف خوراک داشتند علیرغم دریافت مقدار یکسانی از خوراک پس از زایش در مقایسه با گروه کنترل تولید کمتری داشتند (۱۴). تغییر وضعیت تغذیه‌ای مادر رشد غده پستان را تغییر می‌دهد (۱۱). برای مثال افزایش انرژی جیره ماموژن را در



شکل ۱- تأثیر جیره‌های آزمایشی بر درصد لومن، استروما و اپیتلیوم بافت پستان بزهای سیستانی  
Figure 1. Effect of experimental diets on lumen percentage, stroma percentage and epithelium percentage of mammary tissue of sistani goats

جدول ۲- تأثیر جیره‌های آزمایشی بر شاخص‌های بافت شناسی پستان (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد)  
Table 2. Effect of experimental diets on mammary histology items (Means  $\pm$  Standard Error)

شاخص	کنترل	۱۰ درصد انرژی متابولسمی بیشتر	۱۰ درصد پروتئین متابولسمی بیشتر	۱۰ درصد انرژی و پروتئین متابولسمی بیشتر	P-Value
تعداد آلونول	۲۳/۰ $\pm$ ۱/۵۴	۲۳/۰ $\pm$ ۰/۹	۲۲/۳ $\pm$ ۳/۱۷	۲۵/۸۰ $\pm$ ۱/۹۳	۰/۵۶
تعداد سلول‌های اپیتلیال	۲۶/۴ $\pm$ ۲/۶۴ <sup>d</sup>	۲۹/۲ $\pm$ ۰/۵۶ <sup>ab</sup>	۲۷/۳ $\pm$ ۰/۹ <sup>d</sup>	۳۵/۸ $\pm$ ۳/۷۰ <sup>a</sup>	۰/۰۷
مساحت آلونول (میکرومترمربع)	۲۷۴/۳ $\pm$ ۵/۳۰ <sup>d</sup>	۲۷۸/۴ $\pm$ ۳/۴۶ <sup>ab</sup>	۲۷۲/۳ $\pm$ ۳/۱۴ <sup>d</sup>	۲۹۰/۷۴ $\pm$ ۶/۷۱ <sup>a</sup>	۰/۰۷
مساحت اپیتلیال (میکرومترمربع)	۱۲۰/۵ $\pm$ ۳/۹۰ <sup>d</sup>	۱۲۵/۸ $\pm$ ۱/۹۴ <sup>ab</sup>	۱۲۳/۲ $\pm$ ۱/۷۶ <sup>ab</sup>	۱۳۵/۲ $\pm$ ۵/۴۷ <sup>a</sup>	۰/۰۳
مساحت لومن (میکرومترمربع)	۱۵۳/۸ $\pm$ ۲/۰۱ <sup>d</sup>	۱۵۲/۶ $\pm$ ۲/۳۳ <sup>ab</sup>	۱۴۹/۰ $\pm$ ۱/۴۱ <sup>d</sup>	۱۵۵/۵ $\pm$ ۱/۶۶ <sup>a</sup>	۰/۲۵

اعداد دارای حروف غیرمتشابه در هر ردیف دارای تفاوت معنی‌دار هستند ( $P < ۰/۰۵$ ).

mammary tissue

بهبود رشد و تکامل پستان شد که این امر می‌تواند در تولید آغاز و راندها تولید شیر در دوره شیردهی بعدی تأثیر مثبتی داشته باشد.

به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد افزایش ۱۰ درصدی سطح انرژی و پروتئین متابولسمی در گامه انتهایی آبستنی با تأثیر مثبت بر تعداد آلونول، تعداد سلول‌های اپیتلیال، مساحت آلونول و مساحت سلول‌های اپیتلیال سبب

