

نشریه علمی-پژوهشی پژوهشهای علوم دامی ایران



جلد ۱۰ شماره ۳
سال ۱۳۹۷



Vol. 10 No. 3
2018

Iranian Journal of Animal Science Research

ISSN:2008-3106

۳۱۰۶-۲۰۰۸:شاپا

(شماره پیاپی: ۳۵)

عنوان مقالات

تغذیه نشخوارکنندگان

تأثیر استفاده از کشت‌های زنده باکتریایی بر قابلیت هضم و پارامترهای تخمیری شکمبه‌ای در شرایط آزمایشگاهی ۳۱۱
جواد بیات کوهسار- عبدالمنصور طهماسبی- عباسعلی ناصریان- رضا ولی‌زاده- رشید صفری

نقش مکمل روی (Zn) بر عملکرد برده‌های پرواری: فراتحلیل ۳۲۵
ندا نقدی- رضا ولی‌زاده- عباسعلی ناصریان- احمد آسوده

تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای مواد مغذی گیاهان شورزی سلمکی ساقه‌سفید، سیاه‌شور و اشنان به‌صورت انفرادی یا مخلوط در شترهای یک کوهانه ۳۳۹
اکبر ابرغانی- مرئضی چاچی- هرمز منصوری- مرئضی ممویی- جلیل میرزاده- هدایت اله روشنفکر

اثر برگ مورد بر هضم‌پذیری، برخی فراسنجه‌های خونی و شکمبه‌ای و گونه‌های پروتوزوا در گوسفند عربی ۳۵۳
کلثوم صالح پور- طاهره محمدآبادی- محمدرضا قربانی

تغذیه طیور

تأثیر سطوح مختلف عصاره برگ پسته وحشی بر عملکرد، جمعیت میکروبی سکوم و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی ۳۶۷
صادق کرد زنگنه- محمدرضا قربانی- احمد طاطار- حسن برزگر

تعیین ترکیبات شیمیایی و کیفیت پروتئین برخی از کنجاله‌های سویای داخلی و وارداتی و کنجاله گلوتن ذرت با روش‌های شیمیایی و بیولوژیکی ۳۸۱
رقیه جباری- حسین جانمحمدی- سیدعلی میرقلج- روح‌الله کیانفر

ژنتیک و اصلاح

بهبود ارزیابی ژنومی گاوهای هلشتاین با استفاده از ماتریس روابط ژنومیکر پایه اطلاعات هاپلوتا‌پها ۳۹۳
مهرنوش فروتن- سعید انصاری مهباری- فلاویو شنکل- مهدی سرگلزایی

بررسی اثر زن‌های مرتبط با میتو پروتئوم بر رشد ماهیچه سینه مرغ بومی اصفهان به‌وسیله داده RNA-seq ۴۰۳
سید نادر آلبوشکه- مجتبی طهمورث‌پور- محمدرضا بختیاری‌زاده- محمدرضا نصیری- سعید اسماعیل‌خانیان

آنالیز ژنتیکی کروموزم‌های اتوزومی و وابسته به جنس صفات قبل از شیرگیری در گوسفند مهربان ۴۱۷
میشم لطیفی

فیزیولوژی

تعیین محدوده مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم گوسفندان بالغ سنسکری به روش Reference Value Advisor ۴۲۵
محمود احمدی‌همدانی

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران

Iranian Journal of Animal Science Research

جلد ۱۰

شماره ۳

سال ۱۳۹۷

Contents

Ruminant nutrition Effect of Live Bacterial Cultures on <i>In Vitro</i> Digestibility and Ruminal Fermentation Parameters.....	322
J. Bayatkouhsar- A. M. Tahmasbi- A. A. Naserian- R. Valizadeh- R. Safari	
Role of Dietary Zinc Supplementation on Performance of Fattening Lamb: A Meta-Analysis.....	337
N. Naghdi- R. Valizadeh- A. A. Naserian- A. Asoodeh	
<i>In Situ</i> Ruminal Degradability of Halophyte Plants <i>Atriplex leucoclada</i>, <i>Suaeda fruticosa</i> and <i>Seidlitzia rosmarinus</i> Individually or Mixed in Dromedary Camels.....	351
A. Abarghani- M. Chaji- H. Mansori- M. Mamouei- K. Mirzadeh- H. Roshanfekr	
The Effect of Myrtle (<i>Myrtus communis</i>) Leaves on Digestibility, Some Blood and Ruminal Metabolites and Protozoa Morphology in Arabi Sheep	364
K. Salehpour- T. Mohammadabadi- M. R. Ghorbani	
Poultry nutrition Effect of Different Levels of Wild Pistachio (<i>pistaciaatlantica</i>) Leaves Extract on Performance, Ceca Microbial Population and Immunity Responses in Broiler Chickens.....	378
S. KordZanganeh- M. R. Ghorbani- A. Tatar- H. Barzegar	
Determination of Chemical Composition and Protein Quality of Different Commercial Samples of Soybean Meals and Corn Gluten Meal Using Biological and Chemical Assays	390
R. Jabbari- H. Janmohammadi- S. A. Mirghelenj- R. Kinfar	
Genetic and breeding Improving Genomic Evaluation of Holstein Cattle Using a Haplotype-Based Relationship Matrix.....	401
M. Forutan- S. Ansari Mahyari- F. Schenkel- M. Sargolzaei	
The Effect of Mitoproteum Genes on Breast Muscle Growth of Isfahan Native Chickens by RNA-seq Data	415
S. N. Albooshoke- M. Tahmoerespur- M. R. Bakhtiarizadeh- M. R. Nasiry- S. Esmailkhanian	
Genetic Analysis of Autosomal and Sexual Chromosomes of Pre-Weaning Traits in Mehraban Sheep.....	424
M. Latifi	
Physiology Determination of Reference Interval for Select Serum Biochemical Parameters of Healthy Adult Sangsari Sheep Using Reference Value Advisor	433
M. Ahmadi-hamedani	

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 ۳ پاییز 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 گلپان	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: ۱۰ نسخه

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

علوم دامی ایران. صندوق پستی ۹۱۷۷۵ - ۹۱۶۳

نمایر: 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.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

صفحه	تغذیه نشخوار کنندگان
۳۱۱	تأثیر استفاده از کشت‌های زنده باکتریایی بر قابلیت هضم و پارامترهای تخمیری شکمبه‌ای در شرایط آزمایشگاهی جواد بیات کوهسار - عبدالمنصور طهماسبی - عباسعلی ناصریان - رضا ولی‌زاده - رشید صفری
۳۲۵	نقش مکمل روی (Zn) بر عملکرد بروه‌های پرواری: فراتحلیل ندا نقدی - رضا ولی‌زاده - عباسعلی ناصریان - احمد آسوده
۳۳۹	تجزیه پذیری شکمبه‌ای مواد مغذی گیاهان شورزی سلمکی ساقه‌سفید، سیاه‌شور و اشنان به‌صورت انفرادی یا مخلوط در شترهای یک کوهانه اکبر ابرغانی - مرتضی حاجی - هرمز منصوری - مرتضی ممویی - خلیل میرزاده - هدایت اله روشنفکر
۳۵۳	اثر برگ مورد بر هضم‌پذیری، برخی فراسنجه‌های خونی و شکمبه‌ای و گونه‌های پروتوزوا در گوسفند عربی کلثوم صالح پور - طاهره محمدآبادی - محمدرضا قربانی
	تغذیه طیور
۳۶۷	تأثیر سطوح مختلف عصاره برگ پسته وحشی بر عملکرد، جمعیت میکروبی سکوم و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی صادق کرد زنگنه - محمدرضا قربانی - احمد طاطار - حسن برزگر
۳۸۱	تعیین ترکیبات شیمیایی و کیفیت پروتئین برخی از کنجاله‌های سویای داخلی و وارداتی و کنجاله گلوتن ذرت با روش‌های شیمیایی و بیولوژیکی رقیه جباری - حسین جانمحمدی - سیدعلی میرقلنج - روح‌الله کیانفر
	ژنتیک و اصلاح
۳۹۳	بهبود ارزیابی ژنومی گاوهای هلشتاین با استفاده از ماتریس روابط ژنومبیر پایه اطلاعات هاپلوتا‌پ‌ها مهرنوش فروتن - سعید انصاری مهباری - فلاویو شنکل - مهدی سرگلزایی
۴۰۳	بررسی اثر ژن‌های مرتبط با میتو‌پروتئوم بر رشد ماهیچه سینه مرغ بومی اصفهان به‌وسیله داده RNA-seq سید نادر آلبوشوکه - مجتبی طهمورث‌پور - محمدرضا بختیاری‌زاده - محمدرضا نصیری - سعید اسماعیل‌خانیان
۴۱۷	آنالیز ژنتیکی کروموزم‌های اتوزومی و وابسته به جنس صفات قبل از شیرگیری در گوسفند مهربان میشم لطیفی
	فیزیولوژی
۴۲۵	تعیین محدوده مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم گوسفندان بالغ سنگسری به روش Reference Value Advisor محمود احمدی همدانی

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 گردهمائی 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)

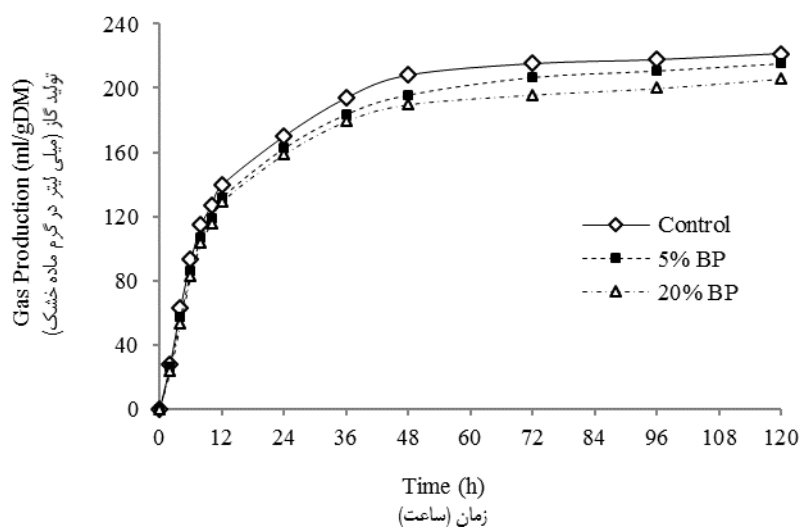
✓ **از اعداد انگلیسی در محورهای افقی و عمودی در شکل ها استفاده شود. توجه: در مورد شکل، از الگوهای سیاه و سفید استفاده**

شود و رنگ زمینه در کلیه شکلها بایستی سفید باشد.

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

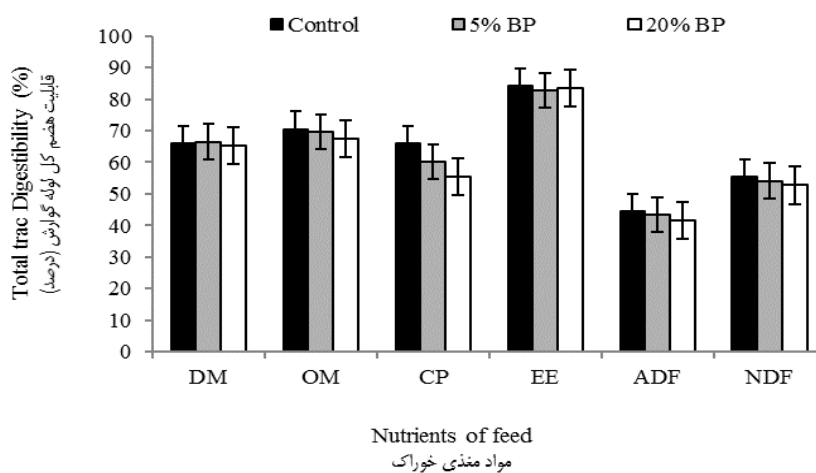
✓ **از آوردن کادر دور شکل و خطوط طولی در شکل خودداری شود.**

✓ **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.



تأثیر استفاده از کشت‌های زنده باکتریایی بر قابلیت هضم و پارامترهای تخمیری شکمبه‌ای در شرایط آزمایشگاهی

جواد بیات کوهسار^۱ - عبدالمنصور طهماسبی^{۲*} - عباسعلی ناصریان^۲ - رضا ولی‌زاده^۲ - رشید صفری^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۹/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۹/۰۴

چکیده

به منظور بررسی اثر کشت‌های زنده باکتریایی بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی، pH، غلظت نیترژن آمونیاکی شکمبه‌ای و غلظت اسیدهای چرب فرار سه سری آزمایش در شرایط آزمایشگاهی طراحی شد. سوبه‌های خالص باکتریایی شامل پروپیونی باکتریوم فریدرینریچی و انتروکوکوس فیسوم از مرکز پژوهش‌های علمی صنعتی ایران خریداری شد. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) تیمار شاهد، (۲) تیمار مکمل شده با پروپیونی باکتریوم فریدرینریچی، (۳) تیمار مکمل شده با انتروکوکوس فیسوم و (۴) تیمار مکمل شده با مخلوط پروپیونی باکتریوم فریدرینریچی و انتروکوکوس فیسوم بودند. مایع شکمبه از سه گوسفند دارای فیستوله شکمبه‌ای به‌دست آمد. در همه آزمایش‌ها از یک جیره پایه با نسبت کنسانتره به علوفه ۹۰:۱۰ استفاده شد. در آزمایش دوم مقدار یک میلی‌لیتر ساکارز ۱۰ درصد به محیط کشت تزریق و در آزمایش سوم pH محیط کشت در نقطه ۵/۵ تعدیل شد. نتایج نشان داد که تیمار شاهد در پایان مدت انکوباسیون پایین‌ترین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را داشت ($P < 0.05$). غلظت نیترژن آمونیاکی شکمبه در تمامی تیمارها در ساعت ۲ انکوباسیون پایین‌ترین مقدار بود و با پیشرفت زمان انکوباسیون افزایش یافت. بین تیمارها از نظر نسبت استات به پروپیونات اختلاف معنی‌داری وجود داشت و تیمارهای مکمل شده با پروپیونی باکتریوم و مخلوط پروپیونی باکتریوم و انتروکوکوس پایین‌ترین نسبت را داشتند ($P < 0.05$). به طور کلی، افزودن کشت‌های زنده باکتریایی در جیره‌های غذایی می‌تواند تأثیر مثبت و معنی‌داری بر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و غلظت اسیدهای چرب فرار داشته باشد که این تغییرات با تثبیت pH شکمبه‌ای همراه بود که شرایط را برای فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه مساعدتر می‌کند.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب فرار، شرایط آزمایشگاهی، قابلیت هضم، کشت‌های زنده باکتریایی، نیترژن آمونیاکی

مقدمه

راندمن خوراک و افزایش وزن روزانه در گاوهای گوشتی استفاده شده‌اند (۱۲). شواهدی دال بر اثرات سودمند کشت‌های زنده باکتریایی بر شکمبه، به‌ویژه کمک به جلوگیری از اسیدوز شکمبه‌ای وجود دارد. سم‌زدایی ۳- هیدروکسی-۴- پیریدون یکی از مهمترین موارد موفق از دستکاری تخمیر شکمبه‌ای با باکتری‌ها است (۹). کشت‌های زنده میکروبی در مقایسه با یونوفرها که معمولاً برای باکتری‌های هدفشان کشنده هستند، معمولاً رشد باکتری‌های شکمبه‌ای را تحریک می‌کنند. پژوهش‌های زیادی در ارتباط با کشت‌های مخمر و قارچ در بهبود تخمیر میکروبی و بازدهی در شکمبه (۱۰، ۱۱، ۱۳، ۱۶، ۳۳ و ۳۷) و اسیدوز لاکتیکی (۴) انجام شده است. با این حال، اخیراً توجه محققین به استفاده از ارگانیسم‌های باکتریایی با هدف بهبود تخمیر میکروبی در شکمبه و عملکرد حیوان معطوف شده است. کرهیل و همکاران (۱۲) گزارش کردند که تغذیه کشت زنده باکتریایی دارای پروپیونی باکتریا و لاکتوباسیل سبب افزایش کلی ۲/۵ تا ۵ درصدی در میانگین افزایش روزانه و تقریباً ۲ درصد بهبود در بازدهی خوراک در گاوهای پروراری شده است.

با توجه به نگرانی روزافزون در استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و دیگر محرک‌های رشد در صنعت خوراک دام و تأکید بر کاهش یا عدم استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها جهت درمان بیماری‌ها (۱۰)، توجه به اثرات کشت‌های زنده میکروبی به‌عنوان پروبیوتیک بر سلامتی و عملکرد حیوان اهمیت یافته است. پروبیوتیک‌ها، مکمل‌های زنده میکروبی خوراکی هستند که به طور سودمندانه‌ای تعادل میکروبی روده را بهبود می‌دهند (۳). برای نشخوارکنندگان، کشت‌های زنده میکروبی به‌عنوان جایگزینی بالقوه برای کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در گوساله‌های نوزاد و تحت استرس، افزایش تولید شیر در گاوهای شیری و بهبود

۱- استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه گنبد کاووس

۲- استاد گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز
(Email: a.tahmasbi@protonmail.ch)

DOI: 10.22067/ijasr.v10i3.41229

تخمیری شکمبه‌ای در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

تهیه و تولید کشت‌های باکتریایی

در این آزمایش، سویه‌های باکتریایی شامل: پروپیونی‌باکتریوم فریدرینریچی (*Propionibacterium feriderinrichi* PTCC ۱۶۷۴) و انتروکوکوس فیسیوم (*Enterococcus faecium* PTCC ۱۲۳۸) در داخل ویال‌های شیشه‌ای به صورت پودر خشک شده انجمادی از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شدند. فعال‌سازی اولیه باکتری‌ها مطابق دستورالعمل انجام و استریل گردید. انتروکوکوس فیسیوم در محیط کشت Brain Heart Infusion (BHI) و پروپیونی‌باکتریوم فریدرینریچی در محیط کشت Sodium Lactate Broth (SLB) کشت داده شدند. محیط کشت‌ها در داخل انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت تحت شرایط غیرهوازی، تا زمان رشد و ظهور کلونی، قرار داده شدند. پس از فعال‌سازی و اطمینان از رشد سویه‌های باکتریایی، مقدار یک میلی‌لیتر از این سویه‌های باکتریایی به لوله‌های آزمایشی حاوی ۹ میلی‌لیتر از محیط کشت مربوط به هر سویه که قبلاً استریل شده بود منتقل و داخل انکوباتور قرار داده شد. شمارش باکتری‌ها با استفاده از روش PCA (Plate Count Agar)، انجام شد. هر بار که اقدام به تهیه کشت تازه می‌شد، یک لوله تازه به‌عنوان کشت مرجع تهیه و نگهداری می‌شد. جهت به‌دست آوردن جمعیت باکتریایی مورد نظر (10^8 واحد تشکیل کلونی) برای استفاده در آزمایش، ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش، اقدام به تهیه کشت تازه شد. لوله‌های آزمایشی حاوی باکتری‌ها سانتریفیوژ شد و توده باکتریایی جمع شده در ته لوله با افزودن یک میلی‌لیتر از مایع بالایی سانتریفیوژ شده جهت تزریق به داخل ویال‌ها برداشته شد.

تخمیر در شرایط *in vitro* با استفاده از روش Batch culture

مایع شکمبه از سه راس گوسفند دارای فیستولای شکمبه‌ای ($45 \pm 2/5$ کیلوگرم)، سه ساعت بعد از تغذیه صبح جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه مایع شکمبه با استفاده از پارچه تنزیب چهار لایه صاف و برای حفظ شرایط بی‌هوازی گاز CO_2 تزریق شد. محلول بافر مطابق روش گوئرینگ و ون‌سوست (۸) تهیه و با شیرابه شکمبه با نسبت ۱:۱ مخلوط و pH آن در نقطه ۶/۸ تعدیل شد. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) تیمار شاهد، (۲) تیمار مکمل شده با پروپیونی‌باکتر فریدرینریچی، (۳) تیمار مکمل شده با انتروکوکوس فیسیوم و (۴) تیمار مکمل شده با مخلوط پروپیونی‌باکتر فریدرینریچی و انتروکوکوس فیسیوم بود. سه سری آزمایش با استفاده

تحقیقات اخیر نشان داده است که کشت‌های زنده باکتریایی مانند باکتری‌های تولیدکننده و مصرف‌کننده اسیدلاکتیک و باکتری‌های سلولولیتیک برای تغییر کارکرد شکمبه، درمان ناهنجاری‌های شکمبه‌ای و بهبود عملکرد حیوان و موارد ایمنی غذایی کارآمد می‌باشند (۱۷ و ۱۹). مکمل‌سازی ترکیبی از گونه‌های باکتریایی پروپیونی‌باکتریوم و لاکتوباسیلوس ممکن است راهکار عملی برای افزایش بازدهی انرژی در تغذیه حیوانات تغذیه شده با کنسانتره بالا باشد. باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک (لاکتوباسیلوس و انتروکوکوس) ممکن است به جلوگیری از اسیدوز شکمبه‌ای در گاوهای شیری کمک کنند (۶ و ۲۳)؛ چون به طور بالقوه حضور این باکتری‌ها باعث می‌شود که میکروارگانیسم‌های شکمبه‌ای با حضور اسید لاکتیک در شکمبه سازگار شوند (۳۷). نوک و همکاران (۲۳) گزارش کردند گاوهای شیری در یافت‌کننده انتروکوکوس و لاکتوباسیلوس در مقایسه با گاوهای تغذیه شده با جیره کنترل، کاهش روزانه pH شکمبه و pH شکمبه‌ای زیر ۵/۵ کمتری داشتند.

پروپیونی‌باکتری ساکنان طبیعی شکمبه بوده که حدود ۱/۴ درصد از میکروفلور طبیعی شکمبه را تشکیل داده و اسید استیک و پروپیونیک تولید می‌کنند (۲۴). توانایی در کاهش تولید متان از طریق جایگزینی استات با پروپیونات، جلوگیری از انباشتگی لاکتات (۱۳) و (۲۲) به همراه توانایی پروپیونی‌باکتری در رشد در محیط دارای اسید لاکتیک باعث کاهش اتلاف انرژی به شکل متان و بهبود بازدهی استفاده از انرژی در شکمبه و در نهایت تولید حیوان می‌شود. اسید پروپیونیک مهمترین پیش‌ساز ساخت گلوکز بوده و از این رو، تأثیر اساسی بر آزادسازی هورمونی و توزیع بافتی مواد مغذی دارد (۲۰). زمانی که نسبت اسید استیک بالا باشد، اسید پروپیونیک برای ساخت گلوکز ناکافی بوده و اسیدهای آمینه گلوکوژنیک مورد استفاده قرار می‌گیرند. استفاده از اسیدهای آمینه گلوکوژنیک برای ساخت گلوکز از استفاده‌شان برای ساخت پروتئین خواهد کاست و هزینه نگهداری پروتئین قابل متابولیسم و خروجی آمونیاک را افزایش می‌دهد (۲۲). در نتیجه، مصرف مواد مغذی به تأخیر افتاده و به‌دنبال آن تقاضای مواد مغذی در طی اوایل شیردهی، به‌ویژه در گاوهای شیری، افزایش می‌یابد. از این رو، تأمین شکمبه‌ای اسید پروپیونیک ممکن است ناکافی باشد (۲۶). تغذیه مستقیم کشت‌های زنده باکتریایی مصرف‌کننده اسید لاکتیک ممکن است از کاهش pH شکمبه از طریق کاهش تولید اسید لاکتیک جلوگیری کند (۲۳). مطالعات اندکی در خصوص تأثیر کشت‌های زنده میکروبی (تولیدکننده و مصرف‌کننده اسید لاکتیک) بر فرایندهای تخمیری شکمبه‌ای در شرایط آزمایشگاهی انجام شده است. لذا هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی تأثیر کشت‌های زنده باکتریایی پروپیونی‌باکتریوم فریدرینریچی (مصرف‌کننده اسید لاکتیک) و انتروکوکوس فیسیوم (تولیدکننده اسید لاکتیک) بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی و مولفه‌های

از این تیمارها انجام شد که از جیره بر پایه کنسانتره (جدول ۱) با نسبت کنسانتره به علوفه (یونجه) ۹۰:۱۰ استفاده شد. با این تفاوت که در آزمایش دوم مقدار یک میلی‌لیتر ساکارز ۱۰ درصد به محیط کشت تزریق شد و در آزمایش سوم pH محیط کشت (مخلوط بافر و مایع شکمبه) در نقطه ۵/۵ تعدیل گردید.

جدول ۱- ترکیب کنسانتره مورد استفاده در آزمایش (بر اساس درصد ماده خشک)

Table 1- Ingredient composition (% DM basis) of the experimental concentrate

اقلام خوراکی Ingredients	درصد (%)
دانه ذرت Corn grain	30
دانه جو Barley grain	34
کنجاله سویا Soybean meal	8
دانه کتان Cottonseed	12
تفاله چغندر Sugar beet pulp	5
سیوس گندم Wheat bran	10
کلسیم کربنات CaCO ₃	0.3
نمک Salt	0.2
مواد معدنی و ویتامینی Mineral and Vitamin Supplement ¹	0.5
ترکیبات شیمیایی Chemical composition	
پروتئین خام Crude protein	15.5
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	28.9
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF	20.7
چربی خام EE	1.79
کربوهیدرات‌های غیر الیافی NFC	34
انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری بر کیلوگرم ماده خشک) Metabolizable energy (Mcal/kg DM)	2.8
Premix contained (DM basis): 71g NaHCO ₃ kg ⁻¹ , 19g Mg kg ⁻¹ , 3g FeSO ₄ kg ⁻¹ , 0.2g MnO kg ⁻¹ , 0.3g ZnSO ₄ kg ⁻¹ , 0.3 g CuSO ₄ , 196 g CaSO ₄ , Vitamin A, 1000000 IU kg ⁻¹ , Vitamin D, 1000000 IU kg ⁻¹ , Vitamin E, 1000000 IU kg ⁻¹ , 0.4 g kg ⁻¹ antioxidant (B.H.T).	

۳۸/۶ درجه سلسیوس جهت انکوباسیون برای زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت قرار داده شدند.

نمونه‌گیری و آنالیز آماری

بعد از گذشت هر یک از زمان‌های مورد نظر، چهار ویال‌ها از هر

۵۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع شکمبه و بافر در حضور دی‌اکسیدکربن داخل ویال‌های شیشه‌ای که حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم ماده خشک جیره بودند، ریخته شد (چهار تکرار برای هر تیمار برای هر زمان). همزمان کشت‌های زنده باکتریایی آماده شده در شروع آزمایش به داخل ویال‌ها تزریق شدند. سر ویال‌ها به کمک درپوش پلاستیکی و پوشش آلومینیومی به طور کامل بسته و در حمام آب گرم با دمای

نتایج و بحث

تأثیر افزودن کشت‌های زنده باکتریایی بر قابلیت هضم

ماده خشک و ماده آلی در شرایط آزمایشگاهی

تأثیر افزودن کشت‌های زنده باکتریایی بر قابلیت هضم ماده خشک و قابلیت هضم ماده آلی برای هر سه سری آزمایش در جدول‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در شرایط آزمایشگاهی با پیشرفت زمان انکوباسیون در تمام تیمارها روند افزایشی داشت. در آزمایش اول با استفاده از جیره پایه قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در ساعت ۲ انکوباسیون در تیمار حاوی پروپیونی باکتریوم بالاترین و تیمار حاوی انتروکوکوس پایین‌ترین مقدار بود ($P < 0.05$). در پایان مدت انکوباسیون (ساعت ۲۴ انکوباسیون)، تیمار شاهد در مقایسه با سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری پایین‌ترین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را داشت ($P < 0.05$). با این حال در ساعت ۲۴ انکوباسیون، بین تیمارهای دارای افزودنی باکتریایی اختلاف معنی‌داری از نظر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی وجود نداشت. در آزمایش دوم که با استفاده از جیره پایه و تزریق ساکارز انجام شد، در ساعت ۲ انکوباسیون تیمار مکمل شده با انتروکوکوس به‌طور معنی‌داری پایین‌ترین مقدار قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را داشت ($P < 0.05$). در ساعت ۲۴ انکوباسیون تیمارهای دارای افزودنی باکتریایی در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی بالاتری داشتند ($P < 0.05$).

در آزمایش سوم، با تنظیم pH در نقطه ۵/۵ روند افزایشی در قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی مانند آزمایش‌های قبلی در کلیه تیمارها مشاهده شد. به طوری که در زمان ۴ ساعت پس از شروع انکوباسیون تیمارهای حاوی افزودنی‌های باکتریایی از قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی پایین‌تری برخوردار بودند که به تدریج این افت در قابلیت هضم با پیشرفت انکوباسیون جبران شد و در ساعت‌های ۱۲ و ۲۴ انکوباسیون تیمارهای حاوی افزودنی انتروکوکوس فیسوم (تیمارهای سوم و چهارم) بالاترین مقدار قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را داشتند. به طور کلی، روند تغییرات در قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در هر سه آزمایش مشابه بود و در پایان مدت انکوباسیون تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای دارای افزودنی باکتریایی پایین‌ترین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را داشت ($P < 0.05$). با اینکه تیمار مکمل شده با انتروکوکوس فیسوم در هر سه سری آزمایش در ساعت ۲ انکوباسیون پایین‌ترین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را داشت ($P < 0.05$)، اما در پایان مدت انکوباسیون بالاترین قابلیت هضم را داشت. تزریق ساکارز باعث شد که مقادیر عددی قابلیت هضم در ساعت‌های اولیه انکوباسیون در مقایسه با آزمایش اول و سوم بالاتر باشد که احتمالاً به خاطر قابلیت

تیمار از بن‌ماری خارج و جهت غیر فعال شدن فعالیت میکروبی در آب سرد قرار داده شدند و بلافاصله pH آن توسط pH متر دیجیتال (مدل ۶۹۱ Metrohm) اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد محتویات داخل ویال‌ها توسط پارچه توری ظریف صاف و برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی، ۱۰ میلی‌لیتر از آن گرفته شده و معادل هم حجم آن اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال به آن افزوده و در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای اندازه‌گیری‌های اسیدهای چرب فرار در ساعت ۲۴، مقدار ۸ میلی‌لیتر از مایع صاف شده با ۲ میلی‌لیتر از اسید متافسفریک (۲۵ درصد) مخلوط و تا زمان اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از صاف نمودن محتویات کشت در زمان‌های ذکر شده، نمونه‌های حاصل به مدت ۴۸ ساعت در آون ۶۰ درجه سلسیوس خشک شده و درصد قابلیت هضم ماده خشک آن‌ها محاسبه شد. برای محاسبه قابلیت هضم ماده آلی، ماده خشک حاصل در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس قرار گرفت و خاکستر و قابلیت هضم ماده آلی محاسبه شد. غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه با استفاده از دستگاه کج‌لدال (شرکت Tecator، سوئد) انجام شد. برای تعیین غلظت اسیدهای چرب فرار ابتدا نمونه‌ها پس از خروج از فریزر داخل یخچال گذاشته شد تا به تدریج یخ‌گشایی انجام شود. سپس نمونه‌ها در شرایط دمای آزمایشگاه گذاشته شد تا به دمای محیط برسند. درصد اسیدهای چرب فرار نمونه‌ها با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (مدل YongLIN 6100, UK) با دتکتور FID و ستون $0.25 \text{ mm} \times 0.25 \text{ mm}$ قطر $60 \text{ m} \times$ (طول) تعیین گردید. هلیوم به‌عنوان گاز حامل استفاده شد و در دمای اولیه و پایانی به‌ترتیب روی ۵۵ و ۱۹۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. دمای دتکتور و اینجکتور نیز ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. کرتونیک اسید (۱:۷ حجمی) به‌عنوان استاندارد داخلی به تمامی نمونه‌ها تزریق شد.

داده‌های مربوط به غلظت اسیدهای چرب فرار در قالب طرح کاملاً تصادفی و داده‌هایی که به صورت تکرار در زمان جمع‌آوری شدند (قابلیت هضم ماده خشک، قابلیت هضم ماده آلی، pH، شکمبه‌ای و غلظت نیتروژن آمونیاکی) مطابق با طرح تکرار در زمان از رویه MIXED نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) آنالیز شد. مدل آماری طرح به شکل زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + TP_{ij} + e_{ijk}$$

در این مدل: μ = اثر میانگین، T_i = اثر تیمار، P_j = اثر زمان، TP_{ij} = اثر متقابل زمان با تیمار و e_{ijk} = خطای آزمایشی بود. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد خطا استفاده شد.

فراهم می‌کند. افزایش در قابلیت هضم ماده خشک در زمان ۲۴ انکوباسیون در تیمارهای سوم و چهارم که حاوی باکتری/انتروکوکوس فیسیوم هستند را می‌توان به سازگاری میکروفلورای شکمبه به تولید لاکتات درون شکمبه در اثر حضور چنین باکتری‌هایی نسبت داد (۲۵).

دسترسی میکروارگانیسم‌ها به منبع انرژی سهل‌التخمیر بوده که باعث افزایش فعالیت آنها شده است. بهبود در قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در تیمار مکمل شده با پروپیونی باکتریوم را می‌توان به تأثیر این باکتری بر جلوگیری از کاهش pH در محیط شکمبه نسبت داد که از این طریق هضم ماده خشک را در حالت بهینه نگه داشته و با جلوگیری از کاهش pH زمینه را برای فعالیت بهینه میکروارگانیسم‌ها

جدول ۲- تأثیر افزودن کشت‌های زنده باکتریایی بر قابلیت هضم ماده خشک در زمان‌های مختلف انکوباسیون جیره خوراکی در شرایط آزمایشگاهی (درصد)

Table 2- The effect of adding live bacterial culture on DM digestibility at different times of incubation in *in vitro* (%)

زمان‌های انکوباسیون (ساعت) Incubation time (h)	تیمارها Treatments ¹				SEM
	CON	P	E	P+E	
آزمایش ۱ (جیره شاهد)					
Experiment 1 (control diet)					
2	29.4 ^b	33.3 ^a	25.4 ^b	26.6 ^b	1.162
4	33.4	34.6	34.2	32.2	1.162
6	44.6 ^b	43.4 ^b	49.0 ^a	45.2 ^b	1.162
12	58.3	59.2	58.8	59.5	1.162
24	66.3 ^b	69.4 ^a	69.0 ^a	69.2 ^a	1.162
آزمایش ۲ (جیره پایه + ۱۰ درصد ساکارز)					
Experiment 2 (basal diet + 10% Saccharose)					
2	36.4 ^a	35.2 ^a	31.0 ^b	^a 34.6	1.145
4	38.2	37.1	37.8	40.4	1.145
6	40.6	40.8	40.0	41.6	1.145
12	63.2 ^a	62.9 ^a	58.9 ^b	57.6 ^b	1.145
24	65.0 ^b	68.8 ^a	69.8 ^a	69.8 ^a	1.145
آزمایش ۳ (جیره پایه، pH=۵/۵)					
Experiment 3 (basal diet, pH= 5.5)					
2	29.2 ^a	29.0 ^a	26.8 ^b	31.0 ^a	1.84
4	36.8 ^a	33.8 ^{ab}	35.4 ^{ab}	32.6 ^b	1.84
6	41.2 ^b	47.2 ^a	45.4 ^{ab}	42.4 ^b	1.84
12	50.7 ^b	56.7 ^a	49.6 ^b	54.1 ^{ab}	1.84
24	60.2 ^b	62.1 ^{ab}	^a 65.5	64.0 ^a	1.84

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

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

¹ CON) control (basal diet without any additive), P) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Propionibacteria feriderinrichii*, E) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Enterococcus faecium* and P+E) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Propionibacteria feriderinrichii* + *Enterococcus Faecium*.

گزارش کردند گاوهای شیری دریافت‌کننده انتروکوکوس و لاکتوباسیلوس در مقایسه با گاوهای تغذیه شده با جیره شاهد، کاهش در pH شکمبه روزانه و pH شکمبه‌ای زیر ۵/۵ کمتری داشتند.

تأثیر افزودن کشت‌های زنده باکتریایی بر پارامترهای تخمیری شکمبه‌ای در شرایط آزمایشگاهی

تأثیر افزودن کشت‌های زنده باکتریایی بر pH محیط در جیره بر پایه مواد خوراکی با نسبت علوفه به کنسانتره ۹۰:۱۰ در سه سری آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است.

نوکک و همکاران (۲۳) گزارش کردند که حضور باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک باعث حفظ سطحی از اسید لاکتیک در محیط شکمبه و در نتیجه تحریک رشد باکتری‌های مصرف‌کننده اسید لاکتیک و کاهش کل اسید لاکتیک قابل دسترس به همراه کاهش اسیدیته کل شکمبه‌ای می‌شود. این نتایج با نتایج آزمایش سوم که با تعدیل pH شکمبه‌ای در نقطه ۵/۵ همراه بود، تأیید می‌گردد. به طوری که عملکرد تیمارهای حاوی مکمل/انتروکوکوس فیسیوم بهتر از سایر تیمارها بوده که این فعالیت بهینه هضمی را می‌توان به تأثیر این باکتری بر سازگاری میکروارگانیسم‌های شکمبه‌ای به pH پایین نسبت داد (۳۷). نوکک و همکاران (۲۳)

جدول ۳- تأثیر افزودن کشت‌های زنده باکتریایی بر قابلیت هضم ماده آلی در زمان‌های مختلف انکوباسیون در شرایط آزمایشگاهی (درصد)

Table 3- The effect of adding live bacterial culture on OM digestibility at different times of incubation in *in vitro* (%)

زمان‌های انکوباسیون (ساعت) Incubation time (h)	تیمارها Treatments ¹				SEM
	CON	P	E	P+E	
آزمایش ۱ (جیره شاهد)					
Experiment 1 (control diet)					
2	29.45 ^{ab}	33.26 ^a	26.31 ^b	26.94 ^b	1.58
4	33.96	35.57	35.78	33.47	1.58
6	45.03 ^b	45.26 ^b	49.89 ^a	46.73 ^b	1.58
12	59.15	59.68	57.68	60.52	1.58
24	67.15 ^b	69.94 ^a	70.42 ^a	69.00 ^a	1.58
آزمایش ۲ (جیره پایه + ۱۰ درصد ساکارز)					
Experiment 2 (basal diet + 10% Saccharose)					
2	36.84 ^a	35.57 ^a	30.53 ^b	34.31 ^a	1.2
4	39.57	40.42	39.78	41.26	1.2
6	41.73	41.41	40.0	40.42	1.2
12	60.78 ^b	64.18 ^a	59.89 ^b	58.84 ^b	1.2
24	65.05 ^b	69.89 ^a	70.73 ^a	70.73 ^a	1.2
آزمایش ۳ (جیره پایه، pH=۵.۵)					
Experiment 3 (basal diet, pH= 5.5)					
2	28.84	28.42	27.15	30.31	1.96
4	35.57	34.10	34.94	32.42	1.96
6	40.84 ^c	46.73 ^a	45.26 ^{bc}	42.73 ^c	1.96
12	51.10	51.63	51.10	53.94	1.96
24	59.94 ^b	60.26 ^{ab}	63.52 ^a	63.10 ^a	1.96

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0.05$).Means within same row with different superscripts differ ($P<0.05$).¹ CON) control (basal diet without any additive), P) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Propionibacteria feriderinrichii*, E) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Enterococcus faecium* and P+E) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Propionibacteria feriderinrichii* + *Enterococcus faecium*.

پیش گرفت و تیمار شاهد با شیب تندتری کاهش نشان داد. در تمام ساعت‌های انکوباسیون، تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها بود ($P<0.05$).

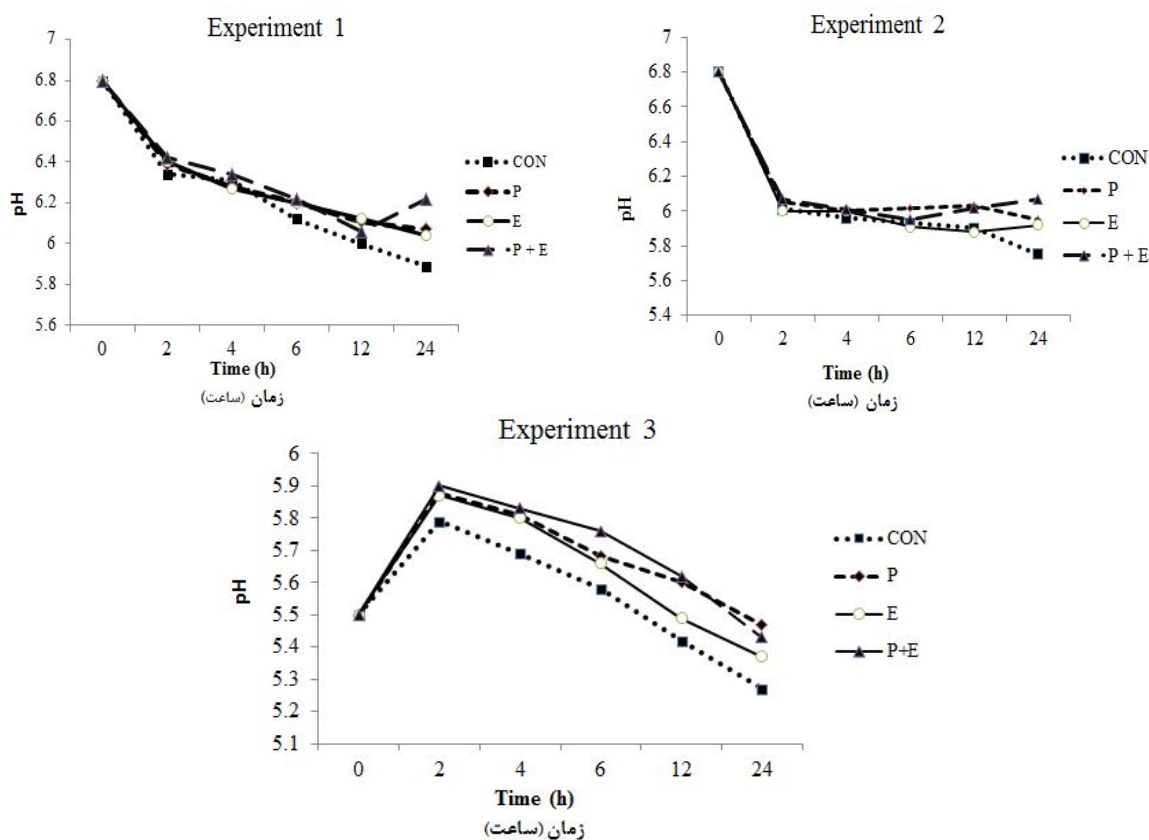
نتایج حاصل از تأثیر افزودن کشت‌های زنده باکتریایی بر غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه در شرایط آزمایشگاهی در جدول ۴ نشان داده شده است. این نتایج مربوط به دو آزمایش اول و دوم است و نتایج مربوط به آزمایش سوم نشان داده نشده است. در هر دو آزمایش اول و دوم تمامی تیمارها در ساعت ۲ انکوباسیون پایین‌ترین غلظت نیتروژن آمونیاکی را دارا بودند که با پیشرفت زمان انکوباسیون این مقادیر افزایش یافت. در هر دو آزمایش، تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای مکمل شده با کشت‌های زنده باکتریایی پایین‌ترین غلظت نیتروژن آمونیاکی را دارا بود که همسو با نتایج قربانی و همکاران (۶) بود. با توجه به نتایج حاصل از تجزیه‌پذیری ماده خشک و آلی احتمالاً مقادیر پایین نیتروژن آمونیاکی در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای حاوی کشت‌های زنده باکتریایی به دلیل تجزیه کمتر بخش پروتئینی خوراک در مدت زمان انکوباسیون بوده است (۱۸). این در حالی است که pH شکمبه در این شرایط روند کاهشی داشت. در شرایط

در آزمایش اول که از جیره پایه استفاده شد با شروع انکوباسیون تغییرات در pH برای همه تیمارها روند کاهشی (به جز در ساعت ۱۲ انکوباسیون که تیمار مکمل شده با مخلوط پروپیونی باکتری و /نتروکوکوس که روند افزایش نشان داد) داشت. در زمان ۲۴ انکوباسیون، بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت به طوری که تیمار شاهد دارای پایین‌ترین مقدار و تیمار مکمل شده با مخلوط پروپیونی باکتریوم و /نتروکوکوس بالاترین مقدار pH را داشتند ($P<0.05$). در آزمایش دوم، pH مایع شکمبه‌ای در ساعت ۲ پس از انکوباسیون روند کاهشی شدیدتری در مقایسه با آزمایش اول نشان داد و پس از آن تغییرات pH از یک روند ملایم‌تری برخوردار بود. در ساعت ۲۴ انکوباسیون بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت و تیمار شاهد و تیمار مکمل شده با پروپیونی باکتریوم فریدرینرچی و /نتروکوکوس به ترتیب پایین‌ترین و بالاترین مقادیر pH را نشان دادند ($P<0.05$). در آزمایش سوم، با شروع آزمایش تا زمان ۲ انکوباسیون pH محیط روند افزایشی نشان داد و تیمار شاهد نسبت به تیمارهای مکمل شده با افزودنی‌های باکتریایی روند کندتری نشان داد. بعد از ساعت ۲ انکوباسیون تغییرات pH برای همه تیمارها روند کاهشی در

که شمار باکتری‌های آمیلولیتیک و لاکتوباسیل‌ها بالاتر است. از این رو، در چنین شرایطی آمونیاک کمتری برای سنتز پروتئین میکروبی استفاده می‌شود و باعث انباشته شدن آن در محیط خواهد شد. قربانی و همکاران (۶) با به کار بردن سویه پروپیونی باکتریوم P15 افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه‌ای را به همراه افزایش تعداد پروتوزوا گزارش کردند. پروتوزواها، برخلاف باکتری‌های شکمبه‌ای نمی‌توانند نیتروژن آمونیاکی را به‌عنوان یک منبع نیتروژنی برای سنتز پروتئین مصرف کنند؛ در عوض، آنها نیازمند اسیدهای آمینه هستند. پروتوزواهای شکمبه‌ای به‌طور غیر مشخصی پروتئین‌های جیره‌ای، باکتریایی و اندونوس را تجزیه می‌کنند، بنابراین سطوح نیتروژن آمونیاکی را افزایش داده، در نتیجه پروتوزوا زدایی به طور ثابتی با کاهش سطوح نیتروژن آمونیاکی همراه می‌باشد.

شکمبه‌ای، سطوح آمونیاک به دلیل اینکه انواع مختلفی از گونه‌های باکتریایی شکمبه از آن به‌عنوان بلوک ساختمانی برای اسیدهای آمینه ضروری و غیر ضروری در طی سنتز پروتئین میکروبی استفاده می‌کنند، مهم است (۳).

میکروارگانیزم‌های مختلف موجود در شکمبه، منابع مختلفی از نیتروژن را ترجیح می‌دهند. برای مثال، باکتری‌های سلولولیتیک از آمونیاک به‌عنوان منبع اصلی نیتروژن و باکتری‌های آمیلولیتیک از اسیدهای آمینه و پپتیدهای کوچک استفاده می‌کنند (۲۷). تقریباً ۶۶ درصد از پروتئین میکروبی از اسیدهای آمینه و پپتیدها و باقیمانده از آمونیاک (۲۷) به‌دست می‌آید. افزودن منابع کربوهیدراتی سهل‌التخمیر باعث تکثیر باکتری‌های آمیلولیتیک یا تولیدکننده لاکتات می‌شود (۱۶ و ۲۹). از طرفی گود و همکاران (۷) نیز با دو سطح مختلف جیره با استفاده از حیوانات عادت داده شده به جیره بر پایه غلات نشان دادند



شکل ۱- تأثیر افزودن کشت‌های زنده باکتریایی بر pH محیط کشت

Figure 1- The effect of adding bacterial live culture on pH

¹ CON) control (basal diet without any additive), P) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Propionibacteria feriderinrichii*, E) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Enterococcus faecium* and P+E) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Propionibacteria feriderinrichii* + *Enterococcus faecium*

جدول ۴- تأثیر افزودن کشت‌های زنده باکتریایی بر غلظت نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم در دسی‌لیتر) در زمان‌های مختلف انکوباسیون در شرایط آزمایشگاهی

Table 4- The effect of adding live bacterial culture on N-NH₃ (mg/dL) at different times of incubation in *in vitro*

زمان‌های انکوباسیون (ساعت) Incubation time (h)	تیمارها Treatments ¹				SEM
	CON	P	E	P+E	

آزمایش ۱ (جیره شاهد)					
Experiment 1 (control diet)					
2	21.99	23.24	23.31	23.45	1.20
4	24.09 ^b	26.11 ^{ab}	23.67 ^b	26.29 ^a	1.20
6	24.46 ^b	29.77 ^a	31.46 ^a	31.68 ^a	1.20
12	26.47 ^b	31.58 ^a	32.17 ^a	31.12 ^a	1.20
24	29.56 ^b	33.06 ^a	30.65 ^b	30.87 ^b	1.20
آزمایش ۲ (جیره پایه + ۱۰ درصد ساکارز)					
Experiment 2 (basal diet +10% Saccharose)					
2	23.07 ^b	25.86 ^b	23.93 ^b	27.47 ^a	2.53
4	29.05	27.66	30.40	26.64	2.53
6	30.90	32.54	31.56	32.82	2.53
12	34.93 ^{ab}	36.56 ^a	36.10 ^a	37.55 ^a	2.53
24	33.97 ^{ab}	30.70 ^b	35.54 ^a	38.86 ^a	2.53

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

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

¹ CON) control (basal diet without any additive), P) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Propionibacteria feriderinrichii*, E) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Enterococcus faecium* and P+E) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Propionibacteria feriderinrichii* + *Enterococcus faecium*.

بود، به طوری که تیمار مکمل شده با پروپیونی‌باکتریا و انتروکوکوس و تیمار شاهد به ترتیب دارای بالاترین و پایین‌ترین مقدار بودند. افزودن کشت‌های باکتریایی تأثیر معنی‌داری بر نسبت استات به پروپیونات داشت و تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای مکمل شده دارای بالاترین نسبت بود ($P < 0.05$). در آزمایش سوم در مقایسه با دو آزمایش دیگر کاهش در غلظت استات کاملاً مشهود بود و تیمار شاهد پایین‌ترین مقدار و تیمار مکمل شده با مخلوط پروپیونی‌باکتر و انتروکوکوس بالاترین مقدار را داشتند. غلظت پروپیونات به طور معنی‌داری در تیمار شاهد پایین‌ترین و در تیمار مکمل شده با مخلوط پروپیونی‌باکتریا و انتروکوکوس بالاترین مقدار بود ($P < 0.05$). موافق با نتایج این مطالعه، آکای و دادو (۱) و کانگ و هسیون (۱۳) با استفاده از باکتری پروپیونی‌باکتریوم و مگاسفرا/السدنی افزایش قابل ملاحظه‌ای را در غلظت کل اسیدهای چرب فرار، استات و پروپیونات و روند رو به افزایشی در غلظت بوتیرات گزارش کردند. در مقابل، آویلز (۲) با به‌کارگیری غلظت‌های مختلفی از پروپیونی‌باکتر/اسیدوپروپیونیک DH42 در شرایط آزمایشگاهی، هیچ تأثیری در غلظت‌های استات، پروپیونات، بوتیرات، والرات و ایزوالرات مشاهده نکردند و تنها اثر اندکی را بر غلظت اسید لاکتیک و اسیدهای چرب فرار در زمان صفر گزارش کردند.

کاهش غلظت‌های آمونیاک شکمبه‌ای به تواتر در حیواناتی که در آنها پروتوزواها حذف شده بود، مشاهده شده است که نشان می‌دهد که پروتوزواها می‌توانند متابولیسم نیتروژن شکمبه‌ای را به مقدار زیادی تحت تأثیر قرار دهند (۱۴). بنابراین احتمالاً پایین بودن غلظت نیتروژن آمونیاکی در تیمار شاهد را می‌توان به پایین بودن pH محیط و کاهش جمعیت پروتوزواها در مقایسه با تیمارهای دارای افزودنی باکتریایی نیز نسبت داد. تأثیر افزودن کشت‌های زنده باکتریایی بر غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه‌ای در شرایط آزمایشگاهی در جدول ۵ نشان داده شده است. افزودن کشت‌های باکتریایی تأثیر معنی‌داری بر غلظت اسیدهای چرب فرار در همه آزمایش‌ها داشت ($P < 0.05$). در آزمایش اول تیمار مکمل شده با انتروکوکوس از نظر غلظت استات، پروپیونات و بوتیرات کمترین مقدار و بالاترین نسبت استات به پروپیونات را داشت. بین تیمارها از نظر نسبت استات به پروپیونات اختلاف معنی‌داری وجود داشت و تیمارهای مکمل شده با پروپیونی‌باکتر و مخلوط پروپیونی‌باکتر و انتروکوکوس پایین‌ترین نسبت را داشتند ($P < 0.05$).

در آزمایش دوم، تیمار مکمل شده با انتروکوکوس در مقایسه با سایر تیمارها به طور معنی‌داری دارای پایین‌ترین غلظت استات بود ($P < 0.05$). غلظت پروپیونات در بین تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری

جدول ۵- تأثیر افزودن کشت‌های زنده باکتریایی بر غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه‌ای (میلی مول) در شرایط آزمایشگاهی

Table 5- The effect of adding live bacterial culture on ruminal volatile fatty acids (Mm) at different times of incubation in vitro

زمان‌های انکوباسیون (ساعت) Incubation time (h)	تیمارها Treatments ¹				SEM
	CON	P	E	P + E	
آزمایش ۱ (جیره شاهد) Experiment 1 (control diet)					
استات Acetate	69.84 ^b	68.73 ^c	66.62 ^d	72.43 ^a	0.33
پروپیونات Propionate	25.61 ^c	30.34 ^b	20.04 ^d	31.91 ^a	0.32
بوتیرات Butyrate	9.82 ^b	10.62 ^b	6.41 ^c	11.44 ^a	0.32
ایزو والرات Iso valerate	2.57 ^c	3.71 ^b	2.44 ^c	4.40 ^a	0.32
والرات Valerate	2.43 ^c	3.69 ^b	2.32 ^c	4.18 ^a	0.31
استات: پروپیونات Acetate: Propionate	2.72 ^b	2.27 ^c	3.32 ^a	2.27 ^c	0.02
آزمایش ۲ (جیره پایه + ۱۰ درصد ساکاروز) Experiment 2 (basal diet + 10% Saccharose)					
استات Acetate	68.01 ^a	68.03 ^a	65.24 ^c	67.48 ^b	0.35
پروپیونات Propionate	33.23 ^c	34.80 ^b	35.2 ^b	37.49 ^a	0.36
بوتیرات Butyrate	13.21 ^c	17.00 ^a	14.84 ^b	16.93 ^a	0.31
ایزو والرات Iso valerate	2.08 ^d	4.08 ^b	3.48 ^c	5.16 ^a	0.31
والرات Valerate	5.38 ^d	8.94 ^b	8.04 ^c	9.03 ^a	0.31
استات: پروپیونات Acetate: Propionate	2.04 ^a	1.95 ^b	1.85 ^c	1.80 ^c	0.20
آزمایش ۳ (جیره پایه، pH= ۵/۵) Experiment 3 (basal diet, pH= 5.5)					
استات Acetate	43.42 ^d	47.4 ^b	44.11 ^c	57.21 ^a	0.30
پروپیونات Propionate	13.95 ^c	18.84 ^b	18.34 ^b	21.21 ^a	0.31
بوتیرات Butyrate	6.74 ^d	7.83 ^c	8.72 ^b	9.11 ^a	0.30
ایزو والرات Iso valerate	1.30 ^c	2.44 ^b	3.30 ^a	3.20 ^a	0.31
والرات Valerate	1.84 ^c	2.76 ^b	3.87 ^a	3.54 ^a	0.29
استات: پروپیونات Acetate: Propionate	3.11 ^a	2.51 ^c	2.41 ^d	2.69 ^b	0.02

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

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

¹ CON) control (basal diet without any additive), P) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Propionibacteria feriderinrichii*, E) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Enterococcus faecium* and P+E) basal diet inoculated with 1×10^8 cfu *Propionibacteria feriderinrichii* + *Enterococcus faecium*.

معنی‌داری یافت. گرچه مشخص نیست که آیا تولید اسید پروپیونیک باعث کاهش در تولید متان می‌شود یا بالعکس (۲۸) اما مسلم است که کاهش نسبت استات به پروپیونات توأم با کاهش در تولید متان می‌باشد (۳۲). زمانی که نسبت استات به پروپیونات برابر یک باشد یک مول متان از سه مول گلوکز و زمانی که این نسبت سه باشد، سه مول متان از ۵ مول گلوکز تولید می‌شود. با کاهش نسبت استات به پروپیونات و به دنبال آن کاهش در تولید متان، ابقاء انرژی به‌وسیله گاوها افزایش می‌یابد (۳۴).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج احتمالاً که افزودن کشت‌های زنده باکتریایی در جیره‌های غذایی می‌تواند تأثیر مثبت و معنی‌داری بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی و در نتیجه تولید اسیدهای چرب فرار، که یکی از اهداف اصلی در آزمایشات تغذیه‌ای است، داشته باشد که این تغییرات با تعدیل pH شکمبه‌ای همراه خواهد بود که شرایط را برای فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه مساعدتر می‌کند. می‌توان انتظار داشت بهبود تجزیه‌پذیری ماده خشک و ماده آلی، افزایش در مصرف خوراک توسط دام و افزایش تولید پروتئین میکروبی و اسیدهای چرب فرار را در پی داشته باشد که نتیجه نهایی آن بهبود در تولید شیر و عملکرد دام باشد که برای تأیید این امر نیاز به آزمایشات تغذیه‌ای بر روی دام زنده است.

