



نشریه علمی-پژوهشی پژوهشهای علوم دامی ایران

جلد ۱۰ شماره ۱
سال ۱۳۹۷

(شماره پیاپی: ۳۳)

۳۱۰۶-۲۰۰۸: شابا

عنوان مقالات

تغذیه نشخوارکنندگان

- عملکرد و پاسخ به نش انتقال بردهای ماده بلوچی تغذیه شده با سطوح مازاد بر نیاز مکمل های آلی کروم و سلنیوم ۱
امیر موداتی - رضا ولی زاده - عباسعلی ناصریان - محمد حیدر پور - حسین کاظمی مهر جردی
ت ترکیب شیمیایی و فراسطح های تجزیه پذیری شکمبه ای ورمی کمپوست مکمل شده با مقادیر محتویات شکمبه ای،
ضایعات میوه و سبزیجات و ضایعات قارچ صدفی ۱۱
کینا صادقی - اکبر نعمی زاده - حسین جالعمحمدی - غلامعلی مقدم
تأثیر نانو ذرات اکسید روی بر عملکرد رشد، متابولیت های خونی و برخی آنزیم های سرمی در گوساله های شیرخوار
هلشنان ۲۳
جمال سیف دواتی - مطلب جهان آرا - صیاد سیف زاده - حسین عبدی بنمار - فرزاد میرزایی - آقچه قشلاق - رضا مهد شیرینی - وحید واحدی
بررسی ارزش غذایی و خصوصیات تخمیر شکمبه ای غلاف کهور ۳۵
حسن علی عربی - فرشته علی پور - پویا زمانی - داریوش علی پور - مصطفی ملکی - وحید زنبلی

تغذیه طیور

- بررسی اثر بودر و عصاره الکلی کرم خاکی (*Eisenia fetida*) بر وضعیت آنژی اکسیدانی، آنزیم های کبدی و فراسطح های
خونی در خروس های آذربایجان غربی ۴۷
مریم ربانی شکوه - محمد امیر کریمی - فرشیدی و عبیرضا عزیززاده
اثرات پرتو تابشی بیم الکترون بر میزان موسیبول، ترکیب شیمیایی و القوی اسیدهای چرب تخم پنبه ۶۱
سمیه دالاری - ژوایب پور آزادی
اثر سطوح مختلف بودر عصاره گیاه یوکا (*Yucca Schidigera*) در جیره غذایی بر عملکرد، متابولیت های خون، سیستم
ایمنی و صفات لاشه جوجه های موشی ۶۹
احسان امروپیک - احسان - حسن آزادی - حسن تقصری مقدم

ژنتیک و اصلاح

- تعیین اهداف اصلاحی موسفند منانی در سیستم پرورش عشایری ۸۱
رفدا مهد شیرینی - فاطمه نور افکن - مصطفی فولادی - جمال سیف دواتی
برآورد ضرایب اقتصادی صفات مهم تولیدی در گاؤ بومی استان ایلام ۹۷
حسین حبیبی نصر - هدایت الله روشنفکر - جمال فیاضی - محمد تقی بیگی نصیری
تعیین پلی مورفیسم رستور ژن دوپامین به کمک آنزیم محدود کننده BseNI ۱۰۹
مریم بازگیر - محمد تقی بیگی نصیری - جمال فیاضی
آنالیز بیان ژن ها و رسم شبکه ژنی آپو توژیس در نژادهای مرغ بومی اصفهان و تجاری راس تحت داده های RNA-seq ۱۱۷
ژبلا حسینی - محمد رضا نصیری - محمد رضا بختیاری زاده - مجتبی طهمورث پور - علی جواد منش
تنوع ژنتیکی و آنالیز فیلوژنتیکی ناحیه D-loop ژنوم میتو کندری موسفند نژاد بلوچی ۱۳۱
فاطمه بحری بیابانچ - گنگنا بی همدان - زانا پیر خضرائیان

فیزیولوژی

- استفاده از آنژی اکسیدان الایک اسید برای بهبود کیفیت اسپرم انجماد - یخ کشایی شده در قوج نژاد فزل ۱۴۱
رهرا بلوکی - حسن دقیق کیا - ابوذر نجفی - مهدیه مهدی پور

نشریه علمی - پژوهشی پژوهشهای علوم دامی ایران

با شماره پروانه ۳۶۵۵ در تاریخ ۸۷/۸/۱۹ از وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی و درجه علمی-پژوهشی به شماره ۳/۳۱۴۹ در تاریخ ۸۹/۴/۳۰ از وزارت علوم تحقیقات و فناوری (از جلد ۱ سال ۱۳۸۸)

جلد ۱۰ شماره ۱ بهار ۱۳۹۷

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد
مدیر مسئول: دکتر حسن نصیری مقدم
سردبیر: دکتر رضا ولی زاده
اعضای هیئت تحریریه:

دکتر رضا ولی زاده	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر محسن دانش مسگران	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر غلامرضا قربانی	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر سید محمد مهدی طباطبایی	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه بوعلی سینا همدان
دکتر حسن نصیری مقدم	استاد تغذیه طیور	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر ابوالقاسم گلیان	استاد تغذیه طیور	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر جواد پور رضا	استاد تغذیه طیور	دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر فتح الله بلداجی	استاد تغذیه طیور	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر جواد ضمیری	استاد فیزیولوژی حیوانی	دانشگاه شیراز
دکتر محمدرضا نصیری	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر اردشیر نجاتی جوارمی	دانشیار ژنتیک و اصلاح دام	دانشگاه تهران
دکتر احسان خافی پور	استادیار میکروبیولوژی	دانشگاه مانیتوبا، کانادا
دکتر مهدی سرگلزایی	دانشیار ژنتیک	دانشگاه گوئلف، کانادا

ناشر: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

چاپ: چاپخانه دانشگاه فردوسی مشهد

شمارگان: ۲۰ نسخه

نشانی: مشهد، میدان آزادی، پردیس دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، دبیرخانه نشریات علمی، دفتر نشریه پژوهشهای

علوم دامی ایران. صندوق پستی ۹۱۷۷۵ - ۱۱۶۳

نمبر: ۰۵۱-۳۸۷۸۷۴۳۰

پست الکترونیکی: ijasr@ferdowsi.um.ac.ir

مقالات این شماره در سایت <https://ijasr.um.ac.ir> به صورت مقاله کامل نمایه شده است.

این نشریه در پایگاه های زیر نمایه می شود:

پایگاه استنادی جهان اسلام (ISC) پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID) بانک اطلاعات نشریات کشور (MAGIRAN)

این نشریه به صورت فصلنامه (چهار شماره در سال) منتشر می شود.



مندرجات

صفحه	تغذیه نشخوارکنندگان
۱	عملکرد و پاسخ به تنش انتقال بره‌های ماده بلوچی تغذیه شده با سطوح مازاد بر نیاز مکمل‌های آلی کروم و سلنیوم امیر موسائی- رضا ولی زاده- عباسعلی ناصریان- محمد حیدرپور - حسین کاظمی مهرجردی
۱۱	ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های تجزیه پذیری شکمبه‌ای ورمی کمپوست مکمل شده با مقادیر محتویات شکمبه‌ای، ضایعات میوه و سبزیجات و ضایعات قارچ صدفی کیان صادقی- اکبر تقی زاده- حسین جانمحمدی- غلامعلی مقدم
۲۳	تأثیر نانو ذرات اکسید روی بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خونی و برخی آنزیم‌های سرمی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین جمال سیف دواتی، مطلب جهان آرا، صیاد سیف زاده، حسین عبدی بنمار، فرزاد میرزایی آقچه قشلاق رضا سید شریفی و وحید واحدی
۳۵	بررسی ارزش غذایی و خصوصیات تخمیر شکمبه‌ای غلاف کهور حسن علی عربی، فرشته علی‌پور، پویا زمانی، داریوش علی‌پور، مصطفی ملکی و خلیل زابلی
	تغذیه طیور
۴۷	بررسی اثر پودر و عصاره الکلی کرم‌خاکی (<i>Eisenia fetida</i>) بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی، آنزیم‌های کبدی و فراسنجه‌های خونی در خروس‌های آذربایجان غربی مریم ربانی شکوه، محمد امیر کریمی ترشیزی و علیرضا علیزاده
۶۱	اثرات پرتوتابی بیم الکترون بر میزان گوسیپول، ترکیب شیمیایی و الگوی اسیدهای چرب تخم پنبه سمیه سالاری- زینب پورآزادی
۶۹	اثر سطوح مختلف پودر عصاره گیاه یوکا (<i>Yucca Schidigera</i>) در جیره غذایی بر عملکرد، متابولیت‌های خون، سیستم ایمنی و صفات لاشه جوجه‌های گوشتی احسان امیریپیک - احمد حسن آبادی - حسن نصیری مقدم
	ژنتیک و اصلاح
۸۱	تعیین اهداف اصلاحی گوسفند مغانی در سیستم پرورش عشایری رضا سید شریفی- فاطمه نور افکن- مصطفی فولادی- جمال سیف دواتی
۹۷	برآورد ضرایب اقتصادی صفات مهم تولیدی در گاو بومی استان ایلام حسین حسینی نصر- هدایت الله روشنفکر- جمال فیاضی- محمد تقی بیگی نصیری
۱۰۹	تعیین پلی مورفسم رسپتور ژن دوپامین به کمک آنزیم محدودالایتر BseNI مریم بازگیری- محمدتقی بیگی نصیری- جمال فیاضی
۱۱۷	آنالیز بیان ژن ها و رسم شبکه ژنی آپوپتوزیس در نژادهای مرغ بومی اصفهان و تجاری راس تحت داده های RNA-seq ژیلا حسانی- محمدرضا نصیری- محمدرضا بختیاری زاده- مجتبی طهمورث پور- علی جواد منش
۱۳۱	تنوع ژنتیکی و آنالیز فیلوژنتیکی ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری گوسفند نژاد بلوچی فاطمه بحری بیناباج- گلناز بی همتا- زانا پیرخضرانیان

استفاده از آنتی اکسیدان الایژیک اسید برای بهبود کیفیت اسپرم انجماد-یخ گشایی شده در قوچ نژاد قزل
زهرا بلوکی- حسین دقیق کیا- ابوذر نجفی - مهدیه مهدی پور

راهنمای تهیه و نگارش مقاله جهت چاپ در نشریه پژوهش های علوم دامی ایران

نشریه پژوهش های علوم دامی ایران، وابسته به دانشگاه فردوسی مشهد مقالات تحقیقی نویسندگان داخلی و خارجی را در زمینه های علوم دامی که به زبان فارسی با چکیده مبسوط به زبان انگلیسی و بر اساس دستورالعمل زیر تهیه شده باشند، جهت چاپ در نشریه می پذیرد. این مقالات باید برای اولین بار ارایه شده باشند و یا بطور همزمان به نشریه دیگری برای چاپ ارسال نگردیده باشند. ارایه نتایج در گردهمایی های علمی یا چاپ بصورت چکیده در مجلات علمی بلامانع است. **توجه به شیوه نامه ذیل کاملاً ضروری است:**

- ✓ مقاله ای که بر اساس دستورالعمل نشریه تهیه نشده باشد، در جلسه هیئت تحریریه مطرح نمی شود.
- ✓ مقاله ها توسط هیات تحریریه و داوران بررسی و در صورت پذیرش بر اساس تاریخ دریافت در نوبت چاپ قرار خواهند گرفت.
- ✓ مسئولیت صحت مطالب به عهده نویسنده (گان) به طور مشخص نویسنده مسئول می باشد.
- ✓ هیأت تحریریه در رد و ویرایش مقاله ها مجاز است.
- ✓ مقاله ها پس از پذیرش نهایی، از لحاظ ادبی ویرایش شده و جهت اعمال اصلاحات نهایی برای نویسنده مسئول ارسال می گردد. نویسنده مسئول باید اصلاحات خواسته شده را ظرف مدت ۳ روز با نرم افزار Microsoft Word 2007 اعمال و ارسال نماید. بدیهی است هرگونه تغییر پس از آن قابل قبول نخواهد بود.
- ✓ مدارک مربوط به داوری کلیه مقاله ها در دفتر نشریه محفوظ و محرمانه بوده و هیأت تحریریه نسبت به ارائه مدارک مربوط به مقالاتی که مورد پذیرش قرار نگرفته اند، متعهد نمی باشد.
- ✓ عدم رعایت شیوه نامه فوق موجب تأخیر در پذیرش و رفت و برگشت های مکرر و زمان بر مقاله خواهد شد.

نکات مهم:

جهت ارسال هر مقاله باید چهار فایل با این مشخصات آماده گردد. (۱) فایل اصلی مقاله به صورت Word، (۲) فایل اصلی مقاله به صورت PDF (فایلهای اصلی نباید دارای اسامی و مشخصات نویسندگان باشند)، (۳) فایل صفحه مشخصات نویسندگان مقاله و (۴) فایل تعهد نامه که باید از طریق سایت نشریه به آدرس <http://ijasr.um.ac.ir/index.php/animal> به صورت بارگذاری در سایت، ارسال گردد. فایلهای Word و PDF در قسمت فایلهای اصلی و فایلهای صفحه مشخصات نویسندگان و تعهدنامه در قسمت فایلهای مکمل بارگذاری شود. در هنگام ارسال مقاله عنوان مقاله به طور صحیح و اسامی کلیه نویسندگان مقاله به ترتیب باید در سایت وارد شود. توجه شود که کلیه مراحل (ارسال، ارزیابی، اصلاحات، پذیرش و یا عدم پذیرش) از طریق سایت نشریه انجام می گیرد، همچنین کلیه نویسندگان مقاله باید فرم ارسال مقاله را تأیید و فقط از طریق سایت روند پیشروی مقاله خود را پیگیری نمایند. نویسنده مسئول می تواند از طریق ایمیل نشریه به آدرس ijasr@um.ac.ir، ijasr@fum.ac یا ijasr@ferdowsi.um.ac.ir نیز از روند پیشرفت مقاله خود مطلع گردد.

الف) فرم صفحه مشخصات مقاله

صفحه مشخصات باید به هر دو زبان فارسی و انگلیسی حاوی عنوان کامل مقاله، نام و نام خانوادگی، مرتبه علمی و سمت نویسنده (گان)، نام گروه یا مؤسسه ای که نویسنده (گان) در آن شاغل هستند و محلی که تحقیق در آن انجام شده است، آدرس کامل نویسنده

(گان) شامل آدرس پستی، شماره تلفن، دورنگار و آدرس پست الکترونیکی باید در این صفحه قید شود. توجه شود که نام و محل خدمت نویسنده (گان) باید فقط در این صفحه نوشته شود و از تکرار آن در صفحات دیگر مقاله خودداری شود.

ب) فرم تعهد نامه

فرم تعهدنامه که در سایت بارگذاری شده است باید توسط نویسندگان تکمیل و پس از اینکه **به امضای تمام نویسندگان (گان) مقاله** رسید، اسکن شده و همراه فرم صفحه مشخصات نویسندگان به عنوان فایل مکمل در سایت بارگذاری گردد.

پ) دستورالعمل تهیه مقاله؛ روش تحریر

- ✓ کلیه قسمت‌های مقاله بایستی توسط Word 2007 و با فاصله خطوط ۱ و رعایت ۲/۵ سانتی متر حاشیه از هر طرف تهیه شده باشد.
- ✓ فونت B Mitra با اندازه فونت ۱۴ بکار رود.
- ✓ حداکثر تعداد صفحات مقاله ۱۵ صفحه باشد.
- ✓ از نشانه گذاری های متداول چون نقطه، ویرگول و ... به درستی استفاده شود.
- ✓ معادله‌ها در متن مقاله باید به ترتیب از ابتدا تا انتها شماره گذاری شوند.
- ✓ واحدهای مورد استفاده در متن مقاله باید بر اساس سیستم بین‌المللی متریک (SI) باشد.
- ✓ تعداد پاورقی ها به حداقل برسد و شماره پاورقی‌ها در هر صفحه از عدد یک آغاز شود.

ت) ترتیب بخش ها

بخشهای ضروری هر مقاله شامل: عنوان، چکیده فارسی، واژه های کلیدی، مقدمه، مواد و روش ها، نتایج و بحث، نتیجه گیری کلی، منابع، عنوان انگلیسی و چکیده مبسوط انگلیسی می باشند. بخشهای پیشنهادات و سپاسگزاری بصورت اختیاری و کاملاً خلاصه شده می توانند به متن مقاله پس از بخش نتیجه گیری کلی اضافه شوند.

۱- عنوان

عنوان مقاله در ابتدا و وسط صفحه اول و به صورت پررنگ نوشته شود. عنوان باید روان، بیانگر محتوای مقاله و مختصر (حداکثر حاوی ۱۵ کلمه) باشد. عنوان فارسی، چکیده فارسی و واژه‌های کلیدی (بدون ذکر نام نویسندگان) باید در صفحه نخست ذکر شوند.

۲- چکیده فارسی

چکیده فارسی باید حداکثر در ۲۵۰ کلمه تهیه شود. در این بخش مقاله اهداف عمده، مواد و روشها، نتایج و کاربردهای شاخص بصورت خلاصه و گویا ذکر شوند. از ذکر علائم آماری چون ($P < 0.05$) و منابع مورد استفاده در این قسمت مقاله خودداری شود.

۳- واژه های کلیدی

در انتهای متن چکیده فارسی حداکثر ۵ کلمه به عنوان واژه های کلیدی (به ترتیب حروف الفبا) نوشته شود.

۴- مقدمه

مقدمه باید به معرفی و توجیه موضوع و هدف مورد پژوهش بپردازد و در آن به تحقیقات انجام یافته در زمینه مورد نظر به طور مختصر و کافی اشاره شده باشد. مقدمه باید حداکثر در یک صفحه ارائه شده باشد.

۵- مواد و روش ها

شرح کامل مواد مورد استفاده و روش ها و طرح (طرحهای) آزمایشی بکار رفته در این بخش ذکر شوند. از بیان کامل روشهای اقتباس شده خودداری گردد و فقط به ارایه اصول و ذکر مأخذ اکتفا شود. مواد و روشهای ویژه، اصلاحی و ابداعات به نحوی که دیگران قادر به استفاده از آن در آزمایشهای خود باشند، می توانند به اختصار ذکر گردند. در صورت لزوم جهت معرفی تیمارها و یا روشهای خاص آزمایش می توان از جدول یا شکل استفاده کرد.

۶- نتایج و بحث

برای ارایه نتایج می توان از جدول، شکل، تصویر و منحنی استفاده کرد، اما باید از تکرار آنها به فرمتهای مختلف جدا خودداری شود. در هر قسمتی که نتایج ارائه می شوند باید مورد تجزیه و تحلیل هم قرار گیرند و با در نظر گرفتن هدف پژوهش، نتایج حاصله با نتایج پژوهشهای مشابه مقایسه و بحث شوند و نتیجه گیری از هر مبحث در انتهای آن ذکر گردد.

۶-۱- نحوه تهیه جدول ها و شکل ها

۶-۱-۱- جدول

- ✓ **الگوی جدول باید دقیقاً مشابه جدول نمونه ذیل باشد.**
- ✓ **عنوان و اطلاعات نوشتاری درون جدول به دو صورت فارسی و انگلیسی نوشته شوند، اما اعداد فقط به انگلیسی نوشته شوند.**
- ✓ **فونت عنوان و محتویات جدول برای فارسی B Mitra و برای انگلیسی Times New Roman با اندازه ۱۰ باشد.**
زیرنویس با اندازه فونت ۹ نوشته شود.
- ✓ **عنوان جدول در بالا و با فرمت وسط چین نوشته و گویای نتایج مندرج در آن باشد.** عنوان از شماره جدول با خط تیره جدا شود. در کل جدول **فقط عبارت جدول و شماره آن** پررنگ گردد و از ارائه پررنگ سایر قسمت‌های جدول خودداری شود.
(جدول ۱- تأثیر)
- ✓ **هر جدول با یک خط افقی از عنوان آن و سر جدول با یک خط افقی از متن جدول جدا و در زیر متن جدول نیز یک خط افقی کشیده شود.** در صورت لزوم می‌توان برای تقسیم سر جدول از خطوط افقی در داخل کادر سر جدول استفاده کرد.
- ✓ **تیمارها در ردیف اول، سر جدول و به صورت وسط چین، اما متغیرها در سمت چپ جدول و به صورت چپ چین ارائه گردد.**
- ✓ **از کشیدن هر گونه خط عمودی در جدول خودداری شود.**
- ✓ **توضیحات اضافی عنوان و متن جدول باید بصورت زیر نویس ارائه شوند و ارتباط آنها با جدول و عنوان با استفاده از علامت های عددی در بالا و سمت راست جمله ها، اعداد و غیره به صورت توان و اندازه کوچکتر مشخص شود.** برای نوشتن زیر نویس یک سطر به جدول اضافه و آن سطر را Merge کرده و زیر نویس ها را در آن بنویسید تا خطوط شروع جدول و زیر نویس همراستا باشند.
- ✓ **توضیحات زیرنویس در صورتی که به زبان فارسی است، راست چین و در صورتی که به زبان انگلیسی است، چپ چین باشند.**

✓ واحدهای مربوط به هر پارامتر جدول روبروی آن نوشته شود و اگر کل پارامترهای جدول یک واحد دارند در عنوان جدول نوشته شود. (مانند مثال زیر):

جدول ۱- تأثیر سطوح مختلف محصولات فرعی در جیره بر متابولیت‌های پلاسما (بر حسب میلی‌گرم بر دسی لیتر)

Table1- Effect of different levels of by-products in dietary on plasma metabolites (mg/dl)

Plasma metabolites	جیره های آزمایشی Experimental diets				P-value		
	Alfalfa	5% BP ¹	20% BP	SEM	treat	time	Treat × time
گلوکز Glucose (mg/dl)	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
نیترژن اوره ای خون BUN (%) ²	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
آسپاراتات آمینو ترانسفراز AST (U/L) ³	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
آلانین آمینو ترانسفراز ALT (U/L) ⁴	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
لیپوپروتئین با دانسیته پایین LDL (mol/L) ⁶	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002

میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<0.05).

Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

¹By-Products were used instead of alfalfa in 5 and 10 % based on dry matter intake.

²Blood urea nitrogen

³Aspartate Aminotransferase

⁴Alanine Aminotransferase

⁵Low density lipoprotein

۶-۱-۲- شکل

✓ **الگوی شکل باید دقیقاً مشابه با شکل های نمونه ذیل باشد.**

✓ **عنوان شکل، عنوان محورهای افقی و عمودی شکل به دو صورت فارسی و انگلیسی نوشته شوند. اما اعداد به انگلیسی باشند.**

✓ **هر محور افقی و عمودی باید حاوی توضیح کامل و واحد باشد. واحد پس از عنوان محور داخل پرانتز نوشته شود.**

✓ **عنوان شکل در پایین و با فرمت وسط چین نوشته و معرف محتوای آرایه شده در آن باشد.**

✓ **فونت عنوان و محتویات شکل برای فارسی B Mitra و برای انگلیسی Times New Roman با اندازه ۱۰ باشد. زیرنویس**

با اندازه فونت ۹ نوشته شود. در کل شکل فقط عبارت شکل و شماره آن پررنگ باشد و عنوان و توضیح شکل به صورت

پررنگ نباشد. (شکل ۱- تأثیر)

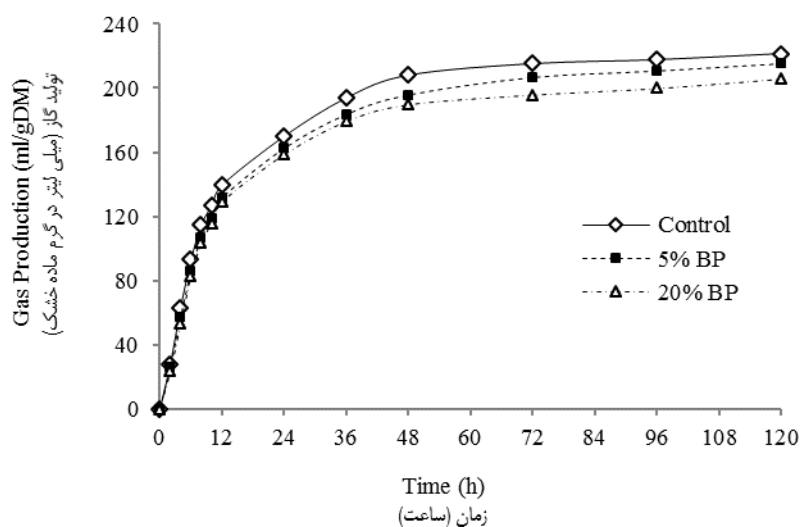
✓ **از اعداد انگلیسی در محورهای افقی و عمودی در شکل ها استفاده شود. توجه: در مورد شکل، از الگوهای سیاه و سفید استفاده**

شود و رنگ زمینه در کلیه شکلها بایستی سفید باشد.

✓ **در نمودارهای خطی می توان از علائمی نظیر (●, ○, ■, □, ◆, ◇, ▲, △, +) استفاده کرد.**

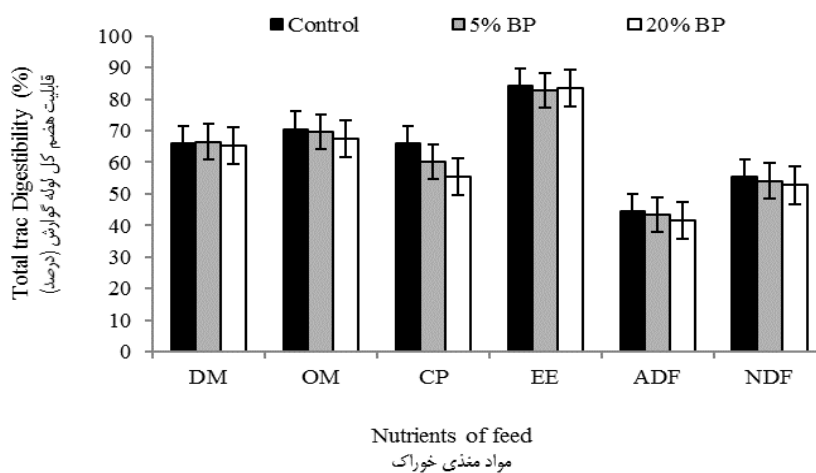
✓ **از آوردن کادر دور شکل و خطوط طولی در شکل خودداری شود.**

✓ **سعی شود با نرم افزار Excle روی شکلها به خوبی کار شود تا بالاترین کیفیت برای شکلها بدست آید.**



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف محصولات فرعی در جیره بر میزان تولید گاز در شرایط *in vitro*

Figure 1- Effects of different levels of by-products in dietary on extent of gas production *in vitro*



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف محصولات فرعی در جیره بر قابلیت هضم شکمبه ای مواد مغذی

Figure 1- Effects of different levels of by-products in dietary on rumen digestibility of nutrients

۷- نتیجه گیری کلی

استنتاج های کلی و شاخص حاصل از تحقیق باید در این بخش ذکر شوند. چنانچه نویسنده (گان) پیشنهاداتی بر آمده از تحقیق برای خوانندگان داشته باشند، می توانند در این قسمت ذکر نمایند.

۸- سپاسگزاری

بخشی اختیاری است و در ذیل آن نگارنده (گان) می توانند از تأمین کنندگان بودجه، امکانات و اشخاصی که در انجام تحقیق کمک کرده اند حداکثر در ۳ سطر پس از پذیرش در مرحله ویراستاری تشکر و قدردانی نمایند، بنابراین توصیه اکید می شود نویسنده (گان) در کلیه مراحل قبل از پذیرش نهایی از اضافه کردن این بخش به مقاله خودداری نمایند.

۹- منابع

الف- ارجاع به منابع

در متن مقاله ارجاع به منابع مقاله باید با استفاده از ذکر شماره هر منبع در آخر هر جمله یا پاراگراف صورت گیرد. در صورتی که یک جمله یا پاراگراف به چند منبع ارجاع می دهد، رعایت ترتیب اعداد از کوچک به بزرگ الزامی است.

همچنین مطالعات ژنتیکی محدودی روی ژنوم شتر در ایران صورت گرفته است (۲، ۴، ۱۸). خیبری و همکاران (۵)، توالی نوکلئوتیدی را در دو گونه شتر مورد بررسی قرار دادند.

ب- منابع مورد استفاده

منابع مورد استفاده باید شامل جدیدترین منابع در زمینه کار مورد نظر باشد. فهرست منابع به ترتیب حروف الفبای نام خانوادگی نویسنده(گان) مقاله مرتب و شماره گذاری شود. وقتی از چند اثر مختلف یک نویسنده استفاده می شود، ترتیب شماره گذاری این مقاله ها بر حسب سال انتشار آنها (از قدیم به جدید) انجام گیرد **(توجه شود که تمام منابع فارسی و انگلیسی مورد استفاده در قسمت منابع باید به انگلیسی نوشته شوند. سال های شمسی به میلادی تبدیل شوند. در برگردان اسامی افراد اطمینان حاصل شود که املاء آن ها و سال انتشار درست باشد. ضروری است در انتهای منابع فارسی که به انگلیسی برگردان شده است عبارت In Persian داخل پرانتز ذکر شود).**

۹-۱- نکات مهم در مورد نوشتن منابع

- ✓ منابع بایستی بر اساس روش مورد استفاده **Journal of Dairy Science** تنظیم شود. اما توجه شود که **نام نشریه** و یا **همایش علمی** باید به صورت **کامل** نوشته شود و از نوشتن مخفف آنها جداً خودداری شود.
- ✓ نحوه نگارش منابع اتخاذ شده از نشریه های علمی، کتاب، همایش ها و یا درگاه الکترونیکی بایستی به صورت ذیل باشد.
- ✓ نام خانوادگی نویسنده اول، حرف اول اسم (اسامی) کوچک نویسنده اول، از نویسنده دوم به بعد حرف اول اسم (اسامی) کوچک و بعد نام خانوادگی. سال انتشار. عنوان. مشخصات ناشر. صفحه.
- ✓ به نقطه و ویرگولها در نوشتن منابع بسیار توجه شود.

به مثالها توجه نمایید:

۹-۱-۱- نشریه های علمی

1. Lane, M. A., R. L. Baldwin, and W. Jesse. 2011. Sheep rumen metabolic development in response to different dietary treatment. **Journal of Dairy Science**, 78(Supp1.1):310(Abstr).
2. Tyrrell, H. F., and P. W. Moe. 2008. Effect of intake on digestive efficiency. **Journal of Dairy Science**. 58:1151-1163.
3. Ansari-Renani, H., M. Salehi., Z. Ebadi, and S. Moradi. 2010. Identification of hair follicle characteristics and activity of one and two humped camels. **Small Ruminant Research**, 90(1):64-70.

4. Akbari, M, and H. R. Afshari. 2014. Mapping of transcription factor binding Region of kappa casein (CSN3) gene in Iranian Bacterianus and Dromedaries camels. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 6(4):57-65. (In Persian).
5. Karimi, M. A., M. C. Esfahan., G. Hisseini, and M. Rezaei. 2012. Effect of glutamic acid on broiler given sub marginal crude protein with adequate essential amino acids using feeds high and low in potassium. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 5(2):17-25. (In Persian).

۹-۱-۲- کتاب ها

6. AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
7. Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications). Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, DC.
8. Lengemann, F. W., R. A. Wentworth, and C. L. Comar. 1974. Physiological and biochemical aspects of the accumulation of contaminant radionuclides in milk. Pages 159–170 in Lactation: A Comprehensive Treatise. Nutrition and Biochemistry of Milk/Maintenance. Vol. 3. B. L. Larson and V. R. Smith, ed. Academic Press, London, UK.
9. National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

۹-۱-۳- همایش ها

10. Barbano, D. M. 1996. Mozzarella cheese yield: Factors to consider. Page 29 in Proc. Wisconsin Cheese Markers *Meeting Center of Dairy Research*, University of Wisconsin, Madison.
11. National Mastitis council. 1995. Summary of peer-reviewed publications on efficacy of premilking and postmilking teat disinfections published since 1980. Pages 82-92 in Natl. *Mastitis Council Regional Meeting proceeding*, Harrisburg, PA. Natl. Mastitis council, Inc., Madison. WI.

۹-۱-۴- درگاه الکترونیکی (Web Site)

12. Buch, L. H., A. C. Sorensen, J. Lassen, P. Berg, J. A. Eriksson, J. H. Jakobsen, and M. K. Sorensen. 2011. Hygiene-related and feed-related hoof diseases show different patterns of genetic correlations to clinical mastitis and female fertility. *Journal of Dairy Science*, 94:1540–1551. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2010-3137>.
13. Mathieu R., H. M. Richards, S. J. Brooks, W. Stewart, and M. Sbins. 2004. Relationships between Milk production and heritability in Holstein dairy cattle. *International Journal of Animal Science*, 24(2):65–81. Available at <http://www.informaworld.com/contentUa/V.24-2>.

۱۰- چکیده انگلیسی

بر اساس رویکرد دانشگاه فردوسی مشهد مبنی بر لزوم توجه به نظام‌های رتبه‌بندی و علم سنجی رسمی، از ارایه‌دهندگان مقاله‌ها درخواست می‌گردد که چکیده انگلیسی مقاله را به صورت چکیده مبسوط (Extended Abstract) با فرمت زیر تهیه و در انتهای مقاله حداکثر در یک صفحه بعد از منابع نوشته و سپس مقاله را در سایت بارگذاری نمایند. چکیده مبسوط باید دارای **حداقل ۷۰۰ و حداکثر ۱۰۰۰ کلمه** باشد. بخشهای تشکیل دهنده چکیده مبسوط و مشخصات آنها باید به شرح ذیل باشد.

✓ ابتدای واژه‌های اصلی عنوان انگلیسی مقاله و کلمات کلیدی با حروف بزرگ نوشته شود.

✓ از ذکر اسامی و آدرس نویسندگان به انگلیسی در بخش چکیده مبسوط خودداری گردد.

The Title Should Be Times New Roman, Font Size 12, Bold and Center. The Scientific Name in Title and in Text Should Be *Italic*.

[illegible][illegible][illegible][illegible]

Keywords: Aaaa, Bbbb, Cccc, Dddd, Eeee, Ffff.

*** نویسندگان محترم توجه نمایند که آخرین اصلاحات راهنمای نگارش مقاله در سایت نشریه قابل دسترس است.



عملکرد و پاسخ به تنش انتقال بره‌های ماده بلوچی تغذیه شده با سطوح مازاد بر نیاز مکمل‌های آلی کروم و سلنیوم

امیر موسائی^{۱*} - رضا ولی زاده^۲ - عباسعلی ناصریان^۲ - محمد حیدرپور^۳ - حسین کاظمی مهرجردی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۴/۰۴

چکیده

به منظور بررسی اثرات تغذیه مکمل‌های آلی سلنیوم و کروم بر عملکرد و پاسخ بره به شرایط تنش انتقال، تعداد ۲۴ راس بره ماده بلوچی در سن چهار ماهگی با میانگین وزن اولیه 24.2 ± 0.4 کیلوگرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به ۴ تیمار با ۶ تکرار اختصاص داده شدند. تیمارها شامل جیره پایه فاقد مکمل آلی سلنیوم و کروم (کنترل)، جیره پایه + ۱/۵ میلی گرم در کیلوگرم مکمل آلی سلنومیتونین (گروه سلنیوم)، جیره پایه + ۰/۸ میلی گرم در کیلوگرم مکمل آلی کرومیتونین (گروه کروم) و جیره پایه حاوی ۱/۵ میلی گرم سلنومیتونین + ۰/۸ میلی گرم کرومیتونین (گروه سلنیوم-کروم) بود. طول دوره پژوهش شامل ۲ هفته سازگاری و ۹ هفته آزمایش بود. در ابتدای هفته ۸، آزمایش تنش انتقال به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد و خونگیری قبل و بعد از تنش انجام شد. نتایج آزمایش نشان داد که تغذیه بره‌های ماده با مکمل‌های آلی سلنیوم و کروم سبب افزایش وزن زنده و بهبود ضریب تبدیل غذایی شد (ضریب تبدیل برای گروه‌های کنترل، سلنیوم، کروم و سلنیوم-کروم به ترتیب ۵/۹۹، ۵/۴۱، ۵/۲۲ و ۵/۴۵ بود). در بین تیمارها، بره‌های تغذیه شده با مکمل کروم-متیونین بیشترین مصرف خوراک روزانه و افزایش وزن زنده را نشان دادند. گروه تغذیه شده با مکمل کروم غلظت گلوکز کمتری نسبت به گروه کنترل داشت. پاسخ فیزیولوژیک بره‌ها در شرایط تنش انتقال حاکی از اثرات کاهش‌دهندگی غلظت کورتیزول و گلوکز مکمل‌های آلی سلنیوم و کروم بود. گروه تغذیه شده با مکمل کروم-متیونین غلظت گلوکز خون را بطور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش داد. بر اساس نتایج بدست آمده، استفاده از مکمل آلی کروم-متیونین و سلنیوم-متیونین می‌تواند سبب بهبود عملکرد و کاهش اثرات نامطلوب تنش بر فراسنجه‌های خونی و عملکرد بره‌های ماده شود.

واژه‌های کلیدی: بره ماده بلوچی، تنش انتقال، سلنیوم-متیونین، ضریب تبدیل غذایی، کروم-متیونین.

مقدمه

قرار گرفتن بیشتر مناطق ایران در ناحیه خشک و نیمه خشک و کمبود مواد خوراکی در تغذیه دام و طیور، توجه ویژه به استفاده از بهبود دهنده‌های متابولیکی^۴ را ایجاب می‌کند. بهبود دهنده‌های متابولیکی مانند استروئیدهای آنابولیک^۵، سوماتوتروپین^۶، بتا‌آگونیست‌ها^۷، ویتامین‌ها و مواد معدنی که در سطوح فرا تغذیه‌ای

(به صورت افزودنی) به دام خوراند می‌شوند سبب افزایش نرخ رشد، بهبود بازده خوراک، افزایش تولید گوشت، کاهش چربی لاشه، و بهبود عملکرد تولید مثل می‌شوند (۶). از سوی دیگر شرایط نامساعد آب و هوایی و تنش گرمایی منجر به کاهش وزن بدن، افزایش وزن روزانه، نرخ رشد و اختلال عملکرد تولیدمثلی می‌شود (۱۸ و ۱۹). سلنیوم و کروم دو ریزمغذی مفید برای نشخوارکنندگان می‌باشند و می‌توانند به عنوان بهبود دهنده متابولیکی مورد استفاده قرار گیرند. سلنیوم بواسطه نقش آنتی اکسیدانی و ورود به ترکیبات مهمی چون سلنوپروتئین‌های مختلف، یکی از عناصر با طیف وسیع عملکردی در بدن است. فرم‌های آلی سلنیوم مانند مخمر-سلنیوم، سلنومیتونین و سلنوسیتستین در مقایسه با فرم‌های معدنی چون سدیم سلنیت و سدیم سلنات، زیست‌فراهمی بالاتری در دستگاه گوارش دارند (۹). عنصر کروم با شرکت در ساختار فاکتور تحمل گلوکز^۸ (GTF) سبب بهبود عملکرد انسولین و پس از آن بهبود متابولیسم

۱- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت،

۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد،

۳- دانشیار گروه کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد.

(*)- نویسنده مسئول: Email: moosaee.amir@gmail.com

DOI: 10.22067/ijasr.v1i1.33251

4- Metabolic modifiers

5- Anabolic steroids

6- Somatotropin

7- Beta-agonists

8- Glucose tolerance factor

پارس) با غلظت ۱ گرم در کیلوگرم مکمل استفاده شد. اندازه‌گیری مصرف خوراک بصورت روزانه و با کسر باقیمانده خوراک از مقدار خوراک داده شده انجام شد. اندازه‌گیری وزن بدن، پس از گرسنگی شبانه و بصورت SBW^۲ انجام شد.

خون‌گیری در ابتدا و انتهای آزمایش و پس از گرسنگی شبانه (۶) بعمل آمد و نمونه‌های خون جهت جمع‌آوری سرم در دور rpm ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در آغاز هفته هشتم، قبل از وعده خوراک روزانه، از بره‌ها خون‌گیری بعمل آمد و پس از آن آزمایش تنش انتقال با استفاده از حمل بره‌ها توسط تراکتور در جاده خاکی و به مدت ۳۰ دقیقه جهت آزمون پاسخ دام‌ها به تنش انجام شد. نمونه‌های سرم خون قبل از تنش و پس از آن جهت آنالیز هورمون و فراسنجه‌های سرمی جمع‌آوری گردید. آنالیز مواد مغذی جیره بر اساس روش‌های تجزیه تقریبی (۱) انجام شد. مقدار پروتئین خام نمونه از روش کلدال با دستگاه تقطیر و تیترا کلدال (S5, Behr Germany) چربی با استفاده از دستگاه سوکسله (Behr EF, Germany) و الیاف محلول در شوینده خنثی (NDF) با دستگاه آنالیز الیاف (WELP Scientifica, Italy) انجام شد. فراسنجه‌های خونی گلوکز، اوره، کراتینین، کلسترول، پروتئین تام و آلبومین با کیت‌های اختصاصی (پارس آزمون) با دستگاه اتوآنالایزر (BT3500 اسپانیا) انجام شد. هورمون کورتیزول (کیت کورتیزول مونوبایند، آمریکا) با دستگاه الایزا ریدر اندازه‌گیری شد. آنالیز آماری نتایج با رویه Mixed نرم افزار آماری SAS(9.2) و با در نظر گرفتن اثر دام به عنوان اثر تصادفی^۳، تیمار به عنوان اثر ثابت و وزن اولیه و سطوح فراسنجه‌های فراسنجه‌های خونی در شروع آزمایش به عنوان متغیر کمکی^۴ انجام شد. در صورت معنی‌دار نشدن اثر متغیر کمکی، این اثر از مدل آنالیز آماری حذف گردید. مقایسه غلظت فراسنجه‌های خونی در پیش از تنش با پس از آن با رویه T-test نرم افزار SAS انجام شد. آنالیز مشاهدات مربوط به مصرف خوراک روزانه و افزایش وزن زنده بصورت اندازه‌گیری‌های تکرار شده^۵ در زمان (با اثرات ثابت تیمار، زمان (روز یا هفته) تیمار × زمان و اثر تصادفی بره داخل هر ترکیب تیمار × زمان) صورت گرفت. سطح معنی‌داری نتایج به لحاظ آماری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. مدل آماری طرح پایه بصورت ذیل بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad (1)$$

کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها می‌شود. نتایج پژوهش‌های انجام شده در گاوهای گوشتی نشان داد که استفاده از مکمل کروم در جیره سبب افزایش ۰ تا ۳۰ درصدی در افزایش وزن روزانه شد (۴ و ۸). با این وجود تحقیقات اندکی در رابطه با اثرات تغذیه کروم در گوسفند انجام شده است. دومینگوئزوارا (۶) نشان داد که استفاده از کروم بصورت مکمل مخمر-کروم سبب کاهش چربی و افزایش گوشت لاشه در بره‌های رامبویه شد.

آسایش دام در طول مدت حمل و نقل یکی از عوامل موثر بر عملکرد دام‌ها می‌باشد. تنش انتقال^۱ می‌تواند سبب آسیب جسمی به دام، کاهش عملکرد، افزایش بیماری‌ها و مرگ و میر و در نهایت افزایش زیان اقتصادی شود. شرایط نامناسب حمل و نقل مانند محرومیت دام از آب و غذا، وسیله حمل و نقل نامناسب، انباشتگی دام‌ها بر روی هم، دما و رطوبت بالا، صدا و لرزش و مدت زمان انتقال از عوامل تنش‌زا در حمل دام‌ها است (۱۴). استفاده از راهکارهای تغذیه‌ای به جای کاربرد آنتی‌بیوتیک‌ها و سایر داروها جهت کاهش اثرات زیانبار تنش در دام‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است.

با توجه به اهمیت رشد سریع و رسیدن به وزن مناسب جهت آبستن شدن و تاثیر وزن و سلامت مادر در طول دوره آبستنی بر سلامت و صفات اقتصادی در بره‌های ماده داشتنی نسل بعد، استفاده از راهکارهای تغذیه‌ای جهت حفظ سلامت دام، افزایش نرخ رشد و دستیابی به آبستنی زودرس و بهبود عملکرد تولیدمثل در بره‌های ماده از اهمیت بالایی برخوردار است. از این‌رو هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات تغذیه مکمل‌های آلی سلنومیتوین و کروم-متیونین بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و پاسخ فیزیولوژیک به تنش انتقال در بره‌های ماده بلوچی بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۴ رأس بره ماده بلوچی در سن چهار ماهگی با میانگین وزن اولیه $24/2 \pm 0/4$ کیلوگرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۶ تکرار به مدت ۱۱ هفته (۲ هفته عادت‌پذیری و ۹ هفته آزمایش) استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد (فاقد مکمل آلی سلنیوم و کروم)، گروه تغذیه شده با مکمل سلنومیتوین (۱/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک)، گروه کروم-متیونین (۰/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک) و گروه تغذیه شده با مخلوط مکمل‌های سلنومیتوین و کروم-متیونین (به ترتیب ۱/۵ و ۰/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک) بود (جدول ۱).

مکمل‌های آلی سلنیوم و کروم (زینپرو آمریکا، شرکت سنا دام

2- Shrink body weight

3- Random effect

4- Co-variate

5- Repeated measures

1- Transportation stress

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب جیره‌های آزمایشی بره‌های ماده بلوچی

Table 1- Ingredients and chemical composition of experimental diets for Baluchi ewe lambs

ترکیب جیره Diet composition	گروه آزمایشی Experimental group			
	کنترل Control	سلنیوم Se	کروم Cr	سلنیوم-کروم Se-Cr
کاه گندم Wheat straw	5	5	5	5
علوفه یونجه Alfalfa hay	10	10	10	10
سیلاژ ذرت Corn silage	10	10	10	10
دانه جو Barley grain	30	30	30	30
کنجاله سویا Soybean meal	9	9	9	9
تفاله چغندر قند Beet pulp	11.5	11.5	11.5	11.5
سبوس گندم Wheat bran	15	15	15	15
دانه کتان اکستروود شده Extruded linseed	8	8	8	8
نمک Salt	0.3	0.3	0.3	0.3
کربنات کلسیم Calcium carbonate	0.7	0.7	0.7	0.7
مکمل ویتامینی-معدنی ^۱ Mineral-vitamin supplement	0.5	0.5	0.5	0.5
سلنیوم-متیونین (میلی گرم در کیلوگرم) Selenium-methionine (mg kg ⁻¹)	-	1.5	-	1.5
کروم-متیونین (میلی گرم در کیلوگرم) Chromium-methionine (mg kg ⁻¹)	-	-	0.8	0.8
ترکیب شیمیایی Chemical composition				
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	15.7	16	15.7	15.9
انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم) ^۲ ME (Mcal kg ⁻¹)	2.57	2.57	2.57	2.57
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) NDF (%)	36	36	36	36
خاکستر خام (درصد) ^۳ Crude ash (%)	7	7	7	7

^۱ در مکمل مینرالی-ویتامینی استفاده شده، در هر کیلوگرم مکمل، کلسیم ۱۹۵، فسفر ۹۰، منیزیم ۲۰، روی ۳، آهن ۳ و منگنز ۲ گرم بود. غلظت مس ۲۸۰، کبالت ۱۰۰، ید ۱۰۰، سلنیوم ۱۰ و آنتی اکسیدان ۴۰۰ میلی گرم بود.

^۲ انرژی متابولیسمی (مگا کالری در کیلوگرم جیره) توسط نرم افزار جیره نویسی نشخوار کنندگان کوچک (SRNS) محاسبه شده است.

^۳ غلظت کلسیم و فسفر جیره به ترتیب ۸/۵ و ۵/۹ گرم در کیلوگرم و غلظت سلنیوم جیره ۰/۲۷ میلی گرم در کیلوگرم جیره بود (محاسبه با (NRC, 2001).

^۱The mineral-vitamin mixture contained (per kg supplement): Ca 195 g, P 90 g, Mg 20 g, Zn 3g, Fe 3 g, Mn 2 g, Cu 280 mg, Co 100 mg, I 100 mg, Se 10 mg and antioxidant 400 mg.

^۲Metabolizable energy (Mcal kg⁻¹) was calculated by small ruminant nutrition system software (SRNS).

^۳Calcium and phosphorous concentrations were 8.5 and 5.9 g/kg respectively, and selenium was 0.27 mg kg⁻¹ of diet (calculated by NRC, 2001).

Y_{ij} = متغیر وابسته (هر مشاهده)؛ μ = میانگین کل مشاهدات؛
 T_i = اثر ثابت تیمار؛ e_{ij} = خطای آزمایش

نتایج و بحث

نتایج این آزمایش نشان داد که بره‌های تغذیه شده با مکمل‌های آلی سلنومیتوین و کروم-متیوین و مخلوط این دو مکمل، میانگین وزن بالاتری در مقایسه با گروه کنترل داشتند (جدول ۲). در بین گروه‌های تغذیه شده با مکمل، گروه کروم-متیوین بالاترین میانگین وزن بدن را به خود اختصاص داد ($P < 0.05$). میانگین افزایش وزن روزانه بره‌های تغذیه شده با مکمل کروم-متیوین در مقایسه با سه گروه دیگر بالاتر بود ($P < 0.05$). تغییرات وزن هفتگی (شکل ۱) نشان داد که گروه کروم متیوین بالاترین وزن زنده را داشت. اگرچه مصرف خوراک روزانه در گروه تغذیه شده با کروم بالاتر از سایر گروه‌ها بود، اما ضریب تبدیل پایین‌تر بره‌های تغذیه شده با این مکمل بیانگر نقش موثر مکمل آلی کروم در بهبود بازده غذایی است. از سوی دیگر دو گروه تغذیه شده با مکمل سلنومیتوین و ترکیب سلنومیتوین با کروم-متیوین نیز در مقایسه با گروه کنترل، ضریب تبدیل غذایی پایین‌تری داشتند ($P < 0.05$). با در نظر گرفتن اینکه ضریب تبدیل غذایی مهمترین متغیر جهت تعیین نرخ رشد و بازده مصرف مواد مغذی است و با توجه به نقش مصرف خوراک و افزایش وزن در این متغیر، نتایج حاصل به روشنی به اثرات بهبود عملکرد رشد بره‌های ماده بلوچی در نتیجه‌ی تغذیه با مکمل‌های آلی کروم و سلنیوم اشاره می‌کند. پژوهش‌های انجام شده توسط مونسی شیگر (۱۵) و قربانی (۷) بر روی گوساله‌ها حاکی از اثرات مفید کروم بر بهبود عملکرد رشد از طریق افزایش توده ماهیچه‌ای بود. کروم با تقویت اثر انسولین و بهبود اتصال انسولین به گیرنده‌های سلولی آن، سبب تقویت پیام‌رسانی سلولی می‌شود. افزایش عملکرد انسولین سبب افزایش سنتز پروتئین، بازده انتقال اسیدهای آمینه، کاهش تجزیه پروتئین و افزایش بهره‌وری از چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها می‌شود (۵). انرژی آزادشده از این فرآیندها می‌تواند مسئول اثرات مفید کروم و سلنیوم بر رشد و افزایش وزن بره‌ها باشد.

مطالعات دیگر نشان داده‌اند که سلنیوم نیز سبب بهبود رشد و افزایش وزن دام‌ها می‌شود. نیکلسن (۱۷) و کومار (۱۱) نشان دادند که استفاده از مکمل سلنیوم سبب افزایش وزن گوساله‌ها و بره‌های نر پرواری شد. کومار ثابت کرد که مکمل آلی سلنیوم در مقایسه با مکمل معدنی آن در بره‌های پرواری افزایش وزن بالاتری ایجاد کرد. اثرات مفید سلنیوم بر عملکرد، به نقش سلنیوم در سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن با شرکت در ساختار آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو و تاثیر بر متابولیسم کربوهیدرات‌ها

و پروتئین‌ها از طریق تحریک فعالیت آنزیم دایدیناز^۱ و افزایش سنتز هورمون T3 است.

غلظت گلوکز خون در هر سه گروه تغذیه شده با مکمل پایین‌تر از گروه کنترل بود (جدول ۳) و دام‌های تغذیه شده با مخلوط مکمل‌های آلی سلنومیتوین و کروم-متیوین پایین‌ترین غلظت گلوکز خون را داشتند ($P < 0.05$).

نتایج این آزمایش نشان داد که بین تیمارها تفاوتی در غلظت اوره سرم خون وجود نداشت (جدول ۳). این یافته‌ها با نتایج کیچلانگ (۱۰) و بانتینگ (۳) موافق بود. کیچلانگ نشان داد که گوساله‌هایی که ۰/۲۵ میلی گرم در کیلوگرم کروم مصرف کردند، غلظت انسولین خون بالاتر و گلوکز پایین‌تری داشتند درحالی‌که غلظت اوره، کراتینین، آلومین و پروتئین تام تحت تاثیر قرار نگرفت.

لوسبا (۱۳) در گاوهای پرواری و دومینگوتز وارا (۶) در بره‌ها نشان دادند که تغذیه همزمان مکمل‌های کروم و سلنیوم سبب بهبود عملکرد رشد و صفات لاشه می‌شوند. به نظر می‌رسد که سلنیوم با اثر بر کورتیزول از طریق تاثیر بر توازن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی-رادیکال آزاد عمل می‌کند در حالی که کروم بطور غیرمستقیم بر متابولیسم گلوکز اثر می‌گذارد (۶).

مونسی شیگر (۱۵) نشان داد که با افزایش سطح کروم جیره به ۱ میلی گرم در کیلوگرم، غلظت کورتیزول در گوساله‌ها در روز ۲۸ پس از انتقال بطور معنی‌داری کاهش یافت. در پژوهش حاضر غلظت هورمون کورتیزول سرم خون پس از تنش افزایش یافت (جدول ۴). اگرچه غلظت کورتیزول پس از تنش افزایش یافت اما بین غلظت کورتیزول پیش از تنش با پس از آن در هر تیمار تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ وجود نداشت (جدول ۴). با این وجود، در گروه کنترل، تفاوت مقدار کورتیزول قبل از تنش با بعد از آن نزدیک به معنی‌داری بود ($P = 0.088$) به طوری که پس از اعمال تنش انتقال، غلظت کورتیزول در گروه کنترل بالاتر از سایرین بود.

میانگین مصرف خوراک بره‌ها در هفته‌ی پس از تنش (هفته ۸) در مقایسه با هفته قبل از آن (هفته ۷) کاهش یافت اما این کاهش مصرف خوراک تنها در گروه کنترل معنی‌دار بود (مقایسه میانگین مصرف خوراک هفته ۸ با هفته ۷ در گروه کنترل ۸۲۹ در برابر ۱۰۰۲ گرم). غلظت گلوکز سرم خون پس از تنش در مقایسه با پیش از آن افزایش یافت (جدول ۴) که به تفکیک تیمارها (جدول ۴)، تنها در گروه کنترل، غلظت گلوکز پس از اعمال تنش به طور معنی‌داری در مقایسه با پیش از آن افزایش یافت ($P = 0.0362$). استفاده از وسیله نامناسب جهت حمل و نقل یکی از عوامل اصلی ایجاد تنش در انتقال دام‌ها است، غلظت گلوکز خون یکی از شاخص‌های تعیین وضعیت

تنش در دام است. پس از ایجاد تنش غلظت گلوکز خون افزایش می‌یابد (۲ و ۱۲).

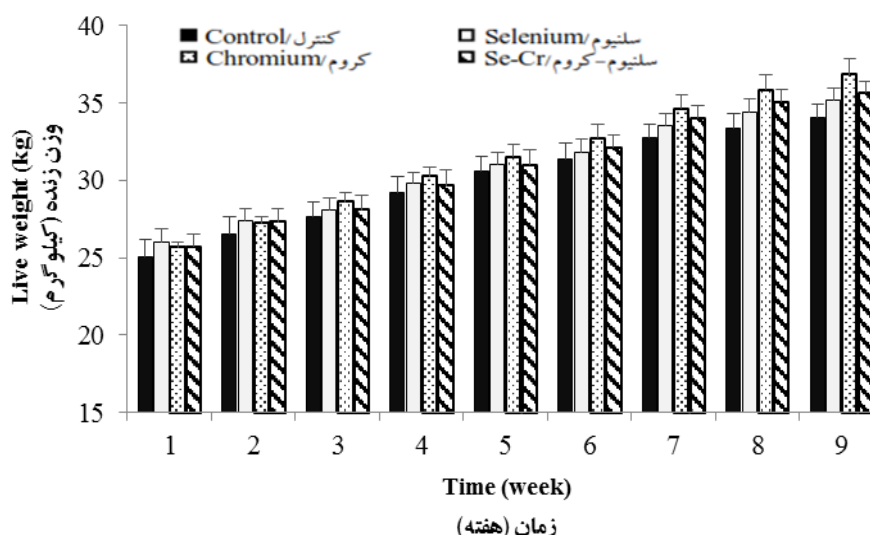
جدول ۲- تاثیر مکمل‌های آلی سلیوم و کروم بر فراسنجه‌های عملکردی بره‌های ماده بلوچی

Table 2- Effect of organic selenium and chromium supplements on performance of Baluchi ewe lambs

فراسنجه Parameter	گروه آزمایشی Experimental group				خطای استاندارد میانگین SEM
	کنترل Control	سلیوم Se	کروم Cr	سلیوم-کروم Se-Cr	
وزن اولیه (کیلوگرم) Initial body weight (kg)	24.45	24.72	23.98	24.20	0.3898
میانگین وزن بدن (کیلوگرم) Average body weight (kg)	30.05 ^c	30.80 ^b	31.50 ^a	30.97 ^b	0.1692
افزایش وزن روزانه (گرم) Daily weight gain (g)	158.26 ^b	175.75 ^{ab}	201.62 ^a	185.05 ^{ab}	6.1143
مصرف خوراک روزانه (گرم) Daily feed intake (g)	944.68 ^c	942.11 ^c	1059.53 ^a	1014.34 ^b	4.9997
ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio	5.96 ^a	5.36 ^b	5.25 ^b	5.48 ^b	0.1767

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

Means with different letters in a row differ ($P < 0.05$).



شکل ۱- تغییرات وزن زنده بره‌های ماده بلوچی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی (در هفته ۶، ۷، ۸ و ۹ اختلاف تیمار کروم با کنترل و سلیوم معنی‌دار بود ($P < 0.05$). گروه سلیوم-کروم نیز در هفته‌های ۷، ۸ و ۹ تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل و سلیوم داشت ($P < 0.05$)).

Figure 1- Live weight changes of Baluchi ewe lambs in response to experimental treatments (At weeks 6, 7, 8 and 9, Cr vs. control and Se ($P < 0.05$); at weeks 7, 8 and 9, Se-Cr vs. Control and Se, ($P < 0.05$)).

کورتیزول است (۱۹). همانطور که نتایج این آزمایش نشان داد غلظت گلوکز و کورتیزول پس از تنش در بره‌ها افزایش یافت. یافته‌های آزمایشی نشان داد که بیشترین تحریک رهاسازی کورتیزول بواسطه انتقال گوسفندان از پن‌های انفرادی به درون وسیله حمل و نقل است که با شروع حرکت و تکان خوردن وسیله نقلیه، غلظت کورتیزول افزایشی ۳۵۰ درصدی نسبت به مقدار اولیه داشته است (۱۴).

تنش انتقال به علت شکسته شدن گلیکوژن کبد و یا بواسطه‌ی تخلیه ذخایر گلیکوژن ماهیچه‌های اسکلتی، سبب افزایش غلظت گلوکز خون می‌شود (۲). افزایش گلوکز خون بیشتر بعلا گلیکوژنولیز مرتبط با افزایش کاتکولامینها^۱ و گلوکوکورتیکوئیدها به ویژه

1- Catecholamine

جدول ۳- اثر مکمل‌های آلی سلیوم و کروم بر میزان فراسنجه‌های سرم خون بره‌های ماده بلوچی

Table 3- Effect of organic selenium and chromium supplements on serum parameters of Baluchi ewe lambs

فراسنجه Parameter	گروه آزمایشی Experimental group				خطای استاندارد میانگین SEM
	کنترل Control	سلیوم Se	کروم Cr	سلیوم-کروم Se-Cr	
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر) Glucose (mg dl ⁻¹)	68.10 ^a	58.26 ^b	56.12 ^b	55.57 ^b	1.7395
اوره (میلی گرم در دسی لیتر) Urea (mg dl ⁻¹)	49.79	59.87	53.58	56.77	3.4857
کراتینین (میلی گرم در دسی لیتر) Creatinine (mg dl ⁻¹)	0.90	0.97	0.98	0.93	0.0472
کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر) Cholesterol (mg dl ⁻¹)	63.0	58.33	59.20	60.0	3.6925
پروتئین تام (گرم در دسی لیتر) Total protein (g dl ⁻¹)	7.90	7.88	8.03	8.03	0.2833
آلبومین (گرم در دسی لیتر) Albumin (g dl ⁻¹)	3.88	3.88	3.81	3.86	0.0887

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

Means with different letters in a row differ ($P < 0.05$).

جدول ۴- اثر مکمل‌های آلی سلیوم و کروم بر غلظت کورتیزول و گلوکز سرم خون بره‌ها در شرایط تنش انتقال

Table 4- Effect of organic selenium and chromium supplements on serum cortisol and glucose concentrations of lambs under transportation stress condition

فراسنجه Parameter	گروه آزمایشی Experimental group				خطای استاندارد میانگین SEM
	کنترل Control	سلیوم Se	کروم Cr	سلیوم-کروم Se-Cr	
کورتیزول (میکروگرم در دسی لیتر) Cortisol (μg dl ⁻¹)					
پیش از تنش Pre-stress	3.29 ^{ab}	3.35 ^a	3.67 ^a	2.40 ^b	0.4506
پس از تنش Post-stress	6.80	4.30	5.42	5.20	1.1825
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر) Glucose (mg dl ⁻¹)					
پیش از تنش Pre-stress	75.74 ^a	70.75 ^{ab}	60.75 ^b	70.0 ^{ab}	4.1019
پس از تنش Post-stress	127.75 ^a	101.0 ^{ab}	72.0 ^b	106.66 ^{ab}	17.7443

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

در گروه کنترل غلظت گلوکز پس از تنش نسبت به قبل از تنش بطور معنی‌داری افزایش یافت ($P = 0.0362$).

Means with different letters in a row differ ($P < 0.05$).

In control group, glucose concentration significantly increased post-stress vs. pre-stress ($P = 0.0362$).

(۲۱) وجود یک الیگوپپتید اتصال کروم بنام کرومودولین^۱ را به اثبات رساند. طبق پژوهش وینسنت (۲۰)، افزایش غلظت گلوکز منجر به آزادسازی سریع انسولین می‌شود. انسولین به زیرواحد آلفا پروتئین

طبق نتایج حاصل از این پژوهش، مکمل کروم-متیونین هم در شرایط معمولی و هم در تنش انتقال مانع از افزایش غلظت گلوکز خون شد (جدول ۴). پژوهش انجام شده بر روی کروم توسط وادا

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد که افزودن مکمل‌های آلی سلیوم و کروم سبب بهبود افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی در بره‌های ماده بلوچی می‌شود. همچنین تغذیه بره‌های ماده تحت تنش انتقال با کروم-متیونین با اثر بر ترشح کورتیزول و جلوگیری از افزایش غلظت آن، می‌تواند بر اثرات زیانبار تنش بر عملکرد دام تأثیر بگذارد.

سپاسگزاری

نویسندگان از مسئولین محترم دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد و همچنین از شرکت سنا دام پارس به خاطر حمایت از این پژوهش کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تراغشایی گیرنده انسولین متصل و سبب تغییر شکل این پروتئین می‌شود. این تغییرات سبب فسفوریلاسیون خود به خودی ریشه‌های تایروزین بخش داخلی زیرواحد بتای گیرنده انسولین شده و گیرنده را به کیناز فعال تبدیل می‌کند. کروم‌دولین به فرم آپو (آپوکروم‌دولین) در سیتوزول و هسته سلول‌های حساس به انسولین ذخیره می‌شود. افزایش در غلظت انسولین پلاسما منجر به انتقال کروم از خون به سلول‌های وابسته به انسولین می‌شود (۱۶). کروم‌دولین با تغییر شکل بصورت هولوکروم‌دیوم^۱ (کروم‌دولین حاوی ۴ ملکول Cr^{3+})، به گیرنده‌های تحریک‌شده توسط انسولین متصل شده و به حفظ ساختار این گیرنده‌ها کمک می‌کند و سبب بهبود انتقال پیام و عملکرد آنابولیک انسولین و در نتیجه تأثیر بر متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها می‌شود.

منابع

- 1- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1997. Official methods of analysis. 16th ed. AOAC International, Arlington, VA.
- 2- Averos, A., S. Martin, M. Riu, J. Serratos and L.F. Gosálvez. 2008. Stress response of extensively reared young bulls being transported to growing-finishing farm under Spanish summer commercial conditions. *Life Science*, 119: 174-182.
- 3- Bunting, L.D., J.M. Fernandez, D.L. Thompson and L.L. Southern. 1994. Influence of chromium picolinate on glucose usage and metabolic criteria in growing Holstein calves. *Journal of Animal Science*, 72:1591-1597.
- 4- Chang, X. and D. N. Mowat. 1992. Supplemental chromium for stressed and growing feeder calves. *Journal of Animal Science*, 70: 559-565.
- 5- Debski, B., W. Zalewski, M.A. Gralak, and T. Kosla. 2004. Chromium-yeast supplementation of chicken broilers in an industrial farming system. *Journal of Trace Element in Medicine and Biology*, 18:47-51.
- 6- Domínguez-Vara, I.A., S.S. González-Muñoz, J.M. Pinos-Rodríguez, J.R. Bórquez-Gastelum, R. Bárcena-Gama, G. Mendoza-Martínez, L.E. Zapata and L.L. Landois-Palencia. 2009. Effects of feeding selenium-yeast and chromium-yeast to finishing lambs on growth, carcass characteristics, and blood hormones and metabolites. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 152: 42-49.
- 7- Ghorbani, A., H. Sadri, A. R. Alizadeh, and R. M. Bruckmaier. 2012. Performance and metabolic responses of Holstein calves to supplemental chromium in colostrum and milk. *Journal of Dairy Science*, 95:5760-5769.
- 8- Kegley, E. B., D. L. Galloway, and T. M. Fakler. 2000. Effect of dietary chromium-l-methionine on glucose metabolism of beef steers. *Journal of Animal Science*, 78:3177-3183.
- 9- Kim, Y. Y., and D. C. Mahan. 2001a. Comparative effects of high dietary levels of organic and inorganic selenium on selenium toxicity of growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 79:942-948.
- 10- Kitchalpong, L., J. M. Fernandez, L. D. Bunting, L. L. Southern, and T. D. Binder. 1995. Influence of chromium tripicolinate on glucose metabolism and nutrient partitioning in growing lambs. *Journal of Animal Science*, 73:2694-2705.
- 11- Kumar, N., A.K. Garg, R.S. Dass, V.K. Chaturvedi, V. Mudgal, V.P. Varshney. 2009. Selenium supplementation influences growth performance, antioxidant status and immune response in lambs. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 153:77-87.
- 12- Lopez, O., I. Marco, J. Montane and S. Lavin. 2006. Transport stress in southern chamois (*Rupicapra pyrenaica*) and its modulation by acepromazine. *Veterinary Journal*, 1720: 347-355.

- 13- Luseba, D., 2001. The effect of selenium and chromium on stress level, growth performance, selected carcass characteristics and mineral status of feedlot cattle. Doctoral Dissertation Thesis. Department of Animal Production Studies of Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria. Onderstepoort, South Africa.
- 14- Minka, N. S. and J. O. Ayo. 2009. Physiological responses of food animals to road transportation stress. *African Journal of Biotechnology*, 8:7415-7427.
- 15- Moonsie-Shageer, S., and D.N. Mowat.1993. Effect of level of supplemental chromium on performance, serum constituents, and immune status of stressed feeder calves. *Journal of Animal Science*, 1:232-238.
- 16- Morris, B.W., T.A. Gray and S. MacNeil. 1993. Glucose-dependent uptake of chromium in human and rat insulin-sensitive tissues. *Clinical Chemistry*, 84: 477-482.
- 17- Nicholson, J.W.G., R.E. McQueen and R.S. Bush. 1991. Response of growing cattle to supplementation with organically bound or inorganic sources of selenium or yeast cultures. *Canadian Journal of Animal Science*, 71:803-811.
- 18- Shelton, M. 2000. Reproductive performance of sheep exposed to hot environments. In: Malik, R.C., Razzaque, M.A., Al-Nasser, A.Y. (Eds.), *Sheep Production in Hot and Arid Zones*. Published by the Kuwait Institute for Scientific Research, pp. 155-162.
- 19- Tadich N., H. Gallo, H. Bustamante, M. Schwerter and G. van Schaik. 2005. Effects of transport and lairage time on some blood constituents of Friesian-Cross steers in Chile. *Livestock Production Science*, 93: 223-233.
- 20- Vincent, J.B. 2000. The biochemistry of chromium. *Journal of Nutrition*, 130:715-718.
- 21- Wada, O., G.Y. Wu, A. Yamamoto, S. Manabe and T. Ono. 1983. Purification and chromium-excretory function of low-molecular-weight, chromium-binding substances from dog liver. *Environmental Research*, 32: 228-239.



Performance and Physiological Response to Transportation Stress of Baluchi Ewe Lambs Fed Selenium-methionine and Chromium-methionine Supplements

A. Mousaie^{1*} - R. Valizadeh² - A. A. Naserian² - M. Heidarpour³ - H. Kazemi-mehrjerdi³

Received: 10-03-2014

Accepted: 25-03-2014

Introduction Most parts of Iran are located in arid and semi-arid areas which animals undergo feed shortage due to poor natural vegetation. Metabolic modifiers such as anabolic steroids, somatotropin, beta agonists, vitamins and minerals, fed in extra-nutritional levels, increase growth rate, feed efficiency, carcass leanness, profitability of livestock production and decrease carcass fatness. Moreover, heat and transportation stress results in decreased feed intake, body weight, average daily gain and reproductive performance of animals. Chromium (Cr) and selenium (Se) are micronutrients which could be considered as metabolic modifiers. It has been reported that dietary Se supplementation improves reproductive performance, oxidative stress, immune system, as well as growth performance of the animals. Cr supplement, as a constituent of low-molecular-weight Cr-binding substance (LMWCr) or chromodulin, also increases glucose tolerance by potentiating the action of insulin. However, there are a few information regarding the effects of organic Se and Cr supplements on performance and blood metabolites of ewe lambs under transportation stress. Thus this study aimed to evaluate the impacts of feeding selenium-methionine (Se-Met) and Chromium-methionine (Cr-Met) supplements on growth performance and blood metabolites of ewe lambs.

Materials and Methods Twenty-four Baluchi ewe lambs with mean body weight of 24.2 ± 0.4 kg and 4 months old were allocated randomly to 4 dietary treatments including (1) control diet (no Se or Cr supplementation), and control diet supplemented with (2) Se-Met (1.5 mg kg^{-1} dry matter (DM)), (3) Cr-Met ($0.8 \text{ mg kg}^{-1}\text{DM}$) and (4) Se-Cr-Met (1.5 mg of Se-Met plus 0.8 mg of Cr-Met kg^{-1}DM). The whole experimental period divided into two periods of adaptation (2 weeks) and data collection (9 weeks). A transportation stress was applied by transporting the animals in a truck in a bumpy road for 30 minutes in 8th week of the experiment. Blood samples were collected at commencement and the end of experiment. For transportation stress, blood samples were obtained just before the lambs were loaded and unloaded from the truck. Serum glucose, urea, creatinine, total protein and albumin concentrations were measured by spectrophotometer and cortisol by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. Statistical analysis was carried out using SAS software. A mixed model with fixed effects of treatment, time and random effect of lamb within treatment $\times$ time were used. A paired T-test was used to compare the blood metabolite concentrations pre-transportation with post-transportation stress.

Results and Discussion The results indicated that, feeding ewe lambs diets contained organic Se and Cr supplements improved average daily gain (ADG) and feed conversion ratio (FCR: control, Se, Cr, and Se-Cr were 5.99, 5.41, 5.22, 5.45 respectively). Lambs in Cr-Met group showed the highest feed intake and live weight gain compared those in the control. Blood glucose concentration decreased in Cr-Met fed lambs in comparison with control animals. Feeding Se-Met and/or Cr-Met supplements had no effect on blood urea, creatinine, cholesterol, total protein and albumin concentrations. Based on the findings, blood glucose and cortisol concentrations were increased in response to transportation stress. Feeding Cr reduced the concentration of blood cortisol. It seems that the beneficial effects of Cr are associated with its role in carbohydrate and protein metabolisms. Chromium potentiates insulin action by enhancing its binding to target cell receptors and also by improving its post-receptor signaling. Insulin increases protein synthesis, efficiency of amino acid transport, and carbohydrate and lipid utilization and reduces protein degradation. Selenium supplements also improve feed efficiency by increasing triiodothyronine activity and enhancing antioxidant status. Moreover, Cr can prevent the deleterious effects of transportation stress.

1 - Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Iran

2 - Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

3 - Associate Professor of Clinical Pathology, Faculty of Veterinary, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

(* - Corresponding Author Email: moosae.amir@gmail.com)

Conclusion It could be concluded that feeding ewe lambs with organic selenium (0.8 mg kg^{-1}) and chromium (1.5 mg kg^{-1}) supplements may improve feed to gain ratio and ameliorate the changes in blood glucose and cortisol concentrations in response to transportation stress.

Keywords: Baluchi ewe lambs, Chrome-methionine, FCR, Selenium-methionine, Transportation stress.

ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های تجزیه پذیری شکمبه‌ای ورمی کمپوست مکمل شده با مقادیر محتویات شکمبه‌ای، ضایعات میوه و سبزیجات و ضایعات قارچ صدفی

کیان صادقی^{۱*} - اکبر تقی زاده^۲ - حسین جانمحمدی^۲ - غلامعلی مقدم^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۰۸

چکیده

در این تحقیق پتانسیل نرخ تجزیه پذیری ورمی کمپوست حاصل از محتویات شکمبه به صورت مکمل شده با ضایعات میوه و سبزیجات و ضایعات قارچ صدفی مورد ارزیابی قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی عبارت بودند از: تیمار ۱ یا تیمار شاهد، حاوی ۱۰۰ درصد محتویات شکمبه، تیمار ۲، حاوی ۶۰ درصد محتویات شکمبه + ۴۰ درصد ضایعات میوه و سبزیجات، تیمار ۳، حاوی ۶۰ درصد محتویات شکمبه + ۴۰ درصد ضایعات قارچ صدفی و تیمار ۴، حاوی ۶۰ درصد محتویات شکمبه + ۲۰ درصد ضایعات قارچ صدفی، که هر کدام از تیمارها در سه تکرار انجام شدند. بیشترین و کمترین بازده ورمی کمپوست به ترتیب مربوط به تیمار ۴ و ۱ بود. بعلاوه تیمار ۴ بیشترین درصد پروتئین خام و چربی و کمترین درصد الیاف خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و خاکستر را در بین تیمارها داشت. نتایج حاصل از کیسه‌های نایلونی نشان داد که کینتیک هضم تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی بوده، بطوری که بیشترین مقدار تجزیه پذیری مؤثر ماده خشک با نرخ عبور ۵، ۸ درصد در ساعت، با بیشترین میزان نیز مربوط به تیمار ۴ بترتیب برابر ۶۲/۹۰، ۴۶/۴۵ و ۳۸/۱۰ درصد بود و تجزیه پذیری مؤثر پروتئین خام، با همان نرخ عبور بترتیب برابر ۶۲/۳۷، ۴۱/۲۵ و ۳۵/۱۲ درصد گزارش شد. نتایج این تحقیق نشان داد که می‌توان با مخلوطی از مقادیر مناسب از ضایعات آلی (منبع سلولزی) به همراه محتویات شکمبه در جهت تولید ورمی کمپوستی با ارزش غذایی مناسب (انرژی و پروتئین بالا) بعنوان خوراک دام اقدام نمود.

واژه‌های کلیدی: ضایعات و پسماندها، کیسه‌های نایلونی، محتویات شکمبه، ورمی کمپوست.

مقدمه

استفاده از کرم‌های خاکی است (۲۰ و ۲۲) که از این طریق می‌توان مواد زائد کشاورزی را به مواد سودمند تبدیل کرد (۶). روش بیولوژیک ورمی کمپوست، فناوری استفاده از کرم خاکی است که طی آن کرم‌ها مواد آلی (معمولاً ضایعات و پسماندها) را که ممکن است آلوده کننده محیط زیست نیز باشند، به موادی شبیه هوموس تبدیل می‌کنند که بعنوان ورمی کمپوست شناخته می‌شود (۵ و ۸). بعلاوه، سریع و پر بازده بودن این فرآیند بسیار مورد توجه است (۷، ۱۰ و ۲۶). عملیات فرآوری ورمی کمپوست می‌تواند بعنوان یک تکنولوژی مناسب و کارا در امر تغییر شکل مواد لجنی به محصولات با ارزش مورد استفاده قرار گیرد (۱۱). در کرم‌های خاکی به دلیل نداشتن دندان، بیشتر عملیات هضم و جذب مواد غذایی در روده و با آنزیم‌های روده‌ای (شامل لیپاز، پروتئاز، سلولاز، کتیناز و آمیلاز و ...) صورت می‌گیرد که در pH حدود خنثی فعالیت بیشتری دارند. منابع تولید این آنزیم‌ها اغلب موجودات ذره بینی (باکتریها و پروتوزوآها) در لوله گوارش

امروزه تحقیقات بسیاری در خصوص شناسایی و استفاده از منابع آلی غیر متعارف در دسترس از جمله حشرات و کرم خاکی بعنوان خوراک دام و طیور صورت می‌پذیرد. اگرچه، در گذشته نیز تا حدودی منابع غیر معمول به لحاظ دارا بودن قابلیت‌های مناسب، جهت تغذیه در خوراک دام و طیور، خصوصاً نشخوارکنندگان، مورد توجه قرار گرفته اند (۱۶، ۱۸، ۲۹ و ۳۱). یکی از این روش‌ها که به تازگی مورد توجه قرار گرفته است، استفاده از خوراک بیولوژیک ورمی کمپوست و

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته غذا و تغذیه دام، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز،

۲- استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز.

(*)- نویسنده مسئول: Email: kian.sadeghi@ut.ac.ir

DOI: 10.22067/ijasr.v1397i1.61200

کرم‌های خاکی هستند. لذا تغذیه کرم‌ها مربوط به فرآیندی است که در آن مواد غذایی از قسمت دهان بلعیده شده و طی عبور از لوله گوارشی دچار عمل هضم میکروبی و آنزیمی قرار می‌گیرد و در نهایت فرآورده نهایی که مواد دفعی کرم‌ها می‌باشد غنی از مواد غذایی هضم شده و آغشته به شیره معده که آن هم غنی از مواد مغذی و ویتامین‌های گروه B می‌باشند که اصطلاحاً آن را "ورمی کمپوست" می‌گویند (۹ و ۱۰).

ورمی کمپوست کردن پسماندهای مختلف دام‌ها شامل گاو (۹، ۱۴ و ۲۴)؛ اسب (۱۷)؛ بز (۱۹)؛ بوقلمون (۹) و مرغ و سایر طیور (۱۳) گزارش شده است. همچنین تقریباً ۷۶ درصد از زباله‌های تولیدی یک شهر را مواد زاید آلی تشکیل می‌دهند، چند مورد از این مواد زاید آلی، ضایعات میوه‌جات و سبزیجات و ضایعات قارچ خوراکی (دکمه‌ای و صدفی) می‌باشد. بخصوص در فصل گرم سال روزانه در حجم زیادی تولید می‌شوند و به منظور جلوگیری از ایجاد مشکلات زیست محیطی نیازمند مدیریت صحیح می‌باشند (۱۲). استفاده از فرآیند ورمی کمپوست برای بازیافت ضایعات میوه و سبزیجات و قارچ صدفی (۳۵) به منظور تولید خوراک دام می‌تواند ارزشمند باشد. لذا احتمالاً می‌توان با فرآوری ضایعات میوه و سبزیجات و گنجاندن آن در جیره، از مواد مغذی موجود در آن (نیترژن، کربوهیدرات‌ها و مواد معدنی) جهت تغذیه حیوانات، خصوصاً نشخوارکنندگان، استفاده نمود (۲۱). ورمی کمپوست سازی می‌تواند بطور بالقوه به ارزش ضایعات آلی از طریق تثبیت ریزمغذی‌های و مواد آلی بیافزاید (۲۵). همچنین پروتئین کرم خاکی بدست آمده از این گونه به احتمال زیاد قابل دسترس و برای جیره‌های غذایی دام قابل استفاده خواهد بود (۳۴). از طرف دیگر حجم انبوهی از محتویات شکمبه گاوها (دارای کربوهیدرات بالا) در کشتارگاه‌ها حاصل می‌شود که مشکلات دفع آنها وجود دارد. لذا طرح حاضر با هدف ارزیابی ترکیب شیمیایی و ارزش غذایی ورمی کمپوست تهیه شده از مخلوط محتویات شکمبه و ضایعات میوه و سبزیجات و ضایعات قارچ صدفی، جهت استفاده در تغذیه دام انجام شده است تا امکان تولید خوراکی جدید با ارزش غذایی مناسب برای دام‌های نشخوارکننده مطالعه گردد.

مواد و روش‌ها

تهیه ورمی کمپوست

در این تحقیق از محتویات شکمبه و ضایعات میوه و سبزیجات و ضایعات قارچ صدفی (بستر باقی مانده پس از برداشت قارچ خوراکی صدفی) برای تهیه ورمی کمپوست استفاده شد، که برخی آنالیز تقریبی ضایعات مورد استفاده در جدول ۱ آمده است. محتویات شکمبه‌ای از کشتارگاه بزرگ صنعتی تبریز و ضایعات میوه و سبزیجات از میادین بزرگ شهر تبریز و ضایعات قارچ صدفی از واحد خصوصی پرورش

قارچ خوراکی صدفی مستقر در خسروشهر تهیه گردید. محتویات شکمبه‌ای جمع آوری شده ابتدا در یک تانک ۲۵۰ کیلویی سربسته ریخته، فشرده و به مدت ۳۰ روز نگهداری شدند تا طی فعالیت باکتری‌های بی‌هوازی و هوازی مفید، عمل میکروبزدایی در آن رخ دهد. تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار ۱ یا تیمار شاهد که حاوی ۱۰۰ درصد محتویات شکمبه بود، تیمار ۲ حاوی ۶۰ درصد محتویات شکمبه + ۴۰ درصد ضایعات میوه و سبزیجات، تیمار ۳ حاوی ۶۰ درصد محتویات شکمبه + ۴۰ درصد ضایعات قارچ صدفی و تیمار ۴ حاوی ۶۰ درصد محتویات شکمبه + ۲۰ درصد ضایعات میوه و سبزیجات + ۲۰ درصد ضایعات قارچ صدفی بودند. جهت مخلوط و همگن کردن تیمارها از مخلوط کن برقی مورد استفاده در تهیه ملات ساختمانی، استفاده گردید. اجزای هریک از تیمارها بر اساس درصد-های مورد نظر برای هر تیمار در جعبه‌های بسته بندی سیب تهیه شده از میدان بزرگ تره بار به تعداد ۱۲ عدد هر کدام با ابعاد ۳۰×۳۵×۶۵ سانتی‌متر در ۳ تکرار توزین شدند، بطوری که وزن نهایی محتویات هر سبد آزمایشی قبل از اجرای آزمایش با رطوبت ۳۰ درصد ۸ کیلوگرم بود. محفظه‌های نگهداری در طول مدت آزمایش (۷۵ روز) در کانکس واقع در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی که اختصاص به این طرح داشت، قرار داده و با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ثابت ۶۵ تا درصد نگهداری شدند (۳۰). آبیاری جعبه‌ها نیز در اوایل آزمایش جهت شست‌وشو ترکیبات داخل تیمارها و تنظیم pH در ۵ نوبت انجام گرفت، ولی با گذشت عمل ورمی کمپوست سازی به ۲ الی ۳ نوبت کاهش یافت چرا که مدفوع کرم‌ها قادر به ذخیره رطوبت در خود بوده و مصرف آب را کاهش می‌دهد (۱۰). عمل افزودن کرم‌های خاکی در دو مرحله یکی در زمان ساخت تیمارها و دیگری پس از پشت سر گذاشتن مرحله کمپوست اولیه (به مدت ۱۴ روز)، با اضافه کردن ۲۰۰ عدد کرم خاکی بالغ (آیزینیا فوتیدا) با وزن تقریبی هر کدام ۴۰۰ میلی‌گرم به هر سبد، انجام شد. بعد از عمل ورمی کمپوست سازی به منظور کاهش رطوبت موجود تا هنگام نمونه برداری، آبیاری تیمارها قطع گردید و تمامی کرم‌های موجود در سبدها جمع آوری و بعد از گذشت حدود یک هفته بعد از قطع آبیاری نسبت به نمونه برداری از تیمارهای آزمایشی اقدام گردید. به این منظور ۳ کیلو از ۳ تکرار مختلف هر تیمار جمع‌آوری شده و به مدت ۳ روز در هوای آزاد خشکانده شدند. نمونه‌ها بعد از ۳ روز داخل ظرف‌های مخصوص قرار گرفته و به مدت ۴۸ ساعت با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در داخل آون خشک و نمونه‌هایی از آنها آنالیز شیمیایی شدند. برای محاسبه بازده ورمی کمپوست که همان درصد خلوص ورمی کمپوست سازی است از معادله‌های زیر استفاده شد (۲۸).

معادله (۱)

$$FR = (Nw - Iw) / t$$

که FR نرخ باروری نسبی بسترهای آزمایشی، Nw وزن توده زنده کرم خاکی نهایی، Iw وزن توده زنده کرم خاکی اولیه و t مدت زمان ورمی کمپوست سازی می باشد.

معادله (۲)

$$\text{Vermicomposting \%} = (A - B) * FR / A$$

که A وزن ماده خشک محصول اولیه، B وزن ماده خشک محصول نهایی، FR نرخ باروری نسبی است.

