Vol 26, No. 2, Summer 2024

University of Tehran Press

Journal of Animal Production

Online ISSN: 2382-994X

Homepage: https://jap.ut.ac.ir/

Effect of dietary cation-anion difference around mating on the sex of lambs born from Kurdish ewes

Mozfar Kouchaki[1] | Mohammad Shamsollahi[2]✉ | Farshid Fatahnia[3] | Hooman Farzadi[4] | Yahya Mohammadi[5]

1. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran. Email: Kocheki.mozafar@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran. Email: m.hamsolahi@ilam.ac.ir
3. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran. Email: f.fatahnia@ilam.ac.ir
4. Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran: drvetfarzadi@gmail.com
5. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran. Email: Y.mohammadi@ilam.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 18 November 2023
Received in revised form
8 June 2024
Accepted 12 June 2024
Published online 14 July 2024

Keywords:
Dietary cation-anion difference
Flushing diet
Kurdish ewe
Lamb sex
Reproductive performance

ABSTRACT

Introduction Sheep producers would benefit from the opportunity to change offspring sex ratio towards their preferred gender. For example, male lambs have higher average daily gain and better carcass quality than female lambs. Thereby reaching a higher market weight over a set time period. However, sheep interprises require breeding females, which may lead to a higher sale price of first-cross ewes at weaning. Maternal nutrition has potential to affect many aspects of reproduction outcomes including ovulation rate, pregnancy rate, embryo survival and sex ratio of offspring. It has been indicated that some dietary nutrients including glucose and polyunsaturated fatty acids as well as total energy could affect offspring sex ratio in different mammalian species. The influence of dietary mineral balance affect offspring sex ratio in sow and ewe. Experiments on pre- and postconception mechanisms demonstrated that these mechanisms influence the sex ratio in mouse embryos. Some studies based on theories that sperm carrying the X or Y chromosome favored different vaginal pH. Therefore, it has been suggested that the pH of the vagina at the time of fertilization may have a differential effect on X- or Y- sperm, thus affecting the sex of the offspring. Feeding a negative dietary cation- anion difference (DCAD) in prepartum dairy cows improves Ca metabolism in the peripartum cow through instigating a mild metabolic acidosis via feeding excess dietary anions. We hypothesized that feeding diet with negative DCAD around mating would decrase the pH of veginal fluid and subsequently might affect lamb sex ratio in Kurdish ewes. Therfore, the aim of this experiment was to investigate the effect of dietary DCAD of flushing diet around mating on plasma metabolites and hormones concentrations and reproductive performance of Kurdish ewes as well as lamb sex ratio.

Materials and Methods Eighty four Kurdish ewes with average BW of 40±5 kg, BCS of 2.75±0.25 and 2-4 years were used. Ewes were divided into two similar groups and randomly assigned to experimental diets. Experimental diets consisted of 1- cationic diet (diet with DCAD of +193 mEq/kg of DM) and 2- anionic diet (diet with DCAD of -21 mEq/kg of DM). Ewes fed experimental diets from 2 weeks before estrous synchronization till 3 weeks after mating. Estrous of ewes were synchronized by 9-d intravaginal sponge and intramuscular injection of 5 mL vetaroline at the day of sponge removal. Blood samples were collected from jugular vein using 10-mL evacuated tube containing sodium heparin at the day before the beginning of experiment, at the day of sponge removal and at the day of estrous and mating. Plasma concentrations of total cholesterol, total protein, urea nitrogen, glucose, triglyceride, insulin, progesterone, estradiol, testosterone, calcium, magnesium, potassium and sodium were determined.

Results and Discussion Experimental diets had no effect on estrous response, fertility rate, lambing rate, twining rate and birth BW and sex of lambs. Ewes fed anionic diet had higher plasma progesterone and lower estradiol levels at the days of sponge removal and estrous than those fed cationic diet ($P<0.05$). Plasma concentrations of total protein, glucose, sodium, potassium, calcium and magnesium did not influence by DCAD of flushing diet. Whereas, feeding anionic diet around mating decreased plasma concentration of total cholesterol and triglyceride and increased urea nitrogen ($P<0.05$).

Conclusion According to these results, feeding flushing diet with different DCAD around mating had no effect on lamb sex ratio in Kurdish ewes.

Cite this article: Kouchaki, M., Shamsollahi, M., Fatahnia, F., Farzadi, H., & Mohammadi, Y. (2024). Effect of dietary cation-anion difference around mating on the sex of lambs born from Kurdish ewes. *Journal of Animal Production*, 26 (2), 191-205. DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2024.368332.623770

© The Author(s).
Publisher: The University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2024.368332.623770

دوره بیست و ششم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۳

انتشارات دانشگاه تهران

تولیدات دامی

شاپا الکترونیکی: ۲۳۸۲-۹۹۴x

Homepage: https://jap.ut.ac.ir/

اثر تفاوت کاتیون–آنیون جیره حوالی جفت‌گیری بر جنس بره‌های متولدشده از میش‌های کردی

مظفر کوچکی[۱] | محمد شمس‌الهی[۲]✉ | فرشید فتاح‌نیا[۳] | هومان فرزادی[۴] | یحیی محمدی[۵]

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. رایانامه: Kocheki.mozafar@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. رایانامه: m.shamsolahi@ilam.ac.ir

۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. رایانامه: f.fatahnia@ilam.ac.ir

۴. گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. رایانامه: drvetfarzadi@gmail.com

۵. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. رایانامه: Y.mohammadi@ilam.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۲۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۳/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۳

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۴/۲۴

کلیدواژه‌ها:

تفاوت کاتیون- آنیون جیره

جنس بره

جیر ه فلاشینگ

عملکرد تولید مثل

میش کردی

چکیده

اثر تفاوت کاتیون- آنیون جیره فلاشینگ حوالی جفت‌گیری بر غلظت متابولیت‌ها و هورمون‌های پلاسما و عملکرد تولیدمثلی میش‌های کردی و جنس و وزن بدن بره‌های آن‌ها با استفاده از ۸۴ راس میش بالغ کردی با میانگین وزن بدن ۵ ±۴۰ کیلوگرم، نمره وضعیت بدنی ۰/۲۵±۲/۷۵ و سن دو تا چهار سال بررسی شد. میش‌ها به دو گروه تقریباً یکسان تقسیم و به‌طور تصادفی به یکی از جیره‌های آزمایشی اختصاص داده شدند. جیره‌های آزمایشی شامل ۱- جیره کاتیونیک و ۲- جیره آنیونیک بودند و تفاوت کاتیون-آنیون آن‌ها به‌ترتیب ۱۹۳+ و ۲۱- میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم ماده خشک بود. میش‌ها از دو هفته قبل از همزمان‌سازی فحلی تا سه هفته پس از جفت‌گیری با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. فحلی میش‌ها با استفاده از اسفنج درون واژنی به‌مدت نُه روز و تزریق عضلانی پنج میلی‌لیتر وتارولین در زمان برداشت اسفنج همزمان‌سازی شد. جیره‌های آزمایشی بر نرخ فحلی، باروری، بره‌زایی، دوقلوزایی و وزن تولد و جنس بره‌های متولدشده اثری نداشتند. پلاسمای میش‌های تغذیه‌شده با جیره دارای تفاوت کاتیون-آنیون منفی در مقایسه با میش‌های تغذیه‌شده با جیره دارای تفاوت کاتیون-آنیون مثبت دارای غلظت بیش‌تر پروژسترون و غلظت کم‌تر استرادیول در روز فحلی و روز خروج اسفنج بودند (P<۰/۰۵). غلظت سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم پلاسمای میش‌ها تحت تأثیر تفاوت کاتیون-آنیون جیره فلاشینگ قرار نگرفت. در کل، با توجه به این نتایج، تغذیه جیره فلاشینگ دارای تفاوت کاتیون- آنیون مختلف در حوالی جفت‌گیری بر جنس بره‌های متولدشده از میش‌های کردی تأثیر نداشت.

استناد: کوچکی، مظفر؛ شمس‌الهی، محمد؛ فتاح‌نیا، فرشید؛ فرزادی، هومان و محمدی، یحیی (۱۴۰۳). اثر تفاوت کاتیون-آنیون جیره حوالی جفت‌گیری بر جنس بره‌های متولدشده از میش‌های کردی. *نشریه تولیدات دامی*، ۲۶ (۲)، ۲۰۵-۱۹۱. DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2024.368332.623770

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

۱. مقدمه

هدف اصلی از پرورش گوسفند در ایران، تولید گوشت می‌باشد که وابسته به تولیدمثل و آبستنی دام است. هزینه نگهداری حیوان ماده نسبت به کل هزینه‌ها در تولید بره، به‌واسطه پایین بودن عملکرد صفات مرتبط با تولیدمثل بالا می‌باشد. بنابراین بهبود بازده اقتصادی و بیولوژیک با افزایش تعداد و وزن بره‌های پرورش‌یافته به‌ازای میش‌های نگهداری‌شده امکان‌پذیر می‌باشد که به‌واسطه افزایش میزان باروری، تعداد بره در هر زایش میش، زنده‌مانی بره‌ها تا شیرگیری و رشد بره‌ها حاصل می‌گردد.