قربانی و همکاران (۶) با تغذیه یک جیره بر پایه کنسانتره مکمل شده با پروپیونی باکتریوم P15 به تنهایی یا با/انتروکوکوس فیسوم EF212 به گاوها، تأثیری بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار شکمبه، پروپیونات و نسبت استات به پروپیونات گزارش نکردند. غلظت استات در تیمارهای مکمل شده با مخلوط پروپیونی-باکتریوم P15 و انتروکوکوس فیسوم EF212 بیشتر از تیمارهای کنترل و تیمار مکمل شده با پروپیونی باکتریوم بود. غلظت بوتیرات در تیمار مکمل شده با پروپیونی باکتریوم بیشتر از دو تیمار دیگر بود. یانگ و همکاران (۳۷) نیز با بررسی تأثیر پروپیونی-باکتریوم P15 را در شرایط آزمایشگاهی سیستم کشت مداوم، هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارها از نظر غلظت استات، پروپیونات، بوتیرات، کل غلظت اسیدهای چرب فرار و نسبت استات به پروپیونات گزارش نکردند. در این مطالعه، غلظت اسیدهای چرب شاخه‌دار والرات و ایزووالرات در تیمارهای دارای افزودنی باکتریایی به طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود. افزایش در غلظت اسیدهای چرب شاخه‌دار به‌دلیل کاتابولیسیم اسیدهای آمینه توسط میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (۱۳). اسیدهای چرب شاخه‌دار جهت حمایت از رشد بسیاری از باکتری‌های شکمبه ضروری هستند (۳۶) و عمدتاً توسط باکتری‌های غیر سلولولیتیک تولید می‌شوند. این امر می‌تواند توضیح‌دهنده نوع جمعیت باکتریایی موجود در طی تخمیر در شرایط آزمایشگاهی باشد. به طور کلی، با افزودن کشت‌های زنده باکتریایی غلظت پروپیونات و نسبت استات به پروپیونات در هر سه آزمایش (به جز تیمار مکمل شده با انتروکوکوس فیسوم در آزمایش اول) به ترتیب افزایش و کاهش

منابع

1. Akay, V., and R. G. Dado. 2001. Effects of *propionibacterium* strain P5 on *in-vitro* volatile fatty acids production and digestibility of fiber and starch. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 25: 635-642.
2. Aviles, I. 1999. The use of DH42, a *Propionibacterium* for the prevention of lactic acidosis in cattle. M.S. Diss., Michigan State Univ., East Lansing.
3. Bach, A., S. Calsamiglia, and M. D. Stern. 2004. Nitrogen metabolism in the rumen. Journal of Dairy Science, 88 (E Suppl.):E9-E21.
4. Chesson, A., and J. Wallace. 1996. Biotechnology in animal feeds and animal feeding. Part 3: Microbial feed additives for ruminants. Feed Compounder, 16: 14-17.
5. Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology, 66: 365-78.
6. Ghorbani, G. R., D. P. Morgavi, K. A. Beauchemin, and J. A. Z. Leedle. 2002. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables and the microbial populations of feedlot cattle. Journal of Animal Science, 80:1977-1986.
7. Goad, D. W., C. L. Goad, and T. G. Nagaraja. 1998. Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced sub-acute acidosis in steers. Journal of Animal Science, 76:234-241.
8. Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). Agric. Handbook 379. ARS, USDA, Washington, DC.
9. Jones, R. J., and R. G. Megaritty. 1986. Successful transfer of DHP-degrading bacteria from Hawaiian goats to Australian ruminants to overcome the toxicity of Leucaena. Australian Veterinary Journal, 63:259-262.
10. Jouany, J. P. 1994. Methods of manipulating the microbial Metabolism in the rumen. Annales De Zootechnie, 43: 49-62.

11. Kmet, V., H. J. Flint, and R. J. Wallace. 1993. Probiotics and manipulation of rumen development and function. *Archives of Animal Nutrition*, 44:1-10.
12. Krehbiel, C. R., S. R. Rust, G. Zhang, and S. E. Gilliland. 2003. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. *Journal of Animal Science*, 81: E120-E132.
13. Kung, Jr. L., and A. O. Hession. 1995. Preventing in vitro lactate accumulation in ruminal fermentation by inoculation with *Megasphaera elsdenii*. *Journal of Animal Science*, 73:250-256.
14. Leng, R. A., and J. V. Nolan. 1984. Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 67:1072-1089.
15. Mackie, R. I., and F. M. C. Gilchrist. 1979. Changes in lactate-producing and lactate-utilizing bacteria in relation to pH in the rumen of sheep during stepwise adaptation to a high-concentrate diet. *Applied and Environmental Microbiology*, 67:422-430.
16. Martin, S. A., and D. J. Nisbet. 1991. Symposium: Direct fed microbials and rumen fermentation. *Journal of Dairy Science*, 75:1736-1744.
17. Mayne, C. S. 1990. An evaluation of an inoculant of *Lactobacillus plantarum* as an additive for grass silage for dairy cattle. *Animal Production*, 39: 65-76.
18. McAllister, T. A., and K. J. Cheng. 1996. Microbial strategies in the ruminal digestion of cereal grains. *Animal Feed Science and Technology*, 62: 29-36.
19. McAllister, T. A., Selinger, L. B., McMahon, L. R., Bae, H. D., Lysyke, T. J., Oosting, S. J., Chang, K. J. 1995. Intake, digestibility, and aerobic stability of barley silage inoculated with mixtures of *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus faecium*. *Canadian Journal of Animal Science*, 75: 425-432.
20. Nagaraja, T. G., C. J. Newbold, C. J. Van Nevel, and D. I. D. Emeyer, 1997. Manipulation of ruminal fermentation. Pages 523-632 in the rumen microbial ecosystem. P. N. Hobson and C. S. Stewart, ed. Blackie Acad. and Prof., London.
21. Newbold, C. J. 1995. Microbial feed additives for ruminants. In: R.J. Wallace and A. Chesson (Ed.) *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding*. Pp 259- 278.
22. Nisbet, D. J., and S. A. Martin. 1994. Factors affecting L-lactate utilization by *Selenomonas ruminantium*. *Journal of Animal Science*, 72: 1355-1361.
23. Nocek, J. E., W. P. Kautz, J. A. Z. Leedle, and J. G. Allman. 2002. Ruminal supplementation of direct-fed microbials on diurnal pH variation and *in situ* digestion in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 85:429-433.
24. Oshio, S., I. Tahata, and H. Minato. 1987. Effect of diets differing in ratios of roughage to concentrate on microflora in the rumen heifers. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 33: 99-111.
25. Oude Elferink, S. J. W. H., J. Krooneman, C. Gottschal, J. S. F. Spoelstra, F. Faber, and F. Driehuis. 2001. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1, 2 propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(1): 125-132.
26. Overton, T. R., J. K. Drackley, C. J. Ottemann Abbamonte, A. D. Beaulieu, L. S. Emmert, and J. H. Clark. 1999. Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis is altered by increased glucose demand in ruminants. *Journal of Animal Science*, 77:1940-1951.
27. Russel, J. B., J. D. O Connor, D. G. Fox, P. J. Van Soest and C. J. Sniffer. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminal fermentation. *Journal of Animal Science*, 70: 3551-3561.
28. Russell, J. B. 1998. The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production *in vitro*. *Journal of Dairy Science*, 81: 3222-3230.
29. Slyter, L. L. 1976. Influence of acidosis on Rumen Function. *Journal of Animal Science*, 43:910-929.
30. Swinney-Floyd, D., B. A. Gardner, F. N. Owens, T. Rehberger, and T. Parrott. 1999. Effect of inoculation with either strain P-63 alone or in combination with *Lactobacillus acidophilus* LA53545 on performance of feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 77(Suppl. 1):77.
31. Van Soest, 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*, 74:3583-3597.
32. Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*, 2nd ed. Cornell university press, Ithaca, NY.
33. Williams, P. E. V., and C. J. Newbold. 1990. Rumen probiotics: The effects of nove microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. In: Haresing W. and Cole D. J. A. (Ed) *Recent advances in animal nutrition*. pp 211-227. Buttersworth, London.
34. Wolin, M. J. 1988. A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*, 43:1452-1459.
35. Yang, W. Z., K. A. Beauchemin, D. D. Vedres, G. R. Ghorbani, D. Colombatto, and D. P. Morgavi. 2004. Effects of direct-fed microbial supplementation on ruminal acidosis, digestibility, and bacterial protein synthesis in continuous culture. *Animal Feed Science and Technology*, 114: 179-193.
36. Yokoyama, M. T., and K. A. Johnsos. 1988. Microbiology of the Rumen and Intestine. In: D. C. Church (Ed). *The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition*. Pp 125-143. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
37. Yoon, I. K., and M. D. Stern. 1995. Influence of direct-fed microbials on ruminal microbial fermentation and performance of ruminants: A review. *Asian-Australas. Journal of Animal Science*, 8:533-555.



Effect of Live Bacterial Cultures on *In Vitro* Digestibility and Ruminal Fermentation Parameters

J. Bayatkouhsar¹- A. M. Tahmasbi^{2*}- A. A. Naserian²- R. Valizadeh²- R. Safari³

Received: 22-11-2014

Accepted: 25-11-2015

Introduction: Rumen microbial manipulation has been of interest to ruminant nutritionists in order to achieve improvement in the profitability and health of lactating cows. Concerns regarding the use of antibiotics and other growth stimulants in animal feed industry have caused attention to find other alternative agents to replace antibiotics. For these reasons, in ruminant, microbial cultures have been used to replace antibiotics to enhance milk production in dairy cattle and improve feed efficiency and daily gain in beef cattle. Rumen bacteria, that have ability to ferment carbohydrate, are primarily responsible for causing lactic acidosis in ruminant. *Propionibacteria* are natural inhabitants of the rumen that comprise 1.4 % of the ruminal microflora and produce propionic and acetic acid in the rumen. Therefore, *propionibacteria* have been used as a direct-fed microbial to prevent the risk of acidosis in feedlot cattle. Last studies have reported that combinations of *propionic bacteria* and *lactobacilli* resulted in increased average daily gain and improved feed efficiency in feedlot cattle. The purpose of this study were preparation of live bacterial culture in laboratory and investigate the effect of adding live bacterial culture on digestibility and ruminal fermentation parameters on *in vitro* condition.

Materials and Methods: Three *in vitro* experiments designed in order to determine the effects of bacteria strains supplementation on dry matter and organic matter digestibility, pH, VFA and ammonia nitrogen concentration. Bacterial pure strains were *Propioni bacterium freudenreichii* and *Enterococcus faecium*. Stock cultures of freeze-dried strains were individually inoculated into 5 mL Brain Heart infusion (BHI) and sodium lactate broth (SLB) respectively and incubated at 37 °C for 24 h under anaerobic conditions. By pour plating serial 10 fold dilutions (in sterile ringer's solution) on demand, Rogosa, sharp agar and SLB agar plates were incubated anaerobically at 37 °C for 48h. 10⁸ cfu /ml of culture were produced after 24 and 36 h of culturing. Rumen fluid was collected 3 h after morning feeding from three ruminally fistulated sheep with mean body weight of 45±2.5 kg. Buffer was prepared as proposed by Goering and Van Soest (1970). In an anaerobic condition, 50 ml of buffered rumen fluid (ratio of buffer to rumen fluid was 1:1), was dispensed into a 100 ml serum bottle containing 0.5 g DM of the experimental diet (four replicate) for each experimental incubation time (2, 4, 6, 12 and 24 h). The experimental treatments were: CON) control (basal diet without any additive), P) basal diet inoculated with 10⁸ cfu *Propionibacteria feriderinrichii*, E) basal diet inoculated with 10⁸ cfu *Enterococcus faecium* and P+E) basal diet inoculated with 10⁸ cfu *Propionibacteria fredrinrichii* + *Enterococcus faecium*. Rumen fluid was collected before morning feeding from three ruminally fistulated sheep. In all experiments a diet based on concentrate were used with the ratio 90: 10 of concentrate to forage. In the second experiment 1 mL sucrose (10% w/w) injected to the diet and in third experiment pH adjusted to 5.5 at the beginning of experiment. After 2, 4, 6, 12 and 24 h of the incubation, the bottles were respectively transferred to an ice bath to stop fermentation and then opened to measure medium pH using a pH meter (Methrom pH meter, Model 691). Then, each bottle content was filtered (42 µm pore size) and a 5 ml sample of each filtrate bottle was taken and acidified with 5 ml of 0.2 N HCl and frozen at -20°C. for analyzing VFA by gas chromatography, 4 mL of each filtrate bottle were stabilized with 4 mL meta-phosphoric acid Liquid effluent was collected in flasks containing a solution of H₂SO₄ to maintain pH values below 2, and samples were taken for volatile fatty acids The filtrated residual was oven dried (60 °C for 48 h) and used to calculate *in vitro* dry matter and organic matter disappearances.

Results and Discussion: DM and OM digestibility for all treatments increased during incubation. Control treatment had lowest DM digestibility. Changes in OM digestibility was in same manner with DM digestibility in all treatments and control had lowest OM digestibility significantly. In comparison with initial pH, treatments

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran

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

3- Department of Animal Science, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Sciences, Tabriz University, Iran

(*- Corresponding Email: a.tahmasbi@protonmail.ch)

control, *Propionibacterium fredrinrichii*, *enterococcus faecium* and mixed of *Propionibacterium fredrinrichii* + *Enterococcus faecium* had decreased 0.91, 0.73, 0.76 and 0.58 unit, respectively. $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration after 2h after incubation was low in all treatments and increased during incubation, but for control it was low in compare with other treatments during incubation. Adding bacterial culture had significantly effect on VFA concentration. There was significantly difference among treatments on acetate: propionate ratio and treatments 2 and 4 had lowest ratio.

Conclusion: Generally, DM and OM digestibility and VFA concentration can be affected positively and significantly by live bacterial cultures additives. These changes would be associated with the stabilization of rumen pH and provide favorable conditions for microorganisms' activity in the rumen.

Keywords: Digestibility, *In Vitro* Condition, Live Bacterial Cultures, Ruminal N-NH_3 , Volatile Fatty Acids



نقش مکمل روی (Zn) بر عملکرد بره‌های پرواری: فراتحلیل

ندا نقدی^۱ - رضا ولی زاده^{۲*} - عباسعلی ناصریان^۳ - احمد آسوده^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۱۳

چکیده

هدف از انجام این فراتحلیل بررسی و مقایسه اثر مکمل‌های آلی و غیرآلی روی بر عملکرد بره‌های پرواری بود. بر اساس جستجوی انجام شده از هفت مطالعه وارد شده در این فراتحلیل، ۱۴ مقایسه برای میانگین افزایش وزن روزانه، ۱۲ مقایسه برای میانگین مصرف خوراک روزانه، ۱۱ مقایسه برای غلظت میزان روی در سرم/پلاسما و فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز و در نهایت ۱۳ مقایسه برای فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز مورد استفاده قرار گرفت. از هر دو مدل اثرات ثابت و تصادفی برای ترکیب اندازه اثر استفاده شد. برای بررسی میزان سوگیری انتشار از نمودار کیفی و آزمون‌های آماری استفاده شد. نتایج این فراتحلیل نشان داد افزودن مکمل روی در جیره غذایی، تاثیر مثبتی بر افزایش وزن روزانه ($+0.5 \pm 0.17$)، افزایش روی سرم/پلاسما ($+1.13 \pm 0.225$)، افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز ($+1.4 \pm 0.205$) و سوپراکسید دسموتاز ($+0.8 \pm 0.226$) داشت. این درحالی است که مصرف مکمل روی تاثیر معنی‌داری بر میانگین مصرف خوراک (-0.05 ± 0.161) و ضریب تبدیل غذایی (-0.06 ± 0.241) نشان نداد. مقایسه فرم آلی و غیرآلی مکمل روی نیز نشان داد فرم آلی، به‌ویژه پروتئینات-روی در مقایسه با فرم غیرآلی تاثیر بیش‌تری بر بهبود عملکرد دام دارد.

واژه‌های کلیدی: بره‌پرواری، عملکرد، فراتحلیل، مکمل آلی روی، مکمل غیرآلی روی

مقدمه

روی (Zn) از جمله عناصری است که نقش حیاتی در اعمال زیستی و ساختار بدن موجودات ایفا می‌نماید. این عنصر در بسیاری از فعل و انفعالات شیمیایی داخل سلولی نقش داشته و کمتر آنزیمی را می‌توان در بدن یافت که در انجام فعالیت‌هایش نیازمند روی نباشد. روی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، لیپیدها و از سوی دیگر در ساخت و اعمال اسیدهای نوکلئیک نقش دارد؛ بنابراین کمبود آن می‌تواند، باعث اختلال در بسیاری از واکنش‌های حیاتی سلول از جمله تکثیر سلولی، تمایز و رشد گردد (۸).

حفظ سلامت و در عین حال عملکرد بهینه دام مستلزم تأمین مواد مغذی ضروری از طریق جیره غذایی است. نیاز به روی در

جانوران با تولید مثل، مرحله‌ی رشد، وضعیت تغذیه‌ای، تنش و محیط تغییر می‌کند. انجمن تحقیقات ملی امریکا حداقل نیاز روی برای رشد و نگهداری بره‌ها را ۲۰ تا ۳۳ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک پیشنهاد کرده است (۱۰).

در جیره‌های غذایی حاوی اقلام خوراکی رایج، کمبود مواد مغذی به کرات مشاهده می‌شود؛ از این رو مواد مغذی مورد نیاز به صورت مکمل‌های غذایی در اختیار حیوانات قرار می‌گیرند. به‌طور سنتی شکل عمده مکمل روی در جیره حیوانات، شکل غیر آلی (سولفات-روی $ZnSO_4$)، اکسید-روی (ZnO) آنهاست. اودل و ساوج (۱۱) نشان دادند، میان روی و پروتئین جیره اثر متقابلی وجود دارد. این تحقیق منجر به شکل‌گیری روش‌های مدرن امروزی برای باند کردن عناصر کم‌مصرف با ترکیبات آلی و استفاده از آنها به نام مواد معدنی ارگانیک در جیره حیوانات اهلی شد. تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهند مکمل‌های آلی روی به راحتی از دستگاه گوارش جذب می‌گردند و در مقایسه با نمک‌های معدنی فعالیت و دسترسی بیولوژیکی بالاتری را فراهم می‌آورند (۹ و ۱۳). با این وجود نتایج حاصل از مقایسه شکل آلی و غیرآلی روی متغیر است و برخی مطالعات هیچ تفاوتی را در فراهمی زیستی منابع آلی و غیر آلی نشان نداده‌اند (۱۳).

فراتحلیل را می‌توان نوعی مرور سیستماتیک پژوهش‌های کمی،

۱- دانش‌آموخته دکتری، گروه آموزشی علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

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

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

۴- استاد، گروه آموزشی شیمی دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

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

DOI: 10.22067/ijasr.v10i3.54212

(سولفات-روی، اکسید-روی)، مکمل آلی روی (روی-متیونین، روی-پروتئینات، روی-لایزین)، بره، بره‌پروری، رشد، عملکرد انجام شد. در ابتدا فهرستی از عناوین و چکیده‌ی تمام مقالات موجود (۱۴) مقاله) در پایگاه‌های اطلاعاتی یاد شده تهیه شد. پس از بررسی‌های صورت گرفته منابع فاقد حداقل‌های مورد نیاز برای انجام فراتحلیل، شامل میانگین گروه‌های شاهد و آزمایشی، تعداد تکرار در هر یک از گروه‌ها، انحراف معیار و خطای استاندارد میانگین حذف شدند. در نهایت ۷ مقاله مناسب به منظور ورود به مرحله فراتحلیل انتخاب شد (جدول ۱). داده‌های مورد نیاز در قسمت مرور نظام‌مند با استفاده از جداول طراحی شده در محیط نرم افزاری Excel استخراج و خلاصه گردید. فراسنجه‌های مورد نظر در استخراج داده‌ها شامل افزایش وزن روزانه، میانگین مصرف خوراک روزانه، ضریب تبدیل غذایی، میزان روی سرم/پلاسما، آلکالین فسفاتاز و سوپراکسید دسموتاز بود. جهت انجام فراتحلیل از نرم افزار CMA نسخه ۲ (۲) استفاده گردید.

بر طبق اصول آماری و ریاضی دانست. ترکیب نتایج حاصل از مطالعات مختلف با موضوعی واحد، در مقایسه با یافته‌های حاصل از پژوهش‌های انفرادی، امکان دستیابی به برآورد دقیق و معتبرتری را فراهم می‌سازد (۱۲). مطالعه حاضر، به منظور مقایسه تاثیر منابع آلی و غیرآلی مکمل روی بر افزایش وزن روزانه، میانگین مصرف خوراک، ضریب تبدیل غذایی، میزان روی سرم/پلاسما و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و سوپراکسید دسموتاز بره‌های پرواری صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

جامعه آماری پژوهش حاضر را مقاله‌های منتشر شده در نشریات داخلی و خارجی در بانک‌های اطلاعاتی Scientific Information (SID)، PubMed، Science، Direct، Magiran، Database و Google Scholar تشکیل داده‌اند. ساز و کار جستجوی مقاله‌ها با استفاده از جستجوی سامان‌مند کلید واژه‌های فارسی و معادل لاتین آنها و ترکیب احتمالی کلمات، مانند روی، مکمل معدنی روی

جدول ۱- تحقیقات استفاده شده در فراتحلیل تاثیر مکمل آلی و معدنی روی بر عملکرد بره‌های پرواری

Table 1- Summary of papers used for meta-analysis of Zinc supplementation in fattening lambs

پژوهشگر، سال First author, yr.	کشور Country	نژاد Breed	تعداد تکرار در هر تیمار Number of repetition	تعداد آزمایشی No.	سن بره (ماه) Animal age (Mon)	وزن بره (کیلوگرم) Animal weight (Kg)	نوع مکمل Supplemented	مقدار مکمل Dose of Zn (ppm)	طول دوره (روز) Study period (days)
اسپیرز، ۱۹۸۹ Spears, 1989	امریکا	Suffolk	6	18	4-5	30	ZnO ² , Zn-Met ³	15	42
کگلی، ۱۹۹۴ Kegley, 1994	امریکا	crossbred	6	24	-	23	ZnSO ₄ ⁴ , ZnO, Zn-Met	30	56
گارج، ۲۰۰۸ Garg, 2008	هند	Muzaffarnagri	6	18	4-5	11.30±0.45	ZnSO ₄ , Zn-Met	20	150
ناگالاکشمی، ۲۰۰۹ Nagalakshmi, 2009	هند	Nellore Brown	6	42	9-10	28.26±0.63	ZnSO ₄ , Zn-pro ⁵	15, 30, 45	150
علی عربی، ۱۳۹۰ Aliarabi, 2011	ایران	Mehraban	5	25	-	30±3.26	Zn-pro ²	20, 40	70
دروک، ۱۹۹۸ Droke, 2012	امریکا	crossbred	6	18	-	18.4±0.6	ZnO ³ , Zn-Met ⁴	25	112
فدائی‌فر، ۲۰۱۲ Fadayifar, 2012	ایران	Mehraban	5	20	6-7	30±3.26	ZnSO ₄ ⁵ , Zn-pro	20, 40	70

1- Number of experimental animals

2- Zinc-oxide

3- Zinc-methionine

4- Zinc-sulfate

5- Zinc-proteinate

$$g = \frac{\bar{X}_S - \bar{X}_J}{S_P} \quad (\text{معادله ۱})$$

در این معادله $\bar{X}_S$ میانگین گروه آزمایشی، $\bar{X}_J$ میانگین گروه شاهد، S_P انحراف معیار آمیخته و J ضریب تصحیح برای دو گروه بود (۱۵).

محاسبه اندازه اثر

در این مطالعه با توجه به ماهیت پیوسته داده‌های به‌دست آمده از تفاوت میانگین استاندارد شده و شاخص g Hedges's برای محاسبه اندازه اثر استفاده شد.

حقیقت استوار است که وزن آماری مطالعه با افزایش اندازه نمونه آن افزایش می‌یابد. بنابراین مطالعات با اندازه نمونه کوچک، به صورت گسترده در پایین نمودار پراکنده می‌شوند و مطالعات با اندازه نمونه بزرگ‌تر در قسمت بالای نمودار و نزدیک به میانگین اثر هستند. در نبود هیچ‌گونه خطایی، نمودار شبیه به یک قیف برعکس می‌شود و در صورت وجود خطا نمودار قیفی، به صورت غیر متقارن در می‌آید.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به صورت نمودار درختی^۲ و در برگرفته اطلاعات اصلی شامل اندازه اثر، خطای استاندارد میانگین مربوط به همه صورت کلی و نیز به تفکیک نوع مکمل استفاده شده در هر مطالعه ارائه شد.

نتایج و بحث

خلاصه اندازه اثر مکمل‌های آلی و معدنی روی بر عملکرد دام، میزان روی سرم/پلاسما، آلکالین فسفاتاز و سوپراکسید دسموتاز و همچنین میزان ناهمگنی در جدول ۲ نشان داده شده است.

اثر مکمل روی بر عملکرد حیوان

اثر مکمل روی (به تفکیک آلی و غیرآلی) در شکل‌های ۱، ۳ و ۵ و نتایج مربوط به بررسی اریبی انتشار به صورت نمودار قیفی در شکل‌های ۲، ۴ و ۶ نشان داده شده است.

افزودن مکمل روی تأثیر مثبتی بر افزایش وزن روزانه حیوان داشت (مقدار اندازه اثر در مدل اثرات تصادفی برای افزایش وزن روزانه برابر با ۰/۵+ و ۰/۰۴+ بود). در حالی که افزودن مکمل روی تأثیری بر میانگین مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی نداشت. استفاده از مکمل روی-متیونین در مطالعه دروک (۳) و گارج (۵)، و همچنین سولفات روی در مطالعه کگلی (۷) تأثیر منفی در افزایش وزن روزانه داشت. همچنین در مطالعه دروک (۳) افزودن مکمل اکسید روی تأثیری بر افزایش وزن روزانه نداشت. مقایسه اندازه اثر هر یک از مکمل‌ها به تفکیک، با اندازه اثر کلی (۰/۵+) نشان داد مکمل پروتئینات-روی با اندازه اثر ۰/۶۸۸+ بیش‌ترین تأثیر را بر افزایش وزن روزانه داشت. اندازه اثر برای افزایش وزن و میانگین مصرف خوراک روزانه با داشتن I^2 کم‌تر از ۲۵ درصد نشان از وجود ناهمگنی پایینی داشت، در حالی که ضریب تبدیل غذایی ناهمگنی بالایی را نشان داد (جدول ۲). این ناهمگنی می‌تواند به دلیل تفاوت‌های موجود در شکل مکمل روی، مقدار مصرفی مکمل، وزن اولیه، وزن نهایی، سن حیوان و مدت زمان آزمایش باشد.

در تحقیقات دارای انحراف معیار مجزا برای گروه شاهد و آزمایشی، از معادله ۲ و در تحقیقات دارای SEM از معادله ۳ برای محاسبه انحراف معیار آمیخته استفاده شد.

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_S-1)SD_S^2 + (n_N-1)SD_N^2}{n_S + n_N - 2}} \quad (\text{معادله } 2)$$

در این معادله n_S تعداد واحد آزمایشی در گروه آزمایش، n_N تعداد واحد آزمایشی در گروه شاهد، SD_S انحراف معیار گروه آزمایش و SD_N انحراف معیار گروه شاهد بود (۱۵).

$$Sp = SEM \times \sqrt{np} \quad (\text{معادله } 3)$$

در این معادله SEM خطای استاندارد میانگین مربوط به همه گروه‌ها و np مجموع تعداد واحد آزمایشی در گروه‌های شاهد و گروه آزمایشی بود (۱۵).

$$J = 1 - \frac{3}{4(n_S + n_N - 2) - 1} \quad (\text{معادله } 4)$$

در این معادله n_S تعداد واحد آزمایشی در گروه آزمایش و n_N تعداد واحد آزمایشی در گروه شاهد بود (۱۵).

وزن‌دهی به داده‌های به‌دست آمده

تحقیقات با هدف تعیین میزان اثر هر تحقیق در نتایج نهایی بر اساس کیفیت مطالعه اعم از تکرار بیشتر و واریانس کوچک‌تر با استفاده از معادله ۵ وزن‌دهی شد.

$$W_i = \frac{1}{\text{var}_i} \quad (\text{معادله } 5)$$

در این معادله var_i واریانس تحقیق و W_i وزن تحقیق مورد نظر بود (۱۵).

آزمون ناهمگنی

تغییرات اندازه اثر مطالعات، با استفاده از آزمون کوکران (آماره Q) بررسی شد. این آزمون تقریباً دارای توزیع کای اسکوتر با درجه آزادی (K-1) است. مقدار بالای Q (و مقدار پایین p-value) حاکی از ناهمگنی مطالعات می‌باشد. به دلیل حساسیت پایین آزمون کوکران، آزمون I^2 نیز در تشخیص ناهمگنی به کار برده شد (معادله ۵). بالا بودن مقدار I^2 دال بر وجود ناهمگنی است. به طور کلی مقادیر ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد به ترتیب به عنوان ناهمگنی پایین، متوسط و بالا تفسیر می‌شود.

$$I^2 = \frac{Q - (k-1)}{Q} \times 100\% \quad (\text{معادله } 6)$$

در این معادله، Q آماره ناهمگنی کوکران و k تعداد آزمایشات بود (۱۵).

اریبی انتشار

جهت بررسی وضعیت اریبی انتشار از نمودار قیفی^۱ استفاده شد. نمودار قیفی یکی از روش‌های تشخیص خطای انتشار است و بر این

اثر مکمل روی بر میزان روی سرم/پلاسما

اندازه اثر کلی به دست آمده برای میزان روی سرم/پلاسما در مدل اثرات تصادفی برابر با $1/13+$ بود. این نتیجه احتمالاً از تاثیر مثبت مکمل روی (آلی و غیرآلی) بر افزایش روی سرم/پلاسما ناشی شده است. مقایسه اندازه اثر مکمل های سولفات روی و روی-پروتئینات به ترتیب با اندازه اثر $1/830+$ و $1/731+$ در مقایسه با اندازه اثر کلی، حاکی از تاثیر قابل ملاحظه این دو مکمل بر افزایش روی سرم/پلاسما دارد. پراکنش نقاط در نمودار کیفی نشان از وجود سوگیری در انتشار نتایج داشت (شکل ۸). پراکنش نامتقارن نقاط و تمایل آنها به سمت راست نمودار نشان می دهد در انتشار مقالات انتخاب صورت گرفته است و برخی تحقیقات به دلیل عدم مشاهده اثر مثبت، انتشار نیافته اند (۳ مطالعه گم شده بر اساس روش چینش و تکمیل^۱ تخمین زده شده است). بررسی آماره I^2 در ارتباط با مصرف مکمل روی بر مقدار روی سرم/پلاسما نشان از وجود ناهمگنی متوسطی داشت. ناهمگنی موجود می تواند به دلیل تفاوت های موجود در شکل مکمل روی، مقدار مصرفی مکمل، زمان خون گیری و مدت زمان آزمایش باشد.

بره های پرواری طی دوره رشد نیاز بالایی به روی دارند. از آنجایی که میزان جابه جایی (Turn over) روی بالاست و هیچ منبع ذخیره ای در بدن برای آن وجود ندارد (تقریباً به صورت Zn^{+2} به پروتئین سلولی متصل شده است)، بنابراین تأمین منبع روی با زیست فراهمی بالا برای حیوان حیاتی است. همانطور که در بیش تر نتایج تحقیقات انفرادی نشان داده شده است، ارتباط مستقیمی میان مصرف روی (آلی و غیرآلی) و میزان روی سرم/پلاسما وجود دارد و مصرف روی می تواند میزان روی سرم/پلاسما را افزایش دهد.

اثر مکمل روی بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز

اثر افزودن مکمل روی بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در شکل ۹ نشان داده شده است. اندازه اثر به دست آمده حاکی از تاثیر مثبت مکمل روی بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز است (مقدار اندازه اثر در مدل اثرات تصادفی برابر با $1/4+$ و $p < 0/0001$ بود). در تمام مطالعات مورد استفاده در این فراتحلیل اثر افزایشده مکمل روی (آلی و غیرآلی) بر افزایش فعالیت آلکالین فسفاتاز نشان داده شده است. به عنوان مثال اندازه اثر در این فراتحلیل برای مکمل روی-پروتئینات با مقدار 45 ppm برابر با $2/65+$ بود ($p < 0/0001$) که در مقایسه با اندازه اثر کلی ($1/4+$) تاثیر قابل ملاحظه ای را در افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز نشان داد. مقایسه اندازه اثر مکمل های روی به تفکیک آلی و غیرآلی با اندازه اثر کلی نشان داد روی-پروتئینات با

اندازه اثر $1/63+$ بیش ترین تاثیر را بر میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز داشت و پس از آن سولفات-روی با اندازه اثر $1/53+$ در جایگاه دوم قرار گرفت. در این فراتحلیل، تنها تحقیقات علی عربی (۱)، فدائی فر (۴)، ناگالاشمی (۸) و اسپیرز (۱۳) داده های لازم را برای اندازه گیری اثر مکمل روی بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز تشکیل داده اند. بنابراین برای کسب نتایج قطعی در بررسی تاثیر مثبت مکمل آلی روی (روی-پروتئینات و روی-متیونین) در مقایسه با مکمل غیر آلی (سولفات-روی و اکسید-روی) و بررسی دوز مناسب انجام آزمایش های بیشتر لازم است.

آندروود و ساتل گزارش کردند غلظت روی پلاسما به دلیل حساسیت آن نسبت به تنش و برخی از بیماری ها به تنهایی نمی تواند شاخص مناسبی برای وضعیت روی بدن باشد (۱۴). از این رو اندازه گیری فعالیت آنزیم های وابسته به روی از قبیل آلکالین فسفاتاز می تواند شاخصی از وضعیت روی باشد. روی به عنوان کوفاکتور برای فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز مورد نیاز است، از این رو اندازه گیری آلکالین فسفاتاز نشانه سرولوژیکی، برای تخلیه ذخایر روی بدن است (۱۴).

اثر مکمل روی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز

اثر افزودن مکمل روی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در شکل ۱۱ نشان داده شده است. اندازه اثر برای تاثیر مکمل روی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز با داشتن I^2 بیش تر از ۲۵ درصد نشان از وجود ناهمگنی متوسطی داشت. ناهمگنی موجود می تواند به دلیل تفاوت های موجود در شکل مکمل روی، مقدار مصرفی مکمل، سن بره ها، تاثیر جیره غذایی و مدت زمان آزمایش باشد. اندازه اثر به دست آمده برای میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در مدل اثرات تصادفی برابر با $0/8+$ ($p = 0/001$) بود و حاکی از تاثیر مثبت مکمل روی (آلی و غیر آلی) بر افزایش فعالیت آنزیم دارد. داده های لازم برای اندازه گیری اثر مکمل روی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز را در فراتحلیل انجام شده، تنها تحقیقات علی عربی (۱)، فدائی فر (۴) و ناگالاشمی (۸) تشکیل داده اند و در مطالعه آنها تنها به مقایسه سولفات روی و روی-پروتئینات پرداخته شده است. اندازه اثر برای روی-پروتئینات برابر با $0/9+$ و برای سولفات روی $0/620+$ برآورد گشت در نتیجه می توان عنوان کرد مکمل آلی روی در مقایسه با مکمل معدنی تاثیر بیش تری بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز دارد.

جدول ۲- برآورد اندازه اثر مکمل‌های آلی و غیرآلی روی بر عملکرد، میزان سرمی روی (Zn)، آلکالین فسفاتاز و سوپراکسید دسموتاز بره‌های پرواری

Table 2- Summary of the effect size (Hedges's g) between dietary Zn supplementation vs. no supplementation for performance, plasma/serum concentration Zinc, ALP and SOD activity of fattening lamb calculated according to fixed and random effects models

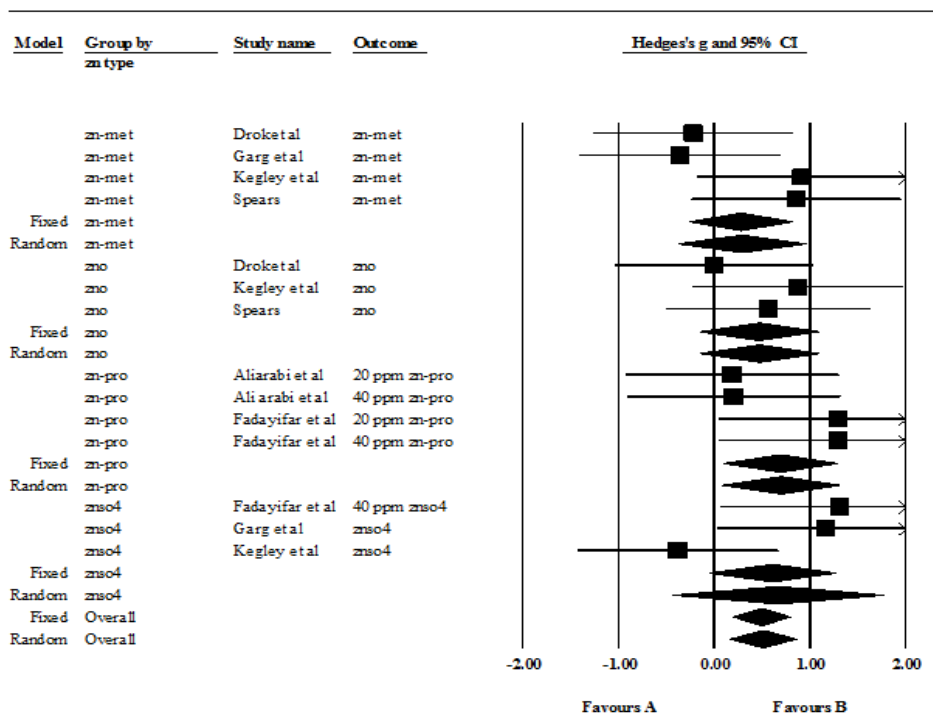
متغیر Variable	Hedges's g ¹	SE	p-value	I ² ³	Q ²	p-value ⁴
افزایش وزن روزانه Average daily gain						
مدل ثابت Fixed effects models	+0.488	0.152	0.001	17.757	15.807	0.260
مدل تصادفی Random effects models	+0.499	0.168	0.004	-	-	-
میانگین مصرف خوراک روزانه Average dry matter intake						
مدل ثابت Fixed effects models	-0.048	0.161	0.763	0	7.767	0.734
مدل تصادفی Random effects models	-0.048	0.161	0.763	-	-	-
ضریب تبدیل غذایی Feed efficiency						
مدل ثابت Fixed effects models	+0.021	0.166	0.898	52.627	23.218	0.016
مدل تصادفی Random effects models	+0.057	0.241	0.814	-	-	-
میزان روی سرم یا پلاسما Zinc						
مدل ثابت Fixed effects models	+1.080	0.185	<0.0001	31.282	14.552	0.149
مدل تصادفی Random effects models	+1.129	0.225	<0.0001	-	-	-
آلکالین فسفاتاز Alp						
مدل ثابت Fixed effects models	+1.359	0.176	<0.0001	25.083	16.018	0.190
مدل تصادفی Random effects models	+1.397	0.205	<0.0001	-	-	-
سوپراکسید دسموتاز Sod						
مدل ثابت Fixed effects models	+0.738	0.178	<0.001	37.382	15.970	0.1
مدل تصادفی Random effects models	+0.782	0.226	0.001	-	-	-

۱- اندازه اثرهای مثبت نشان‌دهنده اثر افزایش‌دهنده و اندازه اثرهای منفی نشان‌دهنده اثر منفی مکمل روی بر فراسنجه‌های مورد نظر است.

۲- آزمون کوکران، آزمون ناهمگنی (مقدار بالای Q و مقدار پایین p-value حاکی از ناهمگنی مطالعات است)

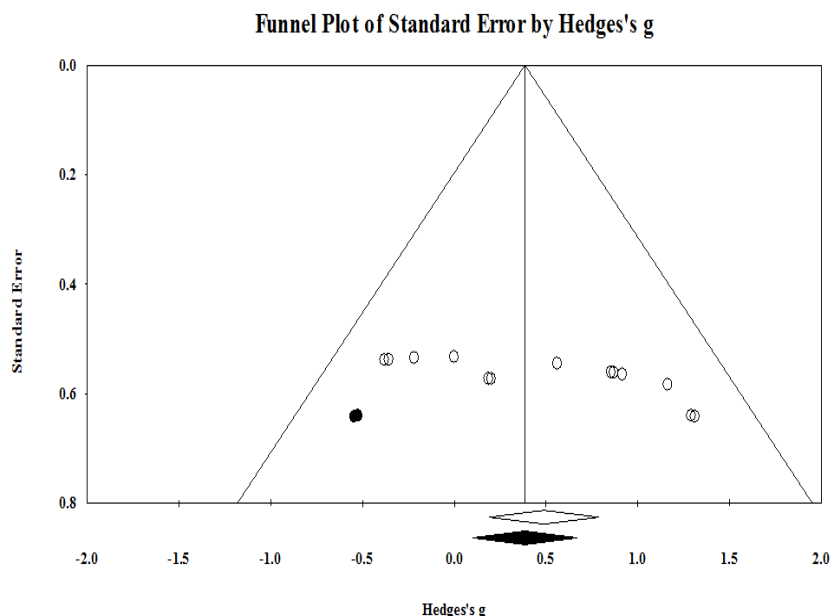
۳- آماره I²، آزمون ناهمگنی (اگر مقادیر I² برابر با ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد باشد به ترتیب به عنوان ناهمگنی پایین، متوسط و بالا تعبیر و تفسیر می‌شود)

۴- p-value مربوط به آزمون کوکران (Q) می‌باشد.



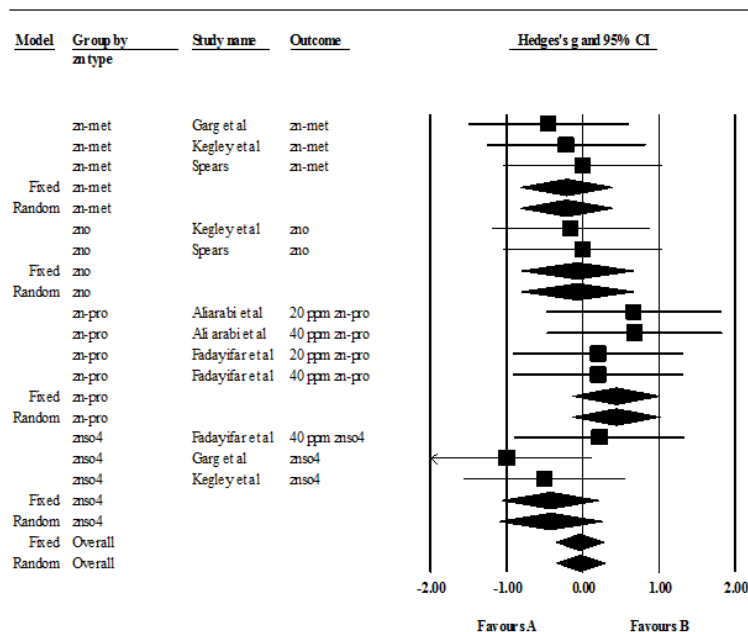
شکل ۱- نمودار درختی اندازه اثر مکمل‌های آلی و غیرآلی روی بر میانگین افزایش وزن روزانه (در این نمودار اندازه‌ی هر مربع نشان‌دهنده وزن مطالعه و خطوط رسم شده در اطراف مربع، نشان‌دهنده فاصله اطمینان ۹۵ درصد در هر مطالعه است).

Figure 1- Forest plots of the effects (Hedges's g) obtained in fixed and random effects models for differences in ADG when Zn-supplemented (B) and no supplemented (A) diets were fed to fattening lamb. The size of the squares illustrated the weight of each study relative to the mean effect size, which is indicated by the diamond at the bottom.



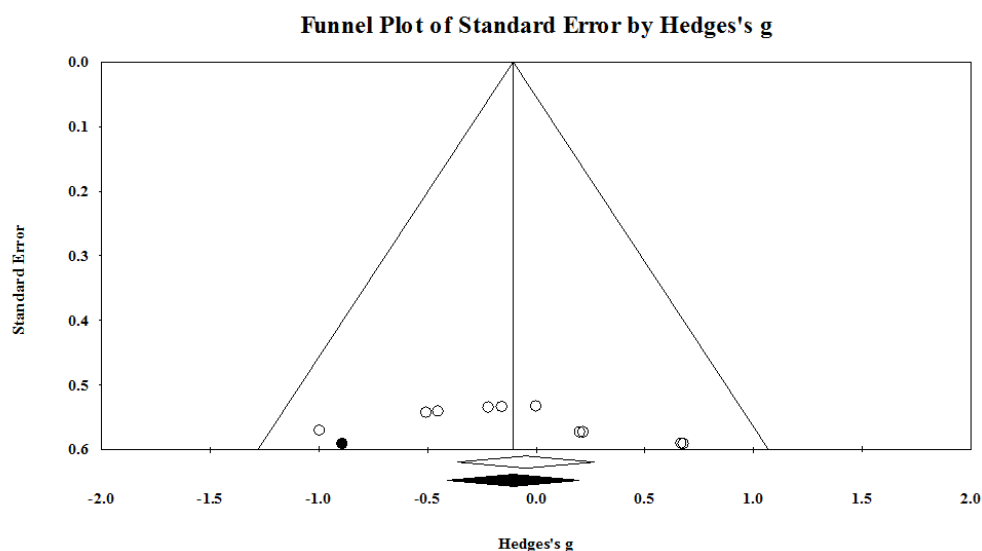
شکل ۲- نمودار کیفی اثر مکمل‌های روی بر افزایش وزن روزانه برای بررسی اربیی انتشار (نقاط سفید مطالعات استفاده شده در این فراتحلیل و نقاط سیاه برآوردی از تعداد احتمالی مطالعات منتشر نشده است)

Figure 2- Funnel plots of the effect sizes (Hedges's g) following zinc supplementation for average daily gain in lamb. Empty circles indicate observed values, and full circles possible missing values.



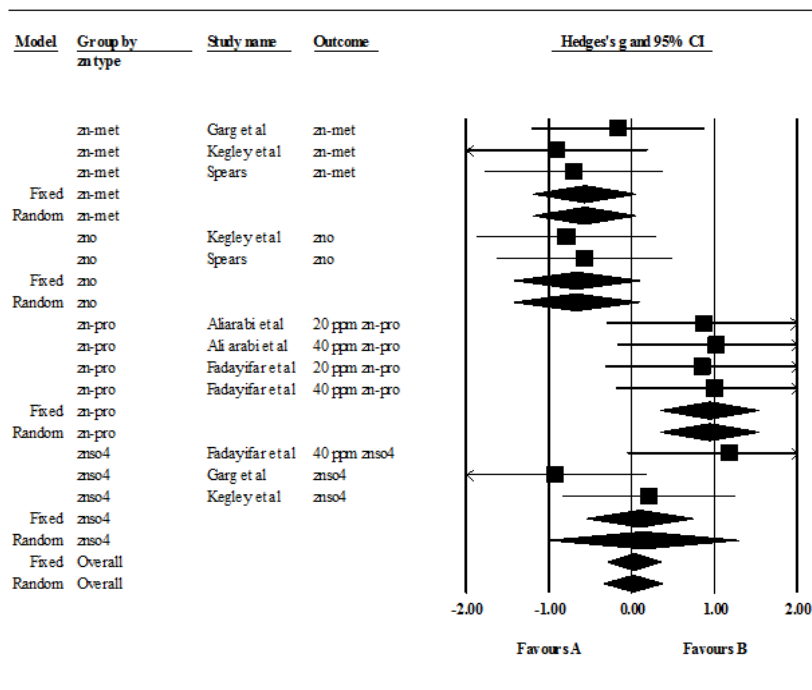
شکل ۳- نمودار درختی اندازه اثر مکمل‌های آلی و غیرآلی روی بر میانگین مصرف خوراک روزانه (در این نمودار اندازه‌ی هر مربع نشان‌دهنده وزن مطالعه و خطوط رسم شده در اطراف مربع، نشان‌دهنده فاصله اطمینان ۹۵ درصد در هر مطالعه است).

Figure 3- Forest plots of the effects (Hedges's g) obtained in fixed and random effects models for differences in DMI when Zn-supplemented (B) and no supplemented (A) diets were fed to fattening lamb. The size of the squares illustrated the weight of each study relative to the mean effect size, which is indicated by the diamond at the bottom.



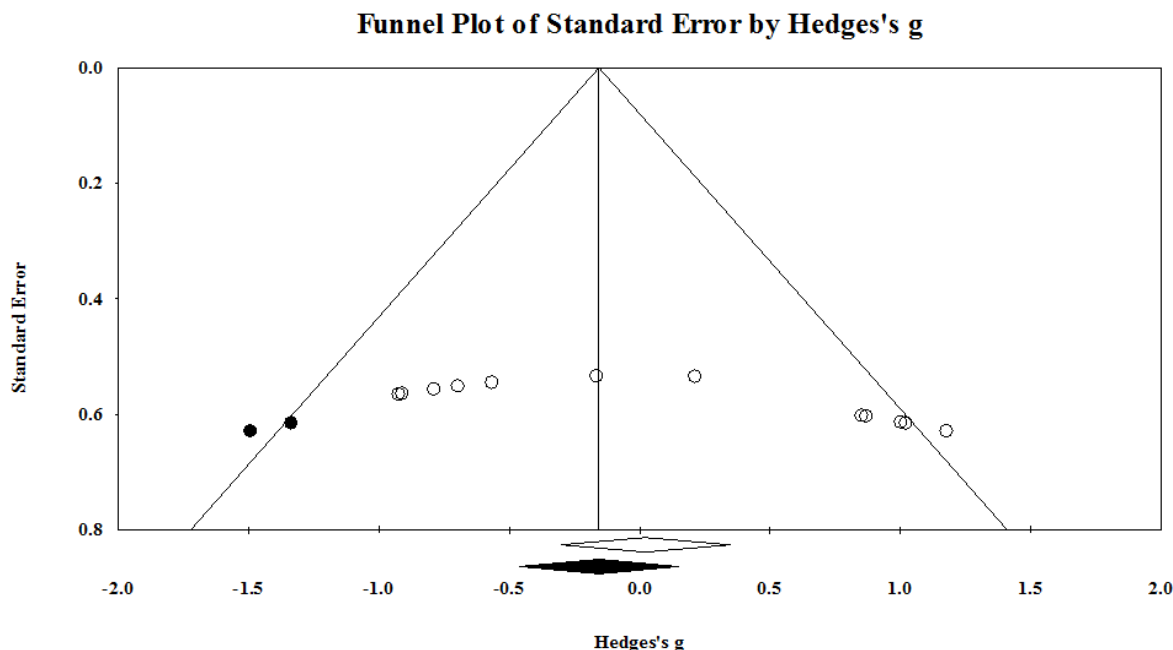
شکل ۴- نمودار کیفی اثر مکمل‌های روی بر میانگین مصرف خوراک روزانه برای بررسی اریبی انتشار (نقاط سفید مطالعات استفاده شده در این فراتحلیل و نقاط سیاه برآوردی از تعداد احتمالی مطالعات منتشر نشده است)

Figure 4- Funnel plots of the effect sizes (Hedges's g) following zinc supplementation for average dry matter intake in lamb. Empty circles indicate observed values, and full circles possible missing values.



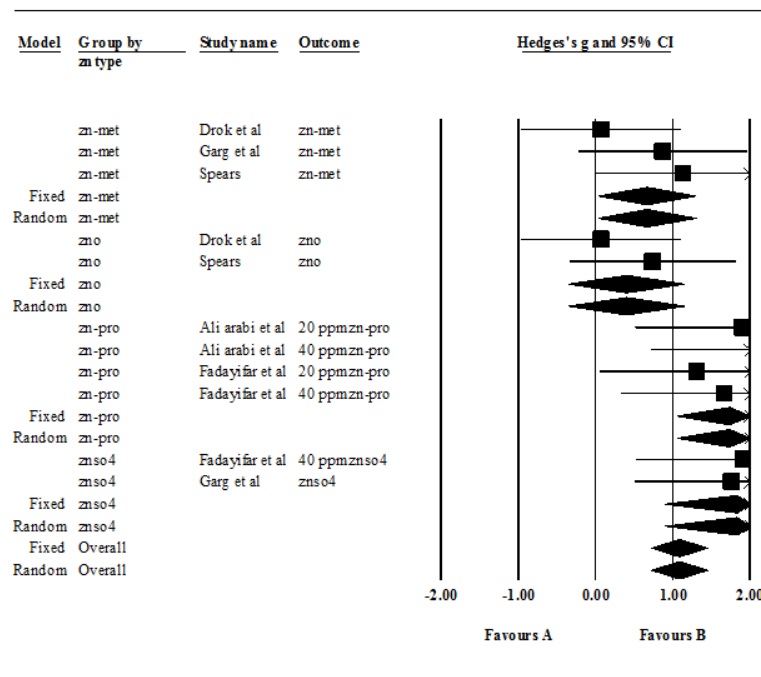
شکل ۵- نمودار درختی اندازه اثر مکمل‌های آلی و غیرآلی روی بر ضریب تبدیل غذایی (در این نمودار اندازه‌ی هر مربع نشان‌دهنده وزن مطالعه و خطوط رسم شده در اطراف مربع، نشان‌دهنده فاصله اطمینان ۹۵ درصد در هر مطالعه است).

Figure 5- Forest plots of the effects (Hedges's g) obtained in fixed and random effects models for differences in feed efficiency when Zn-supplemented (B) and no supplemented (A) diets were fed to fattening lamb. The size of the squares illustrated the weight of each study relative to the mean effect size, which is indicated by the diamond at the bottom.



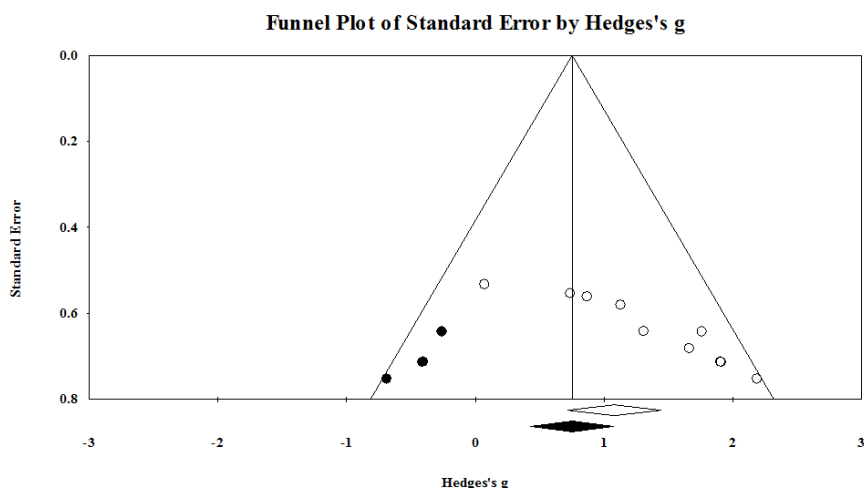
شکل ۶- نمودار قیفی اثر مکمل‌های روی بر ضریب تبدیل غذایی برای بررسی اربیبی انتشار (نقاط سفید مطالعات استفاده شده در این فراتحلیل و نقاط سیاه برآوردی از تعداد احتمالی مطالعات منتشر نشده است)

Figure 6- Funnel plots of the effect sizes (Hedges's g) following zinc supplementation for feed efficiency in lamb. Empty circles indicate observed values, and full circles possible missing values.



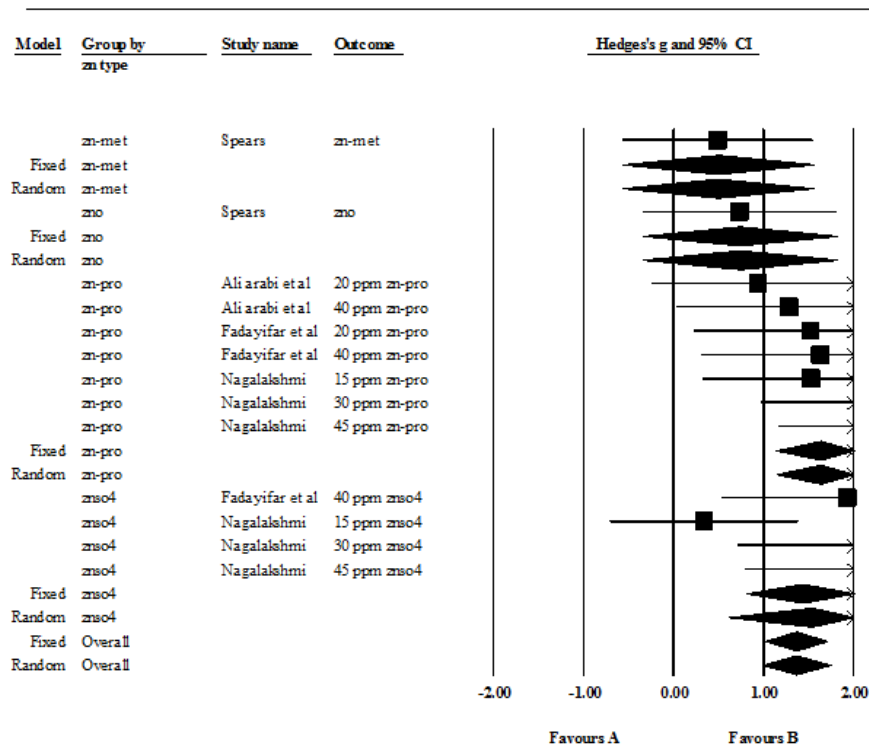
شکل ۷- نمودار درختی اندازه اثر مکمل‌های آلی و غیرآلی روی بر میزان روی سرم/پلاسما (در این نمودار اندازه‌ی هر مربع نشان‌دهنده وزن مطالعه و خطوط رسم شده در اطراف مربع، نشان‌دهنده فاصله اطمینان ۹۵ درصد در هر مطالعه است).