جدول ۱- آنالیز تقریبی ضایعات مورد استفاده در پژوهش حاضر

Table 1- Some waste chemical analysis used in this study

ضایعات Wastes	ماده خشک DM ¹	پروتئین خام CP ²	چربی خام EE ³	الیاف خام CF ⁴	خاکستر Ash	pH
محتویات شکمبه (Rumen Content)	87	12.20	3.10	28.70	7.28	6.20
ضایعات میوه و سبزیجات (Vegetables Wastes)	76	14.06	5.60	25.40	6.03	5.50
ضایعات قارچ صدفی (Mushroom Wastes)	93	8.91	3.50	39.51	7.30	8.10

¹DM: Dry Matter

²CP: Crude Protein

³EE: Ether Extract

⁴CF: Crude

آنالیز شیمیایی

تجزیه تقریبی مواد غذایی شامل ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر خام براساس روش‌های پیشنهادی AOAC (2005) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) به ترتیب با روش ون سوست (۳۹) و ون سوست و همکاران (۴۰) آنالیز شدند.

اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ورمی کمپوست با روش

کیسه‌های نایلونی

به منظور تعیین تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای بلوک غذایی ورمی کمپوست و بررسی کینتیک هضم آن، از ۲ راس گوسفند نر نژاد آرخابر- مریوس استفاده شد. هریک از این گوسفندها در یک باکس انفرادی قرار گرفته و در طی مراقبت، جیره غذایی در حد نگهداری و طبق پیشنهاد کمیته تحقیقات ملی آمریکا (۲۷) حاوی علوفه و کنسانتره به نسبت ۴۰:۶۰ به طوری که قادر به تامین احتیاجات نگهداری باشند، دریافت کردند. جیره ها دو بار در روز به دامها تغذیه شدند. برای تهیه کیسه‌ها، مواد خوراکی با آسیاب دارای الک ۲ میلی‌متری آسیاب شده و به مقدار ۵ گرم در کیسه‌هایی از جنس الیاف پلی‌استر مصنوعی، به ابعاد ۱۲×۶ سانتی‌متر مربع قرار داده شدند. برای هر تیمار در هر ساعت ۴ تکرار تهیه شد به طوریکه برای هر ساعت انکوباسیون، درون شکمبه هر گوسفند ۲ کیسه قرار داده شد. پس از زمان‌های ۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون درون شکمبه از آن خارج و جهت جلوگیری از

فعالیت میکروبی بلافاصله با آب سرد شسته شد. عمل شستشو تا آنجا که آب خروجی از کیسه‌ها کاملاً زلال و شفاف شود، ادامه یافت. کیسه‌های شسته شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در آن قرار داده شدند. کیسه‌ها بعد از خروج از آن توزین شدند (۳۷). تجزیه پذیری بالقوه با استفاده از مدل $P=a+b(1-e^{-ct})$ محاسبه گردید. در این رابطه P پتانسیل تجزیه‌پذیری در زمان t، بخش سریع تجزیه، b بخش دارای پتانسیل تجزیه در طول زمان یا کند، c نرخ تجزیه پذیری بخش b در زمان t و e عدد ثابت نپیرن (۲/۷۱۸) می‌باشد. تجزیه پذیری موثر ماده خشک و پروتئین خام خوراک مورد نظر از طریق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$ED = a + bc/(c+k) \quad \text{معادله (۳)}$$

k نرخ عبور شکمبه‌ای می‌باشد که برای این تحقیق در محاسبه تجزیه پذیری موثر، از نرخ های ۲، ۵ و ۸ درصد در ساعت استفاده شد.

مدل آماری

داده‌های آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند. مقایسات تیمارها با استفاده از روش حداقل مربعات (LS Means) انجام شد. اثرات تیمارها با رویه مدل عمومی خطی نرم افزار آماری SAS ۹/۱ و طبق معادله زیر مورد تجزیه آماری قرار گرفت:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad \text{معادله (۴)}$$

که در این معادله Y_{ij} صفت مورد مشاهده، μ میانگین کل، T_i اثر

تیمار و e_{ij} خطای آزمایش می‌باشد.

نتایج و بحث

بازدهی تولید ورمی کمپوست

نتایج مربوط به جدول (۲) نشان می‌دهد که با اضافه کردن نسبت‌های مساوی از ضایعات میوه و سبزیجات و ضایعات قارچ صدفی به محتویات شکمبه، بازده ورمی کمپوست نسبت به جیره شاهد افزایش پیدا کرد ($P < 0.01$) چرا که وزن توده زنده کرم در پایان آزمایش در این تیمارها بیشتر از تیمار شاهد بود ($P < 0.01$). هرچه بازده ورمی کمپوست که همان فعالیت کرم خاکی در بستر است افزایش یابد، سوبستراهای اولیه موجود در بستر بیشتر تحت تجزیه کرم‌های خاکی قرار می‌گیرند و در نتیجه کیفیت بستر حاصله بسیار

جدول ۲- وزن توده زنده کرم خاکی و بازده تولید ورمی کمپوست در پایان آزمایش^۱

Table 2- Earthworm biomass yield and vermicomposting efficiency at the end of the experiment¹

تیمارها Treatments	مقدار تزریق کرم در بستر (گرم) Worms application (g)	وزن توده زنده کرم پایان آزمایش (گرم) Live weight of worms at the end of the experiment (g)	بازده ورمی کمپوست (درصد) Vermicomposting efficiency (%)
T ₁	80	273 ^d	53 ^d
T ₂	80	319 ^c	59 ^c
T ₃	80	409 ^b	63 ^b
T ₄	80	495 ^a	86 ^a
SEM ²	—	4.362	3.518
P-value	—	0.0001	0.0012

^۱ میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.01$).

^۱ Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.01$).

T₁: 100% Rumen Content

T₂: 60% Rumen Content + 40% Vegetables and fruits Wastes

T₃: 60% Rumen Content + 40% Mushroom Wastes

T₄: 60% Rumen Content + 20% Vegetables and fruits Wastes + 20% Mushroom Wastes

² Standard Error of Means

الیاف، بازده بالاتر ورمی کمپوست را خواهیم داشت که در نتیجه آن محتویات بستر به خوبی و به طور مناسب تری به بیومس کرم‌های خاکی تبدیل شده و در نهایت موجب افزایش وزن توده کرم‌های مرده در ورمی کمپوست فرآوری شده می‌گردد. بالاتر بودن پروتئین خام و کمتر بودن الیاف در ورمی کمپوست حاصله می‌تواند از لحاظ تغذیه دام نیز مورد توجه باشد. بنابراین در نتیجه فعالیت بیشتر کرم‌ها، کاهش غلظت الیاف خام محتویات بستر و افزایش پروتئین و چربی خام (از منشا کرم‌های خاکی) در ورمی کمپوست دیده می‌شود. اما وقتی از محتویات شکمبه بصورت مجزا بعنوان بستر برای پرورش کرم‌های خاکی استفاده شد غلظت الیاف خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در ورمی کمپوست‌ها بالاتر بود ($P < 0.01$) که نشان از عدم فعالیت کرم‌های خاکی بدلیل نامناسب بودن این بستر است. لذا

نتایج تجزیه تقریبی ورمی کمپوست‌های بدست آمده جدول ۳ نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در میزان ماده خشک، پروتئین خام، چربی، الیاف خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، خاکستر و pH بین تیمارهای مورد آزمایش می‌باشد. اختلاط ضایعات میوه و سبزیجات به محتویات شکمبه، غلظت پروتئین خام و چربی خام در ورمی کمپوست‌ها را افزایش داد، اما غلظت ماده خشک، خاکستر، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و pH نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد ($P < 0.01$). این امر نشان دهنده ارزش غذایی بالای ضایعات میوه و سبزیجات است (۲۱). همچنین نتایج اشاره می‌کنند که با اختلاط هر دو ضایعات میوه و سبزیجات و ضایعات قارچ صدفی به محتویات شکمبه و در نتیجه افزایش غلظت پروتئین خام و کاهش غلظت

در این تیمار محتویات بستر کمتر به ورمی کمپوست تبدیل شده و لذا الیاف خام موجود در محتویات شکمبه بصورت دست نخورده باقی مانده است.

تیمار چهارم همچنین دارای کمترین مقدار خاکستر و در نتیجه بیشترین مقدار ماده آلی بود ($P<0/01$). شرم (۳۵) گزارش کرد که محدوده بهینه pH مواد بستر برای اکثر گونه‌های کرم خاکی ۶/۸ تا

۷/۲ می‌باشد. میانگین pH تیمارها بین ۶/۱۵ الی ۷/۵۵ بود که در این بین تیمار چهارم در دامنه pH بهینه قرار داشت ($P<0/01$) که نشان دهنده فعالیت مناسب کرم‌ها جهت فراهم کردن شرایط بهینه رشد برای خود است. لذا مطلوب بودن pH در تیمار چهارم نشان می‌دهد که این تیمار بهترین شرایط را برای فعالیت کرم‌های خاکی داشته و کرم‌ها محیط مناسبی را برای فعالیت و رشد خود ایجاد کرده‌اند.

جدول ۳- اثرات استفاده از مقادیر مختلف ضایعات آلی بر ترکیب شیمیایی (درصد از ماده خشک) ورمی کمپوست حاصل از محتویات شکمبه^۱

Table 3- The effects of application rate of organic wastes on the chemical composition (% of dry matter) of vermicompost produced from rumen contents¹

تیمارها Treatments	ماده خشک DM ²	پروتئین خام CP ³	چربی خام EE ⁴	الیاف خام CF ⁵	خاکستر Ash	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF ⁶	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF ⁷	pH
T ₁	86 ^{ab}	16.50 ^c	4.10	32.73 ^a	8.82 ^a	41.50 ^a	27.33 ^b	6.76 ^b
T ₂	81 ^c	17.44 ^b	4.80	28.13 ^c	7.67 ^b	40.18 ^b	26.11 ^{bc}	6.15 ^c
T ₃	88 ^a	17.05 ^{bc}	4.34	30.52 ^b	8.16 ^{ab}	41.42 ^a	28.64 ^a	7.55 ^a
T ₄	84 ^{bc}	18.45 ^a	4.71	28.53 ^{bc}	7.66 ^b	38.87 ^c	26.00 ^c	7.02 ^{ab}
SEM ⁸	1.2	0.416	0.077	0.336	0.054	0.514	0.111	0.029
P-value	0.0015	0.0002	0.0005	0.0037	0.0006	0.0019	0.0011	0.0003

^۱ میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0/01$).

¹Means within same row with different superscripts differ ($P<0.01$).

T₁: 100% Rumen Content

T₂: 60% Rumen Content + 40% Vegetables and fruits Wastes

T₃: 60% Rumen Content + 40% Mushroom Wastes

T₄: 60% Rumen Content + 20% Vegetables and fruits Wastes + 20% Mushroom Wastes

²Dry Matter, ³Crud Protein, ⁴Ether Extract, ⁵Crude Fiber, ⁶Neutral Detergent Fiber, ⁷Acid Detergent Fiber

⁸Standard Error of Means

نداشت ($P<0/01$). از لحاظ عددی بیشترین بخش سریع الهضم (بخش a) ماده خشک در تیمار چهارم مشاهده شد (۱۲/۶۳ درصد) که حاوی ۲۰ درصد ضایعات میوه و سبزیجات + ۲۰ درصد ضایعات قارچ صدفی به همراه محتویات شکمبه بود ($P<0/01$).

مقدار ناپدید شدن ماده خشک در زمان ۲۴ ساعت بین تیمار شاهد و تیمار T3 اختلاف معنی دار نبود اما بین ۲ تیمار دوم و چهارم تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P<0/01$). بیشترین میزان ماده خشک نامحلول با قابلیت تجزیه پذیری بالقوه (b) برای تیمار چهارم ۷۴/۴۲ درصد بود. البته افزایش ۶/۳۶ واحدی برای تجزیه پذیری ماده خشک در آزمایش حاضر نسبت به نتایج حامدی و همکاران (۱۵) که فقط از ضایعات فرآوری خشک شده استفاده کردند (۱۵)، می‌تواند ناشی از تاثیر سویه کرم مورد استفاده باشد (۳۰). بعلاوه، مواد قابل تخمیر یا قابلیت بالقوه تجزیه پذیری (بخش b) تیمار چهارم با تیمار شاهد نیز اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<0/01$). بنظر می‌رسد بالا بودن تجزیه پذیری ماده خشک در تیمار چهارم به دلیل بالا بودن پروتئین و پائین

تیمارها (بسترها) شامل: ۱- محتویات شکمبه ۶۰٪ + ضایعات میوه و سبزیجات ۲۰٪ + ضایعات قارچ صدفی ۲۰٪، ۲- محتویات شکمبه ۶۰٪ + ضایعات میوه و سبزیجات ۲۰٪ + فضولات گاوی ۲۰٪، ۳- محتویات شکمبه ۶۰٪ + ضایعات قارچ صدفی ۲۰٪ + فضولات گاوی ۲۰٪ و شاهد ۱۰۰٪ محتویات شکمبه می‌باشد

تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک ورمی کمپوست

نتایج مربوط به ناپدید شدن شکمبه‌ای ماده خشک (ورمی کمپوست‌های به دست آمده) در جدول ۴ نشان داده شده است. همچنین منحنی مربوط به ناپدید شدن ماده خشک در شکل (۱) نشان داده شده است. تعداد ۹ بازه زمانی برای بررسی روند ناپدید شدن ماده خشک خوراک‌های آزمایشی در نظر گرفته شد. در تمامی ساعات انکوباسیون درصد ناپدید شدن ماده خشک در تیمار چهارم با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت ($P<0/01$). در بخش محلول ماده خشک (a) یا سریع تجزیه بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود

تر بودن الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول شوینده اسیدی نسبت به تیمار شاهد که در نتیجه عمل تجزیه کرم‌های خاکی می‌باشد (۷). به گزارش تقی زاده و همکاران (۳۷) میزان ضرایب تجزیه‌پذیری ماده خشک به عوامل مختلفی از جمله مواد معدنی، پروتئین و ... بستگی دارد که در اینجا داده‌های حاصل از بسترهای ورمی‌کمپوست نشان دادند که در تیمارهایی که مقدار پروتئین خام بیشتری داشتند بخش (a+b) بیشتر بود (۳۷). حامدی و همکاران (۱۵) گزارش کردند میزان ناپدید شدن ماده خشک ضایعات سبزیجات خشک شده برابر ۶۸/۵۸ درصد است، اما در این تحقیق افزایش ۱۷/۳۳ درصدی در میزان ناپدید شدن ماده خشک تیماری که حاوی ضایعات سبزیجات بود مشاهده شد، دلیل این افزایش علاوه بر تاثیر کرم‌ها روی مواد غذایی، اثر متقابل بین اجزای مخلوط و میزان رطوبت در تیمارهای آزمایشی نیز می‌باشد. نتایج بدست آمده برای نرخ ثابت تجزیه بخش نامحلول ماده خشک (c) برای تیمار چهارم و شاهد به ترتیب برابر ۰/۰۴۱ و ۰/۰۳۹ بود و تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P < 0.01$). در تحقیق حاضر ماده خشک با تجزیه‌پذیری بالقوه (بخش a+b) برای تیمارهای دو و چهار بیشترین مقدار مشاهده شد، کمترین مقدار برای تیمار دوم بود. لذا بنظر می‌رسد عمل ورمی-

کمپوست با افزایش قابلیت تجزیه و گوارش پذیری مواد مغذی، تاثیر مثبتی روی قابلیت تخمیر و دسترسی کربوهیدرات‌های الیافی برای میکروارگانیسم‌ها دارد (۳۰)، در تجزیه پذیری موثر ماده خشک بین تیمارها با نرخ ۵ درصد در ساعت اختلاف معنی‌دار نبود ($P < 0.01$), اما تیمار چهار نسبت به تیمار شاهد ۸/۶ واحد افزایش داشت که این می‌تواند به دلیل تاثیر بالاتر کرم‌های خاکی روی ماده آلی بستر تیمار چهارم باشد که موجب افزایش توان تجزیه ورمی کمپوست در شکمبه می‌گردد. یوسفی و همکاران (۴۲) نیز نشان دادند که کرم‌های خاکی با ترشح آنزیم‌ها و شکست پیوندها در ترکیبات الیافی، مواد آلی بسترها را بطور معنی‌داری افزایش می‌دهند که می‌تواند موجب افزایش نرخ هضم گردد. البته این افزایش در بسترهای مختلف متفاوت می‌باشد (۴۲). به هر حال تیمار سوم کمترین میزان تجزیه پذیری را در بین تیمارها نشان داد که دلیل آن به ترکیب مواد مغذی این تیمار (پروتئین، الیاف، و...) بر می‌گردد. تفاوت بین تیمارها ناشی از تنوع کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی محلول و غیر محلول در آب، میزان پروتئین خام، پروتئین متصل به دیواره سلولی منهای همی سلولز (۳۷) و فعالیت کرم‌ها بستگی دارد (۱۲).

جدول ۴- اثرات استفاده از مقادیر مختلف ضایعات آلی بر پارامترهای تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک ورمی کمپوست حاصل از محتویات شکمبه^۱

Table 4- the effects of application rate of organic wastes on DM rumen degradability parameters of vermicompost produced from rumen contents¹

تیمارها Treatments**	زمان ۲۴ انکوباسیون Incubation time (24h)	فراسنجه‌های تجزیه پذیری ^۲ Degradability Parameters ²				تجزیه پذیری (%) با نرخ عبور ^۳ Degradability (%) by passing rate ³		
		a (%)	b (%)	c (%/h)	a+b (%)	2 (%)	5 (%)	8 (%)
T ₁	46.30 ^b	12.27	58.23 ^b	0.039	70.50 ^b	50.77 ^{bc}	37.85	31.45 ^b
T ₂	53.29 ^a	11.01	69.09 ^a	0.037	80.10 ^a	56.87 ^{ab}	41.45	33.87 ^b
T ₃	44.61 ^b	11.88	57.67 ^b	0.04	69.55 ^b	49.42 ^c	36.67	30.27 ^b
T ₄	57.71 ^a	12.63	74.42 ^a	0.041	87.05 ^a	62.90 ^a	46.45	38.10 ^a
SEM ⁴	2.230	0.785	2.390	0.002	2.410	2.020	1.600	1.330
P-value	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

^۱ میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.01$).

^۲ a: مواد محلولی است که سریعاً از کیسه های نایلونی ناپدید می شود b: مواد نامحلولی است که به طور بالقوه قابلیت تجزیه پذیری دارند c: سرعت تجزیه بخش b که واحد آن درصد در ساعت است.

^۳ تجزیه پذیری موثر ماده خشک خوراک مورد آزمایش (ورمی کمپوست) در سرعت‌های عبور (k) ۲، ۵ و ۸ درصد در ساعت.

^۴ Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.01$).

^۲ a: Solutions that quickly disappears bags, b: Insoluble materials that are potentially degradability, c: The rate of degradability b.

^۳ The effective degradability of dry matter feed tested (vermicompost) in pass rates (K) 2, 5 and 8 percent per hour.

T₁: 100% Rumen Content

T₂: 60% Rumen Content + 40% Vegetables and fruits Wastes

T₃: 60% Rumen Content + 40% Mushroom Wastes

T₄: 60% Rumen Content + 20% Vegetables and fruits Wastes + 20% Mushroom Wastes

^۴ Standard Error of Means

در جدول (۵) نشان داده شده است. همچنین منحنی مربوط به ناپدید شدن پروتئین خام نیز در شکل (۲) نشان داده شده است. برای درصد

تجزیه پذیری شکمبه‌ای پروتئین ورمی کمپوست: نتایج مربوط به ناپدید شدن شکمبه‌ای پروتئین خام (ورمی کمپوست‌های حاصل شده)

ماهیت تیمارها قرار گرفت. تیمارهای که ترکیبات شیمیایی آنها دارای مواد سهل الهضم می‌باشد بخش محلول بالایی دارند که در نتیجه تجزیه پذیری بالاتری نشان می‌دهند (۳). ضایعات قارچ صدفی بدلیل مواد لیگنوسلولزی بالایی که نسبت به سایر ضایعات استفاده شده در این آزمایش دارد، می‌تواند در بازده تولید ورمی کمپوست نقش داشته باشد (۳۱). در تیمار چهارم بخش سریع التجزیه (a) بیشتر از تیمار سوم بود ولی با بقیه تیمارها تفاوت معنی داری نداشت ($P<0.01$). این می‌تواند بدلیل بازده بالای کرم‌های خاکی (طبق جدول ۱) باشد (۲۸) چراکه عمل آوری ضایعات آلی توسط کرم‌ها می‌تواند فراهمی مواد مغذی در شکمبه به منظور سنتز میکروبی را تسهیل بخشیده و آنها را برای تجزیه آماده تر کند. مازاد انرژی می‌تواند به سوی روده تغییر مکان دهد جایی که می‌تواند پیش سازهای گلوکوژنیک را فراهم کند (۳۸). نتایج بدست آمده برای نرخ ثابت تجزیه بخش نامحلول پروتئین خام (c) برای تیمار چهارم و تیمار شاهد به ترتیب برابر $0.28/0$ و $0.31/0$ بود و تفاوت معنی داری وجود نداشت ($P<0.01$). و این نشان دهنده این است که احتمالاً روش فرآوری ورمی کمپوست در افزایش مقدار مواد عبوری از شکمبه موثر می‌باشد.

تجزیه پذیری پروتئین خام در زمان ۲۴ ساعت برای تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب برابر $39.20/0$ ، $39.80/0$ ، $35.54/0$ و $47.43/0$ بود که بیشترین مقدار مربوط به تیمار چهارم و کمترین مقدار مربوط به تیمار سوم بود ($P<0.01$). بطور که در مطالعه‌ای که حامدی و همکاران (۱۵) بر روی ضایعات میوه و سبزیجات داشتند میزان ناپدید شدن پروتئین خام برای زمان ۲۴ ساعت عددی برابر $33.60/0$ درصد بدست آورده بودند که اختلاف عددی بین تحقیق حاضر با نتایج محققین دیگر می‌تواند بخاطر پروتئین محلول بخش a که عمل ورمی کمپوست سازی در ترکیب شیمیایی ضایعات آلی و محتویات شکمبه تاثیر بالایی می‌تواند بگذارد که داده‌های جدول (۳) این موضوع را تایید می‌کند (۳۱)، البته به میزان ناپدید شدن ماده خوراکی نیز بستگی دارد (۳۷). پتانسیل تجزیه پذیری پروتئین خام برای تیمار چهارم برابر $80.93/0$ درصد ماده خشک بود دلیل این امر می‌تواند مربوط به محتوای پروتئین خام محتویات این تیمار (میزان پروتئین حقیقی، عبوری بودن یا قابل تجزیه بودن در شکمبه، سرعت تجزیه بخش های مختلف پروتئین و ...) باشد. که در جدول (۳) آورده شده است. با توجه به منحنی شکل (۲) تجزیه پذیری پروتئین خام خوراک‌های آزمایشی از زمان ۱۲ ساعت بعد از انکوباسیون تحت تاثیر

جدول ۵- اثرات استفاده از مقادیر مختلف ضایعات آلی بر پارامترهای تجزیه پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام ورمی کمپوست حاصل از محتویات شکمبه^۱

Table 5- the effects of application rate of organic wastes on rumen degradability parameters crud protein of vermicompost produced from rumen contents¹

تیمارها Treatments	زمان ۲۴ انکوباسیون Incubation time (24h)	فراسنجه‌های تجزیه پذیری ^۲ Degradability Parameters ²				تجزیه پذیری (%) با نرخ عبور ^۳ Degradability (%) by passing rate ³		
		a (%)	b (%)	c (%/h)	a+b (%)	(2 %)	(5 %)	(8 %)
T ₁	39.20 ^b	8.23 ^{ab}	64.55 ^b	0.031	72.79 ^b	47.82 ^c	35.32 ^b	26.60 ^b
T ₂	39.80 ^b	8.45 ^{ab}	74.02 ^{ab}	0.027	82.51 ^a	54.20 ^b	37.65 ^b	27.37 ^b
T ₃	35.54 ^c	7.30 ^b	64.58 ^b	0.030	71.95 ^b	46.40 ^c	33.10 ^c	24.65 ^c
T ₄	47.43 ^a	9.79 ^a	80.93 ^a	0.028	90.79 ^a	62.37 ^a	41.25 ^a	35.12 ^a
SEM ⁴	0.650	0.532	3.020	0.002	3.125	0.935	0.465	0.339
P-value	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

^۱ میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P<0.01$).

^۲ a: مواد محلولی است که سریعاً از کیسه های نایلونی ناپدید می شود b: مواد نامحلولی است که به طور بالقوه قابلیت تجزیه پذیری دارند c: سرعت تجزیه بخش b که واحد آن درصد در ساعت است.

^۳ تجزیه پذیری موثر پروتئین خام خوراک مورد آزمایش (ورمی کمپوست) در سرعت‌های عبور (k) ۲، ۵ و ۸ درصد در ساعت.

^۱ Means within same row with different superscripts differ ($P<0.01$).

^۲ a: Solutions that quickly disappears bags, b: Insoluble materials that are potentially degradability, c: The rate of degradability b.

^۳ The effective degradability of crud protein feed tested (vermicompost) in pass rates (K) 2, 5 and 8 percent per hour.

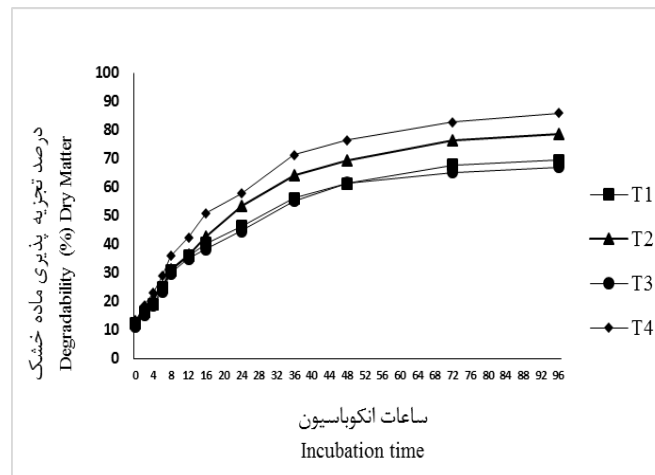
T₁: 100% Rumen Content

T₂: 60% Rumen Content + 40% Vegetables and fruits Wastes

T₃: 60% Rumen Content + 40% Mushroom Wastes

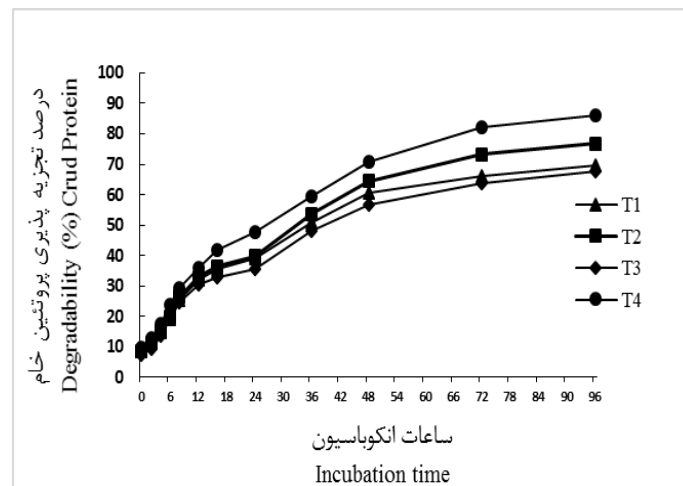
T₄: 60% Rumen Content + 20% Vegetables and fruits Wastes + 20% Mushroom Wastes

^۴ Standard Error of Means



شکل ۱- منحنی مربوط به میزان ناپدید شدن ماده خشک ورمی کمپوست

Figure 1- Diagram related to the disappearance of dry matter vermicompost



شکل ۲- منحنی مربوط به میزان ناپدید شدن پروتئین خام ورمی کمپوست

Figure 2- Diagram related to the disappearance of Crud Protein vermicompost

باعث کمتر شدن بازده ورمی کمپوست می شود. البته بایستی آزمایشاتی نیز در خصوص خوشخوراکی و قابلیت پذیرش این خوراک توسط حیوان انجام شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از تمامی پرسنل و مدیریت ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان و ساختمان شماره ۲ دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز به لحاظ مساعدت های فراوان در انجام این آزمایش، صمیمانه تشکر و قدردانی می گردد.

نتیجه گیری

بعنوان نتیجه کلی از این آزمایش می توان اعلام نمود که می توان مخلوط محتویات شکمبه با ضایعات آلی (منبع سلولزی) را به طور موفقیت آمیزی با روش های بیولوژیکی مانند ورمی کمپوست به یک نوع خوراک دام با میزان مناسب مواد مغذی و درصد بالای تجزیه پذیری تبدیل کرد. استفاده از محتویات شکمبه و ضایعات آلی در تولید ورمی کمپوست ضمن کاهش آلودگی محیط زیست، می تواند این مواد مغذی را به مصرف دام رسانده و خوراک با ارزش غذایی بالا جهت دام های نشخوارکننده تولید نماید. با این حال استفاده مجزا از ضایعات آلی و محتویات شکمبه، بدلیل اثر نامساعد بر رشد و فعالیت کرم ها،

منابع

- 1- Agblevor, F. A., S. Beis, S. Kim, R. Tarrant, and N. Mante. 2010. Biocrude oils from the fast pyrolysis of poultry

- litter and hardwood. Waste Management, 30:298-307.
- 2- Aghajanzadeh, A., N. Maheri, A. Mirzai, and A. Baradaran. 2010. Comparison of nutritive value of tomato pomace and brewers grain for ruminants using in vitro gas production technique. Asian Journal of Animal and Veterinary Advance, 5(1): 43-51.
- 3- Alexandrov, A. N. 1998. Effect of ruminal exposure and subsequent microbial contamination on dry matter and protein degradability of various feedstuffs. Journal of Animal Feed Science and Technology, 71:99-107.
- 4- AOAC, 2005. Official Methods of Analysis of AOAC international. AOAC international. Maryland, USA.
- 5- Bybordi, A., V. Najafzadeh., and Y. Fateh. 2008. Vermicomposting guide on sustainable agriculture. First Edition, Tehran, Iran. Organic fertilizer manufacturing company Municipality in Tabriz. (In Persian)
- 6- Carlos, G. G. R., D. Luc, and G. M. F. Antonio. 2008. Vermicomposting leachate (worm tea) as liquid fertilizer for maize (*Zea mays* L.) forage production. Asian Journal of Plant Science, 7(4):360-367.
- 7- Domínguez, J., C. A. Edwards, and M. Webster. 2000. Vermicomposting of sewage sludge: effect of bulking materials on the growth and reproduction of the earthworm *Eisenia andrei*. Pedobiologia, 44:24-32.
- 8- Domínguez, J., R. W. Parmelee, and C. A. Edwards. 2003. Interactions between *Eisenia andrei* (Oligochaeta) and nematode populations during vermicomposting. Pedobiologia, 47:53-60.
- 9- Edwards, C. 1998. The use of earthworms in the breakdown and management of organic wastes. In Earthworm Ecology (ed., C.A. Edwards). St. Lucie Press: Boca Raton, Florida.
- 10- Edwards, C. A., and P. J. Bohlen, 1996. Biology and ecology of earthworms. Springer Science & Business Media. Chapman and Hall, London.
- 11- Elvira, C., M. Goicoechea, L. Sampedro, S. Mato. and R. Nogales. 1996. Bioconversion of solid paper-pulp mill sludge by earthworms. Bioresource Technology, 57:173-177.
- 12- Gesari, S., Sh. Danesh, and J. Abedini-Targhabeh. 2009. Applicability of vermicomposting process in recycling of vegetables wastes (case study- vegetables wastes from the city of Mashhad). Journal of Agricultural Science Research. 16(2). 181-188. (In Persian)
- 13- Ghosh, M., G. Chattopadhyay, and K. Baral. 1999. Transformation of phosphorus during vermicomposting. Bioresource Technology, 69:149-154.
- 14- Gunadi, B., and C. A. Edwards. 2003. The effects of multiple applications of different organic wastes on the growth, fecundity and survival of *Eisenia fetida* (Savigny) (Lumbricidae). Pedobiologia. 47:321-329.
- 15- Hamed, M., A. Taghizadeh, and Y. Mehmannaavaz. 2011. The determination of nutritive value of fruit and vegetable wastes using of in situ technique. The 1th International and the 4th National Congress on Recycling of Organic Waste in Agriculture in Isfahan, Iran. (In Persian)
- 16- Boda, K. 1990. Nonconventional feedstuffs in the nutrition of farm animals. Developments in animal and veterinary sciences, Elsevier Science Publishers, Amsterdam. 258 pp.
- 17- Kamalak, A. 2006. Determination of nutritive value of leaves of a native grown shrub, *Glycyrrhiza glabra* L. using in vitro and in situ measurements. Small Ruminant Research, 64:268-278.
- 18- Kardan Moghadam, V., M. H. Fathi-Nasri, R. Valizadeh, and H. Farhangfar. 2015. Growth Nutritive Value of Saffron Residues Harvested at Different Stages by in situ and in vitro (Gas Production) Methods. Iranian Journal of Animal Science Research. 6(1):32-44. (In Persian)
- 19- Khan, A. A. 2006. Vermicomposting of poultry litter using *Eisenia foetida*, Oklahoma State University.
- 20- Loh, T., Y. Lee, J. Liang, and D. Tan. 2005. Vermicomposting of cattle and goat manures by *Eisenia foetida* and their growth and reproduction performance. Bioresource Technology, 96:111-114.
- 21- Marino, C. B., B. Hector, P. H. Mazza, L. M. Rodrigues, B. Oliveira, P. Marques, E. J. Meyer, D. S. Alves, and E. R. Ørskov, 2010. Characterization of vegetables and fruits potential as ruminant feed by in vitro gas production technique. Livestock Research for Rural Development. 22(9):48-56.
- 22- Mehrdadfar, M. 1988. Breeding earthworms. Journal of agriculture (olive), 73:28-36. (In Persian)
- 23- Men, B. X., B. Ogle, and T. R. Preston, 2007. Recycling organic wastes to produce earthworms as a protein supplement in diets for poultry and fish. MEKARN Regional Conference: Matching Livestock Systems with Available Resources.
- 24- Mitchell, A. 1997. Production of *Eisenia fetida* and vermicompost from feed-lot cattle manure. Soil Biology and Biochemistry, 29:763-766.
- 25- Natarajan, N., and K. S. N. Devi. 2014. The use of earthworm *Eudrilus eugeniae* in the breakdown and management of poultry waste. Growth 3: 40-43.
- 26- Ndegwa, P. M., and S. Thompson. 2000. Effects of C-to-N ratio on vermicomposting of biosolids. Bioresource Technology, 75:7-12.
- 27- NRC. 1985. Nutrient Requirements of Sheep, 6th Revised Edition, book chapter7.
- 28- Recycled Organics Unit 2007. Second Edition, the University of New South Wales Sydney Australia 1466.
- 29- Roeper, H., S. Khan, I. Koerner, and R. Stegmann. 2005. Low-tech options for chicken manure treatment and

- application possibilities in agriculture, Proceedings Sardinia, Tenth International Waste Management and Landfill Symposium, pp. 3-7.
- 30- Rostami, R., A. Nabaey, A. Eslami. 2008. Survey of Optimal Temperature and Moisture for Worms Growth and Operating Vermicompost Production of Food Wastes. Iranian Journal of Health and Environment, (Issue 2). (In Persian)
- 31- Sadeghi, K., A. Taghizadeh., S. Alijani., and F. Pranian. 2016. Determination of chemical compositions and nutritive values of the vermicompost produced by the rumen content supplementing with cattle dung, oyster mushroom (*Pleurotus pulmonarius*) and vegetable waste using in vitro gas production technique. Iranian Journal of Animal Science Research. 26(1):106-117. (In Persian)
- 32- Samavat, S. 2002. How vermicompost production of agricultural and urban waste. Research Institute of the Water and Soil. Organization of research, education and promoting agriculture, Agriculture. [In Persian]
- 33- SAS Institute Inc. 2003. SAS/STAT User's Guide: Version 9.1th edn. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
- 34- Satchell, J. 2012. Earthworm ecology: from Darwin to vermiculture. Springer Science & Business Media. Chapman & Hall. London.
- 35- Sherman, R. 2003. Raising earthworms successfully. North Carolina Extension Service, North Carolina State University USA.
- 36- Stolina, M. 1976. *Pleurotus ostreatus* (jacqu). Zbornik prednasek z technologickych seminaru o houbach. (Proceeding of seminars on mushrooms). pp. 67-77.
- 37- Taghizadeh, A., H. Janmohammadi, and M. Besharati. 2012. Estimation of degradability and fermentation characteristics of some feedstuffs using in vitro and in situ techniques. Iranian Journal of Animal Science Research. 22(4):1-16. [In Persian]
- 38- Theurer, C. B., J. T. Huber, A. D. Elorduy, and R. Wanderley. 1999. Invited review: Summary of steam-flaking corn or sorghum grain for lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. 82:1950– 1959.
- 39- Van-Soest, P. J. 1973. Collaborative study of acid detergent fiber and lignin. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 56:781-784.
- 40- Van-Soest, P. J., J. Robertson, and B. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74:3583-3597.
- 41- Van-Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant, 2nd ed. Cornell Univ. Press. Ithaca, NY, USA.
- 42- Yousefi, Z., A. I. Amouei, H. Asgharnia, A. Nemat, and M. Vaezzadeh. 2011. Compost Production from Household Solid Wastes by Earthworms. Journal of Babol University in Medical Science, 14(1):30-35. (In Persian)



Effects of Application of Vegetable and Mushroom Waste on Chemical Composition and in situ Degradability of Rumen Content in Vermicomposting

K. Sadeghi^{1*}- A. Taghizadeh²- H. Janmohammadi² – G. A. Moghadam²

Received: 22-12-2016

Accepted: 29-05-2017

Introduction Vermicomposting is the process of composting organic materials using various worms to decomposing vegetable, food waste, bedding materials and many organic waste materials. Many wastes and residues have been used to produce vermicompost. Using variety of left over products such as vegetable cuttings, food wastes and manure from cattle and chickens for vermicomposting can inhibit environmental pollution while producing valuable vermicompost. However, worms require specific conditions for activity and composting. Vermicast (worm manure) is the end product of the breakdown of organic matter by earthworms which usually applies as an organic and natural fertilizer. Due to appropriate protein and organic matter of vermicast or vermicompost, it is maybe possible to use vermicompost as a feedstuff in ruminant animals such as low producing cattle, sheep and goats. Then, the aim of the current research was to investigate the possibility of using rumen content which has been enriched with organic wastes (fruits and vegetables waste, oyster mushroom wastes) as a decomposing material for worms and nutritive value of the produced vermicompost for ruminants.

Materials and Methods Experimental treatments were T₁: rumen contents (control), T₂: 60% rumen contents + 40% fruits & vegetables wastes, T₃: 60% rumen contents + 40% oyster mushroom wastes, T₄: 60% rumen contents + 20% fruits & vegetables wastes + 20% oyster mushroom wastes. Three boxes (65×35×30 cm) were made for each treatment and 8 kg of materials and 80 grams of worms (200 worms) were added to one of them. The boxes were kept for 75 days in a room with 25°C temperature and 65-70% of relative humidity. After 75 d, a sample of each replicated was chosen for pH and dry matter analysis. Another sample from each replicated was grounded and analyzed for chemical composition (crude protein, ash, crude fiber, neutral detergent fiber, acid detergent fiber) and gas production measurement. Gas volume was recorded at 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48, 72 and 96 h of incubation. The kinetics of in situ was estimated using model: $P=a+b(1-e^{-ct})$. The effective degradability of dry matter and crude protein to feed was calculated by the following equation $ED = a+bc/(c+k)$. Rumen rate of passage k which to calculated effective degradability of this study, from rate of 2, 5 and 8 percent per hour was used.

Results and Discussion Vermicomposting efficiency was lower in T₄ and higher in T₂ and T₃ treatments when compared with T₁. The highest and lowest vermicomposting efficiency was in T₃ and T₄ treatments, respectively. Moreover, T₃ treatment showed the highest crude protein and crude fat concentrations among the treatments. T₃ treatment also had the lowest ash, crude fiber, neutral detergent fiber and acid detergent fiber concentrations among the treatments. The values of pH after 75 days were 6.76, 6.15, 7.55 and 7.02, respectively. The concentrations of crude protein for T₁ to T₄ were 16.50, 17.44, 17.05 and 18.45%, respectively. Also, the concentrations of neutral detergent fiber for T₁ to T₄ were 41.5, 40.18, 41.42 and 38.87%, respectively. Moreover, the concentrations of acid detergent fiber for T₁ to T₄ were 27.33, 26.11, 28.64 and 26%, respectively. The results of effective degradability of dry matter with a pass rate 0.02, 0.05 and 0.08 with the highest in the T₄, 62.90, 46.45 and 38.10 percent respectively, And reported effective degradability of crude protein, with same pass rate, 62.37, 41.25 and 35.12 percentage respectively (P<0.01). The results showed that by mixing appropriate amounts of organic wastes (cellulosic resources) with the contents of the rumen to produce

1- MSc Graduated of Ruminant Nutrition, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

2- Professor Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

(*Corresponding Author Email: kian.sadeghi@ut.ac.ir)

vermicompost with good nutritional value (energy and high protein) can be used as animal feed.

Conclusion The results of this study show that using up to 20% fruits & vegetables wastes + 20% oyster mushroom wastes in vermicomposting rumen content can produce vermicompost with great nutritive value (higher protein and lower fiber concentration) and high digestibility and energy content, which can be used in ruminants nutrition.

Keywords: In Situ, Rumen content, Vermicompost, Wastes residues.



تاثیر نانو ذرات اکسید روی بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خونی و برخی آنزیم‌های سرمی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

جمال سیف دواتی^{۱*} - مطلب جهان آرا^۲ - صیاد سیف زاده^۲ - حسین عبدی بنمار^۱ - فرزاد میرزایی آقچه قشلاق^۱ - رضا سید

شریفی^۱ - وحید واحدی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۴/۱۲

چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی اثر نانواکسید روی بر عملکرد رشد و فراسنجه‌های خونی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین بود. بدین منظور تعداد ۲۴ راس گوساله هلشتاین با میانگین سنی ۱ الی ۱۰ روز و میانگین وزنی 38 ± 2 در قالب طرح کاملاً تصادفی انتخاب و به مدت ۷۰ روز اجرا گردید. در جیره گوساله‌ها سه سطح از مکمل نانواکسید روی شامل صفر (شاهد)، ۳۰ و ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک به بخش کنسانتره‌ای افزوده شد. گوساله‌ها هر دو هفته یک بار وزن کشی شدند و جهت اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی در روزهای ۳۰ و ۷۰ آزمایش، از آن‌ها خونگیری به عمل آمد. نتایج نشان داد که استفاده از سطوح مختلف نانواکسید روی تاثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک نداشت. نتایج مکمل کردن نانواکسید روی بر جیره آزمایشی گوساله‌های شیرخوار اثر معنی‌داری بر وزن نهایی و افزایش وزن روزانه گوساله‌های شیرخوار داشت ($P < 0.05$). در حالی که ضریب تبدیل خوراک تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. تفاوت معنی‌داری بین غلظت فراسنجه‌های خونی (گلوکز، کلسترول، تری گلیسیرید، آلبومین، اوره، آلکالین فسفاتاز، آسپارات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز، گلوبولین و فعالیت آنتی اکسیدانی کل، گلوکاتایون پراکسیداز، کاتالاز مشاهده نشد ($P < 0.05$). نتایج این مطالعه نشان داد که مکمل کردن نانواکسید روی در جیره آزمایشی وزن بدن، افزایش وزن روزانه و غلظت سوپراکسید دسموتاز را در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین بهبود بخشید.

واژه‌های کلیدی: عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی، گوساله هلشتاین، نانو اکسید روی.

مقدمه

ذخیره بیش از حد عنصر روی را در بافت‌ها نداشته بنابراین تامین روزانه آن از طریق جیره غذایی می‌تواند موثر واقع شود (۳۰). روی جزو عناصر کم مصرف بوده که برای فعالیت چندین سیستم آنزیمی ضروری است. روی جزئی از آنزیم آلکالین فسفاتاز بوده و فعالیت این آنزیم برای رشد و نمو ضروری است (۲). روی برای عملکرد فیزیولوژیکی مناسب بدن همچون رشد طبیعی (۵)، تولیدمثل (۴۳)، سنتز DNA، تقسیم سلولی و بیان ژن (۳۳)، فرآیندهای فتوشیمیایی (۴۱)، بهبود زخم (۵۲)، استخوان سازی (۳۵) و افزایش سیستم ایمنی بدن (۵۲) ضروری می‌باشد. جذب روی در بدن به مقدار ناچیز و در سنین مختلف متفاوت بوده به طوری که جذب خالص روی در گاوهای بالغ ۱۲ درصد، گوساله‌های ۵ تا ۱۲ ماهه ۲۰ درصد و در گوساله‌های ۱۲ ماه به بعد ۵۵ درصد گزارش شده است که عمدتاً از شیردان و روده کوچک جذب می‌شود (۲۷). روی را می‌توان در جیره غذایی به عنوان نمک های معدنی مانند اکسید روی، روی سولفات و

عنصر روی دومین ماده معدنی کم نیاز در بدن می باشد که در بدن ذخیره شده و تنظیم کننده مصرف خوراک نیز می‌باشد (۵۱). در بسیاری از اعمال حیاتی بدن از جمله رشد، ساختمان هورمون‌ها، ویتامین و آنزیم‌های بدن مداخله و نقش ایفا می‌کند و وجود آن در جیره حیوانات ضروری است (۱۸، ۳۲ و ۴۲). بدن حیوانات ظرفیت

۱- دانشیاران گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، ایران.

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشجوی دکتری دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

۳- استادیار علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی منان دانشگاه محقق اردبیلی، ایران.

(*)-نویسنده مسئول:

(Email: jseifdavati@uma.ac.ir

DOI: 10.22067/ijasr.v1397i1.62376

همچنین به صورت املاح آلی مانند پروپینوات روی و استات روی استفاده کرد. گزارش‌ها نشان داده است که زیست‌فراهمی روی در منابع آلی بالاتر از نمک‌های روی معدنی است، اما استفاده از آن در جیره غذایی حیوانات به دلیل هزینه بالاتر محدود است (۵۲). سوزا و همکاران (۳۸) با بررسی اثرات منابع مختلف روی در موش‌ها اظهار داشتند گروهی که منابع آلی (روی - متیونین) دریافت کرده بودند غلظت روی بیشتری در بدنشان در مقایسه با منابع معدنی (سولفات روی) ذخیره شده بود. که نشان از زیست‌فراهمی بالای مواد معدنی آلی بود. درسلر و همکاران (۱۰) بیان کردند که استفاده از متیونین - روی در جیره گوساله غلظت ایمینوگلوبولین G را در مقایسه با فرم معدنی روی افزایش داد. تلیسه‌های مکمل شده با منابع آلی از روی غلظت روی محلول در شکمبه‌ای بیشتری در مقایسه با منابع معدنی روی داشتند. یکی دیگر از محدودیت‌هایی که برای استفاده از این عنصر به شکل معدنی پیشنهاد کرده‌اند انتقال سطوح بالاتر آن به محیط است که باعث آلودگی محیط زیست می‌شود (۱۳). از طرفی استفاده از فناوری نانو برای تولید نانو ذره روی با عنوان نانو روی یک جایگزین بالقوه برای هر دو منبع روی آلی و معدنی است. استفاده از نانو روی نتایج بهتری در مقایسه با منابع مرسوم روی نشان داده و همچنین سمیت کمتری را دارا می‌باشد (۳۶ و ۴۵). کاهش اندازه ذرات در مقیاس نانو و افزایش نسبت سطح به حجم در ترکیبات نانو، باعث افزایش سطح تماس نانوذرات با بیومولکول‌ها شده و همچنین سبب شده است تا فاعل و انفعالات شیمیایی این مواد با مولکول‌های آلی و معدنی در بدن به طور متفاوتی صورت گیرد (۱۹). نانواکسید روی برای اولین بار در صنعت غذایی به عنوان افزودنی ضد میکروبی در صنایع بسته بندی مواد غذایی استفاده شده است (۱۶). استفاده از منابع معدنی و آلی در گوساله‌های پرواری ممکن است عملکرد، صفات لاشه و کیفیت گوشت را تحت تاثیر قرار دهد (۱۵، ۳۹ و ۴۶). گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد استفاده از نانو اکسید روی در جیره خوک‌ها سبب کاهش شیوع اسهال گردیده است (۲۰ و ۴۹). در رابطه با اثرات نانو اکسید روی بر عملکرد گوساله‌ها تحقیقات کمی صورت گرفته است و با توجه به پیشرفت فناوری در صنایع مختلف ضروری است که امکان استفاده از این ترکیبات به عنوان مکمل خوراکی و اثرات آن در دام بررسی شود. بنابر این هدف از این تحقیق بررسی اثرات استفاده از نانو ذرات اکسید روی بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خونی و برخی آنزیمی‌های سرمی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در ایستگاه پرورش گوساله مجتمع دامپروی کشت و صنعت پارس واقع در شهرستان پارس آباد، استان اردبیل اجرا

گردید. بدین منظور، تعداد ۲۴ رأس گوساله نر هلشتاین، با میانگین وزنی 2 ± 38 کیلوگرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۸ تکرار به مدت ۷۰ روز بررسی شدند. گوساله‌ها ۴ روز پس از تولد به باکس‌های انفرادی ضد عفونی شده که دارای بستری از کلس بودند، منتقل شدند. گوساله‌ها در طول زمان شیرخوارگی روزانه با دو وعده شیر در ساعت‌های ۸:۰۰ و ۱۹:۰۰ به میزان ۲/۵ کیلوگرم در هر وعده تغذیه می‌شدند. در جیره گوساله‌ها سه سطح از مکمل نانواکسید روی شامل صفر (شاهد)، ۳۰ و ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک (به ترتیب معادل صفر، ۲۳/۷ و ۴۷/۴ میلی گرم روی در کیلوگرم ماده خشک) به بخش کنسانتره‌ای افزوده شد. تمام گوساله‌ها از روز ۵ آزمایش با کنسانتره آغازین تغذیه شدند و از هفته سوم یونجه خشک مرغوب با ترکیب شیمیایی (ماده خشک ۸۹ درصد، پروتئین خام ۱۵ درصد، الیاف نامحلول در شوینده خنثی ۵۰ درصد و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ۳۷ درصد) به نسبت ۱۰ درصد یونجه خشک و ۹۰ درصد جیره آغازین مخلوط شده و در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره آغازین در جدول ۱ ارائه شده است. مکمل نانواکسید روی لازم از شرکت پیشگامان مشهد تولیدی شرکت US Research Nanomaterials, Inc آمریکا (بیشتر از ۹۹ درصد نانواکسید روی، کمتر از ۳ قسمت در میلیون مس، کمتر از ۳ قسمت در میلیون منگنز، کمتر از ۳ قسمت در میلیون سرب) تهیه شدند. به منظور مخلوط کردن مقادیر نانواکسید روی در خوراک آغازین، ابتدا یک پیش مخلوط با استفاده از ذرات آسیاب شده تهیه شده و سپس پیش مخلوط یا خوراک آغازین مخلوط شد. ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر کنسانتره آغازین گوساله بر اساس روش‌های AOAC (۳) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی با روش ون سوست و همکاران (۴۴) تعیین شدند. مقادیر عناصر معدنی شامل کلسیم، فسفر، روی و مس موجود در مواد خوراکی با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل HGA-600، 5100، ساخت کشور آمریکا) اندازه گیری شد. برای این منظور حدود ۵/۰ گرم از ماده خوراکی وزن کشی شده و در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۲ ساعت به خاکستر خشک تبدیل شدند. سپس نمونه خاکستر خشک در ۰/۶ مول بر لیتر هیدروکلرید اسید حل و در بطری‌های حجمی با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر آورده شدند.

نحوه جمع آوری داده‌ها

در طول دوره آزمایشی، جیره‌های غذایی پس از توزین روزانه در دو نوبت (صبح و بعد از ظهر) در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. جهت تعیین مقدار خوراک مصرفی، قبل از ریختن خوراک وعده صبح، باقیمانده خوراک روز قبل جمع آوری و ثبت شد. جهت بررسی

پارس آزمون، ایران) و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر مدل CS-400 انجام شد. فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز در نمونه‌های جمع‌آوری شده پلاسما با استفاده از کیت RANSEL (شرکت RANDOX، انگلیس) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده کیت و توسط دستگاه اسپکتوفتومتری اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش کوهن (۷) استفاده شد.

آنالیز آماری داده‌ها

داده‌ها مربوط به فراسنجه‌های خونی و آنزیمی از رویه GLM و تجزیه تحلیل داده‌های تکرار شونده (وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی) از رویه Mixed و با استفاده از نرم افزار SAS آنالیز شدند. و برای داده‌های تکرار شونده مقایسه میانگین‌های حداقل مربعات در سطح ($P < 0.05$) توسط آزمون توکی صورت گرفت.

تغییرات وزن گوساله‌ها، پس از تعیین وزن همه گوساله‌ها در ابتدای آزمایش، گوساله‌ها همچنین در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲، ۵۶ و ۷۰ وزن‌کشی شدند.

در روزهای ۳۰ و ۷۰ آزمایش، در حدود ۴ الی ۵ ساعت پس از وعده غذایی صبح از طریق سیاهرگ وادج از تمامی گوساله خونگیری انجام شد. خون گرفته شده در دو لوله جداگانه یکی حاوی هپارین برای بدست آوردن پلاسما و دیگری بدون هپارین برای سرم ریخته شد. نمونه‌های خون پس از انتقال به آزمایشگاه، به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شده (با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه) و پلاسما یا سرم آن‌ها جدا شدند. نمونه‌های پلاسما و سرم تا زمان اندازه‌گیری، در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. اندازه‌گیری گلوکز، اوره، کلسترول، تری‌گلیسرید، آلبومین، پروتئین کل، آنزیم آلکالین فسفاتاز، آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در نمونه‌های جمع‌آوری شده سرم با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت

جدول ۱- ترکیب شیمیایی جیره غذایی (استارتر) و درصد اجزای تشکیل دهنده آن
Table 1-The chemical composition of the diet (starter) and its components (%)

اقلام خوراکی Feed ingredients	درصد %	ترکیب شیمیایی The chemical composition	
ذرت Corn	43.0	ماده خشک (درصد) Dry matter (%)	89.0
جو Barley	15.0	پروتئین (درصدی از ماده خشک) Protein (%DM)	18.1
گندم Wheat	2.0	عصاره اتری (چربی) (درصدی از ماده خشک) Ether extract (fat) (%DM)	3.3
کنجاله سویا Soybean meal	37.8	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصدی از ماده خشک) Neutral detergent fiber (%DM)	12.9
نمک Salt	0.2	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصدی از ماده خشک) Acid detergent fiber (%DM)	5.8
پودر صدف Oyster shell	1.0	خاکستر (درصدی از ماده خشک) Ash (%DM)	6.2
مکمل مواد معدنی ^۱ Mineral supplement ¹	0.5	کلسیم (درصدی از ماده خشک) Calcium (%DM)	0.7
مکمل ویتامینه Vitamin Supplement	0.4	فسفر (درصدی از ماده خشک) Phosphorus (%DM)	0.5
مایکوزورب Myco ZurB	0.1	روی (میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) Zn (mg/kg DM)	72.0
-	-	مس (میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) Copper (mg/kg DM)	16.0

^۱ ترکیب مکمل ویتامینه: ویتامین A، ۵۰۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم؛ ویتامین E، ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم؛ ویتامین D₃ ۱۰۰۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم؛ ترکیب مکمل معدنی: کلسیم ۱۹۵۰۰۰ میلی گرم؛ فسفر ۹۰۰۰۰ میلی گرم؛ منیزیم ۹۰۰۰۰ میلی گرم؛ سدیم ۵۵۰۰۰ میلی گرم؛ روی ۳۰۰۰ میلی گرم؛ آهن ۳۰۰ میلی گرم؛ منگنز ۲۰۰۰ میلی گرم؛ مس ۲۸۰ میلی گرم؛ کبالت ۱۰۰ میلی گرم؛ سلنیوم ۱ میلی گرم؛ آنتی اکسیدانت ۴۰۰ میلی گرم.

¹The combination of vitamins: Vitamin A, 500000 IU per kg, vitamin E, 100 mg per kg, vitamin D₃ 100000 IU per kg, combined mineral supplement: 195000 mg calcium, phosphorus 90,000 mg; 90 000 mg of magnesium; 55,000 mg sodium, zinc 3,000 mg; 300 mg of iron, manganese 2000 copper 280 mg, 100 mg cobalt, selenium 1 mg; 400 mg of antioxidants.

نتایج و بحث

مصرف خوراک شروع کننده

اثر استفاده از نانواکسید روی بر وزن نهایی بدن، افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک گوساله‌های هلشتاین در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج بدست آمده نشان داد که افزودن نانواکسید روی مصرف خوراک گوساله‌های هلشتاین را در مقایسه با گروه شاهد تحت تاثیر قرار نداد. زابلی و همکاران گزارش کردند که مکمل کردن نانو اکسید روی اثری بر مصرف خوراک بزها نداشت (۵۰). به طوری که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. ورایت و اسپیرز (۴۸) با بررسی اثرات منابع مختلف روی نشان دادند که افزودن روی تاثیری بر مصرف خوراک گوساله‌های هلشتاین نداشت. همچنین کینکاید و همکاران (۲۳) مشاهده کردند که افزودن ۳۰۰ قسمت در میلیون اکسید روی اثر مشابهی بر مصرف خوراک گوساله‌های از شیر گرفته شده در مقایسه با گروه شاهد داشت. پوچالا و همکاران (۳۴) نشان دادند که استفاده از ۱۵۰ میلی گرم اکسید روی در مقایسه با گروه شاهد اثر افزایشی بر مصرف خوراک بزها داشت. گزارش شده است که استفاده از نانو اکسید روی سبب افزایش عملکرد رشدی و بهبود مصرف خوراک در خوک‌های شیرخوار و جوجه‌های گوشتی شده است (۲۸، ۴۹). خان (۲۲) با افزایش مقدار روی جیره غذایی از ۲۶/۰۲ به ۸۵/۶۷ میلی گرم بر کیلوگرم ماده خشک، تاثیری بر ماده خشک مصرفی گوساله‌ها مشاهده نکردند. مک دونالد (۲۶) بیان کردند که کمبود روی در حیوانات با محدود شدن رشد و کاهش مصرف خوراک نمایان می شود به طوری که در حیوانات تغذیه شده با یک جیره نامتعادل از نظر میزان روی، مصرف خوراک با گذشت ۴ الی ۵ روز کاهش می یابد (۲۶).

میانگین وزن نهایی و افزایش وزن روزانه

افزودن مکمل نانواکسید روی وزن نهایی بدن و افزایش وزن روزانه گوساله‌های شیرخوار را تحت تاثیر قرار داد (جدول ۲). بطوریکه نتایج نشان داد که مکمل کردن جیره با نانو اکسیدروی تاثیر معنی داری بر وزن نهایی و افزایش وزن روزانه داشت ($P < 0.05$) و نبین و همکاران (۴۷) گزارش کردند که استفاده از سولفات روی و متیونین روی اثر معنی داری بر افزایش وزن روزانه در مقایسه با گروه شاهد داشت. در مطالعه‌ای بر روی گوساله‌های پرواری افزودن ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم روی به صورت اکسید روی و پروتئینات روی بر میانگین افزایش وزن روزانه در دوره رشد اثر افزایشی داشت (۴۰). ماندال و همکاران (۲۵) نیز در گوساله تغذیه شده با مکمل روی تاثیر معنی داری در وزن بدن مشاهده نکردند. ورایت و اسپیرز (۴۸) گزارش کردند که وزن نهایی بدن و افزایش وزن روزانه گوساله‌های که منابع مختلف روی دریافت کرده بودند اثر معنی داری نسبت به گروه شاهد

نداشت. انگل و همکاران (۱۲) با افزودن ۱۷ میلی گرم روی تاثیری معنی داری بر افزایش وزن روزانه گوساله‌های شیرخوار مشاهده نکردند. در پژوهشی زابلی و همکاران (۵۰) با مکمل کردن ۲۰ و ۴۰ قسمت در میلیون اکسید روی و نانو اکسید روی اثر معنی داری بر افزایش وزن بزهای آنقوره ایرانی (مرخز) مشاهده نکردند. اسپیرز و همکاران (۴۰). در بررسی اثرات منابع مختلف روی بر عملکرد رشدی از جمله وزن بدن بیان کردند عنصر روی به فرم آلی متفاوتی از فرم معدنی متابولیزه شده و در نتیجه آن برخی فرایندهای متابولیک می‌تواند تغییر کند. ماندال و همکاران (۲۵) گزارش کردند که بهبود عملکرد رشدی بره‌های پرواری که مکمل آلی روی دریافت کرده بودند نیز احتمالاً ناشی از افزایش زیست فراهمی آن‌ها باشد.

ضریب تبدیل غذایی

داده‌های مربوط به افزودن مکمل نانو اکسید روی در جیره گوساله‌های شیرخوار بر ضریب تبدیل خوراک در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که استفاده از نانواکسیدروی تاثیری معنی داری بر ضریب تبدیل غذایی نداشت. گارج و همکاران (۱۴) بهبود در ضریب تبدیل غذایی و میانگین افزایش وزن روزانه بره‌های مکمل شده با ۲۰ میلی گرم روی در کیلوگرم ماده خشک به صورت روی متیونین در مقابل گروه کنترل را گزارش کرده اند. اسپرس و کجلی (۳۹) با مکمل کردن روی در جیره گوساله‌ها اثر معنی داری بر ضریب تبدیل غذایی مشاهده نکردند. ملاکی و همکاران (۲۴) نیز با بررسی اثرات منابع آلی و معدنی روی گزارش کردند که منابع آلی روی ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با فرم معدنی بهبود می‌بخشد. دروک و همکاران (۱۱) و دی و گارگ (۸) اظهار داشتند که عدم تاثیر منابع روی بر ضریب تبدیل غذایی احتمالاً ناشی از سطوح نامناسب منابع روی باشد.

فراسنجه‌های خونی

اثر استفاده از سطوح مختلف نانواکسید روی بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌های هلشتاین در جدول ۳ ارائه شده است. همان طور که ملاحظه می شود غلظت گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، آلبومین، پروتئین کل، گلوبولین و اوره خون سرم خون تحت تاثیر سطوح مختلف نانواکسید روی قرار نگرفت ($P < 0.05$). نتایج مربوط به ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم نشان داد که استفاده از نانواکسید روی تاثیر معنی داری بر غلظت آن نداشت/ در تایید نتایج بدست آمده از این تحقیق زابلی و همکاران (۵۰) گزارش کردند که استفاده از سطوح ۲۰ و ۴۰ قسمت در میلیون نانواکسید روی بر فراسنجه‌های خونی (گلوکز، اوره آلبومین و پروتئین کل) بزهای نژاد مرغز تاثیر معنی داری در مقایسه با گروه شاهد نداشت.

جدول ۲- اثر مکمل کردن نانو اکسید روی بر عملکرد رشدی گوساله های هلشتاین

Table 2- The effect of nano-zinc oxide supplementation on growth performance of Holstein calves

فراسنجه های عملکردی رشد Growth performance parameters	۳۰ پی پی ام نانو اکسید روی			SEM	P- value
	کنترل Control	روى 30 ppm nano-zinc oxide	روى 60 ppm nano-zinc oxide		
وزن نهایی بدن (کیلوگرم) Final Body Weight (kg)	82.31	88.12	92.81	1.47	0.03
افزایش وزن روزانه کل دوره (کیلوگرم در روز) Daily Weight Gain (Kg/day)	0.741	0.850	0.833	0.02	0.006
مصرف خوراک کل دوره (کیلوگرم در روز) Feed Intake	0.877	0.904	0.921	0.03	0.67
ضریب تبدیل غذایی FCR	1.23	1.14	1.16	0.04	0.39

همراه کاهش اجزای آنتی اکسیدانی حاکی از آن است که تولید رادیکال های آزاد و استرس اکسیداتیو احتمالاً به عنوان مکانیسم اولیه در ایجاد سمیت سلولی نانو اکسید روی در سلول های کبدی مطرح می شود.

فراسنجه های آنزیمی

اثر استفاده از سطوح مختلف نانو اکسید روی بر آنزیم های سیستم ایمنی گوساله های هلشتاین در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد که مکمل کردن ۶۰ قسمت در میلیون نانو اکسید روی افزایش معنی داری بر غلظت یا فعالیت سوپراکسید دسموتاز خون در مقایسه با گروه شاهد داشت ($P < 0.05$). در حالی که غلظت هموگلوبولین، کاتالاز، گلو تاتیون پراکسیداز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین ترانسفراز خون تحت تاثیر جیره های آزمایشی قرار نگرفت ($P < 0.05$). ساهو و همکاران (۳۶) با افزودن نانو اکسید روی در جیره غذایی جوجه های گوشتی اثر افزایشی بر غلظت آلانین آمینو ترانسفراز سرم خون مشاهده کردند. استفاده از نانو اکسید روی و اکسید روی در جیره غذایی بزهای نژاد مرغز اثر معنی داری بر غلظت آلکالین فسفاتاز و لاکتات دهیدروژناز در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نکردند (۵۰). درسلا و همکاران (۱۰) بیان کردند که کاهش معنی داری در غلظت آلکالین فسفاتاز سرم گوساله های هلشتاین هنگام تغذیه متیونین روی مشاهده گردید. همچنین درسلا و همکاران (۱۰) گزارش کردند که مکمل کردن روی متیونین در جیره گوساله های هلشتاین غلظت سوپراکسید دسموتاز را در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد. یک ارتباطی بین غلظت روی سرم با غلظت سوپراکسید دسموتاز وجود دارد به طوری که با افزایش غلظت روی، غلظت سوپراکسید دسموتاز افزایش می یابد.

کسلر و همکاران (۲۱) مشاهده کردند که اثر معنی داری بر غلظت پروتئین کل، آلبومین و اوره خون در اثر تغذیه مکمل متیونین روی تلیسه ها وجود نداشت. ساهو و همکاران (۳۶) گزارش کردند که استفاده از نانو اکسید روی سبب بهبود سلامتی از طریق کاهش کلسترول در جوجه های گوشتی شد. استفاده از اشکال مختلف روی تاثیر بر غلظت آلبومین، گلوبولین و اوره گوساله ها نداشت. انگل و همکاران (۱۲) در تلیسه ها با تغذیه اشکال مختلف روی تاثیر معنی داری بر آلبومین، گلوبولین، نسبت آلبومین به گلوبولین و غلظت اوره مشاهده نکردند. پوپلا و همکاران (۳۴) بیان کردند که استفاده از مکمل روی در جیره میزان ازت اوره ای خون را تحت تاثیر قرار نداد. درسلا و همکاران (۱۰) گزارش کردند که افزودن روی متیونین تاثیر معنی داری بر غلظت آلبومین، پروتئین کل و اوره خون داشت. با توجه با اثرات با توجه به این که عنصر روی سبب کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه شده و پروتئین عبوری را بیشتر می کند، لذا عنصر روی می تواند بر متابولیسم پروتئین در بدن تاثیر گذار باشد (۲۳). از طرفی زابلی و همکاران (۵۰) بیان کردند که استفاده از عنصر روی در جیره اثری بر قابلیت هضم مواد مغذی بخصوص پروتئین خام نداشته است. همچنین عدم اثر استفاده از این عنصر در جیره بر سطح اوره خون را توجیهی بر این موضوع دانستند. ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم شاخصی است که موازنه بین پراکسیدان ها و آنتی اکسیدان ها را شرح می دهد (۶). افزایش این شاخص می تواند نشانه افزایش مقاومت ارگانیزم های زنده در برابر تنش های اکسیداتیو باشد. در این راستا عربی و همکاران (۴) گزارش کردند که استفاده از مکمل آلی روی تاثیر بر غلظت ظرفیت آنتی اکسیدانی تام بره های نر مهربان نداشت. در مطالعه ای اختر و همکاران (۱) با بررسی اثرات نانو اکسید روی بر روی سلول های کبدی گزارش کردند که تولید زیاد رادیکال های آزاد داخل سلولی تیمار شده با نانو ذرات اکسید روی به

جدول ۳- اثر مکمل کردن نانو اکسید روی بر فراسنجه های خونی گوساله های هلشتاین^۱Table 3- Effect of nano-zinc oxide supplement on blood parameters Holstein calves¹

فراسنجه های خونی Blood parameters	کنترل Control	۳۰ پی پی ام نانو اکسید روی 30 ppm nano-zinc oxide	۶۰ پی پی ام نانو اکسید روی 60 ppm nano-zinc oxide	SEM	P- value
گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر) Glucose (mg/dL)	99	100.33	109.33	4.46	0.28
کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر) Cholesterol (mg/dL)	124.26	110.33	117.33	9.12	0.57
تری گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر) Triglycerides (mg/dL)	28.00	27.66	27.66	4.26	0.99
آلبومین (گرم بر دسی لیتر) Albumin (g/dL)	4.06	4.03	4.26	0.10	0.27
پروتئین کل (گرم بر دسی لیتر) Total protein (g/dL)	6.16 ^{ab}	5.86 ^b	6.23 ^a	0.10	0.08
گلوبولین (گرم بر دسی لیتر) Globulin (g/dL)	2.10	1.66	1.96	0.12	0.11
اوره خون (میلی گرم بر دسی لیتر) Blood urea (mg/dL)	25.00	28.00	27.00	1.24	0.29
آنتی اکسیدان کل (میلی مول بر لیتر) Antioxidants total (mmol)	0.436	0.510	0.490	0.05	0.61

^۱ میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$).¹ Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).جدول ۴- اثر استفاده از سطوح مختلف نانو اکسید روی بر فعالیت سیستم آنزیمی گوساله های هلشتاین^۱Table 4 - The effect of different levels of nano zinc oxide on activity of enzyme systems Holstein calves¹

فعالیت سیستم آنزیمی Activity of enzyme systems	کنترل Control	۳۰ پی پی ام نانو اکسید روی 30 ppm nano-zinc oxide	۶۰ پی پی ام نانو اکسید روی 60 ppm nano-zinc oxide	SEM	P- value
سوپراکسید دسموتاز (واحد بر گرم) Superoxide dismutase (U/g)	1067.5 ^b	1378.9 ^{ab}	1776.3 ^a	7.89	0.04
گلوکوتایون پراکسیداز (واحد بر گرم) Glutathione peroxidase (U/g)	33.20	34.03	34.03	6.56	0.75
هموگلوبین (گرم بر لیتر) Hemoglobin (g/L)	12.50	12.53	12.06	1.51	0.19
کاتالاز (واحد بر لیتر) Catalase (U/L)	27.16	23.93	26.20	3.70	0.12
آسپاراتات آمینوترانسفراز (واحد بر لیتر) Aspartate amino transferase (U/L)	62.32	56.33	59.00	5.05	0.71
آلانین ترانسفراز (واحد بر لیتر) Alanine transferase (U/L)	14.33	16.33	16.00	0.72	0.19
آلکالین فسفاتاز (واحد بر لیتر) Alkaline phosphatase (U/L)	9.02	9.49	9.14	1.34	0.95

^۱ میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$).¹ Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

را کاتالیز می کند. اثر کاتالاز معمولاً در حضور پراکسیدهای حاصل از اسیدچرب های طویل زنجیر تشدید می شود. ساوایی و همکاران (۳۷) تاثیر رادیکال های اکسیژن تولید شده توسط اکسید روی را در ایجاد اثر ضد میکروبی آن بررسی کردند. آن ها به این نتیجه رسیدند که تولید پراکسید هیدروژن موجب بروز اثر ضد میکروبی شده و با افزایش

گزارش شده است که با مکمل کردن روی میزان سوپراکسید دسموتاز افزایش یافته است. سوپراکسید دسموتاز به عنوان اولین سد دفاعی داخل سلولی در برابر عوامل اکسیدکننده محسوب می شود که واکنش آنیون سوپراکسید به پراکسید هیدروژن را کاتالیز می کند. در مرحله بعد، کاتالاز واکنش تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن

نتیجه گیری

افزودن نانواکسید روی بر عملکرد رشدی، متابولیت‌های خونی و برخی آنزیمی‌های سرمی بر گوساله‌های شیرخوار هلشتاین نشان می‌دهد که مکمل کردن نانواکسید روی مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تحت تاثیر قرار نداد. در حالی که وزن نهایی و افزایش وزن روزانه در گروه‌های دریافت کننده مکمل نانواکسید روی را بهبود بخشید. همچنین نتیجه‌گیری می‌شود که افزودن مکمل نانواکسید روی در جیره آزمایشی فراسنجه‌های خونی و آنزیمی به جز سوپراکسید دسموتاز را تحت تاثیر قرار نداد.

اکسید روی غلظت پراکسید هیدروژن تولید شده نیز به صورت خطی افزایش می‌یابد. نگاشته می‌یابد. همکاران (۲۹) استفاده از روی به میزان ۲۹ قسمت در میلیون به صورت سولفات روی و پروتئینات روی باعث افزایش غلظت سوپراکسید دسموتاز خون می‌شود. آنزیم سوپراکسید دسموتاز در ساختمان خود حاوی عنصر روی بوده و کاهش فعالیت این آنزیم در غشای سلول‌های بدن از جمله گلبول‌های قرمز منجر به افزایش آسیب‌های ناشی از محصولات تنش‌های اکسیداتیو می‌شود (۱۷). در رابطه با عدم تاثیر معنی داری آلکالین فسفاتاز گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد فعالیت آلکالین فسفاتاز در بدن تحت تاثیر فاکتورهای متعددی قرار می‌گیرد و تنوع زیادی در غلظت آن مشاهده می‌شود، بنابر این نمی‌تواند شاخص مناسبی از غلظت روی بدن باشد (۹).

منابع

- 1- Akhtar, M. J., M. Ahamed, S. Kumar, M. M. Khan, J. Ahmad, and S. A. Alrokayan. 2012. Zinc oxide nanoparticles selectively induce apoptosis in human cancer cells through reactive oxygen species. *International Journal of Nanomedicine*, 7:845-57.
- 2- Anderwartha, K. A., and I. W. Caple. 1980. Effects of changes in nutritional copper on erythrocyte superoxide dismutase activity in sheep. *Research in Veterinary Science*, 28(1):101-104.
- 3- AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- 4- Arabi, F., M. Imandar., M. Negahdary, M. Imandar, M. T. Noughabi, and H. Akbari-dastjerdi. 2012. Investigation anti-bacterial effect of zinc oxide nanoparticles upon life of *Listeria monocytogenes*. *Annals of Biological Research*, 3(7): 3679-3685.
- 5- Case, C. L., and M. S. Carlson. 2002. Effect of feeding organic and inorganic sources of additional zinc on growth performance and zinc balance in nursery pigs. *Journal of Animal Science*, 80(7):1917-1924.
- 6- Castillo, C. J., L. Hernandez, V. Valverde, J. Pereira, M. Sotillo, A. Lopez, and J. L. Benedito. 2006. Plasma malondialdehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows. *Research in Veterinary Science*, 80(2):133-139.
- 7- Cohen, G., D. Dembiec, and J. Marcus. 1970. Measurement of catalase activity in tissue extract. *Analytical Biochemistry*, 34(1): 30-8.
- 8- Dey, A., and A. K. Garg. 2004. Effect of supplementation of zinc methionine complex on growth rate and feed efficiency in weaned rats. *Indian veterinary medical journal*, 28(1): 117-120.
- 9- Dirksen, G., H. D. Gründer, and M. Stöber. 2006. Internal Medicine and Surgery of Cattle (in German), 5. Aufl., Parey Verlag, Stuttgart, 1325 p.
- 10- Dresler, S., J. Illek, and L. Zeman. 2016. Effects of organic zinc supplementation in weaned calves. *Acta Veterinaria Brunensis*, 85(1): 49-54.
- 11- Droke, E. A., G. P. Gengelbach, and J. W. Spears. 1998. Influence of level and source (inorganic vs organic) of zinc supplementation on immune function in growing lambs. *Asian Australian Journal of Animal Science*, 11(2): 139-144.
- 12- Engle, T. E., C. F. Nockels, C. V. Kimberling, D. L. Weaver, and A. B. Johnson. 1997. Zinc repletion with organic or inorganic forms of zinc and protein turnover in marginally zinc deficient calves. *Journal of Animal Science*, 75(11): 3074-3081.
- 13- Feng, M., Z. S. Wang., A. G. Zhou., and D. W. Ai. 2009. The effects of different sizes of nanometer zinc oxide on the proliferation and cell integrity of mice duodenum-epithelial cells in primary culture. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(8):1164-1170.
- 14- Garg A. K., M. Vishal, and R. S. Dass. 2008. Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization and mineral profile in lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 144(1-2): 82-96.
- 15- Genther, O. N., and S. L. Hansen. 2014. The effect of trace mineral source and concentration on ruminal digestion and mineral solubility. *Journal of Dairy Science*, 98(1):566-573.
- 16- Gerloff, K., C. Albrecht, A. W. Boots, L. Forester, and R. P. F. Schins. 2009. Cytotoxicity and oxidative DNA damage by nanoparticles in human intestinal Caco-2 cells. *Nanotoxicology*, 3(4):355-364.
- 17- Glass, G. A., and D. Gershon. 1984. Decreased enzymic protection and increased sensitivity to oxidative damage

- in erythrocytes as a function of cell and donor aging. *Biochemical Journal*, 218(2):513-537.
- 18- Gropper, S. S., J. Smith., and J. Groff. 2008. *Advanced nutrition and human metabolism*. 15th ed. Medical. P: 600.
- 19- Hernandez-Sierra, J. F., F. Ruiz, D. C. Cruz Pena, F. Martinez-Gutiérrez, A. E. Martinez, A. De Jesus Pozos Guillen, H. Tapia-Perez, and G. Martinez Castanon. 2008. The antimicrobial sensitivity of *Streptococcus mutans* to nanoparticles of silver, zinc oxide, and gold. *Nano-medicine Nanotechnology Biology and Medicine*, 4(3): 237–240.
- 20- Hongfu, Y. B. Z. 2008. Effects of Nano-ZnO on growth performance and diarrhea rate in weaning piglets. *China Feed*, 1:008.
- 21- Kessler, J., I. Morel, P. A. Dufey, A. Gutzwiller, A. Stern, and H. Geyer. 2003. Effects of organic zinc sources on performance, zinc status and carcass, meat and claw quality in fattening bulls. *Livestock Production Science*, 81(2-3): 161-171.
- 22- Khan, S. A. 1978. Interaction of copper and zinc and its influence on the metabolism of major nutrients in growing calves. PhD Thesis. Aligarh Muslim University, Aligarh.
- 23- Kincaid, R. L., B. P. Chew, and J. D. Cronrath. 1997. Zinc oxide and amino acids as sources of dietary zinc for calves: effects on uptake and immunity. *Journal of Dairy Science*, 80(7):1381-1388.
- 24- Mallaki, M., M.A. Norouzian, and A.K. Khadem. 2015. Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization, and plasma zinc status in lambs. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39(1): 75-80.
- 25- Mandal G. P., R. S. Dass, D. R. Isore, A. K. Garg, and G. C. Ram. 2007. Effect of zinc supplementation from two sources on growth, nutrient utilization and immune response in male crossbred cattle (*Bosindicus* × *Bostaurus*) bulls. *Animal Feed Science and Technology*, 138(1): 1-12.
- 26- McDonald, R. S. 2005. The Role of Zinc in Growth and Cell Proliferation. *Journal of Nutritional Science*, University of Missouri. Columbia. MO. 65211.
- 27- Miller, J. K., and R. G. Cragle. 1965. Gastrointestinal sites of absorption and endogenous secretion of zinc in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 48(3):370-173.
- 28- Mishra, A., R. K. Swain, S. K. Mishra, N. Panda, and K. Sethy. 2014. Growth performance and serum biochemical parameters as affected by nano zinc supplementation in layer chicks. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 31(4):384-388.
- 29- Nagalakshmi, D., K. Dhanalakshmi, and D. Himabindu. 2009. Effect of dose and source of supplemental zinc on immune response and oxidative enzymes in lambs. *Veterinary Research Communications*, 33(7):631–644.
- 30- Pal, D. T., N. S. Gowda, C. S. Prasad, R. Amarnath, U. Bharadwaj, G. SureshBabu, and K. T. Sampath. 2010. Effect of copper and zinc-methionine supplementation on bioavailability, mineral status and tissue concentrations of copper and zinc in ewes. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24(2): 89-94.
- 31- Parashuramulu, S., D. Nagalakshmi, D. Srinivasa Rao, M. Kishan Kumar, and P. S. Swain. 2015. Effect of zinc supplementation on anti-oxidant status and immune response in buffalo calves. *Animal Feed Science and Technology*, 15(2):179-188.
- 32- Parul, C., and P. Keith. 1998. Interactions between zinc and vitamin A. *American journal of clinical nutrition*, 68(2 Suppl): 435s-441s.
- 33- Prasad, A. S. 1991. Discovery of human zinc deficiency and studies in an experimental human model. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53(2):403-412.
- 34- Puchala, R., T. Sahl, and J. J. Davis. 1999. Effects of zinc-methionine on performance of Angora goats. *Small Ruminant Research*, 33(1):1-8.
- 35- Roughead, Z. K., and M. E. Kunkel. 1991. Effect of diet on bone matrix constituents. *The Journal of the American College of Nutrition*, 10(3): 242-248.
- 36- Sahoo, A., R. K. Swai, S. K. Mishra, and B. Jena. 2014. Serum biochemical indices of broiler birds fed on inorganic, organic and nano zinc supplemented diets. *International Journal of Current Research*, 5(11):2078-2081.
- 37- Sawai, J., E. Kawada, F. Kanou, H. Igarashi, A. Hashimoto, T. Kokugan, and M. Shimizu. 1996. Detection of active oxygen generated from ceramic powders having antibacterial activity. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 29(4): 627-633.
- 38- Souza, A. R., L. P. Martins, L. C. De Faria, M. E. P. Martins, R. N. Ferreira, A. M. L. Da Silva, E. S. Gil, and E. C. Da Conceição. 2007. Studies on the bioavailability of zinc in rats supplemented with two different zinc-methionine compounds. *Latin American Journal of Pharmacy* 26(6): 825-830
- 39- Spears, J. W., and E. B. Kegley. 1991. Effect of zinc and manganese methionine on performance of beef cows and calves. *Journal of Animal Science*, 61 (1 Suppl):59 (Abstr.).
- 40- Spears, J. W., and E. B. Kegley. 2002. Effect of zinc source (zinc oxide vs. zinc proteinate) and level on performance, carcass characteristics, and immune response of growing and finishing steers. *Journal of Animal Science*. 80(10):2747-2752.
- 41- Suchy, P., P. J. Suchy, and E. Strakov. 1998. Micro-elements in nutrition of farm animals (in Czech). *KrmivaVýziva* 3(4):18-9.

- 42- Suttle, N. 2010. Mineral nutrition of livestock, 4th Edition. Pp: 426-458, Midlothian EH26 OPZ, UK. Animal Science, 73: 1227-1238.
- 43- Uchida, K. M., P. Mandebvu, C. S. Ballard, C. J. Sniffen, and M. P. Carter. 2001. Effect of feeding a combination of zinc, manganese and copper amino acid complexes, and cobalt glucoheptonate on performance of early lactation high producing dairy cows. Animal Feed Science Technology, 93(3-4):193-203.
- 44- Van Soest, P. J, J. b. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74(10): 3583- 3597.
- 45- Wang, B., W. Y. Feng, T. C. Wang, G. Jia., M. Wang, and J. W. Shi. 2006. Acute toxicity of nano and micro-scale zinc powder in healthy adult mice. Toxicology Letters, 161(2):115-123.
- 46- Ward, J. D., and J. W. Spears. 1997. Long-term effects of consumption of low-copper Diets with or without supplemental molybdenum on copper status, performance, and Carcass characteristics of cattle. Journal of Animal Science, 75(11):3057-3065.
- 47- Wenbin, J., J. Zhihai, Z. Wei, W. Runlian, Z. Shiwei, and Z. Xiaoping. 2008. Effects of dietary zinc on performance, nutrient digestibility and plasma zinc status in Cashmere goats. Small Ruminant Research, 80(1-3): 68-72.
- 48- Wright, C. L., and J. W. Spears. 2004. Effect of zinc source and dietary level on zinc metabolism in Holstein calves. Journal of Dairy Science, 87(4): 1085–1091. 21.
- 49- Yang, Z. P., and L. P. Sun. 2006. Effects of nanometre ZnO on growth performance of early weaned piglets. Journal of Agricultural Science, 3:024.
- 50- Zaboli, K., H. Aliarabi, A. A. Bahari, and R. Abbasalipourkabir. 2013. Role of dietary nano-zinc oxide on growth performance and blood levels of mineral: a study on in Iranian Angora (Markhoz) goat kids. Journal of Pharmaceutical and Health Sciences, 2(1):19-26.
- 51- Zalewski, P. D., Q. T Ai, G. Dion, J. Lata, M. Chiara, and E. R. Richard. 2005. Zinc metabolism in airway epithelium and airway in flammation: basic mechanisms and clinical targets: A review. Pharmacology and Therapeutics, 105(2):127-149.
- 52- Zhao, C. Y., S. X. Tan, X. Y. Xiao, X. S. Qiu, J. Q. Pan, and Z. X. Tang. 2014. Effects of dietary zinc oxide nanoparticles on growth performance and antioxidative status in broilers. Biological Trace Element Research, 160(3):361-368.



The Effects of Zinc Oxide Nano Particles on Growth Performance and Blood Metabolites and some Serum Enzymes in Holstein Suckling Calves

J. Seifdavati^{1*} - M. Jahan Ara² - S. Seifzadeh² - H. Abdi Benamar¹ - F. Mirzaie Aghjeh Gheshlagh¹ - R. Seyedsharifi¹ - V. Vahedi³

Received: 06-02-2017

Accepted: 03-07-2017

Introduction The second element trace mineral in the body, which is stored in the body as well as regulator feed intake. In many of the vital functions of the body, including growth, building hormones, vitamins and enzymes plays a role and where involved is necessary in animal diets. Because the animal's body cannot take much more of this element in the body thereby providing a daily basis through the diet can be effective. Also, the most common combination of zinc element is its oxide form (ZnO), which is preferred for two reasons, one that has the highest concentration of zinc, and the other is that it is absorbed high in the body and is also better tolerated by the target tissues. Recently, Nano-zinc oxide has attracted much attention in animal nutrition studies. Different nanoparticles are new forms of materials with high biologic properties and low toxicity, which seem to have high potential for passing through physiological barriers and access to specific target tissues. The use of antioxidants, such as Nano-zinc oxide, can be important in reducing the production of free radicals. The aim of this study was to evaluate the effect of nano-zinc oxide on performance, growth and blood parameters in Holstein suckling calves.