بازده تولیدمثل در میش به طول فصل تولیدمثلی، نرخ تخمک‌ریزی، نرخ لقاح، درصد آبستنی، تعداد بره و زنده‌مانی نتاج ارتباط دارد که خود این صفات تحت تأثیر اثر متقابل ژنتیک و عوامل محیطی قرار دارند. تغذیه از مهم‌ترین عوامل محیطی مؤثر بر بازده تولیدمثل در حیوانات نشخوارکننده است که از شروع بلوغ تا تعداد کل نوزاد متولدشده در طول دوره زندگی آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از مهم‌ترین عوامل تغذیه‌ای مؤثر بر تولیدمثل در حیوانات نشخوارکننده می‌توان انرژی، پروتئین، مواد معدنی و ویتامین‌ها را نام برد. این مواد مغذی از طریق تغییر غلظت متابولیت‌ها و هورمون‌های پلاسما اثر خود بر تولیدمثل را نشان می‌دهند. از جمله این مواد می‌توان به گلوکز، کلسترول، نیتروژن اوره‌ای، انسولین، لپتین، LH، FSH، IGF-1، استرادیول و پروژسترون اشاره کرد. این عوامل تمام فرایندهای تولیدمثل در دام‌های نشخوارکننده از قبیل رشد فولیکول، تعداد فولیکول، بروز علایم فحلی، تداوم آبستنی، تعداد جنین، طول دوره آبستنی و زنده‌مانی رویان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Fleming *et al*., 2012).

جنس بره‌های متولدشده، یکی از صفات مهم در واحدهای پرورش گوسفند می‌باشد و هر عاملی که باعث تغییر جنس بره‌های متولدشده شود می‌تواند بر سودآوری و برنامه‌های مدیریتی گله تأثیر داشته باشد. برای مثال، بره‌های نر در مقایسه با بره‌های ماده از سرعت رشد بیش‌تری برخوردار هستند و در مناطقی که تولید گوشت از اهمیت بیش‌تری برخوردار است، طول دوره پروار آن‌ها کوتاه‌تر بوده و زودتر وارد بازار مصرف می‌شوند. در صورتی‌که برای افزایش تعداد میش‌های داشتی با شایستگی ژنتیکی مناسب و بهبود ژنتیکی گله به تعداد بیش‌تر بره‌های ماده نیاز می‌باشد (Clayton *et al*., 2015).

جنسیت نتاج در پستانداران توسط عوامل یا سازوکارهای تأثیرگذار بر والدین نر و ماده در قبل (تغییر جنس اولیه) و یا در بعد (تغییر جنس ثانویه) از لقاح تعیین می‌شود. در تغییر جنس اولیه، عوامل مؤثر باعث افزایش یا کاهش تولید زیگوت‌های نر یا ماده می‌شوند اما در تغییر جنسیت ثانویه، عوامل مؤثر باعث کاهش یا افزایش مرگ‌ومیر جنین‌های نر یا ماده در طول آبستنی یا افزایش و کاهش زنده‌مانی آن‌ها پس از تولد می‌شوند. تغییر جنس ثانویه در مقایسه با تغییر جنس اولیه در مهره‌داران عالی هزینه زیادتری را به پرورش‌دهندگان تحمیل می‌کند. عوامل متعددی از قبیل ژنتیک مادر، وضعیت بدنی مادر، شرایط آب‌وهوایی (دمای هوا و طول روز)، عوامل محیطی، مشخصات جنس نر، مدیریت پرورش (زمان جفت‌گیری پس از تخمک‌ریزی) و تغذیه مادر در حوالی جفت‌گیری، جنس نتاج در پستانداران را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Navara, 2018).

تغذیه مادر در حوالی جفت‌گیری یک عامل مهم مؤثر بر جنس نتاج در پستانداران می‌باشد. شواهد زیادی در دست است که نوع و مقدار مواد مغذی جیره ممکن است در مقایسه با قابلیت دسترسی خود خوراک در تغییر جنس نتاج اهمیت بیش‌تری داشته باشد. اگرچه در بعضی پژوهش‌ها مشخص شده که کاهش دسترسی مادر به خوراک با افزایش تعداد نتاج ماده همراه بوده است (Navara, 2018). از مهم‌ترین مواد مغذی جیره حوالی جفت‌گیری که بر جنس نتاج در پستانداران تأثیر دارند می‌توان به مکمل چربی و الگوی اسیدهای چرب آن، غلظت مواد معدنی و تعادل یونی و پیش‌سازهای

افزایش‌دهنده گلوکز خون اشاره کرد. برای مثال، تغذیه خوراک‌های قلیایی و اسیدی در زنان به‌ترتیب با افزایش تعداد پسر و دختر همراه بوده است (Navara, 2018). هم‌چنین پیشنهاد شد که تعادل یونی، نسبت مجموع سدیم و پتاسیم به مجموع کلسیم و منیزیم، باعث تغییر در جنسیت نتاج می‌شود به گونه‌ای‌که افزایش این نسبت با افزایش درصد نتاج نر همراه بوده است.

بعضی مطالعات در انسان نشان داده است که تعادل یونی جیره در زمان آبستنی ممکن است بر موفقیت اسپرم‌های حاوی کروموزوم X یا Y برای رسیدن به یا بارورکردن تخمک اثر داشته باشد. به‌نظر می‌رسد که افزایش نسبت مجموع سدیم و پتاسیم به مجموع کلسیم و منیزیم جیره در زمان قبل از آبستنی باعث افزایش شانس اسپرم‌های حاوی کروموزوم Y برای اتصال به تخمک و افزایش جنس نر در نتاج می‌شود (Navara, 2018). سازوکار احتمالی تعادل یونی برای تغییر جنس نتاج ممکن است به تغییر در بار الکتریکی دستگاه تولید مثل ارتباط داشته باشد که به‌طور متفاوت بر زنده‌مانی اسپرم‌های حاوی کروموزوم X یا Y و تغییرات بار الکتریکی تخمک برای نفوذ انتخابی اسپرم‌های حاوی کروموزوم X یا Y تأثیر دارد (Oun *et al*., 2016). با توجه به اطلاعات موجود، تا کنون اثر تفاوت کاتیون–آنیون جیره فلاشینگ حوالی جفت‌گیری بر عملکرد تولید مثلی و جنس بره‌های متولدشده در میش بررسی نشده است. با توجه به مطالب بیان‌شده، فرض بر آن شد که افزودن مکمل نمک‌های آنیونی به جیره حوالی جفت‌گیری میش با ایجاد اسیدوز متابولیک و تغییر هموستازی کلسیم و منیزیم پلاسما می‌تواند تعداد بره ماده را افزایش دهد. بنابراین هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر تفاوت کاتیون–آنیون جیره فلاشینگ حوالی جفت‌گیری بر غلظت متابولیت‌ها، هورمون‌ها و مواد معدنی پلاسما و عملکرد تولیدمثلی میش‌های کردی و جنس و وزن تولد بره‌های آن‌ها می‌باشد.

۲. پیشینه پژوهش

مواد معدنی موردنیاز بدن به دو دسته پرنیاز و کم نیاز تقسیم می‌شوند. مواد معدنی پرنیاز شامل کلسیم، فسفر، منیزیم، پتاسیم، سدیم، کلر و گوگرد و مواد معدنی کم‌نیاز شامل کروم، کبالت، مس، ید، آهن، منگنز، سلنیوم و روی می‌باشند. عواملی از قبیل فصل سال، گونه، جنس و سن حیوان، تغذیه، وضعیت سلامت و شرایط فیزیولوژیکی از قبیل آبستنی و شیردهی بر غلظت مواد معدنی سرم اثر دارند. مواد معدنی پرنیاز در فرایندهای تولیدمثلی و واکنش‌های بیوشیمیایی سلول‌های بدن حیوانات مزرعه‌ای نقش حیاتی دارند. مواد معدنی دارای بار الکتریکی مثبت و منفی را به‌ترتیب کاتیون و آنیون می‌نامند (Suttle, 2022). تفاوت (تعادل) کاتیون–آنیون جیره (DCAD) بر خیلی از جنبه‌های فیزیولوژیکی و عملکردی حیوانات نشخوارکننده از قبیل تعادل اسید– باز بدن، هموستازی کلسیم، مورداستفاده قرارگرفتن مواد معدنی به‌وسیله بافت‌ها و سلامت آن‌ها اثر دارد (Lean *et al*., 2019). تعادل کاتیون–آنیون جیره به‌طور عمده با توجه به غلظت سدیم، پتاسیم، کلر و گوگرد و به‌صورت رابطه (۱) محاسبه می‌شود (NRC, 2021).

$$DCAD\ (mEq/kg\ of\ DM) = (Na^{+} + K^{+}) - (Cl^{-} + S^{2-}) \quad \text{رابطه ۱)}$$