## منابع

1. Anderson, R.R. 1975. Mammary gland growth in sheep. *Journal of Animal Science*, 41: 118-123.
2. Blair, H.T., C.M. Jenkinson., S.W. Petereson, P.R. Kenyou, D.S. Van Der Linden, L.C. Devenport, D.D. Mackenzie, S.T. Morris and E.C. Firth. 2010. Dam and granddam feeding during pregnancy in sheep affects milk supply in offspring and reproductive performance in grand-offspring. *Journal of Animal Science*, 88: 40-50.
3. Capuco, A.V., D.L. Wood, R. Baldwin, K. Mcleod and M.J. Paape. 2001. Mammary cell number, proliferation and apoptosis during a bovine lactation: Relation to milk production and effect of bST. *Journal of Dairy Science*, 84: 2177-2187.
4. Dawson, L.E.R., A.F. Carson and D.J. Kilpatrick, 1999. The effect of digestible undegradable protein concentration of concentrates and protein source offered to ewes in late pregnancy on colostrum production and lamb performance. *Animal Feed Science and Technology*, 82: 21-36.
5. Forbes, J.M. 2007. Voluntary food intake and diet selection in farm animals. CAB International, Wallingford, UK. 100-150.
6. Khorasani, G.R., G. de Boer, P.H. Robinson and J.J. Kennelly. 1992. Effect of canola fat on ruminal and total tract digestion, plasma hormones, and metabolites in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 75: 492-501.
7. Kim, S.W., W.L. Hurley, I.K. Han, H.H. Stein and R.A. Easter. 1999. Effect of nutrient intake on mammary gland growth in lactating sows. *Journal of Animal Science*, 77: 3304-3315.
8. Knight, C.H. and M. Peaker. 1982 Mammary cell proliferation in mice during pregnancy and lactation in relation to milk yield. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, 67: 165-177.
9. Kusina, J., J.E. Pettigrew, A.F. Sower, M.R. Hathaway, M.E. White and B.A. Crooker. 1999. Effect of protein intake during gestation on mammary development of primiparous sows. *Journal of Animal Science*, 77: 925-930.
10. Lin, Y. and Q. Li. 2005. The regulation of development and lactation of mammary gland by leptin. *Journal of Animal Science*, 1: 63-67.
11. Mahan, D.C. 1990. Mineral nutrition of the sow: a review. *Journal of Animal Science*, 68: 573-582.
12. McFadden, T.B., T.E. Daniel and R.M. Akers. 1990. Effects of plane of nutrition, growth hormone and unsaturated fat on mammary growth in prepubertal lambs. *Journal of Animal Science*, 68: 3171-3179.
13. Mellor, D.J. and L. Murray. 1985. Effects of maternal nutrition on udder development during the pregnancy and on colostrum production in Scottish Blackface ewes with twin lambs. *Research in Veterinary Science*, 39: 230-234.
14. Meyer, A.M., J.J. Reed, T.L. Neville, J.F. Thorson, K.R. Maddock-Carlin, J.B. Taylor, L.P. Reynolds, and D.A. Redmer, J.S. Luther, C.J. Hammer, K.A. Vonnahme and J.S. Caton. 2011. Nutritional plane and selenium supply during gestation impact yield and nutrient composition of colostrum and milk in primiparous ewes. *Journal of Animal Science*, 89: 1627-1639.
15. Prezotto, L.D., L.E. Camacho, C.O. Lemley, F.E. Doscher, J.S. Caton, K.A. Vonnahme and K.C. Swanson. 2013. Effects of nutrient restriction on liver and small intestine energy use in pregnant beef cows. In: *Energy and protein metabolism and nutrition in sustainable animal production*. Wageningen Academic Publishers, Netherland, 463-464.
16. Safayi, S., P.K. Theil, L. Hou, M. Engbæk, J.V. Nørgaard, K. Sejrsen and M.O. Nielsen. 2010. Continuous lactation effects on mammary remodeling during late gestation and lactation in dairy goats. *Journal of Dairy Science*, 93: 203-217.
17. Sejrsen, K., J.T. Huber, H.A. Tucker and R.M. Akers. 1982. Influence of nutrition on mammary development in pre- and postpubertal heifers. *Journal of Dairy Science*, 65: 793-800.
18. Sejrsen, K., S. Purup, M. Vestergaard and J. Foldager. 2000. High body weight gain and reduced bovine mammary growth: physiological basis and implications for milk yield potential. *Domestic Animal Endocrinology*, 19: 93-104.
19. Sinowatz, F., D. Schams, S. Kolle, A. Plath, D. Lincoln and M.J. Waters. 2000. Cellular localization of GH receptor in the bovine mammary gland during mammogenesis, lactation and involution. *Journal of Endocrinology*, 166: 503-510.
20. Swanson, T.J., C.J. Hammer, J.S. Luther, D.B. Carlson, J.B. Taylor, D.A. Redmer, T.L. Neville, J.J. Reed, L.P. Reynolds, J.S. Caton and K.A. Vonnahme. 2008. Effects of gestational plane of nutrition and selenium supplementation on mammary development and colostrum quality in pregnant ewe lambs. *Journal of Animal Science*, 86: 2415-2423.
21. The Small Ruminant Nutrition System (SRNS). 2007
22. Tucker, H.A. 1987. Quantitative estimates of mammary growth during various physiological states: A review. *Journal of Dairy Science*, 70: 1958-1966.
23. Vonnahme, K.A., C.M. Weinhold, P.P. Borowicz, T.L. Neville, D.A. Redmer, L.P. Reynolds and J.S. Caton. 2011. Supranutritional selenium increases mammary gland vascularity in postpartum ewe lambs. *Journal of Dairy Science*, 94: 2850-2858.
24. Weldon, W.C., A.J. Thulin, O.A. MacDougald, L.J. Johnston, E.R. Miller and H.A. Tucker. 1991. Effects of increased dietary energy and protein during late gestation on mammary development in gilts. *Journal of Animal Science*, 69: 194-200.