Figure 7- Forest plots of the effects (Hedges's g) obtained in fixed and random effects models for differences in plasma/serum concentration Zinc when Zn-supplemented (B) and no supplemented (A) diets were fed to fattening lamb. The size of the squares illustrated the weight of each study relative to the mean effect size, which is indicated by the diamond at the bottom.



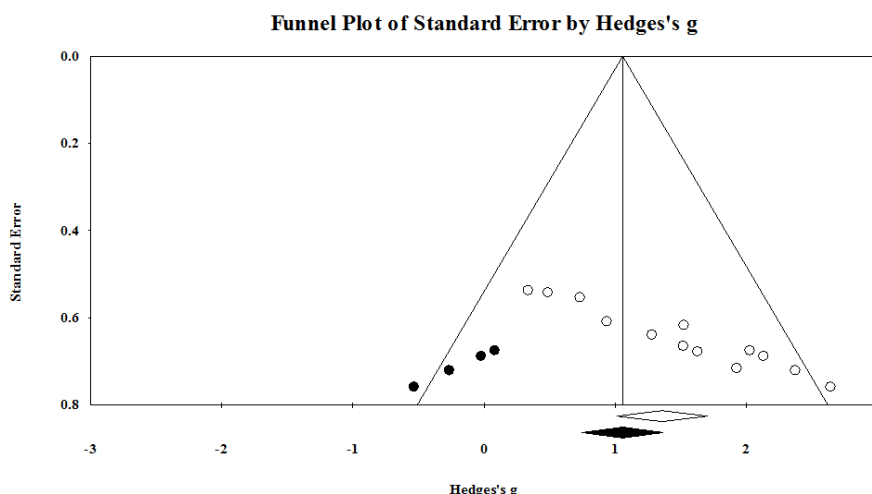
شکل ۸- نمودار کیفی اثر مکمل‌های روی بر میزان روی سرم/پلاسما برای بررسی اربیبی انتشار (نقاط سفید مطالعات استفاده شده در این فراتحلیل و نقاط سیاه برآوردی از تعداد احتمالی مطالعات منتشر نشده است)

Figure 8- Funnel plots of the effect sizes (Hedges's g) following zinc supplementation for plasma/serum concentration Zinc in lamb. Empty circles indicate observed values, and full circles possible missing values.



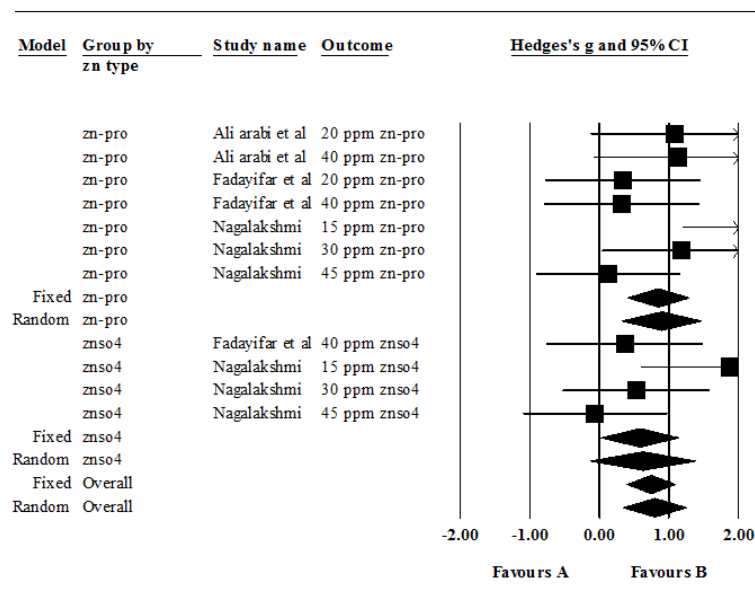
شکل ۹- نمودار درختی اندازه اثر مکمل‌های آلی و غیرآلی روی بر میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز (در این نمودار اندازه‌ی هر مربع نشان‌دهنده وزن مطالعه و خطوط رسم شده در اطراف مربع، نشان‌دهنده فاصله اطمینان ۹۵ درصد در هر مطالعه است).

Figure 9- Forest plots of the effects (Hedges's g) obtained in fixed and random effects models for differences in ALP when Zn-supplemented (B) and no supplemented (A) diets were fed to fattening lamb. The size of the squares illustrated the weight of each study relative to the mean effect size, which is indicated by the diamond at the bottom.



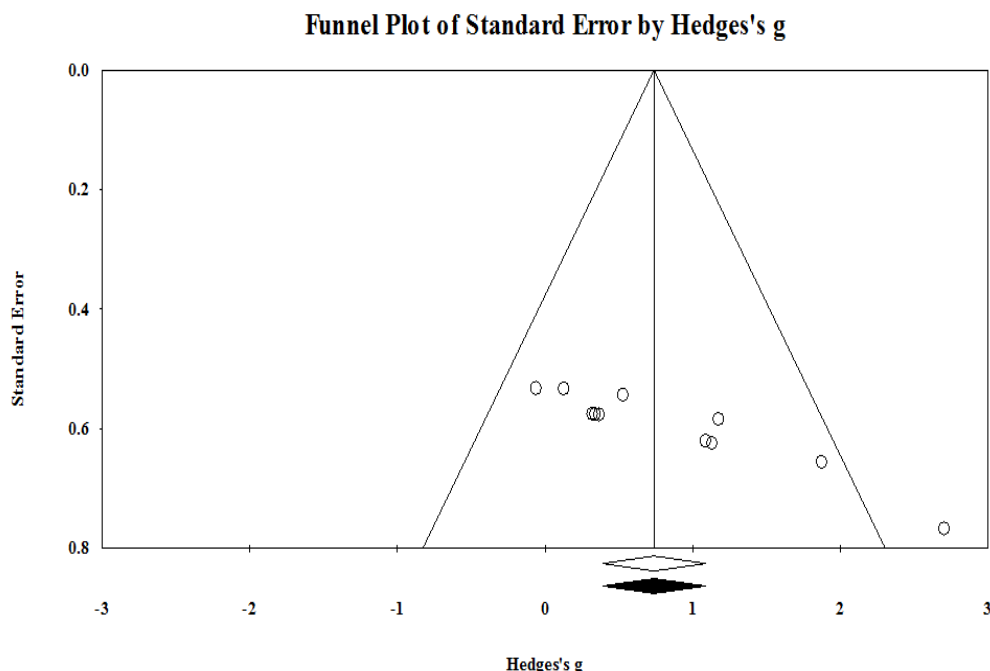
شکل ۱۰- نمودار قیفی اثر مکمل‌های روی بر میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز برای بررسی اربیبی انتشار (نقاط سفید مطالعات استفاده شده در این فراتحلیل و نقاط سیاه برآوردی از تعداد احتمالی مطالعات منتشر نشده است)

Figure 10- Funnel plots of the effect sizes (Hedges's g) following zinc supplementation for ALP in lamb. Empty circles indicate observed values, and full circles possible missing values.



شکل ۱۱- نمودار درختی اندازه اثر مکمل‌های آلی و غیرآلی روی بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز (در این نمودار اندازه‌ی هر مربع نشان‌دهنده وزن مطالعه و خطوط رسم شده در اطراف مربع، نشان‌دهنده فاصله اطمینان ۹۵ درصد در هر مطالعه است).

Figure 11- Forest plots of the effects (Hedges's g) obtained in fixed and random effects models for differences in SOD when Zn-supplemented (B) and no supplemented (A) diets were fed to fattening lamb. The size of the squares illustrated the weight of each study relative to the mean effect size, which is indicated by the diamond at the bottom.



شکل ۱۲- نمودار کیفی اثر مکمل‌های روی بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز برای بررسی اریبی انتشار (نقاط سفید مطالعات استفاده شده در این فراتحلیل و نقاط سیاه برآوردی از تعداد احتمالی مطالعات منتشر نشده است)

Figure 12- Funnel plots of the effect sizes (Hedges's g) following zinc supplementation for SOD in lamb. Empty circles indicate observed values, and full circles possible missing values.

سلول‌های بدن به‌وسیله آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی می‌توانند صدمات ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را

روی و به‌ویژه فرم آلی آن در جیره بره‌های پرواری، افزایش عملکرد، افزایش مقدار روی سرم/پلاسما و نیز افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و سوپراکسید دسموتاز را به دنبال دارد. با این وجود، برای تفسیر نتایج به‌دست آمده در این مطالعه باید به دقت عمل کرد. محدودیت تعداد مطالعات در دسترس در این فراتحلیل، قدرت آماری کافی برای بررسی اثر مکمل روی و همچنین مقایسه مطمئن فرم آلی و غیرآلی آن بر عملکرد بره‌های پرواری را پشتیبانی نمی‌کند. از این رو برای کسب نتایج قطعی در تاثیر مثبت مکمل‌های آلی روی در مقایسه با مکمل‌های غیرآلی بر عملکرد حیوان لازم است آزمایشات بیشتر با دقت لازم و دستگاه‌های اندازه‌گیری جدیدتر صورت گیرد.

کاهش دهند. اثرات مضر ترکیبات ROS از طریق سیستم حمایتی آنتی‌اکسیدانت سلولی، شامل آنزیم‌هایی چون سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز خنثی 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 (۶). از سوی دیگر اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم نیز مانند آلکالین فسفاتاز می‌تواند به عنوان شاخصی از وضعیت روی بدن باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست آمده از این فراتحلیل نشان داد افزودن مکمل

منابع

1. Aliarabi, H., M. M. Tabatabaei, A. Fadayifar, S. Torkashvan, A. A. Bahari, P. Zamani, D. Alipour, and A. H. Dezfoulan. 2011. Effects of supplementing organic Zinc, with or without Copper, on performance, plasma minerals and some enzymes activities in Mehraban male lambs. *Journal of Animal Science Research*, 3:111-122. (In Persian).
2. Borenstein, M., L. V. Hedges, J. P. T. Higgins, and H. R. Rothstein. 2005. *Comprehensive Meta-Analysis Version 2*. Biostat, Englewood, N. J., USA.
3. 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 Australasian. Journal of Animal Science*, 11: 139-144.
4. Fadayifar, A., H. Aliarabi, M. M. Tabatabaei, P. Zamani, A. Bahari, M. Malecki, and A. H. Dezfoulan. 2012. Improvement in lamb performance on barley based diet supplemented with zinc. *Journal of Livestock Science*, 144(3):285-289.
5. Garg, A. K., V. Mudgal, and R. S. Dass. 2008. Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization and mineral profile in lambs. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 144(1-2): 82-96.
6. 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. *Journal of Biochemistry*, 218: 513-537.
7. Kegley, E. B., and J. W. Spears. 1994. Effect of zinc supplementation on performance and zinc metabolism of lambs fed forage-based diets. *Journal of Agriculture Science*, 123: 287-292.
8. MacDonald, R. S. 2000. The role of zinc in growth and cellproliferation. *Journal of Nutrition*, 130: 1500S-1508S.
9. Nagalakshmi, D., K. Dhanalakshmi, and D. Himabindu. 2009. Effect of dose and source of supplemental zinc on immune response and oxidative enzymes in lambs. *Journal of Veterinary Research Communications*, 33(7):631-44.
10. NRC. 1985. *Nutrient requirements of sheep*. 6th Ed. National Research Council. National Academy Press. Washington D. C.
11. O'Dell, B. L., and J. E. Savage. 1957. Potassium, zinc, and distillers dried solubles as supplements to a purified diet. *Journal of Poultry Science*, 36:459-460.
12. Smith, J. T. 1996. Meta-analysis: the librarian as a member of an interdisciplinary team. *Journal of Library Trends*, 45: 265-279.
13. Spears, J. W. 1989. Zinc methionine for ruminants: relative bioavailability of zinc in lambs and effects of growth and performance of growing heifers. *Journal of Animal Science*, 67(3):835-843.
14. Underwood, E. J., and N. F. Suttle. 1999. *The mineral nutrition of livestock*. CAB international, Wallingford, U. K.
15. Vesterinen, H. M., E. S. Sena, K. J. Egan, T. C. Hirst, L. Churolov, and G. L. Currie. 2014. Meta-analysis of data from animal studies: a practical guide. *Journal of Neuroscience Methods*, 221:92-102.



Role of Dietary Zinc Supplementation on Performance of Fattening Lamb: A Meta-Analysis

N. Naghdi¹ - R. Valizadeh^{2*} - A. A. Naserian³ - A. Asoodeh⁴

Received: 28-02-2016

Accepted: 02-06-2016

Introduction

Zinc (Zn) is well known as an essential trace element in animal nutrition to ensure optimal body functions and animal health. Previous studies have demonstrated that Zn supplementation has improved the rate of animal growth in practical feeding regimes. Traditionally, the farm animal diets have been supplemented with Zn in the inorganic forms as either zinc oxide or zinc sulfate. The use of organic Zn sources in the form of chelates and supplements for ruminant diets has increased in recent years. Many studies have been conducted to interrogate the relative bioavailability of organic Zn sources in comparison to inorganic forms in ruminant nutrition. Meta-analysis is the statistical combination of results from two or more independent studies for the purpose of integrating findings or results for the under study subject. Meta-analysis can be helpful in determining whether multiple tests of an intervention yield effects on an outcome construct of interest that are similar in direction and magnitude. In the current meta-analysis the organic and inorganic zinc supplementation effects on performance of fattening lambs have been compared.

Materials and Methods

A literature search was initially conducted using PubMed, Medline, Science Direct, and Google Scholar data bases and investigated references in the papers. It was also based on the following key words: zinc, organic zinc, inorganic zinc, zinc sulfate, zinc oxide, zinc methionine, zinc proteinate (s), zinc polysaccharide, growth performance, and fattening lamb. The resulting 14 articles were examined for inclusion or exclusion in this analysis. Then seven studies were included in this meta-analysis; and prepared 14 comparisons for average daily gain, 12 comparisons for average dry matter intake and feed efficiency, 11 comparisons for serum/plasma zinc concentration and super oxide dismutase activity, and 13 for alkaline phosphatase activity. Meta-analyses were carried out using the Comprehensive Meta-Analysis package, version 2. The size effects of across studies were calculated with fixed and random effect models. The presence of true heterogeneity among studies was identified with Cochran's Q -tests and quantification of the degree of heterogeneity was done with the I² index. Possible publication bias was evaluated with funnel plot and statistical tests.

Results and Discussion

The results of this meta-analysis showed that the addition of Zn in the diet, has a positive effects on average daily body weight gain ($+0.5 \pm 0.17$), increase in serum or plasma zinc content ($+1.13 \pm 0.225$) and alkaline phosphatase enzyme ($+1.4 \pm 0.205$) and superoxide dismutase activity (0.8 ± 0.226). However, Zn supplementation in either form (inorganic or organic) had no significant effects on some variable such as daily feed intake (-0.05 ± 0.161) and feed conversion ratio (0.06 ± 0.241). This quantitative meta-analysis of data from several experiments indicated that dietary Zn supplementation significantly increased average daily body weight gain, serum or plasma Zn concentration, alkaline phosphatase and superoxide dismutase activity in fattening lambs. Superoxide dismutase is a redox metalloenzyme involving in cell defense mechanisms against oxidative stress as well as animal health. This enzyme can reduce oxidative stress therefore improves immune functions.

Conclusion

The results of this meta-analysis confirmed that organic sources of zinc supplements especially the zinc-

1- PhD graduated of Ruminant Nutrition, Department of Animal sciences faculty of agriculture, Ferdowsi university of Mashhad

2- Professor, Department of Animal sciences faculty of agriculture, Ferdowsi university of Mashhad

3- Professor, Department of Animal sciences faculty of agriculture, Ferdowsi university of Mashhad

4- Professor, Department of chemistry faculty of sciences, Ferdowsi university of Mashhad

(*- Corresponding author email: valizadeh@um.ac.ir)

proteinates are more effective than the inorganic forms for improving lamb growth performances. However, more precise experiments are required for reaching to the practical implementations.

Key words: Fattening lamb, Inorganic zinc supplementation, Meta-analysis, Organic zinc supplementation, Performance



تجزیه پذیری شکمبه‌ای مواد مغذی گیاهان شورزی سلمکی ساقه سفید، سیاه‌شور و اشنان به صورت انفرادی یا مخلوط در شترهای یک کوهانه

اکبر ابرغانی^۱ - مرتضی چاجی^{۲*} - هرمز منصوری^۳ - مرتضی ممویی^۴ - خلیل میرزاده^۲ - هدایت اله روشنفکر^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۰۲

چکیده

در این مطالعه ارزش تغذیه‌ای (ترکیب شیمیایی و تجزیه‌پذیری) سه گونه گیاهی شورزی تحت چرای شترهای یک کوهانه به نام‌های سلمکی ساقه سفید، سیاه‌شور و اشنان به صورت انفرادی یا با جایگزینی صفر، ۳۳/۵، ۶۶/۵ و ۱۰۰ درصد به جای همدیگر در قالب ۹ تیمار آزمایشی با طرح آزمایشی کاملاً تصادفی به روش کیسه‌های نایلونی مورد بررسی قرار گرفت. از دو نفر شتر ماده چهار ساله تک کوهانه دارای فیستولای شکمبه‌ای تغذیه شده با کاه گندم، سلمکی ساقه سفید و علوفه یونجه استفاده شد. سلمکی بالاترین همی سلولز، NDF و ماده آلی را بین سه گیاه شورزی داشت. بالاترین غلظت تانن و اگزالات و اسیدهای آلی مربوط به اشنان بود. گیاهان سلمکی ساقه سفید پایین‌ترین و اشنان بالاترین درصد تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری موثر ماده خشک را داشتند ($P < 0.05$). تجزیه‌پذیری ماده آلی تیمار حاوی اشنان و سیاه‌شور به طور معنی‌داری بالاتر از تیمارهای حاوی سلمکی ساقه سفید بودند ($P < 0.05$). تیمار حاوی ۶۶/۵ درصد اشنان + ۳۳/۵ درصد سیاه‌شور (تیمار ۷) بالاترین و سلمکی ساقه سفید (تیمار ۲) پایین‌ترین درصد تجزیه‌پذیری NDF را در بین تیمارهای آزمایشی داشتند ($P < 0.05$). تیمار حاوی ۶۶/۵ درصد اشنان + ۳۳/۵ درصد سلمکی ساقه سفید (تیمار ۱)، بالاترین تجزیه‌پذیری پروتئین خام و سلمکی ساقه سفید پایین‌ترین درصد را داشت. نتایج نشان داد که در ساعات اولیه انکوباسیون، سرعت تجزیه پروتئین بیشتر از سرعت تجزیه ماده خشک، ماده آلی و NDF تیمارهای آزمایشی بود. لذا طبق نتایج مربوط به تجزیه ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام، بهترین مخلوط گیاهی برای تغذیه بهتر شترهای چراگر تیمارهای فاقد سلمکی (تیمارهای ۵، ۷ و ۸) می‌باشد؛ اما طبق داده‌های ترکیب شیمیایی و تجزیه پروتئین تیمارهای حاوی سلمکی بهترین مخلوط هستند (تیمارهای ۱، ۳، ۴ و ۶ به جز ۲). بنابراین، به نظر می‌رسد یکی از راه‌کارها برای بهبود هضم‌پذیری گیاهان شورزی در شترها مخلوط کردن این گیاهان با یکدیگر است که طبق نتایج آزمایش حاضر به نظر می‌رسد بهترین تیمار برای تغذیه شترها شامل مخلوطی از سلمکی ساقه سفید با سیاه‌شور یا اشنان باشد.

واژه‌های کلیدی: اگزالات، اسیدهای آلی، تانن، ترکیبات فنولی، کیسه‌های نایلونی

مقدمه

از گونه‌های شورزی در مناطق مرکزی و جنوبی ایران شناخته شده‌اند که بیش از ۷۰ درصد آنها متعلق به خانواده اسفنجیان می‌باشند (۲۰). توجه به کشت گیاهان شورزی به عنوان منابع علوفه‌ای در خاک‌های مناطق شور جهت بهبود تولیدات دامی رو به افزایش است (۱۰)، با این وجود، برخی از عوامل ارزش تغذیه‌ای آنها را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۱). ترکیب شیمیایی و قابلیت هضم مواد مغذی در گیاهان شورزی تحت تاثیر بلوغ آنها قرار می‌گیرد (۱۰ و ۱۱)، با این وجود در برخی از آنها مقدار پروتئین خام و قابلیت هضم ممکن است با علوفه‌ای مانند یونجه قابل مقایسه باشد (۲۳).

گیاهان شورزی نظیر آتریپلکس‌ها، حاوی برخی از متابولیت‌های ثانویه به ویژه تانن‌های متراکم می‌باشند که موجب ایجاد محدودیت در مصرف و عملکرد دام می‌شود (۷). مقدار مواد معدنی در گونه‌های

گیاهان شورزیست توانایی بقاء و ادامه حیات در خاک‌های نمکی و قلیایی را داشته و در برابر خشکی مقاوم هستند. در برخی از مناطق جهان از جمله ایران، گیاهان شورزی به عنوان منابع علوفه برای دام‌های چراکننده از جمله شترها محسوب می‌گردند. حدود ۲۶ خانواده

۱، ۲ و ۴ - به ترتیب دانش‌آموخته دکتری تغذیه دام، دانشیاران و استادان گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

۳ - استادیار پژوهشی بازنشسته موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

(Email: chaji@ramin.ac.ir)

(*) - نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/ijasr.v10i3.63675

جمع‌آوری شدند. از نظر جغرافیایی مراتع مورد مطالعه مابین عرض جغرافیایی "۱۶°، ۱۰' تا ۳۱°، ۱۵'، ۹" شمالی و طول جغرافیایی "۷'، ۱۴' تا ۴۸°، ۴۴'، ۶" شرقی در منطقه جفیر با ۶ تا ۲۳ متر ارتفاع، مابین عرض جغرافیایی "۱۸°، ۲۸' تا ۳۱°، ۵۳'، ۱۸" شمالی و طول جغرافیایی "۴۴'، ۱۹' تا ۴۸°، ۲۵'، ۵۶" شرقی در منطقه هویزه با ارتفاع ۶ تا ۱۲ متر و مابین عرض جغرافیایی "۹°، ۱۰' تا ۳۱°، ۲۲'، ۶" شمالی و طول جغرافیایی "۴۱'، ۲۰' تا ۴۸°، ۴۹'، ۱۶" شرقی در منطقه جاده آبادان - خرمشهر با ارتفاع ۶ تا ۱۲ متر از سطح دریا واقع شده‌اند. گیاهان جمع‌آوری شده بر اساس درصد ماده خشک مخلوط شده و تیمارهای ترکیبی تهیه شدند. نمونه‌های هر گیاه به مدت ۱۰ روز و به صورت روزانه و به تعداد چهار تکرار (هر تکرار شامل چهار بوته) در چهار نقطه از هر ناحیه چرای در دو فصل چرای پاییزه و زمستانه (۳۶ نمونه) تهیه شده و سپس با یکدیگر مخلوط شدند.

تیمارهای مورد مطالعه در این آزمایش شامل: ۱- ۳۳/۵ درصد سلمکی ساقه‌سفید + ۶۶/۵ درصد اشنان (تیمار ۱)؛ ۲- ۱۰۰ درصد سلمکی ساقه‌سفید (تیمار ۲)؛ ۳- ۶۶/۵ درصد سلمکی ساقه‌سفید + ۳۳/۵ درصد سیاه‌شور (تیمار ۳)؛ ۴- ۶۶/۵ درصد سلمکی ساقه‌سفید + ۳۳/۵ درصد اشنان (تیمار ۴)؛ ۵- ۱۰۰ درصد اشنان (تیمار ۵)؛ ۶- ۳۳/۵ درصد سلمکی ساقه‌سفید + ۶۶/۵ درصد سیاه‌شور (تیمار ۶)؛ ۷- ۶۶/۵ درصد اشنان + ۳۳/۵ درصد سیاه‌شور (تیمار ۷)؛ ۸- ۶۶/۵ درصد سیاه‌شور + ۳۳/۵ درصد اشنان (تیمار ۸)؛ ۹- ۱۰۰ درصد سیاه‌شور (تیمار ۹) بودند.

تجزیه شیمیایی: نمونه‌ها در آون (Memmert، آلمان) در دمای ۶۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و با الک ۲ میلی‌متری آسیاب شدند. خاکستر نمونه‌ها به وسیله کوره الکتریکی (اکسایتون، ایران) در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس به مدت سه ساعت اندازه‌گیری شدند (۲). ماده آلی نمونه‌ها به روش تفاوت و با کسر خاکستر از ماده خشک محاسبه شد. الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) بدون به کار بردن سولفیت سدیم و آمیلاز اندازه‌گیری شدند و برای خاکستر باقیمانده تصحیح شدند (۲۶). الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) و لیگنین حاصل از شوینده اسیدی (ADL) اندازه‌گیری و نسبت به خاکستر نیز تصحیح شد (۱۲). عصاره اتری با روش سوکسله دستی و با استفاده از دی‌اتیل اتر به عنوان حلال تعیین شد (۲). پروتئین خام با استفاده از روش میکروکجلدال (کجلدال اتوماتیک، Foss 2033، سوئد). کربوهیدرات‌های غیر فیبری با رابطه (۱) محاسبه شد:

$$\text{رابطه (۱)} \quad \text{NFC} = 100 - (\text{Ash} + \text{CP} + \text{NDF} + \text{EE})$$

همی سلولز و سلولز به ترتیب با روابط (۲) و (۳) محاسبه شدند:

$$\text{رابطه (۲)} \quad \text{NDFom} - \text{ADFom}$$

آتریپلکس بسته به گونه، منطقه جغرافیایی و مرحله رشد تغییرات زیادی دارند (۱۳). گیاه سیاه‌شور^۱ را می‌توان برای جایگزینی در جیره بره‌های پرواری به جای علوفه‌های متداول استفاده کرد (۲۴). سیاه‌شور برای گوسفند و شتر (۱۰) علوفه خوش‌خوراکی است در حالی‌که، ارزش تغذیه‌ای اشنان^۲ به خوبی مورد بررسی قرار نگرفته و منابع بسیار محدود و ناقصی در این زمینه وجود دارد. گونه‌های گیاهی سلمکی ساقه‌سفید^۳، سیاه‌شور و اشنان که متعلق به خانواده اسفنجیان می‌باشند، گونه‌های بوته‌ای غالب در مناطق بیابانی استان خوزستان بوده و علوفه خوبی را برای مصرف دام‌های نشخوارکننده به‌ویژه شترهای تک کوهانه فراهم می‌کنند، با این وجود مطالعات محدودی روی قابلیت هضم برخی از آنها در داخل (۲۵) و خارج از کشور (۱۰) انجام گرفته است. از طرف دیگر هیچ مطالعه‌ای روی مقدار مواد مغذی و قابلیت هضم مخلوطی از آنها که با نسبت‌های مناسبی جایگزین همدیگر شده باشند انجام نگرفته است، این موضوع از آن جهت اهمیت دارد که شترهای تک کوهانه ممکن است مقادیر متفاوتی از گیاهان مذکور را جهت تأمین احتیاجات خود چرا کنند.

لذا هدف از انجام آزمایش حاضر، تعیین ترکیب شیمیایی، برخی از ترکیبات ثانویه گیاهی (دارای اثرات ضد تغذیه‌ای) و درصد تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک، ماده آلی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و پروتئین خام گیاهان شورزیست سلمکی ساقه‌سفید، سیاه‌شور و اشنان به‌طور انفرادی و یا به‌صورت مخلوط با هم از طریق روش کیسه‌های نایلونی بود، تا تیمارهای مناسب از لحاظ ارزش تغذیه‌ای مشخص گردند و بتوان بهترین نسبت آنها را برای برآورده کردن نیاز شترها و استقرار در مراتع تحت چرای شترهای تک کوهانه پیدا کرد. با داشتن این اطلاعات هنگام احیای مراتع می‌توان بهترین ترکیب از این گیاهان را در مرتع استقرار داد.

مواد و روش‌ها

محل آزمایش و دام‌های آزمایشی: تحقیق حاضر در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. در آزمایش حاضر از دو نفر شتر ماده چهار ساله تک کوهانه استفاده شد. شکمبه شترها فیستولاگذاری شد.

تهیه نمونه‌های گیاهی: نمونه‌های گیاهی شامل سلمکی ساقه‌سفید، سیاه‌شور و اشنان در طول فصل چرای پاییزه و زمستانه از مراتع تحت چرای شترهای تک کوهانه در جنوب استان خوزستان شامل سه ناحیه چرای هویزه، جفیر و جاده اهواز به آبادان و خرمشهر

- 1- Suaeda fruticosa
- 2- Seidlitzia rosmarinus
- 3- Atriplex leucoclada

رابطه (۳)

ADFom- ADL_(ash free)

کربوهیدرات های محلول، نشاسته، مقدار اسیدهای آلی و فیبر محلول در شوینده خنثی اندازه گیری شدند (۱۵). به طور خلاصه، ۰/۲ گرم نمونه (۲ تکرار) در لوله های درپوش دار تفلونی با ۴۰ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط شد، سپس به مدت ۴ ساعت در دمای ۱۷ تا ۲۴ درجه سلسیوس بر روی یک شیکر تکان داده شدند. با استفاده از کاغذ صافی واتمن و قیف بوخنر، محلول تحت خلاء فیلتر شد تا نشاسته در باقیمانده نامحلول حاصل از اتانول ۸۰ درصد (EIR) تعیین شود. باقیمانده حاصل از فیلتراسیون دو بار با اتانول ۸۰ درصد و دو بار نیز با استون شستشو شد. نمونه های مرطوب در یک آون تحت خلاء در دمای ۵۵ درجه سلسیوس خشک شدند تا جهت تعیین مقدار نشاسته به کار برده شوند. مراحل تعیین نشاسته به ترتیب شامل ژلاتینه کردن، هیدرولیز کردن با آنزیم های آلفا آمیلاز مقاوم به گرما و آمیلوگلوکوزیداز، سنجش گلوکز در نمونه های هیدرولیز شده و در نهایت محاسبه میزان نشاسته از روی گلوکز با رابطه (۴) بود:

رابطه (۴) نشاسته = مقدار گلوکز × ۰/۹

عصاره حاصل از اتانول ۸۰ درصد که در بالا به آن اشاره شد، در یک بالن حجمی برای تعیین کل کربوهیدرات های محلول در اتانول ۸۰ درصد (TESC) با استفاده از استاندارد سوکروز جمع آوری شد. ماده آلی باقیمانده نامحلول حاصل از اتانول ۸۰ درصد (EIROM) (۲) و پروتئین خام آن (EIRCP) به روش کج لداال تعیین شد. مقدار اسیدهای آلی (OA) و الیاف محلول در شوینده خنثی (NDSF) با روش تفاوت و طبق روابط (۵) و (۶) محاسبه شدند (۱۵):

رابطه (۵)

OA = OM - CP - EIROM + EIRCP - EE - TESC

رابطه (۶)

NDSF = OM - (CP + EE + TESC + Starch + NDF) - OA

مقدار تانن (۱۷) و اگزالات (۱۹) نمونه های گیاهی در مرکز تحقیقات علوم دامی کشور اندازه گیری شدند.

اندازه گیری تجزیه پذیری مواد مغذی با کیسه های

نایلونی: برای تعیین تجزیه پذیری، شترهای فیستوله گذاری شده به مدت ۱۴ روز با جیره ای که حاوی ۷۰ درصد کاه، ۲۰ درصد سلمکی ساقه سفید و ۱۰ درصد یونجه بود در حد نگهداری تغذیه شدند. برای نگهداری شترها روزانه در حدود ۸۵/۶ مگا کالری انرژی قابل متابولیسم احتیاج دارند (۱ و ۳). نمونه تهیه شده از تیمارهای آزمایشی را با آسیاب دارای غربال دو میلی متری آسیاب کرده و به منظور جلوگیری از خروج ذرات خیلی ریز از منافذ کیسه های نایلونی، نمونه آسیاب شده با استفاده از الک ۴۵ میکرومتر غربال شد (۳). مقدار پنج گرم از نمونه باقیمانده در روی الک، در هر کیسه نایلونی (به ابعاد ۱۰ × ۲۱ سانتی متر، با قطر منافذ بین ۴۵ تا ۵۰ میکرومتر) ریخته و درب کیسه ها بسته شدند. کیسه های نایلونی محتوی نمونه ها از طریق

فیستوله شکمبه ای در داخل شکمبه، غوطه ور شدند، برای هر زمان در هر دام سه کیسه به عنوان تکرار و در مجموع شش تکرار، در نظر گرفته شد. کیسه های محتوی هر ماده خوراکی در فواصل زمانی صفر، دو، چهار، شش، هشت، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون از شکمبه خارج شدند و تا زمان خروج آب کاملاً زلال با آب سرد شستشو داده شدند. برای زمان صفر کیسه حاوی نمونه بدون شکمبه گذاری زیر شیر آب شسته شد. سپس کیسه ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس در آون خشک شدند. پس از توزین و تعیین میزان ماده خشک، مقدار ماده آلی، پروتئین خام و الیاف حاصل از شوینده خنثی، تعیین شدند. درصد تجزیه پذیری مواد مغذی در نمونه ها با استفاده از اختلاف ماده اولیه و باقیمانده محاسبه شدند.

در رابطه (۷) فراسنجه تجزیه پذیری بر اساس مدل نمایی (۱۸) محاسبه شدند:

$$P = a + b(1 - e^{-ct}) \quad \text{رابطه (۷)}$$

در این معادله، P: پتانسیل تجزیه پذیری (درصد)، a: بخش سریع تجزیه (درصد)، b: بخش کند تجزیه یا دارای پتانسیل تجزیه در واحد زمان (درصد)، c: نرخ تجزیه (درصد در ساعت) را نشان می دهد. از آنجایی که این رابطه سرعت عبور مواد از شکمبه را در نظر نمی گیرد، به همین جهت از رابطه (۸) برای بیان تجزیه پذیری با در نظر گرفتن نرخ عبور و نرخ تجزیه یا تجزیه پذیری موثر (ED) استفاده شد (۱۸):

$$ED = a + [(b \times c) / (c + r)] \quad \text{رابطه (۸)}$$

در این مدل، a: بخش سریع تجزیه، b: بخش آهسته تجزیه، c: سرعت تجزیه، r: سرعت عبور مواد از شکمبه می باشد. مقدار r بر اساس سطوح مصرف خوراک توسط دام برآورد می شود و مقدار آن در سطح برابر نگهداری ۰/۰۲ می باشد (۳).

تجزیه آماری: روش مدل خطی عمومی (GLM) در نرم افزار آماری SAS (۲۰۰۰) جهت تجزیه داده ها به کار برده شدند، که طبق مدل زیر تجزیه شدند:

$$Y_{ik} = \mu + \tau_k + \varepsilon_{ik} \quad \text{رابطه (۹)}$$

در این مدل، Y_{ik} = متغیر مستقل، μ = میانگین کل، τ_k = تاثیر تیمار آزمایشی (نوع گیاه شورزی)، ε_{ik} = اثر اشتباه آزمایشی بود. مقایسه میانگین تیمارها در سطح احتمال خطای ۵ درصد و با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی و ترکیبات ثانویه گیاهی: برخی از ترکیب شیمیایی و ترکیبات ثانویه گیاهی نظیر ترکیبات فنلی، تانن ها و اگزالات سه گونه گیاهان مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی و ترکیبات ثانویه گیاهی (درصد ماده خشک) در گونه‌های گیاهی مورد مطالعه

Table 1- Chemical composition and secondary metabolites (DM%) in evaluated plant species

	سلمکی ساقه سفید <i>Atriplex leucoclada</i>	اشنان <i>Seidlitzia rosmarinus</i>	سیاه‌شور <i>Suaeda fruticosa</i>	SEM
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	
تعداد نمونه Sample number	36	36	36	–
ماده خشک (علوفه تازه) ^۱ Dry matter (Fresh forage)	42.20	38.20	37.70	–
ماده خشک (علوفه هوا خشک شده) ^۱ Dry matter (As-fed forage)	94.64	94.23	94.33	0.219
ماده آلی Organic matter	86.00 ^a	68.8 ^b	70.3 ^b	1.85
پروتئین خام Crude Protein	5.79 ^b	11.72 ^a	12.00 ^a	0.529
عصاره اتری Ether extract	1.20 ^b	1.52 ^{ab}	1.78 ^a	0.15
خاکستر Ash	13.96 ^b	31.14 ^a	29.66 ^a	1.78
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	67.62 ^a	38.02 ^b	43.84 ^b	2.23
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF	42.69 ^a	20.24 ^b	25.6 ^b	1.99
لیگنین Lignin	8.55 ^a	5.22 ^b	7.2 ^a	0.51
همی سلولز Hemicellulose	25.53 ^a	15.98 ^c	18.62 ^b	0.605
سلولز Cellulose	31.96 ^a	13.97 ^b	15.07 ^b	1.46
کربوهیدرات‌های غیر فیبری NDSF	11.43 ^b	17.61 ^a	12.72 ^b	1.10
الیاف محلول در شوینده خنثی TESC	5.34 ^b	11.10 ^a	6.00 ^b	1.08
کربوهیدرات‌های محلول در اتانول ۸۰ درصد	0.287 ^c	0.302 ^b	0.398 ^a	0.04
نشاسته Starch	0.45 ^b	0.42 ^b	0.69 ^a	0.085
اسیدهای آلی Organic acids	0.007	0.018	0.012	0.0038
ترکیبات ثانویه گیاهی				
Plant secondary metabolites				
تعداد نمونه Sample number	9	9	9	–
کل ترکیبات فنلی Total phenolic compounds	1.137 ^c	1.319 ^b	2.308 ^a	0.20
کل تانن Total Tannin	0.348 ^a	0.48 ^a	0.331 ^b	0.113
کل اکزالات Total Oxalate	2.6 ^c	3.8 ^a	3.2 ^b	0.16

^۱ماده خشک علوفه تازه: نمونه‌ها بلافاصله بعد از برداشت در آون خشک شدند، ماده خشک علوفه هوا خشک: نمونه‌ها در سایه خشک شدند بعد با آون ماده خشک آنها سنجش شد. SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها. میانگین‌ها داخل هر ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.05$).

NFC: Non-fibrous carbohydrates

NDSF: Neutral detergent soluble fiber

TESC: Total 80% Ethanol-Soluble Carbohydrate

^۱Dry matter of fresh forage: Samples were dried immediately after harvesting; Dry matter (As-fed forage): Samples were oven dried, after air-drying.

SEM: Standard error of means

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

تجزیه‌پذیری ماده خشک در تیمار حاوی ۱۰۰ درصد اشنان (تیمار ۵) با تیمار حاوی ۶۶/۵ درصد اشنان + ۳۳/۵ درصد سیاه‌شور (تیمار ۷) مشابه بود، اما تجزیه‌پذیری ماده خشک هر دو نسبت به تیمار حاوی ۱۰۰ درصد سیاه‌شور (تیمار ۹) به‌طور معنی‌داری بیشتر بودند، تفاوت مذکور احتمالاً ناشی از تاثیرگذاری مقدار اندک خاکستر موجود در سیاه‌شور (۲۹/۷ درصد) نسبت به اشنان (۳۱ درصد) و مقدار بالای ترکیبات فنلی در سیاه‌شور (۲/۳ درصد) نسبت به اشنان (۱/۳۲ درصد) باشد (جدول ۱)، این احتمال نیز وجود دارد که اثر ترکیبات فنلی روی کاهش میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک در سیاه‌شور بالاتر از اثر اگزالات بالا در اشنان (۳/۸ درصد) نسبت به سیاه‌شور (۳/۲ درصد) بوده است. ترکیبات فنلی روی میکروارگانیزم‌های شکمبه تاثیر منفی گذاشته و از طریق مهار آنزیم‌های مترشحه از آنها هضم میکروبی را دچار اختلال می‌نماید (۲۷)، ولی اگزالات از طریق ایجاد کمپلکس معدنی موجب اختلال در هضم خاکستر و کاهش تجزیه‌پذیری ماده خشک می‌گردد (۱۰ و ۲۷).

ترتیب تجزیه‌پذیری موثر تیمارهای آزمایشی مشابه با مقادیر و پتانسیل تجزیه‌پذیری ماده خشک بود (جدول ۲)، یعنی سلمکی ساقه‌سفید پایین‌ترین و اشنان بالاترین مقدار تجزیه‌پذیری موثر ماده خشک را داشتند. تیمارهای حاوی سلمکی ساقه‌سفید نسبت به تیمارهای دارای سیاه‌شور و اشنان از تجزیه‌پذیری موثر ماده خشک پایین‌تری برخوردار بودند.

نرخ تجزیه‌پذیری ماده خشک در گیاه اشنان به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود و با جایگزینی ۳۳/۵ درصد سلمکی ساقه‌سفید به جای اشنان تغییر معنی‌داری در نرخ تجزیه ماده خشک به‌وجود آمد (تیمار ۱ در مقابل تیمار ۵). سرعت تجزیه‌پذیری ماده خشک در سیاه‌شور و تیمار یک مشابه بود، اما تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها (به استثنای تیمار ۷) داشتند ($P < 0.05$). سرعت تجزیه‌پذیری بیشتر اشنان نسبت به سایر تیمارها ممکن است ناشی از پایین بودن مقدار NDF و بالا بودن مقدار کربوهیدرات‌های غیر فیبری در آن باشد، با این وجود محتمل است که شسته شدن نمک بالای آن در شکمبه در بالا بردن سرعت تجزیه ماده خشک تاثیر گذاشته باشد. الیاف طبیعی موجود در گیاه معمولاً به صورت مخلوطی از همی‌سلولز، سلولز و لیگنین است و این ترکیبات با سرعت‌های متفاوتی هضم می‌شوند. مقدار سلولز در سلمکی ساقه‌سفید بالاتر از اشنان و سیاه‌شور بود (جدول ۱) و این احتمال وجود دارد که این امر موجب کاهش معنی‌دار سرعت تجزیه‌پذیری ماده خشک در سلمکی ساقه‌سفید نسبت به اشنان و سیاه‌شور شده است.

تجزیه‌پذیری ماده خشک: داده‌های مربوط به درصد و روند

تجزیه‌پذیری ماده خشک و همچنین روند تجزیه ماده خشک تیمارهای آزمایشی در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که گیاه اشنان بالاترین و سلمکی ساقه‌سفید پایین‌ترین درصد تجزیه پذیری و نیز پتانسیل تجزیه ماده خشک را در بین تیمارهای آزمایشی داشتند، با این وجود بین گیاه اشنان و مخلوط اشنان و سیاه‌شور (تیمار ۷ و ۸) از نظر تجزیه‌پذیری ماده خشک تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P < 0.05$). بین سیاه‌شور (تیمار ۹) و تیمار دارای ۶۶/۵ درصد سیاه‌شور + ۳۳/۵ درصد اشنان (تیمار ۸) نیز تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما تیمار دارای ۶۶/۵ درصد اشنان + ۳۳/۵ درصد سیاه‌شور (تیمار ۷) نسبت به سیاه‌شور به‌طور معنی‌داری دارای قابلیت هضم ماده خشک بالاتری است، این امر نشان‌دهنده آن است که جایگزینی درصد بالای اشنان به جای سیاه‌شور به‌طور موثرتری تجزیه‌پذیری ماده خشک را در مقایسه با درصد پایین آن بالا می‌برد.

با توجه به نتایج جدول ۲، همه تیمارهای حاوی سلمکی ساقه‌سفید نسبت به تیمارهای حاوی اشنان و سیاه‌شور خالص دارای تجزیه‌پذیری ماده خشک پایین‌تری بودند با این تفاوت که تیمارهای با درصد پایین سلمکی ساقه‌سفید تفاوت معنی‌داری با سیاه‌شور نداشتند. تیمارهای دارای ۶۶/۵ درصد سلمکی ساقه‌سفید به‌طور معنی‌داری دارای تجزیه‌پذیری ماده خشک پایین‌تری نسبت به تیمارهای حاوی ۳۳/۵ درصد سلمکی ساقه‌سفید بودند، به عبارت دیگر با افزایش جایگزینی سلمکی ساقه‌سفید میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک کاهش یافته است. گیاه سلمکی ساقه‌سفید در مقایسه با دو گیاه اشنان و سیاه‌شور در دوره چرای پاییزه و زمستانه در مرحله رسیدن دانه و مرحله خواب بود (۸ و ۱۱) و این بلوغ به احتمال زیاد روی مقدار الیاف و دیواره لیگنینی شده تاثیر گذاشته و از آنجا که گیاه سلمکی ساقه‌سفید حاوی NDF، ADF و لیگنین بالاتری (جدول ۱) نسبت به اشنان و سیاه‌شور بود، احتمالاً این مورد موجب کاهش تجزیه ماده خشک در گیاه سلمکی ساقه‌سفید نسبت به سایر تیمارها و یا تیمارهای حاوی درصد بالای سلمکی ساقه‌سفید نسبت به تیمارهای با درصد پایین سلمکی ساقه‌سفید و همچنین تیمارهای صرفاً حاوی اشنان و سیاه‌شور شده است، زیرا گزارش شده که بین قابلیت هضم ماده خشک و میزان لیگنین همبستگی منفی وجود دارد (۱۴ و ۲۲). نمونه‌های اشنان و سیاه‌شور به‌کاربرده شده در این آزمایش حاوی بلورهای بسیار ریز نمک بودند (خاکستر بالا در جدول ۱) و لذا این احتمال وجود دارد که درصدی از قابلیت هضم بالای ماده خشک تیمارهای حاوی سیاه‌شور و یا اشنان نسبت به سلمکی ساقه‌سفید ناشی از شسته شدن نمک گیاهان مذکور در کیسه‌های نایلونی شناور در مایع حجیم شکمبه باشد.

جدول ۲- فراسجدها و روند تجزیه پذیری ماده خشک تیمارهای آزمایشی
Table 2- Degradation Parameters and kinetics of treatments dry matter

تیمارها	ساعت انکوباسیون										فراسنجدهای تجزیه پذیری					
	Incubation time										Degradation parameters					
Treatments	0	2	4	6	8	10	12	24	48	72	96	a	b	P	c	ED
1	22.0±0.9	28.1±0.7	30.0±0.5	37.3±1.3	44.7±1.3	46.2±2.5	49.6±2.1	55.4±0.5	60.4±0.9	61.2±0.6	61.6±0.7 ^{ab}	20.8±1.1	40.2±1.2	61.1±1.1	0.095±0.006	54.5
2	8.4±0.5	15.4±0.4	15.5±0.7	21.0±0.11	22.5±1.5	27.1±1.6	29.0±1.2	32.0±0.8	38.0±0.4	38.7±0.5	40.3±0.4 ^f	9.3±0.8	29.7±0.9	39.0±0.8	0.080±0.006	30.8
3	22.7±0.8	24.4±0.6	25.4±0.6	29.2±0.6	32.6±1.2	37.8±1.5	40.1±5.8	42.7±1.1	45.7±1.0	46.5±0.5	54.1±5.2 ^e	21.2±1.9	28.2±2.3	49.4±2.1	0.070±0.01	40.8
4	14.0±1.5	26.0±0.4	28.0±2.4	28.9±1.8	37.4±0.8	37.9±1.6	39.6±1.2	45.1±1.5	51.1±1.1	54.2±0.9	54.5±0.7 ^e	17.0±1.2	36.0±1.4	53.0±1.2	0.080±0.008	43.5
5	22.4±1.2	37.2±0.5	39.5±0.8	47.7±3.2	53.9±1.6	59.6±2.2	60.1±0.9	61.5±4.7	70.4±0.4	72.5±1.2	75.3±0.2 ^a	24.1±1.9	47.2±2.1	71.3±2.1	0.120±0.01	61.7
6	29.7±0.6	31.0±0.2	31.3±0.8	38.8±1.3	42.9±1.6	44.0±1.5	45.5±1.0	51.0±0.5	54.1±1.3	57.3±0.7	59.7±2 ^{de}	28.2±1	29.4±1.2	57.6±1.1	0.070±0.007	48.7
7	34.9±0.5	38.4±0.4	38.7±0.8	44.5±2.7	51.4±1.2	52.8±3.0	57.3±2.2	58.6±9.2	63.8±1.4	73.3±0.7	74.0±0.6 ^a	34.8±2.3	36.7±2.8	71.5±2.6	0.090±0.01	58.9
8	35.6±0.7	38.4±0.5	38.8±0.3	46.5±1.5	52.9±3.7	54.8±0.9	60.0±1.8	61.0±1.4	65.7±1.0	67.9±1.8	71.2±1.6 ^{ab}	33.4±1.5	34.9±1.7	68.3±1.6	0.080±0.01	59.4
9	26.4±0.4	39.5±0.3	40.1±0.25	42.4±1.4	48.7±1	49.4±1.1	56.1±0.6	60.8±2.9	61.9±0.9	64.6±0.6	66.3±0.8 ^{bc}	28.6±1.1	35.7±1.3	64.3±1.1	0.100±0.008	56.2
درصد سلولی (تیمار ۱، ۳، ۴، ۶، ۷، ۸، ۹) درصدهای ساقه‌سبز و (تیمار ۲، ۳، ۴، ۶، ۷، ۸، ۹) درصدهای ساقه‌سبز + (تیمار ۱، ۲، ۳، ۴، ۶، ۷، ۸، ۹) درصدهای ساقه‌سبز + (تیمار																

۳۳/۵ درصد سلولزی ۳۳/۵ درصد نشانه (تیمار ۴)، ۱۰۰ درصد نشانه (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

۳۳/۵ درصد سلولزی سیاهشور (تیمار ۱)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۲)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۳)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۴)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۶)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۷)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۸)، ۳۳/۵ درصد سیاهشور (تیمار ۹).

33.5% AL+ 66.5% SR (Treatment 1), 100% AL (Treatment 2), 66.5% AL+ 33.5% SF (Treatment 3), 66.5% AL+ 33.5% SR (Treatment 4), 100% SR (Treatment 5), 33.5% AL+ 66.5% SF (Treatment 6), 66.5% SR+ 33.5% SF (Treatment 7), 66.5% SF+ 33.5% SR (Treatment 8), 100% SF (Treatment 9).

AL: *Atriplex leucoclada*, SR: *Seidlitzia rosmarinus*, SF: *Suaeda fruticosa*.

a: Fast degradable fraction, b: Slowly degradable fraction, c: Degradation rate, ED: Effective degradability

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

جدول ۳- فراسنجها و روند تجزیه پذیری ماده آلی تیمارهای آزمایشی
Table 3- Degradation Parameters and kinetics of treatments organic matter

تیمارها	ساعت انکوباسیون											فراسنجهای تجزیه پذیری				
	Incubation time											Degradation parameters				
	0	2	4	6	8	10	12	24	48	72	96	a	b	P	c	ED
1	1.7±3.0	0.9±9.1	1.0±11.0	2.4±23.1	1.2±28.1	4.9±29.2	1.2±42.2	0.7±48.5	2.8±48.6	2.7±50.3	1.7 ^b ±51.3	0.36±0.56	1.5±51.1	6.3±51.2	0.010±0.10	39.3
2	0.5±2.4	1.2±7.6	0.07±8.5	2.5±14.7	2.8±17.5	1.4±24.4	0.9±24.9	2.4±30.5	0.1±30.8	0.7±32.5	0.7 ^b ±33.8	1.3±1.1	1.5±31.7	1.4±32.8	0.010±0.10	25.6
3	0.7±7.0	1.5±11.5	0.8±13.6	1.6±15.3	0.2±15.6	1.1±20.6	0.9±28.7	0.6±34.3	1.5±34.9	2±38.3	2.1 ^b ±47.3	1.5±7.0	1.9±35.1	1.7±42.1	0.080±0.08	29.6
4	1.3±4.5	2.6±13.3	0.3±14.4	1±16.1	3.4±25.5	1.2±29.7	2.1±33.8	1.2±40.5	3.5±42.0	1.0±44.4	2.8 ^b ±46.6	1.9±4.1	2.2±40.8	2.1±44.9	0.010±0.09	34.6
5	1.9±6.8	1.8±22.4	1.3±28.8	3±30.1	2.0±40.8	0.25±50.7	1.7±56.9	0.3±61.4	0.8±63.0	2.2±66.2	0.8 ^b ±68.7	2±7.0	2.3±59.2	2.2±66.3	0.009±0.10	54.1
6	0.6±11.7	0.3±14.2	1.3±15.8	0.9±21.1	3.0±28.2	1.9±30.3	0.4±36.8	1.3±41.1	1.1±42.9	0.8±45.1	3.5 ^b ±48.2	1.6±9.0	1.8±37.1	1.6±46.1	0.010±0.08	36.3
7	1.1±13.5	0.3±20.3	0.3±20.6	0.6±21.6	0.6±38.9	4.6±41.3	2.4±52.7	1.5±56.2	0.9±56.8	0.8±63.5	1.2 ^b ±66.9	2.6±10.3	3±53.2	2.7±63.5	0.010±0.08	49.5
8	0.7±15.0	0.6±17.4	1.1±19.0	2.5±29.0	3.4±30.1	2.8±41.4	3.2±45.6	1.7±51.9	2.0±57.5	1.0±58.3	4.7 ^b ±62.8	2.2±11.4	2.5±48.9	2.6±60.3	0.009±0.07	46.6
9	0.3±7.0	0.7±16.8	0.5±19.7	2.0±21.6	2.8±29.7	1.3±30.1	1.2±39.5	1.8±48.9	0.6±52.8	3.0±56.7	4.7 ^b ±60.5	1.7±7.9	2±49.9	1.6±57.8	0.007±0.07	42.6
درصد ششپاره (تیمار ۱، ۴، ۱۰۰ درصد ششپاره) در ۳۳/۵ ساعت انکوباسیون + ۳۳/																

درصد اشنان (تیمار ۱)، درصد سلمکی (تیمار ۲)، درصد سیاه شور (تیمار ۳)، درصد سفید (تیمار ۴)، درصد اشنان (تیمار ۵)، درصد سلمکی (تیمار ۶)، درصد سیاه شور (تیمار ۷)، درصد سفید (تیمار ۸)، درصد اشنان (تیمار ۹).

a: بخش سریع التجزیه، b: بخش کند تجزیه، P: پتانسیل تجزیه پذیری، c: ثابت نرخ تجزیه، ED: تجزیه پذیری موثر

میانگین ها در داخل یک ستون با حروف مختلف اختلاف معنی دار دارند ($P<0.05$)

33.5% AL+ 66.5% SR (Treatment 1), 100% AL (Treatment 2), 66.5% AL+ 33.5% SF (Treatment 3), 66.5% AL+ 33.5% SR (Treatment 4), 100% SR (Treatment 5), 33.5% AL+ 66.5% SF (Treatment 6), 66.5% SR+ 33.5% SF (Treatment 7), 66.5% SF+ 33.5% SR (Treatment 8), 100% SF (Treatment 9).

AL: *Atriplex leucocladia*, SR: *Seidlitzia rosmarinus*, SF: *Suaeda fruticosa*.

a: Fast degradable fraction, b: Slowly degradable fraction, c: Degradation rate, ED: Effective degradability

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

می‌گردد (۲۷).