Materials and Methods The Zinc Oxide nanoparticles were purchased from Iranian agent of US Research Nanomaterial, Inc. Port Co., Ltd., USA. The sizes of elemental ZnO particles ranged from 10 to 30 nm, stock: US3590, in the form of white powder and Purity: 99%, APS: 10-30 nm, Color: white, Crystal Phase: single crystal, Morphology: nearly spherical, SSA: 20-60 m²/g, True Density: 5.606 g/cm³. In this study 24 Holstein calves with a mean age of 1 - 10 and an average weight of 38±2 were selected from pars Agro-Industrial and Animal Husbandry dairy herd to determine the effects of supplementation nano-zinc oxide on performance, blood parameters and some serum enzymes of them. Three levels 0 (control), 30 and 60 of the Nano-zinc oxide were added to the calves starter concentrate as mg / kg of dry matter. Calves were allotted to the experimental groups randomly and based on their age and weight to have similar age and weight average among the group. The calves were housed in individual pens and fed with whole milk approximately at 10% of birth weight and they had free access to the feed starter and water. Milk was offered in two equal meals daily at 08:00 and 19:00. Blood samples were collected from the jugular vein on the 30 and 70 day of the trial (4 h after the morning feeding) by heparinised venoject tubes, centrifuged at 3500 rpm for 15 min at 4 °C, and collected plasma was immediately transported to the laboratory and frozen at -20 °C until analysis. Blood concentrations of glucose, cholesterol, triglyceride, albumin, urea, alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, globulin and total antioxidant activity, glutathione peroxidase, catalase were measured using the commercial kits. Data were analyzed in a completely randomized design using the MIXED procedure of SAS. For variables measured over time (average daily gain, dry matter intake, and feed conversion ratio), time was added to the model as a repeated factor.

Results and Discussion The results showed that the use of different levels Nano-zinc oxide had no significant effect on feed intake and feed conversion ratio, whereas on the experimental diet supplement Nano-zinc oxide suckling calves did show significant effect on final weight, weight gain. The significant difference was not observed between the concentration of blood parameters (glucose, cholesterol, triglyceride, albumin, urea, alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, globulin and total antioxidant activity, glutathione peroxidase, catalase except superoxide dismutase). The results showed that supplementing with 60 ppm Nano-zinc oxide significant was increased in the concentration or activity of blood superoxide dismutase compared to the control group. Dietary nano-zinc oxide supplementation on Holstein calves compared to the control group increased concentrations of superoxide dismutase. Zinc-dependent antioxidant enzymes such as superoxide dismutase reduces the activity of this enzyme in the membrane of cells, including red blood cells,

1-Associated Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Iran.

2- Graduate student and PhD student at University of Mohaghegh Ardabili, Iran.

3-Assistant Professor of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources of Moghan, Iran.

(* - Corresponding Author Email: seifdavati@uma.ac.ir)

leading to increased damage of oxidative stress.

Conclusion The results of this study showed that supplementation of Nano-zinc oxide in the diet improved the body weight, daily gain and superoxide dismutase concentration in Holstein suckling calf. In general it can be concluded that the use of zinc to form nanoparticles had no effect on performance and blood parameters. Thus, nano-zinc oxide supplementation in suckling calf starter diet can effectively help to cope with the stress.

Keywords: Blood parameters, Holstein calves, Nano-zinc oxide.

بررسی ارزش غذایی و خصوصیات تخمیر شکمبه‌ای غلاف کهور

حسن علی عربی^{۱*} - فرشته علی‌پور^۲ - پویا زمانی^۱ - داریوش علی‌پور^۱ - مصطفی ملکی^۳ - خلیل زابلی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۹/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۴/۲۱

چکیده

کهور پوشش گیاهی غالب مناطق بیابانی جنوب ایران می‌باشد. میوه کهور (غلاف) دارای ارزش غذایی زیادی است و می‌توان آنرا به مصرف دام رساند. این آزمایش جهت بررسی ارزش غذایی و خصوصیات تخمیر شکمبه‌ای غلاف کهور در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. غلاف کهور از مناطق مختلف استان هرمزگان تهیه شد. سپس، ترکیب شیمیایی، کینتیک تخمیر شکمبه‌ای در زمان‌های مختلف انکوباسیون (به‌روش آزمون تولید گاز) و قابلیت هضم به‌روش دو مرحله‌ای (برون‌تنی) در اجزای مختلف آن در ۳ تیمار (غلاف کامل، پوسته غلاف و دانه) و در ۳ تکرار تعیین شد. در نهایت، اجزای مختلف پروتئین در غلاف کامل و پوسته غلاف برآورد گردید. نتایج نشان داد پروتئین خام در غلاف کامل، پوسته غلاف و دانه به ترتیب ۱۲/۱۵، ۱۰/۶۵ و ۳۶/۵۳ درصد بود. حجم گاز تولید شده در طول ۱۲۰ ساعت انکوباسیون و پتانسیل تولید گاز در پوسته غلاف به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر بخش‌ها بود ($P < 0.05$). قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و ماده آلی در ماده خشک و انرژی قابل متابولیسم در دانه به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر بخش‌ها بود ($P < 0.05$). مقدار پروتئین محلول (SP)، ازت غیر پروتئینی (A) و پروتئین با سرعت تجزیه بالا (B1) در پوسته غلاف به‌طور معنی‌داری بیشتر از غلاف کامل بود ($P < 0.01$). به‌طور کلی نتایج نشان داد غلاف کهور از نظر ترکیب شیمیایی، قابلیت هضم و انرژی زایی دارای ارزش غذایی نسبتاً خوبی است. غلاف کهور از نظر ترکیب شیمیایی و قابلیت هضم، دارای ارزش غذایی خوبی بوده و می‌تواند به‌عنوان بخشی از جیره غذایی دام‌های مناطق گرمسیر استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: ارزش غذایی، آزمون تولید گاز، غلاف کهور و قابلیت هضم.

مقدمه

منطقه با کمترین هزینه و کارایی زیاد از اولویت تحقیقاتی باشد. کهور^۴ گیاهی است که به‌صورت درخت و درختچه در اکثر مناطق گرمسیر جهان پراکنده می‌باشد. این گیاه بومی نواحی جنوب غربی آمریکا، آمریکای مرکزی و شمال آمریکای جنوبی می‌باشد. پراکنش این گیاه در مناطق گرم و خشک جهان مانند آفریقا، استرالیا و جنوب آسیا (بخصوص در کشورهای هندوستان، پاکستان و ایران) می‌باشد (۲۸). تولید غلاف (میوه) در هر درخت از مقدار کم تا ۴۰۰ کیلوگرم متغیر است و از هر هکتار حدود ۱۵ تن محصول (غلاف) به دست می‌آید. میزان تولید غلاف کهور در سطح جهان در حدود ۳-۴ میلیون تن تخمین زده می‌شود (۳۳). با توجه به مقاومت زیاد این گیاه به کم آبی، آب و هوای گرم و تابستان داغ و طولانی در مناطق گرمسیر، در ایران پوشش عمده مناطق جنوبی کشور (سواحل خلیج فارس و دریای عمان) بخصوص در استان‌های خوزستان (اطراف شهرهای اهواز، سوسنگرد، آبادان، بهبهان و امیدیه)، بوشهر (بندر کنگان، اهرم و

شناخت منابع خوراکی مورد استفاده در تغذیه دام و طرح و برنامه‌ریزی در راستای استفاده بهینه از پتانسیل‌های بالقوه مواد خوراکی گام موثری در توسعه صنعت دامپروری کشور است. در سالهای اخیر به سبب افزایش جمعیت و تقاضای روز افزون محصولات و فرآورده‌های دامی در کشور و در برخی موارد مدیریت نامناسب در جهت پاسخ به این نیاز کشور، عدم تعادل دام و مرتع و تخریب مراتع موجب شده که استفاده از منابع خوراکی بومی هر

۱- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران،

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران،

۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

(Email: h_aliarabi@yahoo.com

*)- نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/ijasr.v1397i1.60772

مجهز به فیستولا که از جیره‌ای بر پایه علوفه و کنسانتره و مطابق نیاز نگهداری تغذیه می‌شدند به‌دست آمد. مایع شکمبه گرفته شده (قبل از خوراک‌دهی صبح) توسط پارچه متقال چهار لایه صاف شده و سریعاً در شرایط بی‌هوازی و داخل فلاسک به آزمایشگاه تغذیه دام منتقل شد. در آزمایشگاه، مایع صاف شده در یک ارلن درب‌دار ریخته شد و پس از وارد نمودن گاز دی‌اکسیدکربن درب آن محکم بسته و در انکوباتور در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا جهت آزمون تولید گاز و قابلیت هضم آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گیرد.

تعیین ترکیب شیمیایی

درصد ماده خشک و ترکیب شیمیایی (ماده آلی، خاکستر خام، چربی خام و پروتئین خام) به روش AOAC (۵)، کربوهیدرات غیر فیبری^۱ به روش NRC (۲۹)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی^۲ و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی^۳ نیز با روش ون سوست و همکاران (۴۱) تعیین شدند.

آزمون تولید گاز

آزمون تولید گاز در دو مرحله و با استفاده از سرنگ‌های شیشه‌ای مطابق روش‌های استاندارد انجام شد (۲۴). در مرحله اول به منظور بررسی کینتیک تخمیر شکمبه‌ای در زمان‌های انکوباسیون متوالی (۱۲۰ ساعته)، ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه آسیاب شده خشک به داخل سرنگ‌های شیشه‌ای ریخته شد (به جز سرنگ‌های بلانک) و سپس مقدار ۳۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه بافری شده به داخل سرنگ‌ها افزوده شد (در ۳ اجرای جداگانه و در هر اجرا ۳ تکرار) و به مدت ۱۲۰ ساعت در داخل حمام بن‌ماری با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. حجم گاز تولیدی در زمان‌های ۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت پس از انکوباسیون، ثبت و به صورت تجمعی محاسبه گردید و سپس داده‌های حاصل از آزمون تولید گاز با استفاده از معادله ۱ برازش شد (۲۴).

$$GP_{120} = b(1 - e^{-ct}) \quad (1)$$

در معادله ۱، GP120 حجم گاز تولید شده (میلی‌لیتر بر گرم ماده آلی) در طول ۱۲۰ ساعت انکوباسیون، b حداکثر ظرفیت تولید گاز (میلی‌لیتر بر گرم ماده آلی)، c سرعت تولید گاز (h-1) و t زمان انکوباسیون (ساعت) می‌باشد.

برای برآورد قابلیت هضم ماده آلی (OMD)، قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک (DOMD)، انرژی قابل متابولیسم (ME) و مقدار اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر تولید شده (SCFA) از حجم گاز

برازجان، هرمزگان (نواحی شرق، مرکز و غرب استان) تا سیستان و بلوچستان (بندر چاه بهار و ایرانشهر) از این گیاه تشکیل شده است (۲۷). از این گیاه در تثبیت شن‌های روان در مناطق بیابانی و ایجاد سایه در کنار جاده‌های برون شهری استفاده می‌شود و تاکنون بیش از هزاران هکتار از مناطق بیابانی کشور به‌وسیله این گیاه جنگل‌کاری شده است (۲۷). درخت کهور در زمره درختان علوفه‌ای محسوب می‌گردد. غلاف کهور که به شکل میوه لوبیا است شامل یک کپسول و تعدادی دانه است که پس از رسیدن، به رنگ زرد بوده و دارای پروتئین و کربوهیدرات قابل‌توجهی است. یکی از مهم‌ترین موارد استفاده از این غلاف (میوه درخت کهور) به‌عنوان خوراک دام می‌باشد. زیرا غلاف رسیده آن خوش‌خوراک بوده و دارای ارزش غذایی بالایی است (۱۶). بر اساس تحقیقات صورت گرفته، غلاف کهور دارای ۱۲ درصد پروتئین خام با قابلیت هضم بالا (۷۲ درصد) می‌باشد (۱۶). همچنین در تحقیق دیگری درصد ماده خشک، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و چربی خام غلاف کهور به ترتیب ۹۳/۶، ۱۷/۳، ۷۹/۸، ۲۵/۵ و ۳/۶ درصد گزارش شد (۷). پیرا و همکاران (۳۱) نیز پس از بررسی ترکیب شیمیایی غلاف کهور، مقدار ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و چربی خام آنرا به ترتیب ۹۲/۲، ۹۶/۲، ۷/۲ و ۱/۶ گزارش کردند. در رابطه با کاربرد غلاف کهور در تغذیه دام نیز تحقیقات مختلفی صورت گرفته است. طبق گزارش ساوال و همکاران (۳۶) غلاف کهور را می‌توان بین ۵۰-۱۰ درصد در جیره گوسفندان استفاده نمود و دانه‌های موجود در غلاف دارای ۳۷-۳۱ درصد پروتئین هستند. همچنین، در یک تحقیق دیگر، مقادیر صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره از غلاف کهور در جیره بره‌های نر رامبویه استفاده شد و مشخص گردید که مصرف خوراک و افزایش وزن بره‌ها در گروه‌های تیمار شده با غلاف کهور بالاتر بود (۳۰). با توجه به موارد فوق، آزمایش حاضر به منظور بررسی ترکیب شیمیایی، تعیین ارزش غذایی و خصوصیات تخمیر شکمبه‌ای غلاف کهور در شرایط برون تنی (in vitro) به‌روش آزمون تولید گاز طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی نمونه

میوه کهور به صورت کاملاً خشک و رسیده از مناطق مختلف استان هرمزگان (غلاف‌های ریخته شده در پای درختان) تهیه شده و به آزمایشگاه تغذیه دام دانشگاه بوعلی سینا منتقل شد. سپس دانه، غلاف خالی (پوسته) و غلاف کامل هر کدام جداگانه با آسیاب رومیزی (Glen Creston، انگلستان) مجهز به الک ۱ میلی‌متری آسیاب شدند. مایع شکمبه مورد نیاز از ۳ راس گوسفند نر مهربان

1- Non Fiber Carbohydrate
2- Neutral Detergent Fiber
3- Acid Detergent Fiber

کاغذ صافی و پمپ خلا صاف شد و مقدار پروتئین میکروبی تولید شده مطابق معادله ۷ محاسبه گردید (۲۱).

$$MB_{(mg)} = E - F \quad (۷)$$

در معادله ۷، E وزن رسوب قبل از جوشاندن در محلول ان دی اف و F وزن رسوب بعد از جوشاندن است.

مقدار کل اسیدهای چرب فرار نیز با استفاده از دستگاه مارخام اندازه‌گیری شد (۶).

تعیین قابلیت هضم به روش برون‌تنی

اندازه‌گیری قابلیت هضم برون‌تنی با استفاده از روش دو مرحله‌ای تلی و تری (۳۹) انجام شد. ابتدا محلول بزاق مصنوعی و پپسین-اسید کلریدریک هر کدام به‌طور جداگانه تهیه شدند و سپس محلول بزاق مصنوعی با مایع شکمبه‌ای که از ۳ رأس گوسفند نر مهربان به‌دست آمده بود مخلوط شد. روش انجام این آزمایش به‌این صورت بود که در ابتدا مقدار ۰/۵ گرم از هر نمونه در ۳ تکرار به داخل لوله‌های فالتکون ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد (۳ عدد لوله فالتکون هم به‌عنوان بلانک در نظر گرفته شد). سپس بزاق مصنوعی مطابق دستورالعمل مربوطه تهیه شد و به نسبت ۴ به ۱ با مایع شکمبه صاف شده با هم مخلوط شدند و مقدار ۳۵ میلی‌لیتر از این مخلوط به داخل هر یک از لوله‌ها ریخته شد و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در پایان این مرحله، همه لوله‌ها سانتریفوژ شدند و مایع رویی آنها دور ریخته شد. به محتویات باقی مانده در داخل هر لوله مقدار ۳۵ میلی‌لیتر محلول پپسین - اسید کلریدریک اضافه شد و مجدداً به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در نهایت، بقایای هضم نشده داخل لوله‌ها با استفاده از کاغذ صافی صاف شدند. رسوب باقی مانده پس از خشک شدن، در داخل کوره الکتریکی سوزانده شد.

ارزیابی کیفیت پروتئین بر اساس CNCPS^۳

به منظور تعیین پروتئین حقیقی در نمونه‌ها از تانگستیک اسید به عنوان عامل رسوب دهنده استفاده شد (۱۵) و غلظت پروتئین رسوب کرده که همان پروتئین حقیقی است تعیین شد (۱۶). در نهایت اجزای مختلف پروتئین محاسبه گردید (۳۸).

طرح آماری

کلیه داده‌ها با استفاده از رویه GLM و در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS ویرایش ۹/۱ آنالیز شدند (۳۵). مدل آماری استفاده شده $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ بود که در آن Y_{ij} مقدار

تولید شده در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون و مطابق معادلات ۲، ۳، ۴ و ۵ استفاده شد (۲۵ و ۲۰):

$$OMD_{(\%DM)} = 14.88 + 0.889GP + 0.45CP + 0.0651Ash \quad (۲)$$

$$DOMD_{(\%DM)} = OMD \times OM \quad (۳)$$

$$ME_{(Mj/kg DM)} = 2.20 + 0.136GP + 0.057CP + 0.0029 CP^2 \quad (۴)$$

$$SCFA_{(mmol)} = 0.0222GP - 0.00425 \quad (۵)$$

در معادلات فوق، GP: حجم گاز تولیدی تصحیح شده در طول ۲۴ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (درصد ماده خشک)، Ash: خاکستر خام (درصد ماده خشک) و OM: ماده آلی (درصد ماده خشک) می‌باشد.

در مرحله دوم، آزمون تولید گاز ۲۴ ساعته به‌منظور بررسی قابلیت هضم نمونه‌ها انجام شد. روند اجرای این آزمایش کاملاً مشابه آزمایش قبل (انکوباسیون ۱۲۰ ساعته) بود، به‌استثنای اینکه مقدار نمونه آسیاب شده خشک که به داخل هر سرنگ ریخته می‌شد ۵۰۰ میلی‌گرم و حجم مخلوط مایع شکمبه و محلول کشت که به داخل سرنگها تزریق می‌شد، ۴۰ میلی‌لیتر بود (۲۱). در پایان انکوباسیون محتویات باقی‌مانده در داخل سرنگ‌ها (مواد هضم نشده) به داخل لوله‌های فالتکون ۵۰ میلی‌لیتری تخلیه شده (وزن خالی این لوله‌ها قبلاً ثبت شد) و سریعاً pH محتویات داخل آنها با استفاده از pH متر دیجیتالی (مدل Weillheim کشور آلمان) ثبت شد. سپس، محتویات داخل لوله‌های فالتکون سانتریفوژ شد (با ۲۵۰۰ rpm، به مدت ۲۰ دقیقه و دمای ۴ درجه) و از مایع بالایی آن برای اندازه‌گیری کل اسیدهای چرب فرار نمونه‌برداری و به فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. سپس باقی‌مانده مایع بالایی داخل لوله‌ها دور ریخته شد و لوله‌های فالتکون به‌همراه رسوب داخل آنها به آون (۶۵ درجه و به مدت ۴۸ ساعت) منتقل شدند تا پس از خشک شدن، فراسنجه‌های مربوط به این آزمایش محاسبه شود (۲۱). قابلیت هضم حقیقی ماده آلی (IVTOMD) و فاکتور تفکیک^۱ (مقدار ماده آلی ناپدید شده واقعی (برحسب میلی‌گرم) به حجم گاز تولیدی (بر حسب میلی‌لیتر) در طول ۲۴ ساعت انکوباسیون) بر اساس روش مکار (۲۱) و مطابق معادله ۶ تعیین شد:

$$TIVOMD_{(\%DM)} = (C - D)/C \quad (۶)$$

در معادله ۶، C وزن ماده آلی موجود در نمونه قبل از انکوباسیون و D وزن ماده آلی هضم نشده بعد از انکوباسیون است.

برای محاسبه پروتئین میکروبی تولید شده^۲ (MB)، محتویات داخل هر کدام از لوله‌های فالتکون (بقایای هضم نشده) به مدت یک ساعت در محلول NDS جوشانده شد و رسوب باقی‌مانده با استفاده از

1- Partitioning factor

2- Microbial Protein

DM و ADF، بخش‌های مختلف غلاف کهور تفاوت معنی‌داری را در ترکیب شیمیایی نشان دادند. به‌طوریکه برای مثال دانه کهور دارای بیشترین مقدار CP، EE و ADL بود ($p < 0.05$). درصد DM غلاف کهور بین ۹۵/۴۵ – ۹۳ درصد گزارش شده است که مطابق با یافته‌های تحقیق حاضر می‌باشد (۳، ۷ و ۱۹). همچنین، درصد CP در غلاف کامل بین ۱۷/۲ – ۱۲/۲۵ درصد (۳)، در پوسته غلاف ۱۳/۳ درصد (۳۳) و در دانه بین ۳۰ – ۲۰ درصد (۳۶) گزارش شده است.

مشاهده تیمار i ام در تکرار ز ام، μ اثر میانگین، Ti اثر تیمار i ام و eij اثر خطای آزمایش مربوط به تیمار i ام در تکرار ز ام بود. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح خطای ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به ترکیب شیمیایی بخش‌های مختلف غلاف کهور در جدول ۱ آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، به جز

جدول ۱- ماده خشک و ترکیب شیمیایی بخش‌های مختلف غلاف کهور (برحسب درصد ماده خشک)^۱

Table 1- Dry matter and chemical composition of different parts of mesquite pod (based on DM)¹

اجزاء Components	ترکیب شیمیایی ^۲ Chemical composition ²								
	ماده خشک DM	ماده آلی OM	چربی خام EE	پروتئین خام CP	خاکستر خام Ash	فیبر نامحلول در شوینده خنثی NDF	فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ADF	کربوهیدرات‌های غیر علوفه‌ای NFC	لیگنین ADL
غلاف کامل Whole pod	93.61	96.32 ^a	4.55 ^b	12.15 ^b	3.67 ^b	45.10 ^a	25.47	34.65 ^b	11.69 ^b
پوسته غلاف Husk	93.45	95.29 ^b	2.80 ^c	10.65 ^b	4.70 ^a	47.53 ^a	29.55	34.79 ^a	9.14 ^c
دانه Seed	93.70	96.70 ^a	12.17 ^a	36.53 ^a	3.30 ^b	40.07 ^b	16.87	7.43 ^c	16.64 ^a
P-value	0.1715	0.0198	0.0001	0.0001	0.0198	0.0003	0.1038	0.0001	0.0003
SEM	0.223	0.255	0.053	1.399	0.255	0.793	3.518	0.006	0.546

^۱حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

^۲ماده خشک (DM)، ماده آلی (OM)، چربی خام (EE)، پروتئین خام (CP)، خاکستر خام (Ash)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)، کربوهیدرات‌های غیر فیبری (NFC) و لیگنین (ADL).

¹Means with different superscript letters in column are significantly different ($P < 0.05$).

²Dry matter (DM), Organic matter (OM), Ether extract (EE), Crude protein (CP), Neutral detergent fiber (NDF), Acid detergent fiber (ADF), Non fiber carbohydrate (NFC) and acid detergent lignin (ADL).

سایر عوامل می‌باشد.

نتایج مربوط به تخمیر شکمبه‌ای در انکوباسیون متوالی و فراسنجه‌های برآورد شده از آن در جدول ۲ آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌گردد، بین پوسته غلاف و دانه آن از نظر آماری در تمام فراسنجه‌های برآورد شده در جدول ۲ تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0.05$). اما غلاف کامل و پوسته غلاف به استثنای حجم گاز تولید شده در ۱۲۰ ساعت انکوباسیون (GP_{120}) و پتانسیل تولید گاز (b) تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. به‌طوریکه GP_{120} و b در پوسته غلاف به طور معنی‌داری بیشتر از سایر بخش‌ها بود ($p < 0.05$). تولید گاز اصولاً نتیجه تخمیر کربوهیدرات‌ها به استات، پروپیونات و بوتیرات است (۲۴). افزایش سهم کربوهیدرات‌های جیره و نیز فعالیت میکروبی باعث افزایش تولید گاز می‌شود. در حالیکه میزان گاز تولید شده چربی ناچیز است (۱۲). لذا تفاوت در ترکیب شیمیایی خوراک‌ها می‌تواند منجر به تفاوت در میزان تولید گاز گردد (۱۴). مطالعات

به نظر می‌رسد عدم تفاوت معنی‌دار در درصد CP بین غلاف کامل و پوسته غلاف در تحقیق حاضر، با وجود اینکه غلاف در برگیرنده دانه نیز می‌باشد، احتمالاً به خاطر وزن کم دانه در داخل غلاف (سهم دانه در غلاف کامل از نظر وزنی، ۷/۵ درصد است) باشد. درصد EE در غلاف کامل کهور نیز بین ۶/۲ – ۱/۳۳ درصد (۷)، در پوسته غلاف ۲ درصد (۲۶) و در دانه ۱۴/۵ درصد (۳۲) گزارش شده است. باتیستا و همکاران (۷) نیز مقدار NDF و NFC در غلاف کامل کهور را به ترتیب ۴۰/۲ – ۲۵/۹۳ درصد و ۵۰ درصد گزارش کرده‌اند. پیرا و همکاران (۳۱) درصد ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و چربی خام غلاف کهور را به ترتیب ۹۲/۲، ۹۶/۲، ۷/۲ و ۱/۶ درصد گزارش کردند. همانطور که ملاحظه می‌گردد، بخش زیادی از نتایج تحقیق حاضر در رابطه با ترکیب شیمیایی غلاف کهور با نتایج گزارش شده توسط سایر محققین همخوانی دارد و تفاوت‌های موجود نیز احتمالاً مربوط به واریته گیاه، نحوه استحصال، روش نگهداری و

روی باکتری‌های گرم مثبت اثر محدود کنندگی داشته باشد. این باکتری‌ها عمدتاً از نوع فیبرولایتیک هستند که به همراه متانوزنها در تولید گاز دی‌اکسید کربن و متان نقش مهمی دارند و مهار این باکتری‌ها می‌تواند سبب کاهش حجم گاز تولید شده گردد. همچنین، عبدالرزاق و همکاران (۱) حجم گاز تولید شده توسط غلاف کامل کهور را در ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون به ترتیب ۴۱/۷ و ۴۷/۶ میلی‌لیتر بر گرم ماده خشک گزارش نمودند. کمتر بودن حجم گاز تولید شده در دانه نسبت به سایر بخش‌ها، احتمالاً مربوط به درصد کم NFC و درصد بالای پروتئین و چربی در آن می‌باشد (۱۴).

اندکی در رابطه با بررسی کینتیک تخمیر شکمبه‌ای غلاف کهور صورت گرفته است و بیشتر مطالعات انجام شده مربوط به برگ و سرشاخه کهور می‌باشد. در آزمایشی که توسط سانتوز و همکاران (۳۴) در خصوص استفاده از عصاره غلاف کهور (سطوح صفر، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مایع شکمبه) به همراه سیوس گندم به روش آزمون تولید گاز استفاده شده بود، مشاهده شد که با افزایش غلظت عصاره فوق، حجم گاز تولید شده در طول ۳۶ ساعت انکوباسیون روند کاهشی نشان داد. ایشان بیان کردند که غلاف کهور ممکن است حاوی ترکیباتی باشد که همانند یونوفرها عمل کرده و بر

جدول ۲- تخمیر شکمبه‌ای در انکوباسیون متوالی و فراسنجه‌های برآورده شده (به ازای ۱ گرم ماده آلی)^۱
Table 2- Ruminal fermentation in Continuous incubation and estimated parameters (for 1 g OM)¹

اجزاء Components	فراسنجه‌های تخمیری زده شده ^۲ Fermentation estimated Parameters ²							
	حجم گاز تولید شده در ۱۲۰ ساعت GP ₁₂₀	پتانسیل تولید گاز b	سرعت تولید گاز c	حجم گاز تولید شده در ۲۴ ساعت GP ₂₄	قابلیت هضم ماده آلی OMD	انرژی قابل متابولیسم ME	ماده آلی قابل هضم در ماده خشک DOMD	اسیدهای چرب کوتاه زنجیر SCFA
غلاف کامل Whole pod	331.06 ^b	317.48 ^b	0.1215 ^a	269.47 ^a	60.96 ^a	9.23 ^a	54.86 ^a	1.14 ^a
پوسته غلاف Husk	362.44 ^a	343.62 ^a	0.1204 ^a	287.32 ^a	63.42 ^a	9.60 ^a	56.28 ^a	1.20 ^a
دانه Seed	307.89 ^b	298.23 ^b	0.1631 ^b	214.32 ^b	51.67 ^b	7.81 ^b	46.71 ^b	0.91 ^b
P-value	0.0046	0.0071	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
SEM	4.061	8.222	0.006	6.628	1.187	0.173	1.006	0.028

^۱حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

^۲GP₁₂₀: حجم گاز تولید شده پس از ۱۲۰ ساعت انکوباسیون (ml/g OM)، b: پتانسیل تولید گاز (ml/g OM)، c: سرعت تولید گاز (h)، GP₂₄: حجم گاز تولید شده پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (ml/g OM)، OMD: قابلیت هضم ماده آلی (درصد)، ME: انرژی متابولیسمی (MJ/kg DM)، DOMD: ماده آلی قابل هضم در ماده خشک (درصد)، SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تولید شده (mmol).

¹Means with different superscript letters in column are significantly different (P<0.05).

²GP₁₂₀: Volume of gas produced after 120 h of incubation (ml/g OM), b: Potential of gas production (ml/g OM), c: Rate of gas production (h), GP₂₄: Volume of gas produced after 24 h of incubation (ml/g OM), OMD: Organic matter digestibility (percentage), ME: Metabolizable energy (MJ/kg DM), DOMD: Digestible organic matter in dry matter (percentage) and SCFA: Short chain fatty acid (mmol)

شد، مشخص گردید که غلاف کهور حاوی ترکیبات پلی‌فنولیک و توکسین‌هایی است که ممکن است اثر بازدارندگی بر تولید گاز در شکمبه داشته باشد.

نتایج مربوط به فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای در آزمون تولید گاز ۲۴ ساعته در جدول ۳ ارائه شده است. حجم گاز تولید شده در طول ۲۴ ساعت انکوباسیون (GP₂₄) در دانه کمترین و در پوسته غلاف بیشترین مقدار بود و تفاوت معنی‌داری در این رابطه بین بخش‌های مختلف غلاف مشاهده شد (P<۰/۰۱). بیشترین مقدار فاکتور تفکیک و توده میکروبی تولید شده در دانه مشاهده شد. پوسته غلاف بیشترین مقدار TIVOMD را دارا بود و مقدار pH نیز در دانه بیشترین و در پوسته غلاف کمترین مقدار بود. همانطور که قبلاً ذکر شد، در مطالعه سانتوز و همکاران (۳۴)

بین میزان تجزیه‌پذیری در شکمبه (تولید گاز) با مقدار لیگنین، رابطه منفی وجود دارد. افزایش محتوای لیگنین در دیواره سلول گیاهی سبب می‌شود که میکروارگانیسم‌های شکمبه دسترسی کمتری به مواد مغذی داخل سلول گیاهی داشته باشند. لذا با کاهش فعالیت میکروبی، قابلیت هضم و تولید گاز کاهش می‌یابد (۱۰). بوباکر و کایولی (۱۰) در نتایج خود به این نکته اشاره کرده‌اند که لیگنین موجب کاهش قابلیت هضم و کاهش تولید گاز می‌گردد. بخش پوسته غلاف بیشترین مقدار SCFA را داشت. زیرا غلظت این فراسنجه، با تولید گاز رابطه مثبت و مستقیم دارد و تولید گاز انعکاسی از تولید SCFA می‌باشد (۱۴). همچنین کومار و دملو (۱۷) به حضور فاکتورهای ضد تغذیه‌ای مانند تانن، سیانوزن، ساپونین و آلکالوئیدها در میوه کهور اشاره کرده‌اند. در پژوهشی که توسط سانتوز و همکاران (۳۴) انجام

استفاده از سطوح صفر، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر مایع شکمبه) به همراه سیوس گندم به مدت ۳۶ ساعت در آزمون تولید گاز، علی رغم اینکه روند تولید گاز یک روند کاهشی بود، اما مقدار ماده خشک تجزیه شده و توده میکروبی تولید شده تفاوت معنی داری بین تیمارها نشان ندهند. پیرا و همکاران (۳۱) نیز نتایج مشابهی گزارش کردند و بیان نمودند که استفاده از عصاره غلاف کهور به همراه سیوس گندم بدون اثر بر تجزیه پذیری ماده خشک، سبب کاهش حجم گاز تولیدی شد که علت آن بدلیل کاهش تولید متان بود. بررسی فاکتور تفکیک شاخصی از این موضوع است که

سوبسترای تخمیر شده می تواند به دو مسیر شامل تولید اسیدهای چرب فرار و یا تولید توده میکروبی سوق یابد. فاکتور تفکیک کمتر نشان می دهد که سوبسترای تجزیه شده به سمت تولید گاز و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره (SCFA) رفته و مقدار بیشتر آن بیانگر تولید توده میکروبی بیشتر یا بازده تولید توده میکروبی بیشتر می باشد (۹). از آزمون تولید گاز برای تخمین قابلیت هضم برون تنی و ME در نشخوارکنندگان استفاده می شود (۴). مشاهده pH کمتر برای پوسته غلاف نسبت به سایر بخش ها، احتمالاً مربوط به وجود فاکتور تفکیک کمتر است که نشان دهنده تولید SCFA بیشتر می باشد (۹).

جدول ۳- فراسنجه های تخمیر شکمبه ای در آزمون تولید گاز ۲۴ ساعته (به ازای ۱ گرم ماده آلی)^۱
Table 3- Ruminal fermentation parameters at 24 h gas production (for 1 g OM)¹

اجزاء Components	فراسنجه های تخمیر شکمبه ^۲ Rumen fermentation parameters ²					
	حجم گاز تولید شده در ۲۴ ساعت GP ₂₄	ضریب تفکیک PF	توده میکروبی MB	قابلیت هضم واقعی ماده آلی TIVOMD	اسیدیته pH	کل اسیدهای چرب فرار TVFA
غلاف کامل Whole pod	253.08 ^b	3.09 ^b	24.75 ^b	70.40 ^b	6.68 ^b	63.33
پوسته غلاف Husk	305.12 ^a	2.88 ^c	25.60 ^b	78.20 ^a	6.61 ^c	69.00
دانه Seed	171.23 ^c	4.93 ^a	82.60 ^a	76.32 ^a	6.80 ^a	49.17
P-value	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.2709
SEM	3.627	0.061	4.097	0.006	0.016	7.985

^۱حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار می باشد ($P < 0.05$).

^۲ GP₂₄: حجم گاز تولید شده پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (ml/g OM); PF: ضریب تفکیک (mg/ml); MB: توده میکروبی (mg); AIVMD: قابلیت هضم ظاهری ماده خشک (درصد); TIVOMD: قابلیت هضم واقعی ماده آلی (درصد); TVFA: کل اسیدهای چرب فرار تولید شده (mmol).

¹Means with different superscript letters in column are significantly different ($P < 0.05$).

²GP₂₄: Volume of gas produced after 24 h of incubation (ml/g OM), PF: Partitioning factor (mg/ml), MB: Microbial biomass (mg), AIVMD: Apparent *in vitro* dry matter digestibility (percentage), TIVOMD: True *in vitro* organic matter digestibility (percentage), TVFA: Total volatile fatty acid (mmol).

هضم مواد خوراکی باشد. افزایش معنی دار قابلیت هضم دانه در مقایسه با سایر بخش های غلاف، احتمالاً به دلیل محتوای زیاد EE، CP، OM و نیز محتوای کم ADF و NDF آن می باشد. زیرا ارزش غذایی بالاتر در یک نمونه خوراک از طریق افزایش فعالیت میکروبی شکمبه، سبب افزایش قابلیت هضم آن می گردد. همچنین، محتوای NDF و ADF عامل تعیین کننده ای در مقدار قابلیت هضم می باشد و هر چقدر این مقادیر در یک نمونه خوراک کمتر باشند، قابلیت هضم بیشتر می شود. از مقدار DOMD به عنوان پیش بینی کننده ME استفاده می شود و همانطور که مشاهده می شود با افزایش این مقدار، ME نیز افزایش یافته است (۲۲).

همانطور که قبلاً ذکر شد، درصد لیگنین در دانه به طور معنی داری بیشتر از سایر بخش ها بود ($p < 0.05$) و از آنجا که لیگنین سبب کاهش قابلیت هضم می گردد، لذا وجود لیگنین قاعداً می بایست سبب کاهش قابلیت هضم دانه می شد. احتمالاً در روش هضم دو

نتایج مربوط به درصد قابلیت هضم و انرژی قابل متابولیسم برآورد شده توسط روش تلی و تری (۳۹) در بخش های مختلف غلاف کهور در جدول ۴ ارایه شده است. از نظر مقادیر IVDMD، IVOMD و DOMD ME دانه به طور معنی داری بیشترین مقدار را در مقایسه با سایر بخش های غلاف دارا بود ($P < 0.05$). اما در رابطه با مقادیر فوق، تفاوت معنی داری بین غلاف کامل و پوسته غلاف مشاهده نشد. با توجه به اینکه دانه بخش اندکی از غلاف کامل را شامل می شود (۷/۵ درصد)، لذا هر چند مقادیر موجود در جدول ۴ در غلاف کامل از نظر عددی بیشتر از پوسته غلاف بود، اما تفاوت بین آنها معنی دار نبود. بلال و همکاران (۸) قابلیت هضم ماده خشک غلاف کامل کهور بین ۹۰ - ۶۴ درصد گزارش نمودند. همچنین، عالم زاده و همکاران (۲) مقدار IVDMD و IVOMD پوسته غلاف را به ترتیب ۶۳/۵ و ۶۴/۲۹ درصد گزارش کرده اند. تفاوت در مقادیر گزارش شده احتمالاً می تواند به دلیل تأثیر گونه و رقم گیاه بر قابلیت

به‌طور متفاوت تری در مقایسه با هضم میکروبی هضم کند، لذا نسبت به آزمون تولید گاز نتایج متفاوتی می‌تواند داشته باشد. همچنین، همانطور که قبلاً ذکر گردید، غلاف کهور حاوی مواد ضد تغذیه‌ای است. این ترکیبات ممکن است از طریق کاهش فعالیت میکروبی در شکمبه در فرآیند تولید گاز اختلال ایجاد کنند. اما در روش تلی و تری (در مرحله هضم اسیدی)، این ترکیبات ممکن است اثرگذار نباشند.

مرحله‌ای برون‌تنی، بخش زیادی از لیگنین (ترکیبات فنولیک) در طول آزمایش به‌صورت محلول در آمده است و اثر آن بر کاهش هضم در نظر گرفته نشده است. به عبارت دیگر، این وضعیت باعث تخمین بیش از حد قابلیت هضم ماده خشک در این نوع خوراک‌ها گردیده است (۱۰). لازم به ذکر است که آزمون تولید گاز فقط صرفاً هضم میکروبی است. اما آزمایش تلی و تری هضم میکروبی توأم با هضم اسیدی است. از آنجا که هضم اسیدی می‌تواند اجزای خوراک را

جدول ۴- قابلیت هضم آزمایشگاهی (in vitro) بخش‌های مختلف غلاف کهور (روش تلی و تری)^۱
Table 4-In vitro digestibility of different parts of mesquite (Tilley and Terry method)¹

اجزاء Components	قابلیت هضم ^۲ Digestibility ²			
	درصد قابلیت هضم ماده خشک IVDMD	درصد قابلیت هضم ماده آلی IVOMD	درصد ماده آلی قابل هضم در ماده خشک DOMD	انرژی قابل متابولیسم ME
غلاف کامل Whole pod	77.53 ^b	75.84 ^b	72.91 ^b	11.445 ^b
پوسته غلاف Husk	77.20 ^b	75.29 ^b	72.82 ^b	11.22 ^b
دانه Seed	81.42 ^a	79.02 ^a	76.96 ^a	12.40 ^a
P-value	0.0143	0.0349	0.0143	0.0302
SEM	0.968	0.902	0.889	0.271

^۱حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

^۲ IVDMD: درصد قابلیت هضم ماده خشک، IVOMD: درصد قابلیت هضم ماده آلی، DOMD: درصد ماده آلی قابل هضم در ماده خشک، ME: انرژی قابل متابولیسم (MJ/kg DM) که از رابطه $ME = DOMD(g/kg DM) * 0.0157$ برآورد گردید.

¹Means with different superscript letters in column are significantly different ($P < 0.05$).

²IVDMD: In vitro dry matter digestibility (percentage), IVOMD: In vitro organic matter digestibility (percentage), DOMD: Digestible organic matter in dry matter (percentage), ME: Metabolizable energy that was estimated from the equation: $ME = DOMD(g/kg DM) * 0.0157$.

نیترا و آمونیاک می‌باشد (۳۷). هر چقدر مقدار پروتئین حقیقی در خوراک بیشتر باشد، مقدار A در آن کمتر است. بنابراین، پوسته غلاف چون حاوی A بیشتری است، لذا پروتئین حقیقی کمتری نسبت به دو بخش دیگر غلاف دارد. مقدار پروتئین نامحلول در شوینده خنثی (NIDP) در بخش‌های مختلف غلاف کهور به‌طور بسیار معنی‌داری با هم تفاوت نشان دادند ($P < 0.01$). علت بالا بودن NIDP در غلاف کامل نسبت به پوسته، احتمالاً به دلیل محتوای بالای پروتئین خام غلاف کامل در مقایسه با پوسته و ایجاد پیوند بیشتر بین دیواره سلولی و ازت پروتئینی می‌باشد (زیرا با توجه به عدم معنی‌دار بودن تفاوت درصد NDF بین پوسته و غلاف کامل، اثر آن در نظر گرفته نمی‌شود). هر چقدر مقدار NIDP در یک خوراک بیشتر باشد، آن خوراک پتانسیل بالاتری برای تأمین پروتئین عبوری از شکمبه خواهد داشت. اسیدهای آمینه موجود در پروتئین عبوری در هضم پس از شکمبه‌ای خیلی موثر تر مورد استفاده دام قرار می‌گیرند. زیرا میکروب‌های شکمبه ممکن است آنها را تجزیه کنند (۴۰). با توجه به بالا بودن غلظت NIDP در غلاف کامل، به نظر می‌رسد که غلاف

نتایج مربوط به اجزای مختلف پروتئین در جدول ۵ آورده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود، اجزای پروتئین در بخش‌های مختلف غلاف کهور تفاوت بسیار معنی‌داری نشان دادند ($P < 0.01$). غلظت پروتئین محلول (SP)، ازت غیر پروتئینی (A) و پروتئین با سرعت تجزیه بالا (B_1) در پوسته غلاف به‌طور معنی‌داری بیشتر از غلاف کامل است ($P < 0.01$). در بخش دانه نیز با افزایش SP، مقدار B_1 و A نیز افزایش یافت. اما میزان افزایش B_1 در دانه بیشتر بود. باتیستا و همکاران (۷) غلظت SP در غلاف کامل کهور را ۶۳۵ گرم بر کیلوگرم پروتئین خام گزارش کردند که نزدیک به مقدار آن در این تحقیق می‌باشد. علت بالا بودن بخش A (ازت غیر پروتئینی) در پوسته، احتمالاً مربوط به محتوای بالای کربوهیدرات‌های محلول و غیر ساختاری در آن است. کربوهیدرات‌های محلول و غیر ساختاری در تأمین انرژی مورد نیاز میکروب‌های شکمبه مشارکت داشته و در اثر تجزیه‌پذیری بالای پروتئین در شکمبه، نهایتاً تولید ازت آمونیاکی افزایش می‌یابد. بخش A، مولکول‌های کوچکی هستند که شامل پپتیدها، اسیدهای آمینه آزاد، اسیدهای نوکلئیک، آمیدها، آمین‌ها،

تشکیل پیوند بیشتر بین ازت پروتئینی با اجزای دیواره سلولی این دو بخش نسبت به دانه می‌باشد. لازم به ذکر است که باتیستا و همکاران (۷) مقدار NIDP در غلاف کهور را ۱۵۱ گرم بر کیلوگرم پروتئین خام گزارش نمودند.

کامل کهور نسبت به دو بخش دیگر آن پتانسیل بالاتری از نظر تأمین اسیدهای آمینه و پروتئین با کیفیت بالا را برای دام داشته باشد. بیشتر بودن مقدار NIDP در غلاف کامل و پوسته غلاف در مقایسه با دانه نیز احتمالاً مربوط به درصد NDF بالاتر آن و در نتیجه

جدول ۵- اجزای پروتئین (به روش CNCPS) در بخش‌های مختلف غلاف کهور (گرم بر کیلوگرم پروتئین خام)^۱

Table 5- Protein fractionation (estimated by CNCPS method) of different parts of mesquite pod (g/kg CP)¹

اجزاء Components	اجزاء پروتئین ^۲ Protein Fractions ²					
	پروتئین محلول SP	ازت غیر پروتئینی A	پروتئین با سرعت تجزیه بالا B ₁	پروتئین با سرعت تجزیه متوسط B ₂	پروتئین با سرعت تجزیه پایین B ₃	پروتئین متصل به دیواره سلولی به دیواره سلولی بدون همی سلولز C
غلاف کامل Whole pod	103.96 ^c	53.23 ^c	51.60 ^c	699.86 ^a	93.46 ^a	193.50 ^a
پوسته غلاف Husk	385.53 ^b	213.03 ^a	175.00 ^b	450.33 ^c	23.93 ^b	159.10 ^b
دانه Seed	465.93 ^a	194.86 ^b	272.86 ^a	460.03 ^b	1.46 ^c	64.33 ^c
P-value	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
SEM	1.979	1.527	1.523	0.509	0.792	1.398

^۱حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

^۲SP: پروتئین محلول، A: ازت غیر پروتئینی، B₁: پروتئین با سرعت تجزیه بالا، B₂: پروتئین با سرعت تجزیه متوسط، B₃: پروتئین با سرعت تجزیه پایین، C: پروتئین متصل به دیواره سلولی بدون همی سلولز (ADIP)، NDIP: پروتئین متصل به دیواره سلولی.

¹Means with different superscript letters in column are significantly different ($P < 0.05$).

²SP: Soluble protein, A: Non protein nitrogen, B₁: protein with highly rates of degradation, B₂: protein with intermediate rates of degradation, B₃: protein with slowly rates of degradation, C: Protein binded to ADF (ADIP), NDIP: protein binded to NDF.

ماده آلی، پروتئین خام، الیاف خام و تی‌دی‌ان غلاف کهور به ترتیب ۶۰/۹۸، ۶۲/۱۶، ۴۸/۱، ۵۱/۳، و ۶۰/۸۷ درصد و در یونجه (با گلدهی کامل) به ترتیب ۵۸/۱۵، ۵۷/۹۳، ۶۹، ۴۹/۴ و ۵۵ درصد گزارش شد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، نتایج این آزمایش نشان داد که با توجه به ترکیب شیمیایی غلاف کهور از قبیل پروتئین خام، ماده آلی و نیز انرژی قابل متابولیسم و همچنین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی آن، این ماده خوراکی دارای ارزش غذایی خوبی می‌باشد. بر این اساس، با توجه به شرایط آب و هوایی جنوب کشور و وجود گیاه کهور به مقدار فراوان و نیز کمبود مراتع گیاهی و منابع خوراکی در مناطق فوق، به نظر می‌رسد پس از انجام آزمایشات بیشتر درون‌تنی، استفاده از این ماده خوراکی می‌تواند در تأمین بخشی از نیازهای غذایی دام‌های این منطقه مورد توجه قرار گیرد.

پروتئین متصل به دیواره سلولی بدون همی سلولز (بخش C) نیز در بخش‌های مختلف غلاف کهور تفاوت بسیار معنی‌داری نشان دادند ($P < 0.01$). مقدار C برآوردی از مقدار ازت غیر قابل هضم در خوراک است و باید تا حد امکان مقدار آن پایین باشد (۱۱). همچنین، هضم شکمبه‌ای و روده‌ای این بخش نیز صفر درصد در نظر گرفته می‌شود (۱۳). در این رابطه، بخش C در دانه کمترین مقدار را داشت و این نشان می‌دهد که کیفیت دانه از این لحاظ مناسب می‌باشد. به نظر می‌رسد که علت پایین بودن بخش C در دانه کهور در مقایسه با دو بخش دیگر، مربوط به درصد ADF کم آن و در نتیجه کمتر بودن تعداد پیوندهای بین ازت پروتئینی با ADF آن باشد.

اگر یک مقایسه‌ای بین ارزش غذایی غلاف کهور و یک خوراک معمول مانند علوفه یونجه صورت بگیرد، مشخص خواهد شد که بر اساس ترکیب شیمیایی و ضریب قابلیت هضم نسبتاً خوب غلاف کهور، این ماده می‌تواند به عنوان یک ماده خوراکی مناسب در جیره غذایی دام‌ها بخصوص در مناطق گرمسیر استفاده شود. در مطالعه‌ای که توسط عسکری (۴) انجام شد، درصد قابلیت هضم ماده خشک،

- 1- Abdulrazak, S. A., T. Awano, T. Ichinohel, T. Fujiharal, and J. Nyangagas. 2000. Nutritive evaluation of Prosopis juliflora fruits and leaves from Kenya. Chemical composition and *in vitro* gas production. Animal Science, P. O. Box 536 Njoro Kenya.
- 2- Alemzadeh, B., H. Fazaeli, A. Kardooni, and S. Noroozy. 2008. Effect of Prosopis juliflora pods in the diet of fattening Arabic lambs. Pajouhesh & Sazandegi: No 75: 181-188. (In Persian)
- 3- Andrade-Montemayor, H., F. Alegría-Ríos, M. Pacheco-López, H. Aguilar- Borjas, F. L. O. Villegas-Díaz, R. Basurto-Gutiérrez, H. Jiménez- Severiano, H. R. Vera-Avila. 2009. Effect of dry roasting on composition, digestibility and degradability of fiber fractions of mesquite pods (Prosopis laevigata) as feed supplement in goats. Trop. Subtrop. Agroecosyst., Pp:1-7.
- 4- Askari F. 2005. The nutritive value of twigs and fruits (Pods with seeds) Prosopis cineraria and Acacia tortilis. Pajouhesh and Sazandegi, 68: 48-55. (In Persian).
- 5- Association of Official Analytical Chemists. 2000. Official Methods of Analysis, 16th ed. USDA,
- 6- Barnett, A. G. and R. L. Reid. 1957. Studies on the production of volatile fatty acid production from fresh grass. Journal of Agriculture Science, 48: 315-321.
- 7- Batista, A. M., A. F. Mustafa, J. J. Mckinnon, and S. Kermasha. 2002. *In situ* ruminal and intestinal nutrients digestibilities of mesquite (Prosopis juliflora) pods. Animal feed science and technology, 100: 107-112.
- 8- Belal, S. O., Y. A. Abdullah, and A. Fatima. 2008. The effect of partial replacement of barley grains by Prosopis juliflora pods on growth performance, nutrient intake, digestibility, and carcass characteristics of Awassi lambs fed finishing diets. Animal Feed Science and Technology, 146: 42-54.
- 9- Blummel, M., K. P. Aiple, H. Steingass, and K. Becker. 1999. A note on the stoichiometrical relationship of short chain fatty acid production and gas formation *in vitro* in feedstuffs of widely different quality. J. AnimalPhysi. And anim Nutri. 81:157-167.
- 10- Boubaker, A. G. and C. Kayouli. 2005. *In vitro* gas production and its relationship to *in situ* disappearance and chemical composition of some Mediterranean browse species. Journal of Feed Science and Technology, 123: 303-311.
- 11- Chamberlain, A. T., and J. M. Wilkinson. 2000. Feeding the dairy cow. (2nd ed.). United Kingdom: Chalcombe Publications, Lincoln.
- 12- Deaville, E. R., and D. I. Givens. 2001. Use of the automated gas production technique to determine the fermentation kinetics of carbohydrate fractions in maize silage. Animal Feed Science and Technology, 93: 205-215.
- 13- Fox D. G., L. O. Tedeschi, T. P. Tylutki, J. B. Russell, M. E. Van Amburgh, L. E. Chase, A. N. Pell, and T. R. Overton. 2004. The Cornell net carbohydrate and protein system model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. Animal Feed Science and Technology, 112: 29-78.
- 14- Getachew, G., E. J. Peters, and P. H. Robinson. 2004. *In vitro* gas production provides effective method for assessing ruminant feeds. Cal. Agriculture, 58: 1-12.
- 15- Greenberg, N. A., and W. P. Shipe. 1979. Comparison of the abilities of trichloroacetic, picric, sulfosalicylic and tungstic acid to precipitate protein hydro lysates and proteins. Journal of Food Science, 44: 735-737.
- 16- Habit, M. A., T. D. Coniteras, and R. H. Gonzalez. 1981. Prosopis tamarugo fodde tree for arid zones. FAO Plant Production and Protection Paper, No. 25: 110.
- 17- Kumar, R., and J. P. F. D'Mello. 1995. Anti-nutritional factors in forage legumes. In: D'Mello J. P. F. and C. Devendra(eds). Tropical legumes in animal nutrition. CAB International, Wallingford, Oxon, UK, pp.95 -133.
- 18- Licitra, G., T. M. Hernandez, and P. J. Van soest. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 57: 347-358.
- 19- Mahgoub, O., I. T. Kadim, N. E. Forsberg, D. S. Al-Ajmi, N. M. Al-Saqri, A. S. Al-Abri, and K. B. Annamalai. 2005. Evaluation of mesquit (Prosopis juliflora) pods as a feed for goats. Animal Feed Science and Technology, 121: 319-327.
- 20- Makkar, H. P. S. 2005. *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemical. Animal Feed Science and Technology, 123/124: 291-302.
- 21- Makkar, H. P. S. 2010. *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In: Vercoe, P. E., Makkar, H. P. S., Schlink, A. C. (Eds.), *In vitro* Screening of Plant Resources for Extra-nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. IAEA, Dordrecht, the Netherlands, pp. 107-144.
- 22- McDonald, P., A. R. Edwards, J. F. D. Greenhalp, and C. A. Morgan. 2002. Animal nutrition. (6th Ed), Prentice Hall, London.
- 23- McDougall, E. I. 1948. Studies on ruminant saliva. The composition and output of sheep saliva. Biochemistry Journal, 43: 99-109.
- 24- Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research Development, 28: 7-55.

- 25- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, and W. Schneider. 1979. The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal of Agricultural Science, 92: 217- 222.
- 26- Meyer, D., R. Becker, M. R. gumbmann, H. Neukom, and R. M. Saunders. 1986. Processing composition, nutritional evaluation and utilization of mesquite (*prosopis* spp.) pods as raw material for the food industry. Journal Agriculture Food Chem., 34: 914-919.
- 27- Moslemi, N. M. 2010. Study of nutritive value and phenolic compounds of *Prosopis cinararia* and *Prosopis juliflora* in different growth stages. The thesis submitted for the degree of M.SC, Department of animal science, Zabol University. (In Persian)
- 28- Muthana, K. D., and G. D. Arora. 1983. *Prosopis juliflora* (Swartz) D.C., a fast growing tree to bloom in the desert. Central Arid Zone Research Institute, Jodhpur, 342 003, India. 21 pp.
- 29- National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. The National Academies Press,
- 30- Pena-Avelino, L. Y., J. M. Pinos-Rodríguez, B. I. Juárez-Flores, and L. Yáñez-Estrada. 2016. Effects of *Prosopis laevigata* pods on growth performance, ruminal fermentation and blood metabolites in finishing lambs. South African Journal of Animal Science, 46 (4): 360-365.
- 31- Pereira T. C. J., M. L.A. Pereira, J. V. Moreira, J. A. G. Azevêdo, R. Batista, V. F. Paula, B. S. Oliveira and E. J. Santos. 2017. Effects of alkaloid extracts of mesquite pod on the products of *in vitro* rumen fermentation. Environmental Science and Pollution Research, 24:4301–4311.
- 32- Pereira, T. C. J., M. L. A. Pereira, S. C. A. Oliveira, L. S. Argôlo, H. G. O. Silva, P. M. D. Santos, P. J. P. Almeida, and A. B. D. Santos. 2013. Mesquite pod meal in diets for lactating goats. Revista Brasileira de Zootecnia, 42 (2): 102-108.
- 33- Riveros, F. 1992. The genus *Prosopis* and its potential to improve livestock production in arid and semi-arid regions. Animal Production and Health Paper, Rom, Pp: 257-276.
- 34- Santos, E. T., M. L. A. Pereira , C. F. P.G. Silva, L. C. Souza-Neta, R. Geris, D. Martins, A. E. G. Santana, L. C. A. Barbosa , H. G., O. Silva, G. C. Freitas, M. P. Figueiredo, F. F. Oliveira and R. Batista. 2013. Antibacterial activity of the alkaloid-enriched extract from *Prosopis juliflora* pods and its influence on *in vitro* ruminal digestion. International Journal of Molecular Sciences, 14: 8496-8516.
- 35- SAS. 2001. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA
- 36- Sawal, R. K., R. Ratan, and S. B. S. Yadav. 2004. Mesquite (*Prosopis juliflora*) pods as a feed resource livestock, A review. Asian Aust. Journal Animal Science, 17 (5): 719-725.
- 37- Schwab, C. G., T. P. Tylutki, R. S. Ordway, C. Sheaffer, and M. D. Stern. 2003. Characterization of Proteins in Feeds. Journal of Dairy Science, 86:88–103.
- 38- Sniffen, C. J., J. D. O'Connor, P. J. Van Soest, D. G. Fox, and J. B. Russell. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. Journal of Animal Science, 70 (11):3562-3577.
- 39- Tilley, J. M. A., and R. A. Terry. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. Journal British Grassland Society, 18: 104-111.
- 40- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed, Cornell University Press, Ithaca, NY.
- 41- Vansoest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3588-3590.



Evaluation of Nutritional Value and Ruminal Fermentation of Mesquitepod

H. Aliarabi^{1*} - F. Alipour² - P. Zamani¹ - D. Alipour¹ - M. Maleki³ - K. Zaboli³

Received: 04-12-2016

Accepted: 12-07-2017

Introduction Mesquite is the dominant flora of southern Iran. Whole pod contains capsule and some seeds which its color, after ripen, is yellow and contains considerable protein and carbohydrate. One of the most important usage of this pod is as animal feed, because the ripen pod is palatable and has high nutritional value. This study was conducted to evaluate chemical composition, ruminal fermentation and digestibility of different parts of mesquite plant as a completely randomized design.

Materials and Methods Mesquite pod was collected from different areas of Hormozgan province. Whole pod, husk and seed were grounded separately. Chemical composition of different parts of mesquite pod (dry matter, organic matter, ash, ether extract, crude protein, non fiber carbohydrate, neutral detergent fiber, acid detergent fiber and lignin) was separately determined. *In vitro* gas production test (IVGPT) was conducted at two parts. For this purpose, rumen fluid was obtained from three fistulated rams before the morning feeding. The rams were fed twice daily with a diet containing alfalfa hay and commercial concentrate to meet their requirements. The collected ruminal fluid was pooled in a flask and was transported under anaerobic conditions to the laboratory. Rumen fluid was filtered through four layers cheesecloth and then mixed continuously with CO₂ and maintained at 39 ° C before the usage. After pre-incubation, the rumen fluid was mixed with buffered mineral solution at the ratio of 1:2 rumen fluid to mineral buffer (V/V). At first part of IVGPT to evaluate kinetics of ruminal fermentation at different incubation time (120 hours), 200 mg of dried and grounded sample was transfer to glass syringe. Syringes were filled with 30 ml of medium (consisting of 10 ml of rumen fluid and 20 ml of buffer solution). The values of produced gas at 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72, 96 and 120 hours after incubation time were determined. At second part of IVGPT, 500 mg sample with 40 ml medium incubated for 24 hour and amount of produced gas, apparent dry matter digestibility, true organic matter digestibility and partitioning factor of samples were measured. Total gas production of each syringe (at first and second parts of IVGPT) was corrected for blank which contained only rumen fluid. Two stages *in vitro* digestibility was done. Different parts of protein in whole pod and husk were estimated based on CNCPS method.

Results and Discussion Results showed that there were significant differences for chemical compositions of different parts of mesquite pod except for dry matter (DM) and acid detergent fiber ($P < 0.05$). As seed had highest values of crude protein (CP), ether extract (EE) and lignin ($P < 0.05$). Percentages of crude protein in whole pod, husk and seed were 12.15, 10.65 and 36.53 respectively. But difference between whole pod and husk was not significant. No significant difference of crude protein content of whole pods and husk is probably due to low weight of seeds in the pod (percentage of seeds in pod was 7.5 percent). Volume of produced gas at 120 hours incubation (GP₁₂₀) and the potential of gas production (b) for husk were significantly higher than those of other parts ($P < 0.05$). The highest amounts of partitioning factor and produced microbial protein were observed in seed. Husk had highest value of short chain fatty acid (SCFA). *In vitro* dry matter digestibility (IVDMD), *in vitro* organic matter digestibility (IVOMD), *in vitro* digestible organic matter in dry matter (IVDOMD) and metabolizable energy (ME) were significantly higher in seed compared to other parts ($P < 0.05$). No significant difference was observed between the whole pod and husk. Protein components in different parts of mesquite pod showed very significant differences ($P < 0.01$). Concentration of soluble protein (SP), non protein nitrogen (A) and highly degradable protein (B₁) were significantly higher in husk than whole pod ($P < 0.05$). Protein bonded to NDF (NIDP) in different parts of pod showed significant differences ($P < 0.05$). Concentration of soluble protein (SP), non protein nitrogen (A) and protein with highly rates of degradation (B₁) were significantly higher in husk than those of whole pod ($P < 0.01$). Soluble and non-structural carbohydrates participate in supply of energy for ruminal microbes and due to high rumen protein degradation, ammonia nitrogen produced is increased. Part A includes small molecules that contain peptides, free amino acids, nucleic acids, amides, amines, nitrates and ammonia. The higher amount of the true protein in feed, the lower amount of part A. Husk has more part A than other two parts of the pod (seed and whole pod), so it contains lower true protein compared to other parts of the pod. The reason for the high protein bonded to NDF (NIDP) in the whole pods compared to husk is probably due to the higher content of crude protein in the whole pod compared to husk so more links between cell wall and protein nitrogen. The higher the NIDP content in a feed, the higher potential for bypass protein.

Conclusion Overall results showed that when considering chemical composition, digestibility and ME, mesquite has relatively high nutritional value. Considering the southern Iran's climate and the fact that mesquite is the dominant flora of this part of Iran, mesquite can be used as a part of diet for ruminants.

Keywords: Digestibility, Gas test technique, Mesquite pod, Nutritional value.



بررسی اثر پودر و عصاره الکلی کرم‌خاکی (*Eisenia fetida*) بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی، آنزیم‌های کبدی و فراسنجه‌های خونی در خروس‌های آذربایجان غربی

مریم ربانی شکوه^۱ - محمد امیر کریمی ترشیزی^{۲*} - علیرضا علیزاده^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۰۳

چکیده

در مطالعه حاضر اثرات آنتی‌اکسیدانی کرم‌خاکی (*Eisenia fetida*) به صورت برون‌تنی و درون‌تنی با طراحی دو آزمایش و با استفاده از ۲۰ قطعه خروس بومی آذربایجان غربی، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، با ۵ تیمار و ۴ تکرار، طی ۱۳ هفته بررسی شد. در آزمایش اول ماده خشک، چربی، پروتئین، خاکستر و الگوی اسید چرب و توان آنتی‌اکسیدانی کرم‌خاکی در شرایط برون‌تنی اندازه‌گیری و مشخص شد کرم‌خاکی حاوی ۲۶ نوع اسید چرب است که در این بین اسیدهای ایکوزاپنتانویک (۱۴/۲۹ درصد)، استئاریک (۱۱/۸۳ درصد) و آراشیدونیک (۹/۵۰ درصد)، اسیدهای چرب غالب بودند. فنل کل کرم‌خاکی نسبتاً زیاد و حدود ۱۶۹/۷۲ میلی‌گرم معادل گالیک‌اسید در هر گرم عصاره بود. اندازه‌گیری توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن نشان داد فعالیت آنتی‌اکسیدانی کرم‌خاکی ۲۴۲ میکرومول آهن در هر میلی‌گرم عصاره خشک بود. در آزمایش دوم اثر پودر کرم‌خاکی، در دو سطح ۱۰ و ۲۰، و عصاره الکلی کرم‌خاکی، در دو سطح ۵/۶۵ و ۱۱/۳ گرم بر کیلوگرم جیره، بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی پلاسما، خون و شاخص‌های پراکسیداسیون خون، کبد و بیضه و آنزیم‌های سرمی کبد بررسی شد. نتایج حاکی از پایین بودن غلظت مالون‌دی‌آلدهید خون و کبد و بیضه خروس‌های تمام تیمارها نسبت به گروه شاهد بود. در بین فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، تنها مقدار کلسمین تحت تأثیر پودر کرم‌خاکی (سطح ۲) قرار گرفت و به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. غلظت پلاسمایی آنزیم‌های لاکتات‌دهیدروژناز، آسپارات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در تمام تیمارها نسبت به شاهد کاهش نشان داد. با اینحال غلظت آلانین آمینوترانسفراز تحت تأثیر قرار نگرفت. بطور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پودر یا عصاره الکلی کرم‌خاکی واجد اثرات آنتی‌اکسیدانی بوده و موجب حفاظت خون، بافت بیضه و کبد در برابر تنش اکسیداتیو می‌شود و انتظار می‌رود به باروری جنس نر کمک نماید.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های کبدی، خروس بومی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کرم‌خاکی.

مقدمه

رادیکال‌های آزاد جزو مولکول‌های مشتق از اکسیژن هستند که در صورت فعالیت بیش از حد به‌عنوان اکسیدان‌های مضر در نظر گرفته می‌شوند. رادیکال‌های آزاد به دلیل داشتن الکترون‌های جفت

نشده از لحاظ شیمیایی فعال و واکنش‌زا بوده و موجب آسیب ماکرومولکول‌های مختلف بدن جانداران از قبیل پروتئین، لیپید، کربوهیدرات و DNA می‌شود (۵۳). افزایش فعالیت رادیکال آزاد، متاثر از افزایش تولید آن و یا افت توان سیستم‌های حفاظتی آنتی‌اکسیدانی است (۴۱). رادیکال‌های آزادی که حاوی اکسیژن هستند را جزو گونه‌های اکسیژن واکنشگر یا ROS^۴ دسته‌بندی می‌کنند. گونه‌های واکنشگر اکسیژن شامل: آنیون سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال پروکسیل ($ROO^\bullet$)، یون هیپوکلریک (ClO^-) و رادیکال بسیار فعال هیدروکسیل ($OH^\bullet$) می‌باشند (۱۴). اسیدهای چرب غیراشباع موجود در غشاهای بیولوژیک از جمله حساسترین اهداف اکسیدکننده‌ها هستند. اکسیداسیون این اسیدهای چرب سبب کاهش سیالیت غشاء و از بین

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۲- دانشیار گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۳- استادیار پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاددانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، گروه جنین‌شناسی، تهران، ایران.

*- نویسنده مسئول: (Email: karimitm@modares.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.v1397i1.58664

بیوشیمیایی پلاسمای خون خروس‌های بومی بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش اول

تهیه و آماده سازی پودر کرم‌خاکی

کرم‌های خاکی گونه *Eisenia fetida* به صورت زنده از شرکت آمیزه طبیعت (تهران، ایران) تهیه شدند. پس از جداسازی آن‌ها از مواد بستری و شستشو، در مجاورت هوا و در سایه خشک و سپس آسیاب شدند. رطوبت و خاکستر نمونه‌ها به ترتیب با استفاده از آون (در دمای 101°C به مدت ۲۴ ساعت) و کوره (دمای 600°C) با ۳ تکرار اندازه‌گیری شدند. چربی خام با حلال پتروئوم بنزین^۱ (۴۸) و پروتئین خام نیز به روش معمول تعیین شد (۴).

آنالیز اسیدهای چرب با کروماتوگرافی گازی (GC)

استخراج اسیدهای چرب نمونه کرم‌خاکی با دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC unit, Unicam 4600, USA) و با بکارگیری روش Metcalf و همکاران (۳۰) انجام و نوع و غلظت اسیدهای چرب نمونه معین شد. دستگاه مجهز به آشکارساز یونیزه کننده شعله و ستون موئین با ابعاد ۳۰ متر در 0.22 میلی‌متر بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل استفاده شد. دمای آون و ستون دستگاه نیز مطابق برنامه دمایی داده شده به این صورت تنظیم شده بود که زمان اولیه 160°C درجه سلسیوس به مدت ۶ دقیقه بود، طی مدت ۱۳ دقیقه دما از 160 به 180°C درجه سلسیوس رسید و تا پایان کار در این دما ماند. کل زمان شناسایی ۳۰ دقیقه بود. دمای آشکارساز 280°C درجه سلسیوس، دمای تزریق 240°C درجه سلسیوس و فشار سر ستون 20 psi بود. حجم نمونه تزریق شده نیز حدود 0.2 تا 0.3 میکرولیتر بود.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی

تام

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از فنل تام و FRAP^2 انجام شد. مقادیر فنل تام نمونه‌های عصاره کرم‌خاکی با اندکی تغییر، با بکارگیری روش فولین-سیکالتو اندازه‌گیری شد، و با استفاده از منحنی استاندارد، بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره، گزارش شد (۲۹).

توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن (FRAP)

در این روش توان آنتی‌اکسیدانی براساس توانایی احیاء یون فریک (III) به یون فروس (II) سنجیده و نتایج برحسب میکرومول

رفتن ساختار و عملکرد آن می‌شود که در بروز بسیاری از بیماری‌ها نقش دارد. مکانیسم‌های متفاوتی برای مهار یا کاهش آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد وجود دارد که یکی از آن‌ها سیستم آنتی‌اکسیدانی است (۱۳، ۱۸). آنتی‌اکسیدان‌ها بطور کلی، ترکیباتی هستند که ROS را از بین برده و یا تشکیل آن را متوقف و جلوی عمل آن را می‌گیرند؛ از این رو می‌توان از آنتی‌اکسیدان‌ها برای جلوگیری و یا به حداقل رساندن تنش اکسیداتیو سود برد (۴۹).

بیشتر آنتی‌اکسیدان‌های مورد استفاده در صنعت، مانند هیدروکسی تولوئن بوتیل (BHT) و هیدروکسی آنیزول بوتیل (BHA)، مصنوعی هستند. در سالیان اخیر، اثرات سوء این نوع از آنتی‌اکسیدان‌ها بررسی شده است و اثرات سمی و سرطان‌زا بودن برخی از آن‌ها تایید شده است (۲۱، ۲۲ و ۴۲). از این رو تمایل زیادی در استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به وجود آمده است. یکی از این منابع که مورد توجه واقع شده و تحقیقات گسترده‌ای پیرامون آن صورت گرفته است، کرم‌خاکی می‌باشد که از آن در تولید ورمی کمپوست استفاده صنعتی می‌شود (۴۴).

این موجود واجد ویژگی‌های درمانی منحصر بفردی، از جمله اثرات ضدالتهابی، ضداکسیداتیو، ضدتومور و ضدباکتریایی است (۵، ۲۴). از آنجا که مواد سمی زیادی در محل زندگی کرم‌خاکی یافت می‌شود، لذا انتظار می‌رود که کرم‌ها خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی داشته باشند (۳۱).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کرم‌خاکی به ترکیبات فنلی آن نسبت داده می‌شود که نقش مهمی در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد بازی می‌کنند چراکه ترکیبات فنلی دارای گروه عاملی هیدروکسیل هستند (۵). استفاده از عصاره کرم‌خاکی به‌طور معنی‌داری مانع فیبروز کبدی در موش می‌شود (۲۰). مواد موجود در بدن کرم‌خاکی ممکن است عاملی در از بین بردن تومور در شرایط برون‌تنی باشد (۴۷). در پژوهشی دیگر، اثر ضد زخم معده و آنتی‌اکسیدانی کرم‌خاکی (*Rattus norvegicus*) گزارش شد (۳۶). این محققان همچنین بیان داشتند که مصرف خوراکی پودر کرم‌خاکی می‌تواند کبد موش را به‌طور معنی‌داری در برابر الکل حفاظت کند (۳۷).

یکی از پیامدهای پراکسیداسیون لیپیدی گسترده، تولید ROSها است که توانایی بارورسازی اسپرم را با مشکل روبرو می‌سازد (۱). سطوح بالای اسیدهای چرب سیرنشده در غشاء پلازما و سیتوپلاسم اسپرم، این سلول را در برابر حمله ROS آسیب‌پذیر می‌سازد، از اینرو تولید بیش از حد ROS یکی از علل اصلی ناباروری است (۳). وجود آنتی‌اکسیدان وضعیت ثابتی از سطح ROS را در پلاسمای منی ایجاد می‌کند (۳۹).

بنابراین هدف تحقیق حاضر بررسی ویژگی آنتی‌اکسیدانی کرم‌خاکی و اثرات آن بر سطح مالون‌دی‌آلدئید در خون، کبد و بیضه همچنین بررسی شاخص‌های آسیب‌پذیری و فراسنجه‌های

1- Petroleum benzine (Merck, Germany)

2- Ferric Ion Reducing Antioxidant Power

یون فروس در گرم عصاره گزارش شد (۷).

آزمایش دوم

تعداد ۲۰ قطعه خروس بالغ نژاد بومی ارومیه (در ۴۳ هفتگی) مورد تحقیق قرار گرفت. خروس‌ها در قفس‌های انفرادی مخصوص مرغ مادر نگهداری شدند. مقدار خوراک دریافتی روزانه‌ی هر خروس ۱۰۰ گرم بود. در طول تحقیق خروس‌ها به‌صورت آزاد به آب (آبخوری پستانکی) دسترسی داشتند. برنامه نوری شامل ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. آزمایش در مدت ۱۳ هفته و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار انجام شد. تیمارها به ترتیب عبارت بودند از: تیمار ۱، جیره شاهد؛ تیمارهای ۲ و ۳، جیره‌های حاوی ۱۰ و ۲۰ گرم پودر کرم‌خاکی در کیلوگرم خوراک؛ و تیمارهای ۴ و ۵، جیره‌های حاوی ۵/۶۵ و ۱۱/۳ گرم عصاره الکلی کرم‌خاکی در هر کیلوگرم خوراک. بلوک‌بندی براساس رکوردگیری اولیه خروس‌ها در مورد صفات حجم منی و غلظت اسپرماتوزوا در منی انجام شد.

نحوه تهیه عصاره الکلی کرم‌خاکی

برای تهیه عصاره الکلی، مقدار ۱۰۰۰ گرم پودر خشک کرم‌خاکی پس از خیساندن در ۱۰ لیتر الکل (اتانول ۸۰٪) به‌مدت ۲۴ ساعت، روی شیکر با دور ۱۵۰ rpm قرار گرفته و سپس محلول با کاغذ واتمن صاف شد. محلول صاف شده با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخشی در دمای ۵۰ درجه سلسیوس با سرعت ۱۸۴ دور در دقیقه تغلیظ شد و سپس در دمای ۴۵ درجه سلسیوس به‌طور کامل خشک شد. سپس راندمان عصاره‌گیری تعیین گردید (۱۹).

نمونه‌گیری برای بررسی فراسنجه‌های بیوشیمیایی

پلاسمای خون و اکسیداسیون در بافت کبد و بیضه

در پایان دوره (سن ۵۶ هفتگی) به منظور بررسی بیوشیمی پلازما، از ورید بال همه خروس‌ها، با استفاده از سرنگ آغشته به ماده ضد انعقاد هپارین خون‌گیری انجام شد و نمونه خون به میکروتیوب‌ها انتقال داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و پلازما جدا گردید و تا زمان آزمایش در فریزر با دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری گردید.

شاخص‌های بیوشیمیایی پلازما خون

غلظت پروتئین تام، آلبومین، اسیداوریک، گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، کلسیم و فسفر نمونه‌های پلازما با کیت آزمایشگاهی شرکت پارس‌آزمون توسط اسپکتروفتومتر (Jenway Genova MK3, UK) تعیین شد. اندازه‌گیری هموگلوبین نیز با استفاده از کیت تجاری (زیست شیمی، ایران) و با روش سیانومت هموگلوبین روی

نمونه‌های خون کامل انجام گردید (۱۶).

غلظت آنزیم‌های پلاسمای خون

فعالیت آنزیم‌های آسپاراتات‌آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین‌آمینو ترانسفراز (ALT) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) موجود در نمونه‌های پلازما به عنوان نشانگر آسیب غشاء سلولی ناشی از پراکسیداسیون به منظور مقایسه بین تیمارها با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس‌آزمون ایران بوسیله دستگاه میکروپلیت ریدر (Awareness Technology Inc. Stat Fax 3200, Palm city, USA) در طول موج‌های ۳۴۰ و ۵۰۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت آنزیم‌ها برحسب واحد در لیتر بیان شد.

اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید خون

به این منظور از روش Rao و همکاران (۴۰) استفاده شد. در این روش میزان MDA با استفاده از معرف تیوباربیتریک اسید (TBA) مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام این آزمایش ۱۰۰ μl از نمونه پلازما به ۹۰۰ μl آب مقطر اضافه شد، سپس ۵۰۰ μl معرف TBA به نمونه رقیق شده افزوده شد و به مدت ۱ ساعت در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از سرد شدن نمونه‌ها، میزان جذب در طول موج ۵۳۴ نانومتر قرائت شد.

اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت کبد و بیضه

پس از کشتار و وزن‌کشی کبد و بیضه خروس‌های مورد آزمایش، به‌منظور سنجش میزان اکسیداسیون لیپیدی حاصل از اثر رادیکال‌های آزاد با استفاده از تیوباربیتریک اسید، غلظت MDA در بافت همگن شده کبد و بیضه اندازه‌گیری شد. این روش بر اساس مقدار جذب نوری کمپلکس صورتی رنگ حاصل از واکنش مولکول مالون-دی‌آلدئید با دو مولکول TBA استوار است (۹). جهت آنالیز داده‌ها، رویه ANOVA در نرم افزار آماری SAS مورد استفاده قرار گرفت (۴۵) و برای مقایسه میانگین‌ها، آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ به کار گرفته شد.

نتایج و بحث

آزمایش اول

مقدار ماده خشک ۹۱٪، پروتئین خام ۶۴/۲٪، چربی خام ۱/۷٪، خاکستر ۸/۷۵٪ در نمونه پودر کرم‌خاکی بدست آمد. همچنین راندمان عصاره‌گیری اتانولی ۵۶/۳ گرم به‌ازای هر ۱۰۰ گرم پودر کرم‌خاکی محاسبه گردید.

جدول ۱- ترکیب جیره‌های آزمایشی (گرم/کیلوگرم)

Table 1- Composition of experimental diets (g/kg)

اقلام خوراکی Ingredients	جیره شاهد Control diet	پودر کرم خاکی Earthworm meal(10 g/kg)	پودر کرم خاکی Earthworm meal(20 g/kg)	عصاره الکلی کرم خاکی Ethanolic extract (5.65g/kg)	عصاره الکلی کرم خاکی Ethanolic extract (11.3g/kg)	Chemical Composition
ذرت Corn	691.75	691.75	691.75	691.75	691.75	ME=2800kcal/kg
سبوس گندم Wheat bran	139.6	139.6	139.6	139.6	139.6	CP=13 %
کنجاله سویا (۴۴٪) Soybean meal (44%)	65.2	65.2	65.2	65.2	65.2	Ca=1 %
گلوتن ذرت Corn gluten	30	20	10	30	30	AP=0.35 %
پودر کرم خاکی Earthworm meal	-	10	20	-	-	Met+Cys=0.49%
عصاره الکلی کرم خاکی Ethanolic extract	-	-	-	0.56	1.13	Met=0.24%
ماسه Sand	20	20	20	20	20	Thr=0.44 %
کربنات کلسیم CaCO ₃	17.4	17.4	17.4	17.4	17.4	Lys=0.5 %
جو Barley	14.73	14.73	14.73	14.73	14.73	Na=0.15 %
دی کلسیم فسفات DCP	12.96	12.96	12.96	12.96	12.96	
نمک طعام Common salt	3	3	3	3	3	
مکمل ویتامینی Vit. Premix ¹	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	
مکمل معدنی Min. Premix ¹	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	
ال-لایزین L-Lysine HCl	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	

¹Supplied per kg of diet: Mn, 100 mg; Fe, 60 mg; Zn, 80 mg; Cu, 8 mg; I, 1 mg; Se, 0.3 mg; Vit A, 10000 IU; Vit D₃, 2000 IU; Vit E, 20 IU; Vit K₃, 2 mg; Vit B₁, 2.5 mg; Vit B₂, 8 mg; Vit B₃, 40 mg; Vit B₅, 15 mg; Vit B₆, 5 mg; Biotin, 0.3 mg; Vit B₁₂, 0.02 mg; Folic Acid, 1.5 mg; Choline Chloride, 500 mg

محتوای فنل کل نمونه

مقدار فنل کل ۱۶۹/۷۲ میلی گرم معادل اسید گالیک در هر گرم عصاره خشک کرم خاکی بدست آمد. فنل کل در برخی گیاهان دارویی از جمله موسیر ۱۳۹/۶۷±۴/۵، چای کوهی ۴۴/۵۳±۸/۱۴، سیاه‌دانه ۵۷/۳۳±۳/۰۵، آویشن شیرازی ۲۸۳/۳۴±۱۱/۰۶، بابونه ۱۸۶/۶۴±۶/۱۱ و بارهنگ ۱۵۴/۳۳ میلی گرم اسید گالیک در هر گرم

عصاره خشک گزارش شده است (۳۲ و ۳۳).

ترکیبات فنلی به عنوان آنتی‌اکسیدان قوی شناخته می‌شوند زیرا واجد گروه‌های هیدروکسیلی هستند که توانایی شکستن زنجیره اکسیداسیون را دارند. کرم‌خاکی از جمله موجوداتی است که به‌علت شرایط خاص محل زیست آن، دارای ترکیبات فنلی زیادی است. در آزمایشی برای بررسی توان آنتی‌اکسیدانی، کرم‌خاکی (Lampito

(۵۱) نشان داد که به‌ازاء هر میلی‌گرم پروتئین کرم‌خاکی، ۸/۸۰ میکروگرم معادل اسید گالیک وجود دارد. ترکیبات فنلی متابولیت‌های ثانویه هستند و به‌عنوان مولکول‌های مهارکننده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند (۲۳).

mauritii) در معرض خاک آلوده به فلزات سنگین قرار گرفته و گزارش شد که زنده‌مانی کرم‌خاکی در خاک آلوده به فلزات سنگین، مستقیماً به ویژگی آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی آن‌ها ارتباط دارد (۲۷). بررسی محتوای فنلی کرم‌خاکی در مطالعه Verma و Sobha

جدول ۲- غلظت و درصد اسیدهای چرب نمونه کرم خاکی

Table 2- Fatty acids concentration and percentage in earthworm sample

اسید چرب Fatty acid	غلظت Concentration (mg/g fresh EW)	%
C8:0	0.007	0.204
C10:0	0.108	3.101
C12:0	0.140	4.012
C14:0	0.092	2.648
C14:1	0.123	3.539
C16:0	0.195	5.580
C16:1	0.141	4.041
C17:0	0.130	3.734
C17:1	0.038	1.085
C18:0	0.413	11.830
C18:1(n-6)C	0.244	6.997
C18:1(n-6)T	0.183	5.258
C18:1(n-7)	0.072	2.051
C18:2(n-6)C	0.238	6.821
C18:2(n-6)T	0.101	2.883
C18:3(n-3) ω 6	0.021	0.616
C18:3(n-3) ω 3	0.007	0.188
C20:0	0.139	3.974
C20:1	0.028	0.807
C20:2	0.037	1.071
C20:3	0.079	2.275
C21:0	0.068	1.954
C22:0	0.043	1.230
C20:4(n-6)	0.331	9.505
C20:5(n-3) EPA	0.498	14.289
C22:6(n-3) DHA	0.011	0.303

دارد (۳۸). در این تحقیق مقدار احیای آهن ۲۴۲ میکرومول آهن در هر میلی‌گرم عصاره خشک کرم‌خاکی به‌دست آمد. در تحقیقات احیای آهن در گیاهان دارویی مختلف از جمله خاکشیر ۶۲۴±۷/۵۷، گشنیز ۲۳۲±۹، شنبلیله ۳۰۰±۷/۶، بابونه ۳۲۰±۸/۷ میکرومول آهن در هر میلی‌گرم عصاره خشک بیان شده است (۳۲، ۳۳).

تنوع اسید چرب موجود در کرم‌خاکی اهمیت دارویی و تغذیه‌ای این جانور را نشان می‌دهد. در مطالعه حاضر عمده‌ترین اسیدهای چرب موجود در کرم‌خاکی ایکوزاپنتانویک اسید (امگا-۳) (۱۴/۲۹٪)، استئاریک اسید (۱۱/۸۳٪)، ایکوزاتترانویک اسید (امگا-۶) (۹/۵۰٪) می‌باشد. در این راستا گونیا و همکاران (۲۰۱۶) نیز الگوی اسید چرب کرم‌خاکی *Eisenia fetida* را تعیین کردند که در این پژوهش نیز درصد این سه اسید چرب، به همراه اسید لینولئیک، از دیگر اسیدهای چرب بیشتر بود (۱۷). اسیدهای چرب امگا-۶ و امگا-۳ در مهره داران

در پژوهش الدراجی و همکاران (۲) خمیر دو نوع کرم‌خاکی (کرم-خاکی قرمز یا *Lumbricus rubellus* و نوعی کرم‌خاکی آفریقایی *Eudrilus eugeniae*) را از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی با ویتامین C مقایسه کرده و اعلام داشتند که خمیر این دو نوع کرم‌خاکی مقادیر زیادی ترکیبات فنلی دارد (به ترتیب ۲۴۷/۰ و ۲۲۰/۶ میلی‌گرم در لیتر) که باعث فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجه آن‌ها می‌شود. بررسی فنل کل روی عصاره استخراج شده از کرم‌خاکی (*Eisenia fetida*) در مطالعه حاضر نیز انجام شد که نتایج حضور ترکیبات فنلی را که می‌تواند مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی باشد، تایید می‌کند.

مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن

این روش به طور مستقیم آنتی‌اکسیدان‌ها و یا احیاء کننده‌ها را در نمونه اندازه‌گیری می‌کند و رابطه خطی با غلظت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها

موید این امر است که تیمار شاهد به طور معنی داری اکسیداسیون لیپید بیشتری نسبت به سایر تیمارها دارد ($P < 0.05$). یکی از نشانه‌های مهم تنش اکسیداتیو در سلول‌ها، پراکسیداسیون چربی‌های غشاء است. چون سیالیت بالا و انعطاف پذیری در غشاء اسپرم پرنندگان برای تحرک و لقاح تخمک ضروری می‌باشد، لذا غشاء اسپرم حاوی مقادیر زیادی اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه است (۵۴). روند پراکسیداسیون چربی موجب تخریب ساختار غشاء، کاهش قدرت تحرک، مهار فعالیت‌های آنزیمی و ایجاد شکستگی در DNA سلول‌های اسپرم شده و نهایتاً منجر به کاهش توان باروری اسپرم می‌شود (۴۳). با توجه به نتایج تحقیق حاضر ممکن است پودر و یا عصاره الکلی کرم‌خاکی سبب کاهش اکسیداسیون بافت بیضه خروس‌ها شده باشد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در پلاسمای خون خروس‌های مورد آزمایش نیز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (جدول ۳). بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی داری از نظر میزان اکسیداسیون چربی خون وجود داشت به طوری که در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها سطح MDA پلاسما بیشتر بود؛ بین سایر تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($P < 0.05$). مالون‌دی‌آلدئید محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها است و در نتیجه پراکسیداسیون چربی، در بیشتر نمونه‌های بیولوژیکی شامل پلاسما، بافت‌ها و ادرار یافت می‌شود. بنابراین با اندازه‌گیری سطوح MDA می‌توان توسعه پراکسیداسیون چربی که در اثر فعالیت ROSها بوجود آمده است را تعیین نمود (۳۵). در پژوهش حاضر نیز ممکن است مکمل کردن پودر و عصاره الکلی کرم‌خاکی در جیره با از بین بردن رادیکال‌های آزاد سبب کاهش MDA پلاسمای خون خروس‌ها شده باشد.

برخی از فراسنجه‌های خونی از جمله گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، اسید اوریک، کلسیم، فسفر و پروتئین خون نیز در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۴). تجزیه آماری و میانگین‌های مربوط به اندازه‌گیری گلوکز و تری‌گلیسرید تفاوت معنی داری نشان نداد ($P > 0.05$). در این راستا عید و همکاران (۱۵) به جیره جوجه‌هایی که تحت تأثیر کورتیکوسترون (هورمون تنش) قرار داشتند، مقادیر متفاوتی پلی‌فنل اضافه کردند، نتایج نشان داد که محتوای غلظت تری‌گلیسرید و نیز میزان هورمون‌های تنش موجود در پلاسما کاهش یافت. در مجموع این محققین به این نتیجه رسیدند که پلی‌فنل‌ها می‌توانند در شرایط تنش، چربی خون و تنش اکسیداتیو را کاهش دهند. یک از دلایل این امر این است که برخی پلی‌فنل‌ها اثر بازدارندگی بر جذب روده‌ای چربی دارند. همچنین سبب ایجاد تغییر در روند تشکیل میسل‌ها شده و بازجذب اسیدهای صفراوی را دستخوش تغییر می‌سازند (۸). البته باید توجه داشت که تاکنون تحقیقات بسیار کمی در مورد کرم‌خاکی و به ویژه محتوای پلی‌فنلی آن به انجام رسیده است.

سنتر نمی‌شوند و بایستی از طریق جیره به شکل پیش‌سازهای اسید لینولئیک (C18:3n-3) و اسید لینولئیک (C18:2 n-6) و یا از مشتقات بلند زنجیر آن‌ها که در بافت‌های حیوانی یافت می‌شوند (۲۲-۲۰ کربن، ۴ باند دوگانه) تأمین شوند (۱۱).

از کرم‌های خاکی چندین اسید چرب نیز جدا شده است که مهم‌ترین آن‌ها اسید لوریک است که از نظر خواص ضد میکروبی شناخته شده بوده و پیش‌ساز مونولورین می‌باشد. این ماده دارای ویژگی‌های ضد میکروبی بالقوه قوی بوده و برای مبارزه با ویروس‌ها، تعدادی باکتری‌های گرم‌مثبت، مخمرها، تک‌یاخته‌های مختلف بیماری‌زا موثر می‌باشد (۲۶). مقدار اسید چرب لوریک در نمونه مورد آزمایش حدود ۴ درصد بود.

اسید لینولئیک یکی دیگر از اسیدهای چرب سیرنشده موجود در کرم‌خاکی است که ارزش دارویی زیادی دارد و در بدن انسان به اسید گامالینولئیک و نهایتاً به پروستاگلندین‌ها تبدیل می‌شود که به تنظیم التهاب و فشارخون و عملکرد دستگاه گوارش و کلیه کمک می‌کند (۲۵، ۲۶).

آزمایش دوم

مالون‌دی‌آلدئید به عنوان نشانگر تنش اکسیداتیو، آخرین محصول تجزیه اکسیداتیو لیپیدها است و افزایش سطح آن در بافت نشان دهنده افزایش آسیب غشاء سلولی است (۵۰). میزان MDA تولید شده طی پراکسیداسیون لیپیدی سلول‌های کبد، خون و بیضه در تیمارهای مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج حاکی از وجود تفاوت معنی دار بین تیمار شاهد و دیگر تیمارهای آزمایشی بود به این ترتیب که بیشترین مقدار MDA، مربوط به گروه شاهد بود که به طور معنی داری از دیگر تیمارهای آزمایشی بیشتر بود ($P < 0.05$). محققین بیان کردند خوردن عصاره کرم‌خاکی به موش‌هایی که کبد آن‌ها دچار التهاب شده بود سبب کاهش MDA بافت کبد در این موش‌ها شد، زیرا عصاره کرم‌خاکی اثر آنتی‌اکسیدانی در برابر الکل داشته و می‌تواند اثر حافظتی قابل توجهی روی بافت کبد داشته باشد (۳۷).

همچنین نشان داده شده است که مصرف پودر کرم‌خاکی (۵۰۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن) به مدت ۴۲ روز در موش‌هایی که کبد آن‌ها در اثر مصرف الکل دچار التهاب شده بود، سبب کاهش MDA بافت کبد شد (۳۷).

در تحقیق دیگری پلی‌فنل‌های حاصل از چای سبز به جیره جوجه گوشتی که تحت تنش ناشی از القاء کورتیکوسترون بودند افزوده و مشخص شد پلی‌فنل‌ها اثر حفاظتی روی بافت کبد داشته و سبب کاهش MDA بافت کبد می‌شود (۱۵).

در بررسی حاضر میزان MDA در بافت بیضه نیز اندازه‌گیری شد. در بررسی حاضر میزان MDA در بافت بیضه اندازه‌گیری شد. نتایج

جدول ۳- اثر تیمارهای مختلف بر وزن بدن، کبد، بیضه و مقدار تولید مالون‌دی‌آلدهید در خون، کبد و بیضه^۱
Table 3- Effects of different treatments on body, liver and testis weights and MDA of blood, liver, and testis¹

	تیمارهای آزمایشی Experimental Treatments					SEM	P-Value
	Control	EM ² (10g/kg)	EM (20g/kg)	EE ³ (5.65g/kg)	EE (11.3g/kg)		
مالون‌دی‌آلدهید بیضه Testis MDA (μg/g)	0.06 ^a	0.04 ^c	0.05 ^b	0.04 ^c	0.03 ^c	0.003	0.0001
وزن بیضه Testis weight (g)	32.59	31.46	32.05	37.37	36.8	0.86	0.1
وزن کبد Liver weight (g)	34.93	40.83	36.54	34.45	40.52	1.12	0.28
وزن بدن Body weight (g)	3630	3365	3302	3423	3602	51.96	0.18
مالون‌دی‌آلدهید کبد Liver MDA (μg/g)	0.57 ^a	0.09 ^b	0.14 ^b	0.13 ^b	0.28 ^b	0.059	0.03
مالون‌دی‌آلدهید خون Blood MDA(μmol/L)	0.17 ^a	0.08 ^b	0.09 ^b	0.07 ^b	0.08 ^b	0.009	0.0001

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

¹ Means within columns with no common superscript differ significantly ($P < 0.05$). SEM: standard error means; MDA:

malondialdehyde

² Earthworm Meal

³ Ethanolic Extract

نشد ($P > 0.05$).

غلظت آنزیم‌های کبد

آنزیم‌های غیر عملکردی پلاسما شامل لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آسپارات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP)، به آنزیم‌های نشانگر وضعیت تخریب بافت معروفند که در نتیجه‌ی اکسیداسیون لیپید غشاء سلول‌ها و به دنبال آن تخریب بافت‌ها وارد پلاسما شده و در پلاسما تجمع می‌یابند (۵۲). افزایش سن، تنش (همچون تنش نگهداری طولانی مدت در قفس)، ROSها و ضعف سیستم ایمنی از جمله عواملی هستند که می‌توانند بافت کبدی را با مشکل روبرو سازند. در پایان آزمایش، فعالیت آنزیم‌های LDH، AST، ALT و ALP مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از ارزیابی اثر جیره‌های آزمایشی بر غلظت آنزیم‌های کبدی پلاسما در جدول ۵ نشان داده شده است. مصرف جیره‌های حاوی پودر کرم‌خاکی و نیز عصاره کرم‌خاکی (سطح ۱)، در مقایسه با تیمار شاهد، سبب کاهش فعالیت آنزیم LDH شد ($P < 0.05$). همچنین تمام جیره‌های حاوی پودر یا عصاره کرم‌خاکی نسبت به شاهد سبب کاهش معنی‌دار فعالیت AST شدند ($P < 0.05$). میزان ALP پلاسما در گروه‌های آزمایشی نیز تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی مختلف قرار گرفت به این ترتیب که میزان این آنزیم در پلاسما خون خروس‌هایی که پودر (سطح ۱) و دو سطح عصاره کرم‌خاکی مصرف کرده بودند، نسبت به گروه شاهد بطور معنی‌داری

بررسی داده‌های مربوط به کلسترول خون در جدول ۴، عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف را نشان می‌دهد ($P > 0.05$). البته در برخی پژوهش‌ها، از جمله پژوهش براوو (۱۰) اثر پلی‌فنل بر کاهش کلسترول خون گزارش شده است، این محقق اثر احتمالی پلی‌فنل‌ها بر کاهش مکانیسم انتقال معکوس کلسترول^۱ (که باعث انتقال کلسترول از بافت‌ها به کبد می‌شود) و کاهش جذب روده‌ای آن و حتی افزایش اسیدهای صفراوی را از جمله دلایل کاهش کلسترول بیان کردند. نتایج حاصل از آنالیز مقادیر پلاسمایی آلبومین و هموگلوبین خون نشان می‌دهد بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P > 0.05$). استفاده از پودر کرم‌خاکی در جیره موش‌هایی که دچار التهاب کبد بودند، سبب کاهش آلبومین پلاسمای خون به سطح نرمال گردید، همچنین کاهش هموگلوبین خون موش‌های آزمایشی در اثر التهاب نیز با مصرف کرم‌خاکی به حالت طبیعی برگشت (۵). در تحقیق حاضر غلظت پروتئین کل و اسید اوریک خون نیز مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که تأثیر معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P > 0.05$).

داده‌های بررسی کلسیم و فسفر پلاسما نیز در جدول ۴ ارائه شده و مشخص است که بیشترین غلظت کلسیم (بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر) مربوط به تیمار پودر کرم‌خاکی (سطح ۲) و کمترین میزان مربوط به تیمار عصاره کرم‌خاکی (سطح ۱) بود ($P < 0.05$). اما بین تیمارهای آزمایشی از نظر غلظت فسفر خون تأثیر معنی‌داری مشاهده

1- Reverse cholesterol transport

خون منتشر می‌شود. افزایش فعالیت این آنزیم مربوط به شدت آسیب سلولی است (۲۸). در مطالعه بالامورگان و همکاران (۵) نیز استفاده از پودر کرم‌خاکی در جیره موش، سبب کاهش معنی‌دار فعالیت ALP در کبد شد.

کاهش یافت ($P < 0.05$)، در این بین ALP در پلاسماي خروس‌های تیمار سطح ۱ عصاره الکلی به‌طور معنی‌داری از تمام گروه‌های دیگر کمتر بود ($P < 0.05$). تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی در بررسی ALT پلاسما خون مشاهده نگردید ($P > 0.05$). آنزیم ALP از جمله آنزیم‌های سیتوپلاسمی است که پس از آسیب سلولی در گردش

جدول ۴- اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی پلاسماي خون (میلی گرم در دسی‌لیتر)^۱

Table 4- Effects of different treatments on biochemical parameters in blood plasma (mg/dl)¹

	تیمارهای آزمایشی Experimental Treatments					SEM	P-Value
	Control	EM ¹ (10g/kg)	EM (20g/kg)	EE ² (5.65g/kg)	EE (11.3g/kg)		
فسفر Phosphorus (mg/dl)	4.63	4.43	4.45	4.48	4.38	0.03	0.14
کلسیم Calcium (mg/dl)	8.16 ^b	8.68 ^{ab}	9.45 ^a	7.87 ^b	8.79 ^{ab}	0.17	0.02
هموگلوبین Hemoglobin (g/dl)	15.81	14.24	14.59	15.5	15.13	0.34	0.68
آلبومین Albumin (g/dl)	4.89	4.72	4.85	4.54	4.91	0.05	0.11
اسید اوریک Uric acid (mg/dl)	6.74	6.92	6.68	6.56	6.58	0.28	0.05
پروتئین تام Total protein (g/dl)	4.1	3.89	3.83	3.9	4.09	0.06	0.41
کلسترول Cholesterol (mg/dl)	144.9	149.1	146.2	140.1	150.4	1.56	0.32
تری‌گلیسیرید Triglyceride (mg/dl)	170.75	172.13	173	163.67	170.5	3.16	0.92
گلوکز Glucose (mg/dl)	153.2	149.2	153.8	155.8	144.1	1.81	0.16

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

¹ Means within columns with no common superscript differ significantly ($P < 0.05$). SEM: standard error means; MDA: malondialdehyde

² Earthworm Meal

³ Ethanolic Extract

جدول ۵- اثر جیره‌های آزمایشی بر غلظت آنزیم‌های کبدی پلاسماي خون (واحد در لیتر)^۱

Table 5- Effects of experimental diets on liver enzymes content in blood plasma (u/l)¹

	تیمارهای آزمایشی Experimental Treatments					SEM	P-Value
	Control	EM ¹ (10g/kg)	EM (20g/kg)	EE ² (5.65g/kg)	EE (11.3g/kg)		
لاکتات دهیدروژناز LDH	213.98 ^a	176.75 ^{bc}	158.75 ^c	181.75 ^{bc}	203.40 ^{ab}	9.93	0.007
آلکالین فسفاتاز ALP	5.14 ^a	4.20 ^{ab}	2.21 ^c	3.69 ^{bc}	3.64 ^{bc}	0.42	0.02
آلانین آمینو ترانسفراز ALT	2.81	3.46	3.46	3.67	3.89	0.21	0.64
آسپارات آمینو ترانسفراز AST	11 ^a	68 ^b	78 ^b	67 ^b	72 ^b	4.44	0.002

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

¹ Means within columns with no common superscript differ significantly ($P < 0.05$). SEM: standard error means; MDA: malondialdehyde

² Earthworm Meal

³ Ethanolic Extract

کرم‌خاکی به دلیل داشتن ترکیبات فنلی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد، افزودن پودر و عصاره کرم‌خاکی به جیره خروس‌ها اگرچه تأثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی پلاسما، خون نداشت، اما نتایج بررسی MDA خون، بافت کبد و بیضه مؤید این امر است که کرم‌خاکی واجد ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی بوده و همچنین اثرات حفاظتی بر بافت کبد دارد. از آنجا که کرم‌خاکی منبع پروتئین باکیفیتی است و در داخل کشور تولید می‌شود، می‌توان از مزایای آنتی‌اکسیدانی آن در بهبود باروری خروس‌های گله مادر بهره‌برد. پودر کرم‌خاکی در قیاس با عصاره الکلی آن از مزایای هزینه کمتر، تهیه آسان‌تر و تامین مواد مغذی بیشتر بویژه پروتئین برخوردار است. پیشنهاد می‌شود در آزمایش‌های تکمیلی تأثیر آنتی‌اکسیدانی تغذیه از کرم‌خاکی بر باروری و صفات تولید مثلی خروس بررسی شود.

در آزمایش دیگری، این پژوهشگران (۶) با استفاده از پاراستامول، موش‌ها را دچار التهاب کبدی نموده و سپس به جیره آنها عصاره کرم‌خاکی افزودند، نتایج به دست آمده نشان دهنده کاهش فعالیت آنزیم‌های AST، ALP و ALT پلاسما خون بود. نحوه عمل عصاره کرم‌خاکی به عنوان آنتی‌اکسیدان بدین گونه است که از یک طرف مانع تشکیل گروه‌های اکسیژن واکنش‌گر شده و یا آنها را مهار می‌کند و بنابراین جلوی آسیب سلول‌های کبدی را می‌گیرد و از طرف دیگر ژن مسئول سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون گلوکاتایون پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز را در بافت کبد تنظیم کرده و فعالیت آنزیمی ALP، AST و ALT در پلاسما خون را کاهش می‌دهد (۱۲).

نتیجه‌گیری کلی

منابع

- 1- Agarwal, A., S. A. Prabakaran, and T. M. Said. 2005. Prevention of oxidative stress injury to sperm. *Journal of Andrology*, 26:654.
- 2- Aldarraj, Q. M., N. Halimoon, and N. M. Majid. 2013. Antioxidant activity and total phenolic content of earthworm paste of *Lumbricus rubellus* (red worm) and *Eudrilus eugenia* (African night crawler). *Journal of Entomology and Nematology*, 5(3): 33-37.
- 3- Alvarez, J. G., and B. T. Storey. 1995. Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. *Molecular Reproduction and Development*, 42: 334-346.
- 4- AOAC. 2000. Official methods of analysis of AOAC International. 17th edn. AOAC Int., Gaithersburg, MD.
- 5- Balamurugan, M., K. Parthasarathi., E. L. Cooper, and L. S. Ranganathan. 2007. Earthworm paste (*Lampito mauritii*, kinberg) alters inflammatory, oxidative, haematological and serum biochemical indices of inflamed rat. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 11: 77-90.
- 6- Balamurugan, M., K. Parthasarathi, L. S. Ranganathan, and E. L. Cooper. 2008. Hypothetical mode of action of earthworm extract with hepatoprotective and antioxidant properties. *Journal of Zhenjiang University Science B*, 9(2): 141-147.
- 7- Benzie, I. F., and J. J. Strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Journal of Analytical Biochemistry*, 239:70-76.
- 8- Biswas, A. H., and M. Wakita. 2001. Effect of dietary Japanese green tea powder supplementation on feed utilization and carcass profiles in broilers. *Journal of Poultry Science*, 38:50-57.
- 9- Botsoglou, N. A., D. J. Fletouris, G. E. Papageorgiou, V. N. Vassilopoulos, A. J. Mantis, and A. G. Trakatellis. 1994. Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *Agricultural and Food Chemistry*, 42(9): 1931-1937.
- 10- Bravo, L. 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Review*, 56:317-333.
- 11- Cook, H. W. 1996. Fatty Acid Desaturation and Chain Elongation in Eucaryotes, in *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Biomembranes* (pp. 129-152). Amsterdam: Elsevier.
- 12- Crawford, D. R. 1999. Regulation of Mammalian Gene Expression by Reactive Oxygen Species. In: Gilbert D., Cotton C. (Eds.), *Reactive Oxygen Species in Biological System*. (pp. 155-171). New York: Plenum.
- 13- Cross, C. 1987. Oxygen radical and human disease. *Annals of Internal Medicine*, 107: 526-545.
- 14- Devasagayam, T. P. A., J. C. Tilak, K. K. Boloor, S. Sane Ketaki, S. Ghaskadbi Saroj, and R. D. Lele. 2004. Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects. *Journal of Association of Physicians of India*. 52: 796.
- 15- Eid, Y. Z., A. Ohtsuka, and K. Hayashi. 2003. Tea polyphenols reduce glucocorticoid-induced growth inhibition and oxidative stress in broiler chickens. *British Poultry Science*, 44:127-132.
- 16- Fairbanks, V. F., and G. G. Klee. 1994. Biochemical aspects of hematology in: *textbook of clinical chemistry*

- (2nd ed). (pp. 2020-2030). Philadelphia: WB Saunders Company.
- 17- Gunya, B., P. J. Masika, A. Hugo, and V. Muchenie. 2016. Nutrient composition and fatty acid profiles of oven-dried and freeze-dried earthworm *Eisenia foetida*. Journal of Food and Nutrition Research. 4(6):343.
- 18- Halliwell, B., and J. M. C. Gutteridge. 1989. Role of free radical and catalytic metal ions in human disease: An Overview Methods in Enzymology, 186: 1-85.
- 19- Hegazi, A. G., and F. K. Abdel-Hady. 2002. Effect of some honeybee products on immune response of chicken infected with virulent NDV. Egyptian propolis: II-Chemical composition, antiviral and antimicrobial activities of East Nile Delta propolis. Zeitschrift fuer Naturforschung, (57c), 386-394.
- 20- Hong, C., L. Ya-Qin, L. Shun-Ying, Z. Zhi-Guo, and C. Ping-Sheng. 2004. Effects of earthworm extract on expression of TGF- β 1, TIMP-1 and MMP-13 in rats with hepatic fibrosis. World Chinese Journal of Digestology, 12:2333-2337.
- 21- Jayapraksha, G. K., and B. Patil. 2007. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. Food Chemistry, 101:410-418.
- 22- Kang, H. J., and S. P. Chawla. 2006. Studies on the development of functional powder from citrus peel. Biotechnology, 97: 614-620.
- 23- Katalinic, V., S. S. Možina, D. Skroza, I. Generalić, H. Abramović, and M. Miloš. 2010. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). Food Chemistry, 119: 715-723.
- 24- Li, D. H., W. Tang, and Y. F. Yang. 2008. Functional expression of an earthworm fibrinolytic enzyme in *Escherichia coli*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24: 613-618.
- 25- Li, S. L. 1995. Research on *di long's* (earthworms) effect in lowering blood pressure. Journal of Information, 12 (3): 22-24.
- 26- Lopez, A., and R. Alis. 2005. Indigenous use of native earthworms and its fatty acids profile; Paper Presented at the Int. Symposium on 'Vermitechnologies for Developing Countries: Laguna, Philippines.
- 27- Maity, S., S. Roy., S. Chaudhury, and S. Bhattacharya. 2007. Antioxidant responses of the earthworm *Lampito mauritii* exposed to Pb and Zn contaminated soil. Environmental Pollution, 151(1):1-7.
- 28- Manna, S., D. Bhattacharyya, D. K. Basak, and T. K. Mandal. 2004. Single oral dose toxicity study of alpha-cypermethrin in rats. Indian Journal of Pharmacology, 36: 25-28.
- 29- McDonald, S., P. D. Prenzler, M. Antolovich, K. Robards, and E. R. Stadtman. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry, 73: 73-84.
- 30- Metcalf, L. C., A. A. Schmitz, and J. R. Pelka. 1996. Rapid preparation of methyl esters from lipid for gas chromatography analysis. Analytical Chemistry, 38:514-515.
- 31- Mihara, H., H. Sumi, T. Yoneta, H. Mizumoto, R. Ikeda., M. Seiki, and M. Maruyama. 1991. A novel fibrinolytic enzyme extracted from the earthworm *Lumbricus rubellus*. Japanese Journal of Physiology, 41: 461-472.
- 32- Mirzaei, M., J. Mohammadi, N. Mirzaei, and A. Mirzaei. 2011. The antioxidant capacities and total phenolic contents of some medicinal plants in Iran. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 1(3):160-167 (In Persian).
- 33- Mortezaei, S., M. Rafieian, R. Ansari, and N. Shahin Fard. 2013. Compare of the concentration of phenolic compounds and antioxidant activity of eight herbs. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences, 7(12):530-519 (In Persian).
- 34- Pandjaitan, N., L. R. Howard, T. Morelock, and M. I. Gil. 2005. Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and maturation. Journal of Agricultural Food Chemistry, 53: 8618 - 8623.
- 35- Placer, Z. A., L. L. Cushman, and B. C. Johnson. 1966. Estimation of products of lipid peroxidation in biochemical systems. Analytical Biochemistry, 16, 359-364.
- 36- Prakash, M., M. Balamurugan, K. Parthasarathi, G. Gu-nasekaran, E. L. Cooper, and L. S. Ranganathan. 2007. Anti-ulceral and anti-oxidative properties of earthworm paste of *Lampito mauritii* (Kinberg) on *Rattus norvegicus*. European Review of Medical and Pharmacological Science, 11:9-15.
- 37- Prakash, M., G. Gunasekaran, and K. Elumalai. 2008. Effect of earthworm powder on antioxidant enzymes in alcohol induced hepatotoxic rats. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 12:237-243.
- 38- Prior, R. L., X. Wu, and K. Schaich. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural Food Chemistry; 53(8):3101-3113.
- 39- Purdi, P. H. 2006. A review on goat cryopreservation. Small Ruminant Research, 63:215-225.
- 40- Rao, B., J. C. Soufir, M. Martin, and G. David. 1989. Lipid peroxidation in human spermatozoa as related to midpiece abnormalities and motility. Gamete Research, 24(2):127-134.
- 41- Rao, G. M., P. Sumita, M. Roshni, and M. N. Ashtagimatt. 2005. Plasma antioxidant vitamins and lipid peroxidation products in pregnancy induced hypertension. Indian Journal of Clinical Biochemistry, 20(1):198-200.

- 42- Rehman, Z. U. 2006. A natural source of antioxidant. Food Chemistry, 99:450-454.
- 43- Rosenstrauch, A., and M. Friedlander. 2007. Spermatozoa retention causes the normal reduction of fertility in aging roosters. Acta Microscopica, 16 (1-2):189-190.
- 44- Sadeghi, K., A. Taghizadeh, A. R. Hasani, and M. Elmi. 2017. Effects of application rate of poultry litter on chemical composition and in vitro gas production of rumen content in vermicomposting. Iranian Journal of Animal Science Research, 8(4): 636-645.
- 45- SAS Institute. 2003. SAS/STAT® User's guide, release 9.1 edition. SAS institute Inc., Cary, NC.
- 46- Scobey, M. J., P. Bielfeld, J. S. Krussel, and R. S. Jeyendran, 1995. Effect of milk-yolk on the fertilizing capacity of spermatozoa. Andrologia, 27: 229-31.
- 47- Shihara, K., and N. Nakajima. 2006. Stereoselective reduction of carbonyl compounds using the cell-free extract of the earthworm, *Lumbricus rubellus*, as a novel source of biocatalyst. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 70: 3077-3080.
- 48- Sibbald, I. R., and M. S. Wolynetz. 1986. Measurement of lipids in chicken carcass dry matter. Poultry Science, 65:2299-2303.
- 49- Sikka, S. C., M. Rajasekaran, and W. J. G. Hellstrom. 1995. Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. Journal of Andrology, 16(6): 464-468.
- 50- Valavanidis, A., T. Vlahogianni, M. Dassenakis, and M. Scoullou. 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicology and Environmental Safety, 64:178-89.
- 51- Verma, M. K., and K. Sobha. 2013. Antioxidant and anti-inflammatory properties of autolysed extract of the Indian earthworm *Pheretima posthuma* after preliminary purification-an *in vitro* study. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 4-4:888-898.
- 52- Willianson, E. M., D. T. Okpako, and F. J. Evans. 1996. Selection, preparation and pharmacological evaluation of plant material. John Wiley, England.
- 53- Young, I. S., and J. V. Woodside. 2001. Antioxidants in health and disease. Journal of Clinical Pathology, 54: 176-186.
- 54- Zaniboni, L., R. Rizzi, and S. Cerolini. 2006. Combined effect of DHA and a-tocopherol enrichment on sperm quality and fertility in the turkey. Theriogenology, 65: 1813-1827.



Evaluation of the Effects of Earthworm (*Eisenia fetida*) Meal and Ethanol Extract on Antioxidant Status, Liver Enzymes and some Blood Parameters in Western Azarbaijan Native Roosters

M. Rabbani Shokouh¹ - M. A. Karimi Torshizi^{2*} - A. R. Alizadeh³

Received: 07-09-2016

Accepted: 23-04-2017

Introduction Oxidative stress is responsible for several health compromising conditions in livestock, resulting low performance, metabolic diseases, suppression of immune responses and fertility problems in males. It is known that the fatty acid composition of sperm membranes, especially their unsaturated components, determine their biophysical characteristics such as fluidity and flexibility as appropriate for their specific functions, including sperm motility and fertilizing capacity. The high levels of unsaturated fatty acids in the cell membranes made them susceptible to oxidation. Usually, the natural anti-oxidant defense of the birds needs fortification by dietary supplementation of antioxidants. Although synthetic antioxidants are available and very effective, but health concerns are associated with their consumption. Researchers are seeking natural antioxidants to control the oxidation stress in birds. Natural antioxidants are substantially of plant origin. Antioxidants originated from animal kingdom are interesting, because they are natural, and protein rich feed ingredient with potentially functional properties. The vermiculture industry is a new and attractive agricultural activity and its main product is vermicompost which is applied in farm lands as a natural fertilizer. Earthworms are harvested as co-product and have the several applications. The purpose of this study was to investigate the antioxidant properties of earthworm meal (EM) and ethanol extract (EE), and effect of feeding earthworm meal and the extract on some oxidative parameters of native roosters.

Materials and Methods In experiment 1, fresh earthworms (*Eisenia fetida*) were washed and air-dried in shadow and ground to produce the earthworm meal. Half of earthworm meals were soaked in 80 % (V/V) ethanol with continues shaking for 24 h. The extract was filtered and concentrated to produce the ethanol extract of earthworm meal. The proximate composition in content value of moisture, crude ash, crude protein, and crude fat was determined according to the methods of AOAC. The fatty acid profile of extracted lipid was determined by gas chromatography after methylation of fatty acids. The total phenolic compounds of earthworm meal were determined using folin ciocalteu method. Antioxidant activity of extract was measured by ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay. In experiment two, 20 preselected Western Azarbaijan native roosters (34 weeks of age) were randomly allocated to 5 treatments and 4 blocks. Each rooster considered as an experimental unit and received 0 g EM or EE, 10 or 20 g/kg EM, and 5.65 or 11.30 g/kg EE for 13 consecutive weeks. At the end of experiment blood samples were collected from brachial vein of roosters, and birds were killed. The tissue samples were collected from the liver and testis after recording the organ weights. The biochemical parameters of blood including phosphorus, calcium, hemoglobin, albumin, uric acid, glucose, total protein, cholesterol and triglyceride was determined using spectrophotometer and commercial diagnostic kits. The activity of liver enzymes (lactate dehydrogenase, aspartate amino transferase, alkaline phosphatase and alanine amino transferase) in plasma was determined using spectrophotometer and commercial diagnostic kits. The malondialdehyde concentration was measured in blood plasma, liver tissue, and testis tissue of roosters as an indicator of lipid peroxidation using thiobarbituric acid method.

Results and Discussion The results indicated that earthworm had 26 different fatty acids, which eicosapentanoic, stearic, and arachidonic acid had the highest percentages, respectively. The total phenolic compounds in earthworm were 169.72 mg/g of gallic acid equivalent. The results showed that FRAP was 242 μ mol of Fe (II)/mg dry extract. The dry matter, crude fat, protein and ash of earthworm meal were determined 91, 1.7, 8.75 and 64.2 %, respectively.

1- Graduated M. Sc. Student, Department of Poultry Science, Faculty of Agricultural, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

2- Associate Professor, Department of Poultry Science, Faculty of Agricultural, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

3- Department of Embryology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran.

(* - Corresponding Author Email: karimitm@modares.ac.ir)

The blood, liver and testis malondialdehyde concentration in all of earthworm and earthworm extract treated groups were significantly decreased ($P<0.05$). The plasma concentration of calcium was the only biochemical parameter that significantly altered ($P<0.05$) and increased by earthworm powder (20 g/kg). The liver enzymes activity, including aspartate amino transferase, lactate dehydrogenase, and alkaline phosphatase (but no alanine amino transferase) were decreased in all of treated groups ($P<0.05$). The use of earthworm meal has some advantages over the ethanol extract of earthworm such as lower cost, more availability and providing more nutrients especially protein to rooster feeds.

Conclusion: According to the results of these two experiments, it was concluded that earthworm meal and ethanol extract have antioxidant activity and are able to protect the blood, testis and liver against oxidative stress. The antioxidant property of earthworm meal and extract could benefit male reproduction performance.

Keywords: Antioxidant activity, Biochemical parameters of blood plasma, Earthworm, Liver enzymes, Rooster.



اثرات پرتوتابی بیم الکترون بر میزان گوسیپول، ترکیب شیمیایی و الگوی اسیدهای چرب تخم پنبه

سمیه سالاری^{۱*} - زینب پورآزادی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۰۳

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی پرتوتابی بیم الکترون بر میزان گوسیپول، ترکیب شیمیایی و الگوی اسیدهای چرب تخم پنبه انجام گرفت. در این آزمایش ۱۲ کیسه پلی اتیلنی در ابعاد ۱۵×۲۰ سانتی متر مربع برای دزهای ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ کیلوگری استفاده شد. میزان ۲۵۰ گرم از نمونه تخم پنبه توسط هر یک از دزهای نام برده پرتو دهی شدند. پس از اعلام نتایج حاصل از دزیمتری، میزان گوسیپول آزاد و گوسیپول کل توسط دستگاه اسپکتوفوتومتری اندازه گیری شدند. همچنین ترکیب شیمیایی نمونه‌ها شامل پروتئین خام، فیبر خام، خاکستر و الگوی اسیدهای چرب نیز قبل و پس از پرتوتابی اندازه گیری شدند. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که با افزایش دز پرتوتابی میزان گوسیپول کل و آزاد تخم پنبه به شکل معنی داری کاهش یافت. اثر پرتوتابی بیم الکترون بر میزان پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر تخم پنبه معنی دار نبود، ولی مقدار فیبر خام را به طور معنی داری کاهش داد. همچنین در این آزمایش مقدار اسیدلینولئیک تخم پنبه پرتوتابی شده با دز ۳۰ و ۴۰ کیلوگری در مقایسه با تخم پنبه پرتوتابی نشده (شاهد) و دزهای ۱۰ و ۲۰ کیلوگری افزایش معنی داری را نشان داد. به طور کلی، استفاده از پرتوتابی بیم الکترون می‌تواند اثرات مفیدی بر تخم پنبه از طریق کاهش میزان گوسیپول و فیبر و افزایش اسید لینولئیک داشته باشد و می‌توان آن را به عنوان یک منبع پروتئینی در جیره غذایی دام و طیور استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب، پرتوتابی بیم الکترون، تخم پنبه، گوسیپول.

مقدمه

تخم پنبه یک محصول فرعی کارخانجات پنبه پاک کنی است که استفاده از آن به عنوان تنها منبع پروتئینی در جیره دام و طیور معمول نیست. تخم پنبه می‌تواند امروزه به دلیل کیفیت مناسب سهم بسزایی در جیره نشخوارکنندگان داشته باشد و در جیره طیور هم به صورت محدود مورد استفاده قرار گیرد (۲۹).

از طرفی مصرف تخم پنبه برای دام‌های خیلی جوان توصیه نمی‌شود؛ همچنین تخم پنبه به علت داشتن گوسیپول باعث عوارض نامطلوب و گاهی مسمومیت در حیوانات تک معده‌ای می‌شود (۱۰).

گوسیپول رنگدانه زرد پلی فنلی است که ترکیبی آلدئیدی دارد (۶). گوسیپول موجود در پنبه دانه به دو شکل آزاد و متصل به ترکیبات دیگر وجود دارد. اغلب گوسیپول یافت شده در تخم پنبه به شکل آزاد است که حرارت و رطوبت همراه با فشار می‌تواند سبب باند شدن آن شود (۷ و ۱۵). حیوانات تک معده‌ای به سمیت گوسیپول حساس‌تر می‌باشند، درحالی که نشخوارکنندگان (به ویژه جنس ماده) مقاومت بیشتری دارند (۲۹). گوسیپول عمل پیسین و تریپسین در لوله گوارش را محدود کرده و در نتیجه قابلیت هضم پروتئین را کاهش می‌دهد. اثرات سمی گزارش شده گوسیپول شامل کاهش رشد، لنگش و کاهش جوجه درآوری می‌باشد. گوسیپول و اسیدهای چرب سیکلوپروپانوئید به ترتیب از طریق لکه دار کردن زرده و صورتی رنگ کردن سفیده، سبب کاهش کیفیت تخم مرغ می‌گردند (۱۶). نشخوارکنندگان بخصوص حیوانات بالغ بدلیل توانایی سم زدایی شکمبه، به گوسیپول حساسیت کمتری نشان می‌دهند (۷). از روش‌های کاهش گوسیپول استفاده از حرارت، اکسپندینگ و پرس کردن را می‌توان ذکر نمود. در روش اخیر به دلیل ایجاد حرارت

۱- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان.

۲- دانشجوی دکترای تغذیه دام گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان.

(*)- نویسنده مسئول: Email: somayehsallary@yahoo.com

DOI: 10.22067/ijasr.v1397i1.59481

قراحت گوسیپول استفاده گردید. همچنین ترکیب شیمیایی نمونه‌ها شامل پروتئین خام، فیبر خام، خاکستر مطابق AOAC (۱) و الگوی اسیدهای چرب مطابق روش چرین و همکاران (۸) قبل و پس از پرتوتابی اندازه‌گیری شدند. برای آنالیز اسیدهای چرب از دستگاه کروماتوگرافی گازی، مدل HP ۶۸۹۰ استفاده شد. در این تحقیق از ستون BPX-70 به طول ۱۲۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر که ضخامت فاز ساکن آن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. نمونه (۱) میکرولیتر) بوسیله گاز همراه با هلیوم داخل ستون تزریق شد. دمای اولیه ۱۱۰ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه قرار گرفت و سپس از ۱۵۰ درجه سانتی گراد در دقیقه به ۱۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵۵ دقیقه افزایش یافت، بعد از این مرحله به دمای ۵ درجه سانتی گراد در دقیقه کاهش و سپس به دمای ۲۳۰ درجه سانتی گراد افزایش یافته و در این دما به مدت ۵ دقیقه نگهداری شد. دمای ورودی و دمای تشخیص هر دو ۲۲۰ درجه سانتی گراد بوده است. ناحیه پیک و درصد اسیدهای چرب توسط نرم افزار AGILENT CHEM STATION محاسبه شد (۸). داده‌های این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و سه تکرار با نرم‌افزار SAS 9.2 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند (۲۲). مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

مقدار گوسیپول آزاد و کل در تخم پنبه بدون پرتوتابی و نمونه‌های پرتوتابی شده با دزهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ کیلوگری در شکل ۱ و ۲ نشان داده شده است. با افزایش دز پرتوتابی میزان گوسیپول آزاد و کل تخم پنبه به شکل معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$). میزان گوسیپول کل و آزاد در تخم پنبه پرتوتابی نشده (شاهد) به ترتیب ۳۳۷/۷۶۶ و ۱۱۱ میلی گرم در ۱۰۰ گرم بدست آمد. با توجه به شکل ۱ و ۲، میزان گوسیپول آزاد تخم پنبه در دزهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ کیلوگری به ترتیب ۱۰۳/۴۶، ۸۶/۹، ۶۱/۰۲ و ۴۸/۸۶ و میزان گوسیپول کل ۲۹۷/۷۹، ۲۰۰/۹۸، ۱۵۴/۲۸ و ۹۷/۹۲ میلی گرم در ۱۰۰ گرم بدست آمد. در مطالعه‌ای که به منظور بررسی اثر پرتوتابی گاما تخم پنبه در دزهای ۸، ۱۰ و ۱۲ کیلوگری انجام گرفت، گوسیپول آزاد در تخم پنبه با افزایش دز پرتوتابی کاهش یافت ($P < 0.05$). از بین سه سطح مختلف پرتوتابی گاما (۸، ۱۰ و ۱۲ کیلوگری)، دز ۱۲ کیلوگری به مقدار بیشتری باعث کاهش گوسیپول آزاد تخم پنبه شد (۲۰). شورنگ و همکاران (۲۳) با بررسی و مقایسه پرتو گاما و الکترون به این نتیجه رسیدند که گوسیپول کل و آزاد کنجاله تخم پنبه در دزهای بالاتر از ۲۵ کیلوگری در هر دو نوع پرتو کاهش و به طور کامل حذف شد. در پژوهش نایفی و همکاران (۱۷) نتایج اندازه‌گیری گوسیپول نمونه کنجاله پنبه دانه شاهد و نمونه‌های

هنگام پرس کردن، گوسیپول به میزان زیادی غیر فعال می‌گردد (۱۹). در عین حال، افزایش بیش از حد حرارت باعث کم شدن کیفیت پروتئین تخم پنبه می‌شود. همچنین در اثر حرارت‌های بالا لیزین با گوسیپول باند شده و در نتیجه لیزین قابل دسترس کاهش می‌یابد (۲۱). استفاده از تخم پنبه به همراه مکمل آهن در جیره، راهکار دیگری می‌باشد، زیرا گوسیپول می‌تواند با آهن ترکیب شود. مکمل سازی با آهن نیز هزینه بر است و زیاد بودن آن در جیره غذایی می‌تواند موجب کاهش زیست‌فراهمی فسفر گردد (۱۸). همچنین میزان بالای آهن جیره اثر متقابل معنی‌داری با مس و روی ایجاد می‌کند (۱۳).

یکی از روش‌های کاهش مواد ضدتغذیه‌ای در منابع گیاهی پرتوتابی است، در مطالعات مختلف از این پرتوها برای افزایش کیفیت پروتئین، بهبود قابلیت هضم مواد مغذی، حذف عوامل ضد تغذیه‌ای و همچنین به منظور کاهش یا حذف آلودگی خوراک استفاده شده است (۲۵). از جمله محصولاتی که پرتوتابی گاما و بیم الکترون روی آن‌ها انجام شده می‌توان به دانه سویا (۲۸)، تخم پنبه و سورگوم (۲۳) اشاره نمود که نتیجه آن کاهش بازدارنده تریپسین موجود در سویا، کاهش گوسیپول در تخم پنبه و در سورگوم افزایش قابلیت هضم و کاهش مواد ضد تغذیه‌ای آن بوده است. در این آزمایش تأثیر پرتوتابی بیم الکترون بر میزان گوسیپول، ترکیبات شیمیایی و الگوی اسیدهای چرب تخم پنبه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به منظور بررسی تأثیر پرتو بیم الکترون بر میزان گوسیپول، ترکیب شیمیایی و الگوی اسیدهای چرب تخم پنبه انجام گرفت. در این آزمایش تعداد ۱۲ کیسه پلی اتیلنی (برای هر دز ۳ کیسه) در ابعاد ۱۵×۲۰ سانتی متر مربع برای دزهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ کیلوگری استفاده شد. میزان ۲۵۰ گرم از نمونه تخم پنبه توسط هر یک از دزهای نام برده پرتودهی شدند. برای پرتوتابی بیم الکترون نمونه‌ها به مرکز تحقیقات انرژی هسته‌ای یزد انتقال داده شدند و از دستگاه رودترون شتاب دهنده با شدت ۱۰ MeV استفاده شد. پس از اعلام نتایج حاصل از دزیمتری، میزان گوسیپول آزاد و کل نمونه‌های تخم پنبه به روش ISO ۶۸۶۶ (ISO/ASTM) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (۱۱). استخراج گوسیپول آزاد در حضور ۳-آمینوپروپان ۱-۱۰، گلاسیپال استیک اسید، همراه با نسبت حجمی (۴۰+۶۰) پروپانول/هگزان انجام و برای تخمین گوسیپول کل از دی متیل فرمامید استفاده شد. از دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل بیوکروم لیبرا اس. انگلستان) با طول موج بین ۴۳۵ و حداکثر ۴۴۵ نانومتر برای

با شکستن پیوندهای بین ملکولی گوسیپول، آن را تجزیه می‌کنند (۲۳). اگرچه شورنگ و همکاران (۲۳) در رابطه با پرتو گاما و الکترون و جو و همکاران (۱۲) در پرتو گاما عنوان کردند دز ۲۵ کیلوگری به بالا گوسیپول آزاد را به طور کامل حذف می‌کند اما نتایج آزمایش حاضر، تنها روند کاهشی را نشان داد و گوسیپول آزاد به طور کامل حذف نشد.

پرتوتابی گاما و الکترون با دزهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ کیلوگری نشان داد که با افزایش سطح دز انتخابی میزان گوسیپول آزاد و کل کنجاله پنبه دانه به طور خطی کاهش یافت. روند کاهشی یافته‌های این آزمایش، به صورت خطی و وابسته به دز پرتوتابی مطابق با یافته‌های ذکر شده بود. تاکنون مکانیسم تجزیه گوسیپول ناشی از پرتوتابی مشخص نشده است، اما به نظر می‌رسد که پرتوهای گاما و الکترون

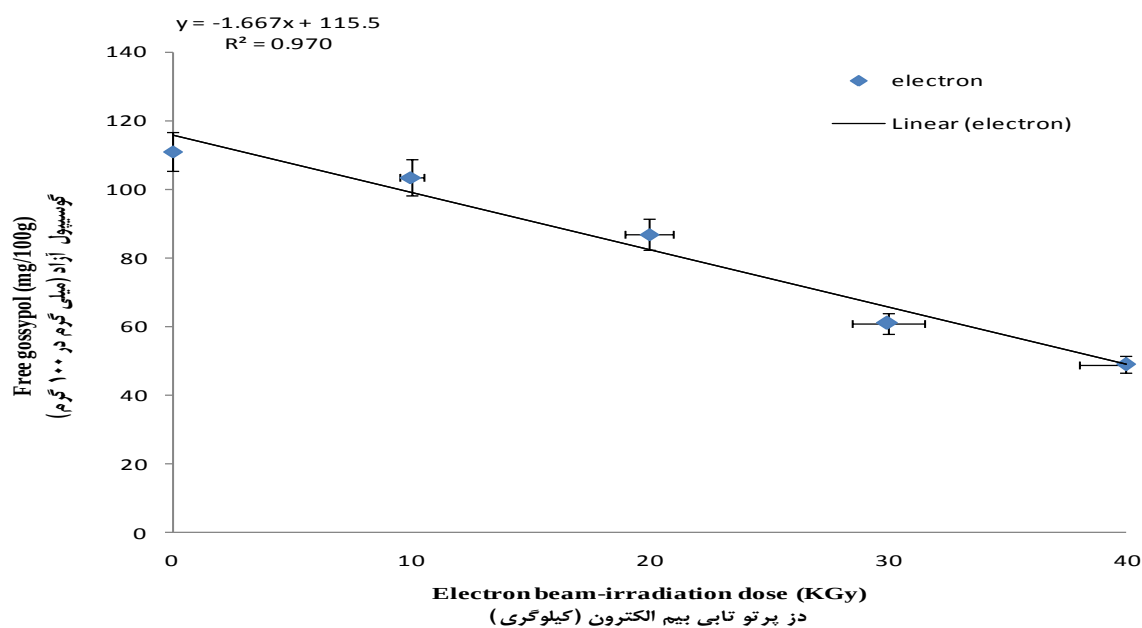


Figure 1- Effects of electron beam irradiation on free whole cottonseed gossypol

شکل ۱- تاثیر پرتوتابی بیم الکترون بر میزان گوسیپول آزاد تخم پنبه

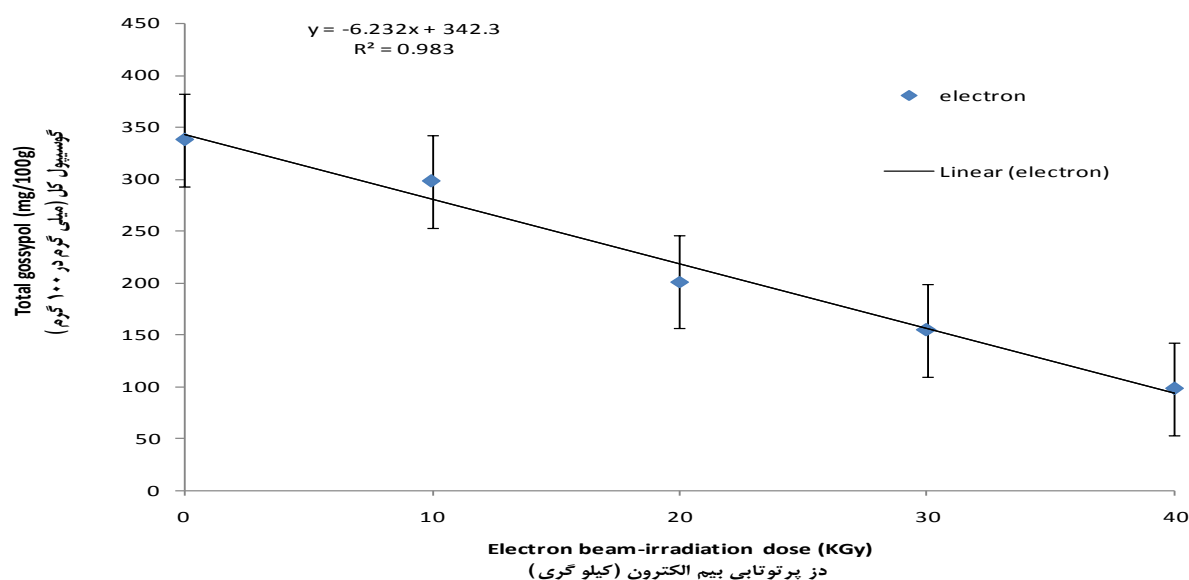


Figure 2- Effects of electron beam irradiation on total whole cottonseed gossypol

شکل ۲- تاثیر پرتوتابی بیم الکترون بر میزان گوسیپول کل تخم پنبه

نتایج حاصل از تاثیر پرتو تابی بیم الکترون بر ترکیب شیمیایی تخم پنبه در جدول ۱ ارائه شده است. پرتوتابی بیم الکترون بر میزان پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر معنی دار نبود، ولی بر مقدار فیبر خام تاثیر معنی داری داشت ($P < 0.05$). در این آزمایش فیبر خام دانه تخم پنبه پرتوتابی شده با دز ۴۰ کیلوگری در مقایسه با دانه تخم پنبه پرتوتابی نشده (شاهد) و دزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری کاهش معنی داری ($P < 0.05$) را نشان داد.

در آزمایش حاضر فیبر خام بر اثر پرتو بیم الکترون با افزایش دز پرتوتابی کاهش یافت که مطابق با یافته‌های نایفی و همکاران (۱۷) می‌باشد، آن‌ها گزارش کردند که ماده آلی، چربی خام و پروتئین خام کنجاله تخم پنبه تحت تاثیر پرتوتابی قرار نگرفت. اما پرتو گاما و الکترون در دز ۳۰ و ۴۰ کیلوگری مقدار فیبر خام کنجاله تخم پنبه را کاهش داد. در یافته‌های بحرینی و همکاران (۳) پرتوتابی گاما و الکترون بر پروتئین خام، ماده آلی، چربی خام، کلسیم و فسفر کنجاله تخم پنبه معنی دار نبود، ولی بر مقدار فیبر خام تاثیر معنی داری داشت ($P < 0.05$). در این آزمایش فیبر خام کنجاله تخم پنبه پرتوتابی شده با پرتو گاما در مقایسه با کنجاله تخم پنبه پرتوتابی نشده (شاهد) کاهش معنی داری ($P < 0.05$) را نشان داد، اما تفاوتی بین فیبر خام کنجاله تخم پنبه پرتوتابی نشده (شاهد) و کنجاله تخم پنبه پرتوتابی شده با پرتو الکترون مشاهده نشد. همچنین در مقایسه پرتو گاما و

الکترون، دز ۳۰ کیلوگری پرتو گاما در مقایسه با دز ۱۰ و ۲۰ کیلوگری پرتو الکترون سبب کاهش معنی داری در میزان فیبر خام شد ($P < 0.05$). شورنگ و همکاران (۲۳) نیز اثرات پرتو بیم الکترون بر دانه سورگوم را بررسی نمودند و گزارش کردند که پرتو بیم الکترون تأثیری بر ترکیب شیمیایی دانه سورگوم نداشت، اگرچه فیبر خام نیز اختلاف معنی داری را نشان نداد، ولی با افزایش دز روند کاهشی فیبر خام مشاهده شد. تانگ و همکاران (۲۷) علت کاهش فیبر خام در اثر پرتوتابی گاما را اکسیداسیون سلولز و تبدیل سلولز و لیگنین به دیواره سلولی محلول عنوان کردند. طحان و همکاران (۲۶) اثر پرتوتابی الکترون (۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگری) را بر ترکیب شیمیایی کنجاله کلزا، کنجاله سویا و دانه خمر مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که پرتوتابی باعث کاهش فیبر نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی مواد خوراکی مورد آزمایش شد که علت آن لیگنین زدایی، تجزیه پلیمرها و تخریب ساختارهای کریستالی سلولز به وسیله پرتوتابی است، که سبب کاهش فیبر نامحلول در شوینده می‌شود (۲). نقش پرتوتابی گاما و الکترون در بهبود زیست فراهمی کربوهیدرات‌های موجود در ترکیبات لیگنو سلولزی به علت شکستن پیوندهای لیگنین-کربوهیدرات نیز قابل توجه است. پرتوتابی سبب لیگنین زدایی، انهدام ساختار و دپلمریزه شدن سلولز و کاهش مقدار لیاف خام دیواره سلولی می‌شود (۲۴).

جدول ۱- تاثیر پرتو تابی بیم الکترون بر ترکیب شیمیایی تخم پنبه^۱

Table 1- Chemical composition of untreated and irradiated whole cottonseed (%)¹

ترکیب شیمیایی Chemical composition	تخم پنبه بدون پرتو Untreated WCS	دز پرتوتابی بیم الکترون (کیلوگری) Electron beam-irradiation WCS ¹ (KGy)				P-value	SEM
		10	20	30	40		
خاکستر (درصد) Ash (%)	4.05	4.22	4.15	4.13	4.18	0.63	0.033
عصاره اتری (درصد) Ether extract (%)	15.14	15.37	15.10	15.21	15.28	0.981	0.135
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	21.66	21.74	21.83	21.86	21.75	0.851	0.056
فیبر خام (درصد) Crude Fiber (%)	27.10 ^a	27.48 ^a	27.09 ^a	26.71 ^a	25.97 ^b	0.02	0.169

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه، دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P < 0.05$).

¹Means in the same row with different letters are different ($P < 0.05$).
WCS¹: whole cottonseed

(C۱۷: استئاریک (۰)، اولئیک (۱)، لینولئیک (۲)، (C۱۸: لینولئیک (۳)، گادولئیک (۱)، بهنیک (۰)، (C۲۲: آراشیدیک (۰)، لیگنوسریک (۰)، معنی دار نبود ($P > 0.05$))، در حالیکه بر مقدار اسیدلینولئیک (C۱۸: ۲) تاثیر معنی

نتایج حاصل از تاثیر پرتو تابی بیم الکترون بر الگوی اسیدهای چرب تخم پنبه در جدول ۲ ارائه شده است. اثر پرتوتابی بیم الکترون بر میزان اسیدهای چرب میرستیک اسید (C۱۴: ۰)، پالمیک (۰)، (C۱۶: پالمیتولئیک (۱)، مارگاریک (۰)، (C۱۷: میرستولئیک (۱)

گاما، تفاوت معنی‌داری بر میزان اسیدهای چرب تخم پنبه بدون پرتو (شاهد) و پرتوتابی گاما نداشت. تفاوت بین این گزارش با آزمایش حاضر می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع پرتوتابی و همچنین دزهای متفاوت در پرتوتابی باشد.

داری داشت ($P < 0.05$). در این آزمایش مقدار اسید لینولئیک دانه تخم پنبه پرتوتابی شده با دز ۳۰ و ۴۰ کیلوگری در مقایسه با دانه تخم پنبه پرتوتابی نشده (شاهد) و دزهای ۱۰ و ۲۰ کیلوگری افزایش معنی‌داری ($P < 0.05$) را نشان داد. در بررسی که سانگ و همکاران (۲۰) انجام دادند نشان داده شد که اثر دز ۸، ۱۰ و ۱۲ کیلوگری پرتو

جدول ۲- تاثیر پرتو تابی بیم الکترون بر الگوی اسیدهای چرب تخم پنبه (بر حسب درصدی از کل اسیدهای چرب)^۱
Table 2- Fatty acid composition of untreated and irradiated whole cottonseed (% of total fat)¹

اسید چرب Fatty acid	تخم پنبه بدون پرتو Untreated WCS	دز پرتوتابی بیم الکترون (کیلوگری) Electron beam-irradiation WCS ² (KGy)				P-value	SEM
		10	20	30	40		
میرستیک اسید Miristic (C _{14:0})	1.040	1.036	1.020	1.036	1.030	0.667	0.004
پالمیتیک Palmitic (C _{16:0})	24.93	24.92	24.90	24.87	24.89	1.316	0.010
پالمیتولئیک Palmitoleic (C _{16:1})	0.626	0.633	0.663	0.363	0.630	0.958	0.004
مارگاریک Margaric (C _{17:0})	0.126	0.132	0.134	0.132	0.132	0.374	0.001
میرستولئیک Miristoleic (C _{17:1})	0.143	0.144	0.145	0.144	0.144	0.967	0.001
استئاریک Stearic (C _{18:0})	2.673	2.672	2.668	2.666	2.660	0.331	0.002
اولئیک Oleic (C _{18:1t}) ³	0.369	0.371	0.370	0.374	0.373	0.679	0.001
اولئیک Oleic (C _{18:1c}) ⁴	20.33	20.35	20.34	20.34	20.34	0.988	0.007
لینولئیک Linoleic (C _{18:2t})	0.343	0.346	0.341	0.342	0.346	0.420	0.001
لینولئیک Linolenic (C _{18:2c})	46.69 ^c	46.73 ^c	46.70 ^c	47.67 ^a	47.48 ^b	0.0001	0.115
لینولئیک Linolenic (C _{18:3c})	0.133	0.140	0.126	0.126	0.120	0.468	0.001
گادولئیک Gadoleic (C _{20:1})	0.240	0.210	0.226	0.226	0.230	0.547	0.003
بهنیک Behenic (C _{22:0})	0.176	0.176	0.175	0.177	0.177	0.955	0.001
آراشیدیک Arachidic (C _{20:0})	0.363	0.366	0.363	0.370	0.370	0.233	0.003
لیگنوسریک Lignoceric (C _{24:0})	0.233	0.243	0.220	0.220	0.226	0.911	0.008

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه، دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

^۲ Means in the same row with different letters are different ($P < 0.05$).

^۳ WCS: whole cottonseed

^۴ t: trans. c: cis

فاکتورهای تغذیه‌ای که بر روی میزان CLA در شیر اثرگذار است، میزان تأمین چربی غیراشباع برای عمل هیدروژناسیون شکمبه‌ای

با توجه به اینکه CLA یکی از بارزترین ترکیبات مؤثر در شیر است که دارای خاصیت ضدسرطانی می‌باشد (۴) یکی از

نتیجه گیری کلی

از آنجایی که نگرانی اصلی در هنگام استفاده از تخم پنبه در جیره طیور میزان بالای فیبر و گوسپیول آن است می توان نتیجه گیری کرد که پرتوتابی بیم الکترون منجر به کاهش فیبر و گوسپیول شده و می تواند اثرات مفیدی را در استفاده تخم پنبه در جیره طیور داشته باشد. همچنین در آزمایش حاضر پرتوتابی بیم الکترون منجر به افزایش اسید لینولئیک تخم پنبه شد. در نتیجه می توان انتظار داشت که اثرات مفیدی را در تغذیه گاوهای شیری و نیز طیور گوشتی و تخمگذار به لحاظ ذخیره شدن در شیر، گوشت و تخم مرغ داشته باشد. در نهایت با توجه به شکل ۱ و ۲ توصیه می شود که از دزهای بالاتری در تحقیقات بعدی جهت کاهش بیشتر مقدار گوسپیول موجود در تخم پنبه استفاده گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان بخاطر حمایت های مالی پروژه تشکر و قدردانی می گردد.

می باشد. چرا که CLA را می توان محصول حدواسط بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب غیراشباع در شکمبه معرفی کرد که توسط شکمبه جذب شده و طی فرآیندی در بافت پستان به CLA تبدیل می شود. اکثر دانه های روغنی که به مصرف دام می رسد دارای چربی حاوی تری گلیسریدهای تشکیل یافته از اسید لینولئیک و اسید لینولنیک می باشد. وجود این اسیدهای چرب غیراشباع در شکمبه منشأ اصلی سنتز CLA در نشخوارکنندگان می باشد. وقتی چربی به مصرف دام می رسد دو مرحله واکنش بر روی آن ها اعمال می شود. اولین مرحله هیدرولیز پیوندهای استری توسط لیپاز باکتریایی بوده که طی این فرآیند اسیدهای چرب به محیط شکمبه آزاد شده و واکنش دوم بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب غیراشباع بوسیله باکتری های شکمبه می باشد. عامل اصلی این بیوهیدروژناسیون شکمبه *Butyrivibrio fibrisolvens* است و میزان بیوهیدروژناسیون تحت تأثیر عواملی مانند نوع و طول زنجیره اسیدچرب، نیتروژن جیره و نسبت علوفه در جیره غذایی می باشد (۵). کلومب و همکاران (۹) گزارش کردند که با مصرف جیره حاوی تخم پنبه سرشار از اسید لینولئیک میزان ایزومر اصلی CLA به طور معنی داری تا ۸۳ درصد افزایش یافت.

منابع

- 1- AOAC International. 1999. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th ed. AOAC International, Washington DC, USA, Association of Official Analytical Chemists.
- 2- Al-Masri, M. R. 1999. In vitro digestible energy of some agricultural residues, as influenced by gamma irradiation and sodium hydroxide. Applied Radiation and Isotope, 50: 295-301.
- 3- Bahraini, Z., S. Salari, M. Sari, J. Fayazi, and M. Behgar. 2017. Effect of radiation on chemical composition and protein quality of cottonseed meal. Animal Science Journal, 88: 1425-1435.
- 4- Bauman, D. E. 2004. Conjugated linoleic acid (CLA) and milk fat: A Good News Story. Department of Animal Science, Cornell University, Ithaca, NY 14853-4801.
- 5- Baumgard, L. H., B. A. Corl, D. A. Dwyer, A. Saeb, and D. E. Bauman. 2000. Identification of the conjugated linoleic acid that inhibits milk fat synthesis. Am J Physiol. Isomer Regulatory Integrative and Comparative Physiology, 278: 179-184.
- 6- Blauwiel, R., S. Xu, J. H. Harrison, K. A. Loney, R. E. Riley and M. C. Calhoun. 1997. Effect of whole cottonseed, gossypol and ruminally protected lysine supplementation on milk yield and composition. Journal of Dairy Science, 80:1358-1365.
- 7- Calhoun, M. C., S. W. Kuhlmann, and B. C. Baldwin. 1995. Cotton feed product composition and gossypol availability and toxicity. National Invitational Symposium on Alternative Feeds for Dairy and Beef Cattle. 125-145.
- 8- Cherian, G., N. Gopalakrishnan, Y. Akiba, and J. S. Sim. 1997. Effects of maternal dietary 18:3 n-3 acids on the accretion of long chain polyunsaturated fatty acids in the tissue of developing chick embryo. Biology Neonate, 72: 165-174.
- 9- Collomb, M., R. Sieber, and U. Butikofer. 2002. CLA Isomers in milk fat from cows fed diets with high levels of unsaturated fatty acids. Lipids, 39: 355-364.
- 10- Grau, C. R., and P. A. Zweigart. 1954. The Effects of various processing methods on the value of cottonseed meal as an amino acid source for chickens. Poultry Science Association, 34:724-728.
- 11- ISO/ASTM. 1986. Animal Feeding Stuffs: Determination of Free and Total Gossypol, ISO/ASTM 6866, ASTM international. West Conshohocken, PA.
- 12- Jo, C., H. S. Yook, M. S. Lee, J. H. Kim, H. P. Song, J. S. Kwon, and M. W. Byun. 2003. Irradiation effects on

- embryotoxicity and oxidative properties of gossypol dissolved in methanol. *Food and Chemical Toxicology*, 41 (10): 1329–1336.
- 13- Kordas, K., and R. J. Stoltzfus. 2004. New evidence of iron and zinc interplay at the enterocyte and neural tissues. *Journal of Nutrition*, 134(6):1295-1298.
- 14- Luginbuhl, J. M., M. H. Poore, and A. P. Corad. 2000. Effect of level of whole cottonseed on intake, digestibility and performance of growing male goats fed hay-based diet. *Journal of Animal Science*, 78: 1677-1683.
- 15- Mena, H., J. E. P. Santos, J. T. Huber, J. M. Simas, M. Tarazon, and M. C. Calhoun. 2001. The effects of feeding varying amounts of gossypol from whole cottonseed and cottonseed meal in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84: 2231-2239.
- 16- Mirshekari, R., R. Pashayei, and B. Dastar. 2010. Cottonseed meal in feed for poultry. 3rd International Seminar on Oil Seeds. Golestan. Iran. (In Persian).
- 17- Nayefi, M., S. Salari, M. Sari, and M. Behgar. 2014. Treatment by gamma or electron radiation decreases cell wall and gossypol content of cottonseed meal. *Radiation Physics and Chemistry*, (99): 23–25.
- 18- Panigrahi, S., and V. E. Plumb. 1996. Effects on dietary phosphorus of treating cottonseed meal with crystalline ferrous sulphate for the prevention of brown yolk discoloration. *British Poultry Science*, 37(2):403-411.
- 19- Pourreza, J., and K. Keshavarz. 1982. Nutritional value of cotton seed meals produced in Iran. *Iranian Journal of Agriculture Science*, Vol.12, Nos (1, 2, 3): 45-56. (In Persian).
- 20- Sahng-Wook, H., S. Heyin, K. Wook, O. Young-Kyoon, and S. Yong-Suk. 2013. Effects of gamma irradiation on nutrient composition, anti-nutritional factors, In vitro Digestibility and ruminal degradation of whole cotton seed. *Journal of Animal Science and Technology*, 55(2) 123-130.
- 21- Saki, A. A., K. H. Pournia, M. M. Tabatabaie, P. Zamani, M. Haghighat, and J. Salary. 2012. Effects of cottonseed meal supplemented with lysine and enzyme (Hydroenzyme XP) on egg quality and performance of laying hens. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41 (10).
- 22- SAS Institute. 2003. SAS/STAT® Guide for personal computers. Version 9.1 Edition. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- 23- Shawrang, P., A. A. Sadeghi, M. Behgar, H. Zareshahi, and G. Shahhoseini. 2011. Study of chemical compositions, anti-nutritional contents and digestibility of electron beam irradiated sorghum grains. *Food Chemistry*, 125:376-379.
- 24- Siddhuraju, P., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 2002. The effect of ionising radiation on anti-nutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. *Food Chemistry*, 78: 187-205.
- 25- Sumira, J., T. Parween, T. O. Siddiqi, and X. Mahmooduzzafar. 2012. Effect of gamma radiation on morphological, biochemical, and physiological aspects of plants and plant products. *Environmental Reviews*, 20(1):17-39.
- 26- Tahan, G. H., M. H. Fathi Nasri, A. Riasi, M. Behgar, and H. Farhangfar. 2012. The effect of electron irradiation on degradability and digestibility ruminal of dry matter, protein and vegetable protein sources. *Iranian Journal of Animal Science Research*, Vol (3): 422-434. (In Persian).
- 27- Tang, J., I. Fernandez Garcia, S. Vijayakumar, H. Martinez, I. Illa Bochaca, D. Nguyen, J. Mao, and S. Costes. 2012. Systems modeling of stem/progenitor self-renewal romotion following ionizing radiation. The 58th Annual Meeting of the Radiation Research Society. San Juan, Puerto Rico. 18.
- 28- Toledo, T. C. F., S. G. Canniatti-Brazaca, V. Arthur, and S. M. S. Piedade. 2007. Effects of gamma radiation on total phenolics, trypsin and tannin inhibitors in soybean grains. *Radiation Physics and Chemistry*, 76:1653–1656.
- 29- Zhang, W. J., Z. R. Xu, X. L. Pan, X. H. Yan, and Y. B. Wang. 2007. Advances in gossypol toxicity and processing effects of whole cottonseed in dairy cows feeding. *Livestock Science*, 111:1–9.



Effect of Electron Beam Irradiation on Gossypol, Chemical Composition and Fatty Acids of Whole Cottonseed

Somayyeh Salari^{1*}- Zeinab Poorazadi²

Received: 19-10-2016

Accepted: 23-04-2017

Introduction Whole cottonseed (WCS) is a byproduct of the cotton-fiber industry. It is readily available source of energy, protein and other nutrients for high producing dairy cows and other animals. The use of WCS in poultry diet is limited due to the presence of gossypol, cyclopropenoid fatty acids, high fibre and poor protein quality. Electron beam (EB) irradiation has been proved to be successful in decontamination, disinfestation and improvement of the overall quality of food and agricultural commodities. Recently, EB-irradiation was effective in reducing anti-nutritional factors. This study was completed to determine effects of EB- irradiation at doses of 10, 20, 30 and 40 kGy on gossypol, chemical composition and fatty acids of whole cotton seed.

Materials and Methods WCS was packed in twelve 15×20 cm² polyethylene bags. The bags were exposed to various doses (10, 20, 30 and 40 kGy; three bags each per dose step) of EB- radiation with a fixed beam energy of 10 MeV using a Rhodotron accelerator. Feed samples were analyzed for crude protein (CP), ether extract (EE), crude fiber (CF) and ash as described by AOAC. Gossypol was determined according to ISO assay. Fatty acid composition was determined by gas chromatography with flame ionization detection (GC-FID) using a HP-6890 GC instrument. Data were analyzed as a completely randomized design according to the general linear models (GLM) procedure of SAS. The Duncan test was used to separate the means at the significance level of 0.05.

Results and Discussion Free and total gossypol content of WCS were decreased by EB-irradiation in a dose-dependent manner. Major detrimental effects of gossypol on animals are labored breathing, dyspnea, decreased growth rate, anorexia and reduced fertility. Therefore, EB-irradiated WCS may be used in animal rations at higher levels without occurring gossypol toxicity. References dealing with mechanism of gossypol decomposition due to irradiation were not found in the literature. Generally, in the literature four types of radiation effects on biomolecules are reported: fragmentation, cross-linking, aggregation and oxidation by oxygen radicals that are generated in the radiolysis of water. Formation of bonds between gossypol and gossypol (aggregation) or between gossypol and other molecules (cross-linking) and fragmentation or breakdown of gossypol may occur by EB-irradiation. Chemical composition of WCS except crude fiber was not affected by radiation processing. EB-irradiation at 40 kGy decreased crude fiber content of WCS. The reduction in crude fiber by EB-irradiation may be due to oxidation of the cellulose, and conversion of cellulose and lignin to the cell wall solution. The decrease in crude fiber may improve WCS utilization by animals. EB-irradiation had a substantial effect on the linoleic acid present in WCS.

Conclusion The present study revealed that EB-irradiation had the potential to reduce the gossypol and crude fiber and had a positive effect on the linoleic acid of WCS. It can be concluded that irradiation may be beneficial for improvement nutritional value of WCS as a feed source of animals.

Keywords: Electron beam irradiation, Fatty acids, Gossypol, Whole cottonseed.

1-Associate Professor, Department of Animal Science, Animal Science and Food Technology Faculty, Khuzestan Agricultural Sciences and Natural Resources University

2- Ph. D student of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Animal Science and Food Technology Faculty, Khuzestan Agricultural Sciences and Natural Resources University

(*- Corresponding Author Email: somayehsallary@yahoo.com, s.salari@ramin.ac.ir)



اثر سطوح مختلف پودر عصاره گیاه یوکا (*Yucca Schidigera*) در جیره غذایی بر عملکرد، متابولیت‌های خون، سیستم ایمنی و صفات لاشه جوجه‌های گوشتی

احسان امیرییک^۱ - احمد حسن آبادی^{۲*} - حسن نصیری مقدم^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۴

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر سطوح مختلف پودر عصاره گیاه یوکا شیدیگرا در جیره غذایی بر عملکرد، متابولیت‌های خونی، سیستم ایمنی و صفات لاشه جوجه‌های گوشتی در دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) انجام شد. از تعداد ۲۵۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۵ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل مکمل کردن ۵ سطح پودر عصاره گیاه یوکا شیدیگرا (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۱۵، ۰/۰۲ و ۰/۰۲۵ درصد) به جیره بود. نتایج نشان داد که پودر عصاره گیاه یوکا اثر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی در دوره رشد دارد و جوجه‌ها در تیمار ۰/۰۱ درصد پودر عصاره یوکا بهترین و در تیمار شاهد و ۰/۰۲۵ درصد پودر عصاره یوکا بالاترین ضریب تبدیل غذایی را داشتند. میانگین وزن بدن و افزایش وزن روزانه در دوره رشد بین تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند. وزن جوجه‌ها در تیمار ۰/۰۱ درصد پودر عصاره یوکا نسبت به تیمار ۰/۰۲۵ درصد بطور معنی‌داری بیشتر بود. میزان ایمونوگلوبولین M در تیتراول (۳۵ روزگی) در تیمار ۰/۰۱ درصد پودر عصاره یوکا بطور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای ۰/۰۲ و ۰/۰۲۵ درصد پودر عصاره یوکا بود. غلظت LDL خون بین تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. کمترین غلظت مربوط به جوجه‌های تیمار ۰/۰۱۵ درصد پودر عصاره یوکا و بیشترین مربوط به جوجه‌های تیمار ۰/۰۲۵ درصد بود. سطوح مختلف پودر عصاره یوکا در جیره تأثیر معنی‌داری بر صفات لاشه و ایمنی سلولی جوجه‌ها نداشت. با توجه به نتایج بدست آمده، سطح ۰/۰۲ درصد پودر عصاره یوکا عملکرد بهتری نسبت به سایر سطوح داشت ولی اختلاف آن تیمار شاهد معنی‌دار نبود.

واژه‌های کلیدی: جوجه گوشتی، سیستم ایمنی، صفات لاشه، متابولیت‌های خون، یوکا شیدیگرا.

مقدمه

یافتن مواد جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها صورت گرفته است. برخی از گیاهان دارویی توانسته‌اند با بهبود عملکرد طیور از قبیل افزایش قابلیت هضم و خواص آنتی‌باکتریایی، جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها شوند (۹). به طور نسبی، فیتوبیوتیک‌ها می‌توانند باعث کاهش مصرف خوراک شده و بدون ایجاد اختلاف معنی‌دار در وزن بدن و افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل غذایی را بهبود بخشند (۱). گیاه یوکا با نام علمی *Yucca schidigera* گیاهی علفی از خانواده آگاواسه، بومی بیابان‌های جنوب غربی ایالات متحده و شمال مکزیک می‌باشد. بزرگترین جنس در خانواده آگاواسه، جنس آگاو (Agave) است و پس از آن جنس یوکا عمده‌ترین جنس در این خانواده می‌باشد که دارای ۳۰ گونه در آمریکای شمالی و بالغ بر ۴۵ گونه در سایر مناطق گرم و خشک مکزیک است. رنگ برگ‌های یوکا از آبی مایل به سبز تا سبز تیره و سطح برگ‌ها از صاف تا خشن و زبر متفاوت است. پودر یوکا از ساقه این گیاه بدست می‌آید (۵، ۶). اثرات

در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی در تغذیه طیور به طور قابل توجهی افزایش یافته و مهمترین علل آن اثبات اثرات مفید این مواد، ارزان بودن برخی از آنها، سازگاری با محیط‌زیست و نداشتن اثرات جانبی می‌باشد. از سوی دیگر مصرف آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در پرورش طیور به دلیل وجود باقیمانده‌های آن در گوشت پرنده و ایجاد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در انسان، در اتحادیه اروپا ممنوع شده است (۲). با توجه به این موضوع، پژوهش‌های متعددی در جهت

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲-۳- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(*) - نویسنده مسئول: (Email: hassanabadi@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.v1397i1.64608

مفید آن در تغذیه طیور شامل افزایش سرعت رشد و بهبود ضریب تبدیل غذایی (۳۱)، کاهش آمونیاک و کنترل بوی نامطبوع سالن‌های پرورش (۱۷، ۸، ۱۳)، فعالیت ضد پروتوزوایی و ضد نماتودی (۵)، تعدیل جمعیت‌های میکروبی (۵)، کاهش کلسترول تخم مرغ (۱۸) و افزایش جذب مواد مغذی در دستگاه گوارش به وسیله دیپولاریزه کردن غشای سطحی لایه مخاطی (۲۲) گزارش شده است.

عصاره گیاه یوکا دارای دو جزء فعال می‌باشد: جزء قندی که به آمونیاک متصل است و جزء استروئیدی ساپونین که دارای خواص فعال سطحی می‌باشد (۴، ۱۶). ساپونین‌ها (گلیکوزیدهایی با وزن ملکولی بالا) ترکیبات فعال بیولوژیکی هستند که عامل دفاعی برخی از گیاهان می‌باشند. ساپونین‌ها شوینده‌های طبیعی یا سورفکتانت هستند زیرا هم در آب و هم در چربی محلول می‌باشند (۴). گیاه یوکا از مهم‌ترین گیاهان دارای مقادیر بالای ساپونین می‌باشد. ساپونین‌های استروئیدی ۱۰ درصد ماده خشک ساقه این گیاه را تشکیل می‌دهند (۶)؛ که آن را یکی از غنی‌ترین منابع ساپونینی می‌سازد. ترکیبات دیگری که در پوست گیاه یوکا شیدیدگرا پیدا شده است حاوی رزوراترول (ResveratroL) می‌باشد که دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضد عفونی کننده، ضد ویروس و ضد التهاب می‌باشد (۲۴). برخی از مطالعات امکان استفاده از گیاه یوکا را به عنوان منبع آنتی اکسیدان‌ها در جیره نشان داده‌اند (۱۱، ۲۹). لینگ سو و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که جوجه‌های دریافت کننده عصاره یوکا (۲۰۰، ۳۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم) در مقایسه با جوجه‌های تیمار شاهد اختلاف معنی داری در مصرف خوراک نداشتند؛ ولی ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های دریافت کننده ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره یوکا در سن ۲۸-۴۲ روزگی بهبود یافت (۱۹). در این مطالعه اثر افزودن پودر گیاه یوکا که به صورت تجارتي به بازار عرضه شده است بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خونی، سیستم ایمنی و صفات لاشه جوجه‌های گوشتی مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مرکز تحقیقات دام و طیور دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. سالن و تجهیزات پرورش پس از شستشو، ضد عفونی شد و در انتها عملیات گازدهی سالن انجام گرفت. در این آزمایش از تعداد ۲۵۰ قطعه جوجه گوشتی (مخلوط نر و ماده) یک روزه سویه تجاری راس ۳۰۸ استفاده شد. جوجه‌ها پس از ورود به سالن توزین شده و به ۲۵ گروه ۱۰ قطعه‌ای با میانگین وزنی مشابه تقسیم شدند. ابعاد هر واحد آزمایشی (پن) $100 \times 100 \times 50$ سانتی متر بود. جیره‌های آزمایشی در سه دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) تنظیم شدند. احتیاجات جوجه‌ها بر طبق توصیه شرکت راس (۲۰۱۴) تأمین شد و تنظیم جیره‌ها توسط نرم افزار جیره

نویسی UFFDA انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۵ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار انجام شد. تیمارها به شرح زیر بودند: تیمار اول = شاهد (جیره پایه بدون هر گونه افزودنی)، تیمار دوم = جیره پایه + ۰/۰۱ درصد پودر عصاره یوکا، تیمار سوم = جیره پایه + ۰/۱۵ درصد پودر عصاره یوکا، تیمار چهارم = جیره پایه + ۰/۲۰ درصد پودر عصاره یوکا، تیمار پنجم = جیره پایه + ۰/۲۵ درصد پودر عصاره یوکا. پودر عصاره یوکا مورد استفاده در این آزمایش محصول کشور آمریکا (BAJA Yucca Co.) بود که به صورت تجارتي وارد ایران می‌شود و حاوی ۳۰ درصد عصاره و ۱۲-۱۰ درصد ساپونین می‌باشد. دسترسی پرندگان به آب و خوراک در طول دوره پرورش به صورت آزادانه بود. تأمین حرارت توسط هیت‌ر و به صورت خودکار صورت گرفت. دمای سالن در سه روز اول زندگی جوجه‌ها ۳۲ درجه سانتیگراد بود و به تدریج هر هفته دو درجه از آن کاسته شد تا به دمای ۲۱ درجه سانتیگراد رسید و تا پایان دوره پرورش ثابت بود. رطوبت نسبی سالن در طول دوره آزمایش بین ۶۰-۵۰ درصد بود. برنامه نوری به صورت دو روز اول روشنایی کامل و سپس یک ساعت خاموشی در شبانه‌روز تا آخر دوره اعمال شد. میزان مصرف خوراک در هر سه دوره آغازین، رشد و پایانی اندازه‌گیری شد و به دلیل اینکه در برخی از واحدهای آزمایشی تلفات وجود داشت، مصرف خوراک بر اساس جوجه‌های تلف شده تصحیح گردید. جوجه‌های هر پن به طور گروهی در پایان هر دوره توزین شدند، از اختلاف وزن جوجه‌ها در ابتدا و انتهای دوره مقدار افزایش وزن برای آن پن مشخص شد. جهت اندازه‌گیری برخی از فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون شامل کلسترول، تری گلیسرید، لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL) و لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL)، در سن ۴۲ روزگی جوجه‌ها، از هر پن یک جوجه به طور تصادفی انتخاب و از سیاهرگ بال آن نمونه خون گرفته شد. پس از پایان عملیات خونگیری، نمونه‌ها با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند و سرم خون جدا گردید و به میکروتیوب منتقل شد و تا زمان آنالیز پارامترها در یخچال ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور بررسی صفات لاشه در سن ۴۲ روزگی، یک جوجه با میانگین وزنی نزدیک به میانگین پن از هر تکرار انتخاب و پس از توزین ذبح شد. به منظور به حداقل رساندن اثر وزن خوراک باقیمانده در دستگاه گوارش، پرندگان به مدت ۴ ساعت قبل از ذبح گرسنگی داده شدند. پس از کشتار، پوست و پر از لاشه جدا شد. مقادیر وزن سینه (همراه با استخوان)، ران‌ها، پشت و گردن، لاشه قابل مصرف، کبد، طحال، بورس فابریسیوس، تیموس، قلب، کل دستگاه گوارش (خالی) و چربی حفره شکمی توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ توزین شد (۱۰). به منظور بررسی سیستم ایمنی سلولی و پاسخ حساسیت بازوفیلی پوستی (CBH) جوجه‌ها، در سن ۴۲ روزگی از هر پن یک جوجه انتخاب و ضخامت پرده بین انگشت دوم و سوم پای چپ آن‌ها توسط کولیس ورنیه اندازه‌گیری شد. سپس

سطوح مختلف پودر عصاره گیاه یوکا در جدول ۲، گزارش شده است. اثر سطوح مختلف پودر عصاره گیاه یوکا بر مصرف خوراک جوجه‌ها در هیچ یک از دوره‌های پرورشی معنی‌دار نبود؛ اما اثر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی در دوره رشد (۲۴-۱۱ روزگی) داشت ($P < 0.05$). بهترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به جوجه‌های تغذیه شده با تیمار ۰/۰۱ درصد پودر عصاره گیاه یوکا و بالاترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به جوجه‌های تغذیه شده با تیمار شاهد و تیمار ۰/۰۲۵ درصد پودر عصاره گیاه یوکا بود.

میانگین وزن بدن و افزایش وزن روزانه جوجه‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. افزودن سطوح مختلف پودر عصاره گیاه یوکا به جیره اثر معنی‌داری بر میانگین وزن بدن و افزایش وزن روزانه جوجه‌ها در دوره رشد داشت ($P < 0.05$)؛ بطوری که جوجه‌ها در تیمار ۰/۰۱ درصد پودر عصاره گیاه یوکا بیشترین افزایش وزن و در تیمار ۰/۰۲۵ درصد پودر عصاره گیاه یوکا کمترین افزایش وزن را داشتند. یافته‌های ساهو و همکاران (۲۶) در جوجه‌های گوشتی نشان می‌دهد که میانگین افزایش وزن در گروه مصرف کننده یوکا (۱۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک) به طور معنی‌داری بالاتر از شاهد است ($P < 0.05$). افزون بر این، گزارش کردند که مصرف خوراک تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت که منطبق با نتایج این تحقیق می‌باشد. چیک گزارش کرد، غلظت‌های بالای ساپونین در جیره، به دلیل مزه تلخ آن، باعث کاهش مصرف خوراک در خوک و طیور می‌شود (۳). نتایج این آزمایش نیز در مورد مصرف خوراک مطابق نظر چیک بود و با افزایش سطح پودر یوکا و متعاقب آن افزایش سطح ساپونین، مصرف خوراک نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت اما از نظر آماری معنی‌دار نبود. با توجه به این نتایج، احتمال داده می‌شود که کاهش مصرف خوراک در مقادیر بالای پودر یوکا در جیره مشاهده شود.

جانستون و همکاران گزارش کردند، جوجه‌هایی که با جیره حاوی یوکا تغذیه شده بودند، در سن ۲۸ روزگی بطور معنی‌داری وزن بیشتری نسبت به جوجه‌های تیمار شاهد داشتند؛ اما درصد تلفات و ضریب تبدیل غذایی بین تیمارها معنی‌دار نبود. افزایش وزن بیشتر می‌تواند ناشی از تأثیر ساپونین یوکا بر دستگاه گوارش و افزایش قابلیت هضم خوراک در طول دوره رشد باشد. ساپونین‌ها با تشکیل کمپلکس‌های اضافی با استرول‌ها (مانند کلسترول) در غشای مخاطی سلول‌ها، بر نفوذپذیری سلول‌های روده تأثیر می‌گذارند. این محققان دریافتند که ساپونین‌ها جذب مواد مغذی که در حالت طبیعی در دستگاه گوارش نفوذناپذیر هستند را تسهیل می‌کنند (۱۵).