جیره حیوانات نشخوارکننده معمولاً دارای تعادل کاتیون–آنیون مثبت است که با افزایش وزن بیش‌تر در دام‌های پرواری و افزایش تولید شیر در حیوانات شیرده همراه است (Lean *et al*., 2019). جیره‌های دارای تعادل کاتیون–آنیون منفی معمولاً در اواخر آبستنی نشخوارکنندگان و برای جلوگیری از کاهش کلسیم خون (هیپوکلسیمی) استفاده می‌شوند (NRC, 2021). برای کاهش تعادل کاتیون–آنیون جیره یا از مواد خوراکی با غلظت کم پتاسیم و سدیم، مواد خوراکی با غلظت زیاد کلر و گوگرد یا مکمل مواد معدنی از قبیل کلریدآمونیوم، کلریدکلسیم، کلریدمنیزیم، سولفات‌آمونیوم، سولفات‌منیزیم و سولفات‌کلسیم استفاده می‌شود (Lean *et al*., 2019). جیره‌های با تعادل کاتیون–آنیون منفی باعث ایجاد

اسیدوز متابولیک و کاهش pH مایعات بدن و ادرار می‌شوند (Goff, 2018). برای مثال، افزودن نمک‌های آنیونیک به جیره یا استفاده از جیره‌های با تعادل کاتیون-آنیون منفی در مقایسه با تعادل کاتیون-آنیون مثبت در حیوانات نشخوارکننده با کاهش pH خون، ادرار و ترشحات رحمی و افزایش غلظت گوگرد و کلر خون و ادرار همراه بوده است (Razzaghi *et al*., 2012). بنابراین، تغییر الگوی مواد معدنی و pH مایعات بدن از طریق تغییر در ترکیب شیمیایی جیره امکان‌پذیر می‌باشد.

ترشحات رحمی در زمان فحلی در مقایسه با زمان فعالیت جسم زرد و آبستنی بیش‌تر است و ترکیب و pH چنین ترشحاتی بر انتقال گامت‌ها، کاپاسیتاسیون اسپرم، لقاح و تکامل اولیه رویان اثر دارد. بیش‌تر مایعات رحمی به‌وسیله بخش آمپولا و به‌دنبال آن ایستموس ترشح می‌شوند. هورمون‌های استروئیدی بر تولید و ترکیب ترشحات رحمی اثر دارند به گونه‌ای‌که استرادیول سبب تحریک و پروژسترون سبب مهار ترشح آن می‌شوند. ترشحات رحمی حاوی غلظت بالایی از پتاسیم، گلوکز، پیروات، اسیدهای آمینه آزاد، آلبومین، ایمیونوگلوبولین G، پروستاگلندین‌ها، عوامل رشد و هورمون‌های استروئیدی می‌باشد (Aguilar & Reyley, 2018). بعضی از ترکیبات موجود در ترشحات رحمی از قبیل مواد معدنی، آلبومین، ایمونوگلوبولین‌ها، گلوکز و پیروات از خون منشأ می‌گیرند و بعضی از پروتئین‌های خاص نیز توسط سلول‌های اپیتلیال سنتز می‌شوند. مشخص شده که یون‌های کلر نقش مهمی در ترشح مایعات رحمی دارند. غلظت بعضی از مواد معدنی از قبیل پتاسیم و کلر در ترشحات رحمی در مقایسه با پلاسما بالاتر است. غلظت کلسیم ترشحات رحمی گاو در زمان تخمک‌ریزی از پلاسما بیش‌تر بوده است (Grippo *et al*., 1992).

۳. روش‌شناسی پژوهش

این پژوهش در یک واحد پرورش گوسفند نیمه‌صنعتی واقع در استان ایلام و در ۱۰ کیلومتری شهر سرابله مرکز شهرستان چرداول انجام شد. مراحل اجرایی آزمایش از اوایل شهریورماه ۱۴۰۱ شروع شد که تقریباً همزمان با شروع فصل تولیدمثل گوسفند در منطقه بود و در اسفندماه ۱۴۰۱ به اتمام رسید. برای انجام این آزمایش از ۸۴ راس میش بالغ کردی با وزن بدن (میانگین ۵±۴۰ کیلوگرم)، نمره وضعیت بدنی (میانگین ۰/۲۵±۲/۷۵) و سن (دو تا چهار سال) استفاده شد. سپس حیوانات به دو گروه (۴۲ راس به‌ازای هر جیره آزمایشی) تقسیم و به‌طور تصادفی به جیره‌های آزمایش اختصاص داده شدند. یک ماه قبل از شروع آزمایش جهت مبارزه با انگل‌های خارجی و داخلی، براساس پروتکل‌های توصیه‌شده دامپزشکی اقدام گردید. همه میش‌ها از دو هفته قبل از شروع همزمان‌سازی فحلی تا سه هفته پس از جفت‌گیری در جایگاه بسته نگهداری شدند. در طول این مدت، دام‌ها همیشه و به‌طور آزاد به آب دسترسی داشتند. جیره‌های آزمایشی شامل ۱- جیره کاتیونی با تفاوت کاتیون-آنیون برابر با ۱۹۳+ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم ماده خشک و ۲- جیره آنیونی با تفاوت کاتیون-آنیون برابر با ۲۱- میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم ماده خشک بودند. برای کاهش تفاوت کاتیون-آنیون در جیره آنیونی از مکمل نمک‌های آنیونیک (سپاهان دانه، اصفهان) استفاده شد. مواد خوراکی تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول (۱) آمده است. میش‌ها دو هفته قبل از شروع همزمان‌سازی فحلی تا سه هفته پس از جفت‌گیری با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. جیره‌ها به‌صورت کاملاً مخلوط شده و در دو نوبت صبح و عصر در اختیار میش‌ها قرار داده شدند. لازم به ذکر است که تا قبل از شروع برنامه همزمان‌سازی فحلی از ارتباط میش‌ها با جداسازی قوچ‌ها از گله جلوگیری شد.

دو هفته پس از شروع تغذیه جیره‌های آزمایشی، برنامه همزمان‌سازی فحلی با استفاده از کارگذاری اسفنج (آرپروسینکرو، کرج، ایران) به‌مدت نُه روز به‌صورت درون واژنی شروع شد. سپس پنج میلی‌لیتر وتارولین (ابوریحان، تهران، ایران) در زمان برداشت اسفنج به‌صورت درون عضلانی برای هر میش تزریق شد. هر میلی‌لیتر از محلول وتارولین حاوی پنج میکروگرم

آلارلین استات بود. همه میش‌ها در ۳۶ تا ۴۸ ساعت پس از خروج اسفنج برای بروز علائم فحلی مشاهده و با قوچ‌های کردی (یک راس قوچ به‌ازای پنج راس میش) جفت‌گیری کردند. پس از پایان تغذیه با جیره‌های آزمایشی، دام‌های هر دو گروه تا زمان زایش در شرایط تغذیه‌ای و مدیریتی یکسان نگهداری شدند. تشخیص آبستنی ۳۰ روز پس از جفت‌گیری از طریق اندازه‌گیری سطح پروژسترون پلاسما انجام شد. غلظت پروژسترون پلاسمای میش‌ها با استفاده از کیت آکوبایند الایزا (شماره کاتالوگ A300-4825) شرکت مونوبایند (کالیفرنیا، آمریکا) و دستگاه الایزاریدر (ELx800, Bio Tek, Instruments, USA) اندازه‌گیری شد. هر هفته نمونه جیره‌های آزمایشی جمع‌آوری و در پایان آزمایش به‌طور مساوی با هم مخلوط شدند. سپس به‌مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد خشک و با استفاده از آسیاب (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ, USA) دارای الک یک میلی‌متری آسیاب شدند. ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی شامل پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر با روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد (AOAC, 2007). مقدار الیاف غیرقابل حل در شوینده خنثی براساس روش توصیه‌شده به‌وسیله ون‌سوست و همکاران (۱۹۹۱) اندازه‌گیری و کربوهیدرات‌های غیر الیافی براساس فرمول مؤسسه تحقیقات ملی (NRC, 2021) محاسبه شد. غلظت مواد معدنی جیره‌ها شامل کلسیم، سدیم، منیزیم، پتاسیم، گوگرد و کلر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر جذب اتمی (Analytik Jena AG-novAA 400p, Germany) اندازه‌گیری شد. تفاوت کاتیون–آنیون جیره‌های آزمایشی براساس غلظت سدیم، پتاسیم، گوگرد و کلر با استفاده از رابطه (۲) (Goff, 2018) محاسبه شد.