دلیل اینکه تیمارهای صرفاً حاوی اشنان و سیاه‌شور نسبت به تیمارهای ترکیبی حاصل از این دو گیاه با سلمکی ساقه‌سفید دارای تجزیه‌پذیری NDF مشابهی بودند، احتمالاً مربوط به اثرات تجمعی عوامل مختلف باشد. اولاً، از آنجا که با افزودن اشنان و یا سیاه‌شور به سلمکی ساقه‌سفید سهم بخش محتویات سلولی در تیمارهای ترکیبی بیشتر شده است (جدول ۱)، لذا شرایط تخمیر بهبود یافته و به تبع آن هضم NDF نیز بالا رفته است، ثانیاً، سلمکی ساقه‌سفید باعث رقیق شدن اثرات ضدتغذیه‌ای ترکیبات ثانویه گیاهی و خاکستر در تیمارهای ترکیبی شده و احتمالاً از این طریق شرایط تخمیر بهبود یافته است. طبق جدول ۱ مقدار کل ترکیبات فنلی و اگزالات در سلمکی ساقه‌سفید کم‌تر از اشنان و سیاه‌شور می‌باشد. ثالثاً طبق جدول ۱ ساختار الیاف (همی‌سلولز، سلولز و لیگنین) در سلمکی ساقه‌سفید به گونه‌ای است که علاوه بر بالا بودن میزان همی‌سلولز در آن حاوی نسبت لیگنین به NDF پایینی (۰/۱۳) در مقابل ۰/۱۶ و ۰/۱۴ برای سیاه‌شور و اشنان) نیز می‌باشد و لذا این احتمال وجود دارد که این ساختار مناسب‌تر دیواره سلولی در سلمکی ساقه‌سفید توانسته است تا حدودی بر تاثیر منفی NDF بالای این گیاه در تجزیه‌پذیری تیمارهای مخلوط فائق آمده و به همراه بخش بالاتر محتویات سلولی سهل‌الهضم در سیاه‌شور و اشنان شرایط تخمیر NDF را بهبود بخشیده است. تجزیه‌پذیری دیواره کمتر لیگنینی شده و همچنین هضم همی‌سلولز نسبت به سلولز در شکمبه بالاتر می‌باشد و اتصال کمتر همی‌سلولز به حلقه‌های فنلی مانند لیگنین موجب بالاتر رفتن هضم دیواره سلولی توسط باکتری‌های سلولتیک و همی‌سلولتیک در شکمبه می‌گردد (۲۷). نتایج دیگران نیز نشان داد که NDF گیاه سلمکی ساقه‌سفید از قابلیت هضم بالایی نسبت به تیمارهای دیگر برخوردار است (۱).

روند تجزیه‌پذیری ماده خشک: روند تجزیه‌پذیری ماده خشک نشان داد که بین ۷۹ تا ۹۲ درصد ماده خشک قابل تجزیه تیمارهای آزمایشی در ۲۴ ساعت اول بعد از انکوباسیون تجزیه شد و حداکثر تجزیه‌پذیری تیمارها در ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون اتفاق افتاد (جدول ۲).

روند تجزیه‌پذیری ماده آلی: نشان داد که بین ۷۲ تا ۹۵ درصد ماده آلی قابل تجزیه تیمارهای آزمایشی در ۲۴ ساعت اول بعد از انکوباسیون تجزیه می‌شود و حداکثر تجزیه‌پذیری ماده آلی تیمارها در ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون می‌باشد (جدول ۳). تیمار سلمکی ساقه‌سفید آهسته‌ترین و اشنان سریع‌ترین روند تجزیه ماده آلی را همانند روند تجزیه ماده خشک نشان داد.

با نگاهی به روند تجزیه‌پذیری NDF تیمارهای آزمایشی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تجزیه NDF با گذشت زمان انکوباسیون، دارای

نتایج جدول ۳ نشان داد که گیاه اشنان (تیمار ۵) بالاترین و سلمکی ساقه‌سفید (تیمار ۵) پایین‌ترین درصد تجزیه‌پذیری و نیز پتانسیل تجزیه ماده آلی را در بین تیمارهای آزمایشی داشتند. با این وجود بین گیاه اشنان، سیاه‌شور و تیمارهای ترکیبی حاصل از اشنان و سیاه‌شور (تیمار ۷ و ۸) از نظر تجزیه‌پذیری ماده آلی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). ترتیب درصد تجزیه‌پذیری ماده آلی در تیمارهای آزمایشی مشابه با تجزیه‌پذیری ماده خشک آنها بود. نتیجه دیگر آن بود که بین همه تیمارهای حاوی سلمکی ساقه‌سفید به استثنای تیمار ۲ (۱۰۰ درصد سلمکی ساقه‌سفید) نیز تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، با این وجود، کلیه تیمارهای حاوی اشنان و سیاه‌شور به طور معنی‌داری از مقدار تجزیه‌پذیری ماده آلی بالاتری نسبت به کلیه تیمارهای حاوی سلمکی ساقه‌سفید برخوردار بودند ($P < 0.05$).

گیاه اشنان، سلمکی ساقه‌سفید و تیمار یک نرخ تجزیه ماده آلی بالاتری را نسبت به سایر تیمارها داشتند. در کل، تیمارهای حاوی مخلوط گیاه اشنان-سلمکی ساقه‌سفید نرخ تجزیه ماده آلی بالاتری از سیاه‌شور داشت (جدول ۳).

نتایج جدول ۴ نشان داد که تیمار ۷ بالاترین و سلمکی ساقه‌سفید پایین‌ترین درصد تجزیه‌پذیری NDF را داشتند. تیمار ۷ فقط با سلمکی ساقه‌سفید (تیمار ۲)، تیمار ۱ و ۴ تفاوت معنی‌دار داشت ($P < 0.05$), یعنی با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت. لذا به‌طور کلی در مورد تجزیه‌پذیری ماده آلی و NDF می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که سلمکی ساقه‌سفید (تیمار ۲) نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری تجزیه‌پذیری پایین‌تری داشت که احتمالاً ناشی از مقدار بالای NDF در این گیاه نسبت به سایر تیمارها می‌باشد (جدول ۱). با این وجود تاثیر منفی پروتئین پایین این گیاه بر کاهش تجزیه‌پذیری ماده خشک و یا ماده آلی (جدول ۱) نیز مهم است؛ زیرا نفوذ میکروارگانیزم‌ها به ذرات غذایی در شکمبه، به‌طور قابل توجهی به‌ویژه در علوفه دارای مقدار کم نیتروژن، ممکن است تحت تاثیر مقدار و سرعت تجزیه‌پذیری نیتروژن قرار گیرد (۵ و ۲۸).

تیمارهای صرفاً دارای اشنان و سیاه‌شور نسبت به مخلوط‌های حاصل از این دو گیاه با سلمکی ساقه‌سفید، به‌طور معنی‌داری از تجزیه‌پذیری ماده آلی بالاتر ولی دارای تجزیه‌پذیری NDF مشابهی بودند. این امر احتمالاً نشان‌دهنده آن است که این تفاوت در تجزیه‌پذیری ماده آلی ناشی از تفاوت در هضم NDF آنها نبوده و شاید مربوط به تفاوت در مقدار تجزیه‌پذیری بخش محتویات سلولی و فیبر محلول در آنها و در نتیجه اثر مثبت بر هضم میکروبی ماده آلی باشد. گیاهان سیاه‌شور، اشنان و سلمکی ساقه‌سفید به‌ترتیب دارای ۷/۱، ۱۱/۸۳ و ۶/۰۷ درصد کربوهیدرات غیر فیبری بودند (جدول ۱). بالا بودن بخش محتویات سلولی موجب بالا رفتن میزان مواد سهل‌الهضم و رشد میکروارگانیزم‌ها و در نهایت بهبود شرایط تخمیر ماده خوراکی

یک روند افزایشی بود ولی بین فواصل زمانی ۴ تا ۸ ساعت انکوباسیون تندتر شده، سپس کاهش پیدا کرده و دوباره در فواصل زمانی ۱۲ تا ۴۸ ساعت تجزیه افزایش می یابد و سپس تا پایان زمان انکوباسیون روند ملایم تری پیدا می کند (جدول ۴).

جدول ۴- درصد و روند تجزیه پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) تیمارهای آزمایشی در زمان های انکوباسیون

Table 4- Degradation kinetics of treatments NDF at incubation times

تیمارها Treatments	ساعت انکوباسیون Incubation time									
	2	4	6	8	10	12	24	48	72	96
1	3.7±1.8	8.9±0.9	11.7±3.0	20.1±1.7	25.6±1.9	31.4±4.8	34.4±1.8	36.3±1.3	38.9±3.7	48.3±3.2 ^{bc}
2	4.2±0.4	7.6±2.2	13.2±2.7	16.1±3.7	18.5±0.8	19.5±6.2	23±4.8	27.4±3.9	30.1±2.1	34.3±3.0 ^c
3	2.5±0.26	4.2±1.9	11.2±2.1	18.7±2.6	21.6±2.7	24.3±1.8	24.8±3.5	25.5±4.2	31.1±1.9	50.7±6.6 ^{ab}
4	3.4±0.7	5.2±0.5	14.2±1.4	21.2±2.3	21.5±6.3	23.2±1.4	26.1±2.0	41.6±3.2	41.6±5.1	44.9±2.3 ^{bc}
5	4.7±0.4	7.3±0.5	27.1±3.8	35.0±1.5	45.6±1.5	46±1.6	47.8±1.1	51.6±3.6	52.7±4.1	60.4±4.6 ^a
6	2.2±1.0	4.2±1.3	10.7±3.2	15.0±3.1	17.6±3.1	23.4±0.6	29.9±1.0	34.1±3.3	38.3±1.4	50.1±3.5 ^{ab}
7	4.2±1.4	4.9±1.5	22.4±4.3	24.6±5.1	26.8±7.1	33.3±5.8	35.6±3.6	47.0±1.5	57.9±0.8	62.4±1.0 ^a
8	1.3±0.6	4.7±1.2	14.5±2.9	29.0±1.7	32.0±3.7	32.7±7.8	33.3±2.4	44.1±5.8	49.9±1.7	53.0±1.7 ^{ab}
9	4.3±1.5	5.7±0.7	8.4±0.9	18.1±0.3	22.1±1	24.7±2.0	37.4±3.1	45.3±2.4	52.8±0.7	54.0±1.0 ^{ab}

۳۳/۵ درصد سلمکی ساقه سفید + ۶۶/۵ درصد اشنان (تیمار ۱)، ۱۰۰ درصد سلمکی ساقه سفید (تیمار ۲)، ۶۶/۵ درصد سلمکی ساقه سفید + ۳۳/۵ درصد سیاه شور (تیمار ۳)، ۶۶/۵ درصد سلمکی ساقه سفید + ۳۳/۵ درصد اشنان (تیمار ۴)، ۱۰۰ درصد اشنان (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سلمکی ساقه سفید + ۶۶/۵ درصد سیاه شور (تیمار ۶)، ۶۶/۵ درصد اشنان + ۳۳/۵ درصد سیاه شور (تیمار ۷)، ۶۶/۵ درصد سیاه شور + ۳۳/۵ درصد اشنان (تیمار ۸)، ۱۰۰ درصد سیاه شور (تیمار ۹).

میانگین ها در داخل یک ستون با حروف مختلف اختلاف معنی دار دارند ($P < 0.05$)

33.5% AL+ 66.5% SR (Treatment 1), 100% AL (Treatment 2), 66.5% AL+ 33.5% SF (Treatment 3), 66.5% AL+ 33.5% SR (Treatment 4), 100% SR (Treatment 5), 33.5% AL+ 66.5% SF (Treatment 6), 66.5% SR+ 33.5% SF (Treatment 7), 66.5% SF+ 33.5% SR (Treatment 8), 100% SF (Treatment 9).

AL: *Atriplex leucoclada*, SR: *Seidlitzia rosmarinus*, SF: *Suaeda fruticosa*.

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

پروتئین خام در آتریپلکس را ۵۰۰ گرم بر کیلوگرم گزارش کرده اند (۱۶). پژوهشگران دیگر (۶) حتی مقادیر بالاتری را برای تجزیه پذیری بخش سریع الهضم پروتئین خام در گونه ای از آتریپلکس گزارش کردند (۷۰۰ گرم بر کیلوگرم). تفاوت در مطالعات ممکن است مربوط به گونه گیاهی، مرحله رشد و سن گیاه در هنگام برداشت و تفاوت های فیزیولوژیکی و میکروبی محیط شکمبه ای گونه دامی باشد (۹) و (۲۷).

در کل، اشنان نسبت به سیاه شور به طور موثر و معنی داری تجزیه پروتئین خام را در تیمارها بالا برد. در این باره اگر به مقدار تجزیه پذیری پروتئین خام تیمارهای ۷ و ۸ توجه شود، تیمار ۷ به طور معنی داری از مقدار تجزیه پذیری پروتئین بالاتری برخوردار است که این تجزیه بالاتر اشنان نسبت به سیاه شور را تأیید می کند. به علاوه، مقدار تجزیه پذیری پروتئین خام در هر دو گیاه اشنان و سیاه شور نسبت به تیمارهای ترکیبی آنها با سلمکی ساقه سفید پایین تر می باشد، شاید این موضوع نشان دهنده آن باشد که جایگزینی سلمکی ساقه سفید به جای گیاهان مذکور شرایط هضم پروتئین خام را بهبود می بخشد. تفاوت در ناپدید شدن ماده خشک و پروتئین خام در شکمبه می تواند ناشی از تفاوت ها در مقادیر NDF، ADF و لیگنین (۲۷ و ۲۹) و خاکستر (۸) باشد.

تجزیه پذیری پروتئین خام: طبق نتایج جدول ۵، درصد

تجزیه پذیری و نیز پتانسیل تجزیه پروتئین خام در تیمارهای آزمایشی متفاوت از تجزیه ماده خشک، ماده آلی و الیاف بود، به طوری که تیمار ۳ یعنی تیماری که در آن ۳۳/۵ درصد گیاه سیاه شور جایگزین سلمکی ساقه سفید شده بود، بالاترین مقدار تجزیه پذیری را نسبت به دیگر تیمارها (به جز تیمار یک) داشت ($P < 0.05$)، تیمار حاوی سلمکی ساقه سفید (تیمار ۲) پایین ترین مقدار را داشت که این تفاوت احتمالاً مرتبط با تراکم NDF و ADF تیمارهای مذکور می باشد. پژوهشگران (۲۹) نشان دادند که بین تجزیه پذیری پروتئین خام و تراکم NDF و ADF عاری از خاکستر ارتباط منفی وجود دارد. تجزیه پذیری پروتئین خام چند گونه گیاه شورزی و از جمله آتریپلکس دایمورفوستجیا و سویدا/آرکوتا با استفاده از کیسه های نایلونی مطالعه شد (۲۱)، نتایج نشان داد که آتریپلکس و سویدا به ترتیب از ۷۳ و ۷۲ درصد پتانسیل تجزیه پذیری پروتئین خام برخوردار بوده و دارای بخش سریع تجزیه بالایی می باشند (۵۰ و ۵۵ درصد به ترتیب برای آتریپلکس و سویدا). پتانسیل تجزیه پذیری پروتئین خام سلمکی ساقه سفید و سیاه شور در مطالعه حاضر به ترتیب برابر ۳۸/۹ و ۴۹/۷ درصد و بخش سریع تجزیه آنها به ترتیب ۶/۲ و ۱/۶ درصد بود که این یافته ها با مقادیر گزارش شده دیگران (۱۶ و ۲۱) منطبق نبود. بخش سریع تجزیه

جدول ۵- فراسنجه‌ها و روند تجزیه‌پذیری پروتئین خام تیمارهای آزمایشی در زمان‌های انکوباسیون

Table 5- Degradation parameters and kinetics of treatments crude protein at incubation times

Table 2. Degradation parameters and index of treatment trials present at incubation times												
تیمارها Treatments	ساعت انکوباسیون Incubation time							فراسنجه‌های تجزیه پذیری Degradation parameters				
	0	4	6	12	24	48	96	a	B	a+b	c	ED
1	0.5±5.7	1.9±23.1	3.2±26.3	3.7±29.2	1.2±51.3	4.8±58.6	1.8 ^a ±60.7	2.7±7.8	3.4±53.4	3.1±61.2	0.010 ^{bc} ±0.06	43.5
2	0.5±5.6	3.2±12.0	2.5±14.2	1.5±14.5	0.6±30.3	2.0±31.1	1.2 ^d ±39.1	1.8±6.2	2.7±32.7	2.3±38.9	0.009 ^b ±0.04	24.7
3	0.3±9.2	1.3±36.9	1.7±41.0	0.9±42.8	1.6±54.3	0.5±61.2	1.1 ^a ±62.6	2.6±12.1	3±47.4	2.8±59.5	0.020 ^a ±0.13	50.7
4	0.5±8.2	1.1±30.4	2.0±33.5	0.8±40.1	0.6±47.7	3.3±54.5	0.7 ^b ±55.6	2±10.2	2.3±43.2	2.1±53.4	0.010 ^a ±0.12	44.7
5	0.9±5.7	1.9±11.9	2.0±15.6	1.2±28.4	0.3±40.2	0.2±49.0	1.8 ^c ±49.1	1.3±3.6	1.7±46.9	1.4±50.6	0.006 ^{bc} ±0.06	34.8
6	0.6±7.5	2.1±17.5	1.7±22.5	0.4±34.5	3.8±47.0	0.2±48.3	0.5 ^{bc} ±52	1.6±6.4	1.9±44.9	1.7±51.3	0.009 ^b ±0.08	39.1
7	0.3±6.7	0.6±16.8	0.8±25.7	0.3±35.9	1.8±41.6	0.1±47.1	0.4 ^c ±50.7	1.17±6.5	1.4±42.3	1.3±48.8	0.007 ^b ±0.09	38.1
8	1.2±7.1	3.6±16.8	0.3±20.7	1.7±24.7	7.3±38.3	1.7±39.7	1.8 ^d ±42.1	2.7±7.4	3.3±34.5	2.9±41.9	0.002 ^{bc} ±0.07	31.9
9	0.5±4.3	0.9±8.8	1.5±12.5	0.7±31.6	0.7±39.1	0.22±44.4	0.7 ^c ±50.8	1.6±7.1	2.2±48.1	1.9±49.7	0.008 ^{bc} ±0.06	33.8

۳۳/۵ درصد سلمکی ساقه‌سفید+ ۶۶/۵ درصد اشنان (تیمار ۱)، ۱۰۰ درصد سلمکی ساقه‌سفید (تیمار ۲)، ۶۶/۵ درصد سلمکی ساقه‌سفید+ ۳۳/۵ درصد سیاه‌شور (تیمار ۳)، ۶۶/۵ درصد سلمکی ساقه‌سفید+ ۳۳/۵ درصد اشنان (تیمار ۴)، ۱۰۰ درصد اشنان (تیمار ۵)، ۳۳/۵ درصد سلمکی ساقه‌سفید+ ۶۶/۵ درصد سیاه‌شور (تیمار ۶)، ۶۶/۵ درصد سلمکی ساقه‌سفید+ ۳۳/۵ درصد اشنان+ ۳۳/۵ درصد سیاه‌شور (تیمار ۷)، ۶۶/۵ درصد سیاه‌شور + ۳۳/۵ درصد اشنان (تیمار ۸)، ۱۰۰ درصد سیاه‌شور (تیمار ۹).

a: بخش سریع التجزیه، b: بخش کند تجزیه، P: پتانسیل تجزیه‌پذیری، c: ثابت نرخ تجزیه، ED: تجزیه‌پذیری موثر میانگین‌ها در داخل یک ستون با حروف مختلف اختلاف معنی‌دار دارند ($P<0.05$)

33.5% AL+ 66.5% SR (Treatment 1), 100% AL (Treatment 2), 66.5% AL+ 33.5% SF (Treatment 3), 66.5% AL+ 33.5% SR (Treatment 4), 100% SR (Treatment 5), 33.5% AL+ 66.5% SF (Treatment 6), 66.5% SR+ 33.5% SF (Treatment 7), 66.5% SF+ 33.5% SR (Treatment 8), 100% SF (Treatment 9).

AL: *Atriplex leucoclada*, SR: *Seidlitzia rosmarinus*, SF: *Suaeda fruticosa*.

a: Fast degradable fraction, b: Slowly degradable fraction, c: Degradation rate, ED: Effective degradability

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

ساقه‌سفید تجزیه موثر پروتئین را بالا می‌برد ولی جایگزینی درصد بالای آنها تاثیر اندکی داشت (تیمار ۱ و ۶). ترکیب سیاه‌شور و اشنان با یکدیگر موجب بالا رفتن تجزیه‌پذیری موثر پروتئین خام نسبت به تیمارهای خالص هر دو گیاه مذکور شد (جدول ۵).

نرخ تجزیه‌پذیری پروتئین خام در تیمارهای ترکیبی حاصل از گیاه اشنان و سیاه‌شور با سلمکی ساقه‌سفید (تیمار ۳ و ۴) به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود، سرعت تجزیه‌پذیری پروتئین خام در سیاه‌شور، اشنان، تیمار یک و ۸ مشابه بود. تیمار ۷ به‌طور غیرمعنی‌داری از سرعت تجزیه پروتئین خام بالاتری نسبت به تیمار ۸ برخوردار بود. بالاتر بودن سرعت تجزیه‌پذیری پروتئین در تیمارهای ۳ و ۴ نسبت به دیگر تیمارها ممکن است ناشی از بالاتر بودن بخش سریع‌الهضم پروتئین خام آنها باشد که به‌ترتیب ۱۲/۱ و ۱۰/۲ درصد بود (جدول ۵). تفاوت در مقدار نیتروژن غیرپروتئینی تیمارها نیز می‌تواند موجب تفاوت در سرعت تجزیه‌پذیری پروتئین خام گردد (۲۱).

تجزیه‌پذیری پروتئین خام در زمان‌های مختلف نشان می‌دهد که تجزیه پروتئین خام با گذشت زمان انکوباسیون، دارای روند افزایشی بود ولی شدت آن بین فواصل زمانی صفر تا ۴ ساعت انکوباسیون تندتر شده، سپس کاهش پیدا کرده و دوباره در فواصل زمانی ۱۲ تا ۲۴ ساعت افزایش می‌یابد و سپس تا پایان زمان انکوباسیون شیب

بهبود تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری موثر پروتئین خام در زمان ترکیب سلمکی ساقه‌سفید با گیاهان اشنان و سیاه‌شور در مقایسه با تیمارهای خالص اشنان و سیاه‌شور و یا تیمارهای ترکیبی حاصل از این دو گیاه را می‌توان با توجه به چند مسئله مورد تفسیر قرار داد، اول اینکه سلمکی ساقه‌سفید اثرات ممانعت‌کننده‌ای را که باعث کاهش تجزیه پروتئین خام می‌گردد را یا کاهش داده و یا به‌طور کلی مرتفع می‌کند، زیرا با حضور سلمکی ساقه‌سفید مقدار مواد ضدتذیه‌ای و خاکستر کمتر می‌شود (جدول ۴-۲)، دوم اینکه این احتمال وجود دارد که سلمکی ساقه‌سفید نسبت به دو گیاه دیگر از ساختار پروتئینی مناسب و محلولیت پروتئینی بالاتری برخوردار باشد (جدول ۵) و در نهایت احتمالاً مجموعه این عوامل تاثیر منفی مقدار بالای الیاف سلمکی ساقه‌سفید بر تجزیه پروتئین خام را خنثی کرده و یا به مقدار قابل توجهی کاهش می‌دهد.

با در نظر گرفتن سرعت عبور ۰/۰۲ در ساعت، مقدار تجزیه‌پذیری موثر پروتئین خام نسبت به پتانسیل تجزیه‌پذیری آن کاهش پیدا کرد و مقدار این کاهش بسته به نوع تیمار آزمایشی متفاوت بود. تیمارهای حاوی درصد بالای سلمکی ساقه‌سفید (تیمار ۳ و ۴) کمترین مقدار کاهش را داشتند، به عبارت دیگر جایگزینی درصد پایینی هرکدام از گیاهان سیاه‌شور و یا اشنان به جای سلمکی

کیسه های نایلونی مانند ابعاد و منافذ کیسه ها، طرز قرار دادن کیسه ها در شکمبه، اندازه ذرات مواد خوراکی ریخته شده در درون کیسه ها در طول مدت آزمایش ثابت بودند. لذا تنها عامل متغیر در این آزمایش نوع تیمارهای مورد مطالعه بود و به احتمال زیاد دلیل تفاوت معنی داری تجزیه پذیری پروتئین برخی از تیمارهای مورد مطالعه را بایستی در نوع تیمار انکوباسیون شده، نوع پروتئین تیمارها و اثرات متقابل مواد مغذی در تیمارها و یا تاثیر ضد تغذیه ای ترکیبات ثانویه گیاهی بر هضم پروتئین جستجو کرد که قبلاً در تفسیر علت تفاوت تجزیه پذیری پروتئین خام تیمارهای مورد مطالعه اشاره شد.

نتیجه گیری کلی

با توجه به داده های حاصل از تجزیه پذیری ماه خشک، آلی و NDF، بهترین تیمارها از نقطه نظر ارزش تغذیه ای، تیمارهایی با ترکیب ۶۶/۵ درصد اشنان + ۳۳/۵ درصد سیاه شور (تیمار ۷) و یا تیمار حاوی ۱۰۰ درصد اشنان (تیمار ۵) بود. از طرفی بر اساس داده های تجزیه پذیری پروتئین تیمار یک و سه (تیمار ۱ و ۳) بالاترین پتانسیل تجزیه پذیری را داشتند. بنابراین به نظر می رسد برای بهبود ویژگی های تغذیه ای گیاهان شورزی تیماری که مرکب از دو یا سه گونه باشد نسبت به یک گونه به تنهایی ارجحیت دارد.

ملایم تری پیدا می کند. بین ۷۷ تا ۹۱ درصد پروتئین خام تیمارهای آزمایشی قبل از زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون تجزیه شده و مقدار اندکی از پروتئین خام تیمارها (۹ تا ۲۳ درصد) بعد از زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون تجزیه شده است. این نشان دهنده آن است که سرعت تجزیه پروتئین در ساعات اولیه انکوباسیون بیشتر از سرعت تجزیه ماده خشک، ماده آلی و NDF تیمارهای آزمایشی بود. لذا این احتمال وجود دارد که آزادسازی منابع کربوهیدراتی و نیتروژنی در ساعات پایانی انکوباسیون تا حدودی هم زمان نبوده و سنتز پروتئین میکروبی و یا استفاده از منابع کربوهیدراتی دچار اختلال شود.

پژوهش ها (۴) نشان داده که عوامل بسیار مهمی روی تجزیه میکروبی پروتئین در شکمبه اثر می گذارند که شامل نوع پروتئین، اثرات متقابل با دیگر مواد مغذی (عمدتاً کربوهیدرات در داخل همان ماده غذایی و درون محتویات شکمبه ای) و جمعیت میکروبی غالب (بسته به نوع تیمار، سرعت عبور شکمبه ای و pH شکمبه) می باشند. در این مطالعه سرعت عبور شکمبه ای به لحاظ تغذیه شترها در حد نیاز نگهداری معادل ۰/۰۲ درصد در ساعت در نظر گرفته شده بود، به علاوه اینکه شترها در طول مدت انکوباسیون کیسه های نایلونی با یک تیمار ثابت تغذیه می شدند و لذا احتمال تغییر در سرعت عبور شکمبه ای، pH شکمبه، تغییرات جمعیت میکروبی شکمبه و یا تغییر نوع تیمار تغذیه شده به شترها و در نهایت تاثیر عوامل مذکور بر تجزیه پذیری پروتئین بسیار اندک است، همچنین عوامل مربوط به

منابع

1. Abarghani, A., M. Chaji, H. Mansouri, M. Mamouei, Kh. Mirzadeh, and H. Roshanfekar. 2015. Chemical composition, metabolizable energy and *in vitro* digestibility of three camel browsed halophyte species. *Animal Science*, 28 (106): 29-42. (In Persian).
2. AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
3. Agricultural and Food Research Council. 1992. Nutrient requirement of ruminant animals. Protein. Technical committee on response to nutrients. Report No.9. Nutrition Abstracts and Reviews. Series B 62: 787-835.
4. Bach, A., S. Calsamiglia, and M. D. Stern. 2005. Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 88 (E. Suppl.): E9-E21.
5. Beckers, Y., A. Thewis, B. Maudoux, and E. Francois. 1995. Studies on the *in situ* nitrogen degradability corrected for bacterial contamination of concentrate feeds in steers. *Journal of Animal Science*, 73: 220-227.
6. Ben Salem, H., H. C. Norman, A. Nefzaoui, D. E. Mayberry, K. L. Pearce, and D. K. Revell. 2010. Potential use of oldman saltbush (*Atriplex nummularia* Lind L.) in sheep and goat feeding. A review. *Small Ruminant Research*, 91: 13-28.
7. Ben Salem, H., H. P. S. Makkar, A. Nefzaoui, H. Hassayoun, and S. Abidi. 2005. Benefit from association of small amounts of tannin-rich shrub foliage (*Acacia cyanophylla* Lind L.) with soya bean meal given as supplements to Barbarine sheep fed on oaten hay. *Animal Feed Science and Technology*, 122: 173-186.
8. Benjamin, R. W., Y. Lavie, M. Forti, D. Barkai, R. Yonatan, and Y. Hefetz. 1995. Annual regrowth and edible biomass of two species of *Atriplex* and *Cassia sturtii* after browsing. *Journal of Arid Environments*, 29: 63-84.
9. Danesh Mesgaran, M., and M. D. Stern. 2005. Ruminal and post-ruminal protein disappearance of various feeds originating from Iranian plants varieties determined by the *in situ* mobile bag technique and alternative methods. *Animal Feed Science and Technology*, 118: 31-46.
10. El Shaer, H. M. 2010. Halophytes and salt-tolerant plants as potential forage for ruminants in the Near East region. A Review. *Small Ruminant Research*, 91: 3-12.
11. El Shatnawi, M. K. J., and A. Y. Abdullah. 2003. Composition changes of *Atriplex nummularia* L. under Mediterranean arid environment. *African Journal of Range and Forage Science*, 20: 253-257.

12. Georing, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis: apparatus, reagents, procedures, and some applications. Agriculture Handbook No. 379, USDA.
13. Gihad, E. A., and H. M. El Shaer. 1992. Pages 77-96 in Proc. Halophytes as a source of livestock and for rehabilitation of degraded lands, Utilization of halophytes by livestock on rangelands. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
14. Haddi, M. L., S. Filacorda, K. Meniai, F. Rollin, and P. Susmel, 2003. *In vitro* fermentation kinetics of some halophyte shrubs sampled at three stages of maturity. Animal Feed Science and Technology, 104: 215-225.
15. Hall, M. B. 2000. Neutral detergent soluble carbohydrates. Nutritional relevance and analysis, A Laboratory Manual. University of Florida. Bulletin. 339.
16. Kaitho, R. J., I. V. Nsahlai, B. A. Williams, N. N. Umunna, S. Tamminga, and J. Van Bruchem. 1998. Nitrogen in browse species: ruminal degradability and post-ruminal digestibility measured by mobile nylon bag and *in vitro* techniques. Journal of the Science of Food and Agriculture, 76: 488-498.
17. Martindale, M. 1995. The extra pharmacopeia. 23th ed. Council of Pharmaceutical Society of Great Britain. Pharmaceutical press, London.
18. Ørskov, E. R., and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agricultural Science (Cambridge), 92: 499-503.
19. Pathak, N. N., D. N. Kamra, N. Agarwal, and R. C. Jakhmola. 1996. Analytical Techniques in Animal Nutrition Research. 1st ed.
20. Rezvani Moghadam, P., and A. R. Koocheki. 2003. A comprehensive survey of halophytes in Khorasan province of Iran. Proceeding Cash Crop Halophytes: Recent studies. Academic Publishers/Kluwer, Dordrecht, Netherlands/Boston, MA, USA. 189-195.
21. Riasi, A., M. Danesh Mesgaran, M. D. Stern, and M. J. Ruiz Moreno. 2008. Chemical composition, *in situ* ruminal degradability and post-ruminal disappearance of dry matter and crude protein from the halophytic plants *Kochia scoparia*, *Atriplex dimorp* *Hostegia*, *Suaeda arcuata* and *Gamanthus gamacarpus*. Animal Feed Science and Technology, 141: 209-219.
22. Riasi, A., M. Danesh Mesgaran, M. D. Stern, and M. J. Ruiz Moreno. 2012. Effects of two halophytic plants (*Kochia* and *Atriplex*) on digestibility, fermentation and protein synthesis by ruminal microbes maintained in continuous culture. Asian-Australian Journal of Animal Science, 25(5): 642-647.
23. Sherrod, L. B. 1973. Nutritive value of *Kochia scoparia* III. Digestibility of *Kochia* hay compared with alfalfa hay. Journal of Dairy Science, 56: 923-926.
24. Swingle, R. S., E. P. Glenn, and Squires, V. R. 1996. Growth performance of lambs fed mixed diets containing halophyte ingredients. Animal Feed Science and Technology 63: 137-148.
25. Towhidi, A., T. Saberifar, and E. Dirandeh. 2011. Nutritive value of some herbage for dromedary camels in the central arid zone of Iran. Tropical Animal Health and Production, 43: 617-622.
26. Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583-3597.
27. Van Soest, P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant, second edition, Comstock Publishing Associates/Cornell University Press, Ithaca/NY, USA.
28. Wanderley, R. C., J. T. Huber, Z. Wu, M. Pessarakli, and Jr. C. Fontes. 1993. Influence of microbial colonization of feed particles on determination of nitrogen degradability by *in situ* incubation. Journal of Animal Science, 71: 3073-3077.
29. Yan, T., and R. E. Agnew. 2004 Prediction of nutritive values in grass silages: II. Degradability of nitrogen and dry matter using digestibility, chemical composition, and fermentation data. Journal of Animal Science, 82: 1380-1391.



***In Situ* Rumen Degradability of Halophyte Plants *Atriplex leucoclada*, *Suaeda fruticosa* and *Seidlitzia rosmarinus* Individually or Mixed in Dromedary Camels**

A. Abarghani¹- M. Chaji^{2*}- H. Mansori³- M. Mamouei⁴- K. Mirzadeh²- H. Roshanfekr⁴

Received: 11-04-2017

Accepted: 23-12-2017

Introduction: Halophytic plants constitute a significant part of the local flora in arid and semiarid regions. Native sheep, goats and camels graze these forages. The *Suaeda fruticosa*, *Seidlitzia rosmarinus* and *Atriplex leucoclada* that are belonging to the chenopodiaceae family, have considerable forage potential in the arid and semiarid rangelands. Overall, these plants are tolerant to drought, and used to reclaim degraded rangeland. In addition, they reduce ground water salinity and improve condition and structure of soil. Meanwhile, there are some secondary metabolites in halophytic plants like condense tannin that effect on consume and performance of the animals. Characteristic of a pasture, climatic conditions the pasture, range management, time of grazing in the pasture, animal characteristics and method of study are factors that all or some can influence yield, chemical compositions and rumen degradability of Halophytic plants. There are a few reports about the nutrition value of *Atriplex* spp., *Seidlitzia* spp. and *suaeda* spp. Therefore, the objective of this study was to evaluate of chemical composition and nutrients degradability of these halophyte plants for dromedary camels.

Material and Methods: This study was conducted in Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan. Two female camels (about four years old) with rumen fistula were used in present experiment. The plants sampling were conducted from three regions of Jofer, Howayzeh and road of Abadan-Khorramshahr on the Khuzestan province in southwest of Iran, an area of approximately 60 Km in diameter. All ranges in term of topography have plain shape, without stone and deep canyons, and with high levels of underground water. The soil of these ranges has salinity characteristic and clay constitution. The study regions climate typified that of south Khuzestan. Annual mean temperature is 24.9°C with average minimum and maximum temperatures ranging from 2.6°C in January to 42°C in August. Precipitation averaged 224 mm per day. The study area had a fair diversity of vegetation types. Four types of these plants named *Atriplex leucoclada* (AL), *Suaeda fruticosa* (SF), *Seidlitzia rosmarinus* (SR) were evaluated individually or in different mixture in completely randomized design. Treatments were, T1, 33.5% AL + 66.5% SR; T2, 100% AL; T3, 66.5% AL + 33.5% SF; T4, 66.5% AL + 33.5% SR; T5, 100% SR; T6, 33.5% AL + 66.5% SF; T7, 66.5% SR + 33.5% SF; T8, 66.5% SF + 33.5% SR; T9, 100% SF. Dry matter (DM), crude protein CP, ether extract (EE), ash, NDF, ADF, lignin, hemicellulose, cellulose, non-fibrous carbohydrates (NFC), neutral detergent soluble fiber (NDSF), total 80% ethanol-soluble carbohydrate (TESC), organic acids, starch and *in situ* degradability of DM, OM, NDF, CP of each plants were measured.

Results and Discussion: *Atriplex leucoclada* had the highest hemicellulose, NDF and organic matter among three halophyte plants. The highest concentrations of tannin and oxalate and organic acids were related to *Seidlitzia rosmarinus*. The SR and AL had respectively highest and lowest dry matter (DM) degradability and effective degradability (ED) ($P < 0.05$). There was not any difference between *Seidlitzia rosmarinus* and mixture of *Seidlitzia rosmarinus* + *Suaeda fruticosa* (Treat 7 and 8). Briefly, according to the results of this section, replacement the high levels of *Seidlitzia rosmarinus* instead of *Suaeda fruticosa*, increase the dry matter degradability more effectiveness than low levels of that. Organic matter degradability of the SR and SF was significantly higher than the AL ($P < 0.05$). The T₇ and T₂ treatments had the highest and lowest NDF degradability among others, respectively ($P < 0.05$). Crude protein degradability was highest in the treat containing 66.5% SR+33.5% AL (T₁), and AL treat had lowest *in situ* CP degradability percentage. The results were shown that CP degradation rate was faster than DM, OM and NDF in the initial incubation times.

1, 2, 4- Formerly Ph.D. Student of Animal Nutrition, Associated professors, Professors, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Iran

3- Animal Science Research Institute, Iran

(*- Corresponding author Email: chaji@ramin.ac.ir)

Conclusion: It was concluded that according to DM, OM and NDF degradability, the best plant mix for better feeding of grazing camels are treatments T₅, T₇ and T₈ (without AL); but as protein degradability and chemical composition data, the treatments containing AL (T₁, T₃, T₄ and T₆, excepted T₂) were the best mix. Therefore, it seems that one of the strategies for improving the digestibility of halophyte plants in camels is mixing these plants with each other, which according to the results of the present experiment, a combination of AL with SR or SF may be caused to more ruminal degradability in feeding of grazing camel and rehabilitation of rangelands.

Keywords: Nylon bags, Organic acids, Oxalate, Phenolic components, Tannin



اثر برگ مورد بر هضم پذیری، برخی فراسنجه‌های خونی و شکمبه‌ای و گونه‌های پروتوزوا در گوسفند عربی

کلثوم صالح پور^۱ - طاهره محمدآبادی^{۲*} - محمدرضا قربانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۰۲

چکیده

هدف از این آزمایش، بررسی تاثیر برگ مورد بر قابلیت هضم، فراسنجه‌های خونی و شکمبه‌ای و جمعیت پروتوزوای شکمبه در گوسفند عربی بود. در مرحله اول سطح مناسب برگ مورد از بین سطوح ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد همراه با جیره ۷۰:۳۰ کنسانتره به علوفه با روش‌های آزمایشگاهی تعیین شد. نتایج نشان داد بهترین تخمیر، تولید گاز و قابلیت هضم مربوط به سطح ۰/۴ درصد برگ مورد بود. در مرحله دوم آزمایش، این سطح در تغذیه ۸ رأس گوسفند عربی ($23 \pm 1/5$ کیلوگرم)، به مدت یک ماه استفاده شد. در پایان آزمایش مصرف خوراک، قابلیت هضم مواد مغذی، جمعیت پروتوزوا و متابولیت‌های خونی اندازه‌گیری و داده‌های به‌دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج نشان داد استفاده از گیاه مورد تاثیر بر میزان مصرف ماده خشک و ماده آلی نداشت، اما مقدار پروتئین مصرفی را کاهش داد. قابلیت هضم پروتئین خام و NDF در تیمار حاوی مورد نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت، اما قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و ADF جیره‌های آزمایشی تفاوت نداشت. جمعیت پروتوزوا تحت تاثیر استفاده از برگ مورد در جیره قرار نگرفت، اما میزان نیتروژن آمونیاکی شکمبه، تری‌گلیسرید و گلوکز خون در تیمار حاوی برگ مورد (۸/۲۹) در مقایسه با تیمار شاهد (۱۶/۰۵) کاهش داشت. بنابراین، سطح ۰/۴ درصد برگ گیاه مورد دارای اثرات بهبود بر تخمیر شکمبه‌ای و اثرات مفید بر فراسنجه‌های خونی در گوسفند عربی بود، بنابراین می‌توان از آن به‌عنوان افزودنی گیاهی در جیره گوسفند استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: پروتوزوا، قابلیت هضم، گوسفند عربی، گیاه مورد، متابولیت‌های خونی

مقدمه

درختچه‌ای است که دارای برگ‌های ساده به رنگ سبز تیره با بافتی چرمی و همیشه سبز با عطر دل‌انگیز می‌باشد. میوه آن تقریباً گوشتی، حاوی دانه‌های متعدد، تخم‌مرغی شکل به رنگ آبی تیره و دارای طعم شیرین و گس است (۷). گل‌ها نسبتاً درشت، رنگ سفید و بوی مخصوص دارند و از اردیبهشت تا تیر ماه ظاهر می‌شوند. مورد در مناطقی مانند گیلان، منجیل و هرزویل، لرستان، خرم‌آباد و شهبازان، کرمانشاه، گیلانغرب، لب سفید بختیاری، کازرون، مهارلو، نبریز، کرمان، فسا، لار، بندر عباس، بلوچستان، خراسان، خوزستان و یزد مشاهده شده است (۲۲).

برگ مورد عمدتاً شامل ترپینولن، سینئول، لینالول، ترپینئول و لینالیل استات می‌باشد، از جمله مواد مؤثره موجود در گیاه مورد می‌توان به اسیدهای فنولی مانند گالیک اسید، وانیلیک اسید و فرولیک اسید، تانن‌ها مانند گالوتانن و فلاونوئیدها مانند میریستین، کاتچین و کوئرستین اشاره کرد (۳). روغن‌های ضروری مورد تا حد زیادی به عنوان نگهدارنده مواد غذایی بوده و مصرف موضعی این گیاه و

متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی معمولاً از ترپنوئیدها و فنول‌ها تشکیل شده‌اند که جهت دستکاری تخمیر شکمبه و بهبود استفاده از مواد مغذی در نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱). این گیاهان با کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی و کاهش تولید متان، ممکن است بازده استفاده از انرژی در شکمبه را بهبود بخشند (۱۲). تغییرات جیره‌ای از طریق گنجاندن گیاهان دارویی می‌تواند سبب کاهش دفع متان و بهبود تخمیر شکمبه‌ای در نشخوارکنندگان شود (۲۴). مورد با نام علمی *Myrtus communis* از خانواده *Myrtaceae*

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

(*)- نویسنده مسئول: (Email: mohammadabadi@ramin.ac.ir)
DOI: 10.22067/ijasr.v10i3.63856

سطوح مختلف برگ مورد از روش تلی و تری استفاده شد. بدین صورت که ابتدا مایع شکمبه به نسبت ۱ به ۴ با بزاق مصنوعی مخلوط شد و سپس در لوله‌های ۱۰۰ ml ریخته شد (۴ تکرار برای هر تیمار). ترکیب بزاق مصنوعی براساس توصیه مکدوگال (۱۹۴۸) تهیه شد. لوله‌ها تحت شرایط بی‌هوازی و در حمام آب 39°C قرار داده شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت، ۶ ml محلول اسید کلریدریک ۲۰ درصد و ۵ ml محلول پپسین (پپسین در اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال) به هر لوله اضافه شد، و پس از آن، نمونه‌ها تا ۴۸ ساعت دیگر در دمای 39°C برای ادامه هضم گذاشته شدند. پس از کامل شدن دوره هضم، قابلیت هضم محاسبه شد.

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی تغذیه شده به گوسفندان

عربی

Table 1- Ingredients and chemical composition of experimental diets fed to Arabi sheep's

مواد خوراکی Feeds (%)	%
یونجه Alfalfa	30
دانه ذرت Corn seed	21
کنجاله سویا Soybean meal	12.35
جو Barley	35.50
آهک Limestone	0.40
نمک Salt	0.25
مکمل مواد معدنی و ویتامین Mineral and vitamin supplement	0.50
انرژی قابل متابولیسم Metabolizable energy (Mcal/kg)	2.57
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber (%)	20.75
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber (%)	15.83
ماده آلی Organic Matter	97.97
پروتئین خام Crude protein (%)	16.5

با بررسی نتایج به‌دست آمده از آزمایش گاز و تلی تری در مرحله اول، سطح مناسب برگ مورد در جیره انتخاب و در تغذیه دام‌ها استفاده شد. به این منظور از ۸ رأس گوسفند عربی با سن تقریباً ۹ ماه و میانگین وزن 23 ± 1.5 کیلوگرم استفاده گردید. دام‌ها به دو گروه با ۴ تکرار تقسیم شده و درون جایگاه‌های انفرادی قرار گرفتند. جیره

اسانس آن در درمان تبخال تیپ ۱ و ۲ و التهاب مخاط بینی استفاده می‌شود (۱۶). بسیاری از گیاهان توانایی سنتز متابولیت‌های ثانویه را دارند که این متابولیت‌ها دارای خاصیت ضد میکروبی، توانایی تعدیل تخمیر شکمبه‌ای و در نهایت بهبود مصرف مواد مغذی هستند (۱۸). به همین دلیل دانشمندان علاقه‌مند به بررسی استفاده بالقوه از آنتی‌میکروب‌های طبیعی مانند گیاهان دارویی و عصاره آن‌ها برای دستکاری میکروفلورای دستگاه گوارش، تنظیم تخمیر شکمبه، بهبود اکولوژی شکمبه و بهبود استفاده از مواد مغذی در حیوانات اهلی شده‌اند (۳۱). اطلاعات روی استفاده از برگ مورد در تغذیه نشخوارکنندگان محدود است، بنابراین این آزمایش برای بررسی اثر گیاه مورد بر هضم‌پذیری، فراسنجه‌های خونی و شکمبه‌ای و جمعیت پروتوزوای شکمبه در گوسفند عربی طراحی شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاه مورد اوایل اردیبهشت ماه از دشت‌های دهدشت استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری شد و در سایه خشک گردید. ترکیبات شیمیایی برگ مورد شامل پروتئین خام (روش کج‌دال، Foss، 2033، سوئد)، ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) طبق روش (۴۳)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)، خاکستر و تانن طبق روش‌های استاندارد (۶) تعیین شدند.

در این آزمایش ابتدا، سطح مناسب برگ مورد در جیره گوسفندان از بین سطوح مختلف، با روش‌های آزمایشگاهی تولید گاز و تلی تری تعیین و در مرحله دوم در تغذیه گوسفندان استفاده شد. جیره پایه بر اساس جدول احتیاجات غذایی گوسفند (۲۷) و با سطوح ثابت ۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد کنسانتره تهیه و مقادیر برگ مورد (۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد ماده خشک جیره) به آن اضافه گردید. برای این منظور، تخمیر و تولید گاز جیره‌های آزمایشی حاوی مقادیر مختلف برگ مورد (۴ تکرار برای هر تیمار) در ویال‌های شیشه‌ای ۱۰۰ ml حاوی ۳۰۰ mg نمونه آسیاب شده با الک ۱ mm، ۲۰ ml بزاق مصنوعی و ۱۰ ml مایع شکمبه، مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. بزاق مصنوعی به‌صورت تازه و از مخلوط کردن ۲۴۰ ml محلول معدنی پرنیاز، ۲۴۰ ml بافر، ۰/۱۲ ml محلول معدنی کم نیاز، ۱/۲۲ ml محلول ریزازورین ۰/۱ درصد و ۴۰ ml محلول احیا (سولفید سدیم ۹ آب در سود یک مولار) تهیه شد (تئودورو و همکاران، ۱۹۹۴). مایع شکمبه از گوسفندان عربی تغذیه شده با جیره بر پایه علوفه، قبل از خوراک‌دهی وعده صبح تهیه و در آزمایشگاه با مقدار مناسب بزاق مصنوعی مخلوط گردید و به همراه نمونه‌های آزمایشی داخل بن ماری در دمای 39°C انکوبه شدند. حجم گاز تولیدی در زمان‌های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از شکمبه‌گذاری یادداشت گردید. جهت تعیین هضم‌پذیری آزمایشگاهی جیره‌های آزمایشی حاوی

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} : مقدار مشاهده شده

μ : میانگین جامعه

T_i : اثر تأمین تیمار

ε_{ij} : اثرات باقیمانده (خطا)

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی برگ مورد در جدول ۲ نشان داده شده است. پروتئین اندازه‌گیری شده در برگ مورد ۱۶/۲۹ درصد بود که میزان آن تقریباً با پروتئین یونجه (۱۷ درصد) برابر بود. فیبر نامحلول در شوینده خشی و اسیدی برگ‌های مورد در این آزمایش به ترتیب ۵۵/۴ و ۲۷/۳۲ درصد به دست آمد. مقدار تانن اندازه‌گیری شده برگ مورد ۴/۹۸ درصد بود. در آزمایشی که روی ترکیبات شیمیایی برگ مورد خوزستان انجام شد (۱۰)، میزان پروتئین خام، NDF و ADF برگ‌ها را به ترتیب ۹/۱۷، ۳۳/۷۵ و ۲۴/۵۵ درصد گزارش کرد. محققان در بررسی ترکیب شیمیایی گیاه مورد شمال غرب اتیوپی میزان پروتئین، NDF، ADF و تانن متراکم را به ترتیب ۵، ۴۴، ۲۸ و ۳/۸ درصد گزارش کردند (۵). همچنین در مطالعه دیگری میزان پروتئین مورد را ۱۳ درصد گزارش کردند (۴). می‌توان دلیل وجود اختلاف میزان پروتئین نتایج آزمایش حاضر و نتایج به دست آمده توسط محققان دیگر را به تفاوت در فصل جمع‌آوری نمونه‌ها، مرحله رویشی گیاه، نوع گونه، شرایط آب و هوایی و تفاوت‌های اقلیمی منطقه نسبت داد که در میزان ترکیبات مواد مغذی موجود و درصد آن‌ها در گیاهان تأثیر به‌سزایی دارند (۱۵).

افزودن برگ مورد تا سطح ۰/۴ درصد در جیره‌های آزمایشی منجر به افزایش تولید گاز شد به طوری که جیره حاوی ۰/۴ درصد برگ مورد دارای بیشترین تخمیر و پتانسیل تولید گاز بود، ولی در سطوح بالاتر (۰/۶) روند تولید گاز نسبت به تیمار شاهد کاهشی بوده است ($p < 0.05$). نرخ تولید گاز جیره‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). ماده آلی واقعاً هضم شده و توده میکروبی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. با افزایش مورد تا سطح ۰/۴ درصد به جیره، تولید گاز افزایش داشت و به همین نسبت هم میزان PF تیمار آزمایشی نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ($P < 0.05$).

های غذایی دام‌های مورد مطالعه بر اساس وزن دام‌ها و بر طبق جداول احتیاجات غذایی گوسفند (۲۷) تنظیم شدند. تیمارها شامل یک سطح مورد (۴ درصد بر اساس ماده خشک) و تیمار شاهد بودند که به صورت تصادفی به هر گروه از دام‌ها یک تیمار اختصاص داده شد. تمام جیره‌های آزمایشی از نظر نسبت علوفه به کنسانتره ۷۰ به ۳۰ بود. دام‌ها در قفس‌های متابولیکی به صورت انفرادی نگهداری و به مدت یک ماه با جیره‌های آزمایشی مذکور تغذیه شدند. خوراک روزانه در دو وعده غذایی صبح (ساعت ۸) و بعد از ظهر (ساعت ۱۶) توزین و به صورت یکنواخت در اختیار دام‌ها قرار داده شد. افزایش وزن و خوراک مصرفی دام‌ها روزانه ثبت گردید.

به منظور مطالعه قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی، نمونه‌گیری از خوراک، باقیمانده خوراک و مدفوع در ۵ روز آخر دوره انجام گرفت. محاسبات رفتاری مربوطه به ازای ماده خشک مصرفی، NDF و ADF مصرفی دام‌ها نیز تعیین شد. جهت بررسی جمعیت و گونه‌های پروتوزوآ، در پایان آزمایش، مایع شکمبه از گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های حاوی برگ مورد از طریق لوله مری تهیه و سپس به وسیله پارچه چهار لایه متقال صاف شد. سپس ده میلی‌لیتر مایع شکمبه با حجم مساوی فرمالدئید ده درصد مخلوط و پس از رنگ‌آمیزی با متیلن بلو، نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل گردید. شمارش پروتوزوآ با استفاده از میکروسکوپ نوری اینورت با بزرگ‌نمایی $40\times$ (مدل NIS-Elements F 3.0) انجام شد. غلظت نیتروژن آمونیاکی محتوی مایع شکمبه با استفاده از روش فنول هیپوکلرایت و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. همچنین جهت اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی در پایان دوره، سه ساعت بعد از تغذیه صبحگاهی، از تمام گوسفندان از سیاهرگ گردنی خون‌گیری انجام گرفت. گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و اوره خون با استفاده از کیت تشخیص کمی شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (مدل BS200) اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با نرم افزار آماری SAS (رویه GLM) نسخه ۹/۱ اجرا گردید. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

جدول ۲- ترکیب شیمیایی برگ مورد (درصد ماده خشک)

Table 2- Chemical composition of the myrtle leaves (% DM)

تانب	پروتئین خام	الیاف نامحلول در شوینده خشی	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	خاکستر	ماده خشک	برگ مورد
Tannin	CP	NDF	ADF	Ash	DM	Myrtle leaves
4.98	16.29	55.04	27.32	2.2	25.36	

بالاترین میزان بازده سنتز توده میکروبی مربوط به تیمار حاوی ۰/۴ درصد مورد و کمترین مقدار مربوط به تیمار ۰/۲ درصد مورد بود. موافق با نتایج تحقیق حاضر، در مطالعه‌ای محققان (۲۵) استفاده از سطوح مختلف گل گاو زبان (حاوی ترکیبات فلاونوئیدی) را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که گل گاو زبان موجب افزایش میزان گاز تولیدی جیره می‌شود در حالی که افزودن گیاه گلپر (حاوی فلاونوئید) به مقدار ۲۸/۶۵ و ۵۷/۳۱ میلی گرم به ازای ۲۰۰ میلی گرم جیره پایه موجب کاهش تولید گاز شد که با آزمایش حاضر مغایرت داشت. اسانس‌های گیاهی بسته به نوع و مقدار اسانس مورد ارزیابی، اثرات متفاوتی بر فرآیند تولید گاز (متان) دارند. محدوده‌ی اثر اسانس‌های گیاهی و اجزای آن‌ها بر حسب ماهیت و فعالیت متفاوت است

(۱۹). جدول ۳، نشان می‌دهد که استفاده از مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با برگ مورد تا سطح ۰/۴ درصد باعث افزایش معنی دار قابلیت هضم ماده خشک و قابلیت هضم الیاف نا محلول در شوینده خنثی شد ($p < 0.05$). محققین گزارش نمودند که ترکیب کوثرستین (یکی از ترکیبات ثانویه گیاه مورد) اثر منفی روی قابلیت هضم ماده خشک ندارد (۲۹). با توجه به اینکه در مرحله اول آزمایش، جیره آزمایشی حاوی ۰/۴ درصد برگ مورد در مقایسه با سایر تیمارها از نظر پتانسیل تولید گاز و هضم‌پذیری، عملکرد بهتری داشت، تیمار مذکور انتخاب گردید و در مرحله دوم آزمایش در تغذیه گوسفندان عربی استفاده شد.

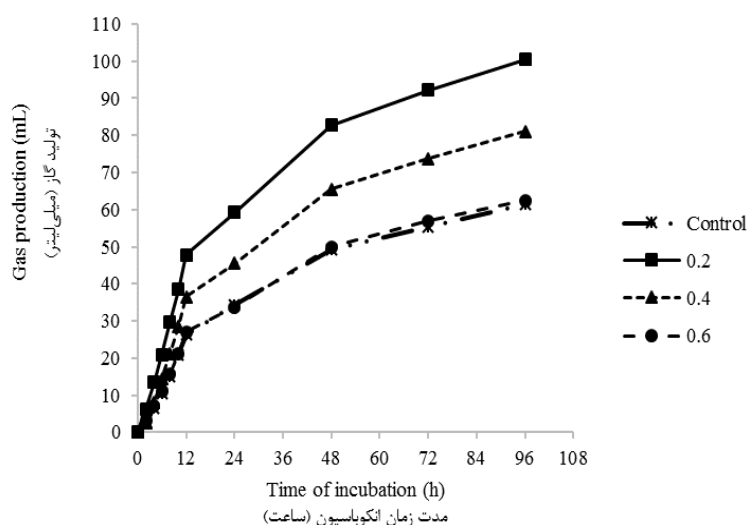
جدول ۳- اثر سطوح مختلف برگ مورد بر فراسنجه‌های تخمیر و تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی

Table 1- The effect of different levels of myrtle leaves on *in vitro* fermentation parameters and gas production

Treatment	راندمان سنتز توده میکروبی Microbial biomass efficiency (%)	توده میکروبی Microbial biomass (mg)	ماده آلی واقعاً هضم شده (میلی گرم) Truly digested organic matter (mg)	فاکتور جداسازی (میلی گرم بر میلی لیتر) Partitioning factor (mg/mL)	نرخ تولید گاز Gas production rate (mL/h)	پتانسیل تولید گاز Potential of gas production (mL)
Control	0.614 ^b	150.95	245.75	8.74 ^a	0.034	68.39 ^c
0.2	0.547 ^b	143.50	262.05	5.74 ^b	0.039	79.73 ^b
0.4	0.748 ^a	199.65	266.75	5.18 ^b	0.044	97.79 ^a
0.6	0.763 ^a	177.55	232.60	7.92 ^a	0.036	61.72 ^d
SEM	0.022	16.68	16.68	0.501	0.003	1.93
P-value	0.013	0.210	0.523	0.019	0.173	<0.0001

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($p < 0.05$).

SEM: Standard error of means, Means in columns with differing superscripts are different ($P < 0.05$).