با استفاده از سرنگ انسولین مقدار ۰/۱ میلی لیتر محلول فیتوهماگلوآنین-بی (PHA-P) به پرده پای چپ جوجه‌ها و ۰/۱ میلی لیتر محلول بافر فسفات سالین (PBS) به پرده پای راست جوجه‌ها تزریق شد. پس از گذشت ۱۲ و ۲۴ ساعت از تزریق، ضخامت پرده پا توسط کولیس اندازه‌گیری و ثبت شد (۷). برای محاسبه شاخص تورم از فرمول شماره یک استفاده شد. جهت سنجش تیترا آنتی بادی علیه گلوبول قرمز گوسفندی (SRBC)، از یک رأس گوسفند نر خون گرفته شد و در لوله حاوی هپارین ریخته شد. نمونه خون سانتریفوژ شد و سرم آن دور ریخته شد و باقیمانده با محلول بافر فسفات سالین (PBS) چند بار شستشو داده شد. در نهایت محلولی با غلظت ۱۰ درصد گلوبول قرمز در بافر فسفات سالین تهیه گردید. در سن ۲۸ روزگی، از هر پن یک جوجه بطور تصادفی انتخاب و مقدار ۰/۵ میلی لیتر از گلوبول قرمز آماده شده درون عضله سینه آن‌ها تزریق شد و پرده علامت گذاری گردید. هفت روز بعد یعنی در سن ۳۵ روزگی، از ورید بال جوجه‌های علامت گذاری شده خونگیری شد. جهت ایجاد چالش ثانویه برای پرندگان، پس از خونگیری در ۳۵ روزگی، مجدداً در همان روز ۰/۵ میلی لیتر گلوبول قرمز گوسفندی آماده شده به همان جوجه‌ها تزریق شد و در سن ۴۲ روزگی از جوجه‌های مذکور خونگیری به عمل آمد و برای سنجش ایمنोगلوبولین کل (IgT)، ایمنोगلوبولین M (IgM) و ایمنोगلوبولین G (IgG) نمونه‌ها به آزمایشگاه فرستاده شدند و با استفاده از روش ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) اندازه‌گیری انجام شد. برای تعیین مقدار ایمنोगلوبولین G از مرکاپتواتانول استفاده شد و از کسر آن از ایمنोगلوبولین کل، مقدار ایمنोगلوبولین M بدست آمد (۲۸).

فرمول ۱

ضخامت پرده پای چپ پس از تزریق (PHA-P) = شاخص تورم (میلی‌متر) - ضخامت پرده پای راست پس از () - (ضخامت اولیه پرده پای چپ - ضخامت اولیه پرده پای راست) - تزریق PBS

تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS (9.1) (۲۷) و رویه GLM انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد صورت گرفت. همچنین آنالیز رگرسیون درجه اول و دوم نیز صورت گرفت. مدل آماری طرح به صورت زیر بود. $Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$ ؛ هر یک از مشاهدات، μ : میانگین جامعه، T_i : اثر تیمارها، ε_{ij} : خطای آزمایشی.

نتایج و بحث

مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های تغذیه شده با

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های غذایی پایه در دوره آغازین، رشد و پایانی

Table 1- Ingredients and chemical composition of basal diets in starter, grower and finisher periods

اقلام خوراکی (%) Ingredients (%)	آغازین (۱۰-۱ روزگی) Starter (1-10 d)	رشد (۲۴-۱۱ روزگی) Grower (11-24 d)	پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) Finisher (25-42 d)
ذرت Corn	40.49	39.40	40.16
کنجاله سویا (۴۴ درصد) Soybean meal (44 %)	40.61	36.13	30.14
گندم Wheat	10	15	20
روغن سویا Soy oil	4.37	5.21	5.75
دی کلسیم فسفات Di calcium phosphate	1.86	1.63	1.44
سنگ آهک Limestone	1.14	1.06	0.99
نمک طعام Salt	0.44	0.44	0.40
ال- لیزین هیدروکلرید L-lysine HCl	0.29	0.24	0.26
مکمل معدنی ^۱ Mineral premix ¹	0.25	0.25	0.25
مکمل ویتامینی ^۱ Vitamin premix ¹	0.25	0.25	0.25
دی ال- متیونین DL-methionine	0.22	0.34	0.32
ال- ترئونین L-threonine	0.08	0.06	0.04
ترکیب محاسبه شده Calculated composition			
انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg) Metabolizable energy (kcal/kg)	3000	3100	3200
پروتئین خام % Crude protein (%)	23	21.5	19.5
کلسیم % Calcium (%)	0.96	0.87	0.79
فسفر قابل دسترس % Available phosphorus (%)	0.48	0.43	0.39
لیزین % Lysine (%)	1.44	1.29	1.16
متیونین % Methionine (%)	0.56	0.65	0.60
متیونین + سیستین % Methionine + Cysteine (%)	0.91	0.99	0.91
ترئونین % Threonine (%)	0.97	0.88	0.78

^۱ مکمل ویتامینه و مواد معدنی مواد زیر را در هر کیلوگرم از جیره تأمین می‌کرد: ویتامین A، ۸۸۰۰ واحد بین‌المللی؛ کوله کلسیفرول، ۲۵۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، ۸۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K3، ۲/۲ میلی‌گرم؛ ویتامین B12، ۰/۰۱ میلی‌گرم؛ تیامین، ۱/۵ میلی‌گرم؛ ریوفلاوین: ۴ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۳۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۰/۵ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ پیریدوکسین، ۲/۵ میلی‌گرم؛ اسید پنتوتنیک، ۸ میلی‌گرم؛ کولین کلراید، ۵۰ میلی‌گرم بناتین، ۱۹۰ میلی‌گرم؛ روی، ۶۵ میلی‌گرم؛ منگنز، ۷۵ میلی‌گرم؛ سلنیوم، ۰/۲ میلی‌گرم؛ ید، ۰/۹ میلی‌گرم؛ مس، ۶ میلی‌گرم؛ آهن، ۷۵ میلی‌گرم.

¹Supplied per kg of diet: vitamin A as acetate, 8800 IU; Cholecalciferol, 2500 IU; Vitamin E (as DL- α tocopherol) 80 IU, Vitamin K3, 2.2 mg; Vitamin B12, 0.01 mg, Thiamine, 1.5 mg; Riboflavin, 4 mg; Niacin 35mg, Folic acid 0.5 mg; Biotin, 0.15 mg; pyridoxine 2.5 mg; pantothenate, 8mg; choline chloride, 50 mg; Betaine 190 mg; Zinc, 65 mg; Magnesium, 75 mg; Selenium, 0.2 mg; Iodide, 0.9 mg; Copper, 6 mg; Iron, 75 mg.

جدول ۲- اثر سطوح مختلف پودر عصاره گیاه یوکا شیدیگرا در جیره بر مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی^۱Table 2- The effect of different levels of *Yucca Schidigera* extract powder on feed intake and feed conversion ratio of broiler chickens¹

تیمارهای آزمایشی Treatments	میانگین مصرف خوراک (روز/جوجه/گرم) Average feed intake(g/bird/d)				ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio			
	۱-۱۰ 1-10 d	۱۱-۲۴ 11-24 d	۲۵-۴۲ 25-42 d	۱-۴۲ 1-42 d	۱-۱۰ 1-10 d	۱۱-۲۴ 11-24 d	۲۵-۴۲ 25-42 d	۱-۴۲ 1-42 d
شاهد Control	24.77	80.21	153.25	97.91	1.08	1.40 ^a	2.17	1.75
۰/۰۱٪ پودر یوکا 0.01% yucca	23.89	80.31	151.15	96.38	1.10	1.33 ^b	2.45	1.82
۰/۰۱۵٪ پودر یوکا 0.015% yucca	23.48	77.95	154.14	96.66	1.09	1.37 ^{ab}	2.53	1.88
۰/۰۲٪ پودر یوکا 0.02% yucca	23.80	76.69	156.81	97.03	1.10	1.37 ^{ab}	2.03	1.69
۰/۰۲۵٪ پودر یوکا 0.025% yucca	23.44	75.53	153.00	94.79	1.10	1.40 ^a	2.41	1.84
SEM	0.346	1.657	3.579	1.740	0.010	0.017	0.230	0.103
P-Value								
ANOVA	0.08	0.21	0.85	0.78	0.61	0.05	0.52	0.72
Linear	0.06	0.97	0.90	0.89	0.26	0.15	0.51	0.68
Quadratic	0.27	0.46	0.99	0.84	0.37	0.009	0.53	0.73

^۱ میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).¹ Means within a column without a common superscript differ significantly ($P < 0.05$).جدول ۳- اثر سطوح مختلف پودر عصاره گیاه یوکا شیدیگرا در جیره بر میانگین وزن زنده و افزایش وزن روزانه (گرم) جوجه‌های گوشتی^۱Table 3- The effect of different levels of *Yucca Schidigera* extract powder on average live weight and body weight gain(g) of broiler chickens¹

تیمارهای آزمایشی Treatments	میانگین وزن زنده (گرم) Average live weight(g)				افزایش وزن روزانه (گرم) Body weight gain(g)		
	۱۰ روزگی 10 d	۲۴ روزگی 24 d	۴۲ روزگی 42 d	۱-۱۰ روزگی 1-10 d	۱۱-۲۴ روزگی 11-24 d	۲۵-۴۲ روزگی 25-42 d	۱-۴۲ روزگی 1-42 d
شاهد Control	270.40	1069.70 ^{ab}	2427.62	22.84	57.09 ^{ab}	74.11	56.78
۰/۰۱٪ پودر یوکا 0.01% yucca	257.70	1109.28 ^a	2289.65	21.55	60.42 ^a	64.13	53.46
۰/۰۱۵٪ پودر یوکا 0.015% yucca	256.90	1056.97 ^{ab}	2244.16	21.44	56.74 ^{ab}	64.62	52.37
۰/۰۲٪ پودر یوکا 0.02% yucca	258.40	1056.31 ^{ab}	2457.20	21.60	55.75 ^{ab}	77.82	57.42
۰/۰۲۵٪ پودر یوکا 0.025% yucca	255.40	1013.75 ^b	2224.80	21.33	53.74 ^b	64.52	51.89
SEM	4.117	21.185	127.409	0.409	1.485	6.555	3.018
P-Value							
ANOVA	0.11	0.06	0.59	0.09	0.06	0.44	0.59
Linear	0.05	0.21	0.65	0.04	0.18	0.56	0.64
Quadratic	0.20	0.05	0.79	0.17	0.04	0.63	0.79

^۱ میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).¹ Means within a column without a common superscript differ significantly ($P < 0.05$).

صفات لاشه

همان طور که در جدول ۴ ملاحظه می شود، تیمارهای آزمایشی اثر معنی داری بر وزن اندامها و اجزای لاشه جوجه های گوشتی در سن ۴۲ روزگی نداشتند و تنها وزن بورس فابریسیوس به صورت خطی و درجه دو معنی دار شد. لاندین (۲۰۰۰) تأثیر افزودن عصاره گیاه یوکا به جیره جوجه های گوشتی را مورد بررسی قرار داد. در این مطالعه نشان داده شد که عصاره یوکا در جیره جوجه های گوشتی باعث کاهش چربی حفره شکمی پرندگان می شود (۲۰). این تأثیر بر چربی محوطه شکمی احتمالاً به دلیل اثرات ساپونین ها بر کاهش قابلیت دسترسی اسیدهای صفراوی لازم برای تشکیل میسل با اسیدهای چرب و در نتیجه کاهش جذب لیپیدها از دستگاه گوارش می باشد. در این پژوهش نیز با افزایش سطوح یوکا در جیره، درصد چربی شکمی متناسب با آن کاهش یافت، اما تفاوت معنی داری با تیمار شاهد نداشت. ساهو و همکاران گزارش کردند، جوجه های تیماری که جیره حاوی یوکا دریافت کرده بودند، درصد سینه و لاشه

قابل مصرف بالاتری نسبت به تیمار شاهد داشتند ($P < 0.05$)، که برخلاف نتایج حاصل از این آزمایش می باشد. آن ها در اجزای دیگر لاشه، همچون ران ها، اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نکردند، که در این مورد همسو با نتایج این آزمایش است (۲۶). وزن اندام های لنفونیدی (بورس فابریسیوس، تیموس و طحال) در سن ۴۲ روزگی تحت تأثیر سطوح مختلف پودر عصاره یوکا قرار نگرفت که منطبق با یافته های رنجبر و همکاران (۲۵) و لینگ سو و همکاران (۱۹) است. نتایج لینگ سو و همکاران (۲۰۱۶) در مورد اندام های ایمنی بدن نشان داد که سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پودر عصاره یوکا در جیره غذایی جوجه های گوشتی نسبت به شاهد عملکرد بهتری دارد؛ اما این اختلاف معنی دار نبود. در نتایج آن ها، دوزهای پایین یوکا (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با دوزهای بالای آن (۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) عملکرد بهتری در شاخص ارگان های ایمنی از خود نشان داد (۱۹).

جدول ۴- اثر سطوح مختلف پودر عصاره گیاه یوکا شیدیگرا در جیره بر میانگین وزن اندامها و اجزای لاشه جوجه های گوشتی در سن ۴۲ روزگی (بر حسب درصد وزن زنده)

Table 4- The effect of different levels of *Yucca Schidigera* extract powder on average weight of carcass components of broilers at 42d of age (percentage of live weight)

تیموس Thymus	بورس فابریسیوس Bursa of Fabricius	طحال Spleen	دستگاه گوارش خالی GIT	قلب Heart	چربی حفره شکمی Abdo minal Fat	کبد Liver	لاشه قابل مصرف Edible Carcass	پشت+گر دن Back+ Neck	سینه Breast	ران ها Legs	تیمارهای آزمایشی Treatments
0.316	0.142	0.108	4.99	0.50 7	1.34	1.70	68.58	20.68	27.88	20.01	شاهد Control
0.273	0.186	0.099	4.96	0.50 0	1.21	1.71	67.96	20.60	27.42	19.94	۰/۰۱٪ پودر یوکا 0.01% yucca
0.254	0.210	0.103	4.90	0.50 3	1.15	1.79	68.55	20.76	28.30	19.50	۰/۰۱۵٪ پودر یوکا 0.015% yucca
0.290	0.177	0.101	4.98	0.50 1	1.02	1.74	68.85	20.61	28.05	20.12	۰/۰۲٪ پودر یوکا 0.02% yucca
0.340	0.133	0.128	4.63	0.53 2	0.95	1.91	68.70	20.51	28.78	19.40	۰/۰۲۵٪ پودر یوکا 0.025% yucca
0.035	0.027	0.009	0.197	0.01 4	0.146	0.076	0.630	0.441	0.648	0.283	SEM
P-Value											
0.45	0.31	0.99	0.67	0.69	0.27	0.89	0.68	0.99	0.67	0.19	ANOVA
0.09	0.03	0.27	0.70	0.40	0.68	0.82	0.73	0.90	0.66	0.95	Linear
0.06	0.03	0.16	0.46	0.26	0.86	0.48	0.63	0.84	0.42	0.80	Quadratic

سیستم ایمنی

همانطور که در جدول ۵ مشاهده می شود، تست SRBC نشان داد که تنها میزان ایمنوگلوبولین M، در تیتراول (سن ۳۵ روزگی) معنی دار است ($P < 0.05$). تیمار ۰/۰۱ درصد پودر عصاره یوکا،

بالاترین غلظت را داشت و با تیمار ۰/۰۲ و ۰/۰۲۵ درصد پودر عصاره یوکا اختلاف معنی داری نشان داد اما با شاهد و تیمار ۰/۰۱۵ درصد پودر عصاره یوکا، تفاوت معنی داری مشاهده نگردید. رنجبر و همکاران در چالش اولیه علیه SRBC، تفاوت معنی داری بین تیمارهای یوکا و

همچنین می‌توانند باعث افزایش ایمنی همورال و بهبود پاسخ ایمنی سلولی شوند (۲۳).

سپونین‌ها در غشاءهای میکروویلی با کلاسترول واکنش نشان می‌دهند که باعث ایجاد جراحات و ضایعات ساختاری شده و یکپارچگی بافت مخاطی دستگاه گوارش را از بین می‌برند (۱۴). این اثر سپونین‌ها می‌تواند عواقب منفی بر سلامت جوجه‌های گوشتی داشته باشد. افزایش نفوذپذیری روده به مولکول‌های بزرگ می‌تواند خطر ایجاد حساسیت به آنتی‌ژن‌های جیره را که بطور معمول جذب نمی‌شوند را افزایش دهد. تأثیر سپونین‌ها بر سیستم ایمنی می‌تواند کاربردهای عملی متعددی داشته باشد. با انجام یک آزمایش، اثر مصرف سپونین‌ها بر ایمنی موش‌های چالش یافته با ویروس هاری مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که ایمنی موش‌ها بهبود می‌یابد. استفاده از سپونین‌ها در شرایط تنش‌های محیطی در جیره خوک و طیور می‌تواند راهکاری برای افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها باشد (۴).

شاهد مشاهده نکردند اما در تست فیتوهم‌آگلوتینین، تیمارهای حاوی یوکا با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند و ضخامت پرده پا در آن‌ها بیشتر بود (۲۵). گزارش‌های متعددی در مورد بهبود سیستم ایمنی توسط سپونین‌ها وجود دارد. بار و همکاران ارتباط سپونین‌ها با سیستم ایمنی را احتمالاً ناشی از اثر آن‌ها بر سلول‌های تولید کننده پادتن‌ها بیان کردند. از عملکرد متنوع سپونین‌ها در راستای تقویت سیستم ایمنی نتیجه گیری شده است که این تأثیرات احتمالاً به دنبال تحت تأثیر قرارگیری اختصاصی واسطه‌های فیزیولوژیک صورت می‌پذیرد و تأثیرات غیراختصاصی سپونین‌ها بر نفوذپذیری غشای سلولی در این رابطه فاقد اهمیت هستند. با بهبود ایمنی همورال آنتی‌بادی‌هایی تولید می‌شود که می‌توانند از اندام‌ها در برابر باکتری‌ها و ویروس‌ها محافظت کند (۲۱). ایمونوگلوبولین G آنتی‌بادی اصلی برای ضد عفونی عمومی بدن است که باکتری‌ها و سایر آنتی‌ژن‌ها را در رگ‌های خونی از بین می‌برد (۱۹). سپونین‌ها می‌توانند ترشح سیتوکین‌ها را تحریک کرده و ایمنی ذاتی را بهبود بخشند (۳۰).

جدول ۵- اثر سطوح مختلف پودر عصاره گیاه یوکا شیدیگرا در جیره بر سطح ایمونوگلوبولین خون جوجه‌های گوشتی در سن ۳۵ و ۴۲ روزگی (برحسب لگاریتم بر مبنای ۲ (Log₂))

Table 5 - The effect of different levels of <i>Yucca Schidigera</i> extract powder on levels of immunoglobulin of broiler chickens at 35 and 42d of age (Log ₂) ¹									
تیمارهای آزمایشی Treatments									
شاهد	SEM	P-Value			ANOVA	Linear	Quadratic		
		ANOVA	Linear	Quadratic					
شاهد	SEM	ANOVA	Linear	Quadratic	ANOVA	Linear	Quadratic		
Control	SEM	ANOVA	Linear	Quadratic	ANOVA	Linear	Quadratic		
0.01% yucca	0.015% yucca	0.02% yucca	0.025% yucca						
۳۵ روزگی 35 day old									
IgG	4.4	4.4	5	6.4	5.2	0.709	0.29	0.65	0.96
IgM	2 ^{ab}	2.4 ^a	2 ^{ab}	1.2 ^b	1.4 ^b	0.268	0.03	0.53	0.17
IgT	6.4	6.8	7	7.6	6.6	0.635	0.71	0.42	0.49
۴۲ روزگی 42 day old									
IgG	5.7	5.4	4.8	6	5.2	0.736	0.80	0.37	0.72
IgM	1	0.4	0.8	0.2	0.4	0.250	0.22	0.06	0.18
IgT	6.7	5.8	5.6	6.2	5.6	0.716	0.79	0.43	0.58

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

¹ Means within a row without a common superscript differ significantly ($P < 0.05$).

متابولیت‌های خون

همان‌طور که در جدول ۸ مشاهده می‌شود، سطوح مختلف پودر عصاره گیاه یوکا در جیره غذایی اثر معنی‌داری بر میزان LDL خون جوجه‌ها داشت ($P < 0.05$).

تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر حساسیت بازوفیلی پوستی جوجه‌ها (CBH) نداشتند (جدول ۶). رنجبر و همکاران (۱۳۹۳) گزارش کردند جوجه‌های تیماری که ۲۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه یوکا در جیره غذایی دریافت کرده بودند بیشترین افزایش ضخامت پوست را داشتند و کمترین مقدار مربوط به گروه شاهد بود؛ که در تناقض با نتایج این آزمایش می‌باشد.

جدول ۶- اثر سطوح مختلف پودر عصاره گیاه یوکا شیدیگرا در جیره بر تست حساسیت پوستی بازوفیل‌ها در جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی (میلی‌متر)
Table 6- The effect of different levels of *Yucca Schidigera* extract powder on CBH test of broiler chickens at 42d of age (mm)

تیمارهای آزمایشی Treatments						P-Value		
	شاهد Control	۰/۰۱ درصد پودر یوکا 0.01% yucca	۰/۰۱۵ درصد پودر یوکا 0.015% yucca	۰/۰۲ درصد پودر یوکا 0.02% yucca	۰/۰۲۵ درصد پودر یوکا 0.025% yucca	SEM	ANOVA	Linear Quadratic
شاخص تورم ۱۲ ساعت بعد تزریق After 12h	1.25	0.99	1.13	1.17	1.11	0.233	0.95	0.59
شاخص تورم ۲۴ ساعت بعد تزریق After 24h	1.12	0.87	1.45	1.11	1.43	0.246	0.44	0.80

اثر افزودن دو سطح مکمل یوکا را بر فراسنجه‌های خون جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها گزارش کردند که اختلاف معنی‌داری در میزان کلسترول خون جوجه‌ها وجود ندارد؛ که منطبق با نتایج این آزمایش است. همچنین گزارش کردند، کمترین میزان LDL خون در جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم یوکا مشاهده می‌شود (۲۵).

جوجه‌ها در تیماری که ۰/۰۲۵ درصد پودر عصاره گیاه یوکا را دریافت کرده بودند بالاترین غلظت LDL خون را داشتند که اختلاف آن با تیمار شاهد معنی‌دار نبود. کمترین میزان LDL خون نیز مربوط به جوجه‌هایی بود که تیمار ۰/۰۱۵ درصد پودر عصاره گیاه یوکا را دریافت کرده بودند. سایر فراسنجه‌های خونی شامل کلسترول، تری‌گلیسیرید و HDL اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها نداشتند. رنجبر و همکاران

جدول ۸- اثر سطوح مختلف پودر عصاره گیاه یوکا شیدیگرا در جیره بر متابولیت‌های خونی جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی (میلی گرم بر دسی‌لیتر)^۱
Table 8- The effect of different levels of *Yucca Schidigera* extract powder on blood metabolites of broiler chickens at 42d of age (mg/dl)¹

تیمارهای آزمایشی Treatments	کلسترول Cholesterol	تری‌گلیسیرید Triglyceride	لیپوپروتئین با دانسیته پایین LDL ^۲	لیپوپروتئین با دانسیته بالا HDL ^۳
شاهد Control	108.0	55.0	16.0 ^{abc}	85.6
۰/۰۱ درصد پودر یوکا 0.01% yucca	109.2	46.6	13.6 ^{bc}	80.2
۰/۰۱۵ درصد پودر یوکا 0.015% yucca	113.4	49.0	13.2 ^c	81.4
۰/۰۲ درصد پودر یوکا 0.02% yucca	112.6	45.4	20.2 ^{ab}	79.4
۰/۰۲۵ درصد پودر یوکا 0.025% yucca	119.6	49.6	21.8 ^a	85.4
SEM	5.916	3.814	2.189	4.125
P-Value				
ANOVA	0.67	0.60	0.03	0.73
Linear	0.96	0.12	0.51	0.20
Quadratic	0.61	0.21	0.28	0.21

^۱ میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

^۲ Means within a column without a common superscript differ significantly ($P < 0.05$).

^۳ Low Density Lipoprotein

High Density Lipoprotein

نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج بدست آمده از این آزمایش می توان گفت، سطح ۰/۰۲ درصد پودر عصاره گیاه یوکا در جیره عملکرد رشد جوجه های گوشتی را در کل دوره (۴۲-۱ روزگی) بهبود بخشید؛ هر چند اختلاف معنی داری با تیمار شاهد نداشت. سطوح ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵ درصد پودر عصاره یوکا در جیره سطح LDL سرم را نسبت به تیمار شاهد کاهش دادند. با استفاده از سطح ۰/۰۱ درصد پودر عصاره یوکا در جیره، بالاترین میزان ایمنوگلوبولین M مشاهده شد.

فرانسیس و همکاران در مقاله مروری خود در مورد اعمال بیولوژیکی ساپونین ها در حیوانات گزارش کرده اند که ساپونین ها به طور انتخابی باعث کاهش سطح LDL و کلسترول سرم در انسان و حیواناتی نظیر موش و خرگوش می شوند (۱۲). اسیدهای صفراوی با کلسترول میسل های مخلوطی تشکیل می دهند که باعث سهولت جذب آن ها می شود. ساپونین ها از طریق جلوگیری از جذب دوباره نمک های صفراوی، باعث کاهش کلسترول بدن می شوند و تشکیل اسیدهای ثانویه صفراوی را کاهش می دهند (۲۵).

منابع

- 1- Alipour, F., A. Hassanabadi, A. Golian, and H. Nassiri-Moghaddam. 2015. Effect of plant extracts derived from thyme on male broiler performance. *Poultry Science*, 94:2630-2634.
- 2- Castanon, J. I. R. 2007. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Science*, 86:2466-2471.
- 3- Cheeke, P. R. 1996. Biological effects of feed and forage saponins and their impact on animal production. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 405: 377-385.
- 4- Cheeke, P. R. 2000. Actual and potential applications of yucca schidigera and Quillaja saponaria saponins in human and animal nutrition. *Proceedings, American Society of Animal Science*, 45:241-254.
- 5- Cheeke, P. R., and R. Otero. 2005. Yucca and Quillaja may have role in animal nutrition. *Feedstuffs*, 77:11-14.
- 6- Cheeke, P. R., Piacente, S. and W. Oleszek. 2006. Anti-inflammatory and anti-arthritis effects of yucca schidigera: a review. *Journal of Inflammation*, 3:1-7.
- 7- Corrier, D. E. 1990. Comparison of phytohemagglutinin-induced cutaneous hypersensitivity reactions in the interdigital skin of broiler and layer chicks. *Avian Diseases*, 34:369-373.
- 8- El-Saidy, D. M. S., and M. M. A. Gaber. 2004. Effect of yucca schidigera on water quality and growth performance of Nile tilapia (*O. niloticus* L) fingerlings Egyptian. *Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 8:33-50.
- 9- Fazeli-nasab, B., N. Jafarvand, and Z. Fuladvand. 2015. The use of medicinal plants in livestock and poultry. *International Conference on Sustainable Development, Strategies and Challenges With a Focus on Agriculture, Natural Resources, Environment and Tourism 24-26 Feb 2015, Tabriz, Iran. (In Persian)*.
- 10- Fazli, N., A. Hassanabadi, M. Mottaghtalab, and H. Hajati. 2015. Manipulation of broiler chickens sex differentiation by in ovo injection of aromatase inhibitors, and garlic and tomato extracts. *Poultry Science*, 94: 2778-2783.
- 11- Fidan, A. F., and Y. Dundar. 2008. The effects of Yucca schidigera and Quillaja saponaria on DNA damage, protein oxidation, lipid peroxidation, and some biochemical parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 22:348-356.
- 12- Francis, G., Z. Kerem, H. Makkar, and K. Becker. 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*, 88:587-605.
- 13- Gaber, M. M. 2006. The effects of plant-protein based diets supplemented with Yucca on growth, digestibility, and chemical composition of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*, L) fingerlings. *Journal of the World Aquaculture Society*, 37:74-81.
- 14- Gee, J. M., J. M. Wal, K. Miller, H. Atkinson, F. Grigoriadou, M. V. W. Wijnands, A. H. Penninks, G. Wortley, and I. T. Johnson. 1997. Effect of saponin on the transmucosal passage of β -lactoglobulin across the proximal small intestine of normal and β -lactoglobulin-sensitized rats. *Toxicology*, 117:219-228.
- 15- Johnston, N. L., C. L. Quarles, D. J. Fagerberg, and D.D. Caveny. 1981. Evaluation of yucca saponin on broiler performance and ammonia suppression. *Poultry Science*, 60(10):2289-2292.
- 16- Kaya, S., Z. Erdogan, and S. Erdogan. 2003. Effect of different dietary levels of yucca schidigera powder on performance, blood parameters and egg yolk cholesterol of laying quails. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 50:14-17.
- 17- Kelly, A. M., and C. C. Kohler. 2003. Effects of yucca schidigera extract on growth, nitrogen retention, ammonia excretion, and toxicity in channel catfish *Ictalurus punctatus* and hybrid tilapia *O. Mossambicus* $\times$ *O. Niloticus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34:156-161.
- 18- Kutlu, H. R., M. Gorgulu, and I. Unsal. 2001. Effects of dietary yucca schidigera powder on performance and egg cholesterol content of laying hens. *Journal of Applied Animal Research*, 20:49-56.

- 19- Ling su, J., B. Lin Shi, P. Fei Zhang, D. Sheng Sun, T. Y. Li, and S. Mei Yan. 2016. Effects of yucca extract on feed efficiency, immune and antioxidative functions in broilers. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59:e16150035.
- 20- Lundeen, T. 2000. Yucca extract improves feed efficiency decreases abdominal fat in broilers. *Feedstuffs*, 72(33). Aug. 7.
- 21- Mckee, A. S., M. W. Munks, and P. Marrack. 2007. How do adjuvants work? Important considerations for new generation adjuvants. *Immunity*, 27(5):687-690.
- 22- Oleszek, W., M. Sitek, A. Stochmal, S. Burda, and P. Cheeke. 1999. Saponin and phenolic constituents from Yucca schidigera bark (Abstr.). In: *Saponins in Food, Feedstuffs and Medicinal Plants*, p 31. Institute of Soil Science and Plant Cultivation, Pulawy, Poland.
- 23- Palatnik de Sousa, C. B., W. R. Santos, C. P. Casas, E. Paraguai de Souza, L.W. Tinoco, and B. P. da Silva. 2004. Protective vaccination against murine visceral leishmaniasis using aldehyde-containing Quillaja saponaria sapogenins. *Vaccine*, 22(19):2470-2479.
- 24- Piacente, S., C. Pizza, and W. Oleszek. 2005. Saponins and phenolics of Yucca schidigera Roezl: chemistry and bioactivity. *Phytochemistry Reviews*, 4(2-3):177-190.
- 25- Ranjbar, Z., F. Shariatmadari, and M. A. Karimi Torshizi. 2014. Effect of different levels of yucca extract and antibiotic on growth performance, immune response and blood factors of broiler chickens. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30(5):675-681. (In Persian)
- 26- Sahoo, S. P., D. Kaur, A. P. S. Sethi, A. Sharma, and M. Chandra. 2015. Evaluation of yucca schidigera extract as feed additive on performance of broiler chicks in winter season. *Veterinary World*, 8(4):556-560.
- 27- SAS Institute. 2004. User's guide, version 9.1. Cary (NC): USA: SAS institute Inc.
- 28- Sheikh-Samani, E. A. Hassanabadi, A. Golian. 2016. Comparative effects of nano-multivitamin supplementation on performance, some blood parameters and immune responses of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 8(1):96-107. (In Persian).
- 29- Sobia, A., M. Zubair, N. Rasool, A. Mansha, and F. Anjum. 2013. Antioxidant, antibacterial, antifungal activities and phytochemical analysis of dagger (Yucca aloifolia) leaves extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7:243-249.
- 30- Song, X., S. Bao, L. Wu, and S. Hu. 2009. Ginseng stem-leaf saponins (GSLs) and mineral oil act synergistically to enhance the immune responses to vaccination against foot-and-mouth disease in mice. *Vaccine*, 27(1):51-55.
- 31- Yeo, J., and K. I. Kim. 1997. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. *Poultry Science*, 76 (2):381-385.



The Effect of Different Dietary Levels of *Yucca Schidigera* Extract Powder on Performance, Blood Metabolites, Immune System and Carcass Traits of Broiler Chickens

E. Amirbeik¹- A. Hassanabadi^{2*}- H. Nassiri Moghaddam³

Received: 23-05-2017

Accepted: 14-01-2018

Introduction The use of medicinal plants in poultry nutrition has been considerably increased in the recent years due to their beneficial effects, environmental compatibility and lack of adverse side effects. On the other hand, the use of antibiotic growth promoters (AGPs) in poultry production has been banned because of their residues in poultry productions and development of antibiotic resistant bacteria. The plant yucca (*Yucca schidigera*) belongs to agavaceae family and is native of south-western of United States and Mexico. Yucca typically grows on rocky desert slopes and creosote desert flats between 300–1,200 meters altitude, rarely up to 2,500 meters. This plant thrives in full sun and in soil with excellent drainage. It also needs no summer water. The plant is known as one of the main sources of saponins. Steroidal saponins are accounted for approximately 10% of the dry weight of Yucca stem. Saponins, the main chemical component of YS extract, exist in steroidal form, whereas they are found in a triterpenoid form in other plants, such as Quillaja saponaria. Yucca saponins have antibacterial properties. The use of Yucca schidigera extract in poultry feed is a good alternative to improve feed efficiency and increased production. Yucca extract-supplemented diets have improved growth performance, relative weight of bursa of Fabricius and reduced mortality rate, breast muscle, caecal E. coli counts in broiler chickens. In the present study, the effects of different dietary levels of a commercial product containing Yucca schidigera powder on certain variables of broiler chicks were studied.

Materials and Methods This experiment was conducted using 250 Ross 308 broiler chicks in a completely randomized design with 5 treatments and five replicates of 10 chicks each. Different dietary levels of the Yucca extract powder (0, 0.01, 0.015, 0.02, and 0.025 %) were tested in a three-stage feeding program including starter (0 to 10 days of age), grower (11 to 24 d) and finisher (25 to 42 d) phases. Blood samples were collected from one bird per replicate pen to determine the selected blood metabolites including cholesterol, triglycerides, low-density lipoprotein (LDL), and high-density lipoprotein (HDL) at the end of the experiment (42 days of age). On day 42, one chick per replicate was slaughtered and carcass characteristics were assessed. The effect of dietary yucca powder levels on cellular immune response was determined by a cutaneous basophil hypersensitivity test using phytohemagglutinin-P (PHA-P). At d 42, one bird from each replicate was selected and thickness of the interdigital skin between the third and fourth digits of both feet was measured in millimeters with a Caliper (Measurement accuracy, 0.001). Immediately after the measurement, 100 µl of the PHA-P solution and phosphate buffer saline (PBS) were injected into the interdigital skin of the left and right feet by insulin syringes, respectively. Thicknesses of the skin were measured 12h and 24h post-injection. At day 28, five chicks per treatment (1 chick/replicate) were selected and 0.5 ml of 10 % sheep red blood cell (SRBC) solution was injected into their breast muscle and after seven days (day 35) blood samples were collected from brachial vein of the birds and then, an additional injection of SRBC was performed to induce the secondary anti-SRBC humoral response. At day 42, the second series of blood samples were collected. Sera separated from blood samples and were used to evaluate anti-SRBC total (Ig T), M (Ig M) and G (Ig G) immunoglobulins.

Results and Discussion The effect of dietary Yucca powder on feed conversion ratio (FCR) was significant ($P < 0.05$) in the grower period (11-24 d). Chicks received 0.01% Yucca powder had the best FCR, and the highest FCR was observed in control and 0.025% Yucca powder group. There was significant difference ($P < 0.05$) in body weight gain (BWG) and average body weight (ABW) in the grower period (11-24 d) of broiler chickens. Broilers in 0.01% Yucca powder group, were significantly ($P < 0.05$) heavier than the 0.025% Yucca powder group. SRBC test showed that, IGM in first titer (35 d) was significantly ($P < 0.05$) more than the other groups. In the case of blood metabolites, serum LDL concentration had significant differences among the

1- M.Sc. student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

2, 3- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

(* - Corresponding Author Email: hassanabadi@um.ac.ir)

treatments ($P < 0.05$). The lowest LDL concentration was observed in 0.015% Yucca powder group. There was no significant difference in feed intake, CBH test and carcass traits of broiler chickens.

Conclusion According to results of this experiment, supplementation of 0.02% Yucca extract powder, improved growth performance of the broiler chickens. However, 0.01% Yucca extracts powder improved humoral immunity and decreased blood serum LDL concentration of broiler chickens.

Keywords: Blood metabolites, Broiler chicks, Carcass traits, Immune system, Yucca schidigera.

تعیین اهداف اصلاحی گوسفند مغانی در سیستم پرورش عشایری

رضا سید شریفی^{۱*} - فاطمه نور افکن^۲ - مصطفی فولادی^۲ - جمال سیف دواتی^۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۱۲

چکیده

بهترین راه برای حداکثر کردن سود آوری از طریق اصلاح نژاد، استفاده از ضرایب اقتصادی صفات به همراه ارزیابی ژنتیکی است. هدف تحقیق حاضر، تحلیل هزینه فایده در گله‌های این نژاد در شرایط پرورش عشایری می‌باشد. در این مطالعه پارامترهای تولیدی، مدیریتی و اقتصادی حاصل از رکوردگیری پنج گله به تعداد ۵۰۰ راس میش داشتی گوسفند نژاد مغانی در طول چرخه تولیدی از شهریور سال ۱۳۹۴ تا شهریور ۱۳۹۵ مورد ارزیابی قرار گرفت. ضرایب اقتصادی صفات با استفاده از گرایش حداکثر سود، توسط نرم افزار MATLAB محاسبه گردید. برای تعیین ضرایب اقتصادی نسبی، ضریب اقتصادی مطلق هر صفت، به ضریب اقتصادی مطلق صفت وزن پشم تقسیم گردید. آنالیز اقتصادی سیستم تولید نشان داد که هزینه‌ها، درآمدها و سود حاصل به ازای هر رأس میش در سال به ترتیب ۹۴۳۷۶۱۷/۸۸، ۹۴۳۷۶۵۴/۴۹ و ۱۰۶۳۷۶۵۴/۴۹ ریال بود. هزینه‌های مربوط به تغذیه و مدیریت به ترتیب ۷۳/۶۵ و ۲۶/۳۵ درصد از کل هزینه‌های جاری و درآمد حاصل از فروش وزن زنده، شیر، کود و پشم به ترتیب ۸۶/۳۹، ۹/۶۴، ۲/۸۵ و ۱/۱۵ درصد از کل درآمد را شامل شدند. ضرایب اقتصادی نسبی برای صفات مختلف به ترتیب بازده لاشه، وزن دوازده ماهگی، زنده‌مانی میش، وزن شیرگیری بره، وزن تولد، میزان آبستنی، زنده‌مانی بره بعد از شیرگیری، زنده‌مانی بره تا شیرگیری، تعداد بره در هر زایش، دفعات زایش در سال، افزایش وزن روزانه بعد از شیرگیری، وزن بیده پشم، وزن شیر، افزایش وزن روزانه قبل از شیرگیری، وزن جایگزین ماده و وزن میش بالغ ۲/۳۵، ۲/۰۷، ۱/۸۵، ۱/۵۴، ۱/۴۲، ۱/۰۵، ۱، ۰/۵۵، ۰/۳۴، ۰/۰۶، ۰/۸۱ - گزارش شد.

واژه های کلیدی : ارزش اقتصادی، پرورش عشایری، صفات تولیدی، صفات تولیدمثلی، گوسفند مغانی.

مقدمه

برای افزایش توان رقابت هر رشته تولیدی در دامپروری باید نسبت به افزایش سود آوری آن شاخه تولیدی اقدام نمود. یکی از راه های موثر برافزایش سودآوری در دامپروری استفاده از اصلاح نژاد است. بدون در نظر گرفتن اهمیت نسبی صفات از لحاظ اقتصادی نمی‌توان روش بهینه اصلاح نژادی را بکار گرفت، از طرفی مناسب ترین راه تعیین اهمیت نسبی صفات بدست آوردن ضرایب اقتصادی آنهاست (۱۰). ضرایب اقتصادی نیاز به آنالیز دقیق هزینه‌ها و درآمدها دارد و در شرایط مختلف متفاوت است به طوری که در طول زمان تغییر می‌کند. هزینه‌ها و قیمت‌ها، با نوسان در بازار، مدیریت با ورود فن آوری جدید و سطوح تولید با روند ژنتیکی تغییر می‌کنند تمام این عوامل، ضرایب اقتصادی را تحت تاثیر قرار می‌دهند، لذا ضروری است که ضرایب اقتصادی صفات هر از گاهی به روز شوند. گوسفند

مغانی یکی از مهمترین نژادهای گوستی در میان گوسفندان دنیه دار ایران است. این نژاد به عنوان نژاد غالب استان اردبیل حدود ۲/۵ میلیون رأس از کل جمعیت گوسفندان ایران را تشکیل می‌دهد. این نژاد از نظر اندازه بزرگ بدن، مقاومت در برابر تغییرات آب و هوایی و قابلیت تولید بره‌های سنگین شناخته شده است. در این نژاد هر دو جنس بدون شاخ هستند (۷). نژاد مغانی در سیستم سنتی کوچرو پرورش یافته که در تابستان در مناطق کوهستانی و در زمستان در مناطق دشتی نگهداری می‌شود. پرورش به روش ییلاق و قشلاق سبب گردیده است که گوسفندان مغانی در تمام ایام سال در حرارتی بین ۱۵ الی ۲۵ درجه زندگی کنند و چون حیوان در هوایی نسبتاً معتدل و اندک سرد زندگی می‌کند، اشتهاى خوبی دارد و در تمام مدت روز به چرا می‌پردازد. ازجمله تحقیقاتی که در زمینه اهداف اصلاحی انجام شده می‌توان به پانزونی (۱۶) اشاره نمود که با استفاده از یک معادله سود اهداف اصلاحی برای گوسفند مرینو در استرالیا را تعیین کرد. گالیوان (۶) در بررسی اهداف اصلاحی گوسفند در کانادا، گزارش کرد که صفات تولید مثل (تعداد بره متولد شده در هر زایش و زنده مانى بره ها) در همه سیستم‌های تولیدی دارای بالاترین ضرایب اقتصادی بودند. کاسجی و همکاران (۱۱) بر روی گوسفندان نواحی

۱- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران،

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(*)- نویسنده مسئول : (Email: reza_sayedsharifi@yahoo.com)

DOI: 10.22067/ijasr.v1397i1.59645

شدند ۱: برهه‌ها (۰ تا ۴ ماهه) ۲- برهه‌های یکساله (۴ تا ۱۲ ماهه) ۳- برهه‌های ماده جایگزین (۱۲ تا ۱۸ ماهه) ۴- برهه‌های نر جایگزین (۱۲ تا ۱۸ ماهه) ۵- میش‌های مولد بزرگتر از ۱۸ ماه ۶- قوچ‌های بزرگتر از ۱۸ ماه، علی‌رغم اینکه نسبت برهه‌های نر به ماده در گله‌های مورد بررسی بیشتر بود ولی در این مطالعه این نسبت یکسان و معادل ۰/۵۰ در نظر گرفته شد. میانگین پارامترهای تولیدی، تولیدمثلی، مدیریتی و قیمت‌های حاصل از گله‌های مورد بررسی جهت استفاده در مدل در جدول ۱ آورده شده است بر طبق اطلاعات جمع‌آوری شده، به طور متوسط به ازای هر ۱۰۰ رأس میش، ۱۲۵ زایش در سال وجود دارد. همچنین نرخ دوقلو زایی در گله‌ها به طور میانگین ۱۵ درصد بود. نرخ آبستنی در میش‌های نژاد مغانی در سامانه عشایری ۹۳ درصد بوده که نسبت میش‌های دارای ۰، ۱ و ۲ بره برابر با ۰/۷۹، ۰/۱۴ و ۰/۰۷ بودند. کلیه میش‌ها در حدود ۶ سالگی و قوچ‌ها بعد از ۴ سالگی حذف می‌شوند. میش‌ها و قوچ‌های حذفی و بره‌های مازاد معمولاً در زمان‌های متفاوت در طول سال یا به صورت زنده به فروش می‌رسند و یا به کشتارگاه ارسال شده و پس از کشتار بر اساس وزن لاشه به فروش می‌رسند. نهاده‌ها برای سیستم تولیدی شامل غذای مصرفی، گله داری، حمل و نقل، دارو و درمان و هزینه‌های ثابت می‌باشد و ستانده‌ها نیز درآمد حاصل از فروش میش‌ها و قوچ‌های حذفی، بره‌های نر و ماده مازاد، شیر تولیدی، پشم و کود حاصل از کل گله می‌باشد. معادله سود کلی که جمع چند معادله سود جزئی به تفکیک گروه حیوانات و نوع تولید است به قرار زیر می‌باشد.

$$TP = N \left[\sum_{i=1}^6 \sum_{j=1}^4 R_{ij} - \sum_{i=1}^6 \sum_{k=1}^3 C_{ik} \right] \quad (۱)$$

TP، سود کل؛ N، تعداد کل میش‌های مولد؛ R_{ij} درآمد حاصل از زمین محصول تولیدی (فروش کود، فروش پشم، فروش میش‌ها و قوچ‌های حذفی، فروش بره‌های مازاد) توسط i امین گروه از حیوانات (بره‌های چهار ماه، بره‌های یکساله، بره‌های ماده جایگزین، بره‌های نر جایگزین، میش‌های مولد، قوچ‌ها)؛ C_{ik} ، نوع هزینه‌ها، (k، هزینه تغذیه، هزینه مدیریت، هزینه‌های ثابت) مربوط به i امین گروه از حیوانات می‌باشند. درآمد کل و هزینه کل به صورت زیر محاسبه شدند.

فروش شیر + فروش کود + فروش پشم + فروش میش‌ها و قوچ‌های حذفی + فروش بره‌های مازاد = درآمد

هزینه‌های ثابت + هزینه مدیریت + هزینه تغذیه = هزینه‌های کل

درآمد حاصل از فروش شیر: این در آمد به تعداد میش‌های شیرده و مقدار شیرتولیدی و قیمت آن بستگی دارد.

$$R_{milk} = \frac{Newmilk}{Newr} \times MY \times P_{milk} \quad (۲)$$

گرمسیری، تولون و همکاران (۲۰) ضرایب اقتصادی گوسفندان شیری ایتالیا، لوبو و همکاران (۱۳) ضرایب اقتصادی گوسفندان برزیلی را محاسبه نموده‌اند. مطالعات مشابهی نیز برای برخی از نژادهای بومی گوسفند توسط محققین مختلف صورت گرفته است، احمدی متقی (۳) باقری و همکاران (۵) و وطن خواه و همکاران (۲۰) طی مطالعات جداگانه‌ای که روی گوسفندان بلوچی، لری بختیاری در سیستم‌های مختلف پرورشی داشتند، گزارش نمودند که به دلیل تنوع در میزان نهاده‌ها و ستانده‌ها در سیستم‌های پرورشی مختلف، ضرایب اقتصادی برای هر سیستم پرورش، باید به طور مجزا برآورد شود. لذا تنوع در شرایط اقتصادی، اجتماعی و اکولوژیکی محیط‌های تولید حکم می‌کند که اهداف اصلاحی و استراتژی‌های اصلاح نژادی متفاوتی در نژادهای مختلف و تحت سیستم‌های مختلف تولید وجود داشته باشد. از آنجایی که تاکنون برنامه اصلاح نژادی هدفمندی برای این نژاد در سیستم پرورش عشایری اجرا نشده است، تحقیق حاضر با هدف برآورد ضرایب اقتصادی برخی صفات مهم گوسفندان مغانی در سیستم پرورش عشایری برای تعیین شاخص انتخاب مناسب در برنامه انتخاب و همچنین تعیین اهداف اصلاحی در این نژاد صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

به منظور برآورد پارامترهای تولیدی، تولیدمثلی، جمعیتی، مدیریتی و اقتصادی مورد نیاز جهت تشکیل تابع سود و تعیین ضرایب اقتصادی تعداد ۵ گله با ظرفیت ۵۰۰ رأس میش ماده مولد پرورش یافته تحت سیستم عشایری در نقاط مختلف استان اردبیل به مدت یک دوره کامل تولید یعنی از ابتدای شهریور سال ۱۳۹۴ تا پایان شهریور ۱۳۹۵ مورد رکوردگیری و مطالعه مستقیم قرار گرفتند. در گله‌های مورد بررسی معمولاً از اواسط خرداد قوچ در گله رها می‌شود. جفتگیری این گوسفندان در بیشتر اوقات در بیلاق در ماه‌های خرداد، تیر و مرداد صورت می‌گیرد و زایش گوسفندان از اواخر پاییز شروع می‌شود. دوران شیرخوارگی بره‌ها به طور متوسط ۱۲۰ روز می‌باشد. بره‌ها تا سن حدود یک ماهگی فقط از شیر مادر تغذیه می‌کنند به نحوی که معمولاً روزانه ۳ تا ۴ نوبت و هر نوبت حدود یک ساعت همراه مادر بوده، ولی از یک ماهگی به بعد فقط شب و صبح که گله از چرا بر می‌گردد و دوباره به چرا می‌رود به بره‌ها اجازه داده می‌شود که از شیر مادر تغذیه نمایند و بقیه اوقات به وسیله برگ یونجه و با جیره دستی که به صورت آزاد در اختیار آنها قرار می‌گیرد، تغذیه می‌شوند. بره‌های مازاد در سن ۱۲ ماهگی به فروش می‌رسند. برخی خصوصیات مربوط به گوسفند مغانی در سامانه عشایری در شکل ۱ آورده شده است. برای راحتی محاسبات، یک گله با N رأس میش پرورشی در نظر گرفته شد. بر اساس سن، حیوانات به ۶ گروه تقسیم

مقدار کنسانتره مصرفی: برای قوچ ۵۰۰ گرم در روز، میش ۳۰۰ گرم در روز، و برای دام‌های جایگزین و یکساله‌ها ۱۰۰ گرم در روز و بره‌ها کنسانتره دریافت نمی‌کنند.

مقدار مواد معدنی مصرفی: مقدار مواد معدنی مصرفی برای حیوانات بالغ ۲۰ گرم به ازای هر ۱۰ کیلوگرم وزن حیوان بالغ، بره‌ها و یکساله‌ها ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰ کیلوگرم وزن بره یکساله، برای جایگزین‌ها ۱۵ گرم به ازای هر ۱۰ کیلوگرم وزن زنده جایگزین‌ها در نظر گرفته شده است.

محاسبه هزینه تغذیه

$$C_{F(i)} = \sum_{i=1}^6 \left\{ \frac{N_i}{N_{ewe}} \times d_i \times [(I_i \times R_i) + (Concen_i \times P_{Concen}) + (Mineral_i \times P_{Mineral})] \right\}$$

$$R_{manur(i)} = \sum_{i=1}^6 \left[0.5 \times \frac{N_i}{N_{ewe}} \times d_i \times I_i \times (1 - digst) \times P_{manur} \right] \quad (8)$$

C_F : هزینه خوراک مصرفی i امین گروه دام، N_i : تعداد i امین گروه دام، d_i : تعداد روزهای حضور دام در i امین گروه، I_i : مقدار ماده خشک علوفه مصرفی گروه، P_i : قیمت هر کیلو گرم ماده خشک، $Concen_i$: مقدار کنسانتره مصرفی گروه، P_{Concen} : قیمت هر کیلوگرم کنسانتره، $Mineral_i$: مقدار مواد معدنی مصرفی گروه، $P_{Mineral}$: قیمت هر کیلو گرم مواد معدنی (۱۳).

هزینه‌های مدیریتی: هزینه‌های مدیریتی شامل هزینه‌های کارگری، کنترل بهداشتی، بازاریابی، حمل و نقل و پشم چینی می‌باشد. هزینه کارگری دام: هزینه کارگری برای هر رأس گوسفند در سال ثابت بوده ولی با تغییر اندازه گله، هزینه کارگری نیز تغییر خواهد یافت. هزینه کارگری به ازای هر رأس گوسفند در ماه، برای تمامی گروه‌های حیوانی موجود در گله یکسان در نظر گرفته شد. متوسط دستمزد هر کارگر با احتساب هزینه‌های خوراک و پوشاک، ۷۰۰۰۰۰ ریال در ماه می‌باشد. با توجه به اینکه برای هر ۱۰۰ رأس گوسفند یک کارگر مورد نیاز است.

$$C_{Lib(i)} = \sum_{i=1}^6 \left[\frac{\left(\frac{P_{Lb} \times G_i}{100} \right) \times N_i}{N_{ewe}} \right] \quad (9)$$

که در معادله، P_{Lb} هزینه ماهیانه هر نفر چوپان داریم برای ۱۰۰ رأس دام در گله (ریال) و G_i : مدت حضور دام در گروه (ماه) و N_{ewe} تعداد میش‌های گله می‌باشد.

هزینه کنترل بهداشتی: شامل هزینه‌های دارو و درمان، واکسیناسیون و سرویس دامپزشکی برای میش‌ها

$$C_{H(i)} = \sum_{i=1}^6 \left\{ \left(\frac{N_i}{N_{ewe}} \right) \times \left[\left(\frac{N_{DOSE}}{12} \times \frac{day_i}{30.42} \times DOSE_i \times P_{DOSE} \right) + (Veterinary_i \times R_{Vet}) \right] \right\} \quad (10)$$

N_{DOSE} : تعداد دوز، $DOSE_i$: مقدار دوز مصرفی، P_{DOSE} : قیمت هر دوز، $Veterinary_i$: تعداد سرویس دامپزشکی، R_{Vet} :

MY مقدار شیر دوره شیردهی (کیلوگرم)، P_{milk} قیمت هر کیلوگرم شیر، $N_{ewemilk}$: تعداد میش‌های شیرده، N_{ewe} : تعداد میش‌های داشتی.

درآمد حاصل از فروش گوشت: شامل فروش بره‌های یکساله، میش‌ها و قوچ‌های حذفی می‌باشد.

$$R_{meat(i)} = \sum_{i=1}^3 \left[\frac{N_i}{N_{ewe}} \times \left\{ \left(LW_i \times \frac{CM}{100} \times P_{meat} \right) + P_{Kh} \right\} \right] \quad (3)$$

$$R_{wool(i)} = \sum_{i=1}^5 \left[\frac{N_i \times w_{wool(i)} \times P_{wool} \times L_{wool}}{N_{ewe}} \right] \quad (4)$$

$R_{meat(i)}$: درآمد گوشت هر گروه حیوانی (ریال)، N_i : تعداد حیوان در گروه (رأس)، N_{ewe} : تعداد میش در گله، LW_i : میانگین وزن زنده حیوان در گروه (کیلوگرم)، CM : درصد لاشه، P_{meat} : قیمت گوشت، P_{Kh} : قیمت پوست.

درآمد حاصل از فروش پشم: این درآمد به تعداد دام در گروه و مقدار پشم تولیدی بستگی دارد.

R_{wool} : درآمد حاصل از فروش پشم (ریال)، w_{wool} : متوسط وزن پشم هر گروه (کیلوگرم)، P_{wool} : قیمت هر کیلوگرم پشم (ریال)، L_{wool} : دفعات پشم چینی

درآمد حاصل از فروش کود: مقدار کود تولیدی با مقدار غذای مصرفی و قابلیت هضم در ارتباط است. لذا در محاسبات یک ارتباط خطی بین میزان غذای مصرفی و مقدار کود تولیدی در نظر گرفته شد. به گونه‌ای که در طول مدتی که گوسفند در جایگاه نگهداری می‌شود و امکان جمع‌آوری کود وجود دارد، مقدار کود تولیدی معادل نصف کل خوراک مصرفی در طول این دوره است (۱۶).

روزهای حضور دام در d_i : علوفه مصرفی هر گروه دامی، I_i : گروه، $digst$: درصد هضم پذیری علوفه مصرفی، P_{matur} : قیمت هر کیلو گرم کود.

محاسبه مقدار خوراک مصرفی دام: هزینه غذایی علوفه مصرفی برای هر گروه دامی براساس میانگین مواد خشک مصرفی آن گروه با استفاده از فرمول (SCA, 1990) محاسبه گردید.

$$I = 0.04 \times A \times Z(1.7 - Z) \quad (6)$$

I = میانگین ماده خشک مصرفی روزانه، A = وزن حیوان، Z = نسبت بین وزن گروه دامی به وزن دام بالغ (میش بالغ)

محاسبه مقدار علوفه مصرفی مورد نیاز برای بره پیش از شیرگیری

$$I_{Lb4} = 0.04 \times \left(\frac{bw + ww4}{2} \right) \times \left(\frac{bw + ww4}{ww_{Adultewe}} \right) \times \left(1.7 - \frac{bw + ww4}{2} \right) \quad (7)$$

I_{Lb4} : مقدار علوفه مصرفی مورد نیاز برای بره، bw : وزن تولد (کیلوگرم)، $ww4$: وزن از شیرگیری (چهار ماهگی)، $ww_{Adultewe}$: وزن میش بالغ (کیلوگرم).

قیمت هربار سرویس (۱۳).

هزینه‌های بازاریابی: هزینه بازاریابی شامل انتقال به بازار فروش دام و هزینه پرداختی به متصدیان میادین فروش دام، برای تمامی گروه‌ها یکسان در نظر گرفته شد که برابر با ۳۰۰۰ ریال به ازای هر رأس حیوان می‌باشد. در معادلات زیر C_T ، C_M و C_S به ترتیب هزینه حمل و نقل دام زنده (رأس/ریال) هزینه حراج دام زنده (رأس/ریال) و هزینه کشتار می‌باشند.

$$S_i = \sum_{i=1}^3 \left[\frac{N_i}{N_{\text{ewe}}} \times (C_T + C_M + C_S) \right] \quad (11)$$

هزینه حمل و نقل: در پرورش میش در سامانه عشایری، گاهی اوقات و خصوصاً در زمان کوچ، ممکن است دامدار مجبور باشد حیوانات خود را با وسیله نقلیه جابجا کند و بنابراین به ازای هر رأس، هزینه‌ای را جهت حمل و نقل پرداخت می‌نماید که در این مورد متوسط هزینه‌های حمل و نقل هر رأس در طول سال محاسبه شده است. کل هزینه‌های حمل و نقل گوسفندان در طول یک سال تقسیم بر تعداد آن‌ها، هزینه حمل و نقل به ازای هر رأس را حاصل می‌نماید. چون بره‌ها در گله از جنه کوچک‌تری برخوردارند، در برآورد هزینه های پرورشی برای گروه‌های مختلف سنی بره‌ها و دام‌های یکساله به ترتیب به نسبت یک چهارم و یک دوم از هزینه‌هایی که به دام‌های بالغ تعلق می‌گیرد را به خود اختصاص می‌دهند.

$$T_i = \sum_{i=1}^6 \left[\left(\frac{C_T}{\frac{N_{\text{ewe}}}{4} + \frac{N_{\text{ewe}}}{2} + N_{\text{ewe}} + N_{\text{ewe}} + N_{\text{ewe}} + N_{\text{ewe}}} \right) \times N_i \right] \quad (12)$$

هزینه‌های پشم چینی:

$$C_{W(i)} = \sum_{i=1}^6 \left(\frac{P_{\text{CWOOL}} \times N_i}{N_{\text{ewe}}} \right) \quad (13)$$

$C_{W(i)}$: هزینه پشم چینی هر گروه دامی، P_{CWOOL} : قیمت

هزینه پشم چینی هر رأس دام

محاسبه هزینه‌های ثابت: هزینه‌های ثابت شامل استهلاک، بهره سرمایه و تعمیرات ساختمان‌ها و تأسیسات می‌باشد. هزینه استهلاک و کاهش ارزش ساختمان‌ها و تأسیسات ۲ درصد در سال و عمر مفید ساختمانها ۵۰ سال در نظر گرفته شد (البته در سامانه عشایری از ساختمان و تجهیزات خیلی مناسب برای نگهداری گوسفندان استفاده نمی‌شود). هزینه ثابت به ازای هر رأس برابر ۷۰۰۰ ریال در نظر گرفته شده است.

$$C_{FX(i)} = \sum_{i=1}^6 \left[\frac{FF \times G_i \times N_i}{N_{\text{ewe}}} \right] \quad (14)$$

C_{FX} : هزینه‌های ثابت هر گروه، FF : هزینه‌های ثابت به ازای هر رأس دام در ماه، G_i : ماه‌های حضور دام در گروه

محاسبه ضرایب اقتصادی صفات: در این بررسی به کمک زبان

برنامه نویسی MATLAB برنامه‌ای برای شبیه سازی سامانه زیست اقتصادی گله طراحی و سپس درآمدها و هزینه‌ها در سیستم برآورد گردید. سود سالیانه گله (P) برای تمام گروه‌های سنی محاسبه شده و میانگین وزنی آن‌ها باتوجه به ترکیب گله تعیین گردید. در این تحقیق برای محاسبه ضرایب اقتصادی صفات در حالی که سایر صفات در حد میانگین جامعه قرار داشتند، میانگین صفت مورد نظر به اندازه یک واحد افزایش داده شد و تفاوت سود حاصل با حالت پایه به عنوان ضریب اقتصادی صفت مورد نظر منظور شد.

ضریب اقتصادی هر صفت با استفاده از معادله زیر برآورد شد (۱۳).

$$V_i = \frac{P_{\mu i + \Delta} - P_{\mu}}{\Delta} \quad (15)$$

در این معادله V_i ضریب اقتصادی، $P_{\mu i + \Delta}$ میانگین سود هر حیوان بعد از یک واحد افزایش در صفت Δ ، P_{μ} متوسط سود هر حیوان قبل از تغییر میانگین و Δ میزان افزایش میانگین صفت i می‌باشد. برای مقایسه ضرایب اقتصادی صفات مختلف، ضریب اقتصادی نسبی محاسبه گردید. برای این منظور ضریب اقتصادی صفت وزن پشم تولیدی به عنوان معیار انتخاب شد و ضرایب نسبی از طریق تقسیم ضرایب اقتصادی مطلق هر یک از صفات بر مقدار ضریب اقتصادی مطلق صفت وزن پشم محاسبه شدند. همچنین به منظور بررسی اثرات عوامل متغیر اقتصادی و زیستی بر ارزش اقتصادی، آنالیز حساسیت انجام گرفت.

ترکیب و چرخش گله: با توجه به شکل ۱، تحت شرایط مدیریتی بهینه می‌توان انتظار داشت، که در این سیستم پرورشی از N رأس میش داشتی $1/31N$ رأس بره متولد شده و $1/26N$ رأس بره در چهار ماهگی از شیر گرفته می‌شود. تعداد $1/22N$ رأس بره یک ساله با نسبت جنسیتی ۵۰ به ۵۰ حاصل شود. از این بره‌ها به تعداد $0/21N$ رأس ماده جایگزین و $0/1N$ رأس نر جایگزین انتخاب می‌شوند، $0/4N$ راس بره ماده اضافی، $0/6N$ راس بره نر اضافی در نهایت $1N$ رأس بره‌های نر و ماده اضافی جهت فروش حاصل می‌شود. و با توجه به این که تعداد میش‌های حذفی $0/18N$ رأس و قوچ‌های حذفی $0/1N$ رأس بوده کل دام قابل فروش $1/19N$ رأس می‌باشد.

نتایج و بحث

در جدول ۲ هزینه‌ها، درآمدها و سود حاصل از حیوانات به ازای یک رأس میش در سال به ریال آورده شده است. آنالیز اقتصادی سیستم نشان داد که هزینه‌ها، درآمدها و سود حاصل به ازای هر رأس میش در سال به ترتیب $9437617/88$ ، $10637654/49$ و $120036/61$ ریال می‌باشد. جدول ۲ نسبت حیوانات هر گروه به میش‌ها را نشان می‌دهد. همان طوری که مشاهده می‌شود به ازای

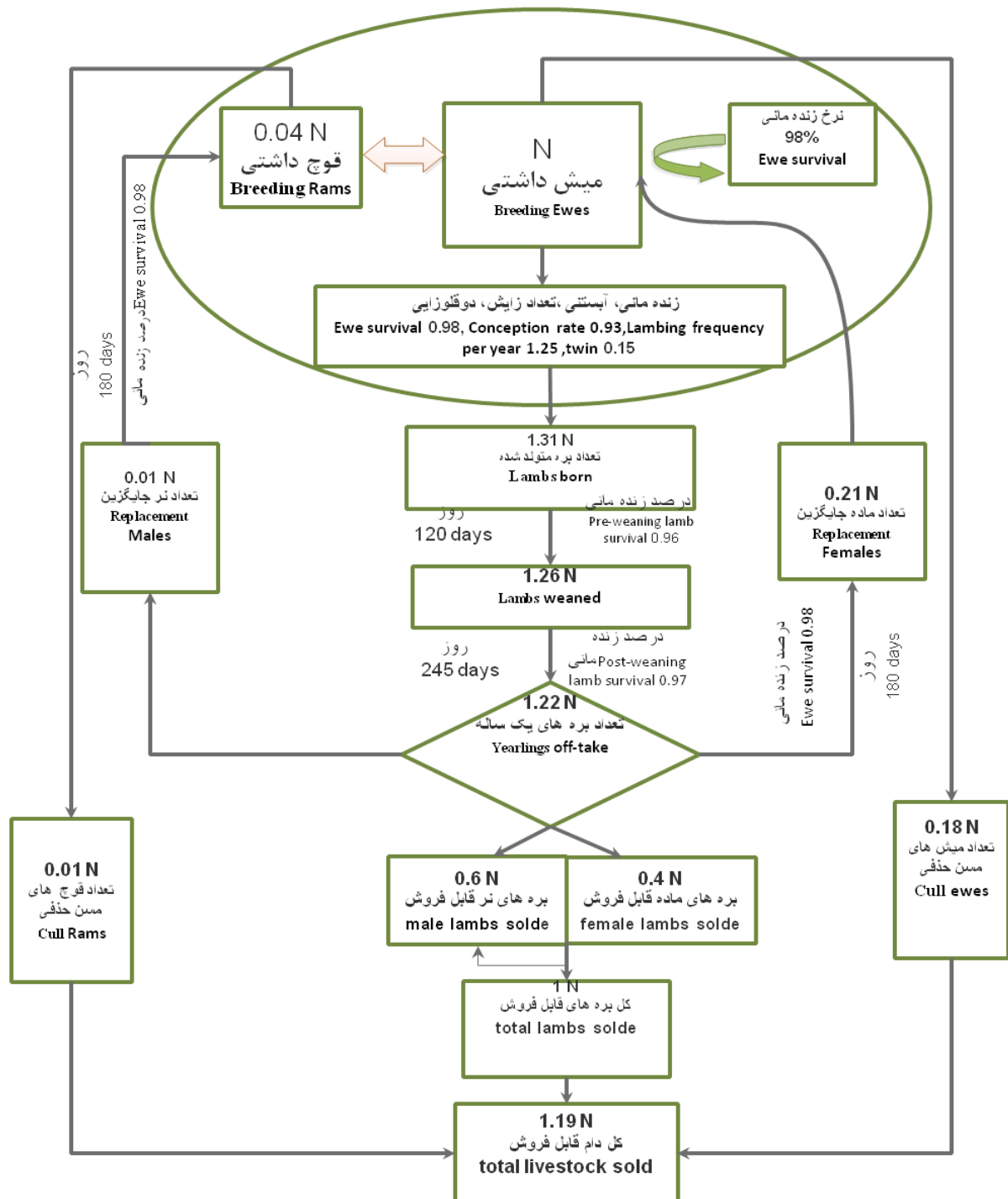
سهم هزینه مربوط به تغذیه می‌باشد. همچنین هزینه‌های متغیر ۹۷/۸۷ درصد از کل هزینه‌ها را به ازای هر رأس میش به خود اختصاص می‌دهد، در حالی که هزینه‌های ثابت با رقم ۲/۱۳ درصد بسیار پایین است، این نسبت‌ها با مقادیر گزارش شده برای گوسفندان نژاد لری بختیاری در سیستم عشایری و گوسفندان افشاری در سیستم روستایی مطابقت دارد (۱، ۹ و ۲۰).

هر رأس میش مولد یک رأس بره ۱۲ ماهه، ۰/۱۸ رأس میش حذفی و ۰/۰۱ رأس قوچ حذفی قابل فروش تولید می‌گردد. درآمد حاصل از فروش وزن زنده دام‌ها، شیر، کود و پشم به ترتیب ۸۶/۳۹، ۹/۶۴، ۲/۸۳ و ۱/۱۵ درصد کل درآمد و هزینه حاصل از تغذیه و مدیریت گله به ترتیب ۷۳/۶۵ و ۲۶/۳۵ درصد از کل هزینه‌ها می‌باشد. به این ترتیب بیشترین سهم درآمد، حاصل از فروش وزن زنده و بیشترین

جدول ۱- علایم و میانگین پارامترهای تولیدی، تولید مثل و اقتصادی مورد استفاده در مدل

Table 1 - Signs and Mean of Production, Reproductive and Economic Parameters used in the Model

پارامترها Variables	علامت Abbreviation	مقدار و واحد Value & unite	پارامترها Variables	علامت Abbreviation	مقدار و واحد Value & unite
زنده مانی میش Ewe survival	DSR	98 %	قیمت هر کیلو گرم علوفه خشک Roughage Price	P_I	5000(RLS/Kg)
میزان آبستنی Conception rate	CR	93 %	قیمت هر کیلو گرم کنسانتره Concentrate Price	P_{Concen}	9000(RLS/Kg)
دفعات زایش در سال Lambing frequency per year	LF	1.25 %	قیمت هر کیلو گرم مواد معدنی Mineral Price	$P_{Mineral}$	2000(RLS/Kg)
تعداد بره در هر زایش Litter size	LS	1.15 %	قیمت هر کیلو گرم لاشه Carcass Price	P_{meat}	220000(RLS/Kg)
زنده مانی بره تا شیرگیری Pre-weaning lamb survival	LSR4	96%	قیمت هر کیلو گرم شیر Milk Price	P_{milk}	15000(RLS/Kg)
زنده مانی بره بعد از شیرگیری Post-weaning lamb survival	LSR12	97%	قیمت هر کیلو گرم پشم Wool Price	P_{wool}	25000(RLS/Kg)
وزن شیرگیری بره Weaning weight	WW4	27.14Kg	هزینه پشم چینی هر حیوان Shearing	$C_{w(i)}$	15000(Rls /head/year)
وزن بره در هنگام فروش Body weight at 12 month	WW12	57.7Kg	قیمت پوست Price of a piece of skin	P_{Kh}	50000(Rls /head)
وزن شیر Milk yield of ewe	MY	75 Kg	هزینه بازاریابی هر حیوان Marketing costs	S_i	30000(Rls /head)
وزن پشم Wool weight	Wwool Ewe	2.5 Kg	هزینه کارگر یا چوپان ماهیانه Labour costs	P_{Lb}	7000000(RLS/Mon)
وزن جایگزین ماده Replacement female weight	WW18	60 Kg	هزینه ثابت Fixed cost	$C_{FX(i)}$	200505.85 Rls
وزن میش بالغ Mature weight of ewe	WWAdut ewe	60 Kg	افزایش وزن روزانه بعد از شیرگیری Average daily gain yearlings (g per day)	DGWE	125 g
وزن تولد بره Birth weight	BW	4.1 Kg	قیمت هر کیلو گرم کود Manure Price	P_{matur}	1000(RLS/Kg)
افزایش وزن روزانه قبل از شیرگیری Average daily gain lambs (g per day)	DGBW	192 g	هزینه های درمانی و سرویس های دامپزشکی Druge and veterinary service costs	C_H	54300(RLS)



شکل ۱- ترکیب و چرخش گله در سیستم پرورش عشایری گوسفند مغانی

Figure 1- Combination and Rotation of the herd in the nomadic breeding system of the Moghani sheep

، ۱۱/۳ و ۱/۱۸ درصد از کل درآمد گزارش نموده است که این تفاوت اندک ناشی از در نظر گرفته نشدن فروش کود بوده است. وطن خواه و همکاران (۲۰) سهم درآمد حاصل از فروش بره‌های مازاد، میش‌ها و قوچ‌های حذفی را در سامانه روستایی، ۹۵ درصد از

موسی زاده و همکاران (۱۵) نیز سهم فروش گوشت، شیر، پشم و کود را از درآمد کل پرورش گوسفند افشاری در سامانه روستایی برابر با ۸۳، ۱۱، ۴ و ۲ درصد گزارش کرده اند. عباسی (۱) نیز سهم فروش گوشت، شیر و پشم را بترتیب ۸۷/۴۵

فروش می‌باشد. در مورد صفات مرتبط با وزن در زمان کشتار، باید این نکته را در نظر داشت که در یک زنجیره تولید، کیفیت گوشت تولیدی در بازار مصرف در آینده بسیار با اهمیت خواهد بود. این صفت یک صفت ترکیبی می‌باشد که با معیارهای انتخابی متفاوتی از جمله، وزن لاشه، ساختار بدنی، عضلانی بودن و مقدار چربی موجود در لاشه در ارتباط می‌باشد لوبو و همکاران (۱۳) گزارش کرده اند که صفت بازده لاشه از صفات مهم در هدف انتخاب است.

ضریب اقتصادی زنده‌مانی میش: میانگین ضریب اقتصادی مطلق این صفت ۷۶۸۹۸/۰۵ ریال و ضریب اقتصادی نسبی آن ۳/۰۸ برآورد شد. در این بررسی ضریب اقتصادی زنده‌مانی میش در مقایسه سایر صفات بالاتر (رتبه سوم) برآورد شده است زیرا افزایش یک واحد در میزان زنده‌مانی میش منجر به افزایش تعداد بره‌های قابل فروش، شیر تولیدی و همچنین وزن میش حذفی قابل فروش می‌شود. مرگ هر رأس میش، درآمد حاصل از فروش بره‌های مازاد را کاهش می‌دهد و هزینه پرورش بیش از یک رأس جایگزین را به دنبال خواهد داشت. بنابراین، زنده مانی میش‌ها در مقدار درآمد به شدت تأثیر گذار است و به همین علت ضریب اقتصادی آن بیشتر از ضریب اقتصادی سایر صفات برآورد شده است. مرگ یک حیوان جایگزین به معنی هدر رفتن هزینه‌های انجام شده، کاستن از تعداد بره‌های قابل فروش و صرف هزینه مجدد برای تولید یک حیوان جایگزین است.

وزن شیر گیری: میانگین ضریب اقتصادی مطلق صفت وزن شیر گیری ۷۱۳۱۷/۵۱ ریال و ضریب اقتصادی نسبی ۲/۸۵ آن برآورد گردید. که در رتبه چهارم این تحقیق قرار دارد، وزن بره‌های از شیر گرفته شده به ازای هر میش تحت تأثیر باروری میش، تعداد بره در زمان تولد، میزان بقا و عملکرد بره‌ها از تولد تا از شیرگیری می‌باشد؛ بنابراین این صفت مهم ترین فاکتور در تعیین تولید میش و راندمان اقتصادی بره است در بررسی اهداف اصلاحی گوسفند در کانادا ضریب اقتصادی نسبی این صفت ۰/۳۷ گزارش شده است که صفات میانگین رشد روزانه پس از شیرگیری و وزن شیرگیری دارای اهمیت متوسط هستند که تا حدودی با تحقیق حاضر مطابقت دارد (۶).

ضریب اقتصادی نسبی وزن تولد ۲/۴۴ برآورد شد که ضریب بزرگ و مثبتی است و نشان دهنده تأثیر زیاد آن بر روی سود در سیستم مورد بررسی می‌باشد و نشان می‌دهد که افزایش در انحراف استاندارد فنوتیپی صفت وزن زنده هنگام تولد موجب افزایش سود در سیستم پرورشی می‌شود که ناشی از کاهش هزینه‌ها و افزایش درآمدهای حاصل از وزن تولد است. وزن تولد بر وزن پایانی هنگام فروش تأثیر دارد به همین علت نیز در تابع سود دهی نمایان می‌شود. این مشاهده با نتایج حد دوست و همکاران (۸) که مقدار ضریب نسبی این صفت را ۰/۰۰۱- گزارش کردند که ضریبی پایینی بود مطابقت نداشت. تولون و همکاران (۱۹) و ولفوا و همکاران (۲۱) نیز این ارزش

کل درآمدها ذکر نموده‌اند. مطابق با نتایج این تحقیق طالبی و همکاران (۱۸) در تعیین ضرایب اقتصادی صفات تولیدی و تولیدمثلی گوسفند لری بختیاری گزارش نمودند که درآمد حاصل از فروش بره های مازاد، میش‌ها و قوچ‌های حذفی ۹۴/۵۱ درصد، پشم ۲/۶۳ درصد و کود ۲/۸۶ درصد از درآمدها را به خود اختصاص دادند. برای محاسبه ضرایب اقتصادی هر صفت، میانگین صفت مورد نظر یک واحد افزایش داده شد و اختلاف سود حاصل با حالت پایه به عنوان ضریب اقتصادی صفت در گرایش حداکثر سود در نظر گرفته شد، ضرایب اقتصادی مطلق و نسبی صفات مورد مطالعه در جدول ۳، ارائه شده است. ضریب اقتصادی نسبی یک صفت تعیین کننده اهمیت آن صفت در انتخاب می‌باشد و ضریب اقتصادی بالاتر برای یک صفت نسبت به صفات دیگر به معنی این است که عموماً حیوانات با ارزش اصلاحی پیش بینی شده بالاتر برای آن صفت انتخاب خواهند شد. با افزایش میانگین هر صفت معادل یک واحد، رتبه بندی صفات برحسب ارزش اقتصادی نسبی به ترتیب شامل بازده لاشه ۷/۳۰، وزن دوازده ماهگی ۴/۲۷، زنده مانی میش ۳/۰۸، وزن شیرگیری بره ۲/۸۵، وزن تولد ۲/۴۴، میزان آبستنی ۲/۳۵، زنده مانی بره بعد از شیرگیری ۲/۰۷، زنده مانی بره تا شیرگیری ۱/۸۵، تعداد بره در هر زایش ۱/۵۴، دفعات زایش در سال ۱/۴۲، افزایش وزن روزانه بعد از شیرگیری ۱/۰۵، وزن پشم ۱، وزن شیر ۰/۵۵، افزایش وزن روزانه قبل از شیرگیری ۰/۳۴، وزن جایگزین ماده ۰/۰۶- و وزن میش بالغ ۱/۸۱- گزارش گردید.

ضرایب اقتصادی برای همه صفات بجز وزن بالغ میش و وزن جایگزین ماده، مثبت برآورد شدند. ضرایب مثبت نشان می‌دهند که با افزایش صفات، میزان درآمد بیشتر از هزینه مربوطه بوده و سودآوری افزایش خواهد یافت در حالی که ضرایب منفی برای وزن‌های میش بالغ و جایگزین ماده، نشان دهنده کاهش سودآوری در اثر افزایش این دو صفت می‌باشد. زیرا که درآمد حاصل کمتر از هزینه تحمیل شده در اثر افزایش این دو صفت خواهد بود. نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که ضرایب اقتصادی صفات مختلف برآورد شده در این مطالعه از حیث علامت و تا حد زیادی رتبه یا اهمیت نسبی، در توافق با سایر گزارشات بر روی نژادهای دیگر است ولی از نظر مقدار به دلیل تنوع در نژاد، شرایط مدیریتی، پرورشی و اقتصادی با مقادیر گزارش شده در سایر منابع همخوانی ندارند. بازده لاشه با ضریب اقتصادی نسبی ۷/۳۰ و وزن دوازده ماهگی (وزن هنگام فروش)، با ضریب اقتصادی نسبی ۴/۲۷ بالاترین ضرایب را در بین دیگر صفات مورد بررسی در روش پرورش عشایری به خود اختصاص دادند. دلیل صدرنشینی این صفات را می‌توان ناشی از سهم ۸۶/۳۹ درصدی گوشت در منابع درآمد و قرارگیری زمان فروش بره و همچنین دوره پرورار گله‌ها در پرورش عشایری دانست. در این سیستم، فروش بره‌ها در سن دوازده ماهگی انجام می‌گیرد و درآمد اصلی دامدار حاصل این

را به ترتیب ۴/۴ و ۱/۴۱ گزارش کرده اند که هر دو ضریبی بالاست و با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

میزان آبستنی: میانگین ضریب اقتصادی مطلق و نسبی این صفت در روش پرورش عشایری به ترتیب ۵۸۶۸۹/۱۲ ریال و ۲/۳۵ برآورد گردید. در تحقیق حاضر، صفت باروری به عنوان مهمترین صفت از نظر رتبه تعیین گردید. ضرایب اقتصادی صفات تولید مثل در ارتباط با هزینه های تغذیه می باشد. ضریب اقتصادی صفت میزان آبستنی در گوسفندان شیری در یک تحقیق به عنوان مهمترین صفت گزارش شد (۱۲). باید در نظر داشت تاثیر صفاتی مانند میزان آبستنی، تعداد بچه در هر زایش، تعداد زایش در هر سال و به طور کلی صفات تولید مثل در سود دهی یک واحد پرورشی به صورت غیر مستقیم و از طریق تعداد بچه قابل فروش دارای نقش می باشند. در حالی که افزایش یک واحد در میزان آبستنی منجر به افزایش تعداد بچه های قابل فروش و شیر تولیدی می گردد.

ماندگاری تا دوازده ماهگی: اگر در واحد پرورشی، درصد تلفات زیاد باشد ماندگاری تا دوازده ماهگی به دلیل کاهش حیوانات قابل فروش تاثیر منفی بر سود خواهد داشت. همچنین افزایش ماندگاری حیوانات قبل از دوازده ماهگی، تعداد حیوانات موجود برای تولید مثل را افزایش می دهد. معمولاً درصد تلفات با افزایش سن کاهش می یابد، بنابراین، ماندگاری تا سن دوازده ماهگی می تواند یک صفت مهم در تعیین سودآوری گوسفندان تحت پرورش باشد. ضریب اقتصادی مطلق و نسبی این صفت به ترتیب برابر با ۵۱۸۰۲/۱۳ ریال و ۲/۰۷ بود که از نظر رتبه بندی صفات، پنجمین صفت مهم در تحقیق حاضر بود. مورایس و مادالنا (۱۴) در مطالعه ای ماندگاری بچه ها را جزء مهمترین صفات گزارش کردند در حالیکه این صفت در کنیا جزو صفات با اهمیت گزارش نگردید (۱۱). صفت ماندگاری تابعی از میزان زنده مانی و عوامل دیگر است که به دلیل مناسب بودن شرایط نگهداری و مدیریت بهتر در روش های صنعتی، بهبود این صفت در روش های غیرصنعتی تاثیر بیشتری بر سود دارد. در روش های پرورش گوسفند شیری در ایتالیا، زنده مانی بچه ها پس از صفات باروری و زنده مانی میش ها جزو صفات با اهمیت متوسط معرفی شد که تا حدودی با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (۱۹).

تعداد بچه در هر زایش: میانگین ضریب اقتصادی مطلق این صفت ۳۸۵۴۵/۶۶ ریال و مقدار ضریب اقتصادی نسبی آن ۱/۵۴ برآورد گردید. به طور کلی صفات مرتبط با تولید مثل دارای بیشترین ضریب اقتصادی می باشند. چون بهبود این صفات به دلیل افزایش تعداد بچه قابل فروش به عنوان اصلی ترین منبع درآمد در یک روش پرورش اهمیت دارند (۱۴). برای صفت تعداد بچه در هر زایش بیشترین مقدار ضریب اقتصادی برای گوسفند نژاد عربی در روش روستایی گزارش شده است که با نتایج حاصله مطابقت دارد (۸). عبداللهی و همکاران (۲) با مطالعه گوسفندان مغانی ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد جعفرآباد،

ضرایب اقتصادی نسبی صفات تعداد بچه در هر زایش، نرخ زنده مانی بچه ها تا شیرگیری، نسبت لاشه به وزن زنده، وزن زنده بچه در سن شیرگیری، وزن دام در سن ۱۲ ماهگی، زنده مانی میش ها، نرخ آبستنی و وزن پشم در میش ها را به ترتیب ۷۹/۳۶، ۱/۰۴، ۲/۴۳، ۱/۵۲، ۱/۶۸، ۱/۵۴، ۰/۹۲ و ۱ گزارش کردند. همانند تحقیق حاضر بیشترین ضرایب اقتصادی مربوط به صفات تولیدمثلی است به خصوص صفت تعداد بچه در هر زایش که در اغلب تحقیقات صورت گرفته بالاترین ضریب مربوط به این صفت می باشد. عباسی و همکاران (۱) در بررسی گوسفندان افشاری، ضرایب اقتصادی نسبی صفات در گرایش حداکثر سود را به صورت ۲/۷۴ برای زنده مانی میش، ۲/۸۹ برای میزان آبستنی، ۲/۶۶ برای دفعات زایش در سال، ۲/۰۸ برای تعداد بچه متولد شده در هر زایش میش، ۲/۴۷ برای زنده مانی بچه تا شیرگیری، ۲/۱۸ برای وزن شیرگیری بچه، ۱/۱۱ برای شیر تولیدی، ۱ برای پشم تولیدی، ۱/۶۸ برای وزن میش و ۲/۲۳- برای وزن جایگزین برآورد کردند. نتایج این محققین و اهداف اصلاحی تعریف شده به ترتیب اهمیت تقریباً مشابه با نتایج حاصل از تحقیق حاضر می باشد، در حالی که ممکن است در برخی موارد میزان ضرایب نسبی ارائه شده متفاوت باشد که علت را می توان متفاوت بودن سیستم پرورش، پارامترهای تولیدی، تولیدمثلی، مدیریتی گله های مورد بررسی و همچنین معادله سود تشکیل شده دانست. سود سامانه پرورش گوسفند عشایری به ازای هر رأس میش مولد برابر با ۱۲۰۰۳۶/۶۱ ریال برآورد گردید که این سود با توجه به نهاده های موجود ناچیز بوده و پرورش میش از نظر اقتصادی به صرفه نخواهد بود. اما با توجه به اینکه در این سامانه ۲۱/۲ درصد از کل هزینه ها مربوط به هزینه های کارگری می باشد، در صورتی که خود دامدار و افراد خانواده او عهده دار پرورش گوسفندان خود باشند هزینه پرداختی بابت کارگر به دامدار تعلق گرفته و بنابراین سود حاصل از پرورش هر رأس میش در سامانه عشایری در سال خیلی بیشتر از مقدار برآورد شده خواهد شد.