## Effect of Increasing Metabolizable Energy and Protein During Late Pregnancy on Mammary Growth and Development in Sistani Goats

Farhod Shabrandi<sup>1</sup>, Eisa Dirandeh<sup>2</sup>, Zarbakht Ansari Pirsaraei<sup>3</sup> and Asadollah Teimouri Yansari<sup>4</sup>

1 and 3- Graduated M.Sc. Student and Associate Professor, Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (Corresponding author: dirandeh@gmail.com)

Received: 11 December 2016 Accepted: 5 February 2017

### Abstract

The aim of this study was to consider effect of increasing metabolizable energy and protein during late pregnancy on mammary growth and development in sistani goats. Twenty eight pregnant sistani goats with same average body weight and 2 year old age were selected and randomly assigned to four groups at beginning of late pregnancy period (d 100 of pregnancy): 1- Control group with recommendation level of metabolizable energy and protein according to NRC, 2- group with 10 % greater level of metabolizable energy, 3- group with 10 % greater level of metabolizable protein and 4- group with 10 % greater level of metabolizable energy and protein. After two month feeding, mammary samples were removed by biopsy 24-36 h after parturition to consider mammary histological parameters. Results showed number of epithelial cells were greater in goats fed diets with 10 % greater metabolizable energy and protein both compared to control group ( $35.8 \pm 3.70$  vs.  $26.4 \pm 2.64$ ), but there was no difference among control groups and groups with 10 % greater metabolizable energy or 10% greater metabolizable protein alone. Epithelium area ( $\mu\text{m}$ ) affected by diets and were greater in groups with 10% greater metabolizable energy and protein compared to control groups ( $P=0.03$ ). Percentage of stroma affected by diets ( $P=0.001$ ) and were decreased by increasing metabolizable energy, metabolizable protein or both compared to control group. Percentage of epithelium affected by diets ( $P=0.008$ ) and were greater in groups with greater metabolizable energy and groups with greater metabolizable energy and protein compared to control group. In conclusion increasing 10 % metabolizable energy and protein both during late pregnancy improved mammary growth and development with increasing number and percentage of epithelial cells, increasing alveoli and epithelium area and decreasing percentage of stroma in sistani goats that could have positive effect of colostrum production and milk yield in subsequent lactation period.

**Keywords:** Alveoli, Metabolizable energy, Mammary tissue, Epithelial cell, Sistani goat