شکل ۱- روند تولید گاز جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف برگ مورد قبل از تغذیه برگ مورد به گوسفندان

Figure 1- Kinetic of gas production of experimental diets containing different levels of myrtle leaves before feeding myrtle to sheep

جدول ۵- هضم‌پذیری آزمایشگاهی جیره‌های حاوی سطوح مختلف برگ مورد

Table 5- *In vitro* digestibility of diets containing different levels of myrtle leaves

Treatment	قابلیت هضم ماده خشک	قابلیت هضم الیاف محلول در شوینده خشتی
	DM digestibility	NDF digestibility
Control	84.84 ^a	61.95 ^{bc}
0.2	84.97 ^a	67.60 ^{ab}
0.4	87.50 ^b	72.31 ^a
0.6	83.74 ^a	59.25 ^c
SEM	1.15	2.41
P-value	0.005	0.01

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

SEM: Standard error of means, Means in columns with differing superscripts are different ($P < 0.05$).

جیره گوسفندان اثر معنی‌داری بر مصرف ماده خشک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک نداشت (۳۵). مخالف با نتایج ما، محققان گزارش کردند که لینالول یکی از ترکیبات موجود در گیاه مورد می‌باشد (۲۱) که دارای خاصیت اشتهاآور در جیره است و فرآیند هضم را در حیوانات تحریک می‌کند (۱۳). محققین دیگر دریافتند که افزودن پودر رازیانه (حاوی کوئرستین) به جیره آغازین گوساله‌ها سبب افزایش مصرف ماده خشک مخالف با نتایج ما می‌شود (۳۸). البته عواملی مانند دوره عادت‌پذیری و اثر متقابل گیاهان دارویی با دیگر ترکیبات جیره و همچنین سطح مصرف آن‌ها در جیره، می‌تواند سطح مصرف ماده خشک را تحت تأثیر قرار دهد (۹).

بر طبق داده‌های مرحله دوم آزمایش مبنی بر تغذیه برگ مورد به گوسفندان، نتایج (جدول ۶) نشان می‌دهد که افزودن گیاه مورد اثر معنی‌داری بر مصرف ماده خشک و ماده آلی گوسفندان نداشت ($P > 0.05$). کمترین میزان ماده آلی و ماده خشک دفعی مربوط به تیمار حاوی برگ مورد (به ترتیب ۱۸۲/۲۷ و ۱۸۸/۸۰ گرم) بود ($P < 0.05$). میزان پروتئین مصرفی در تیمار شاهد و آزمایشی متفاوت ($P < 0.05$) ولی میزان پروتئین دفعی، میانگین افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در دو تیمار تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$).

موافق با نتایج حاضر، محققان (۳۳) گزارش کردند که افزودن سطوح مختلف اسانس اکالیپتوس (هم‌خانواده مورد)، تأثیر معنی‌داری بر مصرف ماده خشک بره‌ها نداشت. همچنین استفاده از گیاه گل میمونی (دارای کوئرستین و لینالول مشابه مورد) به‌صورت افزودنی به

جدول ۶- مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل در گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی برگ مورد

Table 6- Feed intake, average daily gain and feed conversion in sheep fed with diet containing myrtle leaves

	مورد	شاهد	گرم ماده خشک در روز	SEM	P-value
	Myrtle	Control			
ماده خشک مصرفی	919.70	895.99	Dry matter intake	26.35	0.548
ماده آلی مصرفی	917.28	895.16	Organic matter intake	26.13	0.571
مقدار ماده آلی دفعی	182.27 ^b	201.88 ^a	Organic matter of fecal	3.99	0.013
مقدار ماده خشک دفعی	188.80 ^b	202.57 ^a	Dry matter of fecal	3.44	0.030
مقدار پروتئین مصرفی	435.23 ^a	349.41 ^b	Crude protein intake	6.02	0.009
مقدار پروتئین دفعی	56.53	62.96	Crude protein of fecal	2.49	0.209
افزایش وزن روزانه (گرم)	186.00	133.00	Daily weight (g)	25.91	0.537
ضریب تبدیل خوراک	3.78	4.72	FCR	0.242	0.265

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ردیف اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

SEM: Standard error of means, Means in rows with differing superscripts are different ($P < 0.05$).

محققان (۳۷) اثر اسانس زنیان (حاوی آلفا-پنین و بتا-پنین مشابه مورد) را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که مقدار خوراک مصرفی تحت تأثیر ماده آزمایشی قرار نگرفت، تغییرات وزن نیز متفاوت نبود که به نظر می‌رسد ناشی از عدم تفاوت معنی‌دار در ماده خشک مصرفی بود. اما با افزودن پودر رازیانه به میزان ۰/۴ و ۰/۸ درصد به جیره آغازین گوساله‌های شیری، میانگین افزایش وزن روزانه و میانگین ضریب تبدیل غذایی در دوره‌های پیش و پس از شیرگیری و کل دوره، تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت و بهترین ضریب تبدیل غذایی با جیره‌های حاوی پودر رازیانه (حاوی

کوئرتستین) برآورد شد (۳۸).

قابلیت هضم ظاهری

نتایج این آزمایش نشان می‌دهد (جدول ۷) که تفاوت معنی‌داری بین قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی جیره‌های آزمایشی وجود نداشت ($p > 0.05$). ولی قابلیت هضم پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در جیره حاوی مورد به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد بالاتر بود ($p < 0.05$).

جدول ۷- قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در جیره‌های آزمایشی

Table 7- Digestibility of nutrients in experimental diets

گرم ماده خشک در روز (g DM/d)	شاهد Control	مورد Myrtle	SEM	P-value
ماده خشک Dry matter	77.97	79.67	0.678	0.161
ماده آلی Organic matter	78.02	79.69	0.675	0.167
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	76.62 ^b	79.62 ^a	0.702	0.037
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	66.38	67.95	1.02	0.363
پروتئین خام Crude protein	81.28 ^b	87.01 ^a	0.881	0.044

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($p < 0.05$).

SEM: Standard error of means, Means in rows with differing superscripts are different ($P < 0.05$).

کوئرتستین بر میکروب‌های شکمبه تأثیر مطلوبی داشته و باعث کاهش جمعیت پروتوزوا و حفظ جمعیت باکتری‌های سلولیتیک می‌شود (۲۹). در آزمایشی (۳۳) مشخص شد که سطوح مختلف اکالیپتوس (هم خانواده مورد) باعث کاهش غیر معنی‌دار قابلیت هضم مواد مغذی نسبت به تیمار شاهد شد (۴۰)، محققان گزارش کردند که افزودن اسانس آویشن (حاوی آلفا-پنین مشابه مورد) به جیره گوسفند تأثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام، NDF و ADF نداشت. اسانس‌های گیاهی با توجه به ساختار شیمیایی، منبع و فعالیت اثرات متفاوتی روی تخمیرات شکمبه و عملکرد حیوان دارند (۲).

جمعیت پروتوزوا

نتایج (جدول ۸) نشان می‌دهد که افزودن برگ گیاه مورد اثر معنی‌داری بر جمعیت پروتوزوای شکمبه گوسفندان نداشت ($p > 0.05$). تعداد کل پروتوزوای تیمار شاهد، 3×10^4 در میلی‌متر مایع شکمبه بود و در تیمار حاوی مورد، $2/25 \times 10^4$ پروتوزوا در میلی‌متر

تحقیقات (۳۵) نشان داد اضافه نمودن گل میمونی سازوئی موجب افزایش معنی‌دار قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و پروتئین در سطح ۰/۳ درصد و کاهش در سطح ۰/۶ درصد شد (۳۰). محققان گزارش کردند که اسانس مروتلیخ (حاوی لینالول) در سطح پایین (۸۰۰ میلی گرم در لیتر محیط کشت)، با تحت تأثیر قرار دادن فعالیت میکروارگانیسم‌ها یا محیط تخمیر منجر به بهبود قابلیت هضم می‌شود اما در سطوح بالاتر (۱۶۰۰ و ۲۴۰۰ میلی گرم در لیتر محیط کشت)، اثر مهارکنندگی بر میکروارگانیسم‌های شکمبه داشته است. تجزیه میکروبی فلاونوئیدها در شکمبه می‌تواند نقش جایگزین منبع کربن را برای فعالیت میکروبی بازی کند. بنابراین افزایش سطح گیاه مروتلیخ احتمالاً موجب ایجاد این فرآیند و کاهش هضم مواد مغذی شده باشد (۴۱). تحقیقات نشان داده که استفاده از اسانس‌های غنی از ترکیبات فنولی باعث کاهش قابلیت هضم آزمایشگاهی NDF به دلیل اثر بر باکتری‌های فیبرولیتیک می‌شوند (۸)، اما در این آزمایش تأثیر منفی بر قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی به‌خصوص در تیمار آزمایشی مشاهده نشد. چرا که بعضی ترکیبات گیاه مورد مثل

مایع شکمبه بود. آفریوسکولکس در تیمار حاوی برگ مورد مشاهده نگردید ($p > 0.05$). جدول نشان می‌دهد که جمعیت مربوط به زیرگونه‌ها، دیپلودینیوم لاباتیموم و دیپلودینیوم فلابلیوم در تیمار آزمایشی وجود نداشتند ولی در تیمار شاهد، جمعیت هر دو زیر گونه، 0.12×10^4 پروتوزوا در میلی‌لیتر مایع شکمبه بود. دیپلودینیوم پلی گونال در تیمار شاهد مشاهده نشد. در پژوهشی (۲۶) مشاهده شد که افزایش سطوح مختلف اسانس اکالیپتوس، سبب کاهش تعداد انتودینیوم، اپیدینیوم، دیپلودینیوم، آفریوسکولکس، داسی تریشیا و ایزوتریشیا شد. مطالعات نشان داده است که عصاره رازیانه (حاوی کوئرستین) اثر معنی‌داری بر جمعیت پروتوزوا نداشته است (۳۲).

جدول ۸- جمعیت و مورفولوژی پروتوزوای (سلول در میلی‌لیتر مایع شکمبه $\times 10^4$) شکمبه گوسفندان تغذیه شده با برگ گیاه مورد

Table 8- Population and morphology of rumen protozoa (cell per mL rumen $\times 10^4$) of sheep fed with myrtle leaves

تیمار	دیپلودینیوم	انتودینیوم	آفریوسکولکس	جمعیت کل پروتوزوا
Treatment	Diplodinium	Eudiplodinium	Ophryoscole	Total protozoa
مورد				
Myrtle	1.375	0.125	0.75	2.250
شاهد				
Control	1.875	0.375	0.25	3.000
SEM	0.205	0.205	0.115	0.831
P-value	0.108	0.405	0.148	0.534

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($p < 0.05$).

SEM: Standard error of means, Means in columns with differing superscripts are different ($P < 0.05$).

جدول ۹- تراکم گونه‌های مختلف پروتوزوای (سلول در میلی‌لیتر مایع شکمبه $\times 10^4$) شکمبه گوسفندان تغذیه شده با برگ گیاه مورد

Table 9- Different species of rumen protozoa (cells per mL rumen $\times 10^4$) of sheep fed with myrtle leaves

گونه	پروتوزوا	شاهد	مورد	SEM	P-value
Species	Protozoa	Control	Myrtle		
دیپلودینیدا	دیپلودینیوم موناسانتیموم	0.625	0.625	0.375	1.00
	<i>Diplodinium monacanthum</i>				
	دیپلودینیوم مونولوبوسوم	1.00	0.500	0.298	0.256
	<i>Diplodinium monolobosum</i>				
	دیپلودینیوم پلی گونال	0.00	0.250	0.115	0.148
	<i>Diplodinium polygonale</i>				
انتودینیدا	دیپلودینیوم لاباتیموم	0.125	0.00	0.088	0.334
	<i>Diplodinium labatum</i>				
	دیپلودینیوم فلابلیوم	0.00	0.00	0.088	0.334
	<i>Diplodinium flabellum</i>				
	انتودینیوم بویس	0.125	0.125	0.088	0.334
	<i>Eudiplodinium bovis</i>				
آنتودینیدا	انتودینیوم دیلوبوم	0/250	0.00	0.088	0.334
	<i>Eudiplodinium dilobum</i>				
	انتودینیوم روستراتوم	0.125	0.00	0.176	0.334
	<i>Eudiplodinium rostratum</i>				
آنتودینیدا	انتودینیوم کوداتیوم	0.125	0.250	0.197	0.661
	<i>Entodinium caudatum</i>				
	انتودینیوم دوباردی	0.125	0.375	0.205	0.405
	<i>Entodinium dubardi</i>				
آفریوسکولکسینا	انتودینیوم رکتانگولاتوم	0.125	0.00	0.088	0.334
	<i>Entodinium rectangulatum</i>				
آفریوسکولکس	انتودینیوم نانلورن	0.250	0.125	0.115	0.148
	<i>Entodiniurn nanellurn</i>				
	آفریوسکولکس	0.125	0.00	0.121	1.00
	<i>Ophryoscolexina</i>				
	<i>Ophryoscole</i>				

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر سطر اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($p < 0.05$).

SEM: Standard error of means, Means in rows with differing superscripts are different ($P < 0.05$).

تحقیقات (۳۵)، نشان داد که افزودن گیاه گل میمونی سازویی (حاوی کوئرتستین و لینالول مشابه مورد) اثر کاهشی معنی‌داری بر جمعیت پروتوزوای شکمبه گوسفندان داشت. گزارش شده اسانس‌های گیاهی دارای خواص ضد میکروبی در برابر انواع مختلف میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌ها، پروتوزوآ و قارچ‌ها می‌باشد (۱۷). احتمالاً این اثر به دلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی (مانند کوئرتستین) موجود در گیاهان دارویی و از جمله گیاه مورد به کار رفته در این پژوهش باشد که موجب کاهش جمعیت پروتوزوآ و گونه‌های پروتوزوایی شده باشد. فلاونوئیدها به طور مستقیم و یا از طریق تولید مشتقات جدید با عمل تخریب فعالیت میکروبی شکمبه را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۳۱). در مطالعات مشخص شد که کاهش جمعیت پروتوزوآ به دلیل متابولیت‌های ثانویه و ساختار فنولی آنها بوده که این ساختار به پاره شدن غشاء سلول، غیرفعال شدن آنزیم‌ها و کاهش سوپسترا و یون‌های فلزی لازم برای متابولیسم سلول می‌انجامد (۱). نتایج نشان داد استفاده از گیاه مورد در تیمار آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد نیتروژن آمونیاکی را به طور معنی‌داری کاهش داد ($p < 0.05$). همچنین نتایج مربوط به pH نشان می‌دهد که گیاه مورد

اثر معنی‌داری بر pH نداشت ($p > 0.05$). میزان نیتروژن آمونیاکی در تیمار شاهد و تیمار حاوی برگ مورد به ترتیب ۱۶/۰۵ و ۸/۲۹ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر مایع شکمبه بود. موافق با آزمایش حاضر، محققین گزارش کردند که با افزودن سطوح مختلف اسانس اکالیپتوس غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه کاهش یافت (۲۶). برخلاف آزمایش حاضر گزارش شده که با افزودن سطوح مختلف اسانس مرو تلخ (حاوی لینالول و لینالیل استات مشابه مورد)، غلظت نیتروژن آمونیاکی نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت (۳۰). اثر منفی مواد مؤثره موجود در گیاهان دارویی بر باکتری‌های تولیدکننده آمونیاک با توان بالا می‌تواند موجب کاهش تولید آمونیاک در شکمبه شود. همچنین کاهش پروتوزوآ و کاهش بلعیده شدن باکتری‌ها توسط آنها نیز می‌تواند از دیگر دلایل کاهش آمونیاک باشد (۱۱). محققین گزارش کردند که میزان pH شکمبه در تیمارهای حاوی اکالیپتوس (هم‌خانواده مورد) نسبت به تیمار شاهد کاهش غیر معنی‌داری نشان داد (۲۰).

جدول ۱۰ - فراسنجه‌های تخمیری در شکمبه دام‌های تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

Table 10- Fermentation parameters in the rumen of animals fed experimental diets

تیمار	نیتروژن آمونیاکی	pH
Treatment	Ammonia nitrogen (mg / 100 ml)	
شاهد	16.05 ^a	6.20
Control		
مورد	8.29 ^b	6.57
Myrtle		
SEM	0.708	0.379
P-value	<0.0001	0.510

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($p < 0.05$).

SEM: Standard error of means, Means in rows with differing superscripts are different ($P < 0.05$).

جیره آزمایشی کاهش یافت. گزارش شده (۳۵) با افزودن گیاه گل میمونی سازویی (داشتن لینالول و کوئرتستین مشابه مورد) به جیره، میزان گلوکز خون نسبت به شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین در تحقیقی بیان شد که عصاره گیاه رزماری (حاوی آلفا-پین و سینئول) باعث افزایش غلظت گلوکز پلاسما شد که با نتایج ما مغایرت داشت (۱۴). پلی‌ساکاریدها، فلاونوئیدها، گلیکوپروتئین، پلی‌پپتیدها، استروئیدها، آلکالوئیدها و پکتین موجود در گیاهان دارویی از جمله مورد می‌توانند خاصیت هیپوگلیسمیک احتمالی برخی گیاهان را در درمان بیماری‌های قندی توجیه کند (۳۴). غلظت تری‌گلیسرید خون به طور معنی‌داری تحت تاثیر جیره آزمایشی کاهش یافت ($p < 0.05$). اما غلظت کلسترول به طور معنی‌داری تحت تاثیر جیره های آزمایشی قرار نگرفت. مطابق با نتایج آزمایش حاضر، در مطالعه-

افزودن گیاه مورد باعث کاهش معنی‌دار اورهی خون نسبت به تیمار شاهد شد ($p < 0.05$). از آن جایی که نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با نیتروژن اورهی خون همبستگی بالایی دارند، احتمالاً کاهش نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه باعث کاهش نیتروژن اورهی خون شده است. نتایج تحقیقات (۳۵) نشان داد که افزودن گل میمونی سازویی (حاوی کوئرتستین و لینالول مشابه مورد) به جیره گوسفندان باعث کاهش معنی‌دار اوره خون نسبت به تیمار شاهد شد. با این حال دیگران (۲۵) گزارش نمودند استفاده از گیاه پنیرک (دارای ترکیبات فلاونوئیدی) اثر معنی‌داری بر میزان اوره خون نداشت. به نظر می‌رسد غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه در تیمار حاوی برگ مورد تحت تاثیر کاهش تعداد پروتوزوآ و تانن کاهش یافته است. بر طبق نتایج این آزمایش میزان گلوکز خون با افزودن برگ مورد به

کاهش داد ولی کلسترول خون تحت تأثیر افزودن اسانس قرار نگرفت (۳۷). کوئرتستین موجود در گیاهان دارویی (از جمله گیاه مورد) موجب کاهش کلسترول و LDL می‌شود (۲۸). گیاهان دارویی و عصاره هایشان، نقش مؤثری در کاهش کلسترول و سایر لیپیدهای خونی دارند و روغن‌های ضروری این فرآیند را از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده صفراوی، کاهش pH مجرای روده‌ای و مهار فعالیت HMG-CoA در بدن به انجام می‌رسانند.

ای (۳۶) مشخص شد که سطح تری‌گلیسرید در بیماران دیابتی تحت درمان با کرفس کوهی (حاوی آلفا-پینن، لیمونن و لینولئیک‌اسید مشابه مورد) به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. تحقیقات نشان داده است که افزودن گیاه خرفه (حاوی ۱ و ۸-سینئول و کوئرتستین مشابه مورد) به جیره بره‌های نژاد ترکی قشقایی سبب کاهش غلظت پلاسمایی کلسترول و تری‌گلیسرید می‌شود (۳۹). گزارش شده که افزودن اسانس زنیان (حاوی تیمول، آلفا-پینن و بتا-پینن) به جیره بزها، غلظت تری‌گلیسرید خون را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری

جدول ۱۱- متابولیت‌های خون گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی برگ مورد (میلی گرم در دسی‌لیتر)
Table 11-Blood metabolites of sheep fed with diet containing myrtle leaves (mg/d)

تیما ر	تری‌گلیسرید	گلوکز	کلسترول	اوره
Treatment	Triglycerides (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	Cholesterol (mg /dL)	Urea (mg/dL)
شاهد Control	19.25 ^a	100.50 ^a	46.75	38.87 ^a
مورد Myrtle	14.75 ^b	97.75 ^b	45.50	30.22 ^b
SEM	0.381	0.489	0.395	0.677
P-value	0.0003	0.0073	0.0667	0.0001

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

SEM: Standard error of means, Means in columns with differing superscripts are different ($P < 0.05$).

توجه اثرات مفید به‌دست آمده در این آزمایش و ارزان و در دسترس بودن گیاه مورد، شاید بتوان آن را به‌عنوان یک مکمل گیاهی مناسب در جیره گوسفند عربی استفاده کرد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج آزمایش حاضر نشان داد افزودن پودر گیاه مورد به جیره گوسفندان عربی، باعث افزایش قابلیت هضم پروتئین خام و NDF و کاهش نیتروژن آمونیاکی، تری‌گلیسرید و گلوکز خون شد. بنابراین با

منابع

1. Abarghouei, M. J., and Y. Roozbahan. 2013. The effect of grape pomace on gas production parameters of the rumen protozoa population of rumen fluid, using sheep's. *Journal of Animal Science*, 44 (4): 384-375.
2. Afshar Hamidi, B., R. Pirmohammadi, H. Mansoori, and M. Fajri. 2013. The effects of adding thymus plant to lactating goats rations on digestibility parameters and milk yield performance. *Animal Sciences Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 101: 29-36.
3. Aidi Wannes, W., B. Mhamdi., J. Sriti, and B. Marzouk. 2010. Changes in essential oil composition of Tunisian *Myrtus communis* var. *italica* during its vegetative cycle. *Journal Essential Oil Research*, 22: 13-18.
4. Ammar, H., S. Lopez, and J. S. Gonzalez. 2005. Assessment of the digestibility of some Mediterranean shrubs by *in vitro* techniques *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 119: 323-331.
5. Ammar, H., A. Z. M. Salem, and S. Lopez. 2010. Impact of PEG 6000 on *in vitro* gas production kinetics of some Mediterranean shrubs in sheep. In: Porqu eddu C. (ed.), Rios S. (ed.). *The contributions of grasslands to the conservation of Mediterranean biodiversity*. Zaragoza: CIHEAM / CIBIO / FAO / SEEP, 92: 209 -213.
6. AOAC. 2001. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*. Washington, D. C. USA.
7. Barazandeh, M. M. 2001. Identification of essential oil components of myrtle (*Myrtus communis*. L.). *Iran journal medicinal Aromatic*, 6: 115-127.
8. Benchaar, C., A. V. Chaves, G. R. Fraser, Y. Wang, K.A. Beauchemin, and T. A. McAllister. 2007. Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. *Canadian Journal of Animal Science*, 87: 413-419.
9. Benchaar, C., H. V. Petit, R. Berthiaume, T. D. Whyte, and P. Y. Chouinard. 2006. Effect of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production and milk composition in dairy

- cows. *Journal of Dairy Science*, 89: 4352-4364.
10. Bouyeri Kosar, K., H. Shahdadi Jahromy, T. Mohammadabadi, and R. A. Shakeri. 2012. Fermentation parameters and gas production (Myrtle) north and south of Fars Khuzestan in ruminant nutrition. *Animal Science Sixth Congress of Iran*, Tabriz University.
 11. Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Kamel. 2006. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. *Journal of dairy science*, 89: 761-771.
 12. Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, M. D. Carro, and C. Kamel. 2005. Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 88: 4393-4404.
 13. Çabuk, M., M. Bozkurt, A. Alçiçek., Y. Akbaş, and K. Küçükyılmaz. 2006. Effect of an herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broilers from young and old breeder flocks. *South African Journal of Animal Science*, 36: 35-41.
 14. Chiofalo, V., L. Liotta, R. Fiumano, E. B. Riolo, and B. Chiofalo. 2011. Influence of dietary supplementation of *rosmarinus officinalis* L. on performance of dairy ewes organically managed. *Journal of small Ruminant Research*, 104:122-128.
 15. Ghasemi Pirbalouti, A., and A. Aghaee. 2011. Chemical Composition of Essential Oil of *Pistacia khinjuk* Stocks Grown in Bakhtiari Zagross Mountains, Iran. *Electronic Journal Biology*, 7(4): 67-69.
 16. Ghasemi, A. 2009. Medicinal and Aromatic Plants of Iran (identifying and studying their effects). Azad University shahrood unit. 491 pages.
 17. Greathead, H. 2003. Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62: 79-290.
 18. Hristov, A. N., J. K. Ropp, S. Zaman, and A. Melgar. 2008. Effects of essential oils on *in vitro* ruminal fermentation and ammonia release. *Animal Feed Science and Technology*, 144: 55-64.
 19. Macheboeuf, D., D. P. Morgavi, Y. Papon, J. L. Mousset, and M. Arturo-Schaan. 2008. Dose response effects of essential oils on in vitro fermentation activity of the rumen microbial population. *Animal Feed Science and Technology*, 145: 335-350.
 20. Mehrabadi, M., A. R. Vakili, M. Daneshmesgaran, and R. Valizadeh. 2015. The effects of adding different amounts of garlic and eucalyptus on rumen fermentation parameters in vitro. *Journal of Modern Agricultural Science and Environment*.
 21. Mirazadi, Z., B. Pilehvar, M. H. Meshkat Alsadat, and R. Karamian. 2011. Site quality and Essential oil composition of *Myrtus Communis* L. (case study: Cham moord site in Lorestan province). *Journal of Agricultural Biotechnology*, 3(2): 71-79.
 22. Mozaffarian, V. 2004. Iran trees and shrubs. Publication of Farhang Moaser. The first edition, 964 pages.
 23. Noori Norozi, H. 2013. Evaluation of chemical composition, digestibility and fermentation mallow (*Mallva sylvesteri*) and its effect on rumen fermentation Arabic. Master thesis, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan.
 24. Nourian sarvar, A., and Y. Roozbahan. 2012. Borage extracts on ruminal fermentation, protozoa population and reduces methane production in vitro. *Journal of Animal Science*, 43 (2): 287-296.
 25. Nourian sarvar, A., and Y. Roozbahan. 2013. Effect of Angelica on rumen fermentation parameters and methane production in vitro. *Journal of Animal Science*, 44(4): 395-385.
 26. Nourian sarvar, A., M. M. Moeni, and F. Vosooghi. 2015. The effect of essential oils Eucalyptus on fermentation parameters and sheep methane production in vitro. *Journal of Research in Animal Nutrition*, 3: 26-19.
 27. NRC. 2007. Nutritional Requirements of Small Ruminant. National Academy Press. Washington, D.C.
 28. Nuraliev, I. N. and G. A. Avezov. 1992. The efficacy of quercetin in alloxan diabetes. *EKS Perimentalanaia Klinicheskaiia Farmakologia*, 55: 42-44.
 29. Oskoueian, E., A. Norhani, and A. Oskoueian. 2013. Effects of flavonoids on rumen fermentation activity, methane production, and microbial population. Hindawi Publishing Corporation. BioMed Research International. Volume, Article ID 349129, 8 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/349129>.
 30. Owlad shanbeh, Y., M. Sari, M. Chaji, T. Mohammadabadi, and M. Bojarpour. 2014. Effects of Native Essence Herb Mrvtlkh (*Salvia mirzayanii*) on rumen microbial fermentation and nutrient digestibility and gas production system using a continuous two-stream culture. *Iranian Journal of Animal Science*, 6 (1): 54-65.
 31. Patra, A. K. and J. Saxena. 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71(11-12):1198-1222.
 32. Patra, A. K., D. N. Kamra, and N. Agarwal. 2010. Effect of extracts of spices on rumen methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feeds *in vitro*. *Journal of Science Food Agriculture*, 90:511-520.
 33. Payandemehr, M., M. Boujarpour, M. Sari, T. Mohammadabadi, and M. Chaji. 2014. Investigating the effects of Eucalyptus essential oils on fermentation parameters in high concentrate diets using gas production technique. Sixth Congress of Animal Sciences, University of Tabriz, Iran.
 34. Popovic, M., B. Kaurinovic, S. Trivic, N. Mimica-Dukic, and M. Bursac. 2006. Effect of celery (*Apium graveolens*) extracts on some biochemical parameters of oxidative stress in mice treated with carbon tetrachloride.

- Phytochemical Research, 20: 531-537.
35. Rezaei, F. 2014. Investigating the effect of *Scrophularia striata* Boiss on fermentative and rumen microbial digestion of Lorry- BAKHTEYARI sheep. Thesis of Masters Science Animal nutrition. Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan.
36. Rooghani, M., D. Baluchneghad, T. Mojarad, and M. Ramazani. 2007. The effect of chronic oral administration of the aviation sector Ombo, much of global glucose and lipids Great White streptozotocin-induced diabetes in mice. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 33 (4): 467-458.
37. Rostamzadeh, H., R. Pirmohammadi, and Y. A. Alijoo. 2015. Effect of Ajowan plant essential oil (*caruiincopticun*) on performance and some blood parameters of Mahabadi goats at early lactation period. Animal Sciences Journal, 106: 103-110.
38. Saeedi, S., and A. Diani. 2014. The effect of feeding different levels of fennel powder in starter diets on performance of Holstein dairy calves. Sixth Congress of Animal Science, University of Tabriz.
39. Safari, H., M. Mohiti, and M. Dejamkhoei. 2014. The effect of different levels of dried powder of purslane on blood metabolites of fattening lambs. 6th Animal Sciences Congress, University of Tabriz. (In Farsi).
40. Sahraei Belverdy, M., and R. Pirmohammadi. 2014. Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils on digestibility, blood parameters of Ghezel Sheep. Animal Sciences Journal, 103: 71-82.
41. Smith, H., E. Zoetendal, and R. I. Mackie. 2005. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. Microbial Ecology, 50 (2):197-205.
42. Theodorou, M. K., B. A. Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan, and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 74: 3583-3597.
43. Vakili, A. R., B. Khorrami, M. Danesh Mesgaran, and E. Parand. 2013. The effects of thyme and cinnamon essential oils on performance, rumen fermentation and blood metabolites in Holstein calves consuming high concentrate diet. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 26: 935-944.
44. Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583- 3597.



The Effect of Myrtle (*Myrtus communis*) Leaves on Digestibility, Some Blood and Rumen Metabolites and Protozoa Morphology in Arabi Sheep

K. Salehpour¹- T. Mohammadabadi^{2*}- M. R. Ghorbani³

Received: 20-04-2017

Accepted: 23-12-2017

Introduction: Myrtle is from Myrtaceae family with scientific name, *Myrtus communis*. Myrtle leaves mainly containing terpinolen, cineol, linalool, terpineol and acetate linalyl. Also including the active ingredients as phenolic acids such as galic acid, vanillic acid and ferulic acid, tannins such as galotannin and flavonoids such as, myrcetin, catechin and quercetin. Many plants synthesis secondary metabolites that have antimicrobial activity, regulation of ruminal fermentation and subsequently improve nutrient intake. Information on the use of myrtle leaves in ruminant nutrition is rare, so this experiment was designed to investigate the effect of myrtle leaves on digestion, some blood and rumen parameters and protozoa species in Arabi sheep.

Materials and methods: At first step, the appropriate level of myrtle leaves between the levels 0.2, 0.4 and 0.6 % with diet 70:30 concentrate to forage was determined by *in vitro* methods (gas test and tilly and terry method). Rumen fluid was collected from sheep before the morning feeding. About 200 mg sample (1.0 mm screen) incubated in 100 ml vials with 35 mL buffered rumen fluid under continuous CO₂ reflux for 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24, 48, 72 and 96 h, at 39°C. Cumulative gas production data were fitted to the exponential equation $Y=B(1-e^{-ct})$. Partitioning factor, microbial biomass and truly digested organic matter was calculated. For determination of partitioning factor at the end of each incubation period, the content of vials was transferred into an Erlenmeyer flask, mixed with 20 mL neutral detergent fiber solution, boiled for 1 hour, filtered, dried (in oven at 60 °C for 48 h) and ash. Digestibility of dry matter and NDF of samples were determined using tilly and terry method. Rumen fluid was collected from animals, and were mixed with McDougall buffer in a ratio 1:4. After gasifying with CO₂, tubes were incubated at 39 °C. After 48 h of fermentation, 6 mL of 20% HCl solution and 5 mL pepsin solution were added and the incubated for 48 h, simulating post-ruminal degradation. After incubation, the residual substrates of each tube were filtered and used to determine digestibility of DM and NDF.

At the second step of experiment, the appropriate amount of myrtle leaves; 0.4 %; was used in feeding 8 Arabi sheep (23±1.5 kg) for 30 days. In the end of experiment, feed intake, digestibility, protozoa morphology, some blood metabolites and rumen parameters were measured. Data were subjected to analysis as a completely randomized design using the General Linear Model (GLM) procedure of SAS. version 9.1. The Duncan multiple range test was used to compare means at $P<0.05$.

Results and Discussion: The results of *in vitro* step showed that the best fermentation, gas production and digestibility were for 0.4% the myrtle leaves. On the base of the result of *in vivo* step, using of myrtle leaves had not any effect on dry matter and organic matter intake ($P>0.05$). Treatment containing myrtle leaves had the highest protein intake in compared with control treatment ($P<0.05$). Digestibility of crude protein and NDF in diet with myrtle in comparison to control significantly increased ($P<0.05$). But there was no significant difference between the dry matter, organic matter and ADF digestibility of sheep's ($P>0.05$). Protozoa population was significantly not affected by inclusion myrtle leaves in the diet ($P>0.05$). Ammonia levels in diets treated with myrtle (8.29) significantly reduced in compared with the control (16.5) ($p<0.05$). The myrtle leaves treatment decreased triglyceride and blood glucose of sheep ($P<0.05$). Factors such as period of adaptation to medicinal herbs and interaction with other dietary components and their amounts in the diet, can influence the amount of dry matter intake. Essential oils according to chemical structure, resources and activities have different effects on rumen fermentation and animal performance. The negative effect of active ingredients of medicinal plants on ammonia-producing bacteria caused to decrease of rumen ammonia production, also reducing protozoa and swallowing of bacteria that can be other reason for ammonia decrease. Polysaccharides, flavonoids, glycoproteins, polypeptides, steroids, alkaloids and pectin in plants such as myrtle can justify the hypoglycemic properties of these plants. Medicinal plants and their extracts are effective in reducing blood cholesterol and other lipids. It is reported essential oil reduces pH of intestinal tract through production of degrading enzymes of bile, also inhibit the activity of HMG-COA enzyme.

1, 2 and 3- M.Sc. Graduated Student, Associate Professor and Assistant Professor, respectively, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahwaz, Mollasani, Iran

(*- Corresponding author email: mohammadabadi@ramin.ac.ir)

Conclusion: According to the results, it seems 0.4 % myrtle leaves has beneficial effects on digestibility and can reduce blood glucose and triglyceride; therefore, maybe it can be used as an herbal supplement in Arabi sheep diet.

Keywords: Arabi sheep, Blood factors, Digestibility, Myrtle leaves, Protozoa



تاثیر سطوح مختلف عصاره برگ پسته وحشی بر عملکرد، جمعیت میکروبی سکوم و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی

صادق کرد زنگنه^۱ - محمدرضا قربانی^{۲*} - احمد طاطار^۳ - حسن برزگر^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۱۴

چکیده

به منظور بررسی تاثیر سطوح مختلف عصاره برگ پسته وحشی بر عملکرد، جمعیت میکروبی سکوم‌ها و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی آزمایشی با استفاده از ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه (سویه راس-۳۰۸) به مدت ۴۲ روز در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار به انجام رسید. تیمارهای آزمایشی شامل جیره پایه (شاهد مثبت)، جیره پایه به همراه ۰/۱ درصد آنتی‌بیوتیک فلاوومایسین (شاهد منفی) و جیره پایه به همراه سطوح ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد عصاره برگ پسته وحشی بودند. نتایج آزمایش نشان داد که ضریب تبدیل خوراک در دوره آغازین تحت تاثیر گروه‌های مختلف آزمایشی قرار گرفت و گروه شاهد مثبت کمترین و ۰/۳ درصد عصاره بیشترین ضریب تبدیل خوراکی را داشتند ($P < 0/05$). میزان مصرف خوراک، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک در دوره رشد و کل دوره تحت تاثیر گروه‌های مختلف آزمایشی قرار نگرفتند ($P > 0/05$). غلظت تری گلیسرید و لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار پایین سرم جوجه‌های گوشتی به هنگام استفاده از ۰/۲ و ۰/۳ درصد عصاره نسبت به گروه شاهد مثبت پایین‌تر بودند ($P < 0/05$). تیمارهای آزمایشی تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر جمعیت باکتری‌های کلی فرم نداشتند ولی باعث افزایش معنی‌دار جمعیت میکروبی لاکتوباسیل‌ها و کاهش معنی‌دار اشریشیاکولای در محتویات سکوم شدند ($P < 0/05$). به هنگام استفاده از سطوح ۰/۲ و ۰/۳ درصد عصاره برگ پسته وحشی، pH ایلئوم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$). نتایج این آزمایش نشان داد که عصاره برگ پسته وحشی تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر عملکرد جوجه‌های گوشتی ندارد ولی، باعث کاهش جمعیت باکتری‌های مضر و افزایش جمعیت باکتری‌های مفید محتوای سکوم و همچنین باعث کاهش pH محتویات ایلئومی شد.

واژه‌های کلیدی: پسته وحشی، جوجه‌های گوشتی، عملکرد

مقدمه

با توجه به افزایش جمعیت و نیز افزایش نیاز به منابع پروتئینی حیوانی، اهمیت پرورش متراکم طیور و بهبود بهره‌وری در این صنعت بیشتر نمایان می‌شود. به هنگام پرورش صنعتی و متراکم طیور امکان بروز برخی بیماری‌ها افزایش می‌یابد و به منظور کاهش میزان وقوع این بیماری‌ها و نیز کمک به بهبود صفات تولیدی از مواد شیمیایی

مختلف از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها در سطح وسیعی استفاده می‌شود. افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها احتمال انتقال آن‌ها به فرآورده‌های حیوانی و در نهایت انسان را بالا برده و از این طریق باعث افزایش مقاومت میکروب‌های انسانی به آنتی‌بیوتیک‌های معمول شده و استفاده از آن‌ها را در تغذیه دام و طیور به‌عنوان محرک رشد محدود کرده است. با محدودیت کاربرد آنتی‌بیوتیک‌ها، تمایل به استفاده از متابولیت‌های ثانویه گیاهی دارای فعالیت زیستی به‌عنوان راه‌کاری برای بهبود عملکرد دام و طیور افزایش یافته است (۱۶). بیشتر مواد افزودنی که به‌عنوان محرک رشد و جایگزین آنتی‌بیوتیک معرفی و مورد آزمایش قرار گرفته‌اند تاثیر خود را بر عملکرد جوجه‌های گوشتی به‌واسطه فعالیت ضد میکروبی در دستگاه گوارش اعمال می‌کنند (۱۳). مطالعات متعددی جهت بررسی اثرات سودمند این ترکیبات بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی (۲۲)، فعالیت و کارکرد دستگاه گوارش (۲۰) و مولفه‌های تاثیر گذار بر سلامتی روده (۱۳) انجام شده

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

۴- استادیار گروه صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

(* - نویسنده مسئول)
(Email: ghorbani@ramin.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.v10i3.64501

است.

پسته وحشی بنه، با نام علمی *Pistacia atlantica*، درختی از خانواده *Anacardiaceae*، می‌باشد و خاستگاه آن را حوزه مدیترانه می‌دانند. در ایران در استان‌های ایلام، کرمانشاه، خوزستان، لرستان، کهگیلویه و بویراحمد، فارس، یزد و سیستان و بلوچستان رویش دارد. گورین و همکاران (۱۴) روغن‌های ضروری برگ پسته وحشی را استخراج و عمده‌ترین آنها را آلفا پینن، اسپاتولنول، بی سیکلوجرماسرین و دلتا-۳-کارین گزارش کردند. این محققین نشان دادند خاصیت آنتی‌اکسیدانی روغن این گیاه ده برابر بیشتر از اسید اسکوربیک است (۱۴). گزارش شده است اسانس شیربه بنه خاصیت ضدباکتریایی دارد (۱۸). در مطالعه‌ای نشان داده شد که صمغ پسته خوراکی به علت دارا بودن فلاونوئید، تانن و ساپونین‌ها، دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد است (۲۶). در مطالعات دیگر گزارش شد روغن و اسانس پسته وحشی (۱۷) و عصاره برگ آن (۳۹) دارای تاثیرات ضد میکروبی قوی می‌باشند.

با توجه به محدودیت روزافزون استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه طیور و لزوم استفاده از ترکیبات جایگزین مناسب، هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تاثیر سطوح مختلف عصاره برگ پسته وحشی بنه بر عملکرد، جمعیت میکروبی سکوم‌ها و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر استفاده از سطوح مختلف عصاره پسته وحشی بر عملکرد، جمعیت میکروبی سکوم و سیستم ایمنی جوجه های گوشتی و مقایسه آن با آنتی‌بیوتیک فلاوومایسین، آزمایشی به مدت ۴۲ روز به انجام رسید. در این تحقیق، از ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه (سویه راس-۳۰۸، مخلوطی از هر دو جنس)، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱-جیره پایه (شاهد مثبت، بر پایه ذرت و سویا)، ۲-جیره پایه به همراه ۰/۱ درصد آنتی‌بیوتیک فلاوومایسین (شاهد منفی) و تیمارهای ۳ تا ۵ به ترتیب شامل جیره پایه به همراه سطوح ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد عصاره هیدروالکلی برگ پسته وحشی. جیره‌های آزمایشی برای دو دوره آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی) و رشد (۲۲ تا ۴۲ روزگی) مطابق با احتیاجات توصیه شده NRC (۱۹۹۴) و با استفاده از نرم‌افزار WUFFDA تنظیم شدند. سطوح مختلف عصاره و آنتی‌بیوتیک به صورت سرک به جیره پایه اضافه شدند (جدول ۱).

برگ پسته وحشی بنه از ارتفاعات شهرستان باغملک واقع در استان خوزستان جمع‌آوری و در شرایط سایه خشک گردید. سپس با آسیاب برقی پودر شده و جهت تهیه عصاره هیدروالکلی هر ۱۰۰ گرم

از پودر خشک گیاه با ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد، مخلوط و به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس عصاره به‌دست آمده، توسط کاغذ صافی فیلتر شده و جهت حذف حلال از دستگاه روتاری (N-1000S-W- JAPAN) استفاده گردید.

میزان مصرف خوراک، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری و برای دوره‌های آغازین، رشد و کل دوره محاسبه شدند. در پایان دوره پرورش از هر تکرار ۲ قطعه جوجه که نزدیک‌ترین میانگین وزن را به گروه داشتند انتخاب و پس از توزین به منظور بررسی خصوصیات لاشه کشتار شدند. وزن لاشه و اجزای لاشه نظیر ران‌ها، سینه و چربی محوطه بطنی به دقت اندازه‌گیری شده و به‌صورت درصدی از وزن زنده گزارش گردیدند. به منظور بررسی تاثیر تیمارهای مختلف آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی، از ورید بال ۲ قطعه جوجه از هر تکرار، خون‌گیری به‌عمل آمد و بعد از اخذ سرم، غلظت گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL-کلسترول، و LDL-کلسترول به روش رنگ‌سنجی آنزیمی و با استفاده از کیت‌های بیوشیمی شرکت BIONIK و به‌وسیله دستگاه اتوآنالایزر (هیتاچی، ۹۰۲) اندازه‌گیری شد. در روز ۴۲ دوره پرورش از هر تکرار دو قطعه جوجه به‌صورت تصادفی جدا کرده و بعد از ذبح در شرایط استریل، محتویات سکوم‌ها استخراج و جمعیت باکتری‌ها نظیر لاکتوباسیل، اشیریشیاکولای و کلی‌فرم مورد شمارش قرار گرفتند. برای این کار لاکتوباسیل در روگوسا آگار و در شرایط بی‌هوازی و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ای‌کولای و کلی‌فرم در ایوسین متیلن بلو آگار و در شرایط هوازی و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت شدند. بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت پرگنه‌های تشکیل شده مورد شمارش قرار گرفتند (۱۳).

برای اندازه‌گیری pH محتویات ایلئوم یک گرم از محتویات ایلئوم جوجه‌های کشتار شده (دو قطعه) برداشته و به لوله‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شده و پس از ورتکس با استفاده از pH دیجیتالی، pH آن اندازه‌گیری شد (۲۱). جهت بررسی اثر عصاره برگ پسته وحشی بنه و آنتی‌بیوتیک بر سیستم ایمنی پرندگان، دو قطعه جوجه از هر تکرار با گلبول قرمز خون گوسفندی (۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون ۲۵ درصد SRBC به ازای هر جوجه) در سن ۲۱ و ۳۵ روزگی، از طریق عضله سینه ایمن شدند (۴۲). ۷ روز پس از هر تزریق از طریق سیاهرگ بال خون‌گیری به‌عمل آمده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با استفاده از سانتریفیوژ (۱۵۰۰×g) به مدت ۱۵ دقیقه) سرم جدا گردید و تا انجام آزمایشات در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه‌های سرم جمع‌آوری شده برای پاسخ-آنتی‌بادی به SRBC با استفاده از روش هم‌آگلوتیناسیون (HA) مورد بررسی قرار گرفتند (۱۵).

جدول ۱- مواد تشکیل دهنده و مواد مغذی جیره پایه جوجه‌های گوشتی در طی دوره‌های آغازین و رشد (درصد)

Table 1- Chemical composition and nutrient's ingredients of basal diet of broiler chickens at starter and grower phase (%)

اجزای خوراک Ingredients	دوره آغازین Starter phase	دوره رشد Grower phase
ذرت Corn	55.20	61.08
کنجاله سویا (پروتئین خام ۴۴٪) Soybean meal (44% CP)	37.47	31.81
روغن سویا Soybean oil	3.00	3.50
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.60	1.15
نمک Salt	0.30	0.20
جوش شیرین Sodium Bicarbonate	0.23	0.19
پوسته صدف Oyster shell	1.42	1.45
مکمل ویتامینی ^۱ Vitamin premix ¹	0.25	0.25
مکمل معدنی ^۲ Mineral premix ²	0.25	0.25
دی-ال-متیونین DL-Methionine	0.23	0.10
ضد کوکسیدیوز Coccidiostat	0.05	0.02
ترکیب شیمیایی Chemical composition		
انرژی متابولیسمی (کیلوکالری در کیلوگرم) ME ³ (Kcal/Kg)	2969.00	3081.00
پروتئین خام Crude protein	21.30	19.20
کلسیم Calcium	1.00	0.90
فسفر قابل دسترس Available phosphorus	0.45	0.35
لیزین Lysine	1.15	1.01
متیونین و سیستین Methionine + Cystine (%)	0.90	0.73

۱- ترکیب مکمل ویتامینی استفاده شده به ازای هر کیلوگرم جیره شامل: ویتامین A، ۲۲۵۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین D3، ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، ۷۲ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K، ۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B1، ۴/۳ میلی‌گرم؛ ویتامین B2، ۱۶/۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B6، ۷/۳ میلی‌گرم؛ ویتامین B12، ۰/۰۴ میلی‌گرم؛ نیکوتینیک اسید، ۷۴ میلی‌گرم؛ اسید پانتوتنیک، ۲۴/۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۲/۵ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۰۴ میلی‌گرم؛ کولین ۳ میلی‌گرم.

۲- ترکیب مکمل معدنی استفاده شده به ازای هر کیلوگرم جیره شامل: منیزیم ۵۶ میلی‌گرم، آهن ۲۰ میلی‌گرم، روی ۵۰ میلی‌گرم، مس ۱۰ میلی‌گرم، کبالت ۳۵ میلی‌گرم، ید ۰/۸ میلی‌گرم.
1- Vitamin premix supplied the following per kilogram of diet: vitamin A, 22,500 IU; vitamin D3, 5,000 IU; vitamin E, 72 IU; vitamin K, 5 mg; vitamin B1, 4.3 mg; vitamin B2, 16.5 mg; vitamin B6, 7.3 mg; vitamin B12, 0.04 mg; nicotinic acid, 74 mg; pantothenic acid, 24.5 mg; folic acid, 2.5 mg; Biotin 0.04 mg; choline 3 mg.

2- Mineral premix supplied the following per kilogram of diet: Magnesium, 56 mg; Iron, 20 mg; Zinc, 50 mg; Copper, 10 mg; Cobalt, 35 mg; and iodide, 0.8 mg.

3- ME: Metabolizable Energy

داده‌های حاصل از تحقیق با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.4 (۲۰۱۳) و در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میزان مصرف خوراک، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های مختلف پرورش در جدول ۲ گزارش شده است. سطوح مختلف عصاره برگ پسته وحشی و آنتی بیوتیک تأثیری بر میزان مصرف خوراک و افزایش وزن بدن جوجه‌ها در دوره‌های آغازین، رشد و کل دوره نداشتند. ضریب تبدیل خوراک فقط در دوره آغازین تحت تأثیر قرار گرفت و در گروه‌های استفاده کننده از افزودنی غذایی به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد مثبت بود. گروه دریافت‌کننده ۰/۳ درصد عصاره بالاترین ضریب تبدیل خوراک را داشت و به صورت معنی‌داری از سایر گروه‌های دریافت‌کننده عصاره بالاتر بود. ضریب تبدیل خوراکی حاصل تقسیم میزان مصرف خوراک بر افزایش وزن بدن است و در صورت افزایش میزان مصرف خوراک یا کاهش افت وزن بدن، این عامل افزایش خواهد یافت. با توجه به عدم معنی‌داری مصرف خوراک و افزایش وزن بدن در دوره آغازین به نظر می‌رسد افزایش عددی میزان مصرف خوراک به واسطه استفاده از آنتی‌بیوتیک و به خصوص عصاره پسته وحشی باعث افزایش ضریب تبدیل خوراک در این دوره شده باشد. عدم تأثیر معنی‌دار گروه‌های حاوی آنتی‌بیوتیک و عصاره گیاهی بر میزان خوراک مصرفی و افزایش وزن بدن جوجه‌های گوشتی در این آزمایش، می‌تواند احتمالاً به دلیل پایین بودن عوامل استرس‌زا و فراهم نمودن شرایط محیطی مناسب می‌باشد. محققین معتقدند اثرات مثبت مکمل‌های افزودنی در جیره بر عملکرد جوجه‌ها در نتیجه قرار گرفتن پرندگان در شرایط استرس‌زا، دمای بالا، تراکم زیاد و مدیریت ضعیف و یا تغذیه جوجه‌ها با جیره‌های با قابلیت هضم پایین بیشتر نمایان می‌شود (۳۷). موافق با نتایج آزمایش حاضر، توکلی و همکاران (۳۷) نشان دادند که استفاده از ۲/۵ و ۷ گرم بر کیلوگرم روغن پسته وحشی تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای بر میزان مصرف خوراک، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک کبک تا سن ۶ هفته‌گی نداشت. در آزمایش‌های مشابه با افزودن مخلوط گیاهان دارویی به جیره جوجه‌های گوشتی اثری بر میزان خوراک مصرفی مشاهده نگردید (۴). افزودن آویلامایسین به جیره جوجه‌های گوشتی به هنگام مقایسه آن با گیاهان دارویی اثری بر میزان خوراک مصرفی نداشت (۱۷). همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد با افزایش سن جوجه‌ها اثرات استفاده از عصاره برگ پسته وحشی بنه بر عملکرد پرنده بهبود می‌یابد و از نظر

عددی بیشترین افزایش وزن بدن و میزان مصرف خوراک در دوره رشد و کل دوره در سطح ۰/۳ درصد عصاره مشاهده شد. تأثیر گیاهان دارویی در رابطه با سن پرنده در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است. توکلی و همکاران (۳۷) نشان دادند اگرچه تأثیر روغن پسته وحشی بر عملکرد کبک چوکار در ۶ هفته اول زندگی معنی‌دار نیست ولی در هفته‌های ۷ و ۸ دوره پرورش استفاده از ۷ گرم بر کیلوگرم روغن پسته وحشی باعث بهبود افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک کبک‌ها نسبت به گروه شاهد گردید. این محققین بهبود افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک به واسطه افزایش روغن پسته وحشی را در نتیجه ترکیبات فعال موجود در آن نظیر روغن‌های ضروری با اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی دانستند (۳۷). روغن‌های ضروری با افزایش قابلیت هضم پروتئین، سلولز و چربی و با افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی و پانکراس باعث بهبود عملکرد پرندگان می‌شوند (۳۷). مشابه نتایج آزمایش حاضر، در مطالعه‌ای اثر مثبت عصاره خرفه بر افزایش وزن بدن جوجه‌های گوشتی در سنین بالاتر بهتر نمایان شد (۱۳). همان‌طور که از نتایج پیداست بیشترین افزایش عددی وزن بدن و میزان مصرف خوراک در سطح ۰/۳ درصد مشاهده می‌گردد و لذا ممکن است یکی دیگر از دلایل عدم معنی‌داری، پایین بودن سطح عصاره باشد. مطالعات نشان داده‌اند تأثیر مثبت روغن‌های ضروری بر افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی به عوامل متعددی از جمله سطح مصرف اسانس بستگی دارد و در سطوح بالاتر اثرگذاری بیشتر است (۲ و ۳۷).

موافق با تحقیق حاضر، اثر اسانس و عصاره چند گیاه دارویی و آنتی‌بیوتیک آویلامایسین با گروه شاهد مورد مقایسه قرار گرفت و تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی از لحاظ افزایش وزن بدن مشاهده نشد ولی از لحاظ عددی گروه‌های دریافت‌کننده اسانس و عصاره گیاهان دارویی و آنتی‌بیوتیک آویلامایسین وزن بیشتری نسبت به شاهد داشتند (۲۰). تحقیقات نشان می‌دهند زمانی استفاده از ترکیبات ضد میکروب سودمند خواهد بود که دستگاه گوارش پرنده دچار چالش میکروبی (افزایش بار میکروبی مضر در اثر مواد خوراکی مانند جو و گندم و یا بیماری عفونی) شده باشد. در این شرایط افزودن روغن اسانسی و آنزیم در جیره سبب بهبود ضریب تبدیل خوراک می‌شود (۳). به‌طور کلی تفاوت بازده طیور به هنگام استفاده از ترکیبات فیتوژنیک به ترکیب جیره پایه، سطح خوراک مصرفی، بهداشت و شرایط محیطی و سایر عوامل نظیر زمان برداشت گیاه، مرحله بلوغ گیاه، روش‌های عصاره‌گیری و طول مدت نگهداری ترکیبات مختلف بستگی دارد که نتایج آزمایشات درون‌تنی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۱).

جدول ۲- تاثیر سطوح مختلف عصاره برگ پسته وحشی بنه بر عملکرد جوجه‌های گوشتی

Table 2- Effect of different levels of WPLE on growth performance of broiler chickens

تیمارها Treatments ¹	1-21 d			22-42 d			1-42 d		
	مصرف خوراک (گرم)	افزایش وزن بدن (گرم)	ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم)	مصرف خوراک (گرم)	افزایش وزن بدن (گرم)	ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم)	مصرف خوراک (گرم)	افزایش وزن بدن (گرم)	ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم)
	Feed Intake (g)	'Body Weight Gain (g)	Feed Conversion Ratio (g:g)	Feed Intake (g)	'Body Weight Gain (g)	Feed Conversion Ratio (g:g)	Feed Intake (g)	'Body Weight Gain (g)	Feed Conversion Ratio (g:g)
PC	1138.1	639.3	1.64 ^c	3550.6	1603.8	2.22	4688.0	2297.0	2.04
NC	1173.8	663.0	1.77 ^b	3494.2	1723.5	2.03	4668.0	2386.3	1.96
WPLE1	1203.2	682.8	1.76 ^b	3627.6	1660.0	2.20	4830.9	2342.8	2.06
WPLE2	1190.2	686.8	1.73 ^b	3444.2	1677.0	2.05	4634.4	2363.8	1.96
WPLE3	1217.4	656.3	1.85 ^a	3646.9	1812.3	2.01	4864.2	2468.3	1.97
SEM ²	11.65	7.66	0.01	49.38	30.26	0.03	65.97	32.98	0.02
P values	0.24	0.52	<0.01	0.70	0.26	0.22	0.67	0.61	0.52

¹ PC = Positive Control, corn-soybean basal diet; NC = Negative Control, Avilamycin. WPLE1, WPLE2 and WPLE3 = 0.1, 0.2 and 0.3 % wild pistachio leaves extract, respectively as a fed additives.

² SEM: Standard error of means

^{a,b,c} Means in the same column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ نشان داده شده است. وزن نسبی ران‌ها، سینه، لاشه قابل طبخ، کبد، قلب و چربی محوطه بطنی جوجه‌های گوشتی تحت تاثیر تیمارهای مختلف آزمایشی قرار نگرفتند (P>0.05). درصد چربی

بطنی در گروهی که ۰/۲ و ۰/۳ درصد عصاره مصرف کرده بودند به ترتیب حدود ۲۰ و ۳۰ درصد کمتر از گروه شاهد بود ولی این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>0.05).