به منظور بررسی اثرات عوامل متغیر اقتصادی و زیستی بر ارزش اقتصادی، آنالیز حساسیت انجام گرفت. معمولاً حساسیت ارزش های اقتصادی صفات با تغییر $\pm 20\%$ در قیمت نهاده ها و ستانده ها مورد محاسبه قرار گرفته و نتایج آن گزارش می گردد که یک حالت پیش بینی شرایط اقتصادی آینده در دو جهت می باشد. آزمون حساسیت نشان می دهد که تغییر در کدام عامل بیشترین تاثیر را بر روی ارزش های اقتصادی صفات در شرایط اقتصادی آینده خواهد داشت. اثر نوسان عوامل تولید بر روی ارزش اقتصادی صفات یکسان نیست برخی از صفات از ثبات بیشتری برخوردارند.

جدول ۲- تحلیل هزینه- فایده (ریال) به تفکیک هر گروه از حیوانات به ازای هر رأس میش مولد مغانی
Table 2- Cost-benefit analysis (Rials) per each group of animals per head of ewes Moghani sheep

	دسته حیوانات Animal category										درصد کل Percentage of total
	نر متولد Lambs born	نر شیرگیری شده Lambs weaned	نر یکساله Yearlings off-take	ماده جایگزین Replacement Males	نر جایگزین Replacement Females	میش Breeding Ewes	میش حذفی Cull ewes	قوچ Breeding Rams	قوچ حذفی Cull Rams	کل Total	
نسبت به میش Proportion of animals to ewes	1.31	1.26	1.22	0.21	0.01	1	0.18	0.04	0.01	-	-
هزینه ها (ریال) costs											
تغذیه Feeding	-	181429.45	2076452.94	347774.83	19645.37	4139100.00	-	186742.92	-	6951145.52	73.65
کارگری Labour	-	352164.96	683200.02	86493.51	4800.00	840000.00	-	33600.00	-	2000258.49	21.2
پهلایشی و درمانی Medical	-	20650.99	47541.29	11446.13	635.21	68922.12	-	2756.88	-	151952.62	1.6
حمل و نقل Transport of live animal	-	20176.30	16775.15	2831.66	157.14	13750.12	-	550.00	-	54240.37	0.58
پشم چینی Wool Cost	-	-	18300.00	3089.05	171.43	15000.00	-	600.00	-	37160.48	0.39
ثابت Fixed costs	-	35216.50	68320.00	8649.35	480.00	84000.00	-	3360.00	-	200505.85	2.13
بازاریابی Marketing	-	-	36600.00	-	-	-	5454.55	-	300.00	42354.55	0.45
جمع ستون هزینه B Total درآمدها Income	609638.2	2947189.4	460284.53	25889.15	25889.15	5160772.24	5454.55	227609.8	300.00	9437617.88	100
شیر Milk	-	-	-	-	-	1025325.00	-	-	-	1025325.00	9.64
پشم Wool	-	-	45750.00	10296.85	571.43	62500.00	-	3000.00	-	122118.28	1.15
کود Manure	-	9719.30	98013.57	16932.57	958.00	168630.00	-	6403.61	-	300657.05	2.83
وزن زنده Live weight	-	-	7813063.26	-	-	-	1289090.91	-	87400.00	9189554.17	86.39
جمع ستون درآمد A Total سود (A-B) Profit	-	9719.30	7956826.83	27229.42	1529.43	1256455	1289090.91	9403.61	87400.00	10637654.5	100
	-	-599918.9	5009637.43	-433055.11	-24359.72	-3904317.24	1283636.36	-218206.19	87100.00	1200036.60	

جدول ۳- برآورد ضرایب اقتصادی مطلق و نسبی صفات گوسفند مغانی در سیستم پرورش عشایری

Table 3- Estimation of Absolute and Relative Economic Characteristics of traits in Nomadic Breeding System of Moghani sheep.

صفت Traits	میانگین Mean	گرایش حداکثر سود economic values in maximizing profit	
		مطلق (ریال) Absolute economic value	نسبی ^۱ Relative economic value
زنده مانی میش Ewe survival	0.98	76898.05	3.08
میزان آبستنی Conception rate	0.93	58689.12	2.35
دفعات زایش در سال Lambing frequency per year	1.25	35461.98	1.42
تعداد بره در هر زایش Litter size	1.15	38545.66	1.54
زنده مانی بره تا شیرگیری Pre-weaning lamb survival	0.96	46174.6	1.85
زنده مانی بره بعد از شیرگیری Post-weaning lamb survival	0.97	51802.13	2.07
وزن شیرگیری بره Weaning weight (kg)	27.14	71317.51	2.85
وزن بره در هنگام فروش Body weight at 12 month	57.77	106816.55	4.27
وزن شیر Milk yield of ewe	75	13671	0.55
وزن پشم Wool weight	2.5	25000	1
وزن جایگزین ماده Replacement female weight	60	-1586.23	-0.06
وزن میش بالغ Adult weight of ewes (kg)	60	-45300.84	-1.81
افزایش وزن روزانه قبل از شیرگیری Average daily gain lambs (g per day)	0.192	8521.54	0.34
افزایش وزن روزانه بعد از شیرگیری Average daily gain yearlings (g per day)	0.125	26144.02	1.05
بازده لاشه Carcass yield	50	182379.26	7.30
وزن تولد Birth weight (kg)	4.1	61121.35	2.44

^۱ تقسیم ضرایب اقتصادی مطلق هریک از صفات بر مقدار ضریب اقتصادی مطلق وزن پشم

صفت تولید شیر شد همچنین ملاحظه شد زمانی که قیمت شیر ۲۰ درصد پایین می آید ارزش اقتصادی صفت تولید شیر کاهش می یابد. تغییرات در قیمت به ازای هر کیلوگرم گوشت تولیدی تاثیری بر ارزش های اقتصادی صفات تولید شیر، وزن جایگزین ماده، وزن پشم، وزن میش بالغ نداشت. آزمون حساسیت ارزش های اقتصادی صفات نشان داد که تغییرات در قیمت علوفه و کنسانتره به طور همزمان بر روی ارزش های اقتصادی تمام صفات (بجز تولید شیر و تولید پشم) مورد بررسی تأثیر دارد.

در این تحقیق اثر تغییرات هریک از عوامل تولید بر ارزش های اقتصادی صفات مورد بررسی قرار گرفت عوامل تولید بکار رفته شامل قیمت شیر، قیمت هر کیلوگرم گوشت و قیمت علوفه و کنسانتره بودند. برای هر یک از موارد فوق دو نوع تغییر بصورت ۲۰ درصد بالاتر و یا پایین تر از پارامترهای شرایط تولیدی مینا در نظر گرفته شدند (جدول ۴). ملاحظه گردید که ارزش اقتصادی صفت تولید شیر بیشترین حساسیت را نسبت به قیمت فروش شیر نشان می دهد افزایش قیمت شیر به میزان ۲۰ درصد سبب افزایش ارزش اقتصادی

جدول ۴- حساسیت ضرایب اقتصادی صفات به تغییرات نهاده ها و ستانده ها به میزان $\pm 20\%$ درصد در روش پرورش عشایری گوسفند مغانی

Table 4- Sensitivity of Economic coefficients of traits to input and output changes by $\pm 20\%$ in the nomadic breeding method of sheep Moghani

پارامترها Variables	DSR	CR	LF	Nlb	LSR4	LSR12	Ww4	Ww12	MY	Wwool ewe	Ww18	WwAdult ewe	DGBW	DGWE	CM	BW
P_{meat}																
+20%	1.21	1.29	1.37	1.37	1.37	1.31	1.30	0.81	1	1	1	1	1.30	1.23	1.19	1.33
-20%	0.87	0.82	0.77	0.77	0.77	0.81	0.82	1.91	1	1	1	1	0.81	0.86	0.88	0.80
P_{milk}																
+20%	1.03	1.04	1	1	1	1	1	1	1.2	1	1	1	1	1	1	1
-20%	0.73	1.27	1	1	1	1	1	1	0.8	1	1	1	1	1	1	1
P_l, P_{conc}																
+20%	0.98	0.93	0.91	0.91	0.91	0.93	0.88	0.96	1	1	1.22	1.22	0.88	0.95	0.99	0.84
-20%	1.01	1.07	1.08	1.08	1.08	1.06	1.12	1.04	1	1	0.77	0.77	1.12	1.04	0.99	1.15

نوزن شیر، MY: نوزن بچه در هنگام فروش، Ww12: نوزن شیرگیری بچه، Ww4: نوزن شیرگیری بچه معیار شیرگیری، LSR4: نوزن مانی بچه تا شیرگیری، LSR12: نوزن مانی بچه تا شیرگیری، Ww18: نوزن مانی بچه در هر زایمان، Nlb: تعداد بچه در سال، WwAdult ewe: افزایش زایش در سال، LF: دفعات زایش، CR: میزان آبستنی، DGBW: افزایش وزن قبل از شیرگیری، DGWE: افزایش وزن معیار شیرگیری، CM: میزان لاشه، BW: وزن تولد، Ww18: وزن پشم، WwAdult ewe: جابگیرین ماده، Ww18: جابگیرین آبستنی، CR: میزان آبستنی، LF: دفعات زایش در سال، WwAdult ewe: افزایش زایش در سال، Ww18: نوزن مانی بچه در هر زایمان، Nlb: تعداد بچه در هر زایمان، Ww4: نوزن شیرگیری بچه، Ww12: نوزن شیرگیری بچه، MY: نوزن شیر،

نتیجه گیری کلی

به طور کلی هر چقدر صفت مورد بررسی اثر بیشتری در تولید گوشت داشته باشد به دلیل تأثیر آن بر افزایش درآمد، ضریب اقتصادی بیشتری نیز به خود اختصاص می‌دهد. اهداف اصلاحی برای گوسفند مغانی بترتیب شامل بازده لاشه، وزن دوازده ماهگی، زنده مانی میش، وزن شیرگیری بره، وزن تولد، میزان آبستنی، زنده‌مانی بره بعد از شیرگیری، زنده‌مانی بره تا شیرگیری، تعداد بره در هر زایش،

دفعات زایش درسال، افزایش وزن روزانه بعد از شیرگیری، وزن بیده پشم، وزن شیر، افزایش وزن روزانه قبل از شیرگیری، وزن جایگزین ماده و وزن میش بالغ می باشد. حساسیت ضرایب اقتصادی صفات مورد بررسی نسبت به کاهش هزینه ها و افزایش قیمت محصولات کم، ولی نسبت به افزایش هزینه ها و به خصوص کاهش قیمت محصولات زیاد برآورد گردید.

منابع

- 1- Abbasi, M., M. Vatankhah, and M. Nematy. 2010. Estimation of economic values of production and reproduction traits Afshari sheep in rural farming conditions, the final report of the research project, Agriculture and Natural Resources Research Center of Zanjan, The Research Institute of Animal Science. Page 53. (In Persian).
- 2- Abdollahy, H., S. Hasani., S. Zerehdaran., A. A. Shadparver, and B. Mahmoudi. 2012. Determination of economic values for some important traits in Moghani sheep. *Small Ruminant Research*, 105(1-3):161-169.
- 3- Ahmadi-motagi, A. 2002. Estimation of economic values important production traits in Baluchi sheep. The Graduate thesis Faculty of Agriculture, Animal Sciences, University of Mazandaran. (In Persian).
- 4- Bagheri, M., H. Sayahzadeh., A. Hafezian., A. Nejati Javaromi, and M. Talebi. 2003. Determine the economic values of some important traits in Lori-Bakhtiari sheep. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources of the Caspian*, 4(1): 11-17. (In Persian).
- 5- Bagheri, M., M. Vatankhah, and M. Faraji Nafchi. 2013. Determination of breeding objectives and economic values of Lori-Bakhtiari sheep in nomadic system. *Research of Animal Science*, 23(1): 101-113.
- 6- Gallivan, C. 1996. Breeding objectives and selection index for genetic improvement of Canadian sheep. Ph.D. Thesis University of Guelph, 174 pp.
- 7- Ghavi Hossein Zadeh, N. 2015. Genetic Analysis of Average Daily Gains and Kleiber Ratios in Moghani Sheep, *Research on Animal Production* 11 (1): 108-118. (In Persian).
- 8- Haghdost, A., A. Shadparvar., M. T. B. Nasiri, and J. Fayazi. 2008. Estimates of economic values for traits of Arabic sheep in village system. *Small Ruminant Research*, 80(1-3): 91-94.
- 9- Harris, D. L. 1970. Breeding for efficiency in livestock production: Defining the economic objectives. *Journal of Animal Science*, 30(6):860-865.
- 10- Khodaei, M. 2006. Gilani sheep breeding goals by estimating economic values, the Graduate thesis Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Guilan. (In Persian).
- 11- Kosgey, I. S., J. A. M. Van Arendonk, and R. L. Baker. 2003. Economic values for traits of meat sheep in medium to high production potential areas of the tropics. *Small Ruminant Research*, 50(1-2): 187-202.
- 12- Legarra, A., M. Ramon., E. Ugarte, and M. D. Perez-Guzman. 2007. Economic values of fertility, prolificacy, milk yield and longevity in dairy sheep. *Animal*, 1(2): 193-203
- 13- Lobo, R. N. B., I. D. C. Pereira. O. Faco, and C. McManus. 2011. Economic values for production traits of Morada Nova Meat sheep in a pasture based production system in semi-arid Brazil. *Small Ruminant Research*, 96(2-3): 93-100.
- 14- Morais, O. R, and F. E. Madalena. 2006. Economic value for reproduction traits in Santa Ines sheep. *Proceeding. 8th world congress. Applied to Livestock Production*, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.
- 15- Musazadeh, L., A.A. Shadparvar, and M.P Eskandari Nasab. 2012. Estimation of economic values for production and reproduction traits of Afshari sheep in rural system. *Journal of Animal Science Researches*, 22(2): 35-44. (In Persian).
- 16- Ponzoni, R. W. 1988. The derivation of economic values combining income and expense in different ways – an example with Australian Merino Sheep. *Journal of Animal Breeding Genetics*, 105(1-6):143-153.
- 17- Smith, C., J. James, and E. W. Brascamp. 1986. On the derivation of economic weights in Livestock improvement. *Animal Science*, 43(3): 545-551.
- 18- Talebi, M., S.R. Mirae Ashtiani, M. Moradi Shahr Babak, and A. Nejati Javaromi. 2010. Economic Values of Reproduction, Growth and Carcass Composition Traits in Lori-Bakhtiari Sheep. *Iranian Journal of Animal Science*, 41(3): 203-213. (In Persian).
- 19- Tolone, M., V. Riggio, D. O. Maizon, and B. Portolano. 2011. Economic values for production and functional traits in Valle del Belice dairy sheep using profit functions. *Small Ruminant Research*, 97(1-3): 41-47.
- 20- Vatankhah, M., M. Moradi Shahr Babak, A. Nejati Javaromi, S. R. Mirae Ashtiani, and R. Vaez Torshizi. 2009. Determination of breeding objective and economic values for Lori_Bakhtiari breed of sheep in the village system. *Animal Sciences Researches in Pajouhesh & Sazandegi*, 82(1): 17-25. (In Persian).

- 21-Wolfova, M., J. Wolf, and M. Milerski. 2011. Economic weights of production and functional traits for Merinolandschaf, Romney, Romanov and Sumavska sheep in the Czech Republic. *Small Ruminant Research*, 99 (1): 25–33.



Determination of Breeding Objectives of Moghani sheep in Nomadic System

R. Seyedsharifi^{1*}- F. Nour afkan² – M. Phouladi²- J. Seifdavati¹

Received: 18-10-2016

Accepted: 31-01-2017

Introduction Improving animal performance should be sustainable and economically profitable, therefore economic selection indices have been used in most breeding programmes for livestock. For this purpose, economic weighting factors have to be estimated for all traits in the breeding objective. The best way to maximize profitability through genetic improvement is to use economic weights of the trait involved. In this study, to estimate the economic values of production and reproduction traits, Costs, revenues and profit analysis in nomadic systems, determine the breeding objective for Moghani sheep. The human population is growing fast which it seems that in spite of the recent progresses in new issues and technologies, they are not enough to fulfill feed requirements of humankind. Planning a suitable breeding system would be an important practical method in using the production potential of local sheep flocks. Therefore, it is essential to estimate economic values of production traits in a one or multivariate selection scheme to evaluate the priority in-comes and costs of a breeding system. A bio-economic model was used to describe performance, revenues and costs and to calculate the economic values, economic values are determined from these models by simulating changes in the genetic level of a trait and noting the associated changes in overall economic outcome. As a first step in developing such a programme a suitable breeding goal for the cattle population has to be defined, giving emphasis to production as well as to functional traits in order to achieve a more sustainable production. For a sustainable production, traits that have been identified as important for selection are also functional traits. The economic value of a trait is defined as the increase in profit resulting from a unit genetic improvement in that trait, while all other traits in the breeding objective are kept constant in simple terms economic values are defined as the effect on the efficiency of production of a marginal unit increase in a trait, independent of changes in other traits. Economic efficiency of the production system was calculated as the difference between total revenues and total costs per cow and year at the stationary herd structure.

Materials and Methods In this study, production, reproduction, management and economic parameters resulted from recording of 5 flocks with 500 head of breeding ewes during annual cycle of production (August 2015 to August 2016) in extensive rearing system were used to determine the breeding objective and relative economic values. Traits included; fertility, pregnancy rate, weight lambs from birth to the end of period, survival rate of lambs, wool production weight, average daily gain and milk production. A bioeconomic model was written for rearing system and flock information, economic values using maximum profit orientation was calculated by partial derivative of the profit function by the MATLAB software. To calculate economic values, change in system profit per unit change in the trait while was kept the other characters in the average, and was considered the average change in profit as an economic value. To calculate the relative economic values, the absolute economic value of each trait divided by the absolute economic value of weight of wool. First all costs, revenues, profits and flock structure determined then entered input files and run the software.

Results and Discussion Economic analysis of system indicated that, costs, revenue, and profit per ewe per year were 9437617.88, 10637654.49, and 1200036.61 Rials, respectively. The results showed that live weight, milk yield, manure and wool yield accounted for 86.36 %, 9.64 %, 2.85 and 1.15% of total revenue, respectively. Feeding and management costs (variable costs) represented 73.65% and 26.35 % of total cost, respectively. The relative economic values for Carcass yield, Lamb live weight at 12-month, ewe survival, Post-weaning lamb survival, Pre-weaning lamb survival, Lamb live weight at 4-month, birth weight, conception rates ewes, little size, Lambing frequency per year, Average daily gain yearlings, Wool weight, Milk yield of ewe, Average daily gain lambs, Replacement female weight, Adult weight of ewes were 7.30, 4.27, 3.08, 2.85, 2.44, 2.35, 2.01, 1.85, 1.54, 1.42, 1.05, 1, 0.55, 0.34, - 0.06, and (- 1.81) respectively.

Conclusion Breeding objective in Moghani sheep breed were Carcass yield, Lamb live weight at 12-month,

1- Associated Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

2- Graduate MSC Animal Science, Department of Animal Science, Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

(*Corresponding author email: reza_seyedsharifi@yahoo.com)

ewe survival, Post-weaning lamb survival, Pre-weaning lamb survival, Lamb live weight at 4-month, birth weight, conception rates ewes, little size, Lambing frequency per year, Average daily gain yearlings, wool weight, Milk yield of ewe, Average daily gain lambs, Replacement female weight and Adult weight of ewes respectively.

Key words: Economic value, Moghani Sheep, Nomadic system, Production traits, Reproduction traits.

برآورد ضرایب اقتصادی صفات مهم تولیدی در گاو بومی استان ایلام

حسین حسینی نصر^{۱*} - هدایت الله روشنفکر^۲ - جمال فیاضی^۳ - محمد تقی بیگی نصیری^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۴/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۱۹

چکیده

هدف از این پژوهش، برآورد ضرایب اقتصادی صفات تولید شیر، درصد چربی، درصد پروتئین و طول عمر در گاوهای بومی استان ایلام بود. با استفاده از مدل زیست-اقتصادی قطعی و پارامترهای تولیدی و اقتصادی گاوهای بومی، ضرایب اقتصادی صفات تولید شیر، درصد چربی، درصد پروتئین و طول عمر گله در استان ایلام در سال ۱۳۹۲ برآورد شد. ضرایب اقتصادی هر صفت با افزایش یک واحد از میانگین صفت استفاده شده برای مقدار تغییر سود سالانه، برآورد شد. به طوری که سایر صفات ثابت بودند. ضرایب اقتصادی نسبی از طریق تقسیم ضرایب اقتصادی مطلق هر یک از صفات بر مقدار ضریب اقتصادی پروتئین محاسبه شد. ضرایب اقتصادی نسبی صفات تولید شیر، درصد چربی، درصد پروتئین و طول عمر گله به ترتیب برابر ۰/۰۰۲۰۷۹، ۰/۹۹۹۷۸۲ و ۰/۰۰۳۵۱- برآورد شد. در سیستم پرورش گاو بومی منابع درآمد، شامل فروش شیر سالانه، گوساله نر، تلیسه مازاد، گاو مولد حذفی سالانه و کود سالانه می‌باشد. درآمد حاصل از فروش شیر سالانه معادل ۴۳/۵۴ درصد از کل درآمدها بود، که بیشترین سهم را در بین منابع درآمدها به خود اختصاص داد. سایر منابع درآمدها شامل گوساله نر، تلیسه مازاد، فروش گاو حذفی و کود به ترتیب برابر ۱۱/۲۳، ۳۲/۳۷ و ۱۰/۰۴ و ۲/۸۱ درصد از درآمدها را به خود اختصاص دادند. هزینه‌ها به دو بخش هزینه ثابت سالانه که شامل هزینه ساختمان‌ها، تاسیسات، تجهیزات و تعمیرات بود. و هزینه جاری سالانه که شامل هزینه‌های تغذیه‌ای، بهداشت و تولید مثل، نیروی کار، فروش دام و حمل و نقل کود از جایگاه به ازای هر راس گاو مولد بود، تقسیم شد. هزینه ثابت سالانه به ازای هر راس گاو مولد برابر ۴۵۷۲۵۵۶/۵۶ ریال بود، که ۱۴/۴۴ درصد، کل هزینه‌ها را شامل می‌شد. هزینه جاری سالانه به ازای هر راس دام مولد برابر ۲۷۰۹۴۵۱۴/۴۶ ریال بود که ۸۵/۵۶ درصد از کل هزینه‌ها را به خود اختصاص داد. در بین هزینه‌های جاری، هزینه تغذیه‌ای با ۸۴/۲۵ درصد، بیشترین سهم را به خود اختصاص داد. سایر هزینه‌های جاری شامل نیروی کار، فروش دام و حمل و نقل کود از جایگاه برابر ۹/۳۸ درصد و هزینه‌های بهداشت و تولید مثل برابر ۶/۳۶ درصد از هزینه‌های جاری را در بر گرفت. در نتیجه سود سالانه سیستم تولید برای گاو بومی ۱۸۰۱۷۱۸/۰۰۵- ریال برآورد شد. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که با توجه به مقدار مثبت ضریب اقتصادی صفت تولید شیر پایه، انتخاب در جهت افزایش میانگین این صفت سبب افزایش سوددهی سیستم تولید گاو بومی می‌شود. با توجه به اهمیت صفت فاصله گوساله‌زایی و بویژه تاثیر این صفت در شرایط محدودیت در سیستم‌ها پیشنهاد می‌شود که اصلاح نژاد در جهت کاهش آن انجام گیرد.

واژه‌های کلیدی: استان ایلام، صفات تولیدی، ضرایب اقتصادی، گاوهای بومی.

مقدمه

اصلاح نژاد، عموماً حداکثر نمودن پیشرفت در بازدهی اقتصادی سیستم تولید از طریق افزایش در میانگین صفات می‌باشد. همچنین آن را به صورت تابعی از ارزش ارثی برای صفات دارای اهمیت اقتصادی تعریف می‌کنند (۱۲). از طرفی مناسب ترین روش تعیین اهمیت نسبی صفات به دست آوردن ضرایب اقتصادی آنهاست. جهت تشکیل شاخص انتخاب برای چند صفت، لازم است ضرایب اقتصادی صفات برآورد شوند. سود حاصل از یک واحد افزایش ژنتیکی در میانگین صفت، در صورتی که سایر صفات در مقادیر میانگین خود ثابت بمانند را ضرایب یا ارزش اقتصادی آن صفت می‌نامند (۵). باتوجه به اینکه هدف اصلاح نژاد تابعی از ضرایب اقتصادی صفات

اهداف اصلاح نژاد به عنوان مرحله نخست در طراحی برنامه‌های

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ایران،

۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ایران،

۳- دانشیار، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ایران.

(* - نویسنده مسئول: Email: hosen.nasr@yahoo.com)

است و در شرایط مختلف اقتصادی نیز این ضرایب متفاوت خواهند بود و لذا اهداف اصلاح نژاد نیز تغییر خواهند کرد. میر مهدوی چابک و همکاران (۱۰) ضرایب اقتصادی تولید شیر، درصد چربی، درصد پروتئین و طول عمر گله گاوهای بومی گیلان را برآورد کردند. اطهری مرتضوی و همکاران (۱) ضرایب اقتصادی برخی از صفات گاو بومی استان گیلان را در سیستم پرورش میان بند، برآورد کردند. جمعیت گاوهای استان ایلام در سال ۱۳۹۱ حدود ۶۷۳۴۸ راس گزارش شده است که ۱۹۶۷۸ راس آن را گاوهای آمیخته، ۳۹۴۴۷ راس گاو بومی و ۸۲۲۳ راس را گاو هلستاین تشکیل می‌دهد (۲). استان ایلام از نظر تعداد راس گاو در کشور، در رتبه‌ی ۳۰ قرار دارد و همچنین ۵۶٪ درصد تولید شیر کشور را به خود اختصاص داده و در رتبه‌ی ۳۰ قرار دارد (۳). بنابراین تعیین ضرایب اقتصادی صفات تولیدی می‌تواند جهت تعیین اهداف اصلاح نژادی برآورد شود. هدف از انجام این پژوهش، برآورد ضرایب اقتصادی صفات تولید شیر، درصد چربی، درصد پروتئین و طول عمر در گاوهای بومی استان ایلام بود. اهمیت این تحقیق در طراحی شاخص‌های انتخاب چند صفتی، برای اصلاح نژاد گاوهای بومی استان ایلام و محاسبه ارزش‌های اقتصادی صفات مورد نظر است. به همین دلیل لازم است، این ضرایب محاسبه و عوامل مؤثر بر آنها نیز بررسی شوند.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق از داده‌های موجود در مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی استان ایلام که شامل، درآمدها و هزینه‌ها در سیستم تولیدی مربوط به گاو بومی می‌باشد، همچنین از داده‌های ۵۰۰ راس گاو شیری دوشا استفاده گردید. سپس برای برآورد ضرایب اقتصادی از مدل زیست-اقتصادی استفاده شد. معادلات سود براساس شرایط موجود در آینده تنظیم شد. همچنین با بکارگیری ۱۰۰ عدد پرسش نامه، مصاحبه از دامداران صورت گرفت. پارامترهای عملکردی، تولیدی و تغذیه‌ای مؤثر بر درآمدها و هزینه‌ها در سیستم تولید گاوهای بومی در جدول ۱، پارامترهای مدیریتی و اقتصادی مؤثر بر درآمدها و هزینه‌ها در سیستم تولید گاو بومی در جدول ۲ و صفات مورد بررسی، واحدها و علائم اختصاری آنها در جدول ۳ ارائه شده است.

سیستم تغذیه و فروش گاوهای بومی

برای تعیین هزینه تغذیه، ابتدا میزان مصرف خوراک (علوفه و مواد متراکم) تعیین، سپس بر اساس قیمت اقلام خوراکی، هزینه تغذیه محاسبه شد. در پرورش گاوهای بومی استان ایلام سیستم تغذیه بدین صورت است؛ که دام‌ها ۶ ماه از سال را در مرتع، ۲ ماه را در پس‌چر مزارع و ۴ ماه دیگر را در جایگاه بسته می‌گذرانند. انرژی به عنوان معیار تخمین میزان مصرف خوراک در مطالعات زیست-

اقتصادی متعددی مورد استفاده قرار گرفته است (۶، ۸، ۱۲ و ۱۵). با استفاده از معادلات برآورد احتیاجات انرژی NRC (۱۱) و با در نظر گرفتن مقدار انرژی موجود در اقلام خوراکی (جدول ۱) و قیمت آنها (جدول ۲) هزینه تغذیه برای گوساله‌های نر و ماده از قبل از شیرگیری، گوساله‌های نر از شیرگیری تا سن فروش، گوساله‌های ماده از شیرگیری تا ۱۷ ماهگی (سن فروش) و تلیسه‌های جایگزین محاسبه شد. برای گاوهای مولد، مقدار مصرف ماده خشک بر اساس احتیاجات انرژی روزانه که شامل احتیاجات انرژی نگهداری، آبستنی؛ و رشد برای زایش اول و دوم و شیردهی محاسبه شد. در دوران شیرخوارگی، گوساله‌ها روزانه تا نیمی از شیر مادر تغذیه می‌شدند. در سن ۳۰ روزگی بعد از تولد مصرف ماده خشک گوساله‌ها انجام می‌شد. مصرف ماده خشک کنسانتره تا سن از شیرگیری برابر ۴/۵ کیلوگرم بود. مصرف یونجه خشک برای گوساله‌ها در دوران شیرخوارگی بر اساس احتیاجات انرژی روزانه محاسبه شد. گوساله‌های نر بعد از شیرگیری تا سن ۸ ماهگی پرورش و بر اساس قیمت به ازای هر کیلوگرم وزن زنده به فروش می‌رسند. گوساله‌های ماده در سن ۱۵ ماهگی تلقیح می‌شوند و در سن ۱۷ ماهگی تلیسه‌های مازاد ۲ ماه آبستن با توجه به وزن بدن به فروش می‌رسند.

مدل سود زیست-اقتصادی

برای محاسبه درآمدها و هزینه‌ها از معادله سود زیست-اقتصادی استفاده شد (۱۴). درآمدها و هزینه‌ها برای گروه‌های مختلف سنی و جنسی حیوانات محاسبه شد. سود به ازای هر راس گاو مولد در سال به صورت تابعی از صفات مهم اقتصادی بیان می‌شود.

$$P = R_i - C_i \quad \text{معادله ۱:}$$

در معادله بالا P سود سالانه به ازای هر راس گاو مولد، R_i درآمد سالانه به ازای هر راس گاو مولد، C_i هزینه سالانه به ازای هر راس گاو مولد در این معادله کل سود (P) بر اساس تفاضل بین درآمد (R) و هزینه (C) برای سه گروه مختلف سنی و جنسی (گوساله‌های نر، تلیسه‌ها و گاوهای حذفی) به ازای هر راس گاو مولد در سال بیان می‌شود. درآمد سالانه به ازای هر راس گاو مولد به صورت زیر بیان می‌شود:

$$R = R_m + R_h + R_c + R_{\text{milk}} + R_{\text{mn}} \quad \text{معادله ۲:}$$

R: درآمد، R_m : درآمد فروش گوساله نر، R_h : درآمد فروش تلیسه مازاد، R_c : درآمد فروش گاو حذفی و R_{milk} : درآمد فروش شیر سالانه و R_{mn} : درآمد فروش کود می‌باشد.

هزینه سالانه به ازای هر راس گاو مولد به صورت زیر بیان می‌شود:

معادله ۳:

$$C = (C_{Fm} + C_{Fh} + C_{Fc} + C_{Hm} + C_{Hh} + C_{Hc} + C_{Lm} + C_{Lh} + C_{Lc} + C_{Rc} + C_{Rh} + C_{Mm} + C_{Mh} + C_{Mc} + C_{mn}) + FC$$

جدول ۱- پارامترهای عملکردی، تولیدی و تغذیه‌ای موثر بر درآمدها و هزینه‌ها در سیستم تولید گاوهای بومی

Table1- Performance, productive and nutritional parameters influencing revenues and costs of native in native cattle production system

پارامترها	علائم اختصار	سطح متغیر
میانگین تولید شیر یک دوره شیردهی به ازای هر راس دام مولد (کیلوگرم) verage amount of milk production in a milking period per each regenerator cow	M	950
میانگین درصد چربی (%) Average fat percentage	FP	5.2
میانگین درصد پروتئین (%) Average protein percentage	PP	3
سن در نخستین گوساله‌زایی (روز) Age of cow in the first case of calving(day)	AFC	710
فاصله گوساله‌زایی (روز) Calving interval(day)	CI	480
طول عمر تولیدی (روز) Productive lifetime(day)	PLT	2556
نرخ گوساله‌زایی (%) Calving rate percentage	Cr	68
رشد روزانه قبل از شیرگیری (گرم در روز) Daily rate of growth before weaning(gr per day)	DG	500
سن از شیرگیری (روز) Weaning age(day)	Wa	60
وزن تولد (کیلوگرم) Birth weight(kg)	BW	22
وزن دام بالغ (کیلوگرم) Adult cattle weight(kg)	LW	350
درصد انرژی نگهداری موردنیاز برای رشد در زایش اول (مگا کالری انرژی ویژه شیردهی) Percentage of required maintenance energy for growth in the first calving (megacalerie for specific milking energy)	ER _{g1}	20
درصد انرژی نگهداری موردنیاز برای رشد در زایش اول (مگا کالری انرژی ویژه شیردهی) Percentage of required maintenance energy for growth in the first calving (megacalerie for specific milking energy)	ER _{g2}	10
مقدار انرژی یک کیلوگرم ماده خشک کنسانتره (مگا کالری انرژی ویژه شیردهی) The amount of energy in 1 kg of concentrated dry feeding material	NEL _c	2.83
مقدار انرژی یک کیلوگرم ماده خشک یونجه (مگا کالری انرژی ویژه شیردهی) The amount of energy in 1 kg of dry material of alfalfa(megacalerie for specific milking energy)	NEL _h	1.33
مقدار انرژی یک کیلوگرم ماده خشک سیلاژ ذرت (مگا کالری انرژی ویژه شیردهی) The amount of energy in 1 kg of dry material of corn silage	NEL _s	1.4
مقدار انرژی یک کیلوگرم ماده خشک کاه گندم (مگا کالری انرژی ویژه شیردهی) The amount of energy in 1 kg of dry material of wheat chaff	NEL _{ws}	0.96
مقدار انرژی یک کیلوگرم ماده خشک پس‌چر غلات (مگا کالری انرژی ویژه شیردهی) The amount of energy in 1 kg of dry material of corn pasture (megacalerie for specific milking energy)	NEL _p	1.05
مقدار انرژی یک کیلوگرم ماده خشک مرتع (مگا کالری انرژی ویژه شیردهی) The amount of energy in 1 kg of dry material of pasture(megacalerie for specific milking energy)	NEL _g	1.48

جدول ۲- پارامترهای مدیریتی و اقتصادی موثر بر درآمدها و هزینه‌ها در سیستم تولید گاو بومی
 Table 2- Economical, and nutritional parameters influencing revenues and costs of native cattle production system

پارامترها	علائم اختصار	سطح متغییر
قیمت یک کیلوگرم شیر پایه با ۳/۲ درصد چربی و ۳ درصد پروتئین (ریال) The price of 1 kg base milk with 3.2%fat and 2%protein(Rial)	P _{milk}	13000
قیمت یک گرم چربی مازاد از سطح پایه (ریال) The price of one gr surplus fat from the base evel (Rial)	P _{fat}	250
قیمت یک گرم پروتئین مازاد از سطح پایه (ریال) The price of 1kg concentrated dry feeding material(Rial)	P _{pro}	250
قیمت یک کیلوگرم ماده خشک کنسانتره (ریال) The price of 1kg concentrated dry feeding material(Rial)	P _{conc}	7000
قیمت یک کیلوگرم ماده خشک یونجه (ریال) The price of 1kg dry alfalfa feeding material(Rial)	P _{hay}	7000
قیمت یک کیلوگرم ماده خشک سیلاژ ذرت (ریال) The price of 1kg dry corn silage as feeding material(Rial)	P _{sil}	1500
قیمت یک کیلوگرم ماده خشک کاه گندم (ریال) The price of 1kg dry wet chaff as feeding material(Rial)	P _{ws}	3000
قیمت یک کیلوگرم ماده خشک پس‌چر (ریال) The price of 1kg dry pasture feeding material(Rial)	P _{pas}	3000
قیمت یک کیلوگرم ماده خشک مرتع (ریال) The price of 1kg dry grassland feding material(Rial)	P _{gras}	2000
قیمت یک کیلوگرم وزن زنده گاو حذفی سالانه (ریال) The price of 1kg alive cow(weight of annual omitted cows-Rial)	P _{Lw}	60000
قیمت یک کیلوگرم وزن زنده گاو ساله نر (ریال) The price of 1kg alive bull calf(Rial)	P _{Lwm}	100000
قیمت یک کیلوگرم وزن زنده تلیسه مازاد (ریال) The price of 1kg surplus alive heifer(Rial)	P _{Lwh}	65000
هزینه بهداشت روزانه گوساله‌های نر (ریال) Daily cost of bull calves' hygiene matters(Rial)	C _{Hm}	1500
هزینه بهداشت روزانه تلیسه‌ها (ریال) Daily cost of heifers' hygiene matters(Rial)	C _{Hh}	1000
هزینه بهداشت روزانه گاوهای مولد (ریال) Daily cost of hygiene matters of regenerator cows(Rial)	C _{Hcd}	2000
هزینه نیروی کار روزانه گوساله‌های نر (ریال) Daily cost of hygiene matters of regenerator cows(Rial)	C _{Lm}	22400
هزینه نیروی کار روزانه تلیسه‌ها (ریال) Daily cost of workforce for heifers(Rial)	C _{Lh}	19250
هزینه نیروی کار روزانه گاوهای مولد (ریال) Daily cost of workforce for heifers(Rial)	C _{Lcd}	12500
میانگین تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی در تلیسه‌ها (ریال) Average number of insemination per each case of pregnancy in heifers(Rial)	N _{Alh}	1.9
میانگین تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی در گاوهای مولد (ریال) Average number of insemination per each case of pregnancy in regenerator cows(Rial)	N _{Alc}	2.5
هزینه به ازای یک بار تلقیح مصنوعی (ریال) Average number of insemination per each case of pregnancy in regenerator cows(Rial)	C _{one-Al}	200000
مقدار کود سالانه به هر راس دام مولد (کیلوگرم) Amount of annual manure per each head of regenerator cow(Rial)	MN _p	7000
درصد کود در جایگاه (درصد) Percentage of manure on the stage	MN	30
هزینه حمل و نقل به ازای یک کیلوگرم کود (ریال) Transportation cost per each kg of manure(Rial)	C _{MN}	250
هزینه ثابت سالانه به ازای هر راس دام مولد (ریال) Transportation cost per each kg of manure(Rial)	FC	4572556.56

داشتند، میانگین صفت مورد نظر یکبار به اندازه یک واحد افزایش داده شد و تفاوت سود حاصل با حالت پایه به عنوان ضریب اقتصادی صفت مورد نظر منظور شد. ضریب اقتصادی هر صفت با استفاده از معادلات ۴ و ۵ برآورد شد (۸).

معادله ۴:

$$V_I = \frac{P_{\mu I + \Delta} - P_{\mu I}}{\Delta}$$

در این معادله V_I ضریب اقتصادی، $P_{\mu I + \Delta}$ میانگین سود هر حیوان بعد از یک واحد افزایش در صفت i ، $P_{\mu I}$ متوسط سود هر حیوان قبل از تغییر میانگین و Δ میزان افزایش میانگین صفت i می باشد. از معادله ۴ برای حالت افزایش میانگین صفت به اندازه یک واحد استفاده شد. چون مقیاس اندازه گیری صفات مختلف یکسان نمی باشد. بنابراین، ضریب اقتصادی صفات مورد نظر از طریق معادله ۵ نیز محاسبه شد که میانگین هر صفت در حالت عدم تغییر میانگین سایر صفات، به اندازه یک درصد تغییر داده شد (۸).

$$V_I = P' - P \quad \text{معادله ۵:}$$

در این معادله، V_I ضریب اقتصادی، P' میانگین سود هر حیوان قبل از افزایش می باشد. برای مقایسه ضرایب اقتصادی صفات مختلف، ضریب اقتصادی نسبی محاسبه گردید. برای این منظور ضریب اقتصادی رشد روزانه قبل از شیرگیری به عنوان معیار انتخاب شد و ضرایب اقتصادی نسبی از طریق تقسیم ضرایب اقتصادی مطلق هر یک از صفات بر مقدار ضریب اقتصادی پروتئین محاسبه شد.

در معادلات بالا حروف زیر نویس F: تغذیه، L: نیروی کار، H: بهداشت، R: تولید مثل، M: فروش و FC: هزینه ثابت سالانه به ازای هر راس گاو مولد می باشد. m: گوساله نر، h: تلیسه، c: گاو شیری و mn: کود تولیدی می باشد.

محاسبه درآمدها و هزینه ها در سیستم تولیدی گاوهای بومی

برآورد ضرایب اقتصادی نیازمند توصیف سیستم تولید، منابع درآمدها و هزینه ها و رابطه بین آنها با صفات موجود در هدف اصلاح نژاد است. هزینه ها به صورت ثابت و جاری بیان می شوند. هزینه های جاری وابسته به سطح تولید گله هستند. هزینه های ثابت مستقل از سطح تولید گله بوده و شامل ساختمان ها و تاسیسات، ماشین آلات و غیره می باشند. برای محاسبه هزینه های تغذیه ای در هر گروه سنی از حیوانات، چهار مرحله مختلف به ترتیب سیکل زندگی تعریف شد. این مراحل شامل: تولد تا از شیرگیری (گوساله نر و ماده قبل از شیرگیری)، از شیرگیری تا سن فروش (گوساله های نر در ۸ ماهگی و تلیسه ها در ۱۷ ماهگی)، از سن فروش تا سن نخستین زایش (تلیسه های جایگزین) و گاوهای مولد (بالای ۲ سال) بودند.

محاسبه ضرایب اقتصادی: طبق تعریف، ضریب اقتصادی هر صفت عبارت است از تغییر در سود خالص واحد تولیدی به ازای یک واحد افزایش در میانگین صفت مورد نظر طوری که میانگین سایر صفات در جامعه تغییر نکند. در این تحقیق برای محاسبه ضرایب اقتصادی صفات در حالی که سایر صفات در حد میانگین جامعه قرار

جدول ۳- صفات مورد مطالعه، واحد و علائم اختصاری آنها

Table 3- Studied characteristics, their unit and abbreviation

characteristic	واحد	علائم اختصاری
تولید شیر دوره	کیلوگرم	M
Milk production for each period	kilogram	
چربی شیر	درصد	FP
Milk fat	percent	
پروتئین شیر	درصد	PP
Milk protein	percent	
سن نخستین زایش	روز	AFC
Age for the first delivery	day	
فاصله گوساله زایی	روز	CI
Calving interval	day	
وزن تولد گوساله	کیلوگرم	BW
Calf weight	kilogram	
وزن زنده دام بالغ	کیلوگرم	LW
Live adult cattle weight	kilogram	
طول عمر تولیدی	روز	PLT
Productive lifetime	day	

نتایج و بحث

درآمدها و هزینه‌های سالانه در سیستم تولید گاوهای

بومی

در سیستم پرورش گاو بومی منابع درآمد، شامل فروش شیر سالانه، گوساله نر، تلیسه مازاد، گاو مولد حذفی سالانه و کود سالانه می‌باشد. درآمد حاصل از فروش شیر سالانه معادل ۴۳/۵۴ درصد از کل درآمدها بود، که بیشترین سهم را در بین منابع درآمدها به خود اختصاص داد. سایر منابع درآمدها شامل گوساله نر، تلیسه مازاد، فروش گاو حذفی و به ترتیب برابر ۱۱/۲۳، ۳۲/۳۷، ۱۰/۰۴ و ۲/۸۱ درصد از درآمدها را به خود اختصاص دادند (جدول ۴).

هزینه‌ها به دو بخش هزینه ثابت سالانه که شامل هزینه ساختمان‌ها، تاسیسات، تجهیزات و تعمیرات بود. هزینه جاری سالانه که شامل هزینه‌های تغذیه‌ای، بهداشت و تولید مثل، نیروی کار، فروش دام و حمل و نقل کود از جایگاه به ازای هر راس گاو مولد بود، تقسیم شد. هزینه ثابت سالانه به ازای هر راس گاو مولد برابر ۴۵۷۲۵۵۶/۵۶ ریال بود، که ۱۴/۴۴ درصد، کل هزینه‌ها را شامل می‌شد. هزینه جاری سالانه به ازای هر راس دام مولد برابر ۲۷۰۹۴۵۱۴/۴۶ ریال که ۸۵/۵۶ درصد از کل هزینه‌ها را به خود اختصاص داد (جدول ۵) در بین هزینه‌های جاری، هزینه تغذیه‌ای با ۸۴/۲۵ درصد، بیشترین سهم را به خود اختصاص داد. سایر هزینه‌های جاری شامل نیروی کار، فروش دام و حمل و نقل کود از جایگاه برابر ۹/۳۸ درصد و هزینه‌های بهداشت و تولید مثل برابر ۶/۳۶ درصد از هزینه‌های جاری را در بر گرفت (جدول ۵). در این سیستم سود سالانه به ازای هر راس گاو مولد ۱۸۰۱۷۱۸/۰۰۵ ریال برآورد شد. که با نتایج اطهری مرتضوی و همکاران (۱) مطابقت داشت و آنها نیز سود سالانه به ازای هر راس گاو مولد ۲۳۴۲۳۸۱- ریال برآورد کردند.

برآورد ضرایب اقتصادی صفات

تولید شیر پایه: در مبنای اندازه گله ثابت، با افزایش یک واحد میانگین صفت تولید شیر پایه (۳/۲ درصد چربی و ۳ درصد پروتئین) در حالت ثابت بودن میانگین سایر صفات، ضریب اقتصادی تولید شیر پایه در سیستم تولید گاوهای بومی برابر ۰/۰۰۲۰۷۹ برآورد شد. در برخی از تحقیقات انجام شده، ارزش اقتصادی تولید شیر پایه، مثبت گزارش (۱، ۱۳، ۱۶)، اما در دیگر تحقیقات، منفی گزارش شده است (۴، ۸، ۱۶). باتوجه به مقدار مثبت ضریب اقتصادی صفت تولید شیر پایه، انتخاب در جهت افزایش میانگین این صفت سبب افزایش سوددهی سیستم تولید گاو بومی می‌شود.

درصد چربی و درصد پروتئین: ارزش اقتصادی درصد چربی و

پروتئین شیر تابعی از میانگین تولید شیر است (۱۴). در مبنای اندازه گله ثابت، با افزایش یک درصد به میانگین صفت درصد چربی و پروتئین، ضریب اقتصادی آنها، در گاوهای بومی، برابر ۰/۹۹۹۷۸۲ و ۱ برآورد شد. چون درصد چربی و پروتئین شیر در قیمت گذاری شیر موثر هستند، افزایش میانگین درصد چربی و پروتئین شیر باعث بالا رفتن قیمت شیر و در نتیجه درآمد حاصل از فروش شیر سالانه و به تبع آن درآمد کل افزایش می‌یابد. با افزایش میانگین درصد چربی و پروتئین شیر احتیاجات انرژی تولید گاوهای شیری و هزینه تغذیه‌ای آنها و در نتیجه هزینه کل افزایش می‌یابد. در سیستم‌هایی که بهای پرداخت شیر بر اساس درصد چربی و پروتئین آن مثبت بوده برآورد شده است (۴ و ۸).

صفات رشد و وزن بدن: در مبنای اندازه گله ثابت، ضریب اقتصادی صفات وزن تولد و وزن زنده دام بالغ با افزایش یک واحد به میانگین آنها در گاوهای بومی برابر ۰/۰۱۵۳۹۹- و ۰/۰۱۰۳۲۴ برآورد شد. افزایش میانگین صفات وزن تولد مستقیماً منجر به افزایش وزن فروش گوساله نر و تلیسه مازاد سالانه و درآمد حاصل از فروش آنها می‌شود. با افزایش وزن زنده دام بالغ درآمد حاصل از فروش گاو حذفی و هزینه تغذیه آنها افزایش می‌یابد. بدلیل اینکه افزایش درآمد بیشتر از ارزش اقتصادی این صفت بود. برخی از محققان ارزش وزن بدن را مثبت برآورد کردند که با نتایج برخی از محققان (۸ و ۱۶) مطابقت داشت. اما ضریب اقتصادی صفت وزن تولد منفی گزارش شد، که با نتایج اطهری مرتضوی و همکاران، (۱) مطابقت داشت.

صفات تولید مثلی: ضریب اقتصادی صفات فاصله گوساله‌زایی و سن نخستین زایش در گاوهای بومی برابر ۰/۰۱۲۷۱۸- و ۰/۰۰۸۰۳۶- برآورد شد. با افزایش سن نخستین زایش درآمدها تغییری نمی‌کنند و فقط هزینه‌ها افزایش می‌یابند. بنابراین این صفت (سن نخستین زایش) اثر منفی بر سود سیستم تولید دارد. همچنین انتخاب در جهت کاهش این صفت (سن نخستین زایش)، منجر به افزایش سوددهی می‌شود. در تحقیقات دیگر نیز ارزش اقتصادی این صفت منفی گزارش شده است (۸). افزایش فاصله زایش منجر به کاهش بیشتر درآمدها نسبت به هزینه‌ها می‌شود. ارزش اقتصادی منفی این صفت نشان می‌دهد، که با انتخاب در جهت کاهش میانگین این صفت سود سالانه افزایش می‌یابد.

طول عمر گله: طول عمر در گاوهای شیری بر دو نوع است. طول عمر واقعی و طول عمر عملکردی تقسیم شده است (۷). طول عمر واقعی، مدت زمان عمر گاو از نخستین زایش تا حذف از گله و طول عمر عملکردی، عمر واقعی تصحیح شده برای تولید شیر است (۷). افزایش یک درصد به میانگین صفت طول عمر گله، در حالت ثابت بودن میانگین سایر صفات و در مبنای اندازه گله ثابت، ضریب اقتصادی آن در گاوهای بومی برابر ۰/۰۰۰۳۵۱- برآورد شد. با

افزایش میانگین طول عمر گله نیاز به تعداد تلیسه جایگزین کاهش یافته و در نتیجه درآمد حاصل از فروش تلیسه مازاد سالانه افزایش می‌یابد. همچنین تعداد گاو حذفی سالانه و درآمد فروش آنها نیز کاهش می‌یابد. در نتیجه هزینه تغذیه، نیروی کار و بهداشت تلیسه‌ها بدلیل کاهش تعداد تلیسه جایگزین، کاهش می‌یابد. هزینه فروش دام نیز با توجه به افزایش فروش تعداد تلیسه مازاد و کاهش فروش گاو حذفی به مقدار ناچیزی افزایش می‌یابد. که با نتایج میر مهدوی چابک و همکاران (۱۰) مطابقت نداشت.

جدول ۴- برآورد درآمدهای سالانه در سیستم گاو بومی

Table 4- Estimation of annual revenues in the native cow system

شرح Explanation	درآمد (ریال) Revenue (Rial)
درآمدها revenues	
شیر سالیانه Annual milk	13003125
گوساله نر Bull calf	3353743.69
تلیسه مازاد Surplus heifer	9669341.21
گاو حذفی Omitted cow	2999143.1
کود manure	840000
کل درآمدها Total revenues	29865353.01

جدول ۵- برآورد هزینه‌های سالانه در سیستم گاو بومی

Table 5- Estimation of annual costs in the native cow system

شرح explanation	هزینه (ریال) cost
هزینه‌ها cost	
تغذیه گاو Cow nutrition	13537266.85
تغذیه گوساله Bull calf nutrition	3223772.03
تغذیه تلیسه Heifer nutrition	6068030.23
نیروی کار و فروش دام Workforce and cattle selling	2540944.105
بهداشت و تولید مثل Hygiene and reproduction	1724501.24
هزینه متغیر Changeable cost	27094514.46
هزینه ثابت Fixed cost	4572556.56
کل هزینه‌ها Total cost	31667071.02

جدول ۶- میانگین، ضرایب اقتصادی مطلق و نسبی صفات در سیستم گاو بومی^۱Table 6- Average-absolute economical factors and relative traits in the native system¹

صفات traits	میانگین average	ارزش اقتصادی مطلق (ریال) Absolute economic value	ارزش اقتصادی نسبی Relative economic value
M (Kg)	950	3478.417	0.002079
FP (%)	5.2	1672065.778	0.999782
PP(%)	3	1672430.361	1
AFC (day)	710	-13440.866	-0.008036
CI (day)	480	-21271.294	-0.012718
BW(kg)	22	-25754.4	-0.015399
LW(kg)	350	17267.766	0.010324
PLT (day)	2556	-588.617	-0.000351

¹M: تولید شیر دوره، FP: درصد چربی شیر، PP: درصد پروتئین شیر، AFC: سن نخستین زایش، CI: فاصله گوساله‌زایی، BW: وزن تولد گوساله،

LW: وزن زنده دام بالغ، PLT: طول عمر تولیدی.

¹M=milk production period, FP=milk fat percentage, pp=milk protein percentage, AFC=first delivery age, CI=calving interval, BW=calf birth weight, LW=adult live cattle weight, PLT=productive lifetime

نتیجه‌گیری کلی

به اهمیت صفت فاصله گوساله‌زایی و بویژه تاثیر این صفت در شرایط محدودیت در سیستم‌ها پیشنهاد می‌شود که اصلاح نژاد در جهت کاهش آن انجام گیرد.

نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که با توجه به مقدار مثبت ضریب اقتصادی صفت تولید شیر پایه، انتخاب در جهت افزایش میانگین این صفت سبب افزایش سوددهی سیستم تولید گاو بومی می‌شود. با توجه

منابع

- 1- Athari-Mortazavi, B., A. A. Shadparvar, S. A. Mir-mahdavi-chabok, and M. Mehdi Zadeh. 2010. Estimate of economic values for some traits of native cows under migratory system in Guilan Province Animal Science Congress of Iran. College of Agriculture and Natural Resources of Tehran University (Karaj). 2787-278 (In Persian).
- 2- Anonymous. 2012. The second volume of agricultural statistics. Center for Information Technology and Communications Ministry of Agriculture. Pag 425 (In Persian).
- 3- Anonymous. 2012. Report of livestock population statistics. Department of Livestock Agriculture Organization of Ilam province. (In Persian)
- 4- Bekman, H., and J. A. van Arendonk. 1993. Derivation of economic values for veal, beef and milk production traits using profit equations. Livestock Production Science, 34: 35-56.
- 5- Brascamp, E. 1984. Selection indices with constraints. Paper presented at the Anim. Breed. Abstr.
- 6- Dekkers, J. 1991. Estimation of economic values for dairy cattle breeding goals: bias due to sub-optimal management policies. Livestock Production Science, 29: 131-149.
- 7- Cruickshank, J., K. Weigel, M. Dentine, and B. Kirkpatrick. 2002. Indirect prediction of herd life in Guernsey dairy cattle. Journal of dairy science, 85(5): 1307-1313.
- 8- Kahi, A., and G. Nitter. 2004. Developing breeding schemes for pasture based dairy production systems in Kenya: I. Derivation of economic values using profit functions. Livestock Production Science, 88: 161-177.
- 9- Lôbo, R.N.B., I. D. C. Pereira, O. Facó, and C. McManus. 2011. Economic values for production traits of Morada Nova Meat sheep in a pasture based production system in semi-arid Brazil. Small Ruminant Research, 96: 93-100.
- 10- Mirmahdavi-chabok, S. A., A. A. Shadparvar, A. ghorbani, and M. Dadashi. 2007. Estimation economic values of milk yield, fat percentage and lifetime of native cows of Guilan. Journal of Rural Development, 10 (2): 195-170 (In Persian).
- 11- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle U. S. A.
- 12- Rewe, T. O., D. Indetie, J. M. Ojango, and A. K. Kahi. 2006. Breeding objectives for the Boran breed in Kenya: Model development and application to pasture-based production systems. Animal Science Journal, 77: 163-177.
- 13- SeyedSharifi, R., A. A. Shadparvar, and N. G. H Zadeh. 2013. Estimation of economic values for some traits in dairy herds of Iran using computer simulation. Technical Jornal of Engineering and Applied Sciences, 3 (7): 2036-2041.
- 14- Shadparvar, A. A., N. Imam jome- Kashan, and A. Chyzari. 1997. Examine the economic weights of milk production, fat percentage and herd life in dairy cattle at Iran. Agricultural Sciences and Technology, 11: 93-109 (In

Persian).

- 15- Van Arendonk, J. A. 1991. Use of profit equations to determine relative economic value of dairy cattle herd life and production from field data. *Journal of Dairy Science*, 74: 1101-1107.
- 16- Vargas, B., A. F. Groen, M. Herrero, and J. A. Van Arendonk. 2002. Economic values for production and functional traits in Holstein cattle of Costa Rica. *Livestock Production Science*, 75: 101-116.
- 17- Wolfova, M., J. Wolf, J. Kvapilík, and J. Kica. 2007. Selection for profit in cattle: I. Economic weights for purebred dairy cattle in the Czech Republic. *Journal of Dairy Science*, 90: 2442-2455.



Estimation of Economic Values for Important Production Traits in Native Cattle of Ilam Province

H. Hosseini Nasr^{1*}- H. Roshanfekr²- J. Fayazi³ – M. T. Baigi Nasiri²

Received: 03-07-2015

Accepted: 09-05-2017

Introduction The aims of interbreeding for the first level in planning interbreeding programs are generally maximize the improvement in the economical efficiency of the production system by means of increase the average of characteristics. The purpose of this research was to estimate the economic values for milk production traits, fat percentage, protein percentage, and lifetime of native cows of Ilam province and also consideration of their sensitivity to any change in productive and economical parameters in the production system.

Materials and methods Using a deterministic bio-economical model and economic and production parameters of Native cow, was estimated economic values of milk yield, fat percentage, protein percentage, herd life at the Ilam province in 2013. The economic values of each trait was estimated with increase of one unit of average traits used for the amount of annual profit change, so that were constant the other traits. Calculation of Revenues and Costs: Estimation of economical factors needs explanation of production system, revenue and costs sources and their relationship with existing characteristics for the aim of interbreeding. Costs are expressed as fixed and current. Current costs are depending on the level of cattle production. Fixed costs are independent of production level and including building and installations, machinery and so on. to calculate the nutritional costs for each age group of animals, four different levels according to the life style were defined by order. These levels include: from birth to weaning (bull calf and heifer before weaning), from weaning to selling age (bull calves in 8-months year old and heifers in 17 months of age, from selling age till the age of first delivery (for replaced heifers) and regenerator cows (over two years old). According to the definition, economical factor of each characteristic is described as a change in the net profit of factory for a unit of addition in the average considered characteristic in a way that the average of other characteristics in the population doesn't change. In this research to calculate the economical factors of characteristics while other characteristics are in between in the population, the average for the considered characteristic was increased once by one unit and the difference of earned and profit or base mode was considered as the economical factor of that characteristic.

Results and Discussion In the system of Native cows production, the economic values of milk yield, fat percentage, protein percentage, herd life were estimated 0.002079, 0.999782, 1 and - 0.000351 respectively. In the native cow's fostering system, revenue resources include annual sale of milk, bull calf, surplus heifer, annual, omitted regenerator cow and annual manure. Earned revenue out of annual milk sale equaled 43.54% of the total revenue which appropriated the greatest amount of revenue resources. Other revenue resources were including bull calf, surplus heifer and the sale of omitted cow that appropriated 11.23%, 32.37%, 10.04% and 2.81% of the revenues respectively. The costs were divided into two parts including annual fixed charge which contained the cost of building, installations, equipment and repairs. Annual current cost which contained nutritional costs, hygiene and reproduction, work force, cattle selling and transportation of manure from its place per each head of regenerator cow. Fixed annual cost per each head of regenerator cow equaled 4572556.56 Rial, which contained 14.44 percentage of the total costs. Annual current cost per each head of regenerator cow equaled 27094514.46 Rials which appropriated 85.56 percentage of the total cost. Among the current costs, nutritional cost by 84.25% appropriated the most part. Other current costs including workforce, cattle sale and manure transportation from its place equaled 9.38% and costs of hygiene and reproduction appropriated 6.36% of the current costs.

Conclusion Thus estimated the annual avenue of production system for Native cows -1801718.005 Rials. The results showed that positive amount of an economical factor to produce milk; selection of an average for an

1- M.Sc. Graduated, Department of Animal Sciences, Faculty of Animal Sciences and Food industry, Khouzestan Ramin Agricultural and Natural Resources University,

2- Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Animal Sciences and Food industry, Khouzestan Ramin Agricultural and Natural Resources University,

3- Associate Professor and Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Animal Sciences and Food industry, Khouzestan Ramin Agricultural and Natural Resources University.

(*-Corresponding Author Email: hosen.nasr@yahoo.com)

increase in the characteristic causes an increase in profiting in native cow's production system. According to the importance of interval in calving as a characteristic and specifically its influence in the situation of limitation in systems, it is suggested that interbreeding should be done to decrease it.

Keywords: Economic values, Ilam province, Native cows, Production traits.



تعیین پلی مورفیسم رسپتور ژن دوپامین به کمک آنزیم محدودالایر BseNI

مریم بازگیری^{۱*} - محمدتقی بیگی نصیری^۲ - جمال فیاضی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۱۶

چکیده

دوپامین در طیور ترشح پرولاکتین را در مغز مهار می کند. این پژوهش به منظور بررسی چندشکلی گیرنده‌ی D₁ ژن دوپامین با استفاده از روش PCR-RFLP در مرغ بومی خوزستان صورت گرفت. به منظور اجرای این آزمایش نمونه خون از ۱۰۰ قطعه مرغ بومی مرکز مرغ بومی خوزستان (شرکت نهاده‌های دامی جاهد) به صورت تصادفی اخذ گردید. DNA ژنومی با استفاده از روش نمکی بهینه شده، استخراج گردید. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز جهت تکثیر قطعه ۲۸۳ جفت بازی گیرنده‌ی D₁ ژن دوپامین انجام گرفت. جهت تشخیص ژنوتیپ‌های گیرنده‌ی D₁ ژن دوپامین، محصولات PCR با استفاده از آنزیم برشی BseNI هضم شدند. با مشاهده نتایج الگوی باندهای ناشی از هضم مشخص شد که جهش مسئول گیرنده‌ی D₁ ژن دوپامین به وسیله این روش قابل شناسایی نیست اما با تعیین توالی در Clastal W2، دو جهش در بازهای ۱۲۳ و ۱۹۸ (به ترتیب از نوع A به G و C به T) مشخص شد.

واژه‌های کلیدی: چندشکلی، دوپامین، کرچی، مرغ بومی، PCR-RFLP.

مقدمه

در پرورش مرغ تخمگذار، هدف کاهش کرچی و افزایش تولید تخم مرغ است. هورمون پرولاکتین عامل اصلی شروع کرچی و ادامه دوره آن در طیور می باشد. در طیور، دوپامین ترشح پرولاکتین در مغز را مهار می کند (۲۰). منشاء هورمون دوپامین هیپوتالاموس می باشد که از وظایف آن، جلوگیری از آزاد شدن پرولاکتین می باشد. دوپامین متعلق به گروهی از انتقال دهنده‌های عصبی به نام کاته کولامین ها است و از فراوان ترین آنها در مغز می باشد. نقش و اهمیت دوپامین به عنوان یک انتقال دهنده عصبی در تنظیم عملکردهای مختلف فیزیولوژیکی در سیستم عصبی مرکزی به خوبی شناخته شده است (۲، ۳، ۶ و ۸). برای دوپامین، گیرنده‌های متعددی شناسایی شده است که هر کدام در اعمال خاصی دخالت دارند. گیرنده‌های دوپامین با بسیاری از عملکردهای سلولی در ارتباط هستند و با پروتئین‌های G جفت می شوند (۱). معمولاً، فعالیت این گیرنده‌ها منجر به تغییرات

سطوح آدنوزین مونوفسفات حلقوی داخل سلولی شده (۹) و آبشارهای پیام رسان را تحریک می کند که این خود باعث افزایش رونویسی در ژن می شود (۵). براساس الگوهای پروتئین G و نحوه عملکرد پیامدهی داخل سلولی، گیرنده‌های دوپامین به دودسته تقسیم می شوند: گیرنده‌های D₁ (متصل به پروتئین G_{αs}) و گیرنده‌های شبه D₂ (متصل به پروتئین G_{αi}) (۱۰ و ۱۴). همچنین بر اساس کدون ژنی، گیرنده‌های شبه D₁ به D₁ و D₅ و گیرنده‌های شبه D₂ به D₂، D₃ و D₄ تقسیم می شوند (۱۳). در مغز رایج ترین گیرنده‌ها D₁ و D₂ بوده و بیشترین بیان گیرنده‌های دوپامین را دارند (۱۶). درمان مرغ با آنتاگونیست گیرنده دوپامین سبب خاتمه کرچی در اثر مهار پرولاکتین می شود (۲۰). گیرنده‌ی D₁ دوپامین نقش عمده ترشح پرولاکتین را از طریق وی آی پی روده‌ای انجام می دهد. دوپامین همچنین از طریق فعال کردن گیرنده دو، از ترشح پرولاکتین در سطح هیپوفیز جلوگیری می کند (۱۲). ژن گیرنده‌ی یک ژن دوپامین در مرغ که روی کروموزوم ۱۳ قرار دارد، شامل ۱۳۵۶ نوکلئوتید می باشد که ۴۵۶ اسید آمینه یک پروتئین را کد گذاری می کنند (۲۰).

در یک تحقیق ارتباط بین پلی مورفیسم گیرنده‌ی چهار دوپامین با رفتارهای مختلف اسبها در شرایط افسردگی مطالعه شد که وجود یا عدم آلل A چند شکلی را مشخص می کرد که در این بررسی چند

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استاد و استادیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، خوزستان، ایران.

(Email: m.bazgiri92@gmail.com)

DOI: 10.22067/ijasr.v1397i1.50752

(*) نویسنده مسئول:

مدت ۳۰ ثانیه) و تکثیر نهایی در 72°C به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (مدل Bio rad) جهت گسترش زنجیره DNA استفاده شد. محصولات PCR روی ژل آگارز، الکتروفورز شدند. هضم آنزیمی محصولات حاصل از واکنش PCR در حجم ۳۰ میکرولیتر شامل: ۱۰ میکرولیتر محصول PCR، ۱ میکرولیتر آنزیم برشی BseNI (در حجم ۱۰۰۰ U توسط شرکت ندای فن تهیه گردید)، ۲ میکرولیتر بافر آنزیم و ۱۷ میکرولیتر آب مقطر به مدت ۱۶ ساعت در دمای 65°C در داخل بن ماری انجام شد. سپس محصولات هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد الکتروفورز شدند. بعد از اتمام PCR همه‌ی نمونه‌ها، ۶ نمونه از PCR ها برای توالی یابی به شرکت ژن فن اوران ارسال شدند.

نتایج و بحث

برای تعیین کمیت و کیفیت DNA از نانودراپ و ژل آگارز استفاده شد، نتایج نشان داد که DNA استخراج شده برای ادامه پژوهش مناسب می‌باشد. پس از تعیین کمیت و کیفیت، نمونه‌های DNA در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به کار رفتند. قطعه ۲۸۳ جفت بازی گیرنده‌ی ۱ ژن دوپامین تکثیر و برای تایید صحت قطعه تکثیر شده از نشانگر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی استفاده شد. با توجه به تصویر نمونه‌های تکثیر شده بر روی ژل آگارز مشخص گردید که نمونه‌های مورد بررسی فاقد آلودگی و باند اضافه بوده‌اند و برنامه دمایی برای تکثیر ناحیه‌ی مورد نظر مناسب طراحی شده است (شکل ۱).

با مشاهده نتایج الگوی باندهای حاصل از هضم آنزیم BseNI مشخص شد که تمامی قطعات فاقد برش بوده و هیچ جهشی در گیرنده‌ی ۱ ژن دوپامین با استفاده از این آنزیم، در مرغ بومی خوزستان مشاهده نشده و تمامی نمونه‌ها فقط یک نوع ژنوتیپ را نشان دادند (شکل ۲). از آنجایی که تمامی ۱۰۰ نمونه با این آنزیم مورد آزمایش قرار گرفتند و نیز آنزیم در شرایط مناسبی حمل و نگهداری گردید و نیز از شاهد برای مقایسه نمونه‌ها استفاده گردید می‌توان گفت آنزیم عملکرد صحیحی داشته است. در مطالعه انجام شده بر روی مرغ زرد مجارستان به روش PCR-RFLP علاوه بر اینکه سه ژنوتیپ AA، GG و AG در جایگاه گیرنده‌ی ۱ ژن دوپامین مشاهده شد بیان گردید که ژنوتیپ مشاهده شده روی تولید تخم مرغ‌ها و وزن بدن در هفته ۴۵ تاثیر دارد (۱۵). در مطالعه‌ای که بر روی گیرنده‌ی ۱ ژن دوپامین در شش جمعیت مرغ صورت گرفت، سه ژنوتیپ AA، GG و AG مشاهده شد و بیان شد که جهش در ناحیه G+123A با تولید تخم مرغ و کرچی ارتباط دارد و نیز گزارش شد که شاید بتوان از چندشکلی در فرکانس‌های G+123A و C+1107T به عنوان مارکری برای کاهش صفت کرچی و بهبود

شکلی مشاهده شد (۱۱). در یک پژوهش گیرنده‌ی یک ژن دوپامین در غاز به وسیله آنزیم برشی TspRI مورد هضم قرار گرفت که دو الگوی ژنوتیپی را نشان داد (۱۸). در نتایج یک پژوهش نشان داده شد که ارتباط بین جهش‌های موجود در گیرنده‌ی چهار دوپامین با کرچی معنی دار است (۱۹).

هدف از پژوهش حاضر، شناسایی چندشکلی گیرنده‌ی یک ژن دوپامین به روش PCR-RFLP و همچنین تعیین فراوانی آلی و ژنوتیپی آن در جمعیت مرغ بومی خوزستان بود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۱۰۰ قطعه مرغ بومی به صورت کاملاً تصادفی از مرکز مرغ بومی استان خوزستان (شرکت نهاده‌های دامی جاهد) خونگیری صورت گرفت. خونگیری از ورید بال به میزان ۳-۴ سی سی در لوله‌های خلاء دار حاوی ماده ضد انعقاد EDTA انجام شد. نمونه‌های خون همراه با یخ به آزمایشگاه مرکزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان انتقال داده و تا زمان استخراج DNA در دمای -20°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج DNA

استخراج DNA از خون کامل پس از تغییر و بهینه‌سازی روش استخراج نمکی میلر و همکاران (۷) انجام گرفت. کمیت و کیفیت DNA با استفاده از نانودراپ و ژل آگارز ارزیابی شد.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR)

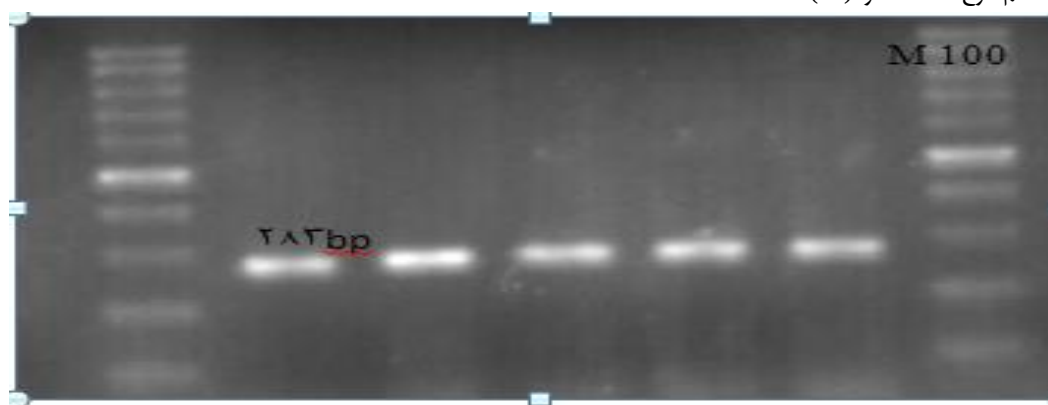
در این تحقیق از آغازگرهای پیشنهادی زوا و همکاران (۲۰) استفاده شد که ترتیب توالی آن‌ها به صورت زیر بوده:



طول آغازگر رو به جلو و برگشتی به ترتیب ۲۲ و ۲۳ نوکلئوتید بود.

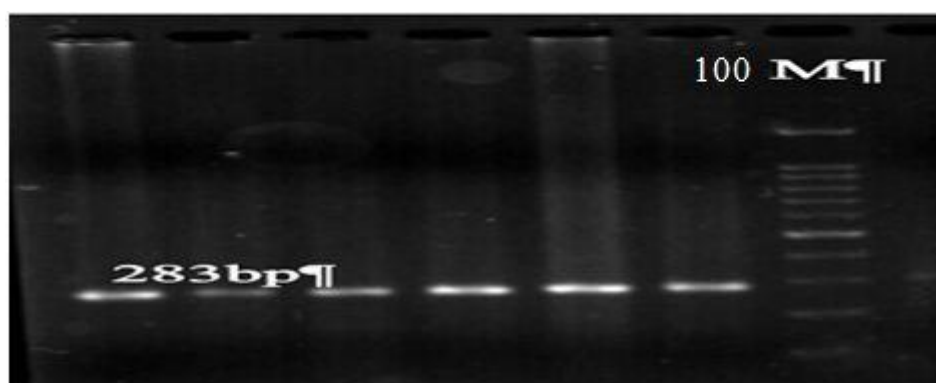
واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، شامل بافر 1X، ۲۰۰ میلی مولار dNTP، یک واحد آنزیم تک پلی مرز، ۱۵۰ نانو گرم از DNA ژنومیک، ۲/۵ میلی مولار MgCl_2 ، ۰/۲۵ میکرومول از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت و آب استریل دو بار تقطیر تا رسدن به حجم مورد نظر انجام شد. تکثیر قطعه مورد نظر با استفاده از یک مرحله ابتدایی واسرشته سازی در دمای 95°C به مدت ۳ دقیقه و ۳۵ چرخه (واسرشته سازی در دمای 95°C به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در $58/4^{\circ}\text{C}$ به مدت ۴۵ ثانیه و تکثیر در 72°C به

افزایش تولید تخم مرغ استفاده کرد (۲۰).



شکل ۱- قطعه ۲۸۳ جفت بازی تکثیر شده گیرنده ی ۱ ژن دوپامین در پنج نمونه مرغ بومی خوزستان

Figure 2- Fragment 283 bp reproduced dopamine D1 receptor gene in five samples of Khuzestan native chicken



شکل ۲- محصول PCR هضم شده گیرنده ی ۱ ژن دوپامین توسط آنزیم محدودالایتر BseNI در شش نمونه از مرغ بومی خوزستان

Figure 2- PCR products digested dopamine D1 receptor gene use restriction enzyme BseNI in six samples of Khuzestan native chickens

در یک پژوهشی زوا و همکاران (۱۹) ، برای نشان دادن ارتباط بین چند شکلی گیرنده ۲ ژن دوپامین با کرچی، جمعیتی از مرغ قرمز جنگلی، مرغ Xinghua، مرغ بایر هوانگ و لگهورن مورد مطالعه قرار دادند. فرکانس آللی و توزیع ژنوتیپ در ۵ جمعیت نشان داد که، A-، A-16105G، T-32751C، A-38600، A-38463D، 65436G و 6539T و A+2794G با کرچی رابطه دارد که دلیلی بر وجود چند شکلی می باشد. فیدلر ۳ و همکاران (۴)، ارتباط بین چندشکلی گیرنده ی ۴ ژن دوپامین (DRD4) با تغییر شخصیت در پرندگان را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق دو دسته پرنده به صورت تصادفی در ۱۷ گله ی مختلف در هلند که به صورت سنتی پرورش داده می شدند، جمع آوری گردید و در آخر ۷۳ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی مشاهده گردید. در تمامی مطالعاتی که بر روی مرغ با روش PCR-RFLP صورت گرفته است نشان داده که چندشکلی در گیرنده ی ۱ دوپامین وجود دارد که با مشاهدات این تحقیق مطابقت

در یک پژوهش بر روی اردک گزارش شد که علاوه بر اینکه چند شکلی در گیرنده ی ۱ ژن دوپامین مشاهده می شود، این گیرنده با برخی از صفات تولیدمثلی در اردک ارتباط دارد که می توان اظهار کرد، گیرنده ی ۱ ژن دوپامین می تواند به عنوان ژن کاندیدا جهت انتخاب برای بهبود صفات تولید مثلی در اردک باشد (۱۷). ونگ و همکاران (۱۸)، چند شکلی و بیان گیرنده ی ۱ ژن دوپامین غاز را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق که به روش RFLP مورد مطالعه قرار گرفت از آنزیم TspRI برای هضم استفاده گردید و در نهایت دو ژنوتیپ GG و GA مشاهده گردید. نینومییا ۲ و همکاران (۱۱)، ارتباط بین پلی مورفیسم گیرنده ی ۴ دوپامین را با رفتارهای مختلفی که اسبها در شرایط افسردگی از خود نشان می دهند را بررسی کردند که در این مطالعه وجود یا عدم وجود آلل A چند شکلی را مشخص می کرد که در این بررسی چند شکلی مشاهده شد.

1- Wang
2- Ninomiya

3- Fidler

بومی خوزستان توالی یابی شد. همترازسازی توالی‌های مرغ بومی خوزستان با توالی‌های گرفته شده در (NCBI) و آنالیز داده‌ها در ClastaW2، دو جهش در جایگاه ۱۲۳ که نوکلئوتید آدنین (A) را جایگزین گوانین (G) و در جایگاه ۱۹۸ سیتوزین (C) را جایگزین تیمین (T) شناسایی کرد (شکل ۳). نتایج حاصله با تمپلای و همکاران (۱۵) و زوا و همکاران (۲۰) که نیز این دو جهش را در گیرنده ۱ ژن دوپامین شناسایی کردند مطابقت داشت.



شکل ۳- نتایج Alignment توالی‌ها در ClastaW2

Figure 4- Sequence Alignment results in ClastaW2

نتیجه گیری کلی

گیرنده‌ی ۱ دوپامین در جمعیت مرغ بومی خوزستان به روش RFLP چند شکلی ژنتیکی نشان نداد. توالی یابی نشان داد که جهش و چندشکلی وجود دارد. از آنجایی که دوپامین یکی از عوامل اصلی کاهش پرولاکتین و کاهش کرچی شناخته شده و نیز طی گزارشات بیان شد که جهش در گیرنده‌ی ۱ دوپامین و ایجاد ژنوتیپ‌های مختلف ارتباط معنی داری با افزایش تولید تخم مرغ و کاهش کرچی دارد لذا لازم است این گیرنده به خوبی مورد مطالعه قرار گیرد. همچنین با توجه به نقش مهم آنزیم‌های برشی در شناسایی جهش‌ها از آنزیم‌های مختلفی برای پیدا کردن جهش‌ها به کار گرفته شود.

نداشت که از دلایل عدم تطابق می‌تواند آنزیمی که برای شناسایی جهش از آن استفاده شده ربط داد. نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج پژوهشگران در متن ذکر گردید هم خوانی نداشت چونکه از آنزیمی که این پژوهشگران در تحقیقات خود استفاده کردند در این تحقیق به کار برده نشده بود و همینطور نمونه‌های تحقیق نیز با هم تفاوت داشتند.

در این تحقیق برای اولین بار گیرنده‌ی ۱ ژن دوپامین در مرغ

نتایج به دست آمده از توالی یابی نشان داد که جهش در مرغ بومی خوزستان وجود دارد که با نتایج به دست آمده از روش PCR-RFLP متفاوت بود. در واقع می‌توان بیان کرد گیرنده‌ی ۱ ژن دوپامین مونومورف نیست و دارای جهش می‌باشد که آنزیم برشی BseNI قادر به شناسایی جهش‌ها نبوده است. پیشنهاد می‌شود برای شناسایی جهش‌های صورت گرفته در این توالی از نشانگرهای دیگر مرتبط با این بررسی استفاده شود. در واقع نمی‌توان گفت که گیرنده‌ی ۱ ژن دوپامین مونومورف بوده بلکه آنزیم بکار رفته مناسب نبوده است. با توجه به عملکرد آنزیم مورد استفاده در این تحقیق می‌توان به اهمیت آنزیم‌های برشی در تعیین چند شکلی پی برد.

منابع

- 1- Araki, K. Y., J. R. Sims, and P. G. Bhide. 2007. Dopamine receptor mRNA and protein expression in the mouse corpus striatum and cerebral cortex during pre-and postnatal development. *Brain Research*, 1156: 31-45.
- 2- Baskerville, T. A., and A. J. Douglas. 2010. Dopamine and oxytocin interactions underlying behaviors potential contributions to behavioral disorders. *CNS Neuroscience and Therapeutics*, 16(3): 92-123.
- 3- Blasi, G., L. Bianco, P. Taurisano, B. Gelao, R. Gelao, L. Fazio, A. Papazacharias, A. Di Giorgio, G. Caforio, A. Rampino, R. Masellis, A. Papp, G. Ursini, L. Sinibaldi, T. Popolizio, W. Sadee, and A. Bertolino. 2009. Functional variation of the dopamine D2 receptor gene is associated with emotional control as well as brain activity and connectivity during emotion processing in humans. *Journal of Neuroscience*, 29: 14812-14819.
- 4- Fidler, A., K. Van Oers, P. Drent, S. Kuhn, J. Mueller, and B. Kempenaers. 2007. Drd4 gene polymorphisms are associated with personality variation in a passerine bird. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1619): 1685-1691.
- 5- Gerfen, C. R. 2000. Molecular effects of dopamine on striatal-projection pathways. *Trends Neurosci*, 23: S64 S70.
- 6- Korchounov, A., M. F. Meyer, and M. Krasnianski. 2010. Postsynaptic nigrostriatal dopamine receptors and their role in movement regulation. *Journal of Neural Transmission*, 117: 1359-1369.
- 7- Miller, S. A., D. D. Dykes, and H. F. Pole sky. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from

- human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16: 1215-1219.
- 8- Missale, C., S. R. Nash, S. W. Robinson, M. Jaber, and M. G. Caron. 1998. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiological Reviews*, 78: 189-225.
- 9- Monsma, F. J., L. C. Mahan, L. D. McVittie, C. R. Gerfen, and D. R. Sibley. 1990. Molecular cloning and expression of a D1dopamine receptor linked to adenylyl cyclase activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(17): 6723-7.
- 10- Neve, K. A., J. K. Seamans, and H. Trantham-Davidson. 2004. Dopamine receptor signaling. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 24(3): 165-205.
- 11- Ninomiya, S., A. Anjiki, Y. Nishide, M. Mori, Y. Deguchi, and T. Satoh. 2013. Polymorphisms of the Dopamine D4 Receptor Gene in Stabled Horses are related to Differences in Behavioral Response to Frustration. *Animals*, 3(3), 663-669.
- 12- Sartsoongnoen, N., S. Kosonsiriluk, N. Prakobsaeng, T. Songserm, I. Rozenboim, M. E. Halawani, and Y. Chaiseha. 2008. The dopaminergic system in the brain of thenative Thai chicken, *Gallus domesticus*: localization and differential expression across the reproductive cycle. *Gen Comp Endocrino*, 159: 107-115.
- 13- Sibley, D. R., and Jr. FJ. Monsma. 1992. Molecular biology of dopamine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13: 61-9.
- 14- Sullivan, S. E., and C. Konradi. 2011. Expression and function of dopamine receptors in the developing medial frontalcortex and striatum of the rat. *Neuroscience*, 199: 501-14.
- 15- Tempfli, K., S. Konrád, K. K. Gaál, L. Pongrácz, and A. B. Papp. 2015. Prolactin, dopamine receptor D1 and Spot14α polymorphisms affect production traits of Hungarian yellow hens. *Livestock Science*, 174: 26-30.
- 16- Vallone, D., R. Picetti, and E. Borrelli. 2000. Structure and function of dopamine receptors. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(1): 125-132.
- 17- Wang, C., S. Li, C. Li, Y. Feng, X. Peng, and Y. Gong. 2012. Molecular cloning, expression profile, polymorphism and the genetic effects of the dopamine D1 receptor gene on duck reproductive traits. *Molecular Biology Reports*, 39(9): 9239-9246.
- 18- Wang, C., Y. Liu, H. Wang, H. Wu, S. Gong, and D. He. 2014. Molecular characterization, expression profile, and polymorphism of goose dopamine D1 receptor gene. *Molecular Biology Reports*, 41(5): 2929-2936.
- 19- Xu, H. P., X. Shen, M. Zhou, C. L. Luo, L. Kang, Y. Liang, H. Zeng, Q. H. Nie, D. X. Zhang, and X. Q. Zhang. 2009. The dopamine D2 receptor gene polymorphisms associated with chicken broodiness. *Poultry Science*, 89(3): 428-38.
- 20- Xu, H. P., X. Shen, M. Zhou, M. Fang, H. Zeng, Q. Nie, and X. Zhang. 2010. The genetic effects of the dopamine D1 receptor gene on chicken egg production andbroodiness traits. *BMC Genetics*, 11(1): 17.



Determination of Dopamine Receptor Gene Polymorphism by *BseNI* Restriction Enzyme

M. Bazgiri^{1*} - M. T. Beigi Nassiri² - J. Fayazi³

Received: 20-10-2015

Accepted: 06-06-2017

Introduction This research was conducted at the Department of Animal Science in the Ramin Agriculture and Natural Resources University in 2014-2015. The elevation of egg production and the inhibition of incubation behavior are the aims of modern poultry production. Prolactin is postulated to play a critical role in the onset and maintenance of incubation behavior in birds. In avian, dopamine inhibits prolactin secretion in the brain. So far, at least five distinct dopamine receptor subtypes, DRD1-DRD5, have been identified and classically divided into two classes referred to as D1-like (DRD1 and DRD5) and D2-like (DRD2, DRD3, and DRD4). DRD1 is located on chromosome 13 and contains an open reading frame of 1356 nucleotides encoding a protein of 451 amino acids. Dopamine stimulates prolactin secretion via activating DRD1 at the hypothalamus level by operating through vasoactive intestinal peptide and the inhibition effect of dopamine on Prolactin secretion is mediated through DRD2 receptors at the pituitary level. This study aimed at identification of the variants of dopamine D1 receptor gene and detection of the allelic frequency in the Khuzestan native chicken at Ramin Agriculture and Natural Resources of Khuzestan province.