رابطه ۲) $$DCAD\ (mEq/kg\ of\ dietary\ DM) = (Na + K) - (Cl + S)$$

به‌منظور بررسی اثر تیمارهای آزمایشی بر متابولیت‌های مؤثر بر تولیدمثل (گلوکز، کلسترول کل، تری‌گلیسرید، پروتئین کل، سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم) و هورمون‌های پروژسترون، تستوسترون، استرادیول و انسولین، نمونه‌های خون به‌وسیله لوله‌های حاوی هپارین سدیم از سیاهرگ وداج میش‌ها (۱۰ میش از هر جیره آزمایشی) در ابتدای آزمایش، روز خروج اسفنج و روز فحلی جمع‌آوری و بلافاصله در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس نمونه‌ها در دمای چهار درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و پلاسمای آن‌ها تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غلظت متابولیت‌های پلاسما شامل گلوکز، کلسترول کل، پروتئین کل و نیتروژن اوره‌ای با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (BT1500, Biotecnica, Italy) و براساس دستورالعمل‌های شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. غلظت هورمون‌های پلاسما شامل استرادیول (کیت شماره ۹۶-۲۸۲۴ شرکت ایده‌ال تشخیص آتیه، تهران، ایران) پروژسترون (کیت آکوبایند الایزا با شماره کاتالوگ ۳۰۰A-۴۸۲۵، شرکت مونوبایند، کالیفرنیا، آمریکا)، تستوسترون (کیت آکوبایند الایزا با شماره کاتالوگ ۳۰۰A-۳۷۲۵، شرکت مونوبایند، کالیفرنیا، آمریکا) و انسولین (کیت آکوبایند الایزا با شماره کاتالوگ ۳۰۰A-۵۸۲۵، شرکت مونوبایند، کالیفرنیا، آمریکا) با استفاده از دستگاه الایزاریدر (ELx800, Bio Tek Instruments, USA) اندازه‌گیری شد. غلظت مواد معدنی پلاسما شامل کلسیم، سدیم، منیزیم و پتاسیم با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر جذب اتمی (Analytik Jena AG-novAA 400p, Germany) اندازه‌گیری شد.

در زمان زایش، جنس، وزن بدن و تعداد بره‌های متولدشده از هر میش یادداشت شد. سپس با توجه به این اطلاعات، سایر پارامترهای عملکرد تولیدمثل شامل نرخ باروری، نرخ بره‌زایی، تعداد بره به‌ازای هر میش و درصد بره‌های ماده و نر محاسبه شد.

وزن تولد بره‌ها، غلظت متابولیت‌ها، هورمون‌ها و مواد معدنی پلاسمای میش‌ها با استفاده از رویه MIXED نرم‌افزار آماری SAS آنالیز و به‌ترتیب وزن بدن مادر و غلظت آن‌ها در روز شروع آزمایش به‌عنوان کوواریت در مدل استفاده شد. مدل آماری برای آنالیز داده‌های فوق شامل اثر تفاوت کاتیون–آنیون جیره، اثر تصادفی میش در تیمار و خطای آزمایشی بود. آنالیز داده‌های مربوط به عملکرد تولید مثل با استفاده از روش FREQ, LOGISTIC انجام شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند.

جدول ۱. مواد خوراکی (درصد از ماده خشک) و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (فلاشینگ)

ماده خوراکی	جیره آزمایشی	
	کاتیونی (قلیایی)	آنیونی (اسیدی)
علوفه خشک یونجه (درصد از ماده خشک)	۲۰	۲۰
کاه گندم (درصد از ماده خشک)	۱۰	۱۰
سیلوی ذرت (درصد از ماده خشک)	۲۶	۲۵
دانه جو (درصد از ماده خشک)	۲۰	۲۰
دانه ذرت (درصد از ماده خشک)	۱۳	۱۳
سبوس گندم (درصد از ماده خشک)	۴/۵	۳/۵
کنجاله سویا (درصد از ماده خشک)	۴/۵	۴/۵
مکمل مواد معدنی و ویتامینی[۱] (درصد از ماده خشک)	۲	۱
مکمل آنیونیک[۲] (درصد از ماده خشک)	–	۲
ترکیب شیمیایی		
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک)	۲/۵۷	۲/۵۵
پروتئین خام (درصد از ماده خشک)	۱۲/۸	۱۲/۷
الیاف شوینده خنثی (درصد از ماده خشک)	۳۶/۲	۳۵/۸
کربوهیدرات غیر الیافی (درصد از ماده خشک)	۴۴/۶	۴۵/۲
عصاره اتری (درصد از ماده خشک)	۲/۶	۲/۶
پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (درصد از ماده خشک)	۹/۵	۹/۵
پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه (درصد از ماده خشک)	۳/۳	۳/۳
کلسیم (درصد از ماده خشک)	۰/۸	۰/۹
فسفر (درصد از ماده خشک)	۰/۵	۰/۴
منیزیم (درصد از ماده خشک)	۰/۲۴	۰/۲۱
کلر (درصد از ماده خشک)	۰/۲۸	۰/۶۲
گوگرد (درصد از ماده خشک)	۰/۱۷	۰/۳۲
پتاسیم (درصد از ماده خشک)	۱/۲۶	۱/۲۵
سدیم (درصد از ماده خشک)	۰/۱۲	۰/۰۸
نسبت مجموع سدیم و پتاسیم به مجموع کلسیم و منیزیم	۱/۳۳	۱/۲
تفاوت کاتیون- آنیون جیره (میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم ماده خشک)	+۱۹۳	−۲۱

۱. در هر کیلوگرم از مکمل مواد معدنی و ویتامین، ۲۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۵۰ گرم کلسیم، ۳۲ گرم فسفر، ۱۱ گرم منیزیم، ۴۶ گرم سدیم، ۲ گرم منگنز، ۳ گرم آهن، ۱ گرم مس، ۲ گرم روی، ۶۰ میلی‌گرم کبالت، ۶۰ میلی‌گرم ید، ۱ میلی‌گرم سلنیوم، ۲۰ میلی‌گرم ویتامین B_1 و ۴۰ میلی‌گرم ویتامین B_2 بود.

۲. در هر کیلوگرم از مکمل آنیونیک، ۱۶۰ گرم کلسیم، ۴۰ گرم منیزیم، ۱ گرم سدیم، ۷۷ گرم گوگرد و ۱۷۰ گرم کلر وجود داشت. هم‌چنین تفاوت کاتیون -آنیون آن حدود ۹۵۰- میلی‌اکی‌والان در ۱۰۰ گرم بود.

۴. یافته‌های پژوهش

اثر تفاوت کاتیون-آنیون جیره حوالی جفت‌گیری بر صفات تولیدمثلی و وزن تولد و جنس بره‌های متولدشده میش‌های کردی در جدول (۲) نشان داده شده است. جیره‌های آزمایشی بر نرخ فحلی، نرخ باروری، نرخ بره‌زایی، نرخ دوقلوزایی و وزن تولد و جنس بره‌های متولدشده اثر معنی‌داری نداشتند.

اثر تفاوت کاتیون-آنیون جیره حوالی جفت‌گیری بر غلظت هورمون‌های پلاسمای میش‌های کردی در جدول (۳) نشان داده شده است. غلظت پروژسترون و استرادیول پلاسما در روز خروج اسفنج و روز فحلی در میش‌های تغذیه‌شده با جیره آنیونی در مقایسه با میش‌های تغذیه‌شده با جیره کاتیونی به‌ترتیب بالاتر و پایین‌تر بود ($P<۰/۰۵$). غلظت انسولین

در روز خروج اسفنج و روز فحلی و تستوسترون در روز خروج اسفنج در پلاسمای میش‌ها تحت تأثیر تفاوت کاتیون–آنیون جیره حوالی جفت‌گیری قرار نگرفت. در صورتی‌که غلظت تستوسترون پلاسمای میش‌های تغذیه‌شده با جیره کاتیونی در روز فحلی در مقایسه با گروه دیگر بالاتر بود (P<۰/۰۵).

جدول ۲. اثر تفاوت کاتیون– آنیون جیره حوالی جفت‌گیری بر صفات تولید مثلی و وزن تولد و جنس بره‌های متولدشده میش‌های کردی

صفت اندازه‌گیری‌شده	جیره آزمایشی		SEM	*P*-value
	کاتیونی	آنیونی		
نرخ فحلی (درصد)	۱۰۰/۰۰	۱۰۰/۰۰	–	۱/۰۰
نرخ باروری (درصد)	۹۷/۵	۹۵/۰	–	۰/۳۵
نرخ بره‌زایی (درصد)	۱۱۲/۵	۱۱۷/۵	–	۰/۵۴
نرخ دوقلوزایی (درصد)	۱۲/۸۲	۱۸/۴۲	–	۰/۲۷
وزن تولد بره (کیلوگرم به‌ازای هر راس میش زایش کرده)	۴/۱۳	۴/۰۳	۰/۱۶	۰/۶۶
تعداد بره ماده (درصد)	۴۳/۱۸	۴۶/۶۷	–	۰/۷۴
تعداد بره نر (درصد)	۵۶/۸۲	۵۳/۳۳	–	۰/۷۴

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ۳. اثر تفاوت کاتیون– آنیون جیره حوالی جفت‌گیری بر غلظت هورمون‌های پلاسمای میش‌های کردی