جدول ۳- تاثیر سطوح مختلف عصاره برگ پسته وحشی بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی

Table 3- Effect of different levels of WPLE on carcass characteristics of broiler chickens

تیمارها ¹ Treatments ¹	لاشه قابل طبخ (درصد) Dressing (%)	ران‌ها (درصد) Thighs (%)	سینه (درصد) Breast (%)	کبد (درصد) Liver (%)	قلب (درصد) Heart (%)	چربی بطنی (درصد) Abdominal Fat (%)
PC	63.46	19.23	23.66	2.30	0.59	2.00
NC	62.21	18.25	23.75	2.33	0.61	1.95
WPLE1	63.16	18.95	22.81	2.43	0.62	1.63
WPLE2	62.90	19.73	22.78	2.37	0.60	1.60
WPLE3	63.90	18.78	24.10	2.29	0.61	1.40
SEM ²	0.44	0.22	0.28	0.03	0.01	0.08
P values	0.81	0.31	0.48	0.52	0.69	0.10

¹ PC = Positive Control, corn-soybean basal diet; NC = Negative Control, Avilamycin. WPLE1, WPLE2 and WPLE3 = 0.1, 0.2 and 0.3 % wild pistachio leaves extract, respectively as a fed additives.

² SEM: Standard error of means

خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی ندارد. در همین راستا گزارش شده است استفاده از سه گیاه دارویی (آویشن، سرخارگل و سیر) و

محققین گزارش کردند که مصرف سطوح مختلف مرزه (۱۱) و عصاره آویشن (۱) تاثیر معنی‌داری در شرایط مطلوب پرورشی بر

معنی‌داری کاهش داد ($P < 0.05$). تفاوت قابل ملاحظه‌ای در فراسنجه‌های خونی به هنگام افزودن آنتی‌بیوتیک به جیره‌ها نسبت به گروه شاهد مشاهده نگردید. غلظت کلسترول، HDL-کلسترول و LDL-کلسترول سرم خون تحت تاثیر تیمارهای مختلف آزمایشی قرار نگرفت. غلظت گلوکز در تیمار حاوی ۰/۳ درصد عصاره حدود ۱۵ درصد کمتر از گروه شاهد بود و این تفاوت در سطح ۹ درصد معنی‌دار گردید ($P < 0.09$).

آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی نداشتند (۳۱) و این در حالی است که افزودن ۰/۳ درصد عصاره اتانولی نعنای فلفلی در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی سبب کاهش معنی‌دار چربی حفره بطنی شد (۲۹).
تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ نشان داده شده است. استفاده از سطح ۰/۳ درصد عصاره در جیره، میزان تری‌گلیسرید و VLDL-کلسترول سرم خون جوجه‌های گوشتی را نسبت به تیمار حاوی آنتی‌بیوتیک و شاهد به‌طور

جدول ۴- تاثیر سطوح مختلف عصاره برگ پسته وحشی بر برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی (میلی گرم بر دسی لیتر)

Table 4- Effect of different levels of WPLE on some blood biochemical parameters of broiler chickens (mg/dl)

تیمارها ^۱	گلوکز	تری گلیسرید	کلسترول	اچ دی ال ^۲	ال دی ال ^۳	وی ال دی ال ^۴
Treatments ¹	Glucose	Triglyceride	Cholesterol	HDL-c	LDL-c	VLDL-c
PC	239.00	103.50 ^a	104.50	51.75	32.05	20.70 ^a
NC	230.25	96.00 ^{ab}	106.00	49.75	37.05	19.20 ^{ab}
WPLE1	223.75	95.75 ^{ab}	102.75	50.00	33.60	19.15 ^{ab}
WPLE2	234.75	84.50 ^{bc}	99.00	53.00	29.20	16.90 ^{bc}
WPLE3	202.50	79.75 ^c	101.00	52.25	28.80	15.96 ^c
SEM ⁵	4.06	2.80	1.05	0.83	1.51	0.56
P values	0.09	0.03	0.34	0.72	0.70	0.03

^۱ PC = کنترل مثبت، جیره پایه بر اساس ذرت - سویا؛ NC = کنترل منفی، اویلامایسین؛ WPLE1، WPLE2 و WPLE3 به ترتیب حاوی ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد عصاره برگ پسته وحشی به‌صورت سرک.

^۲ لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا، ^۳ لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین، ^۴ لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار پایین

^۵ SEM: خطای استاندارد از میانگین

حروف غیرمشابه در هر ستون نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$)

¹ PC= Positive Control, corn-soybean basal diet; NC= Negative Control, Avilamycin; WPLE1, WPLE2 and WPLE3 =0.1, 0.2 and 0.3 % wild pistachio leaves extract, respectively as a fed additives.

²HDL-c: high density lipoprotein- cholesterol; ³ LDL-c: low density lipoprotein- cholesterol; ⁴ VLDL-c: Very low density lipoprotein- cholesterol

⁵ SEM: Standard error of means

^{a,b,c} Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

کاهش غلظت VLDL-کلسترول خون موجب کاهش میزان چربی بطنی و همچنین کل چربی بدن می‌شود (۴۱). در آزمایش حاضر سطح ۰/۳ درصد عصاره باعث کاهش معنی‌دار غلظت VLDL-کلسترول و همچنین کاهش عددی و ۳۰ درصدی چربی بطنی (جدول ۳) شده است. موافق با نتایج آزمایش حاضر مصرف جیره‌های حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد روغن پسته وحشی باعث کاهش معنی‌دار غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول، VLDL-کلسترول و LDL-کلسترول شد. در آزمایش این محققین غلظت HDL-کلسترول به صورت قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت (۳۲).

اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی سکوم جوجه‌های گوشتی در جدول ۵ نشان داده شده است. تعداد کلنی‌های شمارش شده باکتری اشریشیاکولای در تیمار حاوی ۰/۳ درصد عصاره به صورت قابل ملاحظه‌ای از سایر گروه‌ها کمتر بود. افزایش سطح عصاره به‌صورت خطی باعث کاهش جمعیت این باکتری شده، هرچند تفاوت معنی‌داری بین سطوح ۰/۱ و ۰/۲ درصد عصاره با گروه شاهد و

همانطور که نتایج نشان می‌دهند غلظت تری‌گلیسرید و به تبع آن غلظت لیپوپروتئین‌های با دانسیته بسیار پایین سرم خون جوجه‌های گوشتی با مصرف ۰/۳ درصد عصاره کاهش یافته است. یکی از مهم ترین آنزیم‌های کلیدی درگیر در متابولیسم چربی‌ها فسفاتیدات فسفوهیدرولاز (PAP) می‌باشد. این آنزیم اسید فسفاتیدیک را به دی آسیل گلیسرول و فسفات معدنی تبدیل می‌کند. این واکنش در نقطه ابتدایی متابولیسم گلیسرولیپیدها واقع شده است (۴۰). گزارش شده پودر پسته وحشی بنه باعث کاهش فعالیت PAP و در نتیجه کاهش مقدار تری‌گلیسرید موجود در کبد موش‌های صحرایی می‌شود. به نظر می‌رسد کاهش فعالیت این آنزیم به‌واسطه وجود اسیدهای اولئیک و لینولئیک در پسته وحشی باشد (۱۹ و ۳۲). همچنین در پسته وحشی مقادیری روغن فرار و ترکیبات ترپنوئیدی دیده می‌شود (۳۰) که این محصولات ترپنوئیدی از فعالیت آنزیم هیدروکسی متیل گلوکوزیل کوآنزیم آ ردوکتاز کبدی ممانعت به‌عمل می‌آورند (۸) و در درازمدت ممکن است باعث کاهش کلسترول تام شوند. گزارش شده است که

باکتری‌های لاکتوباسیل به هنگام استفاده از سطوح ۰/۲ و ۰/۳ درصد عصاره به صورت معنی‌داری نسبت به تیمارهای شاهد و ۰/۱ درصد عصاره افزایش یافت (جدول ۳). در این آزمایش استفاده از آنتی بیوتیک تأثیر چندانی بر جمعیت لاکتوباسیل‌ها نداشت و تنها باعث افزایش عددی این باکتری شد. در بین گروه‌های مصرف‌کننده از عصاره برگ پسته وحشی، افزایش سطح عصاره باعث افزایش خطی جمعیت این باکتری‌ها گردید (به ترتیب ۷/۹۸، ۸/۲۸ و ۸/۳۶ کلنی بر گرم محتویات سکوم برای گروه‌های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد عصاره برگ پسته وحشی).

گروه دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک وجود نداشت. استفاده از آنتی‌بیوتیک آویلامایسین باعث کاهش عددی جمعیت باکتری اش‌ریشیاکولای نسبت به شاهد مثبت شد. جمعیت باکتری‌های کلی‌فرم تحت تأثیر تیمارهای مختلف آزمایشی قرار نگرفتند هرچند در مورد این باکتری‌ها نیز استفاده از سطوح ۰/۳ درصد عصاره برگ بنه باعث کاهش عددی جمعیت آنها شد.

باکتری‌های لاکتوباسیل به‌عنوان باکتری‌های گرم مثبت و مفید در دستگاه گوارش به‌شمار می‌روند که در این مطالعه به‌صورت معنی داری تحت تأثیر تیمارهای مختلف آزمایشی قرار گرفتند. جمعیت

جدول ۵- تأثیر سطوح مختلف عصاره برگ پسته وحشی بر جمعیت میکروبی سکوم جوجه‌های گوشتی (log CFU/g)

Table 5- Effect of different levels of WPLE on cecal microbial population of broiler chickens (log CFU g⁻¹)

تیمارها ^۱	اشریشیاکلی	کلی فرم	لاکتوباسیلوس
Treatments ¹	<i>Escherichia coli</i>	Coliforms	<i>Lactobacil</i>
PC	7.31 ^{ab}	7.32	8.09 ^{bc}
NC	7.28 ^{ab}	7.32	8.18 ^{ab}
WPLE1	7.34 ^a	7.33	7.98 ^c
WPLE2	7.22 ^b	7.26	8.28 ^a
WPLE3	7.08 ^c	7.29	8.36 ^a
SEM ²	0.023	0.012	0.039
P values	<0.01	0.39	<0.01

^۱ PC = کنترل مثبت، جیره پایه بر اساس ذرت - سویا؛ NC = کنترل منفی، آویلامایسین؛ WPLE1، WPLE2 و WPLE3 به ترتیب حاوی ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد عصاره برگ پسته وحشی به صورت سرک.

^۲ SEM: خطای استاندارد از میانگین

حروف غیرمشابه در هر ستون نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵)

^۱ PC= Positive Control, corn-soybean basal diet; NC= Negative Control, Avilamycin. WPLE1, WPLE2 and WPLE3 =0.1, 0.2 and 0.3 % wild pistachio leaves extract, respectively as a fed additives.

^۲ SEM: Standard error of means

a,b,c Means in the same column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

پسته وحشی را می‌توان در محتوای ترکیبات فنلی موجود در بنه یافت. برخی محققین دریافتند که لاکتوباسیل‌ها قادرند ترکیبات فنلی را جهت تأمین انرژی برای متابولیسم سلولی مورد سوخت و ساز قرار دهند (۱۰).

بر اساس مطالعه مروری گزارش شده است که در شرایط طبیعی باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک سهم عمده‌ای از فلور روده‌ای جوجه‌ها را به‌خود اختصاص داده و تعداد آنها می‌تواند به ۱۰^۹ واحد تشکیل کلنی به ازای هر گرم محتویات سکوم برسند. این باکتری‌ها غالباً به اسید و صفرا مقاوم هستند. سویه‌های باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک جمعیت‌های سایر باکتری‌ها را به‌صورت مستقیم و یا غیر مستقیم تحت تأثیر قرار می‌دهند. این باکتری‌ها می‌توانند استقرار اش‌ریشیاکولای، کلوستریدیوم پرفرینجنس، و سالمونلا تیفی موریوم را کاهش دهند. باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک با تنظیم جمعیت میکروبی (به‌ویژه با کاهش سویه‌های بیماری‌زا)، ممکن است باعث افزایش امنیت غذایی برای انسان شوند (۲۳). مطالعات نشان می‌دهند که باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک باعث بهبود افزایش وزن

حمایت از میکروارگانیسم‌های مفید روده می‌تواند خسارت ناشی از میکروارگانیسم‌های مضر را کاهش دهد. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که پسته وحشی بر روی باکتری‌های استریتوکوکوس موتانس، استافیلوکوکوس اروتوس، سالمونلا انتریتیدیس، باسیلوس سرئوس، اش‌ریشیاکولای و هلیکوباکتر پیلوری اثر کشندگی دارد (۶). از جمله مهم‌ترین ترکیبات موجود در پسته وحشی بنه می‌توان به آلفا پنین در اسانس برگ (۷) و بتا پنین موجود در پوست سبز بنه (۲۵) اشاره نمود که خواص ضد باکتریایی دارند. بنابراین کاهش باکتری‌های اش‌ریشیاکولای در این تحقیق احتمالاً می‌تواند به دلیل وجود آلفا پنین و بتا پنین باشد. محققین معتقدند ترکیبات فیتوژنیک قادرند جمعیت میکروبی روده‌ای را به سمت میکروارگانیسم‌های مفید تغییر دهند. خواص ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی اساساً به‌خاطر ترکیبات فنولیک آنها بوده که بر سلول‌های باکتری‌ها تأثیر می‌گذارند (۳۴). در مطالعه حاضر، استفاده از عصاره برگ پسته وحشی بنه باعث افزایش تعداد باکتری‌های لاکتوباسیل شده است. علت و چرایی افزایش جمعیت لاکتوباسیل‌ها را به هنگام استفاده از عصاره برگ

جوجه‌های گوشتی می‌شوند (۲۴) که تا اندازه‌ای با نتایج حاصله از این آزمایش تطابق دارد، زیرا تیمارهایی که در آنها تعداد باکتری‌های لاکتوباسیل افزایش یافته است، افزایش وزن عددی بالاتری داشتند. توکلی و همکاران اشاره کردند که روغن پسته وحشی با تحت تاثیر قراردادن میکروب‌های بیماریزا باعث بهبود افزایش وزن کبک چوکار می‌گردند (۳۷).

تاثیر تیمارهای مختلف آزمایشی بر pH محتویات ایلئوم در جدول

جدول ۶- تاثیر سطوح مختلف عصاره برگ پسته وحشی بر pH محتویات گوارشی ایلئوم جوجه‌های گوشتی

Table 6. Effect of different levels of WPLE on ileal digesta pH of broiler chickens

تیمارها ^۱	pH محتویات ایلئومی
Treatments ¹	Ileal digesta pH
PC	5.86 ^a
NC	5.75 ^a
WPLE1	5.78 ^a
WPLE2	5.40 ^b
WPLE3	5.25 ^b
SEM ²	0.05
P values	<0.01

^۱ PC=کنترل مثبت، جیره پایه بر اساس ذرت - سویا؛ NC = کنترل منفی، اویلامایسین؛ WPLE1، WPLE2 و WPLE3 به ترتیب حاوی ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد عصاره برگ پسته وحشی به صورت سرک

^۲ SEM: خطای استاندارد از میانگین

حروف غیر مشابه در هر ستون نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$)

^۱ PC= Positive Control, corn-soybean basal diet; NC= Negative Control, Avilamycin. WPLE1, WPLE2 and WPLE3 =0.1, 0.2 and 0.3

% Wild Pistachio Leaves Extract, respectively as a fed additives.

^۲ SEM: Standard error of means

^{a,b} Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

ایمنی بورس فابریسیوس، طحال و تیموس در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد.

گیاهان دارویی به صورت مستقیم از طریق تحریک بافت لنفاوی در دستگاه گوارش و به صورت غیر مستقیم از طریق تغییر جمعیت میکروبی موجود در دستگاه گوارش بر سیستم ایمنی تاثیر می‌گذارند (۱۲). محققین معتقدند که باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک می‌توانند با بهبود تعادل باکتریایی تاثیر مثبتی بر سیستم ایمنی بگذارند (۲۸). اسیدهای چرب کوتاه زنجیر یکی از فرآورده‌های باکتری‌ها در دستگاه گوارش هستند که از طریق انتشار غیرفعال در روده بزرگ جذب شده و ممکن است به صورت مستقیم فعالیت روده‌ای را تنظیم کنند. بوتیرات ممکن است تولید اینترلوکین-۸ توسط سلول‌های اپیتلیال را تحت تاثیر قرار دهد (۳۳). از آنجا که اینترلوکین-۸ در تجدید نوتروفیل و مونوسیت نقش دارد، لذا ممکن است بوتیرات به طور مستقیم بر پاسخ‌های ایمنی روده‌ای تاثیر داشته باشد. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که علی‌رغم افزایش باکتری‌های لاکتوباسیل و کاهش باکتری اشیریشیاکولای در سکوم، پاسخ ایمنی به صورت معنی‌داری تحت تاثیر مصرف عصاره و آنتی‌بیوتیک قرار نگرفت (جدول ۷). عدم تاثیر قرار گرفتن پاسخ آنتی‌بادی در این

سطح pH در مسیر معده‌ای-روده‌ای عاملی است که روی جمعیت میکروبی آن منطقه و به تبع آن بر قابلیت هضم و مقدار جذب مواد مغذی اثر می‌گذارد. بیشتر باکتری‌های بیماری‌زا در pH نزدیک به ۷ یا کمی بالاتر رشد می‌کنند، در حالی که میکروارگانیسم‌های مفید در pH اسیدی رشد کرده و یا با باکتری‌های بیماری‌زا رقابت می‌کنند (۹). موافق با نتایج آزمایش حاضر، استفاده از روغن آویشن و آنتی‌بیوتیک فلاومایسین در جیره بلدرچین ژاپنی باعث کاهش معنی‌داری pH روده‌ای نسبت به سایر تیمارها شد (۵). در آزمایش حاضر به هنگام استفاده از عصاره برگ پسته وحشی، جمعیت باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک افزایش و باکتری‌های بیماری‌زا کاهش یافت (جدول ۵) که این عامل می‌تواند دلیلی بر تغییر فلور میکروبی دستگاه گوارش به سمت باکتری‌های سودمند و کاهش pH محتویات ایلئوم باشد.

نتایج حاصل از تاثیر تیمارهای آزمایشی بر عیار آنتی‌بادی ضد SRBC و وزن نسبی برخی از اندام‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی در جدول ۷ نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری از نظر عیار آنتی‌بادی ضد SRBC در بین تیمارهای آزمایشی در ۲۸ و ۴۲ روزگی وجود نداشت ($P > 0.05$). تفاوت معنی‌داری از نظر وزن نسبی اندام‌های

آزمایش احتمالاً در ارتباط با وزن بالای پرنده‌ها می‌باشد.

جدول ۷- تأثیر سطوح مختلف برگ عصاره پسته وحشی بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی
Table 7- Effect of different levels of WPLE on immunity response of broiler chickens

تیمارها ^۱ Treatments ¹	سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفندی (لگاریتم ۲) SRBC (log2)		اندام‌های ایمنی (% وزن زنده) Immunity organ (% of live weight)		
	روز ۲۸ d 28	روز ۴۲ d 42	بورس Bursa	تیموس Thymus	طحال Spleen
PC	6.37	7.50	0.16	0.40	0.12
NC	5.50	6.00	0.14	0.37	0.10
WPLE1	5.75	6.75	0.14	0.36	0.09
WPLE2	6.37	7.75	0.18	0.44	0.12
WPLE3	6.00	7.00	0.15	0.38	0.10
SEM ²	0.21	0.31	0.008	0.006	0.01
P values	0.67	0.48	0.06	0.33	0.70

^۱ PC= کنترل مثبت، جیره پایه بر اساس ذرت - سویا؛ NC = کنترل منفی، اویلامایسین؛ WPLE1، WPLE2 و WPLE3 به ترتیب حاوی ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد عصاره برگ پسته وحشی به صورت سرک.

^۲ SEM: خطای استاندارد از میانگین

^۱ PC= Positive Control, corn-soybean basal diet; NC= Negative Control, Avilamycin. WPLE1, WPLE2 and WPLE3 = 0.1, 0.2 and 0.3 % Wild Pistachio Leaves Extract, respectively as a fed additives.

² SEM: Standard error of means

نتایج آزمایش حاضر نشان داد که استفاده از عصاره برگ پسته وحشی در حالی که تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر عملکرد جوجه‌های گوشتی نداشت ولی باعث تعدیل جمعیت میکروبی و بهبود شرایط محتویات دستگاه گوارش شد.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به جهت تأمین مالی این تحقیق تشکر و قدردانی نمایند.

محققین گزارش کردند، پرندگانی که برای وزن بالا انتخاب شده اند، پاسخ آنتی‌بادی پایین‌تری به سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفندی نشان دادند (۳۵). همبستگی منفی بین وزن بدن و پاسخ آنتی‌بادی ممکن است بر اساس اثرات پلی‌تروپیکی برای ژن‌های مرتبط با پاسخ ایمنی باشد (۲۷). همسو با نتایج مطالعه حاضر، استفاده از پودر آویشن با سطوح صفر، ۵ و ۱۰ گرم بر کیلوگرم (۳۷) و عصاره کاملاً به مقدار ۰/۰۵ گرم بر کیلوگرم در جیره (۲۲) تأثیر معنی‌داری بر عیار آنتی‌بادی ضد SRBC و وزن نسبی بورس فابریسیوس و طحال نداشت.

نتیجه‌گیری کلی

منابع

- Abdulkarimi, R., A. M. Aghazadeh, and M. Daneshyar. 2011. Growth performance and some carcass characteristics in broiler chickens supplemented with Thymus extract (*Thymus vulgaris*) in drinking water. Journal of American Science, 7(11): 400-405.
- Al-Kassie, G. A. 2010. The role of peppermint (*Mentha piperita*) on performance in broiler diets. Agriculture Biology, 1(5): 1009-1013.
- Almirall, M., and E. Esteve-Garcia. 1994. Rate of passage of barley diets with chromium oxide: Influence of age and poultry strain and effect of β -glucanase supplementation. Poultry Science, 73(9): 1433-1440.
- Al-Sultan, S. I. 2003. The effect of *Curcuma longa* (turmeric) on overall performance of broiler chickens. International Journal of Poultry Science, 2(5): 351-353.
- Denli, M., F. Okan, and A. N. Uluocak. 2004. Effect of dietary supplementation of herb essential oils on the growth performance, carcass and intestinal characteristics of quail (*Coturnix japonica*). South African Journal of Animal Science, 34: 174-179.
- Dophne, P. D., P. S. James, B. Burke, S. Greg, W. John, and K. John. 2004. Effects of mastic resin and its essential oil on the growth of protolithic *Clostridium botulinum*. International Journal of Food Microbiology, 94(3):313-322.
- Douissa, F. B., N. Hayder, L. Chekir-Ghedira, M. Hammami, K. Ghedira, A. M. Mariotte, and M. G.

- Dijoux-Franca. 2005. New study of the essential oil from leaves of *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) from Tunisia. *Flavors and Fragrance Journal*, 20(4): 410-414.
8. Elson, C. E. 1994. The chemoprevention of cancer by mevalonate-derived constituents of fruits and vegetables. *Journal of Nutrition*, 124: 607-614.
9. Ford, D. J. 1974. The effect of the microflora on gastrointestinal pH in the chick. *British Poultry Science*, 15(1): 131-140.
10. Garcia-Ruiz, A., B. Bartolome, A. J. Martinez-Rodriguez, E. Pueyo, P. J. Martin-alvarez, and M. V. Moreno-Arribas. 2008. Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*, 19(9): 835-841.
11. Ghalamkari, G., M. Toghyani, E. Tavalaeian, N. Landy, Z. Ghalamkari, and H. Radnezhad. 2013. Efficiency of different levels of *Satureja hortensis* L. (Savory) in comparison with an antibiotic growth promoter on performance, carcass traits, immune responses and serum biochemical parameters in broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 10(61): 13318-13323.
12. Gholamrezaie Sani, L., M. Mohammadi, J. Jalali Sendi, S. A. Abolghasemi, and A. Roostaie. 2013. Extract and leaf powder effect of *Artemisia annua* on performance, cellular and humoral immunity in broilers. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 14(1): 15-20.
13. Ghorbani, M. R., M. Bojarpur, M. Mayahi, J. Fayazi, R. Fatemi Tabatabaei, and S. Tabatabaei. 2013. Effect of purslane powder on immunity responses and cecal microflora composition of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 6(2):150-156. (In Persian).
14. Gourine, N., M. Yousfi, I. Bombarda, B. Nadjemi, and E. Gaydou. 2010. Seasonal variation of chemical composition and antioxidant activity of essential oil from *pistacia atlantica* Desf. Leaves. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 87(2): 157-166.
15. Grasman, K. A. 2010. In vivo functional tests for assessing immunotoxicity in birds. *Immunotoxicity Testing: Methods and Protocols*, 387-398.
16. Greathead, H. 2003. Plant and Plants extracts for improving animal Productivity. *Nutrition Society*, 62(2): 279-290.
17. Hammer, K. A., C. F. Carson, and T. V. Riley. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86(6): 985-990.
18. Hanafi, G. M., Sh. Darvishi, N. Darvishi, S. M. S. Ardabili, and F. Mirahmadi. 2012. Study antibacterial properties of pistachio syrup essential oil on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Clostridium sporogenes*. *Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, 17: 1-11. (In Persian).
19. Heidarian, E., R. Hajihossaini, E. Jafari Dehkordy, and H. Omid. 2008. Effects of pistachio nut powder on rat liver phosphatidate phosphohydrolase and serum lipids and lipoproteins profile. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 16(1): 49-58. (In Persian).
20. Hernandez, F., J. Madrid, V. Garcia, J. Orengo, and M. D. Megias. 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poultry Science*, 83(2): 169-174.
21. Izat, A. L., N. M. Tidwell, R. A. Thomas, M. A. Reiber, M. H. Adams, M. Colberg, and P. W. Waldroup. 1990. Effects of a buffered propionic acid in diets on the performance of broiler chickens and on microflora of the intestine and carcass. *Poultry Science*, 69(5): 818-826.
22. Khalaji, S., M. Zaphari, K. H. Hatami, S. Hedari-Dastjerdi, L. Lotfi, and H. Nazarian. 2011. Black cumin seeds, *Artemisia leaves (Artemisia sieberi)*, and *Camellia* L. plant extract as phytogenic products in broiler diets and their effects on performance, blood constituents, immunity, and cecal microbial population. *Poultry Science*, 90(11): 2500-2510.
23. Koutsos, E. A., and V. J. Arias. 2006. Intestinal ecology: Interactions among the gastrointestinal tract, nutrition, and the microflora. *Journal of Applied Poultry Research*, 15: 161-173.
24. Lan, P. T., T. Binhle, and Y. Benno. 2003. Impact of two probiotic *Lactobacillus* strains feeding on fecal lactobacilli and weight gains in chicken. *Journal of General and Applied Microbiology*, 49:29-36.
25. Leite, A. M., E. D. O. Lima, E. L. D. Souza, M. D. F. F. M. Diniz, V. N. Trajano, and I. A. D. Medeiros. 2007. Inhibitory effect of beta-pinene, alpha-pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. *Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas*, 43(1): 121-126.
26. Mansouri, S. M. T., B. Naghi Zadeh, and H. Hossein Zadeh. 2005. The effect of *Pistacia Vera* L. gum extract on oxidative damage during experimental cerebral ischemia-reperfusion in rats. *Iranian Biomedical Journal*, 4(9): 181-185.
27. Martin, A., E. A. Dunnington, W. B. Gross, W. E. Briles, R. W. Briles, and P. B. Siegel. 1990. Production traits and alloantigen systems in lines of chickens selected for high or low antibody responses to sheep erythrocytes. *Poultry Science*, 69(6): 871-878.
28. Mathivanan, R., and K. Kalaïarasi. 2007. Panchagavya and *Andrographis paniculata* as alternatives to antibiotic growth promoters on hematological, serum biochemical parameters and immune status of broilers. *The Journal of Poultry Science*, 44(2): 198-204.

29. Nanekarani, S., M. Goodarzi, M. Heidari, and N. Landy. 2012. Efficiency of ethanolic extract of peppermint (*Mentha piperita*) as an antibiotic growth promoter substitution on performance, and carcass characteristics in broiler chickens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3):1611-1614.
30. Omid, H., H. Omid, and H. Naghdi Badi. 2008. The Effect of *Pistacia atlantica* nut powder on liver phosphatidate phosphohydrolase and serum lipid profile in rat. *Journal of Medicinal Plants*, 2(26): 70-78.
31. Rahimi, S., Z. Teymori Zadeh, K. Torshizi, R. Omidbaigi, and H. Rokni. 2011. Effect of the three herbal extracts on growth performance, immune system, blood factors and intestinal selected bacterial population in broiler chickens. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13: 527-539.
32. Saeb, M., S. Nazifi, and M. Yavari. 2005. Studies on the effects of turpentine oil on the serum concentration of lipids and lipoproteins of male rabbits. *Tabibe Shargh*, 7 (1):1-8. (In Persian)
33. Sanderson I. R. 2004. Short chain fatty acid regulation of signaling genes expressed by the intestinal epithelium. *Journal of Nutrition*, 134:2450-2454.
34. Si, W., J. Gong, R. Tsao, T. Zhou, H. Yu, C. Poppe, R. Johnson, and Z. Du. 2006. Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 100: 296-305.
35. Siegel, P. B., E. A. Dunnington, D. E. Jones, C. O. Ubosi, W. B. Gross, and J. A. Cherry. 1984. Phenotypic profiles of broiler stocks fed two levels of methionine and lysine. *Poultry Science*, 63(5): 855-862.
36. Steiner, T. 2009. *Phytogenics in animal nutrition (Natural concepts to optimize gut health and performance)*. Nottingham University Press.
37. Tavakkoli, H., A. Derakhshanfar, and S. Salandari. 2014. Effect of dietary *Pistacia atlantica* oil on performance and pathological conditions in chukar partridge. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 2 (2): 19-25.
38. Toghyani, M., M. Tohidi, A. A. Gheisari, and S. A. Tabeidian. 2010. Performance, immunity, serum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed dietary thyme as alternative for an antibiotic growth promoter. *African Journal of Biotechnology*, 9(40): 6819-6825.
39. Tohidi, M., M. Khayami, V. Nejati, and H. Meftahizade. 2011. Evaluation of antibacterial activity and wound healing of *Pistacia atlantica* and *Pistacia khinjuk*. *Medicinal Plants Research*, 5(17): 4310-4314.
40. Walton, P. A., and F. Possmayer. 1989. The effects of Triton X-100 and chlorpromazine on the Mg²⁺-dependent and Mg²⁺-independent phosphatidate phosphohydrolase activities of rat lung. *Biochemical Journal*, 261(2): 673-678.
41. Whitehead, C. C., and H. D. Griffin. 1984. Development of divergent lines of lean and fat broilers using plasma very low density lipoprotein concentration as selection criterion: the first three generations. *British Poultry Science*, 25(4): 573-582.
42. Yamuna, K, and A. Thangavel. 2011. Effect of selenium and vitamin E supplementation on immune status in broiler chickens. *Tamilnadu Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 7 (6): 303-306.



Effect of Different Levels of Wild Pistachio (*pistaciaatlantica*) Leaves Extract on Performance, Ceca Microbial Population and Immunity Responses in Broiler Chickens

S. KordZanganeh¹- M. R. Ghorbani^{2*}- A. Tatar³- H. Barzegar⁴

Received: 18-05-2017

Accepted: 05-09-2017

Introduction: The focus on maximizing productivity, production efficiency, and profitability led to the development of intensive animal husbandry conditions. In this case, many diseases were outbreak, and therefore, for controlling of them and enhance performance of farm animals, using of chemical substances such as antibiotics was inevitable. The use of antibiotics as growth promoters (AGPs) in poultry production began from several years ago. They were added to diets growth stimulation. The usage of AGPs is possibly an important factor that promotes the emergence of antibiotic resistant microorganisms in veterinary and human medicine. The use of AGPs has been banned in some countries. Removal of antibiotics from the diet may negatively affect profitability of the animals. Therefore, the feed industry will have to research alternatives instead of antibiotics (15). Various aromatic plants and spices as well as fruits constitute valuable phyto-genic sources. The Pistacia (genus) plant is known for its medicinal property. The plant species *Pistacia Atlantica* available in western mountains of Iran and in Khuzestan, Ilam, Kermanshah, Lorestan provinces. The antimicrobial and antioxidant properties of the native species are known. Therefore, this study was conducted to evaluate the effect of wild pistachio leaves extract (WPLE) (Ethanollic, EtOH-H₂O; 80%) on performance, cecal microbial population and immunity responses of broiler chickens.

Materials and Methods: 241 days old (mixed sex) broiler chicks (Ross308 strain) were used in a completely randomized design in 5 treatments, with 4 replicates and 12 chicks per each replicate. Dietary treatment included: 1) positive control (PC, corn-soybean meal bases diet); 2) negative control (NC, positive control supplemented with 0.1% Flavomicine; 3) WPLE1 (positive control supplemented with 0.1 WPLE); 4) WPLE2 (positive control supplemented with 0.2 WPLE) and 5) WPLE3 (positive control supplemented with 0.3 WPLE). The chicks were fed a corn-soy meal based diet (isocaloric and isonitrogenous (2969.0 kcal/kg metabolizable energy, 21.30% crude protein in starter period (1-21 d) and 3081.0 kcal/kg metabolizable energy, 19.20% crude protein in grower period (22-42 d)) supplemented with different levels of WPLE and Flavomicine as on top. The diets were in mash form and formulated according to the NRC (1994) recommendations. Feed and water were provided *ad libitum* during the experiment. Feed intake (FI), body weight gain (BWG) and feed conversion ratio (FCR) of birds in each pen was recorded weekly and calculated for starter, grower and total phases for each bird. On day 42, two chicks per replicate were slaughtered and carcass characteristics were determined. Blood samples were collected from two birds per replicate to determine blood characteristics including cholesterol, triglycerides (TG), low density lipoprotein (LDL), high-density lipoprotein (HDL) and very low density lipoprotein (VLDL) at the end of the experiment (42 d of age). On day 42, two chicks per replicate were selected randomly and killed aseptically and cecal content of each bird was pooled for determination of microbial population. The ileum digesta samples collected from two slaughtered birds and mixed with distilled water (1:10) and vortexed vigorously and pH was measured using a standard pH meter. For determination of immune response, at 21 and 35 d of age, 1 mL of 25% sheep red blood cell (SRBC) solution was injected into their breast muscle of 2 chicks per replicate and blood samples were collected from brachial vein of the birds 7 d after each injection.

Results and Discussion: The results of this experiment showed that FI and BWG were not affected by antibiotic and WPLE in starter, grower and total phase ($P>0.05$). FCR was increased significantly in starter by

1- Graduated Student of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Iran.

2- Assistant professor, Department of Animal Science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Iran.

3- Assistant professor, Department of Animal Science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Iran.

4- Assistant professor, Department of Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Iran.

(*- Corresponding author email: ghorbani@ramin.ac.ir)

addition of feed additives (WPLe and flavomycin). Means by non-significant differences in this study, maybe due to normal rearing condition. Researcher believed that plant secondary metabolite can exert their positive effects on critical condition. There were no significant differences in immunity and carcass parameters ($P>0.05$). TG and VLDL content of broiler serum were lower in WPLe2 and WPLe3 groups rather than PC. Dietary treatments did not affected Coliform population but increased *Lactobacillus* and decreased *Escherichia coli* population of cecal content significantly ($P<0.05$). The antibacterial properties of plant extracts could be attributed mainly to their phenolic components and their mechanisms of action on the microbial cell. A possible explanation for the stimulatory effect of polyphenolic compounds on beneficial bacterial growth is that some microorganisms are able to use these compounds as nutritional substrates. In the particular case of lactobacilli, these bacteria possess the ability to metabolize phenolic compounds supplying energy to cells and positively affecting the bacterial metabolism. The pH of ileal digesta was decreased significantly in 0.2 and 0.3% of WPLe ($P<0.05$). Increasing lactobacilli bacteria population can decrease pH of gut digesta.

Conclusion: The results of this experiment suggest that WPLe can increase population of beneficial bacteria and decrease pathogen bacteria in cecal content and can lowering pH of ileal digesta.

Keywords: Broiler chickens, Performance, Wild pistachio



تعیین ترکیبات شیمیایی و کیفیت پروتئین برخی از کنجاله‌های سویای داخلی و وارداتی و کنجاله گلوتن ذرت با روش‌های شیمیایی و بیولوژیکی

رقیه جباری^۱ - حسین جانمحمدی^{۲*} - سیدعلی میرقلنج^۳ - روح‌الله کیانفر^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۱۲

چکیده

در پژوهش حاضر نمونه کنجاله‌های سویای برزیلی، آرژانتینی و ایرانی و یک نمونه کنجاله گلوتن ذرت ایرانی از کارخانجات خوراک طیور استان آذربایجان شرقی جهت تعیین ترکیبات شیمیایی و کیفیت پروتئین تهیه شد. میانگین پروتئین خام کنجاله سویای برزیلی، آرژانتینی، ایرانی و کنجاله گلوتن ذرت به ترتیب ۴۷/۳، ۴۶/۲، ۴۶/۴ و ۶۵/۵ درصد و مقادیر عصاره اتری به ترتیب ۹/۱، ۸/۶، ۱۲/۴ و ۷/۶ درصد بود. برای ارزیابی بیولوژیکی کیفیت پروتئین نمونه‌های کنجاله سویا و یک نمونه کنجاله گلوتن ذرت از ۱۰۰ قطعه جوجه خروس سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار و ۵ قطعه جوجه در هر تکرار استفاده شد. جیره‌های آزمایشی از سن ۸ تا ۱۷ روزگی به جوجه‌ها تغذیه شدند. جیره‌های آزمایشی شامل یک جیره خالص فاقد نیترژن و چهار جیره غذایی نیمه خالص آزمایشی حاوی کنجاله‌های سویا و کنجاله گلوتن ذرت بود. برای ارزیابی شیمیایی کیفیت پروتئین نمونه‌های کنجاله سویا نیز از شاخص فعالیت آنزیم اوره‌آز و حلالیت پروتئین در محلول هیدروکسید پتاسیم ۰/۲ درصد استفاده شد. شاخص اوره‌آز برای کنجاله سویای برزیلی، آرژانتینی، ایرانی به ترتیب ۰/۰۵، ۰/۰۷ و ۰/۰۷ و حلالیت پروتئین در محلول هیدروکسید پتاسیم ۰/۲ درصد به ترتیب ۸۸/۳۹، ۸۵/۵۱ و ۸۶/۸۲ درصد تعیین گردید. کمترین مقادیر NPR و PER در کنجاله گلوتن (ذرت ۱/۳۷ و ۰/۳۶) و بیشترین مقادیر در کنجاله سویای آرژانتینی (۳/۷۴ و ۳/۱۳) یافت شد. نتیجه‌گیری گردید که کمیت و کیفیت پروتئین نمونه داخلی کنجاله سویا مورد مطالعه قابل مقایسه با نمونه‌های آرژانتینی و برزیلی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: جوجه خروس گوشتی، حلالیت پروتئین در هیدروکسید پتاسیم، شاخص اوره‌آز، نسبت بازده پروتئین

مقدمه

(۳۱). همچنین دانه سویا حاوی بعضی از مواد سمی، تحریک‌کننده و بازدارنده از جمله مواد آلرژی‌زا، گواترزا و عوامل ضد انعقاد می‌باشد (۲۴). در میان مواد ضد تغذیه‌ای دانه سویا، بازدارنده‌های پروتئاز از نظر تغذیه‌ای اهمیت زیادی دارند. برخی از این مواد از فعالیت آنزیم تریپسین جلوگیری می‌نمایند. با توجه به این که تریپسین آنزیم مهمی در هضم پروتئین می‌باشد بنابراین می‌تواند باعث کاهش قابلیت هضم پروتئین در روده گردد. با توجه به این که برای تولید کنجاله سویا، دانه‌های سویا مورد فرآوری حرارتی قرار می‌گیرند بنابراین مقدار این مواد ضد تغذیه‌ای در کنجاله سویا تا حد زیادی کاهش می‌یابد. کنجاله گلوتن ذرت یکی از محصولات فرعی کارخانجات تهیه و تولید روغن ذرت و تولید نشاسته است. این ماده غذایی که از ارزش پروتئینی خاصی برخوردار می‌باشد می‌تواند به‌عنوان تأمین‌کننده بخشی از پروتئین خوراک طیور و آبزیان مورد مصرف قرار گیرد. میزان پروتئین کنجاله گلوتن ذرت بستگی به نوع فرآیند آن دارد ولی دامنه تغییرات آن از ۴۰ تا ۶۰ درصد متغیر است (۲۷). کنجاله گلوتن ذرت علاوه بر

تأمین خوراک یکی از مهم‌ترین و پرهزینه‌ترین بخش‌های صنعت پرورش طیور می‌باشد (۲۵). بخش مهمی از این خوراک را منابع پروتئینی تشکیل می‌دهند که می‌توان گفت گران‌ترین بخش جیره غذایی می‌باشند. در بین منابع پروتئینی مورد استفاده در جیره‌های طیور، کنجاله دانه‌های روغنی دارای اهمیت به‌سزایی می‌باشند (۱۶) که در حال حاضر مهم‌ترین منبع آن در کشور ما کنجاله سویا می‌باشد. کنجاله سویا منبع مناسبی از اسیدهای آمینه ضروری به‌ویژه لیزین، آرژنین، گلیسین و تربیتوفان می‌باشد ولی مقادیر اسیدهای آمینه سیستئین و متیونین موجود در آن کمتر از سطح مطلوب است

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، استاد و استادیار گروه علوم دامی،

دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

(*)- نویسنده مسئول: (Email: mehrzad.hosseini@gmail.com)

DOI: 10.22067/ijasr.v10i3.63177

روش‌های شیمیایی و بیولوژیکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت: این پژوهش در

سال ۱۳۹۳ در ایستگاه آموزشی و پژوهشی خلعت‌پوشان دانشگاه تبریز انجام شد. بدین منظور نمونه‌هایی از کنجاله‌های سویای تجارتی و گلوتن ذرت از کارخانجات خوراک طیور شهرستان تبریز به‌طور تصادفی در ۴ تکرار جمع‌آوری و برای تجزیه شیمیایی به آزمایشگاه تغذیه دام پیشرفته گروه علوم دامی منتقل شدند.

تجزیه شیمیایی: درصد رطوبت و خاکستر خام، مطابق روش

های توصیه شده AOAC (۲) تعیین شد. نیتروژن با استفاده از دستگاه کلدال (Foss detector, 240, Sweden)، انرژی خام با استفاده از دستگاه بمب کالریمتر آدیاباتیک (Parr, USA)، چربی خام با استفاده از دستگاه سوکسله (Solvent Extraction, VELP, 148, Italy) اندازه‌گیری گردید.

ارزیابی بیولوژیکی: برای ارزیابی بیولوژیکی کیفیت پروتئین

کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت، تعداد ۱۰۰ قطعه جوجه خروس گوشتی سویه راس ۳۰۸ خریداری و تا سن ۷ روزگی با جیره بر پایه ذرت و کنجاله سویا طبق راهنمای سویه راس ۳۰۸ تغذیه شدند. در سن ۷ روزگی جوجه‌ها به‌طور انفرادی توزین و به‌طور تصادفی بین جیره‌های آزمایشی حاوی سه نمونه کنجاله سویا و یک نمونه کنجاله گلوتن ذرت توزیع شدند. جوجه‌ها در قفس‌های دارای کف توری و با ابعاد حدود ۵۰ × ۷۰ × ۷۰ سانتی‌متر در داخل سالن با سیستم تهویه مرکزی نگهداری شدند. نوردهی به‌صورت ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی بود. در طول آزمایش آب و خوراک به‌طور آزاد در دسترس جوجه‌ها قرار گرفت. یک جیره فاقد نیتروژن بر پایه نشاسته ذرت و گلوکز (جدول ۱) نیز برای تعیین کیفیت پروتئین نمونه‌های کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت با روش‌های PER و NPR تهیه شد. جیره‌های نیمه خالص از جایگزین کردن نمونه‌های کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت با بخشی از نشاسته ذرت در جیره عاری از نیتروژن جهت تأمین ۱۰ درصد پروتئین خام تهیه شدند (۲۸). جیره‌های آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار به واحدهای آزمایشی دارای ۵ قطعه جوجه خروس به‌طور تصادفی اختصاص یافته و از روز هشتم تا پایان روز هفدهم به‌طور آزاد به جوجه‌ها تغذیه شدند. میزان مصرف خوراک و افزایش وزن جوجه‌های هر گروه پس از یک شب گرسنگی در سن ۱۷ روزگی اندازه‌گیری شد. مقادیر PER و NPR از فرمول‌های زیر محاسبه شدند:

$$PER = \frac{WG}{PI} \quad (۱)$$

این که به‌عنوان یک منبع خوب پروتئینی می‌تواند مصرف شود به عنوان یکی از منابع تأمین‌کننده متیونین خوراک طیور و آبزیان نیز مورد توجه است. کنجاله گلوتن ذرت دارای کربوهیدرات قابل هضم و پروتئین زیادی است که برای جوجه‌های گوشتی که نیازمند به سطوح بالای انرژی و پروتئین هستند، می‌تواند سودمند باشد (۲۷). برای تعیین کیفیت پروتئین منابع پروتئین گیاهی در جوجه‌ها از روش‌های بیولوژیکی مختلفی می‌توان استفاده کرد. در میان روش‌های مختلف، روش‌های نسبت بازده پروتئین (PER) و نسبت ویژه پروتئین (NPR) که در ابتدا برای موش استفاده می‌شد (۱۱) نیز امروزه به‌طور گسترده‌ای جهت مطالعه کیفیت پروتئین منابع پروتئینی گیاهی در جوجه‌های جوان و ماهی قزل‌آلا استفاده می‌شود (۱، ۶، ۸، ۲۱ و ۲۸). اسیداوریک فرآورده نهایی متابولسیم نیتروژن در پرندگان است. با افزایش پروتئین مصرفی یا با کاهش کیفیت پروتئین جیره، اسیداوریک سرم خون افزایش می‌یابد و آن نیز می‌تواند به‌عنوان یک معیاری برای ارزیابی کیفیت پروتئین استفاده شود (۱۴). به دلیل این که روش‌های بیولوژیکی تعیین کیفیت پروتئین کنجاله سویا، زمان‌بر و پرهزینه می‌باشند، بنابراین روش‌های ساده و کاربردی‌تر در شرایط آزمایشگاهی پیشنهاد شده است که شاخص فعالیت اوره‌آز و حلالیت پروتئین در هیدروکسید پتاسیم از مهم‌ترین و کاربردی‌ترین آنها می‌باشد (۱۹). با توجه به این که حساسیت آنزیم اوره‌آز به حرارت مشابه حساسیت ممانعت‌کننده تریپسین سویا می‌باشد و اندازه‌گیری آن نیز آسان‌تر است بنابراین میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز یا شاخص اوره‌آز^۱ می‌تواند به‌عنوان معیاری برای میزان فعالیت ممانعت‌کننده تریپسین کنجاله سویا مورد استفاده قرار گیرد. در روش شاخص اوره‌آز، اوره در حضور یک معرف به آمونیاک تبدیل می‌شود (۳۲). روش شاخص اوره‌آز بیشتر تعیین کیفیت کنجاله‌هایی استفاده می‌شود که کمتر از حد حرارت دیده‌اند ولی برای تشخیص این که دانه سویا بیش از حد حرارت دیده یا نه، از روش‌های مناسب‌تر دیگری مانند حلالیت پروتئین در هیدروکسید پتاسیم^۲ استفاده می‌شود. این آزمون بر اساس حلالیت پروتئین‌های سویا در یک محلول رقیق شده هیدروکسید پتاسیم است که با افزایش حرارت فرآوری، مقدار این شاخص کاهش می‌یابد (۳). راویندران و همکاران (۲۳) مقادیر شاخص اوره‌آز و حلالیت پروتئین در هیدروکسید پتاسیم را در کنجاله‌ی سویا کشورهای آمریکا، آرژانتین، برزیل و هند را تعیین و تفاوت‌های معنی داری را در بین آنها گزارش نمودند.

هدف این تحقیق ارزیابی ترکیبات شیمیایی و کیفیت پروتئین برخی کنجاله‌های سویای تجارتی و کنجاله گلوتن ذرت به‌وسیله

1- Urease index

2- Protein Solubility in KOH (P_sKOH)

محلول به نام نمونه تست بود. بعد از ۵ دقیقه، ۰/۲ گرم از کنجاله سویا به داخل لوله دیگری به نام لوله خالی ریخته و ۱۰ میلی‌لیتر از محلول بافر فسفات به آن اضافه شده این محلول نیز به نام نمونه خالی (Blank tube) شناخته شد. محلول بافر اوره و بافر فسفات به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری (۳۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. بعد از ۳۰ دقیقه لوله‌ها از بن‌ماری در آورده شده و خوب به هم زده شدند. اختلاف بین pH محلول بافر فسفات و محلول اوره اندازه‌گیری شد و به‌عنوان شاخص فعالیت اوره‌آز محاسبه گردید.

(نمونه خالی pH) - (نمونه تست pH) = شاخص اوره‌آز

حالاتیت پروتئین در محلول هیدروکسید پتاسیم ۰/۲ درصد

در این آزمایش، ۱/۵ گرم از کنجاله سویا به ۷۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۲ درصد هیدروکسید پتاسیم افزوده شد و برای ۲۰ دقیقه در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد به آرامی تکان داده شد. پس از ۲۰ دقیقه، حدود ۵۰ میلی‌لیتر از محلول به داخل لوله‌های سانتریفیوژ انتقال یافت. ترکیب فوق به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۲۵۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از این مرحله، ۱۵ میلی‌لیتر از این مایع فیلتر شده و نیتروژن این مایع (معرف پروتئین محلول) با دستگاه کلدال تعیین و در عدد ۶/۲۵ ضرب شد تا میزان پروتئین خام به‌دست آید. حاصل تقسیم پروتئین خام نمونه کنجاله سویای ترکیب شده با هیدروکسید پتاسیم به پروتئین خام کنجاله سویای اولیه به‌عنوان شاخص حالاتیت پروتئین در محلول هیدروکسید پتاسیم گزارش شد (۳).

داده‌های حاصله در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ (۲۶) با رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال اشتباه ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی: ترکیب شیمیایی نمونه‌های کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت در جدول ۲ آورده شده است. نتایج حاصل از تجزیه ترکیبات شیمیایی نشان داد که میانگین مقادیر رطوبت، پروتئین خام، خاکستر خام، NDF و ADF کنجاله سویای ایرانی در دامنه کنجاله‌ها سویای برزیلی، آرژانتینی بود ولی از مقدار عصاره اتری بیشتری برخوردار بود که حاکی از روغن‌گیری ناقص آن بوده و می‌تواند ماندگاری و انبارداری آن را تحت تأثیر منفی قرار دهد. مقادیر انرژی خام نیز برای مواد خوراکی کنجاله سویای برزیلی، آرژانتینی، ایرانی و کنجاله گلوتن ذرت به‌ترتیب ۵۰۹۵، ۴۶۷۷، ۴۹۸۵ و ۵۹۲۴ کیلوکالری در کیلوگرم تعیین شد.

$$NPR = \frac{WG - WL}{PI} \quad (2)$$

WG = افزایش وزن به گرم در جیره‌های نیمه‌خالص

PI = مصرف پروتئین به گرم

WL = افزایش وزن به گرم در جیره خالص عاری از نیتروژن

در پایان آزمایش برای اندازه‌گیری غلظت اسیداوریک گلوگز و پروتئین تام سرم خون، دو قطعه جوجه از هر واحد آزمایشی مورد خون‌گیری قرار گرفت و مقادیر آنها در نمونه‌های سرم خون در آزمایشگاه مرکز تحقیقات دارویی کاربردی دانشگاه علوم پزشکی تبریز^۱ تعیین گردید. پس از خون‌گیری، کلیه جوجه‌های هر واحد آزمایش با استفاده از روش جابه‌جایی گردنی کشته شده و عضله سینه جوجه‌های هر واحد آزمایشی جدا و توزین گردید. جهت اندازه‌گیری خاکستر استخوان درشتنی و جلوگیری از آلودگی محیط زیست به دلیل به‌کارگیری حلال‌های شیمیایی در روش معمول (۲)، از روش اتوکلاو کردن (۵ و ۱۰) استفاده گردید. به این منظور استخوان درشتنی راست جوجه‌ها جدا و به مدت ۸ تا ۱۲ دقیقه تحت فشار ۶/۸۲ کیلوگرم در اتوکلاو قرار گرفت. پس از سرد شدن استخوان‌ها، کلیه بافت‌های ضمیمه و نیز غضروف سر استخوان جدا شد. استخوان‌ها در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شده و پس از توزین در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک شب مورد خاکسترگیری قرار گرفتند. درصد خاکستر استخوان درشتنی از تقسیم کردن وزن خاکستر حاصل بر وزن قبل از خاکسترگیری و ضرب کردن در عدد ۱۰۰ محاسبه شد.

ارزیابی شیمیایی

شاخص فعالیت اوره‌آز

برای این منظور، ابتدا محلول‌های بافر اوره و بافر فسفات تهیه شد. در ابتدا برای تهیه محلول بافر فسفات، ۳/۴۳ گرم از فسفات پتاسیم تک ظرفیتی در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۴/۳۵۵ گرم از فسفات پتاسیم دو ظرفیتی در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید و سپس این دو محلول با هم مخلوط شده و به حجم ۱ لیتر رسانده شد تا pH در عدد ۷.۰۰ ثابت شود. برای تهیه محلول بافر اوره ۱۵ گرم اوره خالص در ۵۰۰ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات حل شد و pH محلول بافر اوره نیز با یک اسید یا باز قوی در عدد ۷ ثابت گردید. بعد از تهیه محلول‌های بافر، ۰/۲ گرم از کنجاله سویا به داخل لوله تست ریخته شد و ۱۰ میلی‌لیتر از محلول بافر اوره به آن اضافه گردید. این

جدول ۱- ترکیبات جیره خالص فاقد نیتروژن (بر اساس وزن تر)

Table 1- Composition of Nitrogen- free diet (as fed basis)

اجزای جیره Ingredients	مقادیر (درصد) Values (Percent)
نشاسته ذرت Corn starch ¹	93.60
روغن ذرت Corn oil	2.50
پودر صدف Oyster shells	0.87
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	2.13
نمک طعام Salt	0.40
مکمل ویتامینی Vitamin premix ²	0.25
مکمل مواد معدنی Mineral premix ³	0.25
مواد مغذی محاسبه شده Calculated nutrient composition	
انرژی قابل سوخت و ساز (کیلوکالری در کیلوگرم) AME _n (Kcal/Kg)	4070
(درصد) پروتئین خام Crude protein (%)	0
(درصد) کلسیم Calcium (%)	0.8
(درصد) فسفر غیر فیتاته Non-phytated-P (%)	0.4
سدیم Sodium	0.16

¹ More four semi- experimental diets were obtained with replacing three soy bean meal samples and one sample corn gluten meal (65 % CP) with corn starch for supplying 10 percent crude protein in the diets.

² Each kg of vitamin premix provided the following: vitamin A 7.2 g, vitamin D3 1.6, vitamin E 14.4 g, vitamin K 1.6 g, cobalamine 0.6 g, thiamin 0.72 g, riboflavin 3.3 g, pantothenic acid 4.9g, niacin 4 g, pyridoxine 1.2 g, Acid folic 0.5 mg and choline chloride 400 mg.

³ Each kg of mineral premix provided the following: Mno 64 g, Zn 100 g, Fe 44 g, Cuso₄ 16 g, Ca (IO₃)₂ 0.64, Se 8 g.

اندازه‌گیری شده در این آزمایش ۶۵/۵ درصد بوده که با میزان پروتئین ۶۰ درصد گزارش شده در NRC (۲۰) تفاوت زیادی داشت و این میزان اختلاف نیز با توجه به تفاوت در مناطق کشت ذرت، آب و هوای متفاوت و شیوه فرآوری آن توجیه‌پذیر می‌باشد. میزان پروتئین خام گزارش شده برای کنجاله گلوتن ذرت توسط راجل و کر (۲۴) برابر ۶۶/۳۰ و فرشادیان (۹) برابر ۵۷/۴۸ درصد بوده که با میزان پروتئین کنجاله گلوتن ذرت در تحقیق حاضر اختلاف داشت. میزان خاکستر خام موجود در کنجاله گلوتن ذرت این آزمایش ۶/۵ درصد بوده که بیشتر از خاکستر خام کنجاله گلوتن ذرت گزارش شده توسط

کارمن متئو و همکاران (۱۷) مقدار پروتئین خام نمونه کنجاله سویای برزیلی را ۴۷/۴ و ۴۷/۶ درصد گزارش کردند که با نتایج تحقیق حاضر هماهنگ است. چی و همکاران (۶) مقدار پروتئین خام کنجاله سویای برزیلی را ۴۴/۲ درصد گزارش کردند که با نتایج ما هماهنگی دارد. متئو و همکاران (۱۷) همچنین مقدار پروتئین خام نمونه کنجاله سویای آرژانتینی را ۴۶/۸ درصد گزارش کردند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت نشان می‌دهد. ماتئوز و همکاران (۱۸) مقدار پروتئین خام کنجاله سویای آرژانتینی را ۴۵/۴ درصد و کنجاله سویای برزیلی را ۴۶/۶ درصد گزارش کردند. میزان پروتئین خام کنجاله گلوتن ذرت

بالای روغن می‌تواند باعث فسادپذیری بیشتر کنجاله سویا نیز شود. میزان چربی خام کنجاله گلوتن ذرت در آزمایش حاضر ۷/۵ درصد در وزن تر است که در NRC (۱۹) این میزان برای کنجاله گلوتن ذرت با ۶۰ درصد پروتئین ۲/۵ الی ۳/۵ درصد در وزن تر است که تفاوت در مقدار عصاره اتری به دلیل درجه جداسازی (نشاسته و فیبر) در هنگام آسیاب کردن و روش روغن‌گیری (مکانیکی یا شیمیایی به لحاظ محتوای روغن) از جرم ذرت بوده و می‌تواند در نمونه کارخانه‌های مختلف متفاوت باشد. مقدار انرژی خام گزارش شده برای کنجاله گلوتن ذرت توسط راجل و کر (۲۴) ۵۴۶۷ کیلوکالری بر کیلوگرم و فرشادپان (۹) برابر ۵۱۷۰ کیلوکالری بر کیلوگرم می‌باشد که اختلاف اندکی با میزان گزارش شده در این آزمایش داشت.