Materials and Methods For this research 100 laying hens from Khuzestan native chicken Breeding Center (Jahed Livestock Input Corporation) were randomly selected. DNA was extracted from whole blood using salting-out procedure. The PCR-RFLP method was used for allelic differentiation. Dopamine D1 receptor gene was amplified by a specific set of primer for this gene to produce 283 bp fragment. The PCR reactions were carried out in a total volume of 25 μ L containing 150 ng of genomic DNA, 1 μ L of each primer, 0.5 μ L dNTP, 1 μ L MgCl₂, 2.5 $\times$ PCR buffer and 1 U of Taq DNA polymerase. The amplification was performed in a Eppendorf Mastercycler under the following conditions: 95°C for 3 min; 35 cycles of 95°C for 30 s, 58/4°C for 45 s and 72°C for 30 s; and 72°C for 10 min. The amplified fragment was digested with *BseNI* restriction enzyme. The digestion mixture was composed of 10 μ L PCR products, 2 μ L digestion buffer, and 1 μ L of each enzyme, and then subjected to electrophoresis separation in 2.5% Agarose gel.

Results and Discussion The results of the enzyme Restrictive *BseNI* showed only one A allele and AA genotype and polymorphism was not observed. To determine the quality and quantity of DNA, Nanodrop and Agarose gel was used and the results showed that the extracted DNA was suitable to continue the research. The results of this study were not in par with those of the previous research. Such non-compliance could be due to the kind of population studied, the sample size and the type of marker based on which polymorphic was examined. Due to the limited number of cutting sites in restriction enzymes, various DNA fragments were not produced. Therefore, RFLP markers may have not been able to identify all mutations in this sequence. Dopamine receptor gene in Khuzestan native chicken was sequenced for the first time in the present study. Hence, alignment sequences of Khuzestan native chicken and alignment sequence in ClastaW2 were saved in the gene bank. The results of sequencing in ClastaW2 recorded two mutations of type A to G in the base 123 and C to T in the base 198.

Considering the results of gene sequencing, it cannot be stated that a dopamine receptor in this research is monomorphic. However, the enzyme used for dopamine gene could not be able to recognize the restriction sites. Sequencing of dopamine D1 receptor gene in the native chicken population of Khuzestan showed mutation which normally causes genetic polymorphism. However, in this study due to the ineffective choice of the enzyme, monomorphism was detected. These results show the importance of restriction enzyme in detecting genetic variation. Since dopamine is one of the main factors known to reduce prolactin and decrease broodiness as well as the reports indicated that mutations in dopamine D1 receptor different genotypes were significantly

1,2,3- MSc Graduated, Professor and Assistant professor, Department of animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agriculture Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Iran, respectively.

(*-Corresponding author email: m.bazgiri92@gmail.com)

associated with increased dopamine.

Conclusion Due to the important role of restriction enzymes in identification of different mutations, selection of the suitable enzyme is recommended.

Keywords: Broodiness, Dopamine, Native chicken, Polymorphism, PCR-RFLP.



آنالیز بیان ژن‌ها و رسم شبکه ژنی آپوپتوزیس در نژادهای مرغ بومی اصفهان و تجاری راس تحت داده‌های RNA-seq

ژیلا حسانی^۱ - محمدرضا نصیری^{۲*} - محمدرضا بختیاری زاده^۳ - مجتبی طهمورث پور^۲ - علی جواد منش^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۲۴

چکیده

در این مطالعه با استفاده از داده‌های توالی‌یابی RNA-seq، به‌دست آمده از ۱۲ قطعه مرغ ماده، بومی اصفهان و تجاری راس به بررسی ژن‌های با بیان متفاوت، به‌شناسایی مهمترین ژن‌های مؤثر در سیستم آپوپتوزیس و تقویت آن پرداخته شد. در این بررسی کیفیت داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار FastQC سنجیده شد. پس از حذف خوانش‌های بی کیفیت، با استفاده از نرم افزار Trimmomatic، نقشه‌یابی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار TOP HAT2 انجام گرفت. شبکه ژنی آپوپتوزیس توسط پایگاه استرینگ رسم و آنالیز شد. تحلیل شبکه نشان‌دهنده معنی‌داری شبکه بوده و میزان و چگونگی ارتباط ژن‌ها مشخص شد. نتایج حاصل از بررسی ترنسکریپتوم‌های سیستم ایمنی با استفاده از Cuffdiff نشان داد که از بین ۱۳۲۸ ژن دارای تفاوت بیان معنی‌دار در سیستم ایمنی، ۱۱ ژن مربوط به آپوپتوزیس بود. همچنین ژن PIK3CD دارای بیشترین مقدار بیان در دو نژاد بومی و تجاری و PIK3CB دارای کمترین مقدار بیان در نژاد بومی بودند. بیشترین معنی‌داری در فرایندهای بیولوژیکی بر اساس آماره Bonferroni، مربوط به مسیر علامت‌دهی وابسته به اینوزیتول و بر اساس آماره P-value مربوط به مسیر تنظیم موضعی کردن پروتئین به سمت هسته می‌باشد. آنالیز شبکه ژنی آپوپتوزیس، منجر به شناسایی دو زیر شبکه (کلاستر) گردید که ژن شاخص آنها به ترتیب PIK3R1 و IL1R1 می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آپوپتوز، نژاد مرغ بومی و راس، هستی‌شناسی ژنها، RNA-seq.

مقدمه

نفع خود تولید می‌کنند و سیستم ایمنی نیز برای مقابله با بسیاری از پاتوژن‌ها از جمله ویروس‌ها از این مسیر استفاده می‌کنند. مطالعات نشان داده‌اند هر عاملی که از رشد و تکامل سلول‌ها جلوگیری کند، مانند قرارگیری در معرض عوامل توکسیک یا انجماد، ممکن است زمینه را برای بروز آپوپتوزیس در آن‌ها فراهم کند. سیستم ایمنی در انتهای پاسخ ایمنی به حالت عادی برمی‌گردد که عمدتاً ناشی از مرگ نوادگان لنفوسیت‌های تحریک شده با آنتی‌ژن در اثر آپوپتوزیس است (۲). بیشتر لنفوسیت‌های تحریک شده با آنتی‌ژن متحمل آپوپتوزیس می‌شوند، شاید به این دلیل که بقاء لنفوسیت‌ها، وابسته به آنتی‌ژن و فاکتورهای رشد تولید شده توسط آنتی‌ژن است و با حذف آنتی‌ژن توسط پاسخ‌های ایمنی، لنفوسیت‌ها از محرک‌های ضروری برای ادامه حیات محروم می‌گردند. جهش‌های سوماتیک گاهی سبب از بین رفتن توانایی اتصال به یک آنتی‌ژن در یک سلول B شده که در این صورت سلول با مرگ برنامه‌ریزی شده یا آپوپتوزیس از بین خواهدرفت (۱۴، ۱۷ و ۲۱). در واقع بسیاری از گیاهان، جانوران و بسیاری از یوکاریوت‌های تک سلولی از مرگ برنامه‌ریزی شده

در سال ۱۹۷۲ هنگامی که کر (Kerr) و همکاران برای نخستین بار تفاوت میان نکروز و آپوپتوزیس ۶۵ را مشاهده کردند، گمان نمی‌بردند که پدیده اکتشافی آنها روزی سرلوحه مطالعات ضد سرطان قرار گیرد. مکانیسم آپوپتوزیس یکی از اصلی‌ترین راه‌های حذف سلول‌های ناخواسته است که در بدن موجودات پرسلولی و حتی تک سلولی انجام می‌شود (۱۵ و ۱۷). بسیاری از ویروس‌ها محصول‌های خاصی را جهت کنترل این فرایند زیستی به

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد،

۲- استاد، گروه آموزشی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد،

۳- استادیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران،

۴- استادیار، گروه آموزشی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
(*) نویسنده مسئول: (Email: nassiryr@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.v1397i1.66151

5- Apoptosis

شده و به واسطه مهار مستقیم آپوپتوزیز به پایداری سلول‌های سرطانی کمک می‌نماید. به طور معکوس در برخی سرطانها کاهش بیان پروتئین پروآپوپتوتیک BAX وجود دارد و جهش در ژن‌های bax سبب تحریک تشکیل تومور می‌شود (۱۵ و ۳۱).

پروش ماکیان در ایران و انتشار آن از طریق این کشور تاریخچه‌ای بسیار کهن دارد. ایران (پرشیا) یک امپراطوری بزرگ از قرن ۵ قبل از میلاد تا تقریباً قرن ۷ میلادی بود و از هند (دهلی) تا دریا‌های سیاه و مدیترانه گسترده بود. در آن زمان و بعد از آن، در قرون وسطی ایران در محل تقاطع راه‌ها برای حمل و نقل محصولات، از قبیل ماکیان از شرق به غرب، هم از طریق خشکی و هم از طریق دریا قرار داشت. جنگ‌های زیادی در حوالی ایران و کشورهای همسایه در طی این دوره‌ها نیز توسعه و گسترش جمعیت‌های ماکیان را تسهیل کرد. حفاری‌های باستانشناسی حضور ماکیان را در ایران در زمان‌های باستان تأیید کرده است (۲۵). بر اساس تحقیقات West and Zhou استخوان‌های یافت شده در ایران در سه منطقه وجود داشته‌اند: دو کشف در تپه یحیی (Tepe Yahya) (جنوب شرقی ایران) به ترتیب متعلق به ۳۸۰۰ تا ۳۹۰۰ قبل از میلاد و ۱۰۰۰ قبل از میلاد و دیگری در تخت سلیمان (شمال غربی ایران) متعلق به ۱۰۰۰ قبل از میلاد (۲۵). بنابراین، با توجه به اهمیت این پدیده در گونه‌های مختلف از جمله پرندگان و مخصوصاً مرغان و اهمیت اقتصادی آنها، فهم کامل از رشد و عملکرد سیستم ایمنی و آپوپتوز در پرندگان لازم و ضروری به نظر می‌رسد. این اطلاعات کاربرد مستقیم در برنامه‌های اصلاحی خواهد داشت و آگاهی از شبکه سیستم ایمنی که همراه با فرایند آپوپتوز عملکرد خود را تقویت و کامل می‌کند و مقاومت به بیماری می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی مرتبط با تولید، کمک فراوانی کند. بنابر این یک روش سازگار با محیط زیست برای حفظ سلامت طیور لازم و ضروری است (۲۶). با توجه به پیشرفت‌های قابل ملاحظه‌ای که در روش‌های توالی‌یابی از جمله روش توالی‌یابی RNA-seq انجام شده است، لذا در این پژوهش به بررسی ژن‌های درگیر در آپوپتوزیز در دو نژاد بومی اصفهان و تجاری راس به منظور ارزیابی تفاوت بیان ژن‌ها پرداخته شد. از آن جهت که امروز علاقه فراوانی به گونه‌های بومی، میان تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان ایجاد شده است و همچنین این نژادها در شرایط اقلیمی نامناسب دارای مقاومت منحصر به فردی بوده و قابلیت فراوان برای تولید محصولاتی با طعم و بوی مطلوب دارند و تقاضای قابل توجهی برای تولیدات مرغ‌های بومی مشاهده می‌شود، همچنین این گونه‌ها به دلیل جایگزینی با پرندگان غیربومی و بهبود یافته تا حدودی در خطر انقراض نیز قرار گرفته بودند (۳۴، ۳۳). هم چنین اگرچه مطالعات ملکولی متعددی روی طیور در ایران انجام شده است (۲۳، ۲۴، ۲۵، ۳۵ و ۳۸)، اما تاکنون ژن‌های درگیر در آپوپتوزیز در دو نژاد بومی اصفهان و تجاری راس

سلولی در جهت مکانیسم‌های رشدی - نموی و دفاعی استفاده می‌کنند (۱۰، ۲۶ و ۳۷). آپوپتوز در مراحل متفاوت تکامل زیستی یک موجود زنده ایفای نقش کرده و اگر از تنظیم خارج شود، بیماری‌های گوناگونی را موجب می‌شود (۱۰). برای نمونه، فعالیت بیش از حد طبیعی آپوپتوزیز سبب بیماری‌های دژنره کننده مانند آلزایمر و پارکینسون می‌گردد (۲۸ و ۲۹). اخیراً درمان سلول‌های سرطانی با وارد کردن ریز RNAهایی که در ایجاد آپوپتوزیز نقش دارند، در سطح پژوهشی مطرح می‌باشد (۲۸). فرایند آپوپتوزیز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، به عنوان روشی حفاظت شده، تحت کنترل ژن‌هاست که با هدف حذف سلول‌های ناخواسته یا غیرضروری در موجودات زنده به کار می‌رود و در بسیاری از مکانیسم‌های سیستم ایمنی یا بیماری‌ها مداخله می‌کند. اصلی‌ترین تفاوت این مسیر با نکروز سلولی، در عدم ایجاد التهاب و اثر محدود به سلول‌های هدف است.

چان یان ون^۱ و همکاران (۲۰۱۷) به دنبال اجرای فن‌آوری با توانش بالا (RNA-seq) به بررسی تفاوت بیان ژن‌ها و رونوشت‌ها پرداختند طی این بررسی به منظور تبیین مسیرها و ژن‌های درگیر در آپوپتوزیز سلول‌های ماهیچه‌ای قلب در مرغ، سلول‌های مذکور در معرض DTT (dithiothreitol) که ایجادکننده آپوپتوزیز به شکل کاذب می‌باشد، قرار گرفتند. سپس به دنبال اجرای فن‌آوری با توان بالا (RNA-seq) به بررسی تفاوت بیان ژن‌ها و رونوشت‌ها پرداختند و با استفاده از تفاوت بیان رونوشت‌های مربوط، شبکه برهم کنشی پروتئین-پروتئین برای آپوپتوزیز، در مرغ رسم شد. نتایج این مطالعه نشان داد، آغاز آپوپتوزیز بیشتر وابسته به کاسپاز ۸ و کاسپاز ۹ بود. از سوی دیگر مرحله اساسی آپوپتوزیز به کاسپاز ۳ وابسته بود. مهار آپوپتوزیز نیز به طور اساسی وابسته به Bcl-2، IAP و SVA بود. همچنین مسیرهای علامت‌دهی تغییر یافته شامل WNT و MAPK می‌باشد که در زمان مهار آپوپتوزیز توسط Bcl-2 و IAP و SVA رخ داد (۶). فعال شدن کاسپاز به میزان زیادی، مختص آپوپتوزیز است و تعیین فعالیت کاسپازها برای تمایز بین نکروز و آپوپتوزیز می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. در واقع ارزیابی فعالیت کاسپاز به عنوان یک مارکر بیوشیمیایی آپوپتوزیز مطرح است (۳۱). در طول سال‌های اخیر مشخص شده که تشکیل تومور منحصرناشی از تکثیر بیش از حد سلولی به دلیل فعال شدن انکوژن‌ها نیست بلکه تا میزان مشابهی به دلیل اختلال در مسیرهای کنترل آپوپتوز می‌باشد. اکثر سلول‌های توموری به دلیل بیان نامناسب پروتئین‌های آنتی آپوپتوتیک یا غیرفعال شدن فاکتورهای پروآپوپتوتیک نسبت به آپوپتوز مقاوم هستند. bcl-2 اولین ژن شناخته شده مرتبط با آپوپتوزیز بود که در تشکیل تومور نقش داشت. افزایش بیان bcl-2 در بسیاری از سرطان‌ها مشاهده

استفاده از نرم افزار^۴ TOPHAT2 ورژن ۲.۱.۱ انجام شد (۱۸).

هم گذاری رونوشت ها با استفاده از Cufflinks

به منظور تشکیل رونوشت^۵ مربوط به مطالعه حاضر، از بسته نرم افزاری Cufflinks نسخه^۶ ۲.۲.۱ استفاده شد (۳۶). همچنین با کمک این نرم افزار فرایند یک پارچه کردن^۷ تعداد قطعات مکان یابی شده نسبت به یک لوکوس خاص انجام شد.

ادغام رونوشت های مربوط به هر نمونه و تشکیل

رونوشت جدید

نرم افزار cufflink دارای بسته نرم افزاری به نام Cuffmerge می باشد که می تواند رونوشت های حاصل از Cufflinks را ادغام کرده و یک فایل رونوشت جدید مرجع ادغام شده، ایجاد کند. همچنین این بسته با راه اندازی Cuffcompare منجر به پاک سازی قطعات رونویسی^۸ که به احتمال زیاد خطای آزمایش محسوب می شوند، خواهد شد.

آنالیز تفاوت بیان ژن

به این منظور از نرم افزار cuffdiff استفاده شد که علاوه بر بیان ژن، قابلیت اندازه گیری بیان ایزوفرم های مختلف یک ژن را نیز دارد. کند بنابراین با استفاده از این نرم افزار ژن های با بیان متفاوت بین دو نژاد شناسایی شد. ژن های با مقدار $P < 0.05$ که با روش FDR برای خطای چند تستی تصحیح شده بودند به عنوان ژن های با بیان متفاوت در نظر گرفته شدند (۴).

هستی شناسی ژن

به منظور بررسی ویژگی های ساختاری و عملکردی ژن های معنی دار در دو نژاد از پایگاه اطلاعاتی David استفاده شد. این پایگاه با اتصال به پایگاه های دیگری مانند GO^۹ و KEGG^۹ به بررسی عملکردی و مسیرهای متابولیکی ژن های معنی دار می پردازد. عبارات با مقدار $p < 0.05$ که با روش FDR برای خطای چند تستی تصحیح شده بودند، به عنوان عبارات معنادار در نظر گرفته شد (۷). در این رابطه ژن های آپوتوزیز حاصل از نتایج توالی یابی RNA-seq به پایگاه داده استرینگ ورژن ۱۰/۵ ارائه شد و با هدف دست یابی به آماره های شبکه و مجسم سازی شبکه از نظر تبیین نقش ژن ها، از

مورد مطالعه قرار نگرفته است، لذا بر آن شدیم تا با مقایسه ژن های سیستم ایمنی ذاتی که شامل ژن های آپوتوزیز نیز می باشد بین دو نژاد بومی اصفهان و تجاری راس به بررسی تفاوت های ژنتیکی آن ها بپردازیم از سوی دیگر، با توجه به پیشرفت های قابل ملاحظه در روش های توالی یابی از جمله روش توالی یابی RNA-seq، لذا در این پژوهش با استفاده از این روش بررسی ژن های در گیر در آپوتوزیز در دو نژاد بومی اصفهان و تجاری راس با هدف ارزیابی تفاوت بیان ژن ها انجام شد.

مواد و روش ها

در این مطالعه به تعداد ۱۲ قطعه نژاد گوشتی جوجه های ماده بومی سویه اصفهان و سویه تجاری راس در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی آباد که در کشور ایران، استان خوزستان و شهر دزفول قرار دارد، پرورش داده شدند و در سن ۴۷ روزگی خون گیری از ورید بالی به میزان ۲ تا ۳ سی سی در لوله های خلاء دار حاوی ماده ضد انعقاد (EDTA) انجام گرفت.

پس از آن نمونه ها در دمای ۴ درجه سانتیگراد جهت استخراج RNA به آزمایشگاه منتقل شدند. RNA تام توسط کیت تجاری Trizol^۱ مطابق با پروتکل کارخانه استخراج شد. پس از اطمینان از کیفیت RNA استخراج شده، سه نمونه RNA مختلف با غلظت یکسان از هر نژاد با هم ادغام شده^۲ و در نهایت ۲ نمونه ادغام شده از هر نژاد آماده شد. ۴ نمونه آماده شده جهت توالی یابی paired-end به شرکت BGI چین ارسال شدند. فرایند توالی یابی توسط سیستم با توانش بالای Illumina^۳ انجام شد. سنجش کیفیت داده ها بر روی فرمت fastq و با استفاده از نرم افزار FastQC نسخه 0.11.2 تحت سیستم عامل لینوکس انجام شد. همچنین ویرایش داده های خام به صورت حذف آداپتورها و یا حذف و کوتاه نمودن خوانش های بی کیفیت، با استفاده از نرم افزار Trimmomatic نسخه 0.35 انجام گردید (۴).

نقشه یابی داده های خام RNA-seq (خوانش ها)

در این مطالعه، از ژنوم مرجع مربوط به مرغ ویرایش چهارم و فایل های حاشیه نویسی شده با فرمت GFT دانلود شده از Ensembl به آدرس <http://asia.ensembl.org/info/data/ftp/index.html> استفاده شد. هم ردیفی خوانش های کوتاه، پس از سنجش کیفیت، با

5- Transcriptom
6- Normalize
7- Tansfrag
8- Gene Ontology Consortium
9- Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

1- Invitrogen, USA
2- Pool
3- Illumina Hiseq 2000 sequencing platform
4- Hierarchical indexing for spliced alignment of transcripts

بومی داشت، با این حال بیان آن از ژن متناظر خود در مرغ تجاری کمتر بود. با توجه به اینکه شرایط محیط رشد مرغان بومی و تجاری یکسان بوده اما اثرات متفاوت روی ژن‌های دو نژاد داشته است، زیرا در نژادهای بومی نسبت به شرایط محیطی مقاومت بیشتری وجود دارد و ژن‌های آپوپتوز نیز بخشی از سیستم ایمنی ذاتی می‌باشند، می‌توان بیان کمتر ژن‌های مرغان بومی را به تغییرات اپی ژنتیک نسبت داد، زیرا تغییراتی مانند هیپرمتیلاسیون در نواحی پروموتور ژن‌های مهم به منظور مراقبت و پیشگیری انجام می‌گیرد (۲۷). همچنین جسینگ و همکاران در بررسی خود روی موش‌های GHRKO^۳ و نرمال نشان دادند که سطح بیان ژن‌های آپوپتوزیز معین مانند caspase-9, caspase-3, Smac/DIABLO, bax و پروتئین‌های مهم آپوپتوزیز در ماهیچه‌های اسکلتی موش‌های CHRKO در مقایسه با موش‌های نرمال کاهش یافته است که احتمالاً این فرایند می‌تواند به عنوان اثر محافظتی ذاتی برای طول عمر این حیوانات در نظر گرفته شود (۹). موش‌های GHRKO به دلیل اختلال هدفمند ژن گیرنده هورمون رشد به این هورمون مقاوم هستند.

همچنین در پژوهش‌های اخیر مشخص شده است، استرس گرمایی که از عوامل بارز محیطی می‌باشد، نیز روی بیان ژن‌ها در نژادهای مختلف تاثیرگذار است (۳۲). ریمولدی، سمیونا و همکاران اثر استرس گرمایی مزمن را روی بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو مانند Catalase و همچنین روی پروتئین‌های شوک حرارتی مانند CASP6 را در کبد دو نژاد مختلف شامل Red JA و Ross بررسی کردند و براساس یافته‌های این مطالعه بیان ژن‌ها، تحت تأثیر شوک حرارتی قرار گرفتند، به طوری که در نژاد راس سطوح بیان ژن CASP6 کاهش و در نژاد Red JA سطوح بیان ژن Catalase افزایش نشان داد. در حالی که سطوح بیان ژن‌های گیرنده گلوکوکورتیکوئید (NR3C1) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) در هر دو نژاد تغییری نشان نداد.

آنالیز مسیرهای ژن‌های دارای تفاوت بیان

نتایج KEGG از ژن‌های دارای بیان بالاتر، منجر به شناسایی یک مسیر تحت عنوان Regulation of actin cytoskeleton شد. با این حال ۱۷ مسیر از جمله مسیر آپوپتوزیز که موضوع بحث در این مقاله می‌باشد، بر اساس P-value معنی‌دار شده‌اند ($P \leq 0.05$). همچنین نتایج KEGG در مورد ژن‌های آپوپتوزیز ۱۲ ژن را ارائه داد که ۱۱ ژن معنی‌دار شده و یک ژن نیز بدون بیان بود. تفاوت بیان ژن‌ها در نژاد تجاری در مقایسه با نژاد بومی بر اساس Fold

نرم افزار سایتواسکیپ ورژن ۱.۵.۳ استفاده شد. به منظور رسم شبکه و تبیین نقش ژن‌ها در شبکه ژنی، خروجی استرینگ به نرم افزار سایتواسکیپ ارائه شد و پس از آنالیز شبکه و مشخص شدن آماره‌های شبکه، از نوار ابزار APPS گزینه CYTONCA شبکه بر اساس درجه ارزش ژن^۱ و مرکزیت بینایی^۲ ویرایش شد. به این ترتیب از نظر ارزش، گره‌های بزرگ نشان‌دهنده ژن‌هایی یا پروتئین‌هایی هستند که درجه کنترل کنندگی بیشتری در شبکه دارند، و از نظر مرکزیت بینایی گره‌های با رنگ روشن‌تر نشان دهنده تأثیر کمتر آنها بر سایر ژن‌ها می‌باشد (شکل ۲). به منظور شناسایی و بررسی کلاسترهای مربوط به شبکه ژنی آپوپتوزیز، از منوی APPS گزینه ClusterONE استفاده شد و خروجی کلاسترهای مربوط به شبکه ژنی آپوپتوزیز در نرم افزار Cytoscape، شناسایی و ارائه شد (شکل ۴ و ۵).

نتایج و بحث

آنالیز کیفیت و داده های RNA-seq

به منظور تشریح و مقایسه ترنسکریپتوم مرغان پرورشی نمونه های خون از مرغ های تجاری راس و بومی اصفهان جمع آوری شد و مخزن RNA فراهم شد. پس از توالی یابی، میانگین تعداد خوانش ها از چهار نمونه (دو نمونه از هر نوع) در حدود ۱۷ میلیون برآورد شد. در نهایت حدود ۱۸۰۰۰۰۰۰ خوانش با ۱۵۰ جفت باز توالی یابی شدند.

پس از حذف خوانش های کم کیفیت، عمل همردیفی با ژنوم مرجع (Galgal4) با استفاده از Tophat2 انجام شد که این فرایند به طور تقریب در مورد ۸۵٪ از قطعات توالی یابی شده، با موفقیت همراه بود (جدول ۱).

آنالیز تفاوت بیان ژن ها

پس از مکان یابی خوانش ها نسبت به ژنوم مرجع توسط Tophat2، همگذاری رونوشت ها انجام شد و سطح بیان نسبی آنها توسط Cufflink محاسبه شد. شدت بیان ژن با استفاده از روش FPKM تخمین زده شد. در مورد ژن های آپوپتوزیز ۱۱ ژن دارای بیان بالا و معنی داری بودند.

در بین ۱۱ ژن مربوط به آپوپتوزیز که بیان بالاتر داشتند، ژن PIK3CD دارای بیشترین بیان در بین ژن های آپوپتوزیز، در نژاد بومی و تجاری بود و ژن PIK3CB کمترین بیان را در نژاد بومی داشت. اما، همه ۱۱ ژن دارای بیان بالاتر در نژاد تجاری نسبت به نژاد بومی بودند. PIK3CD بالاترین بیان را در بین ژن های آپوپتوز مرغ

3- The long-lived growth hormone (GH) receptor knockout mice

1- Dgree

2- Beetweenness Centrality

Changes در دامنه تغییراتی از ۳/۵۰۸۹۴- تا ۳/۷۵۵۵۹ قرار داشت.

جدول ۱- نتایج حاصل از همترازی با ژنوم مرجع
Table 1-Number of aligned reads with reference genome

همترازی Aligned reads	نژاد Race			
	بومی Native		تجاری Commercial	
	نمونه ۱	نمونه ۲	نمونه ۱	نمونه ۲
	Sample1	Sample2	Sample1	Sample2
کل خوانش ها Total Reads	18768307	17995632	15923838	15621164
خوانش ها پس از حذف Trimming	18509420	17650558	15677357	15313649
خوانش های همتراز شده با ژنوم مرجع Aligned Reads with the reference genome	86.6%	84.89%	84.36%	84.17%

سایتواسکیپ شبکه ژنی با توجه به نوع ارتباطات بین ژنی آنالیز و رسم شد.

پیشرفت های حاصل در علوم زیستی و تولید حجم انبوه اطلاعات مستخرج از فرآیندهای زیستی، دانش ما را در مورد واحدهای تشکیل دهنده حیات از جمله ژن ها و پروتئین ها افزایش داده است، اما داشتن همه اطلاعات مربوط به ژن ها یا همه پروتئین ها به تنهایی کافی نیست، بلکه می بایست با نگاهی سیستمی به موضوع نگریست (۱۹،۱۸). در این مقاله سعی بر آنالیز تفاوت بیان و همچنین آنالیز مسیر آپوپتوزیز توسط پایگاه داده String و David و نرم افزار Cytoscape می باشد.

در این مطالعه مسیر آپوپتوزیز شامل ژن های AKT1^۳، PIK3CB5^۷، MYD884^۶، IL1R13^۵، CSF2RB2^۴، PRKACB9^۱، PIK3R18^{۱۰}، PIK3CG7^۹، PIK3CD6^۸

- 3- RAC-alpha serine/threonine-protein kinase
- 4- Colony stimulating factor 2 receptor beta common subunit
- 5-Interleukin 1 receptor, type I precursor
- 6-Myeloid differentiation primary response protei(Adapter protein involved in the Toll-like receptor and IL-1 receptor signaling pathway in the innate immune response
- 7-Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate catalytic subunit beta isoform
- 8-Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate catalytic subunit delta isoform
- 9- Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate catalytic subunit gamma isoform
- 10- phosphoinositide-3-kinase regulatory subunit 1

به این ترتیب در این مطالعه با توجه به اهمیت آپوپتوزیز در سیستم ایمنی و کنترل و رفع بیماری ها در گونه های مختلف از جمله مرغان به بحث و بررسی این مقوله پرداخته شد. از جمله می توان از نقش MYD88 در مسیرهای پاسخ ایمنی ذاتی نام برد مانند مسیرهای علامت دهی^۱ TLRS که در شناسایی الگوهای مولکولی وابسته به پاتوژن های معین ایفاء وظیفه می کند (۳ و ۱۰) و یا نقش در مسیر IL-1^۲ که بیشتر در مقابله با چالش های انگلی، باکتریایی و یا ویروسی افزایش می یابد (۱۰ و ۲۱). بر این اساس ژن های ارائه شده برای آپوپتوزیز توسط نتایج KEGG به پایگاه استرینگ ورژن ۱۰/۵ ارائه شد و شبکه ژنی مربوط به آپوپتوزیز رسم شد (شکل ۲). بررسی ژن های آپوپتوزیز به دست آمده در این پژوهش در شبکه String نشان دهنده بیشترین ارتباط عملکردی مورد انتظار، بین پروتئین های شبکه آپوپتوزیز بوده و ارتباط بیولوژیکی بین پروتئین های این شبکه، مشخص می باشد (شکل ۲). در آنالیز توسط پایگاه داده String پروتئینی با نام PPP3CA شناسایی نشد این پروتئین (ژن) یکی از ۱۱ پروتئین آپوپتوزی است که در نتایج KEGG ارائه شد، به این ترتیب شبکه ژنی ارائه شده توسط این پایگاه با ۱۰ پروتئین مصور شد و همچنین بین گره مربوط به TRADD نیز با سایر گره های شبکه ارتباطی مشاهده نشد. به عبارتی این گره اثری بر سایر گره های شبکه ندارد. هر گره مبین یک پروتئین (ژن) می باشد. سپس با استفاده از اطلاعات موجود در خروجی استرینگ تحت عنوان simple tabular text output در نرم افزار

- 1- Toll-like receptor signaling pathway
- 2- IL-۱ receptor signaling pathway

باشد و همچنین همراه با آرایش ویژه ای از فرایندهای مولکولی و به وسیله محصولات ژنی ویژه انجام می گیرد. در واقع فرایندهای بیولوژیکی در بین سه دیدگاه هستی شناسی فراگیرترین جنبه می باشد (۵ و ۳۰)

با توجه به جدول (۴) بیشترین معنی داری در مسیر regulation of protein localization to nucleus Positive بر اساس FDR و P-value مشاهده می شود که دلالت بر فعال بودن فرایند انتقال و یا نگهداری پروتئین های هسته ای مربوط به آپوپتوز در درون هسته سلول می باشد و یا به عبارت دیگر محتوای پروتئینی هسته سلول توسط فرایندهای خاصی افزایش یافته است. پروتئین ها در این مسیر شامل PIK3R1، MYD88، AKT1 و PPP3CA می باشند.

همچنین با توجه به نتایج حاصل از آنالیز فرایندهای بیولوژیکی ۳ مسیر معنی دار بر اساس P-value دارای بیشترین fold enrichment یعنی به ترتیب، ۱۶۳/۵۲ و ۱۶۳/۵۲ و ۱۹۹/۸۶ بوده و شامل مسیرهای insulin-like growth factor response to growth hormone receptor signaling pathway و regulation of nitric-oxide synthase activity می باشد. این آماره در واقع نشان دهنده میزان درگیری ژن ها با فعالیت کینازی می باشد. با توجه به نتایج حاصل فرایندهای بیولوژیکی ژن های AKT1 و IL1R1 در مسیر فعالیت سنتزی نیتریک اکساید و PIK3R1، AKT1 در دو مسیر علامت دهی گیرنده فاکتور رشد و پاسخ به هورمون رشد نقش دارند. بنابراین، می توان این مطلب را درک کرد که ژن های شرکت کننده با ترکیب های مختلف می توانند نقش های متفاوتی را ایفا نمایند. از طرف دیگر با یک نوع ترکیب نیز چند عمل متفاوت انجام دهند. به عنوان مثال ژن های AKT1، MYD88، PPP3CA و PIK3R1 در مسیرهایی مانند protein targeting to nucleus، اجازه ورود پروتئین به داخل هسته (import into nucleus) و چندین مسیر دیگر فعالیت دارند.

سپس آنالیز شبکه ژنی آپوپتوز توسط سیتواسکیپ انجام شد و شکل شبکه بر اساس پارامترهای آماری حاصل از نرم افزار مذکور مشخص شد (شکل ۳).

به این ترتیب بر اساس درجه (Degree)، بیشترین ارزش را ژن PIK3R1 داشته و بر اساس مرکزیت بینایی (Beetwinness Centrality) بیشترین ارزش را AKT1 و CSF2RB دارند.

TRADD11^۳ و PPP3CA10^۲ بوده که ژن CSF2RB فاقد بیان می باشد. مقایسه میزان تفاوت بیان در ژن های آپوپتوز بین دو نمونه تجاری و بومی نشان می دهد که میزان بیان در تمام ژن های بدست آمده در این پژوهش در گونه تجاری نسبت به بومی بیشتر بوده و همچنین از دوازده ژن گزارش شده، ۱۱ ژن بیان شده در رده ژن های Up regulated قرار دارند.

همانطور که مشخص است تعداد ژن های آپوپتوز بیان شده در این پژوهش n=11 می باشد، و با توجه به مطالعه نوری دلویی و همکاران تعداد ژن ها در این مطالعه کمتر است (۲۶ و ۳۳)، دلیل این امر می تواند فاکتورهای مختلفی، از جمله کاربرد آستانه در سطح معنی داری و حداقل اختلاف بیان (Fold Change) باشد. کاهش تعداد ژن های دارای تفاوت بیان را به تعداد نمونه

ای آزمایشی نمی توان نسبت داد، زیرا تعداد نمونه ها بر اساس پروتکل آزمایشات RNA-seq انتخاب شده است (۸). بررسی KEGG PATHWAY مربوط به آپوپتوز دلالت بر معنی داری 7 مسیر بر اساس FDR ≤ 0.05 و 14 مسیر بر اساس Pvalue ≤ 0.05 داشت و همچنین ۱۳ مسیر بر اساس Benjamini معنی دار بود. لازم به ذکر است که برخی مسیرها بر اساس دو یا چند آنالیز آماری معنی دار بودند. همچنین ژن های PIK3CB، PIK3CG، AKT1، PIK3CD و PIK3R1 در بیشتر مسیرها نقش داشتند.

بنابراین، می توان نتیجه گرفت که این ۵ ژن دارای ارتباطات بیشتری بوده و اثر تنظیمی بالاتری نسبت به ۶ ژن دیگر دارند هر چه ارتباطات ژنی بیشتر باشد، دارای کمان های بیشتری با سایر گره ها هستند (۲).

در هستی شناسی ژن در بخش فرایند های بیولوژیکی (Biological Processes) حدود ۸۱/۳ درصد از مسیرها بر اساس P-value، و بر اساس FDR فقط مسیر positive regulation of protein localization to nucleus معنی دار بودند (جدول ۴). نتایج حاصل از بخش ترکیبات سلولی (Cellular Components) نشان می دهد که یک مسیر شامل phosphatidylinositol ۳ kinase complex، بر اساس FDR معنی دار شده است و کل مسیرها در این بخش بر اساس Pvalue معنی دار بودند (جدول ۲). در بخش عملکرد مولکولی (Molecular Functions) سه مسیر بر اساس FDR تمام مسیرها از نظر Pvalue معنی دار شده اند. ۱۰ مسیر نیز بر اساس آنالیز آماری Benjamini معنی دار بودند (جدول ۳). هر فرایند بیولوژیکی اغلب توسط پیامد و یا حالت نهایی خود تبیین می شود، مانند فرایند تقسیم سلولی که نتیجه آن تولید دو سلول دختر می

- 1- protein kinase cAMP-activated catalytic subunit beta
- 2- protein phosphatase 3 catalytic subunit alpha
- 3- TNFRSF1A associated via death domain

جدول ۲- جدول مربوط به مسیرهای معنی دار در بخش CC (اجزای سلولی) درهستی شناسی ژن های شبکه آپوپتوز مرغان تجاری وبومی اصفهان

Table 2- Significant pathways of cellular components from gene ontology enrichment in apoptosis gene networks of commercial and native Esfahan chickens.

هستی شناسی Ontology	کد شناسایی GO	نام مسیر Term	تعداد ژن Number	P-value	Bonferroni	Benjamini	FDR
GOTERM-CC-ALL	GO:0005942	Phosphatidylinositol3-kinase complex	4	4.78 E-07 *	3.97 E-05 **	5.12 E-04 .	5.12 E-04 ..
GOTERM-CC-ALL	GO:0061695	transferring phosphorus -containing groups	4	3.20 E-04 *	0.026254 **	0.013214 .	0.342664
GOTERM-CC-ALL	GO:0019898	extrinsic component of membrane	4	4.61 E-04 *	0.037575 **	0.012685 .	0.492917
GOTERM-CC-ALL	GO:1902494	Catalytic complex	5	0.002948 *	0.217345	0.059427 .	3.112349
GOTERM-CC-ALL	GO:1990234	Trasferase complex	4	0.009683 *	0.554081	0.149154	9.895403
GOTERM-CC-ALL	GO:0043234	Protein complex	7	0.014817 *	0.710338	0.186579	14.77378
GOTERM-CC-ALL	GO:0098796	Membrane protein complex	4	0.017838 *	0.775506	0.192179	17.53069
GOTERM-CC-ALL	GO:0032991	Macromolecular complex	7	0.034595 *	0.946188	0.305999	31.41038
GOTERM-CC-ALL	GO:0005886	Plasma membrane	6	0.040767 *	0.9684	0.318763	35.96322
GOTERM-CC-ALL	GO:00116020	membrane	9	0.044729 *	0.977587	0.316008	38.73922
GOTERM-CC-ALL	GO:0071944	Cell periphery	6	0.045921 *	0.9797993	0.298617	39.5527
GOTERM-CC-ALL	GO:0005829	cytosol*	4	0.046439	0.980684	0.280286	39.90347

••FDR≤0.05 و •Benjamini≤0.05 ، **Bonferoni≤0.05.*Pvalue≤0.05

جدول ۳- جدول مربوط به مسیرهای معنی دار در بخش MF (عملکرد مولکولی) درهستی شناسی ژن های شبکه آپوپتوز مرغان تجاری و بومی اصفهان

Table 3- Significant pathways of molecular functions from gene ontology enrichment in apoptosis gene networks of commercial and native Esfahan chickens.

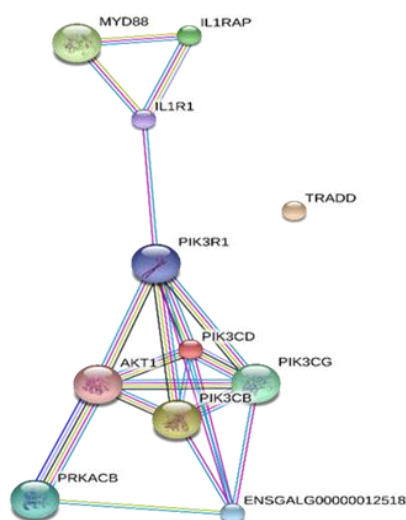
هستی شناسی Ontology	کد شناسایی GO	نام مسیر Term	تعداد ژن number	P-value	Bonferroni	Benjamini	FDR
GOTERM-MF-ALL	GO:0035005	1-Phosphatidylinositol-4-phosphate3- kinase activity	3	2.07 E-05 *	0.001532 **	0.001532 .	0.021681 ..
GOTERM-MF-ALL	GO:0016303	1Phosphatidylinositol3-kinase activity	3	4.43 E-05 *	0.003274 **	0.001639 .	0.046378 ..
GOTERM-MF-ALL	GO:0035004	Phosphatidylinositol3-kinase activity	3	5.41 E-05 *	0.003998 **	0.001335 .	0.05665 ..
GOTERM-MF-ALL	GO:0016307	Phosphatidylinositol phosphate kinase activity	3	6.49 E-05 *	0.004793 **	0.001201 .	0.06794
GOTERM-MF-ALL	GO:0052742	Phosphatidylinositol kinase activity	3	7.67 E-05	0.00566 **	0.001134 .	0.080244
GOTERM-MF-ALL	GO:0016773	Phosphotransferase activity,alcohol group as reseptor	5	0.001058 *	0.075312	0.012965 .	1.101359
GOTERM-MF-ALL	GO:0016301	Kinase activity	5	0.00158 *	0.110434	0.016578 .	1.64155
GOTERM-MF-ALL	GO:0016772	Transferase activity,transferring phosphorus-containing groups	5	0.002732 *	0.183242	0.024984 .	2.822358
GOTERM-MF-ALL	GO:0046934	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase activity	2	0.004213 *	0.268352	0.034122 .	4.323199
GOTERM-MF-ALL	GO:0052813	phosphatidylinositol bisphosphate kinase activity	2	0.004213 *	0.268352	0.034122 .	4.323199
GOTERM-MF-ALL	GO:0016740	Transferase activity	5	0.049259 *	0.976198	0.311886	41.0635

••FDR≤0.05 و •Benjamini≤0.05 ، **Bonferoni≤0.05 ، *Pvalue≤0.05

جدول ۴- جدول مربوط به مسیرهای معنی‌دار در بخش BP (فرایندهای بیولوژیکی) درهستی‌شناسی ژن‌های شبکه آپوپتوزیز مرغان تجاری وبومی اصفهان
Table 4- Significant pathways of biological processes from gene ontology enrichment in apoptosis gene networks of commercial and native Esfahan chickens.

هستی‌شناسی Ontology	کد شناسایی GO	نام مسیر Term	تعداد ژن	P-value	Bonferroni	Benjamini	FDR
GOTERM-BP-ALL	GO:190018	Positive regulation of protein localization to nucleus	4	3.21 E-05 *	0.03434 **	0.03434 •	0.05132 ••
GOTERM-BP-ALL	GO:0035556	intracellular signal transduction	8	3.92 E-05 *	0.04175 **	0.0211 •	0.06263
GOTERM-BP-ALL	GO:0048015	Phosphatidylinositol mediated signaling	4	5.27 E-05 *	0.05573 **	0.01893 •	0.0842
GOTERM-BP-ALL	GO:0048017	Inositol lipid-mediated signaling	4	5.69 E-05 *	0.05993 **	0.01533 •	0.09075
GOTERM-BP-ALL	GO:0009893	Positive regulation of metabolic process	8	7.83 E-05 *	0.08155	0.01687 •	0.12489
GOTERM-BP-ALL	GO:1900180	Regulation of protein localization to nucleus	4	1.79 E-04 *	0.17684	0.03191 •	0.28546
GOTERM-BP-ALL	GO:0042993	positive regulation of transcription factor import into nucleus	3	1.85 E-04 *	0.18227	0.02834 •	0.29515
GOTERM-BP-ALL	GO:0007165	Signal transduction	9	2.82 E-04 *	0.26373	0.03755 •	0.44873
GOTERM-BP-ALL	GO:0048518	Positive regulation of biological process	9	3.02 E-04 *	0.27961	0.03579 •	0.48062
GOTERM-BP-ALL	GO:0044744	Protein targeting to nucleus	2	3.69 E-04 *	0.33042	0.03932 •	0.58748
GOTERM-BP-ALL	GO:0006606	Protein import into nucleus	4	3.69 E-04 *	0.33042	0.03932 •	0.58748
GOTERM-BP-ALL	GO:1902593	Single-organism nuclear import	4	3.69 E-04 *	0.33042	0.03932 •	0.58748
GOTERM-BP-ALL	GO:0051170	Nuclear import	4	3.76 E-04 *	0.33563	0.03649 •	0.59889
GOTERM-BP-ALL	GO:1903829	Positive regulation of cellular protein localization	4	4.86 E-04 *	0.41076	0.04312 •	0.77396
GOTERM-BP-ALL	Go:0019222	Regulation of metabolic process	9	5.24 E-04 *	0.43454	0.04291 •	0.83399

••FDR≤0.05 و •Benjamini≤0.05 ، **Bonferoni≤0.05 ، *Pvalue≤0.05



شکل ۱- الف- شبکه ژنی آپوپتوز با استفاده از پایگاه شبکه‌های پروتئین-پروتئین و خروجی KEGG Ontology مربوط به سیستم ایمنی ب- تحلیل شبکه نشان می‌دهد که تعداد گره ۱۱، تعداد کمان ۲۰، میانگین درجه گره ۳/۶۴، ضریب کلاستری شدن، ۰/۶۲۱، تعداد کمان مورد انتظار ۷، پرمایگی برهمکنش پروتئین-پروتئین و معنی‌داری بر اساس $P\text{-value} \leq 4.04e-05$ می‌باشد.

Figure 1- A- apoptosis gene network by using of protein-protein networks base and output KEGG Ontology relation to immunu system. B- result of analysis of network :the number of node: 11, the number of bow: 20, average of node degree: 3.64, clusterination coefficient: 0.621, the number of expected bow: 7, enrichment of protein-protein

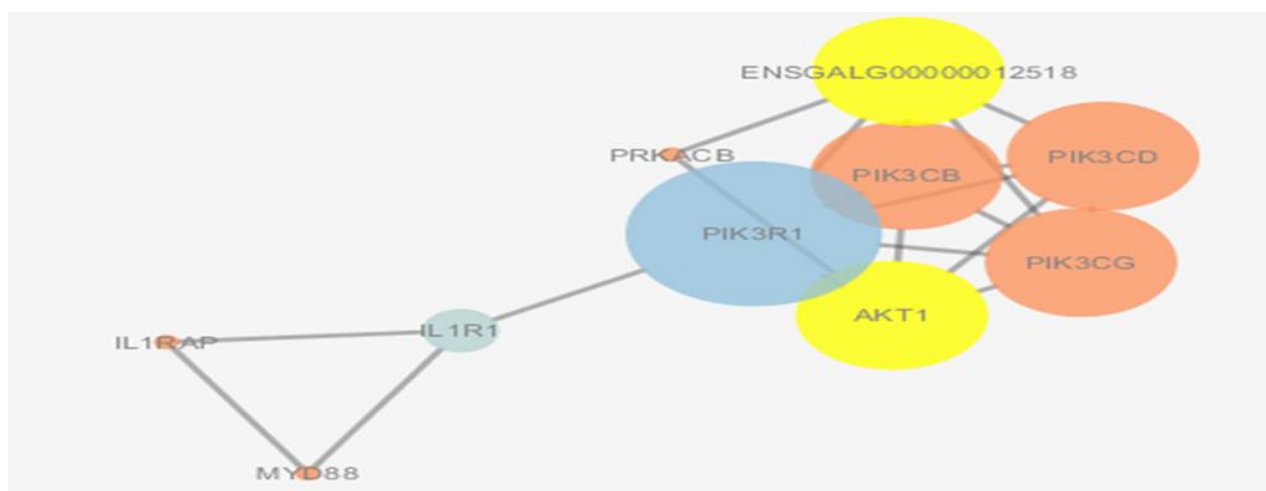
interaction and significant is based on $P\text{-value} \leq 4.04\text{e-}05$

جدول ۵- جدول مربوط به مسیرهای KEGG در شبکه آپوپتوز مرغان تجاری و بومی اصفهان

Table 5-KEGG pathways in apoptosis gene networks of commercial and native Esfahan chickens.

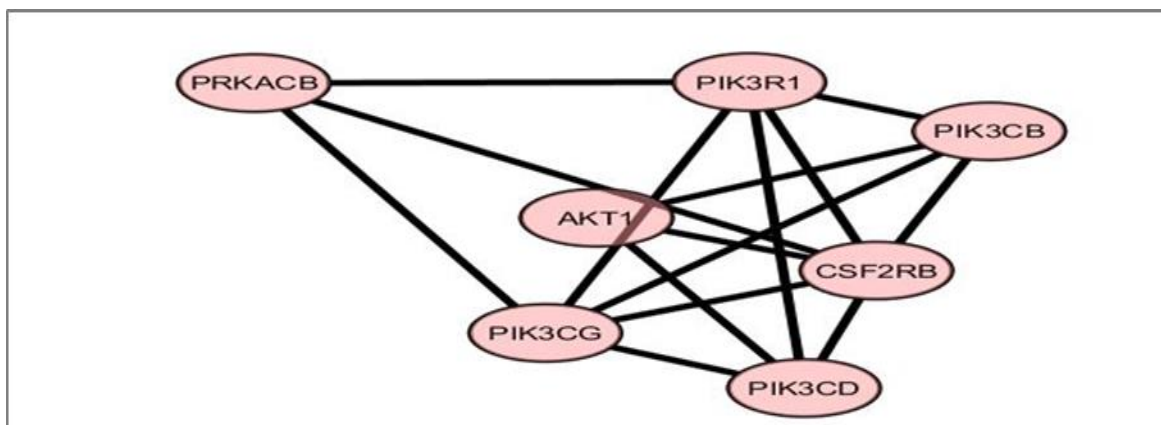
ردیف Category	نام مسیر Term	تعداد ژن Count	P-value	Bonferroni	Benjamini	FDR
KEGG_PATHWAY	gga04210:Apoptosis	11	1.20 E-17	3.123 E-16	3.1234 E-16	9.852 E-15
KEGG_PATHWAY	gga04370:VEGF signaling pathway	4	3.968 E-07 *	1.032 E-05 **	5.1586 E-06 .	0.0003254 ..
KEGG_PATHWAY	gga04914:ptogestron-mediated oocyte maturation	6	9.03 E-07 *	2.348 E-05 **	7.8256 E-06 .	0.0007405 ..
KEGG_PATHWAY	gga04620:Toll-like receptor signaling pathway	6	1.393 E-06 *	3.622 E-05 **	9.0542 E-06 .	0.0011423 ..
KEGG_PATHWAY	gga04150:Mtor signaling pathway	5	5.058 E-06 *	0.0001315 **	2.6301 E-05 .	0.0041478 ..
KEGG_PATHWAY	gga04910:insulin signaling pathway	6	8.573 E-06 *	0.0002229 **	3.7148 E-05 .	0.0070301 ..
KEGG_PATHWAY	gga04650:Natural Killer cell mediated cytotoxicity	5	2.875 E-05 *	0.0007473 **	0.00010679 .	0.0235756 ..
KEGG_PATHWAY	gga04012:Erb B signaling pathway	5	5.172 E-05 *	0.0013439 **	0.00016809 .	0.0424088 ..
KEGG_PATHWAY	gga04630:JaK-STAT signaling pathway	5	0.0002411 *	0.0062494 **	0.00069631 .	0.1975384 ..
KEGG_PATHWAY	gga04070:Phosphatidylinositol signaling system	4	0.0007332 *	0.0188905 **	0.00190531 .	0.5997287 ..
KEGG_PATHWAY	gga04510:Focal adhesion	5	0.0011689 *	0.0299516 **	0.00276066 .	0.9545672 ..
KEGG_PATHWAY	gga00562:inositol phosphate metabolism	3	0.0081117 *	0.1908449	0.01749226 .	6.461182 ..
KEGG_PATHWAY	Gga04810:Regulation of actin cytoskeleton	4	0.0123097 *	0.2753288	0.02446779 .	9.6586793 ..
KEGG_PATHWAY	Gga04010:MAPK signaling pathway	4	0.0221439 *	0.441339	0.04073374 .	16.776319 ..

••FDR $\leq$ 0.05 و •Benjamini $\leq$ 0.05 ، **Bonferoni $\leq$ 0.05 ، *Pvalue $\leq$ 0.05



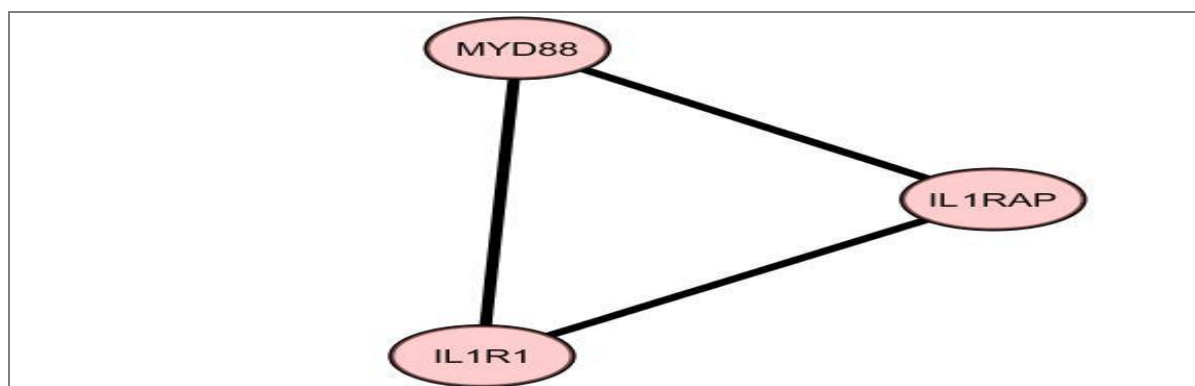
شکل ۲- آنالیز شبکه ژنی آپوپتوز در نرم افزار Cytoscape، بر اساس Centralities شامل درجه (Degree) و مرکزیت بینایی (Beetwinness) که اندازه گره ها از کوچک به بزرگ نشان دهنده افزایش ارزش آنها از نظر درجه و میزان رنگ گره ها از تیره به روشن نشان دهنده کاهش گرایش به ماندن در مرکز می باشد.

Figure 2- Analysis of apoptosis gene network at Cytoscape, based on Centralities included Degree, Beetwinness, and nodes size from small to great indicate increase of degree value and nodes color from dark to bright indicate decrease of tendency to center



شکل ۳- الف- کلاستر PIK3R1 حاصل از شبکه ژنی به دست آمده از استرینگ و آنالیز آن توسط نرم افزار سایتواسکیپ به منظور تبیین و رسم کلاسترهای مربوط به شبکه ژنی آپوپتوز ب- مشخصات کلاستر ۱ شامل تعداد گره: ۷ تراکم: ۰/۷۶۲، کیفیت: ۰/۹۴۱ و P-value: 4.284E-4 می باشد.

Figure 3A - PIK3R1 cluster from gene network outcome from string and analysis by cytoscape in order to drawing apoptosis gene network clusters, B- properties of cluster1: node number: 7, density: 0.762, quality: 0.941 and Pvalue: 4.284E-4



شکل ۴- الف- کلاستر IL1R1 حاصل از شبکه ژنی به دست آمده از استرینگ و آنالیز آن توسط نرم افزار سایتواسکیپ به منظور تبیین و رسم کلاسترهای مربوط به شبکه ژنی آپوپتوز ب- مشخصات کلاستر ۲ تعداد گره: ۳ تراکم: ۱/۰۰۰، کیفیت: ۰/۷۵۰ و P-value: 0.030 می باشد.

Figure 4- A - IL1R1 cluster from gene network outcome from string and analysis by cytoscape cytoscape in order to drawing apoptosis gene network clusters, B- properties of cluster2 : node number: 3, density: 1/000, quality: 0.750 and Pvalue: 0.030

مختلفی باعث مهار مرگ سلولی می شود و از این رو، این مسیر را به عنوان مسیر بقای سلولی نیز نامگذاری کرده اند (۲۷) از طرف دیگر IAP نیز مانند AKT1 یکی از مولکول های مهم و درگیر در مهار مرگ سلولی است که در این مطالعه بیان نشده است (۱۳ و ۲۶). باتوجه به نتایج این تحقیق می توان بیان داشت که سه ژن شامل AKT1، CSF2RB و PIK3R1 با اثر عمده وجود دارند که بر سایر ژن ها تاثیر گذار می باشند).

پس از رسم شبکه ژنی به بررسی کلاسترهای مربوط به شبکه پرداختیم. به منظور مشخص کردن کلاسترهای مذکور از نرم افزار سایتواسکیپ استفاده شد (شکل ۴ و ۵).

همانطور که مشاهده می شود، تراکم یک شبکه نسبت عکس با تعداد گره ها دارد. با افزایش گره ها تراکم کاهش می یابد. همچنین

نتایج آماری حاصل از آنالیز شبکه ژنی مورد مطالعه توسط نرم افزار cytoscape نیز نشان دهنده این مطلب می باشد که عامل اصلی ارتباطات داخل شبکه ژن AKT1 می باشد و کمتر تحت تاثیر سایر ژن ها قرار می گیرد، زیرا بالاترین برون رفت^۱ و پایین ترین درون رفت^۲ را دارد و پس از آن ژن CSF2RB^۳ هم نقش مهمی در ارتباطات شبکه داراست. گره هایی که درجه برون رفت بالا دارند، ارتباط همسایگان^۴ آنها نیز بیشتر می باشد (۲).

AKT1 دارای سوبستراهای متعددی می باشد و از مسیرهای

- 1- out degree
- 2- in degree
- 3- ENSGALG00000012518
- 4- Neighborhood Connectivity

مسیرهای پاسخ ایمنی ذاتی نقش دارند، مانند مقابله با باکتری‌ها و ویروس‌ها و یا فرایند مهار و عدم مهار آپوپتوز توسط پروتئین‌های خاص که می‌تواند منجر به بیماری و یا جلوگیری از بیماری شود، پس می‌توان در برنامه‌های اصلاح نژادی از این ژن‌های خاص درگیر استفاده کرده و درجهت خاص مورد نظر میزان بیان آنها را با روش‌های مناسب سلولی و مولکولی و یا با استفاده از روش‌های اپی‌ژنتیک تنظیم نمود. از سوی دیگر میزان بیان بالا در ژن‌های سوبیه تجاری نسبت به سوبیه بومی در این مطالعه نیز مانند مطالعات گذشته مورد تاکید قرار گرفت.

اگر شبکه ای کمان نداشته باشد، و گره‌های جداگانه و ایزوله داشته باشد، تراکم صفر است (۲).

نتیجه گیری کلی

با توجه به اهمیت بیان و عملکرد ژن‌های آپوپتوزیز که در بسیاری از مطالعات مشخص شده است و همچنین میزان عملکرد و بیان ژن‌ها در مطالعه حاضر، خصوصاً ژن‌های AKT1 و CSF2RB و PIK3R1 که طی آنالیزهای بیوانفورماتیکی به اهمیت تنظیمی و میزان ارتباطات آنها در شبکه ژنی به دست آمده در این پژوهش، پی برده شد، می‌توان نتیجه گرفت از آنجا که برخی ژن‌های آپوپتوز در

منابع

1. Baoman, W. 2015. Identifying Novel Candidate Genes Related to Apoptosis from a Protein-Protein Interaction Network. Computational and Mathematical Methods in Medicine, Olume, Article ID 715639, 11 pages.
2. Behdani, E. 2017. Bayesian network constructing using bovine leukocytes RNA-seq data. Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan College of Animal and food Sience, Department of Animal Science, (In Persian).
3. Blasius A. L., and B. Beutler. 2010. Intracellular toll-like receptors. *Immunity*, 32(3):305–15.
4. Bolger A. M., M. Lohse, and B. Usadel. 2014 Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* Bioinformatics, 30(15):2114-20.
5. Christophe D., and N. Škunca. 2017. The Gene Ontology Handbook, Methods in Molecular Biology. International Standard Book Number (ISBN), 978-1-4939-3741-7.
6. Chunyun. W., X. Jinmei, R. Guo, S. Yang, Y. Li, and D. Guo. 2017. An RNA-Seq screen of the dithiothreitol-induced apoptosis response in chicken cardiomyocytes. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 10(2):1019-1029.
7. Dennis G., B. T. Sherman, D. A. Hosack, J. Yang, W. Gao, H. C. Lane. 2003. DAVID: Database for annotation, visualization, and integrated discovery. *Genome biology*, 4(9):1
8. Derrick J. Coble, Damarius Fleming, Michael E. Persia, Chris M. Ashwell, Max F. Rothschild, Carl J Schmidt, and Susan J. Lamont. 2014. RNA-seq analysis of broiler liver transcriptome reveals novel responses to high ambient temperature. *BMC Genomics*, 15:1084.
9. Gesing Adam, Michal M. Masternak, Feiya Wang, Andrzej Lewinski, Malgorzata Karbownik-Lewinska, and Andrzej Bartke. 2011. Decreased Expression Level of Apoptosis-Related Genes and/or Proteins in Skeletal Muscles, but not in Hearts, of Growth Hormone Receptor Knockout Mice. *Exp Biol Med (Maywood)*, February, 236(2): 156–168.
10. Gloria, K., L. Anandaroop Mukhopadhyay, C. Cowing-Zitron, and B. D. Yu. 2011. The Post-Apoptotic Fate of RNAs Identified Through High-Throughput Sequencing of Human Hair. 6 (11) 27603: 1-10.
11. Gordon, S. 2004. Pathogen recognition or homeostasis? APC receptor functions in innate immunity. *Comptes Rendus Biologies*, 327(6): 603-607.
12. Hashemi M., and S. Ghavami. 2008. Methods of Studying the Apoptosis. *JRUMS*, 7 (1):71-78(In Persian).
13. Haunshi S., M. Niranjani, M. Shanmugam, M. K. Padhi, M. R. Reddy, R. Sunitha, U. Rajkumar, and A. K. Panda. 2010. Characterization of two Indian native chicken breeds for production, egg and semen quality and welfare traits. *Poultry Science*, 90: 314-320.
14. Hoffman, S., and R. Ettinger. 2002. Cytokines and their role in lymphoid development, differentiation, and homeostasis. *Current opinion in Allergy and Clinical Immunol*, 495-506.
15. Honardoost, Maryam, H Soleimanjahi, F. Rajaei. 2013. Apoptosis: programmed cell death, *Journal of Qazvin University of Medical Sciences*, 17(3) 48-57 (In Persian).
16. Hang Yin, ShaoPeng Wang, Yu-Hang Zhang, Yu-Dong Cai, and Hailin Liu. 2016. Analysis of important gene ontology terms and biological pathways related to pancreatic cancer. *BioMed Research International*. Article ID 7861274, 10 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7861274>.
17. Kerr, J. F., A. H. Wyllie, and A. R. Currie. 2013. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implication in tissue kinetics. *British Journal of Cancer*, 1972 Aug; 26 (4): 239-57.

18. Kim, D., G. Pertea, C. Trapnell, H. Pimentel, R. Kelley, and S. L. Salzberg. 2013. TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions. *Genome Biology*, 14:R36, <http://genomebiology.com>.
19. Kitano. H. 2000. Perspectives on systems biology. *New Generation Computing*, 18(3): 199–216.
20. Lamont, S. J. 2006. Integrated, whole-genome approaches to enhance disease resistance in poultry. *Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 13-18 August, Instituto Prociência, 07-01.
21. Lanier, L. 2005. N K-Cell Recognition. *Annuol Review of Immunology*, 23: 225-274.
22. Mark, S. G., P. Kaiser, and M. Fife. 2014. The chicken IL-1 family: evolution in the context of the studied vertebrate lineage. *Immunogenetics*, 66 (7-8): 427–438.
23. Moazeni S., M. R. Mohammadabadi, M. Sadeghi, H. Shahrababak, A. Koshkoieh, and F. Bordbar. 2016a. Association between UCP Gene Polymorphisms and Growth, Breeding Value of Growth and Reproductive Traits in Mazandaran Indigenous Chicken. *Open Journal of Animal Sciences*, 6 (1): 1-8.
24. Moazeni S. M., M. R. Mohammadabadi, M. Sadeghi, H. Moradi Shahrababak, A. K. Esmailizadeh. 2016b. Association of the melanocortin-3(MC3R) receptor gene with growth and reproductive traits in Mazandaran indigenous chicken. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 4 (2): 51-56.
25. Mohammadabadi, M. R., M. Nikbakhti., H. R. Mirzaee, A. Shandi, D. A. Saghi, M. N. Romanov, and I. G. Moiseyeva. 2010. Genetic variability in three native Iranian chicken populations of the Khorasan province based on microsatellite markers. *Russian journal of genetics*, 46 (4): 505-509.
26. Nishawar, J., M. Hussain, K. I. Andrabi. 2008. Programmed cell death or apoptosis: Do animals and plants share anything in commo. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 3 (5): 111-126.
27. Noori Dalooi M. R., and E. Ebrahimzadeh Vesal. 2009. Molecular genetic, diagnosis, prevention and gene therapy in prostatic cancer, *Tehran University Medicine Journal*, 67 (1): 1-1(in Persian).
28. Noori-Dalooi M. R., and F. Vand Rajabpour. 2011. Roles of miRNAs in gene expression regulation, apoptosis, diagnosis and treatment of cancer. *Medical Sciences*, 21 (3):151-161(In Persian).
29. Offen D., Elkon H., Melamed E., 2000. Apoptosis as a general cell death pathway in neurodegenerative diseases. *Journal of neural transmission*. Supplement, 21: 153-166.
30. Paul, D. T. 2017 The Gene Ontology and the Meaning of Biological Function, volum1446 https://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-4939-3743-1_2.
31. Rezayi, M., L. Zaidooni. 2012. The rule of estatines in apoptosis, *Razi Journal of Medical science*, 4: 11-19 (In Persian).
32. Rimoldi, S., E. Lasagna, F. Maria Sarti, S. Paolo Marelli, M. Cristina Cozzi, G. Bernardini, G. Terova. 2015. Expression profile of six stress-related genes and productive performances of fast and slow growing broiler strains reared under heatstress conditions. *Science Direct, Meta Gene*, 6: 17–25.S. A. Biosciences, a QIAGEN company. All rights reserved, Copyright © 2000-2010, Chicken Apoptosis PCR Array. http://www.sabiosciences.com/rt_pcr_product/HTML/PAGG-012Z.html.
33. Salehinasab M., S. Zerehdaran, M. A. Abbasi, S. Alijani, and S. Hassani. 2016. The analysis of genetic and phenotypic properties of egg quality traits in Isfahan native fowl. *Iranian Journal of Animal Science Research*, Article 10, 16 (5): 1055-1062. (In Persion).
34. Shahdadnejad N., M. R. Mohammadabadi and M. Shamsadini. 2016. Typing of Clostridium Perfringens Isolated from Broiler Chickens Using Multiplex PCR. *Genetics in the 3rd millennium*, 14 (4).
35. Trapnell C., Williams B. A, Pertea G, Mortazavi A, Kwan G, van Baren M. J, Salzberg S. L, Wold and B. J, Pachter. 2010. Transcriptassembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotatedtranscripts and isoform switchingduring cell differentiation. *Nature biotechnology*, 28(5):511-5.
36. Yaron F., and H. Steller. 2011. Programmed Cell Death in Animal Development and Disease. *Cell journal*, Cell 147, November, Elsevier Inc.
37. Zandi, E., M. R. Mohammadabadi, M. Ezzatkah, and A. K. Esmailizadeh. 2014. Typing of Toxigenic Isolates of Clostridium Perfringens by Multiplex PCR in Ostrich. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 4: 509-514.



Gene Expression Analysis on Apoptosis network and design it in Esfahani and Ross Breeds

Zh. Hesani¹- M. R. Nasiry^{2*}- M. R. Bakhtiarizadeh³- M. Tahmorespur²- A. Javadmanesh⁴

Received: 15-07-2017

Accepted: 16-10-2017

Introduction Economic pressure on the modern poultry industry has directed the selection process towards fast-growing broilers that have a reduced feed conversion ratio. Selection based heavily on growth characteristics could adversely affect immune competence leaving chickens more susceptible to disease. Native breeds of chickens are playing an important role in rural economies in most of the developing and underdeveloped countries. The immune system is an adaptive defended at evolved in phylogenesis to control an organism's integrity and apoptosis system is involved in many immune system mechanisms and diseases therefore this study has emphasized on apoptosis system. Recently, next generation sequencing technology (RNA-Seq) has become available as a powerful tool to investigate transcriptional profiles for gene expression analysis of many organisms. So, we performed comparative gene expression analysis of native and commercial chickens by RNA-sequencing technology, in order to, detect differentially expressed genes involved in apoptosis in native and commercial breed poultry.

Materials and methods The chicken in this study was female from Esfahani and Ross breeds (47 days of age). The blood samples were collected from Brachial/ulnar wing vein; 5 ml was taken. The total RNA was extracted by using Trizol (Invitrogen, USA) according to the manufacture's protocol. The RNA pool was prepared by mixing together equal quantities of three RNA samples per group/ Total RNA was sent to BGI Company (China) for paired-end sequencing by an Illumina Hiseq 2000 platform and the raw reads were generated. Approximately 18 million fragments were sequenced with length of 150 bp. The quality of the row data was checked with Fast QC vol 0.11.2 and Trimmomatic (v 0.35) were used to remove Illumina adaptors, trimming of reads as well as quality or filtering reads by removing low-quality reads. The reads passed the quality control were mapped to the reference genome using Tophat2 (v2.1.1). For aligning and DE analyzing were used cufflinks, cuffmerge and cuffdiff. Then significant DEGs imported to String for creating gene expression network and use DAVID 6.8 for investigation gene annotation and pathway analysis and finally Cytoscape v. 3.5.1 was used for network and cluster analysis.

Results and Discussion Among 1328 significant differentially expressed genes in immune system, 11 genes were identified in a pathway in KEGG database, which named apoptosis genes. Gene ontology has been shown that the most significant biological process term containing 4 genes in term of GO: 1900182 positive regulation of protein localization to nucleus. The apoptosis genes Network analysis showed that number of nodes was 11, number of edges was 20, average of degree was 3.64, average local clustering coefficient was 0.621. Furthermore, analysis of apoptosis gene networks by Cytoscape showed that PIK3R1 had the highest value by degree. Beside of this result, AKT1 and CSF2RB had the highest value by Beettwinness Centrality. The highest out degree and the lowest in degree were related to AKT1.

1-PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

2-Professor, Department of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

3-Assistant professor, Department of Animal Science, Aburairhan Campus, University of Tehran, Iran.

4-Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

(*-Corresponding Author Email: nassiry@um.ac.ir)

Conclusion Overall, 3 apoptic genes including PIK3R1, AKT1 and CSF2RB were recognized as very important in breeding poultry. According to involving apoptic genes in disease and Innate immune system, we may use these genes in breeding plans. We can regulate them with appropriate cell and molecular methods or using epigenetic procedures.

Keywords: Apoptosis, Esfehan and Commercial Breeds of Chickens, Gene Ontology, RNA-seq.

تنوع ژنتیکی و آنالیز فیلوژنتیکی ناحیه D-loop ژنوم میتوکندری گوسفند نژاد بلوچی

فاطمه بحری بیناباج^{۱*} - گلناز بی همتا^۲ - زانا پیرخضریانان^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۲۵

چکیده

توالی یابی ژنوم میتوکندری یکی از رایج ترین روش های طبقه بندی تکاملی حیوانات می باشد. به منظور بررسی تاریخچه تکاملی گوسفند نژاد بلوچی واقع در منطقه شرق کشور ایران، از ۳۰ نمونه گوسفندان واقع در مرکز اصلاح نژاد شمال شرق کشور به صورت تصادفی خونگیری شد. بعد از استخراج DNA توسط کیت DNA Prep و تکثیر ناحیه D-loop میتوکندری ژنوم به کمک پرایمرهای اختصاصی، توالی یابی انجام پذیرفت. بررسی کیفیت توالی ها، ساختار نوکلئوتیدی و جهش های مربوطه با استفاده از نرم افزارهای مختلف انجام شد. هشت زیر گروه هاپلوتایپی هر یک با فراوانی ۷/۴، ۷/۴، ۱۴/۸۱، ۱۱/۱۱، ۱۸/۵۱، ۱۴/۸۱، ۱۱/۱۱ و ۱۴/۸۱ مشاهده و تنوع ژنتیکی موجود در بین ۲۷ نمونه 0.005 ± 0.131 محاسبه شد که این مقدار در محدوده متوسط تنوع نوکلئوتیدی در یوکاریوت ها قرار داشت. آنالیز فیلوژنتیکی این نمونه ها نشان داد که گوسفند نژاد بلوچی در گروه هاپلوتایپی A واقع شده است. از آنجا که خاستگاه اصلی هاپلوتایپی A مربوط به آسیا و خاورمیانه می باشد و با توجه به نتایج مطالعات قبلی بر روی گوسفندهای بومی ایران که حاکی از قرار گرفتن این گوسفندان در هاپلوتایپ مذکور می باشد، قرار گرفتن گوسفند بلوچی نیز در این هاپلوتایپ قابل توجیه است.

واژه های کلیدی: ژنوم میتوکندری، فیلوژنتیک، گوسفند بلوچی، هاپلوتایپ.

مقدمه

محصولات دامی و تولید محصولات پیش بینی نشده در آینده، لزوم حفظ تنوع ژنتیکی در دام های بومی را الزامی ساخته است. ژنوم میتوکندری در پستانداران یک مولکول در هم پیچیده حلقوی با وزن ملکولی تقریباً ۱۶ کیلو جفت باز و حاوی ژن های ریبوزومی و tRNA و mRNA می باشد. این ژنوم در گوسفند ۱۶/۵۸ کیلو جفت باز بوده و سازماندهی آن همانند سایر پستانداران است (۷، ۳۴). روش های مولکولی مانند توالی یابی ژنوم میتوکندری یکی از کاربردی ترین روش ها برای تعیین رابطه فیلوژنتیکی بین جمعیت ها و گونه های نزدیک به هم محسوب می شود (۳، ۲۵). نرخ تکامل در DNA میتوکندریایی^۴ ۵ تا ۱۰ برابر سریع تر از DNA هسته ای است و ژن های این ناحیه معمولاً دچار نوترکیبی نمی شوند (۲۵، ۳۳). mtDNA در حیوانات، دارای توارث مادری و در داخل یک گونه بسیار متغیر است؛ بنابراین می توان از آن به عنوان یک ماده ژنتیکی مهم برای استنباط های فیلوژنتیکی و آنالیزهای تنوع ژنتیکی استفاده نمود (۲۵، ۳۵). سه ویژگی مهم mtDNA آن را به مارکر ژنتیکی کارآمدی برای بررسی سیستماتیک مولکولی، ژنتیک جمعیت و بررسی روابط شجره ای گونه های خویشاوند نزدیک تبدیل کرده است. این ویژگی ها عبارتند از اینکه mtDNA از مادر بدون توجه به جنسیت به فرزند به

از جمله سرمایه های ملی و ذخایر استراتژیک هر کشور، حیوانات و گیاهان بومی هستند که حفظ و تکثیر آنها از ارزش و اهمیت بسیاری برخوردار است. چرا که پس از هزاران سال انتخاب طبیعی و مصنوعی و نیز عبور از موانع بسیار و با غلبه بر تمامی شرایط نامساعد محیطی همچنان توانسته اند به حیات خویش ادامه داده و به تکثیر و ازدیاد نسل بپردازند و نسبت به محدودیت های محیطی سازگاری پیدا کنند (۱۶). نژادهای بومی به دلیل شدت انتخاب پایین، تعداد پرورش دهندگان و محدودیت استفاده از تلقیح مصنوعی از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار هستند. از طرفی با گذشت زمان و کسب آگاهی بیشتر نسبت به اهمیت صفات مختلف، نیازهای جدیدی مطرح می شود که متخصصین اصلاح نژاد را بر آن می دارد که از ژن های بومی استفاده نمایند. این مسئله به خصوص با افزایش تولید

۱- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

۲ و ۳- به ترتیب فارغ التحصیل کارشناسی ارشد و دانشجوی دکترا ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(*)-نویسنده مسئول: (Email: fatemebahri_b@yahoo.com)

DOI: 10.22067/ijasr.v1397i1.63715

شرقی کشور ایران، به دلیل قدرت راهپیمایی بالا و مقاومت در برابر کم آبی توانسته است به خوبی با شرایط جوی گرم و خشک منطقه شرق و جنوب شرق کشور ایران سازگار شود (۲۹). با توجه به تنوع زیاد گونه‌ها و زیرگونه‌ها، اهمیت نگهداری خلوص نژادهای بومی و اطلاعات ناقص درمورد منشأ اهلی شدن گوسفندان ایرانی، این پژوهش با هدف بررسی میزان تنوع موجود در گوسفندان نژاد بلوچی، بررسی نوع هاپلوتاایپ این نژاد و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی ناحیه D-loop میتوکندریایی صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و استخراج DNA

به منظور انجام این تحقیق تعداد ۳۰ نمونه بیولوژیکی (خون) به صورت تصادفی و با اطمینان از عدم وجود رابطه خویشاوندی بین نمونه‌ها، از مرکز اصلاح نژاد شمال شرق کشور جمع‌آوری شد. نمونه‌های خون تا زمان استخراج DNA در لوله‌های حاوی EDTA در دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از کیت DNA Prep DIAtom محصول Iso Gene کشور روسیه صورت گرفت. برای آگاهی از میزان خلوص و کیفیت DNA از الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد و برای تعیین کمیت آن از دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ مدل ND-200 شرکت THERMO آمریکا استفاده شد.

انتخاب آغازگر، انجام واکنش PCR و خالص‌سازی

محصولات PCR

جهت تکثیر اختصاصی ناحیه D-loop یک جفت پرایمر با استفاده از نرم‌افزار Primer Premier5 (۱۵) طراحی شد. محدوده طراحی این پرایمرها tRNA-Pro و tRNA-Phe بر روی mtDNA بود (جدول ۱). سپس، با استفاده از رویه BLASTPrimer موجود در پایگاه بانک جهانی ژن (NCBI)، میزان همپوشانی آن‌ها با توالی‌های موجود، مقایسه گردید تا از اختصاصی بودن پرایمرهای رفت و برگشت اطمینان حاصل شود.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای تکثیر قطعه ۱۱۸۰ جفت بازی ناحیه D-loop از mtDNA توسط دستگاه ترموسایکلر Biometra مدل T-personal براساس روش استاندارد و در ۳۲ چرخه انجام گرفت. اجزای واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۰۰mM Tris-HCL (PH 8.8)، ۱ واحد آنزیم Taq پلیمرز، ۵pmol از هر کدام از dNtp، ۰/۲mM MgCl₂، ۱/۵mM از هر کدام از آغازگرهای اختصاصی ژن و ۱۰۰ نانوگرم از DNA هدف با استفاده از برنامه حرارتی واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد برای ۳۰

ارث می‌رسد (۲)، در mtDNA نو ترکیبی رخ نمی‌دهد از این رو می‌توان شجره مادری را به طور واضح بررسی و تعیین نمود (۱۰). همچنین سرعت متوسط تعویض و جایگزینی نوکلئوتیدهای mtDNA در مهره‌داران عالی تقریباً ۱۰-۵ برابر سرعت ژنوم هسته‌ای است. DNA میتوکندری یک ملکول دو رشته‌ای حلقوی است که در خارج از هسته قرار دارد و طول آن در گونه‌های مختلف بین ۱۵ تا ۲۰ کیلو جفت باز است. ژنوم میتوکندری دارای ناحیه‌ای به نام D-loop یا ناحیه کنترل است که فاقد هر گونه ژن رمزکننده بوده و میزان جهش نوکلئوتیدها در این منطقه حدود ۱۰ برابر DNA هسته‌ای است (۱). D-loop حاوی پروموتورهای تنظیم رونویسی در میتوکندری می‌باشد (۱۷) و به دو ناحیه اصلی HVR1 و HVR2 تقسیم می‌گردد. به دلیل اینکه این ناحیه هیچ نوع پروتئینی را کد نمی‌کند، جهش‌هایی که در آن صورت می‌گیرد ابقاء می‌شوند (۱۳). به دلیل هاپلوئید بودن ژنوم میتوکندری و انجام نشدن فرایند میوز، امروزه توالی D-loop ناحیه ژنوم میتوکندری به عنوان ابزاری قدرتمند برای مطالعه منشأ و نحوه تفرق انواع گونه‌های حیوانی مورد استفاده قرار گرفته است (۱). منشأ گوسفند اهلی کنونی (*Ovis aries*) کاملاً مشخص نیست. احتمالاً اجداد گوسفند اهلی کنونی، چندین گونه و زیر گونه گوسفند وحشی است (۲۶). البته پیشنهاد شده است که گوسفندان نژاد اورال (*O. vignei*) و موفلون (*O. musimon or O. orientalis*) می‌توانند اجداد گوسفندان اهلی امروزی باشند (۳۶). پژوهشگران با مطالعه روی ژنوم میتوکندری گوسفند توانستند که گوسفندان را در پنج هاپلوگروپ مختلف A, B, C, D و E گروه‌بندی کنند. هاپلوگروپ‌های A و B برای اولین بار در سال ۱۹۹۶ گزارش شدند (۳۶) که بیشترین فراوانی را نیز دارند. در ادامه محققین موفق به شناسایی هاپلوگروپ دیگری شدند که آن را C نام‌گذاری کردند (۱۱). این هاپلوگروپ در پی فرایند رشد جمعیت گوسفند در اثر اهلی شدن این حیوان یافت شد. سپس در سال ۲۰۰۶ نیز یک گروه هاپلوگروپ دیگر (هاپلوگروپ D) گزارش شد (۳۱). هاپلوتاایپ گروپ D فراوانی کمی دارند بنابراین هنوز چگونگی پیدایش این هاپلوگروپ‌ها بررسی نشده است. مقیاس‌های وسیعی از توزیع جغرافیایی که از چند شکلی‌های حاصله از توالی‌های اضافه شده مربوط به رتروویروس‌ها به وجود آمده، دو موج اصلی از مهاجرت‌های گوسفند را پیشنهاد کرده است. موج اول مربوط به توسعه گوسفندان اولیه اهلی است که با دومین موج مهاجرت گوسفند از جنوب غرب آسیا که شامل گوسفندانی با صفاتی بهبود یافته بود جایگزین شد. این اتفاق تقریباً مربوط به ۵۰۰۰ سال قبل از زمان حاضر (YBP^۱) بود (۵). گوسفند بلوچی یکی از مهم‌ترین و پرجمعیت‌ترین گوسفندان ایرانی است که نقش مهمی در تولید گوشت قرمز در ایران را دارد. نژاد بلوچی، با توزیع جغرافیایی شرق و جنوب

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر روی ژل آگارز ۱ درصد و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید در ولتاژ ۱۰۰ ولت و به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد و برای تعیین حدود اندازه آن از DNA Ladder 100bp استفاده شد.

ثانیه، اتصال در دمای ۵۷ درجه برای ۳۰ ثانیه، تکثیر در دمای ۷۲ درجه برای ۴۵ ثانیه، یک مرحله واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد برای ۵ دقیقه و یک مرحله تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه برای ۱۰ دقیقه در ۳۵ سیکل تکثیر شد. الکتروفورز محصولات

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده و طول قطعه تکثیر شده

Table 1- sequences of primers used in this study and length of amplified fragment

طول محصول PCR Length of PCR product	توالی پرایمر Primer sequence	پرایمر و محدوده طراحی Primer and range of design
1180	5'-CACTATCAACACCCAAAGCTG-3' 5'-TCATCTAGGCATTTTCAGTG-3'	Forward: tRNA-Pro Reverse: tRNA-phe

نرم‌افزار Arlequin 3.5 (۶) به دست آمد. همچنین جهت رسم درخت فیلوژنتیکی با ۱۰۰۰ تکرار، از رویه Neighbor-Joining نرم‌افزار MEGA5 و جهت تعیین فاصله ژنتیکی از رویه Create Pairwise Comparison نرم‌افزار CLC Main workbench 5.5 استفاده شد.

نتایج و بحث

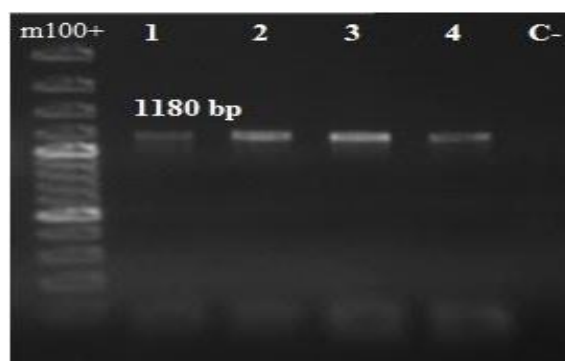
استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

استخراج DNA از نمونه‌های بیولوژیکی خون در تمامی نمونه‌ها با موفقیت انجام شد. نتایج طیف سنجی نشان داد که DNA استخراج شده از کیفیت مناسبی برای انجام PCR برخوردار است. الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر روی ژل آگارز ۱ درصد نشان داد که پرایمرها به خوبی فعالیت نموده و قطعات اختصاصی برای ناحیه D-loop طول ۱۱۸۰ جفت باز تولید شده است. وجود یک باند اختصاصی نشان داد که ناحیه‌ی مشابه برای جفت شدن آغازگرهای مورد استفاده در محل‌های دیگر ژنوم وجود نداشته است و عدم وجود باند در قسمت کنترل منفی نشان‌دهنده‌ی عدم وجود هر گونه آلودگی در واکنش‌ها بود (شکل ۱).

مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محصولات PCR پس از برش از ژل، خالص‌سازی شد و به همراه ۵۰ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰ پیکومول به منظور تعیین توالی به شرکت بایونیر کره جنوبی ارسال گردیدند. نمونه‌ها به روش اتوماتیک و با استفاده از دستگاه AB1 3130 توالی‌یابی گردیدند. لازم به ذکر است که برای بالا بردن دقت توالی‌یابی، هر نمونه با هر دو پرایمر مستقیم و معکوس توالی‌یابی شد.