هورمون	جیره آزمایشی		SEM	*P*-value
	کاتیونی	آنیونی		
پروژسترون (نانوگرم در میلی‌لیتر)				
شروع آزمایش	۰/۸۵	۰/۸۴	۰/۰۳	۰/۸۲
روز خروج اسفنج	۰/۶۹	۱/۱۲	۰/۰۵	۰/۰۱
روز فحلی	۰/۱۸	۰/۵۱	۰/۰۲	۰/۰۱
استرادیول (پیکوگرم در میلی‌لیتر)				
شروع آزمایش	۷۱/۲۳	۷۲/۹۹	۳/۴۱	۰/۷۲
روز خروج اسفنج	۱۱۷/۹۲	۹۱/۵۵	۲/۲۰	۰/۰۱
روز فحلی	۱۲۶/۱۰	۹۸/۰۴	۳/۰۹	۰/۰۱
انسولین (میکرو واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر)				
شروع آزمایش	۱۰/۷۴	۱۰/۵۲	۰/۳۶	۰/۶۶
روز خروج اسفنج	۱۲/۹۶	۱۲/۴۹	۰/۴۸	۰/۵۰
روز فحلی	۱۳/۹۶	۱۳/۶۷	۰/۴۶	۰/۶۵
تستوسترون (نانوگرم در میلی‌لیتر)				
شروع آزمایش	۰/۵۱	۰/۵۸	۰/۰۴	۰/۲۶
روز خروج اسفنج	۰/۸۸	۰/۵۵	۰/۱۴	۰/۱۱
روز فحلی	۱/۲۰	۰/۷۲	۰/۱۱	۰/۰۱

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

اثر تفاوت کاتیون– آنیون جیره حوالی جفت‌گیری بر غلظت مواد معدنی پلاسمای میش‌های کردی در جدول (۴) نشان داده شده است. غلظت کلسیم، منیزیم، سدیم و پتاسیم پلاسما در روز خروج اسفنج و روز فحلی تحت تأثیر تفاوت کاتیون–آنیون جیره قرار نگرفت.

جدول ٤. اثر تفاوت کاتیون- آنیون جیره حوالی جفت‌گیری بر غلظت مواد معدنی پلاسمای میش‌های کردی

ماده معدنی	جیره آزمایشی		SEM	*P*-value
	کاتیونی	آنیونی		
کلسیم (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)				
شروع آزمایش	۷/۱۱	۶/۸۱	۰/۱۵	۰/۱۷
روز خروج اسفنج	۶/۹۶	۷/۲۰	۰/۱۸	۰/۳۵
روز فحلی	۸/۵۶	۸/۲۵	۰/۳۹	۰/۴۴
منیزیم (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)				
شروع آزمایش	۱/۹۹	۲/۱۵	۰/۰۹	۰/۲۱
روز خروج اسفنج	۱/۹۸	۲/۰۶	۰/۰۷	۰/۴۱
روز فحلی	۲/۱۴	۲/۱۱	۰/۰۹	۰/۸۲
سدیم (میلی‌اکی والان در لیتر)				
شروع آزمایش	۱۲۳/۰۳	۱۱۵/۲۴	۴/۷۷	۰/۲۶
روز خروج اسفنج	۱۲۹/۴۲	۱۲۸/۴۴	۳/۳۶	۰/۸۴
روز فحلی	۱۲۳/۲۱	۱۲۹/۴۸	۳/۴۰	۰/۲۱
پتاسیم (میلی‌اکی والان در لیتر)				
شروع آزمایش	۳/۹۲	۳/۷۱	۰/۲۴	۰/۵۵
روز خروج اسفنج	۳/۹۱	۴/۰۵	۰/۳۸	۰/۷۸
روز فحلی	۳/۳۷	۳/۸۲	۰/۲۰	۰/۱۳

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

اثر تفاوت کاتیون-آنیون جیره حوالی جفت‌گیری بر غلظت فراسنجه‌های پلاسمای میش‌های کردی در جدول (۵) آمده است. غلظت پروتئین کل و گلوکز پلاسما در روز خروج اسفنج و روز فحلی و نیتروژن اوره‌ای، کلسترول کل و تری‌گلیسرید پلاسما در روز فحلی تحت تأثیر تفاوت کاتیون-آنیون جیره حوالی جفت‌گیری قرار نگرفت در صورتی‌که، غلظت نیتروژن اوره‌ای پلاسما در روز خروج اسفنج در میش‌های تغذیه‌شده با جیره آنیونی به‌طور معنی‌داری بالاتر و غلظت کلسترول کل و تری‌گلیسرید پلاسما در روز خروج اسفنج پایین‌تر بود ($P<۰/۰۵$).

جدول ۵. اثر تفاوت کاتیون-آنیون جیره حوالی جفت‌گیری بر غلظت فراسنجه‌های پلاسمای میش‌های کردی

فراسنجه	جیره آزمایشی		SEM	*P*-value
	کاتیونی	آنیونی		
پروتئین کل (گرم در دسی‌لیتر)				
شروع آزمایش	۷/۲۴	۷/۰۸	۰/۱۴	۰/۴۲
روز خروج اسفنج	۷/۰۴	۷/۲۴	۰/۱۵	۰/۳۶
روز فحلی	۶/۹۶	۷/۱۲	۰/۱۲	۰/۳۵
نیتروژن اوره‌ای (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)				
شروع آزمایش	۲۲/۴۰	۲۳/۶۰	۰/۷۶	۰/۲۸
روز خروج اسفنج	۲۵/۷۰	۲۸/۹۰	۰/۸۵	۰/۰۲
روز فحلی	۲۴/۴۰	۲۴/۵۰	۰/۸۳	۰/۹۳
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)				
شروع آزمایش	۴۶/۳۰	۴۸/۱۰	۱/۱۱	۰/۲۵
روز خروج اسفنج	۵۹/۳۰	۵۶/۳۰	۱/۴۶	۰/۱۶
روز فحلی	۶۳/۵۰	۶۴/۳۰	۱/۱۴	۰/۶۲
کلسترول کل (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)				
شروع آزمایش	۳۵/۹۰	۳۶/۷۰	۰/۷۶	۰/۴۶
روز خروج اسفنج	۳۸/۱۰	۳۴/۱۰	۰/۷۱	۰/۰۱
روز فحلی	۴۰/۵۰	۳۸/۴۰	۱/۲۳	۰/۲۴
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)				
شروع آزمایش	۱۶/۹۰	۱۷/۲۰	۰/۸۴	۰/۸۰
روز خروج اسفنج	۲۱/۵۰	۱۸/۹۰	۰/۶۳	۰/۰۱
روز فحلی	۲۳/۳۰	۲۴/۸۰	۰/۹۳	۰/۲۷

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

۵. بحث

انتخاب جنسیت نتاج قبل از تولد آن‌ها موضوعی است که همواره مورد توجه متخصصین فیزیولوژی تولید مثل قرار گرفته است. با وجود مطالعات علمی اخیر بر روی ژن‌های دخیل در تعیین جنسیت، انتخاب جنس و اولویت جنسیتی از زمان باستان مورد توجه بوده است. فیزیولوژیست‌ها به‌طور عمده بر این باورند که در پستانداران بسته به این که کروموزوم X یا کروموزوم Y اسپرم با تخمک تلاقی حاصل کند جنسیت فرزندان تعیین می‌گردد (Navara, 2018). بررسی‌ها نشان می‌دهند که سطح سدیم جیره ممکن است باعث تغییر سطح سدیم، پتاسیم و متابولیت‌های دیگر در خون شود (Rae *et al*., 2002). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه جیره آنیونی در مقایسه با جیره کاتیونی در حوالی جفت‌گیری میش‌های کردی درصد بره‌های ماده متولدشده در آن‌ها را تغییر نداد. اگرچه، با توجه به اطلاعات موجود در هیچ پژوهشی تاکنون اثر تفاوت کاتیون–آنیون جیره حوالی جفت‌گیری بر جنس نتاج در نشخوارکنندگان بررسی نشده است، اما تغییر مقدار مواد معدنی در جیره حیوانات پستاندار در آزمایش‌های قبل با تفاوت در جنس نتاج همراه بوده است. برای مثال، افزایش مصرف مقدار سدیم و پتاسیم در مقایسه با کلسیم و منیزیم (Alhimaidi *et al*., 2021) باعث افزایش نتاج نر در میش شد که با نتایج آزمایش حاضر همخوانی نداشت. البته همان‌گونه که قبلاً بیان شد در آزمایش حاضر اثر تفاوت کاتیون–آنیون جیره بر جنس نتاج بررسی شد و برای محاسبه آن عموماً از غلظت سدیم، پتاسیم، کلر و گوگرد جیره استفاده می‌شود. درصورتی‌که در آزمایش‌های قبل اثر غلظت سدیم و پتاسیم در مقابل کلسیم و منیزیم جیره بر جنس نتاج بررسی شده است که ممکن است دلیلی برای تفاوت در نتایج باشد.