(۹ و ۳۳) می‌باشد. همچنین عصاره اتری به‌دست آمده در گزارش متئو و همکاران (۱۷) برای کنجاله سویای برزیلی ۱/۱۴ و برای کنجاله سویای آرژانتینی ۱/۱۳ است که کمتر از تحقیق حاضر است. چربی و همکاران (۶) مقدار چربی خام نمونه کنجاله سویا برزیلی و کنجاله سویای آرژانتینی را ۱/۸۰ و ۲/۱۱ درصد گزارش کردند که پایین‌تر از گزارش حاضر می‌باشد. همچنین در گزارش NRC (۲۰) مقدار چربی خام نمونه کنجاله سویا پایین‌تر از تحقیق حاضر است که دلیل آن احتمالاً مربوط به سیستم روغن‌کشی در هنگام فرآوری می‌باشد. مقدار چربی خام در نمونه کنجاله سویا ایرانی بالاتر از بقیه نمونه‌ها است که دلیل آن احتمالاً مربوط به روش روغن‌کشی است که مقدار زیادی روغن داخل کنجاله سویای ایرانی باقی مانده است که این مقدار

جدول ۲- ترکیب شیمیایی (درصد، بر حسب وزن) و انرژی خام کنجاله‌های سویا و کنجاله گلوتن ذرت (کیلوکالری در کیلوگرم)

Table 2- Chemical composition (%، as fed) and gross energy (Kcal/Kg) value of soybean meals and corn gluten meal

ترکیبات شیمیایی Chemical composition	کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal	کنجاله سویا Soybean meal		
		ایرانی Iranian	آرژانتینی Argentinian	برزیلی Brazilian
رطوبت (درصد) Moisture %	4.81*± 0.25	7.4 ±0.43	7.4±0.43	7.5±0.39
خاکستر (درصد) Ash%	2.15±0.15	6.5±0.35	6.5± 0.35	6.5±0.35
پروتئین خام (درصد) Crude protein %	65.5±0.78	46.4±0.40	46.3±0.45	47.4±0.55
عصاره اتری (درصد) Ether extract %	7.55±0.37	12.4±0.36	8.6±0.36	9.05±0.32
ADF %	10.34±0.21	9.4±0.32	10.9±0.40	8.3±0.21
NDF %	26.83±.55	10.43±0.36	12±.19	10.93±0.59
(کیلو کالری در کیلوگرم) انرژی خام Gross energy (Kcal/Kg)	5924±43.51	4985±4.38	4677±13.27	5095±5.02

* حاصل میانگین ۴ عدد است.

و همکاران (۱۷) و بیکر (۴) بیشتر از تحقیق حاضر بود که احتمالاً به دلیل تفاوت در کمیت و توازن اسیدهای آمینه در کنجاله‌ها سویا، سن و جنس جوجه‌ها می‌باشد.

بازده غذایی در جیره‌های غذایی مختلف نیمه خالص شامل کنجاله سویا برزیلی، آرژانتینی، ایرانی دریافت تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. بازده غذایی کنجاله گلوتن ذرت نسبت به سه نمونه کنجاله سویا به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($P<0.05$) که به دلیل ارزش بیولوژیکی پایین و توازن نامناسب اسیدهای آن در مقایسه با کنجاله سویا دور از انتظار نبود. پروتئین موجود در کنجاله گلوتن از نظر اسیدهای محدودکننده لایزین و متیونین فقیر می‌باشد.

نتایج نشان دادند که جوجه‌های دریافت‌کننده جیره فاقد نیتروژن علاوه بر این که کاهش وزن از سن ۸ تا ۱۷ روزگی نشان دادند، درصد گوشت سینه لاشه آنها نیز کاهش معنی‌داری در مقایسه با جیره‌های نیمه خالص نشان داد ($P<0.05$) که این موضوع اهمیت تأمین پروتئین خوراک را در میزان درصد تولید بافت عضلانی سینه را

ارزیابی بیولوژیکی: میزان عملکرد رشد، وزن سینه، درصد سینه و درصد خاکستر استخوان درشت‌نی جوجه‌های تغذیه شده با نمونه‌های مختلف کنجاله سویا، کنجاله گلوتن ذرت و جیره فاقد نیتروژن در جدول ۳ آورده شده است. نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد که جوجه‌هایی که جیره‌های غذایی فاقد نیتروژن دریافت کرده بودند، کاهش وزن داشتند ولی جوجه‌هایی که جیره‌های نیمه خالص حاوی کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت دریافت کرده بودند، افزایش وزن نشان دادند. اگرچه افزایش وزن جوجه‌هایی که نمونه کنجاله سویای آرژانتین دریافت کرده بودند، نسبت به نمونه‌های کنجاله سویای برزیلی و ایرانی از نظر عددی بیشتر بود، ولی تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌ها وجود نداشت. جوجه‌هایی که کنجاله گلوتن ذرت را دریافت کرده بودند، نسبت به جوجه‌هایی که کنجاله سویا دریافت کرده بودند، افزایش وزن پایین‌تری داشتند.

افزایش وزن جوجه‌هایی که کنجاله سویای برزیلی و کنجاله سویای آرژانتینی دریافت کرده بودند، در مطالعه انجام شده توسط متئو

بیشترین مقادیر خاکستر استخوان درشت‌نی مربوط به جوجه‌های دریافت‌کننده کنجاله سویای برزیلی بود (۴۵/۳۵ درصد)، این نتیجه می‌تواند احتمالاً به تفاوت‌های محتوی عناصری چون کلسیم، فسفر و روی و زیست‌فراهمی آنها و نیز مقدار اسید فایتيک مربوط باشد.

در جوجه‌های گوشتی نشان می‌دهد. در میان جیره‌های آزمایشی نیز درصد گوشت سینه جوجه‌هایی که با کنجاله سویای برزیلی تغذیه شده بودند، از نظر عددی بیشتر از کنجاله سویای آرژانتینی و کنجاله سویای ایرانی بود. اگرچه تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌ها مشاهده نشد.

جدول ۳- خوراک مصرفی، افزایش وزن، بازده غذایی، وزن و درصد عضله سینه، درصد خاکستر استخوان درشت‌نی در جیره‌های غذایی فاقد نیتروژن و نیمه‌خالص حاوی انواع کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت در طول دوره ۸ تا ۱۷ روزگی

Table 3- Feed intake, weight gain, weight and percent of breast muscle, tibia ash in nitrogen free diet and semi purified diets containing types of soybean meal and corn gluten meal fed to chicks from 8 to 17 of ages

صفات Traits	کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal	کنجاله سویا soybean meal			جیره فاقد نیتروژن Nitrogen free-diet	اشتباه معیار میانگین SEM
		ایرانی Iranian	آرژانتینی Argentinian	برزیلی Brazilian		
خوراک مصرفی (گرم/جوجه) Feed intake(g/chick)	165.1 ^b	274.9 ^a	255 ^a	264.9 ^a	149.9 ^b	10.37
پروتئین مصرفی (گرم/جوجه) Protein intake (g/chick)	16.5 ^C	27.5 ^a	25.5 ^b	26.5 ^{ab}	0 ^d	0.63
افزایش وزن (گرم/جوجه) Weight gain (g/chick)	13.3 ^b	71.2 ^a	80.3 ^a	76.3 ^a	-19.6 ^C	6.94
ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم) Feed Conversion ratio (g/g)	12.42 ^a	3.9 ^b	3.3 ^b	3.56 ^b	-9.5 ^C	13.60
وزن گوشت سینه (گرم) Breast meat (g)	19.50 ^b	30.75 ^a	29 ^a	32 ^a	14.75 ^C	1.077
گوشت سینه (درصد وزن زنده بدن) Breast meat(% of live body weight)	14.31 ^{ab}	14.34 ^{ab}	14.15 ^{ab}	15.29 ^a	12.86 ^b	0.668
(%) خاکستر استخوان درشت نی Tibia ash (%)	40.51 ^b	41.53 ^b	42.06 ^b	45.35 ^a	40.32 ^b	1.161

^{a-c} میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌داری هستند ($P < 0.05$).

^{a-c} Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

سویا با هم اختلاف معنی‌داری نداشت ولی NPR کنجاله گلوتن ذرت با سه نمونه کنجاله سویا تفاوت معنی‌داری با هم داشتند ($P < 0.05$). چی و همکاران (۶) مقدار NPR کنجاله سویای برزیلی را ۲/۵۷ گزارش کردند که کمتر از مقدار گزارش ارائه شده در این تحقیق است. مقدار PER کنجاله گلوتن ذرت در تحقیق حاضر کمتر از مقادیر گزارش شده (۹) است.

همان‌طور که انتظار می‌رود مقادیر NPR نمونه‌های کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت، بالاتر از مقادیر PER بودند زیرا NPR کیفیت پروتئین را در دو سطح نگهداری و تولید ارزیابی می‌کند (۱۲). در حالی که PER کیفیت پروتئین فقط در سطح تولید ارزیابی می‌شود. مقادیر اسیداوریک، گلوکز خون و پروتئین تام جوجه‌های مربوط به تیمارهای مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است. محدوده مقدار گلوکز خون جوجه‌های دریافت‌کننده سه نوع کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت از ۱۷۴/۱ تا ۱۹۷ به‌دست آمد که با هم اختلاف آماری معنی‌داری نداشتند.

مقدار PER و NPR نمونه‌های کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت در روز هفدهم آزمایش در جدول ۴ آمده است.

نتایج این آزمایش نشان داد که در روز هفدهم آزمایش تفاوت معنی‌داری بین مقادیر PER تعیین شده برای نمونه‌های مختلف کنجاله سویا وجود نداشت. مقدار PER جوجه‌هایی که از سن ۸ تا ۱۷ روزگی نمونه‌های کنجاله سویای برزیلی، کنجاله سویای آرژانتینی، کنجاله سویای ایرانی و کنجاله گلوتن ذرت دریافت کردند به‌ترتیب ۲/۸۹، ۳/۱۳، ۲/۵۷، ۰/۳۶ بود. مقادیر PER نمونه‌های کنجاله سویا با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ولی PER کنجاله گلوتن ذرت به‌طور معنی‌داری کمتر از سه نوع کنجاله سویا بود ($P < 0.05$). مقدار PER کنجاله سویای برزیلی در تحقیق حاضر بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط (۶ و ۲۹) و کمتر از مقادیر گزارش شده توسط (۴ و ۱۷) است، که احتمالاً به دلیل فرآوری نامناسب کنجاله سویا است. مقدار NPR نمونه‌های کنجاله سویای برزیلی، کنجاله سویای آرژانتینی، کنجاله سویای ایرانی و کنجاله گلوتن ذرت در روز هفدهم آزمایش به‌ترتیب برابر ۳/۴۸، ۳/۷۴، ۳/۱۴، ۱/۳۷ بود. مقدار NPR نمونه‌های کنجاله

جدول ۴- نسبت بازده پروتئین (PER) و نسبت ویژه پروتئین (NPR) در انواع کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت در جوجه‌ها از سن ۸ تا ۱۷ روزگی
Table 4- Protein efficiency ratio (PER) and Net protein ratio (NPR) in types of soybean meal and corn gluten meal in chicks from 8 to 17 of ages

معیار کیفیت پروتئین Protein quality criteria	کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal	کنجاله سویا soybean meal			اشتباه معیار میانگین SEM
		ایرانی Iranian	آرژانتینی Argentinian	برزیلی Brazilian	
PER ^۱	0.36 ^b	2.57 ^a	3.13 ^a	2.89 ^a	0.259
NPR ^۲	1.37 ^b	3.14 ^a	3.74 ^a	3.48 ^a	0.251

^{a-b} میانگین‌های هر سطر با حروف غیر مشابه اختلاف آماری معنی‌داری با هم دارند ($P < 0.05$).

^{a-c} Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

است. نشان داده شده که با افزایش سطح پروتئین مصرفی یا کاهش کیفیت آن سطح اسیداوریک خون نیز افزایش پیدا می‌کند (۱۱). مشابه با نتایج این تحقیق اسیداوریک خون جوجه‌های دریافت‌کننده سطوح زیاد پروتئین، اسیداوریک بیشتری را نشان داد. کمترین پروتئین تام پلاسمای مربوط به جیره فاقد نیترژن است که هیچ پروتئین دریافت نکرده است. نتایج اسیداوریک خون جوجه‌ها نیز تاییدکننده اختلاف میان کیفیت پروتئین تعیین شده در آزمایشات بیولوژیکی می‌باشد.

اسیداوریک خون جوجه‌های مربوط به سه نمونه کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت نیز با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. در این آزمایش جوجه‌هایی که جیره فاقد نیترژن دریافت کرده بودند چون در واقع هیچ پروتئینی دریافت نکرده بودند میزان اسیداوریک خون آنها آن نیز نسبت به بقیه گروه‌ها به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($P < 0.05$). در پرندگان اسیداوریک محصول نهایی کاتابولیسم پروتئین‌ها، نیترژن غیرپروتئینی و بازهای پورینی است. اسیداوریک محصول نهایی سوخت و ساز نیترژن در پرندگان و توازن خالص بین سنتز بافتی پورین‌ها، تجزیه پورین‌ها و استفاده مجدد از پورین‌ها

جدول ۵- سطح اسیداوریک، گلوکز و پروتئین تام در خون جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های نیمه خالص حاوی کنجاله سویا و کنجاله گلوتن ذرت در سن ۱۷ روزگی
Table 5- Uric acid, glucose and total protein in blood serum of chicks fed semi- purified diets containing soybean and corn gluten meals in age of 17 days

فراسنجه‌های سرم خون Blood serum parameters	کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal	کنجاله سویا soybean meal			جیره فاقد نیترژن Nitrogen free- diet	اشتباه معیار میانگین SEM
		ایرانی Iranian	آرژانتینی Argentinian	برزیلی Brazilian		
اسید اوریک (میلی گرم در دسی لیتر) Uric acid(mg/dl)	7.01 ^a	4.93 ^a	6.81 ^a	5.73 ^a	2. 8 ^b	0.698
(میلی گرم در دسی لیتر) گلوکز Glucose (mg/dl)	197 ^a	174.1 ^a	181 ^a	185 ^a	196.2 ^a	.83
(گرم در دسی لیتر) پروتئین تام Total protein (g/dl)	2.57 ^{ab}	2.85 ^a	2.91 ^a	2.72 ^{ab}	2.18 ^b	0.18

^{a-b} میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ردیف از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

^{a-c} Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

شود، مقادیر شاخص اوره آز در هر سه کنجاله کمتر از ۰/۲ است و نشان‌دهنده این است که حداقل حرارت لازم برای کاهش مواد ضد مغذی آنتی‌تریپسین و تریپسین اعمال شده است. اگرچه به نظر می‌رسد کنجاله سویای ایرانی به اندازه دو سویای وارداتی حرارت ندیده است. رایت (۳۲) گزارش کرد که شاخص فعالیت اوره‌آز در کنجاله سویایی که خوب فرآوری شده باشد، بهتر است بین ۰/۵ تا ۰/۲

تعیین کیفیت پروتئین به‌وسیله روش‌های شیمیایی
شاخص‌های شیمیایی اوره‌آز و حلالیت پروتئین در هیدروکسید پتاسیم

جدول ۶ شاخص‌های فعالیت اوره‌آز و حلالیت پروتئین در هیدروکسید پتاسیم را نشان می‌دهد. همان طوری که مشاهده می‌

کردند که میزان حلالیت پروتئین در هیدروکسید پتاسیم ۷۰ الی ۹۰-۸۵ درصد نشانگر فرآوری خوب کنجاله‌های سویا است و مقدار حلالیت پروتئین کمتر از ۷۰ درصد نشان‌دهنده حرارت دیدن بیش از حد بوده و می‌تواند رشد جوجه‌ها را کاهش دهد.

تحقیق حاضر نشان می‌دهد که مقدار حلالیت پروتئین در هیدروکسید پتاسیم هر سه نمونه کنجاله سویا بیشتر از ۷۰ درصد است و نشان‌دهنده این است که کنجاله‌ها بیش از حد حرارت ندیده‌اند که حلالیت پروتئین را تحت تأثیر قرار دهند. اگرچه مقدار این شاخص در کنجاله سویای آرژانتینی کمتر از بقیه بوده و نشان‌دهنده حرارت بیشتر نسبت به کنجاله سویای برزیلی و ایرانی است. ولی در مجموع هر سه نمونه کنجاله سویا در حد قابل قبولی حرارت دیده‌اند. برخلاف نتایج این آزمایش روانیدران و همکاران (۲۳) در بین کنجاله‌های سویا آمریکایی، آرژانتینی، برزیلی و هندی تفاوت‌های معنی‌داری گزارش کرده ولی میانگین حلالیت پروتئین در هیدروکسید پتاسیم دامنه قابل قبولی بود.

باشد. پس مقادیر بالاتر از ۰/۲ نشانگر حرارت ناکافی در حین فرآوری حرارتی کنجاله سویا است. البته دامنه شاخص فعالیت اوره‌آز در بین مقالات منتشره شده متفاوت می‌باشد. به طوری که فن‌آیس (۳۰) حداکثر مقدار ۰/۱ را گزارش کرده است. روش شاخص اوره‌آز بیشتر برای شناسایی کنجاله‌های سویایی که کمتر از حد حرارت دیده و کنترل فعالیت مهارکننده آنتی‌تریپسن استفاده می‌شود. برای تشخیص این که کنجاله سویایی بیش از حد حرارت دیده از روش حلالیت پروتئین در هیدروکسید پتاسیم استفاده می‌شود.

در حالت عادی فرض بر این است که حلالیت پروتئین سویای خام در حدود ۱۰۰ درصد است ولی در سویایی که حرارت دیده و رنگ آن متمایل به قهوه‌ای تیره می‌باشد به حدود ۳۰ الی ۴۰ درصد می‌رسد، یعنی با افزایش حرارت، حلالیت پروتئین در هیدروکسید پتاسیم کاهش می‌یابد. انجمن تولیدکنندگان سویا پیشنهاد می‌کند که میزان قابل قبول حلالیت پروتئین سویای فرآوری شده در هیدروکسید پتاسیم باید بین ۷۴ تا ۷۸ درصد باشد، ولی آرابا و دال (۳) گزارش

جدول ۶- مقایسه شاخص فعالیت اوره‌آز و حلالیت پروتئین در هیدروکسید پتاسیم در سه نوع کنجاله سویا

Table 6- Comparison of urease activity index and protein solubility in KOH among three types of soybean meal

شاخص‌های کیفی Quality index	کنجاله سویا soybean meal			اشتباه معیار میانگین SEM
	ایرانی Iranian	آرژانتینی Argentinian	برزیلی Brazilian	
شاخص فعالیت اوره‌آز UI	0.07	0.05	0.05	0.01
حلالیت پروتئین در هیدروکسید پتاسیم (درصد) P _s KOH (%)	86.82	85.51	88.39	3.77

وارداتی آنها است. مقادیر NDF کنجاله سویای داخلی همانند نمونه‌های خارجی آن بالا است و می‌تواند باعث کاهش قابلیت استفاده انرژی و اسیدهای آمینه گردد. همچنین کنجاله گلوتن ذرت از نظر کمیت پروتئین غنی ولی کیفیت پروتئین فقیر می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتیجه این مطالعه نشان داد که کمیت و کیفیت پروتئین کنجاله سویای داخلی قابل مقایسه با نمونه‌های وارداتی است. چربی خام کنجاله سویای داخلی بیشتر و انرژی خام آن تقریباً برابر همتای

منابع

- Anderson, J. S., S. P. Lall, D. M. Anderson, and M. A. McNiven. 1993. Evaluation of protein quality in fish meals by chemical and biological assays. *Aquaculture*, 115: 305-325.
- AOAC International. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. AOAC International, Washington, DC.
- Araba, M. and N. Dale. 1990. Evaluation of protein solubility as an indicator of over processing soybean meal. *Poultry Science*, 69(1):76-83.
- Baker, D. H. 2009. Advances in protein-amino acid nutrition of poultry. *Amino acids*, 37(1):29-41.
- Boling frankenbach, S., J. Snow, C. Parsons, and D. Baker. 2001. The effect of citric acid on the calcium and phosphorus requirements of chicks fed corn-soybean meal diets. *Poultry Science*, 80(6):783-788.
- Chee, K. M., Y. H. Jae, H. C. Hin, W. K. Min, D. K. Kee, U. J. Yung Sim, I. S. Choi, and Y. K. Ahn Sung. 2001. Evaluation of comparative feeding values of soybean meals of foreign origin in broilers. Pages 54-68 in proceeding 4th scientific symposium for animal, poultry and fish nutrition. University of Seoul., South Korea.
- Douglas, M. W., M. L. Johnson, and C. M. Parsons. 1997. Evaluation of protein and energy quality of rendered spent hen meals. *Poultry Science*, 76(10):1387-1391.

- 8- Escalona, R., G. Pesti, and P. Vaughters. 1986. Nutritive value of poultry by-product meal 2. Comparisons of methods of determining protein quality. *Poultry Science*, 65 (12):2268-2280.
- 9- Farshadian, H. Janmohamadi, and R. Kianfar. 2014. Determination of chemical composition and true metabolizable energy content of some corn by-product in cecectomized and intact adult roosters. Department of Animal Science. Faculty of Agriculture. University of Tabriz. MSc. Thesis. (In Persian).
- 10- Hall, L., R. Shirley, R. Bakalli, S. Aggrey, G. Pesti, and H. Edwards. 2003. Power of two methods for the estimation of bone ash of broilers. *Poultry Science*, 82(3):414-418.
- 11- Janmohammadi, H., H. Nassrimoghagham, J. Poorreaza, and M. Danesh Mesgaran. 2005. Nutrient composition and protein quality in meat and bone meal. *Agriculture Science & Technology Journal*, 19(2):183-195.
- 12- Jansen, G. 1978. Biological evaluation of protein quality. *Food Technology (USA)*.
- 13- Johnson, M., and C. Parsons. 1997. Effects of raw material source, ash content, and assay length on protein efficiency ratio and net protein ratio values for animal protein meals. *Poultry science*, 76(12):1722-1727.
- 14- Kalvandi, O. 2011. Prove quality, amino acid digestibility and metabolizable energy in poultry by product meal from east Azerbaijan Department of Animal Science. Faculty of Agriculture. University of Kurdistan. MSc. Thesis. (In Persian).
- 15- Leeson, S. and J. Summers. 2001. Nutrition of the chicken 4th Ed. Published by University Book, PO Box, 1326:591.
- 16- Liang, D. 2000. Effect of enzyme supplementation on the nutritive value of canola meal for broiler chickens.
- 17- Mateo, C. D., and J. R. V. Conejos. 2009. Evaluation of the protein quality of soybean meals from different sources in broiler chicks fed with semi-purified diets. *Philippine Journal of Science*, 138(2):153-159.
- 18- Mateos, G. G., M. Gonzalez, S. Sueiro, M. Hermida, J. Fickler, P. G. Rebollar, M. P. Serrano, and R. P. L. Garcia. 2011. Differences among origins on nutritional and quality parameters of soybean meal.
- 19- Mirghelenj, S., A. Golian, H. Kermanshahi and A. R. Raji. 2013. Correlation between Protein Solubility in KOH (PSKOH) of Full Fat Soybean Extruded at Three Temperatures and Biological Performance of Broiler Chickens. The 11th world conference on animal production, China.
- 20- National Research Council. 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. ed. Natl. Academic Press, Washington, DC.
- 21- Parsons, C., F. Castanon, and Y. Han. 1997. Protein and amino acid quality of meat and bone meal. *Poultry Science*, 76(2):361-368.
- 22- Pereira, T., and A. Oliva-Teles. 2003. Evaluation of corn gluten meal as a protein source in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. *Aquaculture Research*, 34(13):1111-1117.
- 23- Ravindran, V., M. Abdollahi, and S. Bootwalla. 2014. Nutrient analysis, metabolizable energy, and digestible amino acids of soybean meals of different origins for broilers. *Poultry Science*, 93(10):2567-2577.
- 24- Rochell, S., B. Kerr, and W. Dozier. 2011. Energy determination of corn co-products fed to broiler chicks from 15 to 24 days of age, and use of composition analysis to predict nitrogen-corrected apparent metabolizable energy. *Poultry Science*, 90(9):1999-2007.
- 25- Sahraei, M., H. Janmohammadi, S. Lashkari, M. D. Torkamani, and A. Gituee. 2012. Evaluation of protein quality in hydrolyzed protein meals by biological assay methods in broiler chickens. *International Journal of Agriculture: Research and Review*, 2(4):352-356.
- 26- SAS, S., and S. U. S. Guide. 2003. Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- 27- Sauvant, D., and G. Tran. 2004. Corn distillers. Tables of composition and nutritional value of feed materials. D. Sauvant, J.-M. Perez, and G. Tran, ed. Wageningen Academic Publishers, the Netherlands: 118.
- 28- Shivazad, M., and H. Janmohamadi. 2002. Evaluation of Protein Quality in Iranian Kilka Fish Meal Using the Total Protein Efficiency Method. *JWSS-Isfahan University of Technology*, 6(1):257-265.
- 29- Tidwell, J. H., S. D. Coyle, L. A. Bright, and D. Yasharian. 2005. Evaluation of plant and animal source proteins for replacement of fish meal in practical diets for the largemouth bass *Micropterus salmoides*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 36(4):454-463.
- 30- Van Eys, J., A. Offner, and A. Bach. 2004. Manual of quality analyses for soybean products in the feed industry. American Soybean Association, Brussels, Belgium.
- 31- Wiryawan, K., and J. Dingle. 1999. Recent research on improving the quality of grain legumes for chicken growth. *Animal Feed Science and Technology*, 76(3):185-193.
- 32- Wright, K. 1981. Soybean meal processing and quality control. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 58(3):294-300.
- 33- Yigit, M., M. Bulut, S. Ergün, D. Güroy, M. Karga, O. S. Kesbiç, S. Yilmaz, Ü. Acar, and B. Güroy. 2012. Utilization of corn gluten meal as a protein source in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. *Journal of Fisheries Sciences*, 6(1):63.



Determination of Chemical Composition and Protein Quality of Different Commercial Samples of Soybean Meals and Corn Gluten Meal Using Biological and Chemical Assays

R. Jabbari¹- H. Janmohammadi^{2*}- S. A. Mirghelenj³- R. Kinfar³

Received: 07-03-2017

Accepted: 04-10-2017

Introduction Plant protein sources have important role in supplying crude protein and amino acids in poultry diets and soybean meal (SBM) and are used widely in the world, including Iran. Domestic production of SBM is relatively low and most of the meal is imported from abroad. Although protein content of SBM is measured at local labs but evaluation of its protein quality is less considered and is necessary to be monitored by chemical and biological assays. Corn gluten meal (CGM) is a co-product of corn and obtained during production of starch and glucose from corn. This meal is frequently contained more than 50 percent crude protein as such is compared with the animal proteins during diet formulation .

The aim of this study was to determine of chemical composition and protein quality of some commercial samples of soybean and corn gluten meal.

Material and methods Three commercial samples of soybean meal including Brazilian, Argentinean, Iranian and one sample of corn gluten meal were provided from poultry feed plants in East Azerbaijan province. The samples were subjected to chemical analysis by standard methods and protein quality was evaluated by in vitro and in vivo assays. Urease activity index and protein solubility in KOH was used as in vitro assays. For biological evaluation of protein quality of soybean and corn gluten meal samples, 100 Ross-308 male broiler chicks fed in a completely randomized design with 5 experimented diets each 4 replicates from age 8 to 17 d with nitrogen –free basal diet and 4 semi-purified diets each of test protein samples. Feed intake and weight gain of chick after 6 h fasting was recorded and Protein efficiency ratio (PER) and Net protein ratio (NPR) was calculated according to the corresponding formulas. At end of 17 of age, two chicks in each replication was killed, blood serum collected for uric acid, total protein and glucose assessments. Breast muscles was also separated and weighted. The data was subjected to normality tests and statistically analyzed with GLM procedure of SAS.

Results and Discussion The results of chemical analysis showed that average value of moisture, CP, EE and ash were 7.5, 7.4, 7.4, 4.7 and 46.3, 47.4, 46.4 , 65.5 and 8.6, 9.05, 12.4, 7.55 and 6.5, 6.5, 6.5, 2.15 percent in Argentinian, Brazilian, Iranian soybean and corn gluten meals, respectively. Generally, our finding on CP content was in range of CP content of soybean meal from United States, Brazil, Argentina and India (47.3, 46.9, 48.2, and 46.4% (as-fed basis), respectively). Average values of NDF and ADF were 10.93, 12, 10.43, 11.12 and 8.3, 10.9, 9.4, 10.34 percent in Argentinian, Brazilian, Iranian soybean meals and corn gluten meal, respectively. Our data on NDF values of soy bean meal in samples of Argentina and Brazilian was higher than those values in the corresponding samples. Gross energy value for soybean meals from Brazil, Argentina, Iran and corn gluten meals were found to be 5095, 4677, 4985 and 5924 Kcal/Kg. Urease index and protein solubility in KOH for Brazilian, Argentinian and Iranian soybean meals was 0.05, 0.05, 0.07 and 88.39, 85.51, 86.82 percent, receptivity. The published acceptable data for urease index are inconsistent and generally the recommended value is less than 0.1 pH change. At present study, all value of urease index is lower than 0.1 values. KOH solubility values at this study on soy bean samples are higher than those, however, these values are acceptable from view of Araba et al and non-acceptable. The values of PER and NPR for soybean meals from Brazil, Argentina, Iran and corn gluten meal in 17 d assay were 2.89, 3.13, 2.57, 0.36 and 3.48, 3.74, 3.14, 1.37, respectively. These biological values were comparable with PER and NPR values of different origin soybean meals. Breast muscle growth and serum blood uric acid level did not show significant difference in the meals.

Conclusion It was concluded that protein quantity and quality of domestic soybean meal was comparable

1, 2 and 3- Formerly post graduated student, Professor and Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

(*- Corresponding author email: mehrzad.hossein@gmail.com)

with two imported samples. NDF value of domestic soybean meal, like foreign ones, is high and this can decrease its available energy and AA. CGM was rich in protein content but poor in view of protein quality.

Keywords: KOH solubility, Male broiler chicks, Protein efficiency ratio, Urease activity index



بهبود ارزیابی ژنومی گاوهای هلشتاین با استفاده از ماتریس روابط ژنومی بر پایه اطلاعات هاپلوتایپ‌ها

مهرنوش فروتن^۱ - سعید انصاری مهیاری^{۲*} - فلاویو شنکل^۳ - مهدی سرگلزایی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۲۵

چکیده

امروزه استفاده از اطلاعات هاپلوتایپ به منظور تخمین ارزش اصلاحی ژنومی (GEBV) با صحت و دقت بالاتر مورد توجه قرار گرفته است. استفاده از شباهت بین هاپلوتایپ‌ها نسبت به مستقل در نظر گرفتن اثرات هاپلوتایپ‌ها می‌تواند منجر به قابلیت پیش‌گویی بالاتر برآوردهای ژنومی گردد. هدف از این مطالعه بررسی صحت و اریبی GEBV به روش بهترین برآورد ناریب خطی ژنومی (GBLUP) با استفاده از ماتریس روابط خویشاوندی ژنومی بر پایه اطلاعات نشانگرهای چندشکلی تک نوکلئوتیدی (G SNP) و هاپلوتایپ (GHAP) و ماتریس هیبرید شامل اطلاعات هاپلوتایپ‌ها و SNP ها (G SNP, HAP) بود. ماتریس‌های روابط خویشاوندی ژنومی با استفاده از تراشه ۵۰K برای جمعیت گاو شیری هلشتاین آمریکای شمالی برای صفات تولید چربی شیر، تولید شیر، نمره سلول بدنی، تیپ و روزهای بازتشدیل گردید. مقادیر صحت GEBV با استفاده از ماتریس G SNP و GHAP به ترتیب از ۰/۴۹ (روزهای باز) تا ۰/۷۲ (تولید چربی شیر) و ۰/۵۰ (روزهای باز) تا ۰/۷۳ (تولید چربی شیر) متغیر بود. استفاده از ماتریس GHAP در مقایسه با دیگر ماتریس‌های مورد بررسی در این مطالعه منجر به برآوردهای ناریب‌تری در تمام صفات شد. استفاده از ماتریس GHAP نسبت به G SNP موجب ۶ تا ۱۵ درصد کاهش اریبی برآوردها در صفات مختلف گردید. یکی از دلایل بهبود اریبی برآوردها می‌تواند برآورد بهتر واریانس ژنتیکی در سطح جمعیت توسط هاپلوتایپ نشانگرها نسبت به نشانگر انفرادی باشد. بر اساس نتایج حاضر ماتریس GHAP می‌تواند جایگزین مناسبی برای G SNP در ارزیابی‌های ژنومی به منظور دستیابی به برآوردهای ارزش اصلاحی ناریب‌تر و دقیق‌تر باشد.

واژه‌های کلیدی: اریبی برآوردها، صحت، گاو هلشتاین، ماتریس روابط خویشاوندی ژنومی، هاپلوتایپ

مقدمه

بتوان به حداکثر پیشرفت ژنتیکی ممکن در زمان کوتاهی دست یافت. اگرچه آزمون عملکرد نتایج از جمله روش‌های موثر در این مسیر است لیکن پیشرفت‌های فناوری زیستی نشان داده است با بهره‌وری از نشانگرهای مولکولی مرتبط با ژن‌های کمی، علاوه بر افزایش صحت انتخاب، در سنین اولیه و حتی بلافاصله پس از تولد، این امکان وجود دارد که حیوانات با ارزش ژنتیکی بالا شناسایی، نگهداری و مورد استفاده قرار داده شوند. به این ترتیب با کاهش فاصله نسل و افزایش شدت انتخاب، پیشرفت ژنتیکی به حداکثر خواهد رسید (۱۷).

در سال ۱۹۹۷ نجاتی جوارمی و همکاران استفاده از ماتریس روابط خویشاوندی مبتنی بر اطلاعات نشانگری را جهت افزایش صحت برآورد ارزش اصلاحی بر اساس روش بهترین برآورد ناریب خطی (BLUP) پیشنهاد نمودند. در سال ۲۰۰۱ روش انتخاب ژنومی توسط میوسن و همکاران ارائه شد و طی آن ارزش اصلاحی کل با استفاده از تعداد زیادی نشانگر ژنتیکی در دو جایگاه مجاور چند آللی در کل ژنوم برآورد گردید (۱۰). در این روش فرض بر این است که

پیشرفت‌های قابل توجه در توسعه و استفاده از نشانگرهای مولکولی طی سالیان اخیر موجب شده است که تحقیقات متعددی در زمینه امکان استفاده از نشانگرهای مرتبط با جایگاه‌های ژنی صفات کمی به اجرا درآید (۱۹). به طور کلی درگله‌های مولد و هسته‌های اصلاح نژاد، برنامه‌های به‌نژادی به صورتی طراحی و به اجرا در می‌آیند تا از طریق افزایش دقت و صحت در برآوردهای ارزش اصلاحی

۱ و ۲- به ترتیب دانش‌آموخته دکتری و دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی

اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد مرکز بهبود ژنتیکی حیوانات، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه گوتلف، کانادا

۴- دانشیار مرکز بهبود ژنتیکی حیوانات، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه گوتلف،

محقق شرکت Semex و شرکت HiggsGene Solutions، کانادا

(Email: s.sansari@cc.iut.ac.ir)

(*) نویسنده مسئول:

نشانگرها در تعدادی از جایگاه‌ها در عدم تعادل فاز گامتی^۱ (LD) با آلل‌های QTL مؤثر بر صفات مورد انتخاب هستند. کاربرد کنونی برآورهای ارزش اصلاحی ژنومی به طور عمده بر اساس SNP بوده و ژنوتیپ SNP‌ها به طور مستقیم در مدل‌های پیش‌بینی ژنومی استفاده می‌شوند (۱۹).

مطالعات متعدد با استفاده از روش‌های متفاوت برای تعیین بلوک هاپلوتایپ و روابط بین هاپلوتایپ‌ها در سطح ژنوم به بررسی استفاده از اطلاعات هاپلوتایپ در ارزیابی ژنومی پرداخته‌اند. کالوس و همکاران (۲۰۰۸) با مقایسه استفاده از هاپلوتایپ نشانگرها به صورت کواریت در مدل و یا استفاده از تک SNP بیان نمودند که استفاده از اطلاعات هاپلوتایپ‌ها می‌تواند منجر به برآوردهای ژنومی دقیق‌تری گردد هرچند این برتری با افزایش تراکم نشانگرها کاهش می‌یابد. بهبود ارزیابی ژنومی با استفاده از اطلاعات هاپلوتایپ نسبت به تک SNP می‌تواند به این علت باشد که در هنگام استفاده از اطلاعات هاپلوتایپ نشانگرها، عدم تعادل فاز گامتی خصوصاً بین فواصل کوچک ژنوم^۲ بین SNP‌های موجود در هر هاپلوتایپ در نظر گرفته می‌شود در صورتی که در حالت تک SNP این اثرات نادیده گرفته می‌شود (۸) و به این ترتیب در حالت استفاده از تک SNP، تغییر ترتیب SNP‌ها تأثیری بر نتایج نهایی ماتریس G ندارد (۶). این در حالی است که امکان دارد یک آلل مطلوب QTL در LD با یک آلل SNP در یک هاپلوتایپ در یک جمعیت باشد و همین آلل در LD با آلل دیگر SNP در هاپلوتایی در جمعیت دیگر باشد. استفاده از این فاز متفاوت بین SNP و QTL نیاز به در اختیار داشتن اطلاعات هاپلوتایی می‌باشد.

با این حال مستقل در نظر گرفتن هاپلوتایپ‌ها در ارزیابی ژنومی موجب افزایش تعداد اثرات قابل برآوردی شده و در نتیجه کاهش برتری این روش نسبت به استفاده از SNP‌ها را می‌تواند به همراه داشته باشد. روشی که برای حل این مشکل پیشنهاد می‌شود استفاده از شباهت بین هاپلوتایپ‌ها و مدل نویسی کواریانس اثرات ژنومی می‌باشد. هیکی و همکاران (۲۰۱۳) با استفاده از داده‌های شبیه‌سازی شده ماتریس روابط ژنومی بین افراد را از طریق محاسبه شباهت بین هاپلوتایپ‌ها تشکیل دادند. هرچند در مطالعه‌ی آنها صحت برآورد ارزش اصلاحی افزایش چندانی نیافت اما آنها همبستگی بالاتری بین اجزا قطری و غیر قطری ماتریس GHAP و ماتریس ژنومی با استفاده از اطلاعات QTL‌ها (GQTL) نسبت به GSNP و GQTL گزارش نمودند. میوسن و همکاران (۲۰۱۴) با تعریف ژنوتیپ SNP کاذب^۳ دو آللی برای هاپلوتایپ‌های مشاهده شده در جمعیت و سپس ساخت ماتریس روابط خویشاوندی ژنومی با استفاده از این SNP‌های کاذب

صحت بالاتری را برای ارزش اصلاحی ژنومی برآورد شده نسبت به ماتریس GSNP گزارش نمودند. فردوسی و همکاران نیز در سال ۲۰۱۶ در مطالعه‌ی خود شباهت بین هاپلوتایپ‌ها را با در نظر گرفتن همپوشانی بین قطعات هاپلوتایپ تخمین زده و بیان نمودند که استفاده از اطلاعات هاپلوتایپ‌های حاوی چندین SNP می‌تواند منجر به افزایش صحت برآوردها نسبت به روش GSNP شود.

نشانگرهای SNP موجود در تراشه‌ها معمولاً بر اساس فراوانی آللی متوسط تا بالا انتخاب می‌شوند و بنابراین حاصل جهش‌های قدیمی هستند. جهش‌ها در ابتدا از فراوانی پایینی برخوردار هستند و سپس به مرور زمان به عنوان مثال در اثر انتخاب و رانش تصادفی، فراوانی تعدادی از آنها افزایش می‌یابد و تعدادی از آنها ممکن است قبل از رسیدن به یک فراوانی مطلوب قابل توجه از جمعیت حذف شوند (۱۱). ماتریس روابط خویشاوندی ژنومی GSNP با استفاده از نشانگرها با فراوانی بالای آلل نادر ساخته می‌شوند. این موضوع حاکی از آن است که GSNP قادر است روابط ژنومی افراد در نسل‌های قدیمی را نشان دهد و بنابراین ممکن است تغییرات حاصل به دلیل انتخاب در نسل‌های جدید را به طور دقیق منعکس نکند (۱۱). لذا این فرضیه مطرح می‌شود که احتمالاً تشکیل ماتریس روابط ژنومی از طریق محاسبه روابط بین افراد در جمعیت رفرنس و همچنین بین جمعیت رفرنس و جمعیت تایید به ترتیب با استفاده از اطلاعات SNP‌ها و هاپلوتایپ‌ها می‌تواند منجر به افزایش صحت و کاهش اریبی برآوردهای ارزش اصلاحی ژنومی گردد.

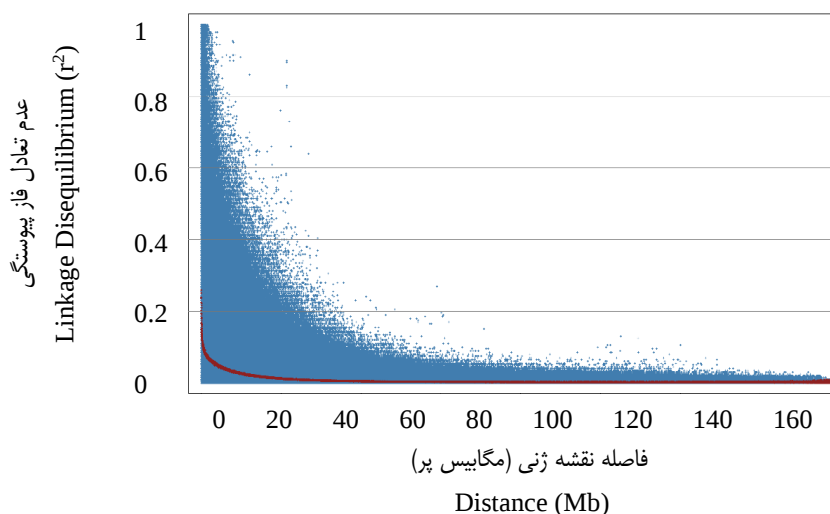
مطالعه حاضر با هدف بررسی صحت و اریبی در برآورد ژنومی ارزش اصلاحی با استفاده از روش GBLUP با کاربرد ماتریس روابط خویشاوندی ژنومی بر پایه اطلاعات نشانگرهای چند شکلی تک نوکلئوتیدی (GSNP) و هاپلوتایپ (GHAP) و ماتریس هیبرید شامل اطلاعات هاپلوتایپ‌ها و SNP‌ها (GSNP, GHAP) برای اولین بار با استفاده از داده‌های واقعی گاوهای نر آمریکای شمالی به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از جمعیت گاوهای نر هلشتاین آمریکای شمالی متولد شده در سال‌های ۱۹۶۰ الی ۲۰۱۱ استفاده شد. اطلاعات ژنوتیپ و فنوتیپ حیوانات از شرکت CDN کانادا دریافت گردید. حیوانات ژنوتایپ شده در دو دسته رفرنس و تایید دسته‌بندی شدند. جمعیت رفرنس شامل گاوهای نر متولد شده بین سال‌های ۱۹۶۰ تا ۲۰۰۷ بود. حیوانات که در سال‌های ۲۰۰۷ تا ۲۰۱۱ متولد شده بودند و دارای پروف رسمی در سال ۲۰۱۵ بودند به عنوان جمعیت تایید در نظر گرفته شدند. اندازه جمعیت رفرنس و تایید برای صفات تولید شیر، چربی شیر، نمره سلول بدنی و تیپ به ترتیب ۶۵۱۵ و ۱۲۹۴ گاو نر بود. همچنین جمعیت رفرنس و تایید برای صفت روزهای باز به ترتیب

- 1- Linkage disequilibrium
- 2- Short range linkage disequilibrium
- 3- Pseudo SNP

شدند. در نهایت تعداد ۴۲۸۹۲ نشانگر SNP مورد بررسی قرار گرفت. متوسط عدم تعادل فاز پیوستگی (r^2) میان نشانگرها در داده‌های ژنوتیپ مورد بررسی در شکل ۱ آورده شده است. بیشترین کاهش LD در فواصل کمتر از ۱۰۰ kb مشاهده شد. در جمعیت مورد بررسی میانگین r^2 در فاصله ۵۰ kb بین دو نشانگر حدود ۰/۲۱ بود. روند کاهش در میزان LD با افزایش فاصله بین نشانگرها در جمعیت مورد بررسی مطابق با الگوی کاهشی مورد انتظار برای جمعیت گاو هلشتاین و در توافق با مطالعات پیشین بود (۱).



شکل ۱- توزیع عدم تعادل پیوستگی در جمعیت گاو شیری هلشتاین آمریکای شمالی
Figure 1- Distribution of linkage disequilibrium in North American Holstein cattle

طریق محاسبه ضریب رگرسیون پروف ارزش اصلاحی ژنومی بر ارزش‌های اصلاحی برآوردی و همبستگی بین پروف ارزش اصلاحی ژنومی و ارزش‌های اصلاحی برآوردی در جمعیت تایید محاسبه گردید.

تشکیل ماتریس‌های روابط ژنومی (G)

۱- ماتریس G_{HAP} : به منظور ایجاد ماتریس شباهت ژنومی بر پایه اطلاعات هاپلوتایپ‌ها، ابتدا برای هر کروموزوم ماتریس گامتی (M_{chr}) به طور ساده از طریق یافتن نواحی مشترک بین هاپلوتایپ‌های افراد ایجاد شد. سپس ماتریس وزنی M به صورت میانگین ماتریس‌های M_{chr} برای همه کروموزوم‌ها محاسبه شد. در نهایت ماتریس روابط ژنومی بر پایه اطلاعات هاپلوتایپ (G_{HAP}) از طریق حاصل جمع ۴ جزء متناظر ماتریس M محاسبه شده بر اساس شباهت هاپلوتایپ‌ها بین دونفر (پدری فرد ۱ و مادری فرد ۲، پدری فرد ۱ و مادری فرد ۲، پدری فرد ۲ و مادری فرد ۱ و مادری فرد ۲) تقسیم بر ۲ به دست آمد (شکل ۲).

شامل ۵۳۱۵ و ۱۳۲۲ گاو نر بود. حیوانات با استفاده از تراشه ۵۰k ژنوتیپ شده بودند. تنها نشانگرهای موجود بر کروموزوم‌های اتوزوم مورد بررسی قرار گرفت. از آنجایی که نشانگرها با فراوانی پایین ممکن است تنها در یک یا چند خانواده از یک جمعیت دیده شوند که موجب ارتباط تصادفی بین آن نشانگرها و صفات مورد بررسی شده و در نتیجه موجب کاهش صحت برآورد اثر نشانگر می‌شود (۵)، لذا اطلاعات نشانگرهایی که دارای فراوانی آلی نادر کمتر از ۰/۰۲ بودند و در تعادل هاردی واینبرگ قرار نداشتند از داده‌های ژنوتیپ کل حذف

برآورد ارزش اصلاحی ژنومی

ارزش اصلاحی حیوانات با استفاده از روش بهترین برآورد ناریب خطی ژنومی طبق رابطه زیر برآورد شد:

$$y = 1\mu + Zu + e \quad \text{رابطه ۱}$$

که در آن y بردار پروف رسمی گاوهای نر در سال ۲۰۱۱، Z ماتریس ضرایبی مربوط به اثرات تصادفی، u بردار اثرات تصادفی با واریانس $G\sigma_u^2$ و μ میانگین، 1 وکتور ضرایب حاوی عدد ۱ و e باقیمانده تصادفی برای حیوان می‌باشد. تمام ارزیابی‌ها با استفاده از نرم‌افزار SNP1101 (۱۶) صورت گرفت. پروف ارزش‌های اصلاحی بر اساس ارزیابی ژنتیکی در سال ۲۰۱۵ به منظور بررسی صحت و اریبی ارزش اصلاحی ژنومی برآورد شده مورد استفاده قرار گرفت. قابلیت اطمینان پروف ارزش اصلاحی برای صفات تولید چربی شیر، تولید شیر، نمره سلول بدنی، تیپ و روزهای باز به ترتیب ۹۳/۳۶، ۹۳/۴۲، ۸۷/۶۶ و ۸۳/۷۸ و ۷۴/۲۱ بود. اریبی و صحت برآوردها به ترتیب از

		SNP ₁	SNP ₂	SNP ₃	SNP ₄	SNP ₅	SNP ₆	SNP ₇	SNP ₈	SNP ₉	SNP ₁₀
ID1 →	H1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1
	H2	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1
ID2 →	H3	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1
	H4	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0

	H1	H2	H3	H4
H1	10	7	8	2
H2	7	10	7	5
H3	8	7	10	4
H4	2	5	4	10

	ID1	ID2
ID1	34	22
ID2	22	28

÷2

÷Total number of SNP

	ID1	ID2
ID1	1.7	1.1
ID2	1.1	1.4

شکل ۲- توصیف روش مورد استفاده برای ساخت ماتریس روابط ژنومی بر پایه اطلاعات هاپلوتایپها (G_{HAP}). به عنوان مثال ژنوم با ۱۰ نشانگر تک نوکلئوتیدی و دو فرد مورد نظر است.

Figure 2- Description of the method used to construct haplotype based relationship matrix (G_{HAP}). For example, the genome with 10 SNP for 2 individuals is considered

۳- ماتریس هیبرید G_{SNP,HAP}: این ماتریس با استفاده از مجموعه اطلاعات موجود در ماتریسهای روابط خویشاوندی ژنومی بر پایه SNPها و هاپلوتایپها محاسبه شد. به این ترتیب ماتریس G_{SNP,HAP} به ترتیب بر اساس محاسبه شباهت بین افراد در جمعیت رفرنس با استفاده از اطلاعات SNPها و شباهت بین افراد در جمعیت تایید با استفاده از اطلاعات هاپلوتایپها به دست آمد (شکل ۳).

۲- ماتریس G_{SNP}: در مطالعه‌ی حاضر G_{SNP} به روش اول وان رادن (۲۰۰۸) جهت محاسبه ماتریس روابط خویشاوندی ژنومی مورد نظر بود. برای تشکیل ماتریس از فرمول زیر استفاده شد:

$$G = \frac{ZZ'}{2 \sum p(1-p)}$$

که در آن ماتریس Z حاوی 0 - 2p برای ژنوتیپ هموزیگوت، 1 - 2p برای ژنوتیپ هتروزیگوت و 2 - 2p برای ژنوتیپ هموزیگوت دیگر می باشد. منظور از p فراوانی آلی هر SNP می باشد (۱۹).

	Est.						Pred.			
Est.	1.7	1.1	0.4	0.26	0.25	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
	1.1	1.4	0.5	0.4	0.26	0.25	0.5	0.4	0.3	0.2
	0.4	0.5	1.01	0.5	0.4	0.26	0.25	0.5	0.4	0.3
	0.26	0.4	0.5	1.1	0.5	0.4	0.26	0.25	0.5	0.4
	0.25	0.26	0.4	0.5	1.15	0.5	0.4	0.26	0.25	0.5
	0.5	0.25	0.26	0.4	0.4	1.1	0.5	0.4	0.26	0.25
Pred.	0.4	0.5	0.25	0.26	0.26	0.4	1.08	0.5	0.4	0.26
	0.3	0.4	0.5	0.25	0.25	0.26	0.5	1.06	0.5	0.4
	0.2	0.3	0.4	0.5	0.5	0.25	0.4	0.5	1.02	0.5
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.4	0.5	0.26	0.4	0.5	1

شکل ۳- طرح کلی روش مورد استفاده در تشکیل ماتریس G_{SNP,HAP}، از طریق محاسبه روابط بین افراد در جمعیت رفرنس و همچنین بین جمعیت رفرنس و جمعیت تایید به ترتیب با استفاده از اطلاعات SNPها و هاپلوتایپها

Figure 3- Schematic pattern of the method used to construct hybrid matrix, G_{SNP,HAP} (estimation of similarity between individuals in the estimation group using SNP-based (G_{SNP}) and similarity between estimation and prediction group using haplotype-based relationship matrix (G_{HAP}))

نتایج و بحث

یکی از روش‌های رایج در ارزیابی ژنومی روش GBLUP است. روش GBLUP بر اساس مدل‌های خطی مختلط بیان شده و در آن از ماتریس روابط خویشاوندی ژنومی (G) بر اساس اطلاعات نشانگرها استفاده می‌شود (۱۹). در مقایسه با روش‌های رایج که از ماتریس روابط خویشاوندی بر پایه شجره (A) استفاده می‌کنند، روش GBLUP قادر به در نظر گرفتن عدم تعادل بین نشانگر و ژن‌های مسبب، تفرق مندلی و برقراری ارتباط ژنتیکی بین اجداد مشترک نامشخص در شجره می‌باشد. بنابراین ماتریس G دارای برتری نسبت به ماتریس روابط خویشاوندی شجره در ارزیابی ژنتیکی است (۱۸). در این مطالعه ۳ روش تشکیل ماتریس G مورد بررسی قرار گرفت. میزان صحت ارزش‌های اصلاحی برآوردی با استفاده از ماتریس‌های روابط ژنومی مورد بررسی برای صفات مختلف در جدول ۱ آورده شده است.

صحت برآورد ارزش اصلاحی ژنومی با استفاده از ماتریس G_{SNP} برای صفات مورد بررسی در توافق با نتایج مطالعه‌ی وان رادن و همکاران (۲۰۰۹) با استفاده از جمعیت گاو هلشتاین آمریکای شمالی بود. بالاترین صحت برآورد برای صفت تولید چربی شیر و کمترین صحت برآورد برای صفت روزهای باز به‌دست آمد.

صحت برآورد ارزش اصلاحی با استفاده از اطلاعات هاپلوتایپ‌ها در مقایسه با ماتریس G_{SNP} در تمام صفات مورد بررسی به جز صفت تیپ در حدود ۱ درصد افزایش یافت. صحت برآورد ارزش اصلاحی برای صفت تولید چربی شیر با استفاده از ماتریس G_{HAP} و G_{SNP} به ترتیب ۰/۷۳ و ۰/۷۲ به‌دست آمد. دروس و همکاران (۲۰۱۰) صحت برآورد ارزش اصلاحی ژنومی برای این صفت را با استفاده از ماتریس روابط ژنومی و با استفاده از اطلاعات هاپلوتایپ اجدادی با طول ۱۵ هاپلوتایپ به ازای هر جایگاه و مدل زنجیره مارکوف به ترتیب ۰/۶۷ و ۰/۷۰ برآورد نمودند. تفاوت در صحت برآورد ارزش اصلاحی در این دو مطالعه می‌تواند به دلیل تفاوت در اندازه جمعیت رفرنس و قابلیت اطمینان رکوردهای به‌دست آمده در هر یک از این دو مطالعه باشد. هیکی و همکاران (۲۰۱۳) با استفاده از داده‌های شبیه‌سازی شده صحت برآورد ارزش اصلاحی ژنومی با استفاده از ماتریس G_{HAP} را برای صفتی با وراثت‌پذیری ۰/۲۵ و توزیع گاما برای اثرات QTL مشابه با ماتریس G_{SNP} و کمتر از ماتریس G_{QTL} گزارش نمودند. این محققین مدعی شدند که عدم بهبود صحت برآورد ارزش اصلاحی ژنومی در مطالعه‌ی آنها می‌تواند به دلیل مدل شبیه‌سازی به‌کار گرفته شده باشد چرا که در آن مطالعه تمام QTL‌های شبیه‌سازی شده بدون در نظر گرفتن زمینه ژنتیکی و جمعیتی حیوانات، دارای اثر ژنتیکی افزایشی یکسانی بودند (۹). در مطالعه‌ی حاضر از داده‌های

واقعی و صفات با ساختار ژنتیکی متفاوت برای بررسی صحت برآورد ارزش اصلاحی ژنومی با استفاده از اطلاعات هاپلوتایپ در مقایسه با ماتریس G_{SNP} استفاده شد. به طور کلی صحت برآورد ارزش اصلاحی هنگام استفاده از ماتریس G_{HAP} نسبت به ماتریس G_{SNP} در تمام صفات مورد بررسی افزایش ناچیزی یافت. این افزایش اندک در میزان صحت احتمالاً به دلیل برتری هاپلوتایپ‌ها در توضیح LD در جمعیت رفرنس نسبت به نشانگر انفرادی می‌باشد. به طور کلی هاپلوتایپ‌ها قادرند اطلاعات دقیق‌تری در مورد نواحی ژنومی با منشا جدی یکسان^۱ (IBD) نسبت به نشانگرهای انفرادی فراهم کنند و هاپلوتایپ‌های طویل توانایی بالاتری از این لحاظ در مقایسه با هاپلوتایپ‌های کوتاه‌تر دارند (۹). عدم افزایش قابل توجه در صحت برآوردها با استفاده از ماتریس G_{HAP} در این مطالعه نشان از بهینه نبودن همبستگی بین روابط تشابه آل‌های با منشا غیر جدی^۲ (IBS) و جدی (IBD) می‌باشد، لذا به منظور افزایش هرچه بیشتر صحت برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی به‌کارگیری عوامل تصحیح‌کننده جهت بهینه نمودن همبستگی بین ارتباطات IBS و IBD در تشکیل ماتریس G_{HAP} توصیه می‌شود. در این راستا در نظرگرفتن فراوانی آللی نشانگرهای مشابه در هر هاپلوتایپ و همچنین طول هر هاپلوتایپ به صورت بهینه می‌تواند از جمله عوامل مؤثر در بهبود همبستگی بین ارتباطات IBS و IBD در محاسبه روابط خویشاوندی بین افراد باشد.