توالی‌یابی ناحیه D-loop و آنالیز توالی‌ها

آنالیز قطعات توالی‌یابی شده با استفاده از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی CLC Main workbench 5.5 (۱۴)، Chromas Lite 2.01 (۳۲)، MEGA5 (۳۰) و Bio Edit (۹) برای ۳۰ نمونه انجام گرفت. ابتدا توالی‌های نوکلئوتیدی به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار Chromas Lite 2.01 ویرایش شدند، بعد از اطمینان از کیفیت توالی‌ها و تبدیل کردن فرمت توالی‌ها از ab1 به FASTA، از ابزار BLAST و رویه BLASTN در پایگاه NCBI و نرم‌افزار CLC Main workbench 5.5 جهت تعیین همولوژی توالی به دست آمده با توالی‌های ثبت شده از همین ژن در NCBI و همچنین خود توالی‌ها با هم استفاده شد. میزان تنوع نوکلئوتیدی توسط

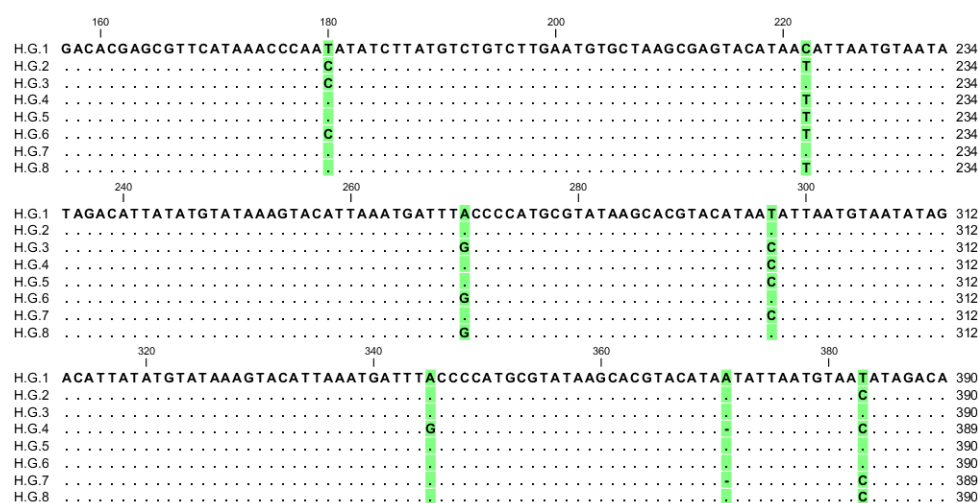


شکل ۱- الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ناحیه D-loop میتوکندریایی
Figure 1- Electrophoresis of PCR products of mitochondrial D-loop

نوکلئوتیدی و درصد تشابه هر کدام از زیرگروه‌های هاپلوتایپی نسبت به یکدیگر در جدول ۲ نشان داده شده است. بیشترین اختلاف نوکلئوتیدی را دو زیر گروه هاپلوتایپی دو و هفت با ۱۰ نوکلئوتید اختلاف یعنی ۹۹/۱۵ درصد تشابه داشتند و بیشترین درصد تشابه بین زیر گروه‌ها، مربوط به زیر گروه‌های یک و چهار با ۲ نوکلئوتید اختلاف و ۹۹/۸۳ درصد تشابه بود. زیرگروه‌ها توسط ۱۳ جایگاه چند شکل از هم تفکیک شده‌اند (جدول ۲).

آنالیز ساختار ژنتیکی توالی ناحیه D-loop میتوکندری

از مجموع ۳۰ نمونه توالی‌یابی شده ۳ نمونه فاقد کیفیت مناسب بودند در نتیجه تجزیه و تحلیل بر روی ۲۷ نمونه انجام پذیرفت. با تجزیه و تحلیل ۲۷ توالی نهایی به کمک نرم‌افزار CLC Workbench 5.5 وجود هشت زیر گروه هاپلوتایپی در بین نمونه‌های توالی‌یابی شده در این جمعیت اثبات شد (شکل ۲). فراوانی هر یک از هشت زیرگروه هاپلوتایپی به ترتیب ۷/۴، ۷/۴، ۱۴/۸۱، ۱۱/۱۱، ۱۴/۸۱، ۱۸/۵۱، ۱۱/۱۱، ۱۴/۸۱ بود. میزان اختلاف



شکل ۲- هشت دسته متفاوت هاپلوتایپی در نمونه‌های بررسی شده از گوسفند بلوچی بر اساس هم‌ردیف شدن توالی‌ها

Figure 2- Eight different haplotype categories in samples of Baluchi sheep based on the sequences alignment

آمده در این پژوهش تقریباً مشابه یکدیگر می‌باشند و همان‌طور که در جدول قابل مشاهده است میزان تنوع ژنتیکی در گوسفندان بلوچی بیشتر از سایر نژادهای ایرانی بررسی شده می‌باشد که احتمالاً به دلیل جمعیت بالای این نژاد در کشور و در نتیجه افزایش در میزان جمعیت مؤثر این نژاد است.

محتوای توالی مورد توافق به دست آمده از زیرگروه هاپلوتایپ‌ها شامل: ۳۳٪ آدنین، ۲۲/۹٪ سیتوزین، ۱۴/۴٪ گوانین و ۲۹/۶٪ تیمین بود. میزان C+G، ۳۷/۳ درصد و A+T، ۶۲/۷ درصد بود. به منظور بررسی رابطه فیلوژنتیکی نژاد بلوچی، درخت فیلوژنتیکی با استفاده از توالی‌های هم‌ردیف شده، رسم گردید. در گوسفندان اهلی تاکنون پنج گروه هاپلوتایپی A، B، C، D و E تشخیص داده شده است که با توجه به مطالعات اندکی که بر روی گوسفندان با هاپلوتایپ E انجام شده است درخت فیلوژنتیکی با استفاده از چهار هاپلوتایپ A، B، C و D رسم شده است. شماره دسترسی در بانک جهانی NCBI برای هر یک از این چهار هاپلوتایپ، DQ097431=A، DQ097451=B، DQ097457=C و D=DQ242212 می‌باشد.

از آنجا که با افزایش یا کاهش تعداد نمونه‌ها تعداد جایگاه‌های چند شکل تغییر می‌کنند، بهتر است که از پارامتر دیگری به نام تنوع نوکلئوتیدی یا میانگین تنوع ژنی استفاده کرد. این پارامتر علاوه بر اینکه به طول DNA و اندازه نمونه وابسته نیست، تنوع را در سطح نوکلئوتید مورد مطالعه قرار می‌دهد (۲۴). میزان تنوع نوکلئوتیدی در جمعیت گوسفندان بلوچی در مطالعه حاضر 0.05 ± 0.131 می‌باشد. با توجه به گزارش نی و همکاران (۲۱) این میزان تنوع ژنتیکی بدست آمده از ۲۷ نمونه از گوسفندان نژاد بلوچی در محدوده‌ی متوسط تنوع نوکلئوتیدی در یوکاریوت‌ها که بین ۰/۰۲ تا ۰/۱۹ می‌باشد، قرار گرفته است. میزان تنوع ژنتیکی در بخش HVR از ناحیه D-loop در گوسفندان نژادهای بلوچی، مغانی، افشاری، زندی، شال و سنگسری که توسط پژوهشگران ایرانی گزارش شده است، به همراه چندین گزارش دیگر مربوط به مطالعه‌ی ژنوم میتوکندریایی سایر گوسفندان نژادهای بومی آسیایی در جدول ۳ آورده شده است. تنوع موجود در بخش HVR1 از ناحیه D-loop گزارش شده در گوسفند بلوچی توسط شفق مطلق (۲۸) و تنوع موجود در کل ناحیه D-loop بدست

جدول ۲- فواصل ژنتیکی و درصد تشابه بین زیر گروه‌های هاپلوتایپی نمونه‌های توالی‌یابی شده

Table 2- Genetic distances and percentage of similarity between the haplotypes' subgroups in sequenced samples

	1	2	3	4	5	6	7	8
H.G.1	1	5	6	2	4	7	5	7
H.G.2	2	99.58	7	5	3	8	10	6
H.G.3	3	99.49	99.41	4	6	5	7	5
H.G.4	4	99.83	99.58	99.66	4	7	5	5
H.G.5	5	99.66	99.75	99.49	99.66	9	9	9
H.G.6	6	99.41	99.32	99.58	99.41	99.24	6	6
H.G.7	7	99.58	99.15	99.41	99.58	99.24	99.49	8
H.G.8	8	99.41	99.49	99.58	99.58	99.24	99.49	99.32

اعداد بالای قطر جدول، اختلاف نوکلئوتیدی و اعداد پایین قطر جدول، درصد تشابه ژنتیکی را نشان می‌دهند.

The numbers above the table diameter show the difference between the nucleotide and numbers below the table diameter show percentage of genetic similarity.

جدول ۳- میزان تنوع ژنتیکی برخی نژادهای ایرانی و آسیایی به همراه تعداد نمونه مورد بررسی از هر یک از جمعیت‌ها

Table 3- The genetic diversity of some Iranian and Asian breeds with number of samples from each population

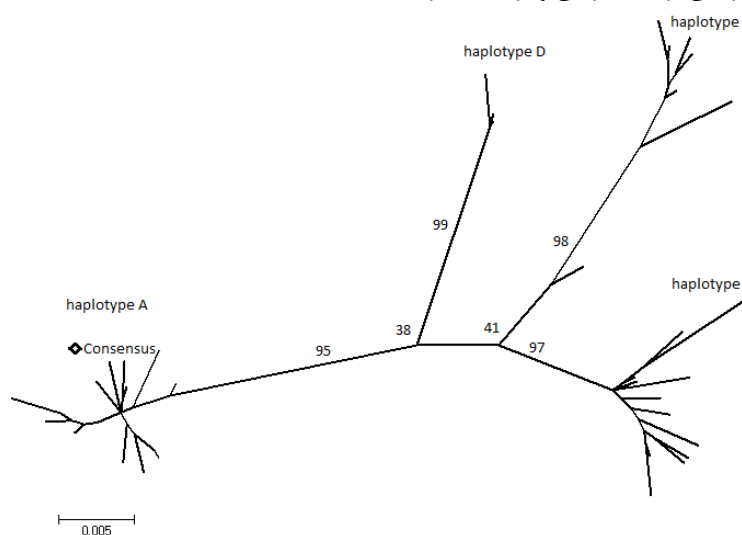
نژاد گوسفند Sheep breed	ناحیه مورد مطالعه Studied region	تعداد نمونه‌ها Number of samples	تنوع ژنتیکی Genetic diversity	منبع Reference
بلوچی Baluchi	D-loop	27	0.0131	Present study
بلوچی Baluchi	HVR1	14	0.01	(28)
مغانی Moghani	HVR1	10	0.007	(18)
افشاری Afshari	HVR1	19	0.00268	(26)
شال Shall	HVR1	20	0.0092	(19)
سنگسری Sangsari	HVR1	20	0.0083	(19)
بومی پاکستان Native Pakistan	D-loop	25	0.0026	(20)
بومی تاجیکستان Native Tajikistan	D-loop	23	0.0823	(20)
بومی ازبکستان Native Uzbekistan	D-loop	4	0.0018	(20)
بومی ترکیه Native Turkish	D-loop	7	0.0029	(20)
بومی قزاقستان Native Kazakhstan	D-loop	20	0.0722	(20)

تشکیل دادند و در واقع قابل تفکیک نبوده‌اند (شکل ۳). با استفاده از این درخت می‌توان موقعیت گوسفند نژاد بلوچی (توالی Consensus) را به طور کلی در بین گروه‌های هاپلوتایپی تعیین نمود و در نهایت برخی از تغییرات و خصوصیات مورفولوژیکی این نژاد را توجیه نمود. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود گوسفند نژاد بلوچی در گروه هاپلوتایپی A واقع شده است. سه هاپلوتایپ اصلی A، B و C که هر

برای رسم درخت فیلوژنتیکی گوسفند نژاد بلوچی، از هر یک از چهار گروه هاپلوتایپی اصلی تعداد ۱۵ توالی از زیر گروه هاپلوتایپی شناسایی و همراه با توالی مورد توافق به دست آمده از نمونه‌های مورد بررسی، در رسم درخت مورد استفاده قرار گرفت. چنانچه در درخت رسم شده تعداد توالی‌ها (خطوط) کمتر از میزان ذکر شده است به این علت می‌باشد که توالی‌هایی که خیلی به هم نزدیک بودند، یک خوشه

هاپلوتایپ C گزارش شد (۸، ۲۴). کلیه این مطالعات فیلوژنتیکی نشان دادند که هاپلوتایپ غالب در اروپا هاپلوتایپ B است، هاپلوتایپ C مربوط به خاورمیانه و آسیا و در نهایت هاپلوتایپ A نیز به صورت مشترک مربوط به خاورمیانه، آسیا و بخشی از اروپا می‌باشد (۴). آنجا که جد پدری گوسفندان آسیایی به طور اختصاصی گوسفند اورینتالیس (*O. orientalis*) معرفی شده است (۱۲)، بنابراین با توجه به قرار گرفتن کشور ایران در آسیا، و به طور ویژه، قرار گرفتن در منطقه خاورمیانه، غالب بودن هاپلوتایپ A در بین نژادهای مختلف ایرانی به خصوص نژاد بلوچی دور از انتظار نیست. بررسی چند شکلی در ناحیه mtDNA گوسفندان ترکیه هاپلوتایپ A را به عنوان هاپلوتایپ غالب در میان گوسفندان این کشور نشان داد (۲۲). یکی از دلایل حاکم بر این نتایج می‌تواند مربوط به مسیر مشترک و تاریخی باشد که کاروان‌های تجاری مسیرهای بین ترکیه، ایران، هند و چین از آن عبور می‌کردند و به همراه آن‌ها حیوانات اهلی نیز جابجایی داشته‌اند (۲۲).

یک به ترتیب مربوط به آسیا، اروپا و آسیای مرکزی یا خاورمیانه هستند در مطالعات پیشین گزارش شده‌اند. در مطالعه‌ای روی ناحیه HVR1 و HVR2 ناحیه D-loop گوسفندان ایرانی نژاد شال و سنگسری گزارش شد که این دو نژاد به همراه دو نژاد دیگر بلوچی و مغانی در گروه هاپلوتایپ A قرار دارند (۱۹)، که با نتایج بدست آمده در این پژوهش تطابق دارد. در پژوهشی روی ناحیه CR1 نژاد گوسفند ایرانی (مغانی) مطالعاتی انجام شد که قرار گرفتن نژاد مغانی در هاپلوتایپ A را اثبات کرد (۱۸). بررسی میزان تنوع در ناحیه HVR1 از ژنوم میتوکندری گوسفند نژاد افشاری نیز نشان داد که این نژاد دارای کمترین فاصله ژنتیکی با نژاد بلوچی و مغانی است و در هاپلوتایپ A قرار دارد که این نتایج احتمالاً مربوط به خاستگاه جغرافیایی مشترک گوسفندان ایرانی می‌باشد (۲۶). بعد از اینکه محققین دو دودمان اصلی A و B را گزارش کردند (۳۶)، گروه دیگری از دانشمندان پس از مقایسه توزیع هاپلوتایپ‌ها در چند نژاد آلمانی، روسیه و قزاقستان، این دو دودمان را به ترتیب دو نژاد آسیایی و اروپایی معرفی کردند (۱۱). در بررسی نژادهای چینی و ترکیه‌ای نیز



شکل ۳- درخت فیلوژنتیکی بر اساس رویه Joining-Neighbor نرم‌افزار MEGA5
Figure 3- Phylogenetic tree based on Joining-Neighbor procedures of MEGA5 software

داد و رفتارهای تولیدی، نحوه بقا و میزان مقاومت آنها در برابر تنش‌های محیطی را با توجه به هاپلوتایپی که در آن قرار گرفته‌اند پیش بینی کرد.

سپاسگزاری

این پژوهش با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه گنبد کاووس انجام گردیده است. نویسندگان از مسئولین و کارکنان محترم مرکز اصلاح دام شمال شرق کشور به جهت در اختیار گذاشتن نمونه‌ها و اطلاعات لازم برای انجام این تحقیق کمال تشکر را دارند.

نتیجه‌گیری کلی

شناسایی و حفظ ذخائر ژنتیکی از اهداف ملی هر کشور به شمار می‌آید. تولید و پرورش گوسفند در ایران به دلیل محبوبیت بالای گوشت آن اهمیت به سزایی دارد، بنابراین به منظور اجرای برنامه‌های اصلاح نژادی مناسب و موفق، شناخت ساختار ژنتیکی و دودمان نژادهای موجود در کشور الزامی می‌باشد. با توجه به توارث مادری میتوکندری و ویژگی غیر کد کنندگی ناحیه D-loop و ابقای هر گونه جهش در آن می‌توان این ناحیه را به عنوان ابزاری قدرتمند برای مطالعه منشاء و نحوه تفرق انواع گونه‌های حیوانی مورد مطالعه قرار

- 1- Anderson, S. A. T., G. Bankier, M. Barrell, A. de Bruijn, J. Couson, I. Drouin, B. Nierlich, F. Roe, P. H. Sanger., and I. G. Young. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290: 457-465.
- 2- Avise, J. C., and R. C. Vrijenhock. 1987. Mode of inheritance and variation of mitochondrial DNA in hybridogenetic fishes of the genus *poeciliopsis*. *Molecular Biology and Evolution*, 4: 514-525.
- 3- Bruford, M., D. Bradley., and G. Luikart. 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nature Reviews Genetics*, 3: 900-910.
- 4- Chen, S. Y., Z. Y. Duan, T. Sha, J. Xiangyu., and S. F. Wu. 2006. Origin, genetic diversity, and population structure of Chinese domestic sheep. *Gene*, 376: 216-223.
- 5- Chessa, B., F. Pereira, F. Arnaud, A. Amorim., and F. Goyache. 2009. Revealing the history of sheep domestication using retrovirus integrations. *Science*, 324: 532-536.
- 6- Excoffier, L., L. Guillaume, and S. Schneider. 2005. Arlequin: An integrated software for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 2005 (1): 47-50.
- 7- Frankhan, R. 1994. Conservation of genetic diversity for animal improvement. Page 385 in *Proc: The 5th world congress on genetic applied to livestock production*, University of Guelph, Ontario, Canada.
- 8- Guo, J., L. X. Du, Y. H. Ma, W. J. Guan., and H. B. Li. 2005. A novel maternal lineage revealed in sheep (*Ovis aries*). *Animal Genetics*, 36: 331-336.
- 9- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.
- 10- Hallerman, E. M. 2003. Population genetics: principles and applications for fisheries scientists. *American Fisheries Society*.
- 11- Hiendleder, S., K. Mainz, Y. Plante., and H. Lewalski. 1998. Analysis of mitochondrial DNA indicates that domestic sheep are derived from two different ancestral maternal sources: no evidence for contributions from Urial and Argali sheep. *Journal of Heredity*, 89: 113-120.
- 12- Hiendleder, S., B. Kaupe, R. Wassmuth., and A. Janke. 2002. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. Pages 893- 904 in *Proc. Royal Society of London Biological Sciences*.
- 13- Jazin, E., H. Soodyall, P. Jalonen, E. Lindholm, M. Stoneking., and U. Gyllensten. 1998. Mitochondrial mutation rate revisited: hot spots and polymorphism. *Nature Genetics*, 18: 109-110.
- 14- Knudsen, B., T. Knudsen, M. Flensburg, H. Sandmann, M. Heltzen, A. Andersen, M. Dickenson, J. Bardram, P. Steffensen, S. Mønsted, T. Lauritzen, R. Forsberg, A. Thanbichler, D. Jannick, L. Görlitz, J. Rasmussen, D. Tordrup, M. Værum, M. Nygaard, C. Hachenberg, E. Fisker, P. Dekker, J. Schultz, M. K. Hein., and J. Sinding. 2007. CLC Main Workbench. Version 5.5. Aarhus, Denmark, CLC bio.
- 15- Lalitha, S. 2000. Primer premier 5. Biotech Software & Internet Report: The Computer Software. *Journal for Scientists*, 1(6): 270-272.
- 16- Mirhosseini, S. Z. 1998. Study the genetic diversity of Iranian silkworm using protein markers and DNA. MSc thesis. Tarbiat Modares University. (In Persian).
- 17- Miyazono, F., P. M. Schneider, R. Metzger, U. Warnecke-Eberz, S. E. Baldus, H. P. Dienes, T. Aikou., and A. H. Hoelscher. 2002. Mutations in the mitochondrial DNA D-loop region occur frequently in adenocarcinoma in Barrett's esophagus. *Oncogene*, 21: 3780-3783.
- 18- Mohammadhashemi, A. 2010. Sequencing the HVR-1 region of mitochondrial genome in Moghani sheep breed. MSc thesis. Tabriz University. (In Persian).
- 19- Mohammadhashemi, A., N. Pirani, M. R. Nassiri, T. Abbassi Dalooii., and B. Baghban. 2012. Studying the partially sequenced mtDNA hypervariable region 1 (HVR1) of Iranian Moghani sheep. *Annals of Biological Research*, 3 (6): 2906-2910.
- 20- Naderi, S., H. R. Rezaei, P. Taberlet, S. Zundel, S. A. Rafat, H. Naghash, M. El-Barody, O. Ertugrul., and F. Pompanon. 2007. Large-Scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. *Plos one*, 10:1-10.
- 21- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press.
- 22- Oner, Y., and J. H. Calvo. 2013. Investigation of the genetic diversity among native Turkish sheep breeds using mtDNA polymorphisms. *Tropical Animal Health and Production*, 45(4): 947-951.
- 23- Parvari, R., A. Avivi, F. Lentner, E. Ziv, S. Telor, Y. Burstein., and I. Schechter. 1988. Chicken immunoglobulin gamma-heavy chains: limited VH gene repertoire, combinatorial diversification by D gene segments and evolution of the heavy chain locus. *The EMBO journal*, 7(3): 739.
- 24- Pedrosa, S., M. Uzun, J. J. Arranz, B. Gutierrez-Gil, F. San., and P. Rimitivo. 2005. Evidence of three maternal lineages in near eastern sheep supporting multiple domestication events. Page 272 in *Proc. of Biological Science*.

- 25- Pirani, N., A. Mohammadhashemi, S. Alijani, R. Rezazadeh Goli., and S. Ghanbari. 2009. Molecular analysis of Mazandrani native chicken population based on HVR-I region of Mitochondrial DNA. *Agricultural Biotechnology*, 2 (2): 53-65. (In Persian)
- 26- Pirkhezranian, Z., M. Tahmoorespur, A. Mohammadhashemi, N. Pirani., and M. Azghandi. 2015. Genetic and phylogenetic analyses of HVR-I region of mtDNA in Afshari sheep breed. *Agricultural Biotechnology*, 14: 65-71. (In Persian)
- 27- Ryder, M. L. 1984. Sheep. In: *Evolution of Domesticated Animals* (Mason SL, ed). London: Longman 63-85.
- 28- Shafagh Motlagh, A. 2008. A preliminary study on the sequence of the D-loop and HVR1 region of mitochondrial DNA of some groups of domestic and wild sheep and goats. MSc thesis. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian).
- 29- Tahmoorespur, M., and M. Sheikhlou. 2011. Pedigree analysis of the closed nucleus of Iranian Baluchi sheep. *Small Ruminant Research*, 99(1): 1-6.
- 30- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei., and S. Kumar. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10): 2731-2739.
- 31- Tapio, M., N. Marzanov, M. Ozerov, M. Činkulov, G. Gonzarenko, T. Kiselyova, M. Murawski, H. Viinalass, and J. Kantanen. 2006. Sheep mitochondrial DNA variation in European, Caucasian, and Central Asian areas. *Molecular Biology and Evolution*, 23(9): 1776-1783.
- 32- Technelysium P. L. 2007. Chromas lite version 2.01.
- 33- Upholt, W. B., and I. B. Dawid. 1977. Mapping of mitochondrial DNA of individual sheep and goats: rapid evolution in the D-loop region. *Cell*, 11: 571 -583.
- 34- Villalta, M., P. Fernandez-Silva, B. Beltran, L. Enguita, M. J. Lopez-Perez., and I. Montoya. 1992. Molecular characterization and cloning of sheep mitochondrial DNA. *Current Genetics*, 21:235-240.
- 35- Wolf, C., J. Rentsch., and P. Hubner. 1999. PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA: a reliable method for species identification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 7: 1350-1355.
- 36- Wood, N., and S. Phua. 1996. Variation in the control region sequence of the sheep mitochondrial genome. *Animal Genetics*, 27(1): 25-33.
- 37- Zeuner, F. E. 1963. *A history of domesticated animals*. Hutchinson, London.



Genetic Diversity and Phylogenetic Analysis of D-loop Region of mtDNA in Baluchi Sheep Breed

F. Bahri Binabaj^{1*} - G. Bihamta² – Z. Pirkhezranian³

Received: 13-04-2017

Accepted: 15-05-2017

Introduction Native animals are part of the national capital and strategic reserves of any country which their diversity is very important. Mitochondrial genome (mtDNA) in sheep is 16.58 Kbp. MtDNA has a region named D-loop or control region with no coding gene. Rate of nucleotide mutation in this region is 10 times the nucleus DNA. D-loop has promoters to regulate mtDNA transcription. This region is consisted of HVR1 and HVR2 sites. As the mtDNA is haploid and no meiosis occurs in it, so D-loop region of the mitochondrial genome is a powerful and applicable tool to determine the level of genetic diversity, to study the phylogenetic relationship between the populations and species as well as study the origin and dispersion of animal species. Baluchi sheep breed is one of the important Iranian sheep breeds which has a major role in production of red meat. Due to high strength and resistance to water scarcity it has been able to adapt with hot and dry weather conditions in East and South East of Iran. Due to the high diversity of species and subspecies, the importance of maintaining the purity of native breeds and incomplete information on sheep domestication in Iran, this study was performed to investigate the variation in Baluchi sheep breed and phylogenetic analyzes of mitochondrial D-loop region.

Material and methods Blood samples collection was done randomly from 27 non relative sheep which were kept in Animal Breeding center of Northeast of Iran (Abbasabad breeding station). DNA extraction was done using Diatom DNA Prep kit. DNA quality and quantity were checked using 8% agarose gel and spectrophotometer Nano drop ND-200, respectively. Primers were designed using Primer Premier5 software to amplify 1180 bps fragment of D-loop region of mitochondrial DNA. Primers specificity was checked in BLASTPrimer of NCBI. To Sequence the amplified region, samples were send to Bioneer Company. To enhance the accuracy of sequencing, each sample was sequenced from both sides. Nucleotide sequences were edited with Chromas Lite 2.01 software. After proofing the quality of sequences they were reformatted from ab1 to FASTA. Then homology of the sequences with registered sequences of the same gene in NCBI and with the sequences themselves was determined using BLASTN in NCBI database and CLC Main workbench 5.5 software, respectively. To draw the phylogenetic tree of Baluchi sheep breed, 15 sequences from each 4 haplogroups were identified and along with consensus sequence from samples were used. To draw the phylogenetic tree with 1000 iterations, the Neighbor-Joining method of MEGA5 software was used and to determine the genetic distance the Create Pairwise Comparison procedure of CLC Main workbench 5.5 software was used.

Results and discussion Eight haplogroups were observed. The frequencies of haplogroups were 7.40, 7.40, 14.81, 11.11, 18.51, 14.81, 11.11 and 14.81. Haplogroups 2 and 7 had the highest difference between the nucleotides (10 nucleotides) with 99.15 percent genetic similarity, and haplogroups 1 and 4 had the highest genetic similarity (99.83 percent) with 2 nucleotide difference. The present genetic diversity among the 27 samples was estimated 0.0131 ± 0.005 . This level of diversity is in the average range of nucleotide diversity which is reported in eukaryotes. The Phylogenetic analysis in this study showed that Baluchi sheep breed is located in the A haplotype.

Conclusion: Since the origin of haplotype A is from Asia and Middle East, and according to the results of earlier studies on native Iranian sheep breeds such as Moghani, Shal, Sangsari and Afshari it can be concluded that the Baluchi sheep was in the mentioned haplotype therefore the placement of this breed in this haplotype is justifiable.

Keywords: Baluchi sheep, Haplotype, Mitochondrial genome, Phylogenic.

1- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran.

2, 3- MSc Graduate and PhD Student in Animal Genetics and Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

(*Corresponding Author Email: fatemebahri_b@yahoo.com)

استفاده از آنتی اکسیدان الاژیک اسید برای بهبود کیفیت اسپرم انجماد-یخ‌گشایی شده در قوچ نژاد قزل

زهره بلوکی^۱ - حسین دقیق کیا^{۲*} - ابودر نجفی^۳ - مهدیه مهدی پور^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۵/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۴/۰۳

چکیده

هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر آنتی اکسیدانی الاژیک اسید بر کیفیت اسپرم قوچ در طول فرآیند انجماد-یخ‌گشایی بود. در این مطالعه از ۵ قوچ نژاد قزل در ۵ تکرار (۲ بار در هفته) بوسیله واژن مصنوعی اسپرم‌گیری شد. بمنظور حذف اثرات فردی هر دام نر، نمونه‌های منی پس از ارزیابی اولیه و در صورت داشتن شرایط یکسان، با هم مخلوط شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: الاژیک اسید در چهار سطح ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی مولار و گروه شاهد (بدون آنتی اکسیدان). رقیق‌کننده بر پایه تریس-لستین مورد استفاده قرار گرفت. انجماد نمونه‌های منی بدنال دو ساعت سردسازی و تعادل‌سازی دما تا ۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. یخ‌گشایی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه انجام شد. پارامترهای جنمایی کل، زنده‌مانی، یکپارچگی غشاء، میزان اسپرم‌های غیرطبیعی، پارامترهای جنمایی، میزان مالون‌دی‌آلدهید، ظرفیت تام آنتی اکسیدانی اسپرم، فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز بعد از یخ‌گشایی اندازه‌گیری شدند. آنالیز داده‌ها به کمک نرم‌افزار SAS انجام گرفت. یافته‌های این تحقیق بیانگر بهبود زنده‌مانی، تحرک اسپرم‌ها و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی در چهار سطح ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی مولار نسبت به گروه شاهد بود. فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، غلظت مالون‌دی‌آلدهید و یکپارچگی غشاء پلاسمایی در هیچ یک از سطوح تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. میزان اسپرم غیرطبیعی در سطح ۰/۵ میلی مولار کاهش یافت و در صفات سرعت در مسیرمنحنی، سرعت در مسیرمستقیم و خطی بودن حرکت اسپرم با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری داشت. بطور کلی، سطح ۰/۵ میلی مولار نسبت به سایر گروه‌های تیماری مورد مطالعه، سبب بهبود کیفیت منی قوچ بعد از فرآیند انجماد-یخ‌گشایی شد.

واژه‌های کلیدی: اسپرم، الاژیک اسید، انجماد، قوچ.

مقدمه

مقایسه با سایر گونه‌ها دارای نسبت بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع و نسبت پایینی از کلسترول به فسفولیپید است. این امر باعث می‌شود که به دلیل تنش‌های اکسیداتیو و در نتیجه تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، اسپرم بیشترین آسیب‌ها را متحمل شوند. تنش‌های اکسیداتیو متعاقباً سبب اختلال در فعالیت و عملکرد اسپرم‌ها خواهند شد؛ که در نتیجه آن باعث از بین رفتن تحرک، یکپارچگی و توانایی لقاح آنها می‌شود (۲). یکی از فاکتورهای مهم کاهش‌دهنده کیفیت منی، گونه‌های فعال اکسیژن تولیدی حاصل از ترکیبات سلولی نظیر سوپر اکسید، هیدروژن پراکسید و لیپید هیدرو پراکسید است که از پرکسیداسیون لیپید غشایی اسپرم‌ها و اکسیژن‌های تک‌ظرفیتی تشکیل می‌شوند (۶). ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسمای منی دام‌ها در زمان رقیق‌سازی، پایین آمده و به همین دلیل امروزه در رقیق‌کننده منی از آنتی اکسیدان‌ها استفاده می‌شود تا همراه

به‌منظور بهره‌مندی از مزایای تلقیح مصنوعی، ذخیره‌سازی منی برای بلندمدت امری ضروری است؛ که بوسیله فرآیند انجماد^۴ محقق می‌شود. انجماد اسپرم فرآیندی است که باعث توقف فعالیت‌های متابولیکی اسپرم‌ها شده و در نتیجه امکان ذخیره‌سازی نامحدود و بدون کاهش معنی‌دار باروری را فراهم می‌آورد (۸). اسپرم قوچ در

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۲- استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۳- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

(*)- نویسنده مسئول: (Email: daghighkia@tabrizu.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.v1397i1.58308

4- Cryopreservation

شدند. سپس پایوت ها در ارتفاع ۴ سانتی متری بالای بخار ازت در مدت ۷ دقیقه منجمد شده و بدنال آن به تانک ازت مایع انتقال یافته و بمدت یک ماه در ازت مایع نگهداری شده بعد تست های مربوطه روی این نمونه ها انجام گرفت. نمونه های منی پس از فرآیند انجماد-یخ گشایی از نظر زنده ماننی، پارامترهای تحرک اسپرم، یکپارچگی غشاء، پراکسیداسیون لیپیدی (MDA)، ظرفیت تام آنتی اکسیدانی و آنزیم های آنتی اکسیدانی (GPx و SOD) مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند.

تعیین درصد زنده ماننی

میزان اسپرم های زنده پس از یخ گشایی به روش رنگ آمیزی ائوزین-نیگروزین تعیین شدند (۱۹). بعد از یخ گشایی، روی لام، ۱۰ میکرولیتر منی را با ۲۰ میکرولیتر رنگ به آرامی مخلوط کرده و پس از تهیه گسترش و خشک شدن در دمای ۳۷°C، تعداد ۲۰۰ اسپرم بوسیله میکروسکوپ نوری و روغن ایمرسیون با بزرگنمایی ۴۰× شمارش و ارزیابی شدند. اسپرم هایی که بطور کلی یا جزئی رنگ قرمز مایل به بنفش داشتند را مرده و اسپرم هایی که رنگ به خود نگرفته بودند، زنده محسوب شده و بر اساس آن درصد زنده ماننی تعیین شد.

ارزیابی یکپارچگی غشای پلاسمایی

برای بررسی یکپارچگی غشای پلاسمایی سلول اسپرم، پس از یخ گشایی نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰ g سانتریوفیوژ شدند. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۳۷°C انکوبه شدند. ۵ میکرولیتر از نمونه مخلوط شده، روی لام هم دما شده قرار داده و با لامل پوشانده شد. سپس لام را روی صفحه گرم میکروسکوپ فاز کنتراست قرار داده و تعداد ۲۰۰ اسپرم با بزرگنمایی ۴۰× شمارش شدند. اسپرم های با دم متورم و تاب خورده به عنوان اسپرم های با غشاء پلاسمایی سالم در نظر گرفته شدند (۳۶).

ارزیابی ریخت شناسی اسپرم

جهت تعیین اسپرم با ریخت طبیعی، ۱۰ میکرولیتر از نمونه منی یخ گشایی شده به ۱۵۰ میکرولیتر از محلول هانکوک افزوده شد. یک قطره از مخلوط حاصله بر روی لام گذاشته و ۲۰۰ اسپرم را با کمک میکروسکوپ فاز کنتراست با بزرگنمایی ۴۰× شمارش کرده و درصد اسپرم های غیرطبیعی محاسبه شد (۳۹).

ارزیابی تحرک اسپرم

بعد از یخ گشایی، پارامترهای تحرک کلی^۱، تحرک پیش رونده^۲،

با آنتی اکسیدان های موجود در پلاسمای منی، سبب بهبود کیفیت و عملکرد اسپرم بعد از فرآیند انجماد-یخ گشایی شوند (۸). آنتی اکسیدانی که استرس اکسیداتیو را کاهش دهد و جنائی اسپرم را بهبود بخشد، می تواند برای مدیریت ناباروری نرها مناسب باشد (۹). آنتی اکسیدان ها موادی هستند که واکنش زنجیره ای اکسیداسیون را می شکنند، که بر این اساس باعث کاهش استرس اکسیداتیو می شوند (۲۵، ۲۲). آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که جاروب کننده و ممانعت کننده تشکیل ROS یا بازدارنده فعالیت آنها هستند. انواع مختلفی از آنتی اکسیدان های بیولوژیکی و شیمیایی که به ROS ها و پراکسیدازهای لیپیدی حمله می کنند، تا به امروزه تحت مطالعه قرار گرفته اند (۴۱).

الائیک اسید ترکیبی است پلی فنلی که در چای سبز و دیگر منابع طبیعی از جمله انار، توت فرنگی، تمشک، گردو و پوست درخت اکالیپتوس یافت می شود. الائیک اسید دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد آپوپتوزی است (۱۷) که می تواند اکسیداسیون سلولی را به تاخیر انداخته، مهار و یا جلوگیری کند و همینطور با جاروب کردن رادیکال های آزاد در نهایت سبب کاهش استرس اکسیداتیو شود (۴۴)، همچنین الائیک اسید با ممانعت از حمله رادیکال های آزاد به سلول، باعث افزایش فعالیت آنزیم های (Superoxide dismutase) CAT, SOD و (Catalase) GPx و (Glutathione) می شود (۲۱).

بر اساس اطلاعات موجود، تاکنون از الائیک اسید در انجماد منی قوچ استفاده نشده است. هدف تحقیق حاضر بررسی اثرات سطوح مختلف الائیک اسید، بعنوان آنتی اکسیدان در بهبود کیفیت اسپرم قوچ بعد از فرآیند انجماد-یخ گشایی بود.

مواد و روش ها

در این مطالعه از ۵ قوچ ۲ بار در هفته توسط واژن مصنوعی اسپرم گیری شد. اسپرم ها از لحاظ حجم، غلظت و تحرک مورد ارزیابی اولیه قرار گرفته و در صورت داشتن کیفیت لازم برای مطالعه انتخاب شدند. در هر بار اسپرم گیری، برای از بین بردن تفاوت های فردی بین قوچ ها، منی آنها در مقادیر مساوی با یکدیگر مخلوط شدند. قبل از افزودن عصاره ها، خصوصیات کمی و کیفی نمونه های منی از قبیل حجم منی (۲۰-۷۵ میلی لیتر)، غلظت (بیشتر از $10^9 \times 3$)، حرکت پیش رونده (بالتر از ۷۰٪) و اسپرم های با شکل غیرنرمال (کمتر از ۱۰٪) ارزیابی شدند. سطوح انتخابی آنتی اکسیدان براساس نتایج آزمایشات اولیه تعیین سطح مطلوب آن با بهره گیری از روش عمر و سویان (۲۰۱۶) صورت گرفت (۳۳). تیمارهای آزمایشی، الائیک اسید در چهار سطح (۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی مولار و تیمار شاهد (بدون آنتی اکسیدان) انتخاب گردید. پس از رقیق سازی نمونه ها در پایوت پر

1- Total Motility (TM)

2- Progressive Motility (PM)

میلی مولار نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات احیا شده (NADPH)، یک واحد بین الملل بر میلی لیتر گلوکاتینون ردوکتاز و ۱ میلی مولار GSH^{10} بود. ابتدا ۰/۱ میلی لیتر مایع منی به ۰/۸ میلی لیتر از مخلوط واکنش اضافه شده و به مدت ۵ دقیقه قبل از شروع واکنش در $25^{\circ}C$ انکوبه شد. علاوه بر این ۰/۱ میلی لیتر از محلول H_2O_2 که غلظت نهایی آن در محیط ۰/۲۵ میلی مول بود، اضافه گردید. میزان جذب نوری در ۴۱۲ نانومتر و به مدت ۵ دقیقه با استفاده از اسپکتروفتومتر ثبت شد. فعالیت GSH-Px با واحد بین المللی IU/g بیان شد.

میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز

میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز نمونه های منی با بهره گیری از روش ویلیام و همکاران (۱۹۸۶) با استفاده از کیت Ransod شرکت رندوکس (RANDOX Laboratories Ltd., UK) مورد سنجش قرار گرفتند. نمونه های منی یخ گشایی شده به نسبت ۱ به ۵ در PBS ($mM 50$ و $pH=7.0$) رقیق شدند. سپس بافر سدیم کربنات ($mM 50$ ، $pH=10.0$)، ۰/۱ mM گزانتین، ۰/۲۵ mM نیترو تترازولوم آبی، ۰/۱ mM EDTA، گزانتین اکسیداز افزوده شده و در نهایت نمونه ها را در یک کووت کوچک مخلوط شدند. بطور کلی، در صورت وجود آنزیم SOD در نمونه رادیکال های سوپراکسید هیدروژن و O_2 تبدیل شده و از ایجاد رنگ قرمز فورمازان ممانعت می کند و فعالیت آنزیم SOD بوسیله درجه ممانعت از این واکنش تعیین می شود. یک واحد SOD باعث مهار ۵۰٪ سرعت احیاء Int و یا مهار ۵۰٪ از اکسیداسیون NADPH می شود.

روش آماری

این طرح با ۵ تیمار و در ۵ تکرار اجرا گردید. داده های بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی و بر اساس مدل آماری زیر و با استفاده از نرم افزار SAS (۹.۱.۳) و با استفاده از مدل خطی (GLM) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای تعیین معنی داری اثرات آنتی اکسیدان از آزمون مقایسه ای توکی استفاده شد و اختلاف در سطح ۰/۰۵ معنی دار گزارش شد. اثر تیمار بعنوان اثر ثابت در نظر گرفته شد.

$$Y_{ij} = \mu + \text{Treat}_i + e_{ij}$$

Y_{ij} = مشاهده i از j ام، μ = میانگین جمعیت، Treat_i = اثر تیمارها، e_{ij} = اثر عوامل ناشناخته i از j ام

سرعت در مسیر میانگین^۱، سرعت در مسیر منحنی^۲، سرعت در مسیر مستقیم^۳، خطی بودن جنبایی^۴ ارزیابی شدند. جهت ارزیابی پارامترهای تحرک، نمونه های یخ گشایی شده به مدت ۳ دقیقه در دمای $37^{\circ}C$ حمام آب گرم، انکوبه شدند. ۵ میکرولیتر از نمونه روی لام از قبل گرم شده ($37^{\circ}C$) قرار داده و روی صفحه گرم میکروسکوپ حداقل ۱۰ فیلد بطور کاملاً تصادفی انتخاب و بوسیله سیستم CASA مدل 3.1 Video Test Sperm آنالیز شدند.

اندازه گیری غلظت مالون دی آلدیید (MDA)^۵

غلظت مالون دی آلدیید شاخصی از میزان پراکسیداسیون لیپیدی در نمونه های منی است که با استفاده از واکنش تیو باربیتوریتیک اسید اندازه گیری شد. معمولاً در دمای $95^{\circ}C$ و شرایط اسیدی، یک مولکول MDA با دو مولکول تیو باربیتوریتیک اسید (TBA)^۶ واکنش داده و کمپلکس صورتی رنگی را بوجود می آورد. برای سنجش میزان MDA ابتدا نمونه ها در دمای $37^{\circ}C$ یخ گشایی شده، سپس بمدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از هر نمونه با ۱ mL محلول حاوی ۲۰ درصد تری کلریدریک اسید و ۰/۵ درصد تیو باربیتوریتیک اسید مخلوط شده و بمدت ۳۰ دقیقه در دمای $95^{\circ}C$ حرارت داده شدند. برای اندازه گیری غلظت MDA، با استفاده از اسپکتروفتومتری طول موج 532nm خوانده شد (۳۴).

ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی

اندازه گیری ظرفیت تام آنتی اکسیدانی اسپرم براساس روش TEAC^۷ (مهارکنندگی با آنتی اکسیدان های جاذب رادیکال کاتیون ABTS^۸ است) و از کیت Randox استفاده شد. ABTS با پراکسیداز پراکسیداز و H_2O_2 جهت تولید کاتیون ABTS انکوبه شده و رنگ پایدار آبی - سبز که حداکثر جذب نوری آن ۶۰۰ نانومتر است، تولید می کند که بوسیله اسپکتروفتومتر قابل اندازه گیری است (۳۱).

تست میزان فعالیت گلوکاتینون پراکسیداز

فعالیت GSH-Px با کمک روش لاورنس و بورک (۱۹۷۶) تعیین شد. مخلوط واکنش شامل ۵۰ میلی مولار پتاسیم فسفات ($pH=7$)، ۱ میلی مولار $EDTA^9$ ، ۱ میلی مولار سدیم آزید (NaN_3)، ۰/۲

- 1- Curvilinear velocity (micrometer /sec) (VCL)
- 2- Average path velocity (micrometer /sec) (VAP)
- 3- Straight – line velocity (micrometer /sec) (VSL)
- 4- Linearity (%) (LIN= VSL/VCL×100)
- 5- Malondialdehyde
- 6- Tiobarbitoretic Acid
- 7- rolox equivalent antioxidant capacity
- 8- 2, 2'-Azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulphonate]
- 9- Ethylenediamine tetra-acetic acid

نتایج

نتایج این پژوهش نشان داد استفاده از سطوح ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی مولار الایژیک اسید سبب بهبود پارامترهای زنده‌مانی و جنبایی کل شد ($P < 0/05$). علاوه بر این افزودن ۰/۵ میلی مولار سبب کاهش میزان اسپرم‌های غیرطبیعی شد و باعث بهبود میزان خطی بودن حرکت، سرعت در مسیر مستقیم و میانگین سرعت در مسیر

اسپرم شد ($P < 0/05$). سطح ۰/۲۵ میلی مولار نیز باعث بهبود سرعت در مسیر منحنی نسبت به گروه کنترل شد (جدول ۱ و نمودارهای ۱، ۲ و ۳). ظرفیت تام‌آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های حاوی تمامی سطوح آنتی‌اکسیدانی نسبت به گروه شاهد بهبود یافت ($P < 0/05$)، به‌علاوه سطوح ۱ و ۱/۵ نسبت به ۰/۲۵ و ۰/۵ تاثیر بیشتری داشتند.

جدول ۱- تاثیر سطوح مختلف الایژیک اسید بر فراسنجه‌های حرکتی اسپرم پس از فرآیند انجماد-یخ‌گشایی

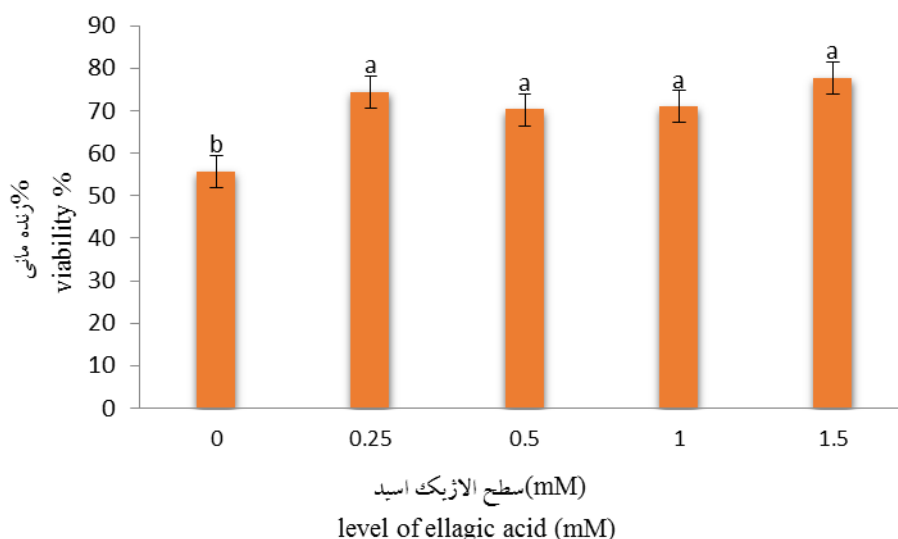
Table 1- The effect of different levels of Ellagic acid on sperm motility parameters after freezing-thawing process

فراسنجه‌های تحرک اسپرم Sperm motility parameters	تیمارهای آزمایشی (Antioxidants) (mM/ml)					SEM	P-value
	Control	0.25	0.5	1	1.5		
TM (%)	48.2 ^b	64.6 ^a	60.8 ^a	61.8 ^a	66.5 ^a	2.02	0.0001
PM (%)	18.6	27.0	26.8	23.2	29.3	3.41	0.2668
VAP (μm/s)	20.5 ^b	34.6 ^{ab}	36.4 ^a	20.9 ^{ab}	32.5 ^{ab}	3.50	0.0175
VSL (μm/s)	15.5 ^b	23.9 ^{ab}	27.8 ^a	19.8 ^{ab}	22.3 ^{ab}	2.36	0.0203
VCL (μm/s)	50.1 ^b	73.8 ^a	63.2 ^{ab}	57.3 ^{ab}	67.1 ^{ab}	4.10	0.0073
STR (%)	76.8	71.6	76.9	82.3	68.3	3.76	0.1550
LIN (%)	30.9 ^b	32.7 ^{ab}	28.4 ^a	34.5 ^{ab}	33.6 ^{ab}	2.54	0.0242

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0/05$)

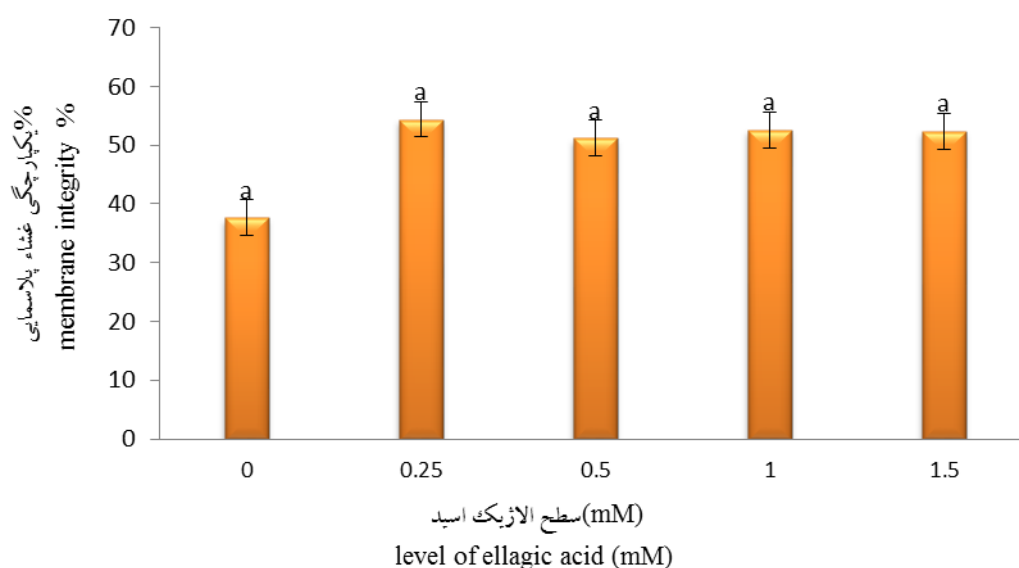
درصد تحرک کل (TM)، درصد تحرک پیشرونده (PM)، میانگین سرعت در مسیر (VAP)، سرعت در مسیر مستقیم (VSL)، سرعت در مسیر منحنی (VCL)، راستی مسیر طی شده (STR)، درصد خطی بودن تحرک (LIN)

Means within same row with different superscripts are different ($P < 0.05$).

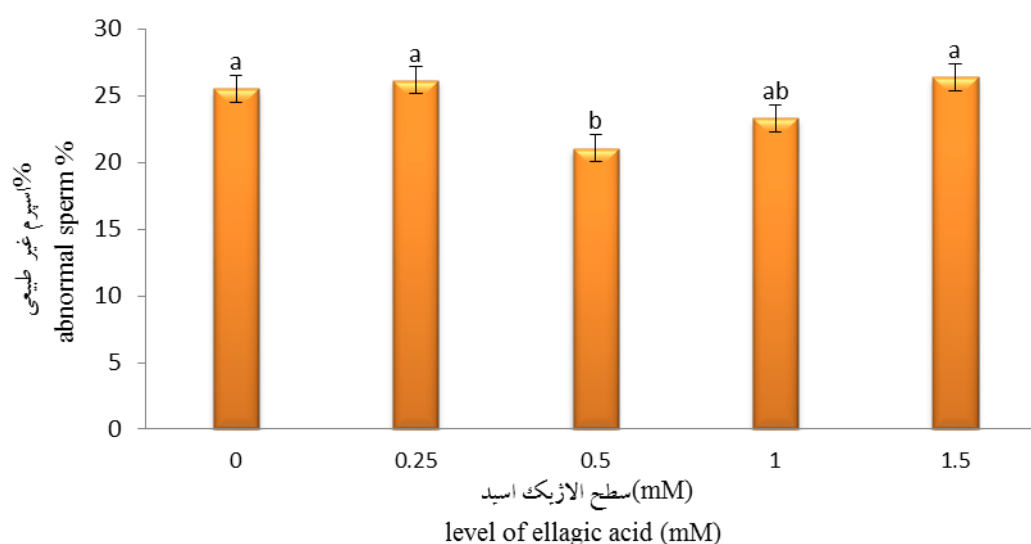


شکل ۱- مقایسه درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها در نمونه‌های با سطوح مختلف الایژیک اسید

Figure 1- Comparison of the sperm viability percentage in samples with different levels of Ellagic acid



شکل ۲- مقایسه درصد یکپارچی غشاء پلاسمایی اسپرم‌ها در نمونه‌های با سطوح مختلف الازیک اسید
Figure 2- Comparison of the percentage of sperm membrane integrity in samples with different levels of Ellagic acid



شکل ۳- مقایسه درصد اسپرم غیر طبیعی در نمونه‌های با سطوح مختلف الازیک اسید
Figure 3- Comparing the sperm abnormality percentage in samples with different levels of ellagic acid

استرس اکسیداتیو شوند که می‌توانند منجر به ناباروری اسپرم‌ها شوند (۴۶). مطالعات پیشین، اثرات مفید ناشی از افزودن آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک به رقیق‌کننده انجماد منی برای کاهش اثرات مضر ROS را ثابت کرده‌اند (۱۰). مطالعات در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که ترکیبات فنولیک می‌توانند بطور مستقیم رادیکال‌های آزاد سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، هیدروکسیل و پراکسیل را پاکسازی و جاروب کنند (۳۸).

در هیچ یک از گروه‌های تیماری تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و مالون دی‌آلدهاید مشاهده نشد (جدول ۲)

بحث

محققان در تلاشند تا با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها بتوانند مانع از کاهش تحرک، افزایش مرگ و میر و آسیب به DNA در شرایط

جدول ۲- تأثیر سطوح مختلف الایژیک اسید بر آنزیمهای گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و مالون دی آلدیید تولیدی پس از فرآیند انجماد-یخ‌گشایی

Table 2- The effect of different levels of ellagic acid on glutathione peroxidase, superoxide dismutase, total antioxidant capacity and malondialdehyde production after freezing-thawing process

فراسنجه‌ها Parameters	تیمارهای آزمایشی (Antioxidants) (mM/ml)					SEM	P-value
	Control	0.25	0.5	1	1.5		
GPx (IU/g protein)	10.03	9.37	9.07	8.90	10.15	0.32	0.0962
SOD (U/ml)	101.00	118.33	109.00	108.00	106.00	8.88	0.7376
TAC (nmol/ml)	0.51 ^b	2.14 ^a	2.19 ^a	3.04 ^a	3.25 ^a	0.27	0.0005
MDA (mol/ml)	39.55	39.26	21.13	28.36	17.01	6.65	0.1635

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$)

گلو تاتیون پراکسیداز (GPx)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC)، مالون دی آلدیید (MDA)

Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

زنده‌مانی و تحرک اسپرم باشد (۴۹ و ۴۱).

در یک بررسی استفاده از سیس پلاتین (Cisplatin) باعث رشد غیرطبیعی اسپرم خرگوش شد که احتمالاً ناشی از بلوکه شدن الایژیک اسید باشد (۴۴). در مطالعه‌ای خصوصیات آنتی آپوپتوتیک، کاهنده پراکسیداسیون لیپیدی و بهبود دهنده سایر آسیب‌های وارده به اسپرم، الایژیک اسید، در درمان صدمات ناشی از آدریامایسین بیضه موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج بیانگر اثرات حفاظتی الایژیک اسید از پراکسیداسیون لیپیدی و آپوپتوز بیضه بود (۱۳). همین‌طور، سیکلو فسفامید سبب القا لیپید پراکسیداسیون شده و منجر به آسیب به ساختار اسپرم و بافت بیضه در خرگوش شد. تجویز ۲ میلی گرم بر کیلو گرم الایژیک اسید، اثر حفاظتی را اعمال کرد (۱۲). در مطالعه حاضر افزودن تمامی سطوح الایژیک اسید نتوانست سبب افزایش معنی‌دار یکپارچگی غشاء نسبت به گروه شاهد شود. در تحقیقی افزودن ۱ و ۲ میلی مولار از آنتی اکسیدان الایژیک اسید بر سردسازی منی قوچ باعث بهبود سلامت غشاء اسپرم شد (۳۴) که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر همخوانی ندارد. احتمالاً این تفاوت ناشی از متفاوت بودن رقیق کننده بکار رفته یا سایر عوامل تأثیرگذار باشد. نتایج مطالعه حاضر مغایر با نتایج نجفی و همکاران (۲۰۱۴) می‌باشد که گزارش کردند استفاده از آنتی اکسیدان سبب افزایش یکپارچگی غشای اسپرم قوچ می‌شود (۳۴).

در پژوهش حاضر افزودن ۰/۵ میلی مولار الایژیک اسید باعث کاهش اسپرم‌های غیرنرمال شد. در مطالعه‌ای استفاده از عصاره انار در تغذیه موش‌ها باعث کاهش اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (7). از بین رفتن فعالیت غشایی اسپرم به سبب پراکسیداسیون لیپیدی در غشاء پلاسمایی اسپرم، دلیلی بر از بین رفتن سیالیت غشاء و فعالیت سلول خواهد بود (۴). به همین علت افزودن مواد محافظ انجماد و مواد دارای خاصیت آنتی اکسیدانی به رقیق کننده منی، می‌تواند سبب کم کردن اثر شوک سرمایی به اسپرم شود. در پژوهش حاضر افزودن الایژیک اسید سطح

اثرات آنتی اکسیدانی ترکیبات پلی فنولیک عمدتاً به خاصیت الکترونی دهنده‌گی این ترکیبات ارتباط داشته و می‌تواند با انتقال گروه هیدروکسیل از ساختمان خود به لیپیدها، آنها را از حمله رادیکال‌های آزاد و فرآیند لیپید پراکسیداسیون حفظ کند. همچنین این ترکیبات قادر به ایجاد کمپلکس با یون‌های فلزی و مهار فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو و هیدرولیتیک هستند، در نتیجه می‌توانند فعالیت جذب یا مهار رادیکال‌های آزاد را از خود نشان دهند (۳۴). مطالعات نشان دادند که الایژیک اسید دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بوده و یک ترکیب فنولی است (۴۴). علاوه بر این افزودن عصاره انار سبب بهبود صفات کیفی مایع منی شد (۲۸).

در این مطالعه اثر آنتی اکسیدان الایژیک اسید بر کیفیت اسپرم قوچ بعد از فرآیند انجماد/یخ‌گشایی مورد بررسی قرار گرفت. الایژیک اسید بدلیل داشتن چهار گروه فنولیک که با یک ساختار بنزوفوران ترکیب شدند، دارای خاصیت جاروب کنندگی (گونه‌های فعال اکسیژن) ROS و (گونه‌های فعال نیتروژن) RNS است (۱۱)؛ که باعث کاهش اثر رادیکال‌های آزاد بر روی سلول اسپرم شده و همین‌طور با داشتن خاصیت ضد آپوپتوزی (۳۰) در نهایت باعث افزایش زنده‌مانی سلول اسپرم می‌شود. در مطالعه حاضر تمامی سطوح مورد بررسی سبب افزایش قدرت زنده‌مانی اسپرم‌ها و بهبود صفات مرتبط با تحرک اسپرم شد؛ که نتایج بدست آمده در این بررسی با نتایج سایر مطالعات همخوانی داشت (۷، ۱۵، ۱۸، ۲۰، ۲۸). مطالعه ال-شیشتاوی و همکاران (۲۰۱۶) بر روی منی گاو نشان داد که استفاده از عصاره انار سبب بهبود تحرک در ۱۰ روز بعد از نگهداری آن شد و همین‌طور زنده‌مانی و تحرک بعد از یخ‌گشایی نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. که نتایج این تحقیق با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت. با توجه به اینکه اسید الایژیک یک ترکیب فنولی است و دارای فعالیت-های بیولوژیک متنوعی، از قبیل خاصیت قوی آنتی اکسیدانی (22) خواص آنتی موتاژن، آنتی آپوپتوز است، اما قدرت بالای آن احتمالاً در نتیجه مهار رادیکال‌های آزاد OH^- و O^- است که منتج به افزایش

گلوتاتیون (GSH)، گلوتاتیون پراکسیداز (GSH-PX) و کاتالاز (CAT) در سطوح مختلف مورد استفاده عصاره انار بود که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت ندارد (۴۴).

اسپرم‌ها دارای مکانیسم‌های متعدد دفاعی در برابر انواع گونه‌های اکسیژن فعال هستند. این مکانیسم‌ها شامل کاتالاز، اسید اوریک، تورین، گروه‌های تیول، اسید اسکوربیک و α -توکوفرول است، اما مهمترین آنها سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز و سیستم ردوکتاز گلوتاتیون می‌باشند، که احتمالاً الازیک اسید بر روی سایر عوامل بالا برنده ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام به غیر از افزایش در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز موثر بوده است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به دست آمده از این بررسی موید آن است که استفاده از ۰/۵ میلی‌مولار الازیک اسید باعث بهبود پارامترهای مربوط به کیفیت اسپرم و کاهش فرآیند اکسیداتیو شد ($P < 0/05$). این در حالیست که غلظت‌های بالا نسبت به غلظت‌های پایین‌تر تاثیر کمتری بر بهبود کیفیت اسپرم داشتند.

MDA را نسبت به گروه شاهد بطور معنی‌داری کاهش نداد؛ در نتیجه سلامت غشاء پلاسمایی نیز در افزودن این آنتی‌اکسیدان در تمامی سطوح مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. نتایج پژوهش حاضر مغایر با نتایج مهدی پور همکاران (۲۰۱۶) می‌باشد که گزارش کردند استفاده از آنتی اکسیدان گیاهی باعث کاهش میزان MDA اسپرم قوچ قزل بعد از فرآیند انجماد می‌شود (۲۹). افزودن عصاره انار به محیط رقیق کننده منی خروس باعث افزایش اثرات محافظتی در برابر پراکسیداسیون لیپیدی در طول ذخیره‌سازی تا ۳۶ ساعت شده بود که با نتایج مطالعه ای حاضر مطابقت نداشت (۵).

علاوه بر این در پژوهش حاضر تمامی سطوح الازیک اسید سبب بهبود پارامترهای مربوط به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام نسبت به گروه شاهد شد، در حالیکه فعالیت سایر آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی را افزایش نداد. مهدی پور و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که استفاده از آنتی اکسیدان گیاهی باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسپرم بعد از یخ‌گشایی می‌شود که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (۲۹). ترک و همکاران (۲۰۰۸) با افزودن عصاره انار به جیره موش‌های نر تاثیر آنرا در کیفیت اسپرم، تراکم سلول اسپرم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سطح تستوسترون مورد مطالعه قرار داد، که نتایج بیانگر کاهش قابل ملاحظه میزان MDA و افزایش معنی‌دار فعالیت

منابع

- 1- Agarwal, A. and R. A. Saleh. 2002. Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. *Urologic Clinics of North America*, 29(4):817-827.
- 2- Aitken, R.J. 1994. Pathophysiology of human spermatozoa. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 6(2): 128-135.
- 3- Aitken, R. J., H. M. Fisher, N. Fulton, E. Gomez, W. Knox, B. Lewis, and S. Irvine. 1997. Reactive oxygen species generation by human spermatozoa is induced by exogenous NADPH and inhibited by the flavoprotein inhibitors diphenylene iodonium and quinacrine. *Molecular reproduction and development*, 47(4):468-482.
- 4- Aitken, R. J. and D. Sawyer. 2003. The human spermatozoon-not waving but drowning. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 518: 85-98.
- 5- Al-Daraji, H. J. 2015. The use of pomegranate juice for counteract lipid peroxidation that naturally occurred during liquid storage of roosters' semen. *Pharmacogn Commu*, 5(1): 70-76.
- 6- Alvarez, J. G. and B. T. Storey. 1995. Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. *Molecular Reproduction and Development*, 42(3): 334-346.
- 7- Amini Rad, O., M. A. Khalili and H. R. Soltani Gord Faramarzi. 2009. Influence of pomegranate juice on sperm parameters and fertility in mice. *Medical Journal of Hormozgan University*, 13(3): 182-188.
- 8- Bailey, J. L., J. F. Bilodeau and N. Cormier. 2000. Semen cryopreservation in domestic animals: A damaging and capacitating phenomenon. *Journal of Andrology*, 21(1): 1-7.
- 9- Bansal, A. K. and G. S. Bilaspuri. 2008. Effect of ferrous sulphate and ascorbic acid on motility, viability and lipid peroxidation of crossbred cattle bull spermatozoa. *Animal*, 2(1): 100-104.
- 10- Bilodeau, J. F., S. Blanchette, C. Gagnon and M. A. Sirard. 2001. Thiols prevent H₂O₂-mediated loss of sperm motility in cryopreserved bull semen. *Theriogenology*, 56(2): 275-86.
- 11- Bondet, V., W. Brand-Williams and C. Berset. 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Food Science and Technology*, 30(6): 609-615.
- 12- Ceribasi, A. O., G. Turk, M. Sonmez, F. Sakin and A. Atessahin 2010. Toxic effect of cyclophosphamide on sperm morphology, testicular histology and blood oxidant-antioxidant balance, and protective roles of lycopene and ellagic acid. *Basic Clinical Pharmacology and Toxicology*, 107(3): 730-736.

- 13- Çeribaşı A. O., F. Sakin, G. Türk, M. Sönmez and A. Ateşşahin. 2012. Impact of ellagic acid on adriamycin-induced testicular histopathological lesions, apoptosis, lipid peroxidation and sperm damages. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(7-8): 717-724.
- 14- Cocuzza, M., S. C. Sikka, K. S. Athayde, and A. Agarwal. 2007. Clinical relevance of oxidative stress and sperm chromatin damage in male infertility: an evidence based analysis. *International Brazilian Journal of Urology*, 33(5):603-621.
- 15- Daghigh Kia, H., R. Shahbaz zadeh and I. Ashrafi. 2015. Antioxidant effect of *Macrantha Satureja* extraction on microscopic and biochemical parameters of bull sperm after freeze -thawing process. *Animal Science Journal*, 28(108): 101-112.
- 16- Domínguez-Rebolledo, A. E., M. R. Fernández-Santos, A. Bisbal, J. L. Ros-Santaella, M. Ramón, M. Carmona, F. Martínez-Pastor and J. Garde. 2010. Improving the effect of incubation and oxidative stress on thawed spermatozoa from red deer by using different antioxidant treatments. *Reproduction, Fertility, and Development*, 22(5): 856-70.
- 17- Dorai, T. and B. B. Aggarwal. 2004. Role of chemopreventive agents in cancer therapy. *Cancer letters*, 215(2): 129-140.
- 18- El-Sheshtawy, R. I., G. A. El-Sisy and W. S. El-Nattat. 2016. Effects of pomegranate juice in Tris-based extender on cattle semen quality after chilling and cryopreservation. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(4): 335-339.
- 19- Evans, G., W. M. C. Maxwell and S. Salamon. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths, Sydney, Boston.
- 20- Farhadi, R., H. Daghigh Kia and I. Ashrafi. 2015. The effect of *salvia sahendica* ethanolic extract as natural antioxidant on quality parameters of cryopreserved Holstein bull sperm. *Research on Animal Production*, 6(12): 79-86.
- 21- Halliwell, B. and J. M. C. Gutteridge. 1998. *Free Radicals in Biology and Medicine* (3rd ed.) Oxford University.
- 22- Hassoun, E. A., J. Vodhanel and A. Abushaban. 2004. The modulatory effects of ellagic acid and vitamin E succinate on TCDD-induced oxidative stress in different brain regions of rats after subchronic exposure. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 18(4): 196-203.
- 23- Jones, R., T. Mann, and R. Sherins. 1979. Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa, spermicidal properties of fatty acid peroxides, and protective action of seminal plasma. *Fertility and sterility*, 31(5):531-537.
- 24- Khosrowbeygi, A. and N. Zarghami. 2007. Fatty acid composition of human spermatozoa and seminal plasma levels of oxidative stress biomarkers in subfertile males. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 77(2):117-121.
- 25- Kumar, H. and S. Mahmood. 2001. The use of fast acting antioxidants for the reduction of cow placental retention and subsequent endometritis. *Indian Journal of Animal Sciences*, 71: 650-653.
- 26- Lenzi, A., L. Gandini, M. Picardo, F. Tramer, G. Sandri, and E. Panfili. 2000. Lipoperoxidation damage of spermatozoa polyunsaturated fatty acids (PUFA): scavenger mechanisms and possible scavenger therapies. *Frontiers in Bioscience*, 5(1):1-15.
- 27- Maia Mda, S., S. D. Bicudo, C. C. Sicherle, L. Rodello and I. C. S. Gallego. 2010. Lipid peroxidation and generation of hydrogen peroxide in frozen-thawed ram semen cryopreserved in extenders with antioxidants. *Animal Reproduction Science*, 122(1-2): 118-23.
- 28- Mansour, S. W., S. Sangi, S. Harsha, M. A. Khaleel and A. R. Ibrahim. 2013. Sensibility of male rats fertility against olive oil, *Nigella sativa* oil and pomegranate extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(7): 563-568.
- 29- Mehdipour, M., H. Daghigh kia, A. Najafi, H. Vaseghi Dodaran and O. Garcia-Alvarez. 2016. Effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract and pre-freezing equilibration time on the post-thawing quality of ram semen cryopreserved in a soybean lecithin-based extender. *Cryobiology*, 73, 297-303.
- 30- Mertens-Talcott, S. U. and S. S. Percival. 2005. Ellagic acid and quercetin interact synergistically with resveratrol in the induction of apoptosis and cause transient cell cycle arrest in human leukemia cells. *Cancer letters*, 218(2): 141-151.
- 31- Miller, J. K., E. Brzezinska-Slebodzinska and F. C. Madsen. 1993. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *Journal of Dairy Science*, 76(9): 2812-2823.
- 32- Najafi, A., H. Daghigh Kia, H. Mohammadi, M. H. Najafi, Z. Zanganeh, M. Sharafi, F. Martinez-Pastor and H. Adeldust. 2014. Different concentrations of cysteamine and ergothioneine improve microscopic and oxidative parameters in ram semen frozen with a soybean lecithin extender. *Cryobiology*, 69: 68-73.
- 33- Omur, A. D. and K. Coyan. 2016. Protective effects of the antioxidants curcumin, ellagic acid and methionine on motility, mitochondrial transmembrane potential, plasma membrane and acrosome integrity in freeze-thawed Merino ram sperm. *Veterinari Medicina*, 61(1): 10-16.

- 34- Omur, A., K. Cayan, C. Ozturk, S. Gungor and M. Bucak. 2014. The effects of curcumin, ellagic acid and methionine on post-thawed Merino rams sperm parameters. *The FASEB Journal*, 28(1): supplement 759.1.
- 35- Osawa, T. 1994. Novel natural antioxidants for utilization in food and biological systems. In *Postharvest Biochemistry of plant Food-Materials in the Tropics*; Uritani, I, Garcia, V, Mendoza V. Japan Scientific Societies Press: Tokyo, Japan; 241–251.
- 36- Placer, Z. A., L. L. Cushman and B. C. Johnson. 1966. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Analytical Biochemistry*, 16(2): 359–364.
- 37- Priyadarsini, K. I., S. M. Khopde, S. S. Kumar and H. Mohan. 2002. Free radical studies of ellagic acid, a natural phenolic antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7): 2200–6.
- 38- Revell, S. G. and R. A. Mrode. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Animal Reproduction Science*, 36(1-2): 77–86.
- 39- Rice-Evans, C. A., N. J. Miller, P. G. Bolwell, P. M. Bramley and J. B. Pridham. 1995. The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22(4): 375–383.
- 40- Salamon, S. and W. M. Maxwell. 2000. Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*, 62(1-3): 77-111.
- 41- Schäfer, S. and A. Holzmann. 2000. The use of transmigration and Spermac stain to evaluate epididymal cat spermatozoa. *Animal Reproduction Science*, 59(3-4): 201–211.
- 42- Seeram, N. P., L. S. Adams, S. M. Henning, Y. Niu, Y. Zhang, M. G. Nair and D. Heber. 2005. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(6): 360–7.
- 43- Sikka, S. C. 1996. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Frontiers in Bioscience*, 1.e78–e86.
- 44- Tavalani, H., M. T. Goodarzi, A. Vaisi-Raygani, S. Salimi, and T. Hassanzadeh. 2008. Activity of antioxidant enzymes in seminal plasma and their relationship with lipid peroxidation of spermatozoa. *International Braz Journal Urology*, 34(4):485-491.
- 45- Türk, G., A. Ateşşahin, M. Sönmez, A. O. Ceribaşı and A. Yüce. 2008. Improvement of cisplatin-induced injuries to sperm quality, the oxidant-antioxidant system, and the histologic structure of the rat testis by ellagic acid. *Fertility and Sterility*, 89(5): 1474–148.1.
- 46- Turk, G., S. M. Sonmez, M. Aydin, A. Yuce, S. Gur, M. Yuxselm E. H. Aksu and H. Aksoy. 2008. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clinical Nutrition*, 27(2): 289–296.
- 47- Vatter, D. A. and K. Shetty. 2003. Ellagic acid production and phenolic antioxidant activity in cranberry pomace (*Vaccinium macrocarpon*) mediated by *Lentinus edodes* using solid-state system. *Process Biochemistry*, 39(3): 367-379.
- 48- Verma, A., K. C. Kanwar. 1999. Effect of vitamin E on human sperm motility and lipid peroxidation in vitro. *Asian Journal of Andrology*, 1(3): 151-4.
- 49- Woolliams, J. A., G. Wiener, P. H. Anderson and C. H. Murray. 1983. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood in various breed crosses of sheep. *Research in Veterinary Science*, 34 (3): 253-256.
- 50- Zalata, A., T. Hafez, and F. Comhaire. 1995. Evaluation of the role of reactive oxygen species in male infertility. *Human Reproduction*, 10(6):1444-1451.



Use of the Ellagic Acid Antioxidant to Improve Quality of Freeze-Thawed Ghezel Sperm

Z. Blouky¹ - H Daghigh Kia^{2*} - A. Najafi³ - M. Mahdipour³

Received: 20-08-2016

Accepted: 24-06-2017

Introduction The highest damage to the sperm is caused by oxidative stress due to the production of reactive oxygen species (ROS). Semen cryopreservation causes some structural, biochemical and functional changes, which leads to various problems in sperm transport, survival and fertility rate in domestic animals. Also, sperm metabolism produces ROS, which is potentially harmful to the sperm plasma membrane integrity loss of motility. High concentrations of ROS have negative effects on sperm quality and increased degradation of DNA, lipid peroxidation and oxidative stress which inhibits sperm motility and changes in sperm infrastructure and finally the reduction of fertility.

Seminal plasma contains enzymes such as superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX) and catalase (CAT) which have an important role in the inhibition of the deleterious effects of ROS. Lipid peroxidation may be due to lack of coordination between SOD, GPX, and CAT in seminal plasma or deficiency of total antioxidant capacity of the cell. Ellagic acid is a polyphenol compound that can be found in green tea and other natural resources such as pomegranate, strawberry, raspberry, walnut and eucalyptus bark. Ellagic acid showed antioxidant and anti-apoptotic effects, it can delay or prevent cellular oxidation; ultimately reduce oxidative stress. Ellagic acid increases the activity of enzymes SOD, CAT and GPx by preventing free radical attack to cells. This research was conducted to evaluate the antioxidant effect of different levels of Ellagic acid on microscopic, biochemical parameters, antioxidant enzyme activities and total antioxidant capacity of ram semen after freezing-thawing process.

Materials and Methods Five Ghezel rams were used. Semen samples were collected twice a week using artificial vagina. In order to remove individual effects, the semen samples were pooled together. Different levels of ellagic acid (0.25, 0.5, 1, 1.5 mM) were added in diluent of tris-lecithin based. After processing and freezing, the samples were stored in liquid nitrogen until the time of evaluation. After thawing of semen samples, sperm motility parameters were evaluated using CASA system, viability by with Eosin-nigrosin staining, membrane integrity with a solution of hypo-osmotic, sperm abnormalities using a solution of Hancock, lipid peroxidation by measuring malondialdehyde and the seminal plasma antioxidant enzymes of glutathione peroxidase, superoxide dismutase and total antioxidant capacity using the RANDOX Laboratories kit. The data were analyzed with SAS (9.1.3) software using GLM procedures.

Results and Discussion The results showed that the levels of 0.25, 0.5, 1 and 1.5 mM ellagic acid improved survival and total motility parameters ($P < 0.05$). Addition of 0.5 mM ellagic acid reduced abnormal sperm, but improved the linearity motion, straight line velocity and average path velocity of sperm ($P < 0.05$). Addition of 0.25 mM level improved the curvilinear velocity compared to the control group. Total antioxidant capacity was improved in all the treated compared to the control group ($P < 0.05$). Increasing TAC level in seminal plasma may have a significant role in sperm normality. No significant difference was found in the glutathione peroxidase activity and superoxide dismutase enzymes and malondialdehyde levels in treatments containing ellagic acid compared to the control group. Sperm have multiple mechanisms of defense against reactive oxygen species. These mechanisms include catalase, uric acid, taurine, thiols, ascorbic acid and α -tocopherol, but the superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione reductases are the most important ones. Apart from the increase in the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes, ellagic acid probably had an impact on other factors to increase the total antioxidant capacity. All levels of ellagic acid non-significantly increased the plasma membrane integrity compared to the control group. The loss of sperm plasma membrane activity due to the lipid peroxidation may lead to loss of membrane fluidity and cell activity (Aitken

1-MSc Graduated student, Department of Animal Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2-Professor, Department of Animal Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

3-Ph.D. Student, Department of Animal Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

(*-Corresponding Author Email: daghighkia@tabrizu.ac.ir)

and Sawyer, 2003). For this reason, addition of cryoprotectants and antioxidants to the extender can reduce the effects of cold shock on sperm.

Conclusion The findings of this study showed that the diluent containing 0.5 mM ellagic acid significantly improved sperm parameters compared to other levels, after freezing-thawing process.

Keywords: Cryopreservation, Ellagic acid, Ram, sperm.

Contents

Ruminant nutrition

Performance and Physiological Response to Transportation Stress of Baluchi Ewe Lambs Fed Selenium-methionine and Chromium-methionine Supplements	10
---	-----------

A. Mousaie - R. Valizadeh - AA. Naserian- M. Heidarpour- H. Kazemi-mehrjerdi

Effects of Application of Vegetable and Mushroom Waste on Chemical Composition and in situ Degradability of Rumen Content in Vermicomposting	22
---	-----------

K Sadeghi, A Taghizadeh, H Janmohammadi and G A Moghadam

The Effects of Zinc Oxide Nano Particles on Growth Performance and Blood Metabolites and some Serum Enzymes in Holstein Suckling Calves	33
--	-----------

Jamal Seifdavati - Matlab Jahan Ara - Sayad Seifzadeh - Hossein Abdi Benamar - Farzad Mirzaie Aghjeh Gheshlagh - Reza Seyedsharifi - Vahid Vahedi

Evaluation of Nutritional Value and Ruminal Fermentation of Mesquitepod	46
--	-----------

Hassan aliarabi, Fereshteh alipour, Poya zamani, Daryoush alipour, Mostafa maleki and Khalil zaboli

Poultry nutrition

Evaluation of the Effects of Earthworm (<i>Eisenia fetida</i>) Meal and Ethanol Extract on Antioxidant Status, Liver Enzymes and some Blood Parameters in Western Azarbaijan Native Roosters	59
---	-----------

M. Rabbani Shokouh, M. A. Karimi Torshizi, A.R. Alizadeh

Effect of Electron Beam Irradiation on Gossypol, Chemical Composition and Fatty Acids of Whole Cottonseed	68
--	-----------

Somayyeh Salari - Zeinab Poorazadi

The Effect of Different Dietary Levels of <i>Yucca Schidigera</i> Extract Powder on Performance, Blood Metabolites, Immune System and Carcass Traits of Broiler Chickens	80
---	-----------

Ehsan Amirbeik, Ahmad Hassanabadi, Hassan Nassiri-Moghaddam

Genetic and breeding

Determination of Breeding Objectives of Moghani sheep in Nomadic System	95
--	-----------

Reza Seyedsharifi - Fatemeh Nour afkan - Mostafa Phouladi- JamalSeifdavati

Estimation of economic values for important production traits in native cattle of Ilam province	107
--	------------

H. Hosseini Nasr- H. Roshanfeker- J. Fayazi – M. T. Baigi Nasiri

Determination of Dopamine Receptor Gene Polymorphism by <i>BseNI</i> Restriction Enzyme	115
--	------------

M. Bazgiri, M T. Beigi- Nassiri, J. Fayazi

Gene Expression Analysis on Apoptosis network and design it in EsfahaniAndRoss Breeds	130
--	------------

Zhila Hesani, Mohammad Reza Nasiry, Mohammad Rezabakhtiarizadeh, Mojtaba Tahmorespur, Ali Javadmanesh

Genetic Diversity and Phylogenetic Analysis of D-loop Region of mtDNA in Baluchi Sheep Breed	139
---	------------

F. Bahri Binabaj - G. Bihamta – Z. Pirkhezranian

Physiology

Use of the Ellagic Acid Antioxidant to Improve Quality of Freeze-Thawed Ghezel Sperm	151
---	------------

Z. Blouky- H Daghigh Kia- A. Najafi - M. Mahdipour

«Research and Scientific Journal»
Iranian Journal of Animal Science Research

Vol. 10

No. 1

Spring 2018

Publisher: Ferdowsi University of Mashhad (F.U.M.)

Responsible Manager: H. Nassiri Moghaddam (Prof.)

Editor-in-Chief: R. Valizadeh (Prof.)

Editorial Board:

R. Valizadeh	Ruminant Nutrition	(Prof.)	(F.U.M.)
M. Danesh Mesgaran	Ruminant Nutrition	(Prof.)	(F.U.M.)
G.R. Ghorbani	Ruminant Nutrition	(Prof.)	Esfahan Technology University
S.M. Tabatabaee	Ruminant Nutrition	(Prof.)	Bo Ali-Sina University of Hamedan
H. Nassiri-Moghaddam	Poultry Nutrition	(Prof.)	(F.U.M.)
A. Golian	Poultry Nutrition	(Prof.)	(F.U.M.)
J. Pour-Reza	Poultry Nutrition	(Prof.)	Esfahan Technology University
F. Boldaji	Poultry Nutrition	(Prof.)	Gorgan Agricultural and Natural Resources University
J. Zamiri	Animal Physiology	(Prof.)	Shiraz University
M.R. Nassiri	Genetics & breeding	(Prof.)	(F.U.M.)
A.Nejati Javaremi	Genetics & breeding	(Asso. Prof.)	Tehran University
E. Khafipour	Microbiology	(Asist. Prof.)	University of Manitoba, Canada
M. Sargolzaei	Genetics	(Asso. Prof.)	University of Guelph, Canada

Printed by: Ferdowsi University of Mashhad, Press.

Address: P.O. Box 91775-1163, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

Phone: +98-51-38804656

Fax: +98-51-38787430

E-Mail: ijasr@ferdowsi.um.ac.ir

Web Site: <https://ijasr.um.ac.ir>

Contents

Ruminant nutrition

- Performance and Physiological Response to Transportation Stress of Baluchi Ewe Lambs Fed Selenium-methionine and Chromium-methionine Supplements** 10
A. Mousaei - R. Valizadeh - AA. Naserian- M. Heidarpour- H. Kazemi-mehrjerdi
- Effects of Application of Vegetable and Mushroom Waste on Chemical Composition and in situ Degradability of Rumen Content in Vermicomposting**..... 22
K. Sadeghi, A. Taghizadeh, H. Jann Mohammadi and G. A. Moghadam
- The Effects of Zinc Oxide Nano Particles on Growth Performance and Blood Metabolites and some Serum Enzymes in Holstein Suckling Calves** 33
Jamal Seifdavati - Matlab Jahan Ara - Sayad Seyfzadeh - Hossein Abdi Benamar – Farzad Mirzaei Aghjeh Gheshlagh - Reza Seyedsharifi - Vahid Vahedi
- Evaluation of Nutritional Value and Ruminant Fermentation of Mesquitepod**..... 46
Hassan aliarabi, Fereshteh alipour, Poya zamani, Daryoush alipour, Mostafa maleki and Khalil zaboli

Poultry nutrition

- Evaluation of the Effects of Earthworm (*Eisenia fetida*) Meal and Ethanol Extract on Antioxidant Status, Liver Enzymes and some Blood Parameters in Western Azarbaijan Native Roosters**..... 59
M. Rabbani Shokouh, M. A. Karimi Torshizi, A.R. Alizadeh
- Effect of Electron Beam Irradiation on Gossypol, Chemical Composition and Fatty Acids of Whole Cottonseed** 68
Sonayyeh Salari - Zainab Poorazadi
- The Effect of Different Dietary Levels of *Yucca Schidigera* Extract Powder on Performance, Blood Metabolites, Immune System and Carcass Traits of Broiler Chickens**..... 80
Ehsan Amirbeik, Ahmad Hassanabadi, Hassan Nassiri-Moghaddam

Genetic and breeding

- Determination of Breeding Objectives of Moghani sheep in Nomadic System** 95
Reza Seyedsharifi - Fatemeh Nour afkan - Mostafa Phouladi- JamalSeifdavati
- Estimation of economic values for important production traits in native cattle of Ilam province**..... 107
H. Hosseini Nasr- H. Roshanfekr- J. Fayazi – M. T. Baigi Nasiri
- Determination of Dopamine Receptor Gene Polymorphism by *Bse*VI Restriction Enzyme**..... 115
M. Bazgiri, M. T. Beigi- Nassiri, J. Fayazi
- Gene Expression Analysis on Apoptosis network and design it in Esfahani And Ross Breeds** 130
Zhila Hesani, Mohammad Reza Nasiry, Mohammad Rezabakhtiarizadeh, Mojtaba Tahmorespur, Ali Javadmanesh
- Genetic Diversity and Phylogenetic Analysis of D-loop Region of mtDNA in Baluchi Sheep Breed**..... 139
F. Bahri Binabaj - G. Bihanita – Z. Pirkhezranian

Physiology

- Use of the Ellagic Acid Antioxidant to Improve Quality of Freeze-Thawed Ghezel Sperm** 151
S. Razavian - H. Daghig Kia- A. Najafi - M. Mahdipour