همان‌گونه‌که در جدول (۱) آمده است تفاوت ناچیزی در نسبت مجموع سدیم و پتاسیم به مجموع کلسیم و منیزیم جیره‌های آزمایشی وجود دارد که می‌تواند تا حدودی (از نظر این پارامتر) عدم تأثیر جیره‌ها بر جنس بره‌های متولدشده در آزمایش حاضر را توجیه کند. پیشنهاد شده است که تغییر مقدار مواد معدنی مختلف در جیره موش‌های صحرایی می‌تواند بر جنسیت نتاج آن‌ها اثرگذار باشد (Vahidi & Sheikhha, 2007). برای دستیابی به نتاج نر به سطح بالایی از سدیم و پتاسیم و سطح پایینی از کلسیم و منیزیم نیاز است. تغذیه با جیره حاوی سطح بالای سدیم و پتاسیم (تفاوت کاتیون–آنیون مثبت جیره) و سطح پایین کلسیم و منیزیم نسبت جنسی نتاج را تغییر داد. افزایش سطح سدیم و پتاسیم (تفاوت کاتیون–آنیون مثبت) و کاهش سطح کلسیم و منیزیم جیره باعث تغییر متابولیسم تخمک و به‌ویژه لایه خارجی آن به نحوی می‌شود که اسپرماتوزوئیدهای حامل کروموزوم Y به طرف آن جذب و تولید جنین نر افزایش می‌یابد. برعکس افزایش سطح کلسیم و منیزیم و کاهش سطح پتاسیم و سدیم خون برای جذب اسپرماتوزوئیدهای حامل کروموزوم X توسط تخمک لازم است (Arangasamy *et al*., 2015). مطالعه دیگر نشان داد که سطح بالای سدیم و پتاسیم (تفاوت کاتیون–آنیون مثبت جیره) خون باعث افزایش درصد جنس نر در رت شد (Behnam-Rassouli *et al*., 2010). نتایج نشان داده که در موش‌هایی که غلظت بالایی از منیزیم و کلسیم را در جیره غذایی خود مصرف کردند، حدود ۲۳ درصد نتاج نر و ۷۷ درصد ماده بودند، اما در گروه شاهد ۵۰ درصد نتاج ماده و ۵۰ درصد نر بودند (Chandraju *et al*., 2012).

آنیون‌ها نه‌تنها با تشکیل کمپلکس بلکه با تغییر فعالیت ناقلین دیواره سلول‌های دستگاه گوارش بر جذب کاتیون‌ها تأثیر دارند. افزایش جذب منیزیم در زمان مصرف آنیون‌ها ممکن است به افزایش فعالیت پمپ سدیم– پتاسیم ATPase ارتباط داشته باشد. هم‌چنین آنیون‌ها می‌توانند جریان یون‌ها از غشای سلول‌های اپیتلیال روده را تغییر داده و جذب کلسیم را افزایش دهند (Goff, 2018). مشخص شده که آنزیم گلیسریل فسفوکولین دی‌استراز تأثیر زیادی بر متابولیسم اسپرم و تخمک دارد. برای مثال، این آنزیم با افزایش تولید فسفوگلیسرات به افزایش متابولیسم اسپرم‌ها و برداشت اکسیژن بیش‌تر به‌وسیله آن‌ها کمک می‌کند. از این‌رو، باعث افزایش حرکت اسپرم‌ها در درون دستگاه تولید مثلی حیوان

ماده می‌شود. سرعت حرکت اسپرم‌ها حاوی کروموزوم X و Y در دستگاه تناسلی ماده متفاوت است. به گونه‌ای‌که اسپرم‌های حاوی کروموزوم Y در مقایسه با اسپرم‌های حاوی کروموزوم X سنگین‌تر می‌باشند. بنابراین افزایش فعالیت آنزیم گلیسریل فسفوکولین دی‌استراز می‌تواند سرعت حرکت اسپرم‌های حاوی کروموزوم Y برای رسیدن سریع‌تر آن‌ها به تخمک را افزایش و احتمال تشکیل رویان نر را بیش‌تر کند. از طرفی، فسفوگلیسرات به‌عنوان فرآورده آنزیم گلیسریل فسفوکولین دی‌استراز دارای بار منفی می‌باشد و ممکن است با تغییر متابولیسم تخمک و بار غشای آن بر ارتباط آن با اسپرم‌ها تأثیر داشته باشد.

مواد معدنی دارای بار مثبت (کاتیون‌ها) از قبیل سدیم و پتاسیم با تغییر فعالیت آنزیم گلیسریل فسفوکولین دی‌استراز می‌توانند بر جنس نتاج تأثیر داشته باشند (Mitra & Chowdhury, 1989). اعتقاد بر این است که تغییر غلظت گلوکز در ترشحات رحم مادر بلافاصله پس از شروع رشد رویان بر جنسیت جنین مؤثر می‌باشد، زیرا رویان‌های نر برای رشد و تکثیر به گلوکز بیش‌تری نیاز دارند و کاهش غلظت گلوکز در ترشحات رحمی احتمال مرگ‌ومیر اولیه رویان‌های نر را افزایش و از این طریق نسبت جنسیتی نتاج را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Navara, 2018). علاوه بر این، مشخص شده که مصرف خوراک‌های حاوی مواد معدنی دارای بار مثبت (کاتیون‌ها) از قبیل سدیم، آهن، پتاسیم و روی با افزایش pH ترشحات رحم احتمال زنده‌ماندن اسپرم حامل کروموزوم جنس نر (Y) را بهبود می‌دهند. در صورتی‌که مصرف خوراک‌های حاوی مواد معدنی دارای بار منفی (آنیون‌ها) با کاهشpH ترشحات رحم احتمال زنده‌ماندن اسپرم حامل کروموزوم جنس ماده (X) و تولد نوزاد ماده را افزایش می‌دهد. کاهش مقدار سدیم و پتاسیم و افزایش مقدار مواد معدنی دارای بار منفی (آنیون‌ها) در مایع فولیکولی تخمدان باعث تغییر متابولیسم تخمک و به‌ویژه ویژگی‌های لایه خارجی آن می‌شود. این تغییرات باعث افزایش احتمال برخورد اسپرماتوزوئیدهای حامل کروموزوم X به تخمک می‌شود. در صورتی‌که افزایش مقدار پتاسیم و سدیم احتمال جذب اسپرماتوزوئیدهای حامل کروموزوم Y به‌وسیله تخمک را افزایش می‌دهد (Navara, 2018). مشابه نتایج آزمایش حاضر استفاده از مکمل نمک‌های آنیونی تأثیری بر فراسنجه‌های تولیدمثلی در گاوهای شیری نداشت (Lorens & Van Dijka, 2001).

در مطالعه Arangasamy *et al.* (2015) تغییر تعادل مواد معدنی (کلسیم، منیزیم) جیره غذایی موش‌های ماده قبل از لقاح بر نسبت جنسی نتاج بررسی شد. نتایج نشان داد که مکمل‌های کلسیم و منیزیم اضافی می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی نسبت جنسی را در موش‌ها تغییر دهد. با این‌حال، سطح پایین انحراف نسبت جنسی گزارش شده در مطالعه این پژوهش‌گران در مقایسه با گزارش Chandraju *et al.* (2011) ممکن است به‌دلیل سطوح مواد معدنی مورد استفاده و روش استفاده باشد. نتایج پژوهش‌های انجام‌شده نشان می‌دهد که اسیدی‌کردن مایع منی به استفاده از ترکیبات رقیق کننده دارای pH اسیدی با افزایش نتاج ماده در بزهای شیری (He *et al.*, 2021) و خوک (Park *et al.*, 2021) همراه بوده است. هم‌چنین، در یک مطالعه با اسپرم انسان مشخص شد که کاهش pH مایع منی باعث افزایش تعداد و زنده‌مانی اسپرم‌های حاوی کروموزوم X شد (Oyeyipo *et al.*, 2017). میزان اسیدیته محیط اطراف اسپرم تأثیر زیادی بر فعالیت بیولوژیکی آن دارد. میزان اسیدیته درون سلول‌های اسپرم به‌وسیله کانال‌های تبادل‌کننده یون سدیم، هیدروژن و بی‌کربنات تنظیم می‌شود (Mishra *et al.*, 2019). تغییر در pH درون سلول اسپرم بر فعالیت آنزیم‌ها، هورمون‌ها، عوامل رشد و ناقلین آن تأثیر دارد. برای مثال pH درون سلول اسپرم باعث تغییر در فعالیت کانال‌های کلسیم و به‌دنبال آن حرکت، متابولیسم انرژی و کاپاسیتاسیون آن می‌شود. pH خارج سلول اسپرم به‌طور مستقیم بر pH درون آن تأثیر دارد (He *et al.*, 2021). قرارگرفتن اسپرم در محیط‌های با pH مختلف اثرات متفاوتی بر حرکت، درجه آسیب به DNA و بیان ژن پروتئین‌های مرتبط با مرگ برنامه‌ریزی‌شده

سلول از قبیل کانال‌های سدیم، پتاسیم و کلسیم دارد (You *et al*., 2017). بررسی اثر pH محیط اطراف اسپرم بر ویژگی‌های اسپرم نشان داد که اسپرم‌های حاوی کروموزوم Y در مقایسه با کروموزوم X حساسیت بیش‌تری به شرایط تنش دارند و کاهش pH منی باعث آسیب به DNA اسپرم‌های حاوی کروموزوم Y و اختلال در حرکت و متابولیسم انرژی در آن‌ها شد. از این‌رو افزایش تعداد نتاج ماده در زمان اسیدی‌شدن محیط اطراف اسپرم دور از انتظار نیست (You *et al*., 2017).

به‌نظر می‌رسد که تغییر مصرف مواد معدنی در حوالی جفت‌گیری می‌تواند باعث تغییر سطوح سرمی هورمون‌های استروئیدی و به‌دنبال آن جنسیت نتاج شود. برای مثال، افزایش مصرف کلسیم و منیزیم در مقایسه با جیره شاهد باعث کاهش معنی دار سطح استرادیول و تستوسترون پلاسما و افزایش نتاج ماده در رت شد (Arangasamy *et al*., 2015). این تغییر در غلظت هورمون‌های استروئیدی پلاسما با نتایج آزمایش حاضر همخوانی داشت که جیره آنیونی باعث افزایش غلظت پروژسترون و کاهش غلظت تستوسترون و استرادیول در پلاسمای میش‌ها شد. اگرچه، نتایج آزمایش‌های قبل نشان‌دهنده رابطه بین تغییر در سطوح هورمون‌های استروئیدی و جنسیت نتاج در پستانداران می‌باشد و افزایش نسبت مجموع استرادیول و تستوسترون به پروژسترون در حوالی جفت‌گیری و لقاح معمولاً با افزایش نتاج نر در پستانداران همراه است (Navara, 2018). اما در آزمایش حاضر، کاهش غلظت تستوسترون و استرادیول و افزایش پروژسترون پلاسما در روز فحلی و روز خروج اسفنج در میش‌های تغذیه‌شده با جیره آنیونی با افزایش تعداد بره‌های ماده همراه نبود که ممکن است نشان‌دهنده نقش کم رنگ‌تر این عامل در مقایسه با سایر عوامل مؤثر بر جنس نتاج بوده است. زیرا عوامل زیادی جنس نتاج در پستانداران را تحت تأثیر قرار می دهند (Navara, 2018). تغییر در مصرف مواد معدنی مختلف (کاتیون‌ها و آنیون‌ها) می‌تواند pH مایع فولیکولی و بیان ژن پروتئین‌های مرتبط با سنتز هورمون های استروئیدی را افزایش یا کاهش دهد که سنتز این هورمون‌ها به‌وسیله سلول‌های گرانولوزا و تکا در فولیکول‌های در حال رشد را تحت تأثیر قرار دهد (Arangasamy *et al*., 2015).

مواد معدنی پرمصرف و کم‌نیاز برای حفظ یکپارچگی و عملکرد سیستم تولید مثل در حیوانات اهلی حیاتی هستند (Suttle, 2022). غلظت مواد معدنی خون و مایع فولیکولی در طول چرخه فحلی تغییر می‌کند که نشان‌دهنده ارتباط بین غلظت هورمون‌های استروئیدی و مواد معدنی می‌باشد (Grossi *et al*., 2017). برای مثال، شواهد فزاینده‌ای در پستانداران وجود دارد که هم بلوغ تخمک و هم فعال‌شدن تخمک در زمان لقاح توسط تغییر در سطوح کلسیم و منیزیم آزاد داخل سلولی کنترل می‌شود. سیگنال‌های کلسیم در تنظیم بلوغ تخمک و لقاح نقش دارند. کلسیم در مجرای شبکه اندوپلاسمی سلول‌های تخمک ذخیره و هنگام واردشدن به سیتوپلاسم باعث تولید سیگنال می‌شود (Wang & Machaty, 2013). افزایش یا کاهش غلظت مواد معدنی در ترشحات اوویدوکت و رحم حیوانات نشخوارکننده نیز تأثیر مهمی بر بلوغ اووسیت و اسپرم و در نتیجه لقاح و نمو اولیه رویان دارد (Grippo *et al*., 1992). همبستگی مثبت بین غلظت مواد معدنی از قبیل کلسیم و منیزیم خون با غلظت آن‌ها در ترشحات اوویدوکت در روز فحلی گاو گزارش شده است (Hugentobler *et al*., 2007). نتایج پژوهش‌های انجام‌شده بر بلاستوسیت گاو در شرایط آزمایشگاهی، اثر مثبت منیزیم بر رشد و نمو اولیه بلاستوسیت را تأیید می‌نماید (An *et al*., 2019). اگرچه اعتقاد بر این است که جیره دارای تفاوت کاتیون–آنیون منفی قبل از زایمان با افزایش آزادشدن کلسیم از استخوان باعث افزایش کلسیم سرم در گاوهای شیری برای حفظ کلسیم خون می‌شود (Van Mosel *et al*., 1994).

تغییر در تفاوت کاتیون– آنیون در جیره گاوهای شیری با استفاده از نمک‌های آنیونی زمانی دارای بیش‌ترین تأثیر بر غلظت مواد معدنی و تعادل اسید–باز مایعات بدن است که اثر تفاوت کاتیون– آنیون جیره در دامنه ۵۰– تا ۱۵–

میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم ماده خشک و مقدار کلسیم در محدوده یک تا ۱/۵ درصد ماده خشک جیره باشد (Charbonneau *et al*., 2006). در تضاد با نتایج پژوهش حاضر، Roche *et al*. (2005) گزارش کردند با افزایش تفاوت کاتیون–آنیون جیره غلظت سدیم خون افزایش و غلظت پتاسیم خون کاهش یافت. با افزایش تفاوت کاتیون–آنیون جیره میزان کلر پلاسما کاهش می‌یابد. عدم تغییر سطح عناصر بالا می‌تواند به‌دلیل نقش سیستم هموستازی بدن در حفظ سطح پلاسمایی ثابت این عناصر از طریق کنترل دفع کلیوی آن‌ها باشد (Hu & Murphy, 2004). همان‌طورکه نتایج آزمایش حاضر نشان داد تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت منیزیم خون معنی‌دار نبود که با نتایج Jackson *et al*. (2001) همخوانی داشت. استفاده از جیره آنیونی در این آزمایش اثر معنی‌داری بر غلظت سدیم پلاسمای میش‌ها نداشت. در عین‌حال، در آزمایشی دیگر (Delaquis & Block, 1995) گزارش شد که کاهش تفاوت کاتیون–آنیون جیره، غلظت سدیم پلاسما را در دامنه مطلوب نگه می‌دارد، اما مقادیر بالاتر تفاوت کاتیون–آنیون جیره غلظت سدیم پلاسما را افزایش می‌دهد. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که تأثیر جیره آنیونی بر غلظت پتاسیم پلاسما معنی‌دار نبود که با نتایج آزمایش قبل (Delaquis & Block, 1995) موافق بود.

براساس نتایج پژوهش‌های موجود، اثر جیره‌های آنیونی بر تغییر غلظت کلسیم و منیزیم خون متناقض است. این تناقض ممکن است به مقدار تفاوت کاتیون–آنیون و سطح کلسیم جیره و گونه حیوان ارتباط داشته باشد (Goff, 2018). به‌علاوه ممکن است مقدار کلسیم و منیزیم در جیره‌های حوالی جفت‌گیری، مقدار کافی این عناصر برای این مرحله فیزیولوژیک از میش را تأمین‌کنند و افزایش یا کاهش جزئی مقدار منیزیم در بین تیمارهای این تحقیق می‌تواند به‌دلیل فراخوانی آهسته این عناصر در بدن باشد. زیرا سازوکار آن‌ها مستقیم و متفاوت از کلسیم نبوده و با آن همبستگی نشان می‌دهد. حتی در این خصوص پیشنهاد شده که گاوهای در انتظار زایمان قادرند سطح سرمی منیزیم خون خود را تا حد زیادی از طریق تعدیل جذب از جیره یا فعال‌شدن بیش‌تر سازوکار پشتیبانی کلیه‌ها حفظ کنند و نیاز چندانی به مکمل جیره نخواهند داشت (Oetzel & Miller, 2012). در مطالعه حاضر همان گونه که در جدول (۱) مشاهده می‌شود تفاوت کاتیون– آنیون در جیره آنیونی ۲۱– میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم ماده خشک و مقدار کلسیم ۰/۹۰ درصد ماده خشک جیره بود و به‌نظر می‌رسد مقدار مکمل آنیونی برای تغییر سطح کلسیم و منیزیم پلاسما و در نهایت تأثیر بر جنس نتاج کافی نبوده است. هم‌چنین، استفاده از جیره حاوی نمک‌های آنیونی بر غلظت مواد معدنی شامل کلسیم، منیزیم، سدیم و پتاسیم اثر معنی‌داری نداشت که ممکن است تا حدودی عدم تأثیر جیره‌های آزمایشی بر جنس بره‌های متولدشده را توجیه کند. زیرا کاهش نسبت مجموع سدیم و پتاسیم به مجموع کلسیم و منیزیم با افزایش تعداد نتاج ماده همراه است (Navara, 2018).

۶. نتیجه‌گیری و پیشنهادها

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه جیره فلاشینگ آنیونیک با مشخصات ذکرشده در حوالی جفت‌گیری میش‌های کردی تأثیر معنی‌داری بر غلظت مواد معدنی پلاسما، صفات تولیدمثلی و جنسیت بره‌های متولدشده نداشت. به‌نظر می‌رسد که این سطح از مکمل نمک‌های آنیونیک در آزمایش حاضر نتوانست به اندازه کافی باعث اسیدی‌شدن مایعات بدن و درنهایت تأثیر بر جنس نتاج شود. از این‌رو، پیشنهاد می شود در پژوهش‌های آتی اثر جیره‌های آنیونیک حاوی سطوح بالاتر از نمک‌های آنیونیک در حوالی جفت‌گیری بر جنس نتاج در میش بررسی شود. علاوه بر این، در صورت امکان اثر این جیره‌ها بر pH پلاسما، pH ادرار و pH ترشحات رحمی به‌عنوان شاخصی برای تغییر pH مایعات بدن در پاسخ به تفاوت کاتیون–آنیون جیره نیز موردبررسی قرار گیرد.

۷. تشکر و قدردانی

از آقای مهندس نیما صیدی مالک واحد پرورش گوسفند و مدیر محترم شرکت آرپروسینکرو کرج (تولیدکننده انواع اسفنج جهت همزمان‌سازی فحلی) به‌خاطر حمایت از انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. منابع

Aguilar, J., & Reyley, M. (2018). The uterine tubal fluid: secretion, composition and biological effects. *Animal Reproduction (AR)*, *2*(2), 91-105.

Alhimaidi, A. R., Aiman A. A., Muath Q. A., Alsaiady M. Y., Amran R. A., & Swelum. A. A. (2021). Sex preselection of sheep embryo by altering the minerals of maternal nutrition. *Saudi Journal of Biological Science*, 28, 680-684.

An, L., Marjani, S. L., Wang, Z., Liu, Z., Liu, R., Xue, F., & Du, F. (2019). Magnesium is a critical element for competent development of bovine embryos. *Theriogenology*, *140*, 109-116.

Arangasamy, A., Selvaraju, S., Parthipan, S., Somashekar, L., Rajendran, D., & Ravindra, J. P. (2015). Role of calcium and magnesium administration on sex ratio skewing, follicular fluid protein profiles and steroid hormone level and oocyte transcripts expression pattern in Wistar rat. *The Indian Journal of Animal Sciences*, *85*(11).

Behnam-Rassouli, M., Aliakbarpour, A., Hosseinzadeh, H., Behnam-Rassouli, F., & Chamsaz, M. (2010). Investigating the effect of aqueous extract of *Chicorium intybus* L. leaves on offspring sex ratio in rat. *Phytotherapy Research*, *24*(9), 1417-1421.

Chandraju, S., Beirami, A., & Kumar, C. (2012). Impact of calcium and magnesium ions in identification of offspring gender in rats. *International Journal of Pharmaceutical, chemical and biological Sciences*, *3*(1), 19-24.

Chandraju, S., Beirami, A., & Chidan Kumar, C. S. (2011). Role of Sodium and Potassium ions in identification of baby gender in High-sugar mammals. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *3*(4), 303-306.

Charbonneau, E., Pellerin, D., & Oetzel, G. R. (2006). Impact of lowering dietary cation-anion difference in nonlactating dairy cows: A meta-analysis. *Journal of dairy science*, *89*(2), 537-548.

Clayton, E. H., Friend, M. A., & Wilkins, J. F. (2015). Increasing the proportion of female lambs by feeding Merino ewes a diet high in omega-6 fatty acids around mating. *Animal Production Science*, *56*(7), 1174-1184.

Delaquis, A. M., & Block, E. (1995). The effects of changing ration ingredients on acid-base status, renal function, and macromineral metabolism. *Journal of dairy science*, *78*(9), 2024-2039.

Fleming, T. P., Velazquez, M. A., Eckert, J. J., Lucas, E. S., & Watkins, A. J. (2012). Nutrition of females during the peri-conceptional period and effects on foetal programming and health of offspring. *Animal Reproduction Science*, *130*(3-4), 193-197.

Goff, J. P. (2018). Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. *Journal of Dairy Sci*ence, *101*, 1-51.

Grippo, A. A., Henault, M. A., Anderson, S. H., & Killian, G. J. (1992). Cation concentrations in fluid from the oviduct ampulla and isthmus of cows during the estrous cycle. *Journal of Dairy Science*, *75*(1), 58-65.

Grossi, E., Castiglioni, S., Moscheni, C., Antonazzo, P., Cetin, I., & Savasi, V. M. (2017). Serum magnesium and calcium levels in infertile women during a cycle of reproductive assistance. *Magnes Res*, *30*(2), 35-41.

Hugentobler, S. A., Morris, D. G., Sreenan, J. M., & Diskin, M. G. (2007). Ion concentrations in oviduct and uterine fluid and blood serum during the estrous cycle in the bovine. *Theriogenology*, *68*(4), 538-548.

Jackson, J. A., Akay, V., Franklin, S. T., & Aaron, D. K. (2001). The effect of cation-anion difference on calcium requirement, feed intake, body weight gain, and blood gasses and mineral concentrations of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *84*(1), 147-153.

Lean, I. J., Santos, J. E. P., Block, E., & Golder, H. M. (2019). Effects of prepartum dietary cation-anion difference intake on production and health of dairy cows: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, *102*(3), 2103-2133.

Mishra, A. K., Kumar, A., Yadav, S., Anand, M., Yadav, B., & Nigam, R. (2019). Functional insights into voltage gated proton channel (Hv1) in bull spermatozoa. *Theriogenology*, *136*, 118-130.

Mitra, J., & Chowdhury, M. (1989). Glycerylphosphorylcholine diesterase activity of uterine fluid in conditions inducing secondary sex ratio change in the rat. *Gamete Research*, *23*(4), 415-420.

National Research Council. 2021. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 8th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.

Navara, K. J. (2018). Choosing sexes. *Mechanisms and adaptive patterns of sex allocation in vertebrates. Cham, Switzerland: Springer. [Google Scholar]*.

Oetzel, G. R., & Miller, B. E. (2012). Effect of oral calcium bolus supplementation on early-lactation health and milk yield in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*, *95*(12), 7051-7065.

Oun A. E., Bakry, S., Soltan, S., Taha,A., & Kadry, E. (2016). Preconceptional minerals administration skewed sex ratio in rat offspring. *Journal of Obstetrics, Gynecology and Cancer Research*, 4, 11-15.

Oyeyipo, I. P., van der Linde, M., & du Plessis, S. S. (2017). Environmental exposure of sperm sex-chromosomes: A gender selection technique. *Toxicology Research*, 33(4), 315-323.

Park, Y. J., Shin, D. H., Pang, Won, K., Ryu, D. Y., Rahman, M. S., Adegoke, E. O., & Pang, M. G. (2021). Short-term storage of semen samples in acidic extender increases the proportion of females in pigs. *BMC Veterinary Research*, *17*, 362-370.

Rae, M. T., Kyle, C. E., Miller, D. W., Hammond, A. J., Brooks, A. N., & Rhind, S. M. (2002). The effects of undernutrition, in utero, on reproductive function in adult male and female sheep. *Animal reproduction science*, *72*(1-2), 63-71.

Razzaghi, A., Aliarabi, H., Tabatabaei, M. M., Saki, A. A., Valizadeh, R., & Zamani, P. (2012). Effect of dietary cation-anion difference during prepartum and postpartum periods on performance, blood and urine minerals status of holstein dairy cow. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *25*(4), 486.

Roche, J. R., Petch, S., & Kay, J. K. (2005). Manipulating the dietary cation-anion difference via drenching to early-lactation dairy cows grazing pasture. *Journal of Dairy Science*, *88*(1), 264-276.

Suttle, N. F. (2022). *Mineral nutrition of livestock*. CABI Publicayion. 5th Edition.

Vahidi, A. R., & Sheikhha, M. H. (2007). Comparing the effects of sodium and potassium diet with calcium and magnesium diet on sex ratio of rats' offspring. *Pakistan Journal of Nutrition*, *6*(1), 44-48.

Van Dijk, C. J., & Lourens, D. C. (2001). Effects on anionic salts in a pre-partum dairy ration on calcium metabolism. *Journal of the South African Veterinary Association*, *72*(2), 76-80.

Van Mosel, M., Wouterse, H. S., & Van't Klooster, A. T. (1994). Effects of reducing dietary ($[Na^{+}+ K^{+}– [Cl^{-}+ SO4^{=}]$) on bone in dairy cows at parturition. *Research in veterinary science*, *56*(3), 270-276.

Wang, C., & Machaty, Z. (2013). Calcium influx in mammalian eggs. *Reproduction*, *145*(4), R97-R105.

You, Y. A., Kwon, W. S., Saidur Rahman, M., Park, Y. J., Kim, Y. J., & Pang, M. G. (2017). Sex chromosome-dependent differential viability of human spermatozoa during prolonged incubation. *Human Reproduction*, *32*, 1183-1191.