معیار مهم دیگر در ارزیابی ارزش‌های ژنتیکی تعیین شده، اریبی برآوردها می‌باشد. ضریب رگرسیون نزدیک به یک نشان از ناریب بودن برآوردها و مقادیر کوچکتر و یا بزرگتر از یک به ترتیب اریب روبه بالا و پایین را نشان می‌دهد. اگرچه روش GBLUP اساساً روشی ناریب جهت برآورد ارزش‌های اصلاحی می‌باشد اما با ثابت بودن تمام عوامل، تنها عامل ایجادکننده‌ی تفاوت در میزان اریبی برآوردها در مطالعه‌ی حاضر، مربوط به نوع ماتریس ارتباط ژنومی استفاده شده می‌باشد. همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود استفاده از ماتریس G_{HAP} نسبت به ماتریس G_{SNP} منجر به برآوردهایی با کمترین اریبی شد. ماتریس‌های ارتباط ژنومی مختلف، واریانس ژنتیکی و باقیمانده را به صورت‌های مختلفی نشان می‌دهند و یا به عبارت دیگر واریانس ژنتیکی را برای جمعیت پایه در نسل‌های متفاوت برآورد می‌کنند (۹). با توجه به ارتباط بین صحت (r) و اریبی (b) برآورد ارزش اصلاحی $(r = b \frac{\sigma_g}{\sigma_{g,g}})$ که در آن σ_g و $\sigma_{g,g}$ به ترتیب جذر واریانس ژنتیکی واقعی و برآوردی است (۳) و تشابه

1- Identical by descent

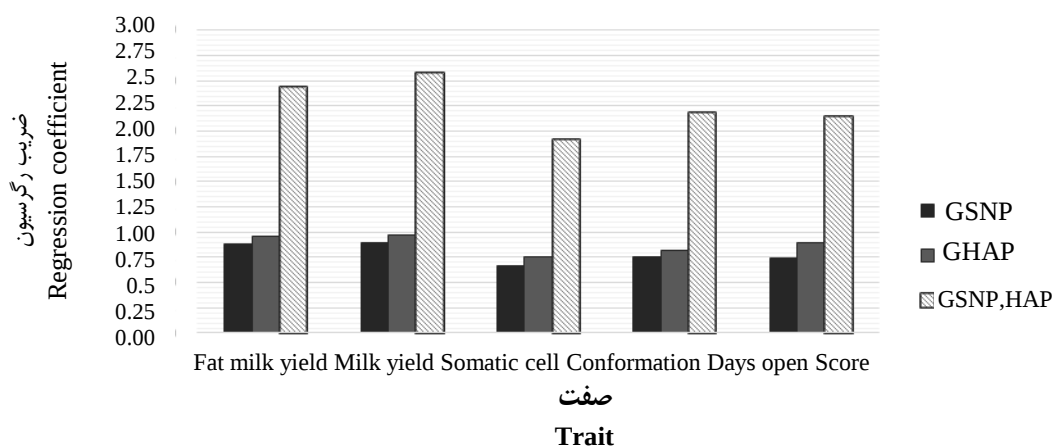
2- Identical by state

صحت برآورد ارزش اصلاحی از طریق ماتریس G_{SNP} و G_{HAP} در مطالعه‌ی حاضر، ضریب رگرسیون نزدیک تر به یک در زمان استفاده از اطلاعات هاپلوتایپها می‌باشد.

جدول ۱- برآورد صحت ارزش اصلاحی ژنومی با استفاده از ماتریس روابط خویشاوندی ژنومی بر پایه اطلاعات نشانگرهای چندشکلی تک نوکلئوتیدی (G_{SNP}) و هاپلوتایپ (G_{HAP}) و ماتریس هیبرید شامل اطلاعات هاپلوتایپها و G_{SNP} ها ($G_{SNP,HAP}$) در جمعیت گاو شیری آمریکای شمالی

Table 1- Accuracies of estimates of genomic breeding values based on SNP-based (G_{SNP}), haplotype-based (G_{HAP}) and hybrid of SNP and haplotype based ($G_{SNP,HAP}$) relationship matrix in North Holstein dairy cattle

صفت Trait	G_{SNP}	G_{HAP}	$G_{SNP,HAP}$
چربی شیر Milk fat yield	0.72	0.73	0.72
تولید شیر Milk yield	0.70	0.71	0.70
نمره سلول بدنی Somatic cell score	0.61	0.62	0.61
تیپ conformation	0.56	0.54	0.56
روزهای باز Days open	0.49	0.50	0.49



شکل ۴- ضریب رگرسیون پروف رسمی ارزش اصلاحی سال ۲۰۱۵ بر برآورد ارزش اصلاحی ژنومی در صفات مختلف با استفاده از ماتریس روابط خویشاوندی ژنومی بر پایه اطلاعات نشانگرهای چندشکلی تک نوکلئوتیدی (G_{SNP}) و هاپلوتایپ (G_{HAP}) و ماتریس هیبرید شامل اطلاعات هاپلوتایپها و G_{SNP} ها ($G_{SNP,HAP}$) در جمعیت گاو شیری آمریکای شمالی

Figure 4- Regression coefficient of de-regressed EBV (dEBV) based on the 2015 genetic evaluation (dEBV2015) on estimated genomic breeding value in different traits using SNP-based (G_{SNP}), haplotype-based (G_{HAP}) and hybrid of SNP and haplotype based ($G_{SNP,HAP}$) relationship matrix in North Holstein dairy cattle

است را بهتر نشان می‌دهند و این امر می‌تواند اثرات اپیستاتیک موضعی میان ژن‌ها درون یک هاپلوتایپ را نیز شامل شود. با توجه به ماهیت چند آلی هاپلوتایپها، استفاده از هاپلوتایپ بهتر می‌تواند LD بین QTLهای چند آلی را توضیح دهد و این امر خصوصاً در صفاتی با وراثت‌پذیری پایین که تحت کنترل تعداد زیادی ژن‌های چندآلی هستند اهمیت بیشتری می‌یابد. فردوسی و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که استفاده از هاپلوتایپهای متشکل از چندین نشانگر SNP

استفاده از ماتریس G_{HAP} نسبت به G_{SNP} موجب ۶ تا ۱۵ درصد کاهش اریبی برآوردها در صفات مختلف شد. بیشترین بهبود در اریبی برآوردها در صفت روزهای باز با وراثت‌پذیری ۰/۱ مشاهده شد. پارکرگادیس و همکاران (۲۰۱۴) در توافق با مطالعه‌ی حاضر بیان داشتند که استفاده از اطلاعات هاپلوتایپ خصوصاً در صفات با وراثت‌پذیری پایین می‌تواند موجب افزایش قابلیت پیش‌گویی گردد. هاپلوتایپها احتمالاً اثرات چندین QTL که جدا نمودن آنها دشوار

جمعیت رفرنس و تایید و به عبارت دیگر بهینه نبودن همبستگی بین روابط IBS و IBD می باشد. همچنین با توجه به اینکه دو ماتریس G_{SNP} و G_{HAP} به گونه‌ای متفاوت واریانس ژنتیکی را تعیین می کنند، احتمالاً آریب رو به بالای برآوردهای حاصل از ماتریس هیبرید به دلیل مقیاس متفاوت عناصر این ماتریس‌ها می باشد. با توجه به نتایج حاضر، مطالعات بیشتری در رابطه با نحوه ترکیب اطلاعات هاپلوتایپ‌ها و SNP به منظور بهبود صحت و دقت برآوردهای ارزش اصلاحی ژنومی لازم می باشد.

نتیجه گیری کلی

بر اساس نتایج این مطالعه، ماتریس G_{HAP} می تواند به عنوان یک روش جایگزین به منظور کاهش آریبی برآوردهای ارزش اصلاحی ژنومی در ارزیابی های رایج مورد استفاده قرار گیرد. در زمانی که از اطلاعات هاپلوتایپ‌ها در تشکیل ماتریس روابط ژنومی استفاده شد، آریبی برآوردها خصوصاً در صفاتی با وراثت پذیری پایین که اخیراً تحت انتخاب قرار داشتند به طور قابل توجهی کاهش یافت. بهبود اندک در صحت برآوردها با استفاده از ماتریس G_{HAP} حاکی از بهینه نبودن همبستگی بین روابط IBS و IBD در این ماتریس می باشد. بر اساس نتایج حاضر و به منظور بهبود قابل توجه در صحت و دقت ارزیابی ها، مطالعات بیشتری در رابطه با چگونگی تعریف هاپلوتایپ به منظور بهینه نمودن همبستگی بین ارتباطات IBS و IBD توصیه می شود. همچنین لازم است که مطالعات بیشتری جهت ارزیابی اثر انتخاب، وراثت پذیری و ساختار ژنتیکی صفات بر عملکرد ماتریس G_{HAP} صورت گیرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از شرکت Canadian Dairy Network جهت فراهم نمودن داده های ژنوتیپ جمعیت گاو هلشتاین آمریکای شمالی تشکر و قدردانی می گردد.

می تواند موجب افزایش احتمال حداکثر درست نمایی ارزیابی ژنومی نسبت به SNP انفرادی شود. ماتریس روابط ژنومی G_{SNP} با استفاده از نشانگرها با فراوانی بالای آلل نادر ساخته می شوند. بنابراین G_{SNP} قادر است روابط ژنومی افراد در نسل های قدیمی را نشان دهد و بنابراین ممکن است تغییرات حاصل به دلیل انتخاب در نسل های جدید را به طور دقیق منعکس نکند (۱۱). از طرف دیگر هاپلوتایپ ها خصوصاً هاپلوتایپ های طولانی تر بهتر می توانند جهش ها و روابط ژنومی در نسل های اخیر را نشان دهند. جمعیت گاو هلشتاین آمریکای شمالی تحت انتخاب شدید برای صفات تولیدی و تیپ برای سال های متمادی بوده است. تغییر راهبردهای انتخاب از سال ۲۰۰۵ موجب افزایش وزن بر صفات تولیدمثلی و سلامت در شاخص انتخاب شده است (۱۲). بنابراین می توان انتظار داشت که استفاده از اطلاعات هاپلوتایپ ها به جای نشانگرهای SNP منجر به برآورد دقیق تر و ناریب تر ارزش اصلاحی ژنومی برای صفات روزهای باز و نمره سلول بدنی در بین صفات مورد بررسی شود. استفاده از ماتریس G_{HAP} به جای G_{SNP} موجب کاهش آریبی برآوردها در حدود ۱۵ و ۹ درصد به ترتیب در صفت روزهای باز و نمره سلول بدنی شد (شکل ۴).

با توجه به قابلیت بالاتر ماتریس G_{HAP} در نشان دادن جهش ها و روابط ژنومی در نسل های اخیر، در این مطالعه برای اولین بار فرضیه تشکیل ماتریس هیبرید برای امکان سنجی استفاده توام از مزایای هاپلوتایپ و SNP مطرح شد. صحت برآورد ارزش های اصلاحی در حالت استفاده از ماتریس هیبرید مشابه ماتریس G_{SNP} و بین ۰/۴۹ (صفت روزهای باز) تا ۰/۷۰ (صفت تولید چربی شیر) متغیر بود. هایبر و همکاران (۲۰۰۷) صحت برآورد ارزش اصلاحی ژنومی مشاهده شده را تحت تاثیر میزان LD در جمعیت رفرنس و روابط خویشاوندی بین افراد در جمعیت رفرنس و تایید دانستند. میزان LD در جمعیت رفرنس در ماتریس هیبرید بر اساس اطلاعات نشانگرهای انفرادی و روابط خویشاوندی بین افراد در جمعیت رفرنس و تایید بر اساس اطلاعات هاپلوتایپ ها به دست می آید. با توجه به یکسان بودن میزان LD به دست آمده در دو ماتریس هیبرید و G_{SNP} ، تشابه صحت در این دو ماتریس نشان از عدم برتری اطلاعات هاپلوتایپ در مقایسه با نشانگر انفرادی در نشان دادن روابط خویشاوندی بین افراد در

منابع

1. Bohmanova, J., M. Sargolzaei, and F. S. Schenkel. 2010. Characteristics of linkage disequilibrium in North American Holsteins. BMC Genomics, 11:421.
2. Calus, M. P. L., T. H. E. Meuwissen, A. P. W. de Roos, and R. F. Veerkamp. 2008. Accuracy of genomic selection using different methods to define haplotypes. Genetics, 178:553-561.
3. Dekkers, J. C. M. 2005. Animal Breeding Strategies. Available at <http://www.anslab.iastate.edu/Class/AnS652X/Chapter4.pdf>.
4. de Roos, A. P. W., C. Schrooten, and T. Druet. 2011. Genomic breeding value estimation using genetic markers, inferred ancestral haplotypes, and the genomic relationship matrix. Journal of Dairy Science, 94:4708-4714.
5. Edriss, V., B. Guldbrendtsen, M. S. Lund, and G. Su. 2013. Effect of marker-data editing on the accuracy of

- genomic prediction. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 130:128-135.
6. Ferdosi, M. H., J. Henshall, and B. Tier. 2016. Study of the optimum haplotype length to build genomic relationship matrices. *Genetic Selection Evolution*, 48:75.
7. Habier, D., R. L. Fernando, and J. C. M. Dekkers. 2007. The impact of genetic relationship information on genome-assisted breeding values. *Genetics*, 177: 2389-2397.
8. Habier, D., R. L. Fernando, and D. J. Garrick. 2013. Genomic BLUP decoded: a look into the black box of genomic prediction. *Genetics*, 194:597-607.
9. Hickey, J. M., B. P. Kinghorn, B. Tier, S. A. Clark, J. H. J. van der Werf, and G. Gorjanc. 2013. Genomic evaluations using similarity between haplotypes. *Journal of Animal Breeding and Genetic*, 130: 259-269.
10. Meuwissen, T. H. E., B. J. Hayes, and M. E. Goddard. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157:1819-1829.
11. Meuwissen, T. H., J. Odegard, I. Andersen-Ranberg, and E. Grindflek. 2014. On the distance of genetic relationships and the accuracy of genomic prediction in pig breeding. *Genetic Selection Evolution*, 46:49.
12. Miglior, F., B. L. Muir, and B. J. Van Doormaal. 2005. Selection indices in Holstein cattle of various countries. *Journal of Dairy Science*, 88:1255-1263.
13. Nejati Javaremi, A., C. Smith, and J. P. Gibson. 1997. Effect of total allelic relationship on accuracy of evaluation and response to selection. *Journal of Animal Science*, 7: 1738-1745.
14. Parker Gaddis, K. L., J. B. Cole., J. S. Clay, and C. Maltecca. 2014. Genomic selection for producer-recorded health event data in US dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 97:3197-3199.
15. Sargolzaei, M., and F. S. Schenkel. 2009. QMSim: A large-scale genome simulator for livestock. *Bioinformatics*, 25(5):680-681.
16. Sargolzaei, M., 2014. SNP1101 User's Guide. Version 1.0. HiggsGene Solutions Inc., Guelph, Ontario, Canada.
17. Schaeffer, L. R. 2006. Strategy for applying genome wide selection in dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetic*, 123(4):218-223.
18. Su, G., O. F. Christensen, L. Janss, and M. S. Lund. 2014. Comparison of genomic predictions using genomic relationship matrices built with different weighting factors to account for locus-specific variances. *Journal of Dairy Science*, 97:6547-6559.
19. VanRaden, P. M. 2008. Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science*, 91:4414-4423.
20. VanRaden, P. M., C. P. Van Tassell, G. R. Wiggans, T. S. Sonstegard, R. D. Schnabel, J. F. Taylor, and F. S. Schenkel. 2009. Invited review: Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. *Journal of Dairy Science*, 92:16-24.



Improving Genomic Evaluation of Holstein Cattle Using a Haplotype-Based Relationship Matrix

M. Forutan¹- S. Ansari Mahyari^{2*}- F. Schenkel³- M. Sargolzaei⁴

Received: 15-07-2017

Accepted: 16-12-2017

Introduction With the advent of high throughput genotyping technologies, interest has grown in using genomic information to estimate breeding values. Genomic selection, in which genetic markers across the whole genome are used to estimate breeding values of individuals, is routinely applied in dairy cattle breeding programs. In dairy cattle, genomic selection has resulted in a substantial increase in the rate of genetic gain compared to traditional selection. This has been achieved mainly by reducing the generation interval, which became possible because of the higher accuracies of genomic breeding values (GEBV) estimated early in life compared to parent averages. Since single nucleotide polymorphism (SNP) genotypes are bi-allelic and, therefore, their information content is not high, so SNP-based methods may not effectively capture the linkage disequilibrium (LD) between SNPs and multi-allelic quantitative trait loci (QTLs). Haplotypes are in general “multi-allelic” and compared to individual SNPs may better capture LD with multi-allelic QTL. Furthermore, most of the SNPs in the chips are old mutations. This may imply that SNP-based relationship matrix traces very old relationships from distant relatives and, therefore, may not trace changes due to recent selection accurately. It has also been hypothesized that using similarity between haplotypes to model the covariance between genomic effects can result in better predictive ability than modeling covariance based on SNP genotypes. So the objective of this study was to investigate the accuracy and bias of GEBV using genomic best linear unbiased prediction (GBLUP) with alternate genomic relationship matrices (G) based on SNPs and haplotypes information.

Materials and Methods The North American Holstein genotype data was provided by the Canadian Dairy Network (CDN). The Holstein bulls with official domestic proofs were genotyped using the Illumina Bovine SNP 50 TM Chip. The genotyped Holstein bulls were classified as estimation group and prediction group. All bulls in prediction group were those bulls who were born from 2007 to 2011 and had official proof in 2015. De-regressed EBV (dEBV) based on the 2015 genetic evaluation (dEBV2015) were used for validation purposes. The estimation group included bulls born mainly between 1960 to 2007. The analyzed traits were fat yield, milk yield, somatic cell score, conformation, and days open. The GEBVs for mentioned traits were estimated based on GBLUP models using SNP1101 software. Three G matrices were built: 1) SNP genotype based relationship matrix (GSNP), 2) haplotype based relationship matrix (GHAP), and 3) hybrid matrix composing of SNP genotype and haplotype based relationship matrices (GSNP, HAP). Accuracy of prediction was calculated as Pearson’s correlation between estimated GEBV and dEBV2015 for prediction group. Bias of prediction was also calculated as regression coefficient of dEBV2015 on GEBV for prediction group.

Results and Discussion Observed differences between alternate G matrices were larger in prediction bias than in prediction accuracy. Accuracy of genomic predictions based on GHAP were 0.73, 0.71, 0.62, 0.54, and 0.50 for fat yield, milk yield, somatic cell score, conformation, and days open, respectively. Accuracy of genomic predictions based on GSNP also were 0.72, 0.70, 0.61, 0.56, and 0.49, respectively. Although using GHAP instead of GSNP did not significantly improve the accuracy of prediction, it resulted in estimates with 6 (conformation) to 15% (days open) less bias and closer to one over the different traits. Genomic selection based on GHAP instead of GSNP seems to improve bias of prediction for traits under recent selection, such as days open. This might also be due to the fact that this trait is lowly heritable. Although accuracy of genomic predictions based on GSNP, HAP were similar to GSNP, using GSNP, HAP resulted in higher biases than GHAP or GSNP.

Conclusion Based on these findings, GHAP might be an alternative approach to reduce bias of genomic

1 and 2- PhD student and Associate professor, respectively, Department of Animal Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Iran

3- Professor, Centre for Genetic Improvement of Livestock, Department of Animal Biosciences, University of Guelph, Canada

4- Associate professor, Centre for Genetic Improvement of Livestock, Department of Animal Biosciences, University of Guelph, Semex Alliance and HiggsGene Solutions Inc., Canada

(*- Corresponding author email: s.ansari@cc.iut.ac.ir)

predictions in routine genomic evaluations. Genomic selection based on GHAP instead of GSNP improved bias of prediction especially for low heritable traits under recent selection, such as days open. Small gain achieved with GHAP compared to GSNP may imply that the correlation between IBS and IBD in GHAP is not optimal for maximization of prediction accuracy. Based on current results further research is needed to investigate the use of haplotype length and allele frequency of markers in haplotype segments in the definition of haplotype similarity. In addition, this study suggests further research to assess the effect of recent selection, heritability and genetic architecture of the traits on the performance of haplotype based relationship matrix.

Keywords: Accuracy, Bias of prediction, Genomic relationship matrix, Haplotype, Holstein cattle



بررسی اثر ژن‌های مرتبط با میتو پروتئوم بر رشد ماهیچه سینه مرغ بومی اصفهان به وسیله داده RNA-seq

سید نادر آلبوشوکه^۱ - مجتبی طهمورث پور^{۲*} - محمدرضا بختیاری زاده^۳ - محمدرضا نصیری^۲ - سعید اسماعیل خانیان^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۲۵

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی و شناسایی تفاوت‌های ژنتیکی و مسیرهای متابولیکی مرتبط با میتو کندری بین توده مرغ بومی اصفهان و یک سویه جوجه تجاری راس ۷۰۸ با سرعت رشد‌های متفاوت، انجام شد. بدین منظور از روش توالی‌یابی RNA-seq با استفاده از چهار نمونه ماهیچه سینه ۲۸ روزگی استفاده شد. مقایسه آماری بیان ژن‌های توالی‌یابی شده در مرغ بومی و جوجه تجاری، ۶۰۶ ژن با تفاوت معنی‌دار را مشخص نمود و از این تعداد ۲۴۹ ژن در مرغ بومی و ۳۵۷ ژن در جوجه تجاری افزایش بیان داشتند. بر اساس نتایج بیان ژن‌ها در مرغ بومی، فاکتور رونویسی FoxO3 موجب فعال شدن مسیر آتروفی لیگازهای یوبیکوئینی E3 و افزایش شکست پروتئین و در نتیجه کاهش حجم ماهیچه اسکلتی در مقایسه با جوجه تجاری شده است. هیپوکسی و تنظیم فرآیند متابولیکی گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) از مهم‌ترین فرآیندهای بیولوژیکی فعال در مرغ بومی بودند. بررسی و مقایسه ژن‌های مرتبط با پروتئوم میتو کندریایی نشان داد در این مرغ تغییرات معنی‌داری در بیان بسیاری از پروتئین‌های وابسته به رشد و تنظیم‌کننده رونویسی وجود دارد. این تغییرات نشان‌دهنده برنامه سازگاری پیچیده‌ای است که شکست پروتئین را تسهیل نموده و سوخت گلوکز در ماهیچه را کاهش می‌دهد. این مسیرهای متابولیسمی در جهت کاستن سطح نیازمندی‌های مرغ بومی به گونه‌ای تکامل یافته‌اند تا توان این مرغ را در غلبه بر شرایط و تنش‌های محیطی و تحمل کمبودهای غذایی تقویت نمایند.

واژه‌های کلیدی: ماهیچه سینه، مرغ بومی، میتو پروتئوم، RNA-Seq

مقدمه

توده ماهیچه در نتیجه یک تعادل بسیار دقیق مابین فرآیندهای ساخت و شکست، کنترل و حفظ می‌گردد. تحلیل رفتن توده ماهیچه ای شامل آتروفی فیبرهای ماهیچه‌ای به دلیل فعال شدن مسیرهای سیگنالی شکست پروتئین می‌باشد. آتوفازی^۲ نیز در پاسخ به شرایط تنشی و جهت هموستاز بافتی و حفظ بقای سلول فعال می‌گردد (۲۵). در طی دوره وفور مواد غذایی، سیگنال‌دهی شبه انسولین در ماهیچه اسکلتی مسیرهای آنابولیکی را تحریک نموده تا ساخت پروتئین و هایپرتروفی ماهیچه‌ای بیشتر شود. چنانچه سطح گلوکز در گردش

پایین باشد، پروتئین ماهیچه اسکلتی شکسته و اسیدهای آمینه آزاد شده تا جهت گلوکونئوزن و ساخت پروتئین‌های ضروری استفاده شوند. ماهیچه‌های اسکلتی قادرند در پاسخ به تغییر در قابلیت دسترسی مواد غذایی، به طور انتخابی سوبستراهایی را جهت تأمین انرژی مصرف نمایند. ماهیچه اسکلتی عمده مکان دریافت و اکسیداسیون گلوکز به واسطه تحریک انسولین است لیکن در طی روزه داری در ماهیچه اسکلتی اسیدهای چرب سوبسترای غالب جهت اکسیداسیون می‌شوند (۱۷). این انعطاف‌پذیری متابولیسم بدن که با وجود حجم بالای ماهیچه‌های اسکلتی و مصرف انرژی آنها، اولویت استفاده از کربوهیدرات‌ها را به مغز می‌دهد یک ویژگی مهم جهت حفظ بقا و هموستاز انرژی می‌باشد. متابولیسم ماهیچه‌های اسکلتی به شدت وابسته به عملکرد میتو کندری می‌باشد. میتو کندری در بسیاری از فرآیندهای سلولی از جمله متابولیسم انرژی، مرگ برنامه ریزی شده سلولی^۳، سیگنال‌دهی، مسیرهای متابولیسمی مرتبط به چربی‌ها، اسیدهای آمینه و آهن یک عامل حیاتی به‌شمار می‌آید. حدود ۸۰ درصد از ۶۱۵ پروتئین یافت شده در میتو کندری قلب انسان

۱- گروه علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران
۲- استاد، گروه آموزشی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- استادیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران
۴- دانشیار، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج، ایران
(*) نویسنده مسئول
(Email: tahmoore@um.ac.ir)

در فسفریلاسیون اکسیداتیو، RNA، DNA و ساخت پروتئین، انتقال یون و متابولیسم دخالت دارند (۴۰). با توجه به اینکه میتوکندری با استفاده از فسفریلاسیون اکسیداتیو حدود ۹۰ درصد انرژی سلولی را تولید می‌کند (۱) می‌توان فرض نمود بی‌کفایتی توام با میتوکندری ناکارآمد، اثر شگرفی بر عملکرد رشد و بیان فنوتیپی راندمان غذایی در حیوانات داشته باشد. تنوع در رشد جوجه‌های گوشتی و راندمان غذایی را می‌توان تا حدودی ناشی از تفاوت در عمل میتوکندری و بیوشیمی آن دانست. مقایسات ژنومی روشی مناسب در مطالعه چگونگی سازگاری گونه‌های جانوری به شرایط محیطی می‌باشد. در میان حیوانات مختلف، مرغ خانگی از بهترین مدل‌های حیوانی جهت بررسی فرآیندهای تکاملی-به‌گزینی ژنتیکی به‌شمار می‌آید (۱۲). مرغ بومی از نظر سازگاری به شرایط اقلیمی، تنش‌های غذایی و مدیریتی و نیز مقاومت به بیماری معروف شده است (۳۱). در حالی که جوجه های گوشتی تجارتی در مقایسه با مرغ بومی دارای ضریب تبدیل غذای بهتر و سرعت رشد بالاتر می‌باشند. با توجه به این موضوعات و جهت بررسی تفاوت بیان ژنی مرتبط با میتوکندری در دو گروه جوجه تجارتی راس و جوجه بومی اصفهان این آزمایش انجام شد تا علت تفاوت‌های میزان رشد ماهیچه اسکلتی و راندمان غذایی این دو از نظر عملکرد ژنوم بررسی شود.

مواد و روش‌ها

روش نمونه‌گیری: برای انجام این آزمایش از ۲۰۰ قطعه جوجه یک روزه سویه تجاری راس ۷۰۸ و ۲۰۰ قطعه جوجه یک روزه از توده مرغ بومی اصفهان استفاده شد. جوجه‌ها به سالن‌های مرغداری مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی صفی‌آباد دزفول انتقال داده شده و تا پایان آزمایش با شرایط یکسان، نگهداری و مدیریت شدند. تمامی جوجه‌ها از یک جیره غذایی متعادل بر مبنای ذرت و سویا با ۳۰۰۰ کیلوکالری انرژی در کیلوگرم وزن خشک و ۲۰ درصد پروتئین خام تغذیه شدند. دسترسی به آب آشامیدنی و خوراک آزاد بود. در پایان ۲۸ روزگی از هر گروه ۶ قطعه جوجه خروس به‌طور تصادفی انتخاب، توزین و کشتار شد. در هر جوجه از یک مکان مشابه در ماهیچه سمت چپ سینه (Pectoralis major muscle) یک نمونه تقریباً دوگرمی گرفته شده و در کریوتیوب‌های استریل و فاقد RNase و DNase قرار داده شد. نمونه‌های گرفته شده بلافاصله به تانک ازت مایع منتقل و سپس در آزمایشگاه تا زمان استخراج RNA در فریزر دمای -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جدا و خالص‌سازی RNA: با استفاده از تریزول (Invitrogen, USA) و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده از نمونه‌ها RNA استخراج گردید. خلوص RNA با استفاده از نانودراپ

بررسی کمی و کیفی داده‌ها: قبل از انجام همترازی (Alignment) سنجش کیفیت توالی خوانش‌های خام با استفاده از نرم‌افزار FastQC نسخه 0.11.2 تحت سیستم عامل لینوکس انجام شد. برای حذف خوانش‌های با کیفیت پایین و یا خوانش‌های خام حاوی توالی‌های مربوط به آداپتور و پرایمر و Poly-N از نرم‌افزار Trimmomatic (۲۶) استفاده شد. خوانش‌های پیرایش شده جهت تأیید کیفیت، مجدداً با نرم‌افزار Fastqc بررسی شدند.

آنالیز بیان ژن: از تارنمای Ensembl به آدرس <http://asia.ensembl.org/info/data/ftp/index.html> ژنوم مرجع و فایل حاوی رفرنس‌دهی ژنوم [Ensembl Galgal4 (GCA_000002315.2)] دریافت شد. خوانش‌ها با استفاده از نرم افزار HISAT2 (نسخه 2.0.4) (۱۸) به ژنوم مرجع هم‌ردیف شده، با استفاده از نرم‌افزار Cufflinks (نسخه 2.2.1) (۴۱) و با استفاده از فایل رفرنس‌دهی ژنوم (حاوی ۱۷۹۵۴ ژن در بانک اطلاعاتی Ensembl) به رونوشت‌های بیان شده اسمبل شده تا بدین ترتیب رونوشت‌های شناخته شده و جدید تشخیص داده شوند. سپس با استفاده از ابزار Cuffdiff تفاوت معنی‌دار بیان ژن‌ها (Differential Expressed Genes) بررسی گردید. بدین منظور نرخ تشخیص خطای ۵ درصد ($FDR < 0.05$) به‌عنوان سطح معنی‌دار DEGs در نظر گرفته شد. بیان ژن‌ها به صورت FPKM (fragments per kilobase of transcript per million mapped reads) در نظر گرفته شد.

آنالیز میتو پروتئوم: جهت تخمین محتوای میتوکندریایی مابین دو گروه آزمایشی، میتو پروتئوم انسانی از وب سایت میتوماینر (Mitominer) به آدرس <http://mitominer.mrc-> mbu.cam.ac.uk/release-3.1/begin.do دریافت شد. فهرست موجود دارای ۱۱۵۲ پروتئین میتوکندریایی کدشونده توسط DNA هسته و میتوکندریایی بود. نام پروتئین‌ها تبدیل به نام ژن‌های مربوطه شده و با فهرست ژن‌های توالی‌یابی شده مقایسه گردید.

بررسی عملکرد ژن‌های با بیان متفاوت: آنالیز عملکردی برای ژن‌های با بیان متفاوت و آنالیز مسیرهای بیولوژیکی ژن‌ها (KEGG) به‌ترتیب با استفاده از نرم‌افزارهای برخط geneontology و DAVID نسخه 6.8 (۵) انجام شد. قبل از ثبت اسامی ژن‌ها در

توسط DNA هسته و میتوکندری منجر به شناسایی ۹۳۱ ژن مشابه در این دو گردید. از این تعداد ۳۵۱ ژن در مرغ تجاری و ۵۳۰ ژن در مرغ بومی بیان بالاتری داشتند. پلات MA چگونگی توزیع این ژن‌ها بین دو گروه مرغ بومی و جوجه تجاری را نشان می‌دهد (شکل ۱).

این توزیع و پراکندگی ژن‌ها از نظر آزمون آماری (بر اساس توزیع دو جمله‌ای) بسیار معنی‌دار بود ($P \text{ value} < 5.918e-14$). نتیجه این آزمون نشان می‌دهد توزیع پراکندگی به نفع مرغ بومی انحراف پیدا کرده است و این بدان معنی است که مرغ بومی محتوای میتوکندریایی بیشتری نسبت به مرغ تجاری دارد. این نتیجه در توافق با نتایج مطالعات مشابهی بود که نشان می‌دهد در جوجه‌های گوستی مدرن در مقایسه با جوجه‌های بومی تعداد ژن کدکننده پروتئین‌های میتوکندریایی کمتر است (۴ و ۲۱). به‌رحال بر اساس FDR با سطح معنی‌دار ۵ درصد، فقط بیان ۳۱ ژن (۱۸ ژن در مرغ بومی و ۱۳ ژن در مرغ تجاری) از کل ۹۳۱ ژن، با یکدیگر تفاوت معنی‌دار داشت (شکل ۲). نام و برخی خصوصیات مربوط به این ژن‌ها در جدول ۲ آورده شده است.

نتایج بررسی عملکردی ژن‌های مرتبط با عمل میتوکندریایی در فرایند بیولوژیکی نشان داد فرایندهای مولکول‌های کوچک، اکزواسید، اسیدهای آلی، اسید کربوکسیلیک و اسید مونوکربوکسیلیک، انتقال میتوکندریایی، واکنش به ترکیبات اکسیژن‌دار و تنظیم فرایند متابولیسمی گونه‌های اکسیژن فعال^۴ (ROS) از مهم‌ترین فرایندهای بیولوژیکی معنادار در مرغ بومی بودند (شکل ۳). در جوجه تجاری، ۱۳ ژن مرتبط میتوکندریایی، در هیچ فرایند بیولوژیکی معنی‌داری شرکت نداشتند.

بررسی وضعیت ژن‌های موثر بر متابولیسم پروتئین

فعال شدن مسیرهای کاتابولیسم پروتئین‌های ماهیچه‌ای نیازمند افزایش بیان ژن‌های مرتبط با آتروفی (آتروژن‌ها) است. بیان آتروژن‌ها توسط فاکتورهای نسخه‌برداری ویزه‌ای نظیر FoxO3^۵ کنترل می‌گردد (۲۸). این ژن دو سیستم عمده شکست پروتئینی، یعنی مسیر یوبیکوئیتین-پروتئوزوم و مسیر اتوفاژی/لیزوزوم را در ماهیچه اسکلتی کنترل می‌نماید (۳۴). ژن پروتئین کیناز B (AKT) یک کیناز پروتئینی سرین/ترئونینی است و نقش کلیدی در مسیرهای سیگنالی انسولین و PI3K/Akt/mTOR^۶ ایفا می‌کند.

این پایگاه داده‌ها، اسامی رسمی^۱ و اسامی مختص پایگاه Ensembl ژن‌ها از پایگاه داده Ensembl دریافت شد. اسامی ژن‌های مشترک بین فهرست میتوزنوم انسانی با فهرست ژن‌های با بیان متفاوت به پایگاه داده DAVID ارائه شد. از بین این ژن‌ها تعداد ۳۱ ژن در پایگاه‌های مذکور شناخته شد و برای آن‌ها آنالیز عملکردی انجام گردید. نتایج آنالیزی برای فرایند بیولوژیکی^۲ با سطح معنی‌دار ۰/۰۵ تصحیح شده برای خطای چندتستی با روش FDR ($q \leq 0.05$) مورد بررسی قرار گرفت.

نمودارهای آماری: با استفاده از نرم‌افزار آماری R و پکیج ggplot2 (۱۱) پلات‌های MA و Volcano برای ژن‌های مشترک بین میتوپروتئوم و فهرست ژن‌های توالی‌یابی شده در این مطالعه ترسیم گردید. انحراف از توزیع فرض برابری ۵۰:۵۰ توسط آماره بینومیلی تعیین شد. با چنین روشی می‌توان میزان گرایش ژن‌های میتوپروتئوم به سمت یکی از هریک از دو گروه را تعیین نمود.

نتایج و بحث

خلاصه مقادیر مربوط به خصوصیات اوزان بدن، افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک تا ۲۸ روزگی جوجه‌های هر دو گروه در جدول ۱ آورده شده است. در روز نخست پس از تفریخ، وزن جوجه‌های تجاری سنگین‌تر از بومی بود. این روند تا پایان آزمایش یعنی ۲۸ روزگی همچنان ادامه داشت. برای بررسی وجود تفاوت معنی‌دار در میانگین‌های صفات تولیدی در دو گروه از آزمون آماری مقایسه میانگین دو جامعه مستقل (t استیودنت) استفاده شد. نتایج آزمون مطابق انتظار نشان داد جوجه تجاری وزن سنگین‌تر، سرعت رشد بالاتر و ضریب تبدیل خوراک پایین‌تری نسبت به جوجه بومی دارد.

با استفاده از نمونه‌ی بافت سینه مربوط به شش جوجه خروس از هر یک از دو گروه بومی و راس، چهار نمونه تشکیل (هر نمونه حاوی RNA سه جوجه خروس به صورت ادغام شده) به صورت خوانش‌های جفتی (2 x 150 bp) توالی‌یابی شد. به‌ازای هر نمونه حدود ۳۰-۲۵ میلیون خوانش خام به‌دست آمد و با ژنوم مرجع مرغ اهلی (galgal4) هم‌ردیف شد. پس از انجام آنالیز آماری ۶۰۶ ژن ($\text{Log}_2\text{FC} > 0.8$ و $P\text{-adjusted} \leq 0.05$) به‌عنوان ژن‌های با تفاوت معنی‌دار DEGs^۳ شناسایی شد. از این تعداد ۲۴۹ ژن در مرغ بومی و ۳۵۷ ژن در جوجه تجاری بیان بالاتر داشتند.

شناسایی ژن‌های مرتبط با میتوکندری: مقایسه فهرست

ژن‌های توالی‌یابی شده با ۱۱۵۲ پروتئین میتوکندریایی کدشونده

4- Reactive Oxygen Species

5- Forkhead box

6- Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), Akt (a serine/threonine kinase also known as protein kinase B [PKB]), and mammalian target of rapamycin (mTOR)

1- Official_gene_simbol

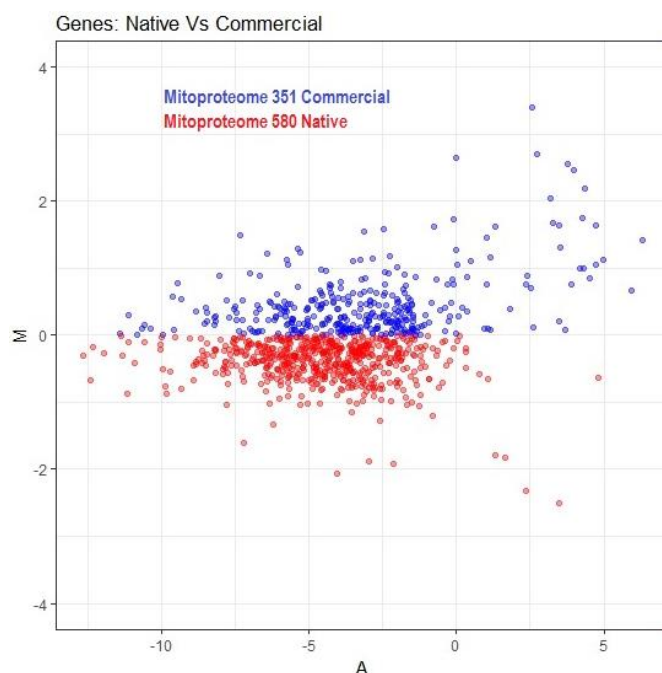
2- Biological Process

3- Differential Expression Genes

جدول ۱- داده‌های عملکردی رشد در جوجه تجاری و توده مرغ بومی

Table 1- Growth performance data in commercial and native chickens

صفت Trait	جوجه بومی Native	جوجه تجاری Commercial	P-Value
وزن روز نخست Body weight at first day	32.02 ± 0.23	40.49 ± 0.72	< 0.001
وزن روز ۱۴ Body weight at day 14	177.14 ± 1.33	382.29 ± 17.52	< 0.001
وزن روز ۲۸ Body weight at day 28	340 ± 2.42	1234.29 ± 18.31	< 0.001
افزایش وزن ۱۴-۲۸ Weight gain at 14-28	162.86 ± 2.23	852 ± 11.79	< 0.001
ضریب تبدیل خوراک Feed Conversion Ratio	3.47 ± 0.192	1.76 ± 0.146	< 0.001

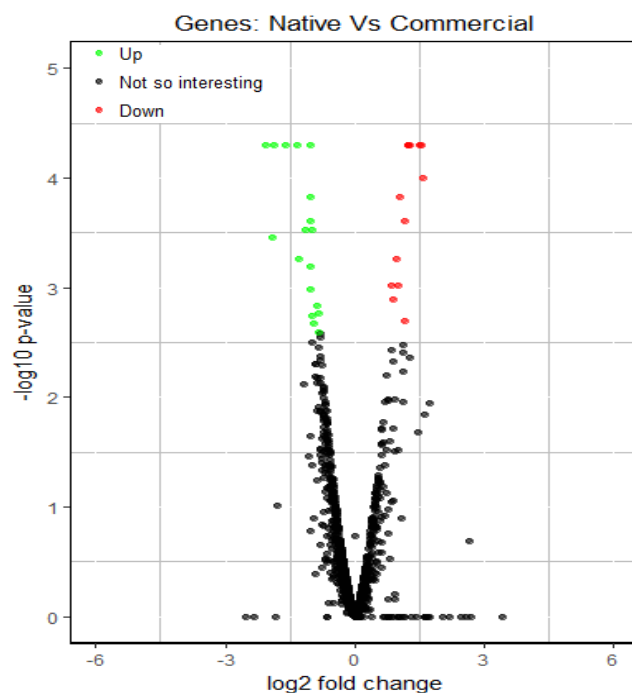


شکل ۱- پلات MA و تعداد ژن میتوپروتئوم با بیان بالا. محورهای Y و X به ترتیب بیانگر نسبت لگاریتمی تفاوت بیان به میانگین بیان برای هر ژن در دو گروه بومی و تجاری می‌باشند. ژن‌های میتوپروتئوم که بیان بالاتری در گروه بومی داشتند به رنگ قرمز و در گروه تجاری به رنگ آبی نمایش داده شده‌اند.

Figure 1- MA plots and number of mitoproteome genes with higher expression. Y and x axis represent the log ratio of differential expression and the average expression, respectively, for each gene in native and commercial breeds. Mitoproteome genes, which have a higher expression in the native breed, are red in color and blue for commercial breed.

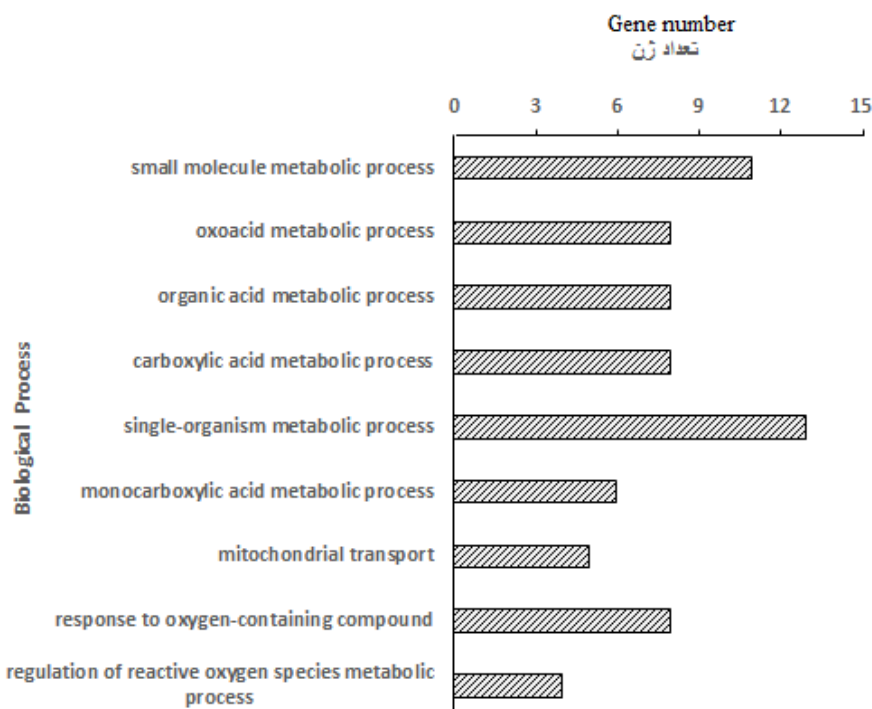
بیان PIK3IP1 منجر به فعال شدن PI3K/AKT و در نتیجه افزایش سنتز پروتئین و اندازه سلول ماهیچه‌ای می‌شود (۳۹). همچنین افزایش بیان IGFBP3 نیز با مهار نمودن IGF-1 موجب کاهش فعالیت مسیر سیگنالی IGF1/PI3K/Akt و در نتیجه پیشرفت آتروفی می‌شود (۱۴).

در حضور انسولین و فاکتورهای رشد (IGF)، AKT موجب فعال شدن mTOR شده و با غیرفعال سازی FoxO3 همزمان بیان ژن‌های پیشرفت‌دهنده آتوفاژی در ماهیچه را کاهش می‌دهد (۴۸). ژن PIK3IP1 پروتئینی را کددهی می‌نماید که می‌تواند تنظیم‌کننده منفی مسیر PI3K و میانجی مثبت فعال شدن FoxO3 باشد (۳۶). کمبود



شکل ۲- نمودار ولکانو و پراکنندگی ژن‌های مرتبط با میتوکندری در دو گروه. ژن‌های نمایش‌یافته با رنگ سبز در مرغ بومی و ژن‌های با رنگ قرمز در جوجه راس بر اساس نرخ خطای تشخیص معنی‌دار اعلام شده‌اند ($FDR \leq 0.05$). ژن‌های به رنگ مشکی در هر دو گروه بیان یکسانی داشته‌اند.

Figure 2- Volcano plot and dispersion of mitoproteome genes in two groups. Green genes in native chickens and red genes in Ross chickens are DEGs ($FDR < 0.05$). The genes in black have no differential expression.



شکل ۳- فرآیندهای بیولوژیکی ژن‌های با بیان متفاوت در مرغ بومی. ستون‌ها به ترتیب سطح معنی‌دار مرتب شده‌اند به طوری که کمترین مقدار، در بالاترین جایگاه قرار دارد.

Figure 3- Biological process of DEGs in Native chickens. The columns are arranged in a significant level, respectively, so that the lowest value is at the highest position

جدول ۲- مهمترین ژن‌های با افزایش بیان معنی‌دار مرتبط با میتوکندری در مرغ بومی و جوجه راس

Table 2- The most important Differential expression mitoproteom genes in Native and Ross chickens

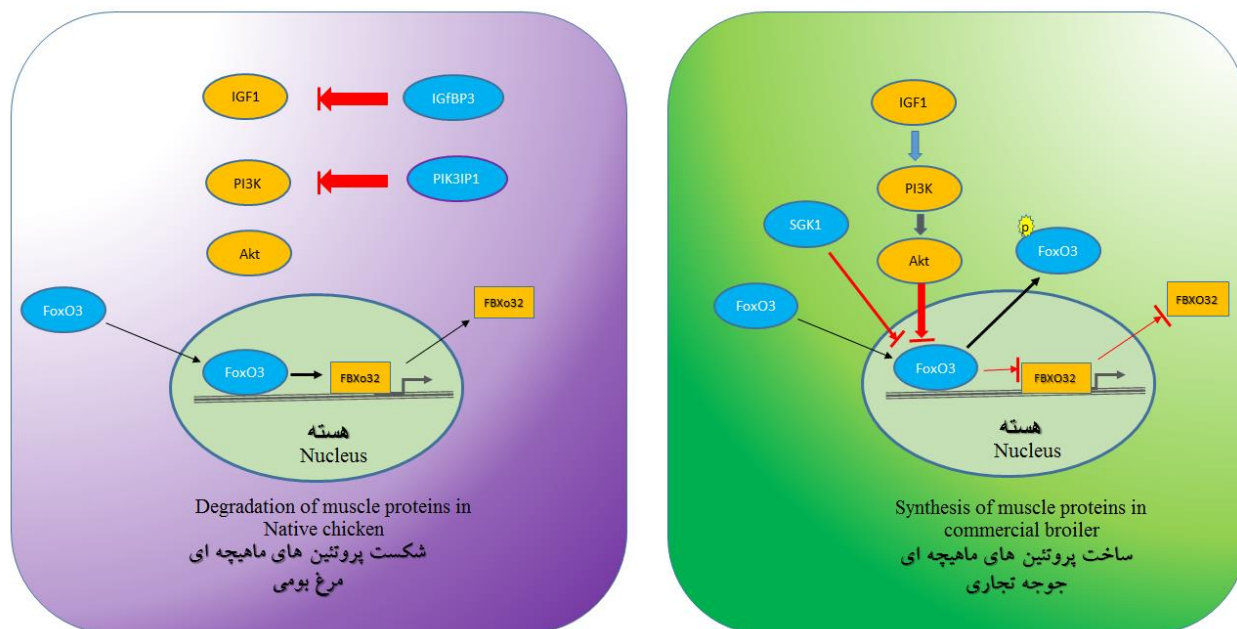
علامت ژن Gene symbol	نام کامل ژن Full name of gene	Log2FC	FDR
ژن‌های با افزایش بیان در مرغ بومی Mitoproteom Genes upregulated in Native chicks			
TAF3	TATA-box binding protein associated factor 3	-0.82329	0.049246
BNIP3	BCL2/adenovirus E1B 19kDa interacting protein 3	-0.84264	0.036874
MCCC2	methylcrotonoyl-CoA carboxylase 2 beta	-0.88493	0.033184
PK3	pyruvate dehydrogenase kinase, isozyme 3	-0.93856	0.043623
PNPLA8	patatin like phospholipase domain containing 8	-0.97732	0.010601
TFB2M	transcription factor B2, mitochondrial	-0.98299	0.038682
CMC2	C-x9-C motif containing 2	-1.01105	0.02614
MPC1	mitochondrial pyruvate carrier 1	-1.01477	0.002453
GLUL	glutamate-ammonia ligase	-1.01969	0.009169
CRYAB	crystallin, alpha B	-1.04299	0.006119
ADCK3	aarF domain containing kinase 3	-1.04646	0.018387
PPIF	peptidylprolyl isomerase F	-1.14617	0.010601
SLC25A33	solute carrier family 25 pyrimidine nucleotide carrier, member 33	-1.28314	0.016523
GCAT	glycine C-acetyltransferase	-1.32246	0.002453
UCP3	uncoupling protein 3 mitochondrial, proton carrier	-1.60935	0.002453
RSAD2	radical S-adenosyl methionine domain containing 2	-1.8763	0.002453
UQCRCQ	ubiquinol-cytochrome c reductase, complex III subunit VII, 9.5kDa	-1.90952	0.012039
PK4	pyruvate dehydrogenase kinase, isozyme 4	-2.0654	0.002453
ژن‌های با افزایش بیان در سویه تجاری Mitoproteom Genes upregulated in Commercial chicks			
PYCR2	pyrroline-5-carboxylate reductase family, member 2	1.57699	0.004404
FAM213A	family with sequence similarity 213 member A	1.55352	0.002453
ANXA2	annexin A2	1.49268	0.002453
FN1	fibronectin 1	1.28796	0.002453
ALDOC	aldolase C, fructose-bisphosphate	1.23011	0.002453
ANXA1	annexin A1	1.21498	0.002453
FAM69C	family with sequence similarity 69 member C	1.17417	0.009169
GM2A	GM2 ganglioside activator	1.1428	0.041521
GATM	glycine amidinotransferase	1.05586	0.006119
RAC2	ras-related C3 botulinum toxin substrate 2 rho family, small GTP binding protein Rac2	0.988807	0.024328
MYH9	myosin, heavy chain 9, non-muscle	0.957613	0.016523
HSPA5	heat shock 70kDa protein 5 glucose-regulated protein, 78kDa	0.897724	0.030595
FKBP10	FK506 binding protein 10, 65 kDa	0.846919	0.024328

بومی داشت. بنابراین در این دو مرغ دو ژن PIK3IP1 و SGK1 با دو اثر متضاد و تعیین کننده، سبب تاثیر بر میزان بیان و فعالیت ژن FoxO3 شده‌اند.

آتروفی از طریق مسیر یوبیکوتین پروتئوزوم E3

برای شروع آتروفی در ماهیچه اسکلتی، وجود FoxO3 شرط لازم و کافی به شمار می‌آید (شکل ۵). FoxO3 با افزایش رونویسی مجموعه‌ای از ژن‌های کدکننده لیگازهای E3 همانند FBXO32 موجب آتروفی ماهیچه اسکلتی می‌شود (۳۵). مطالعات متعدد نشان داده‌اند در ماهیچه در حال آتروفی mRNA چنین پروتئوزوم‌هایی افزایش بیان می‌یابند (۱۶). لیگازهای E3 با شکست پروتئین‌ها و به خصوص اجزا فیبرهای ماهیچه‌ای موجب تحلیل رفتن ماهیچه می‌شوند (۲۳).

در مرغ بومی افزایش بیان دو ژن PIK3IP1 و IGFBP3 نشان می‌دهد این دو پروتئین با کاهش سطوح IGF-1 و PI3K، موجب غیرفعال شدن مسیر IGF1-PI3K-AKT شده و بنابراین این دو ژن عمده عوامل فعال ساز FoxO3 بوده‌اند (شکل ۴). این موضوع از یک طرف موجب کاهش ساخت پروتئین‌های ماهیچه‌ای از طریق غیر فعال شدن سیستم mTOR و از طرف دیگر موجب افزایش شکست پروتئین‌های ماهیچه‌ای از طریق فعال سازی مسیر آتروفی لیگازهای وابسته به FoxO3 شد. ژن ^۱ SGK1 یک کیناز وابسته به PI3K بوده و از نظر ساختمانی بسیار شبیه و همولوگ با Akt است (۲۰). SGK1 توسط ژن‌های IGF1 و PDK1 و PI3K (mTORC2) فعال شده و با فسفریلاسیون FoxO3، آتروفی ماهیچه‌ای را ممانعت می‌نماید (شکل ۴). این ژن در جوجه تجاری بیان بالاتری نسبت به مرغ



شکل ۴- ساخت و شکست پروتئین‌های ماهیچه‌ای. در غیاب انسولین یا فاکتورهای رشد، FoxO3 به هسته سلول رفته و موجب افزایش رونویسی آتروژن‌ها و ژن‌های مربوط به آتوفازی شده و این منجر به افزایش شکست پروتئین‌های ماهیچه‌ای می‌شود. Akt با فسفریلاسیون FoxO3 موجب جابه‌جایی آن از هسته به سیتوپلاسم و ممانعت از توان رونویسی آن می‌شود.

Figure 4- Synthesis and degradation of muscle proteins. In the absence of insulin or growth factors, FoxO3 localized in the nucleus, where it promotes transcription of the atrogenes and autophagy-associated genes that induced catabolism of skeletal muscle proteins. AKT with phosphorylation of FoxO3, inducing its translocation from the nucleus to the cytoplasm and prevents its transcriptional capability.

mTOR در نهایت موجب کاهش اندازه فیبرهای ماهیچه‌ای می‌شود (۳۷). در واقع بیان این ژن توام با FOXO، نوعی اثر افزایش‌دهنده بر افزایش بیان لیگازهای یوبیکوئیتین E3 دارد (شکل ۵). بالا بودن بیان این ژن در مرغ بومی نشان می‌دهد که این ژن در آتروفی ناشی از فعال‌سازی لیگازها دخالت نموده است. همچنین بالا بودن سطح بیان ژن FKBP5^۳ به‌عنوان نگهبان (Chaperon) آن در سیتوزول در مرغ بومی نشان می‌دهد بیان بالای ژن KLF15 می‌تواند به‌صورت محافظت شده در سیتوزول باقی بماند. ژن CUL3^۴ پروتئینی به نام Cullin-3 را کددهی می‌کند که در قسمت مرکزی سیستم پروتئوزوم یوبیکوئیتین E3 قرار می‌گیرد. لانگ و همکاران نشان دادند Cullin-3 در ناحیه Z دیسک سارکومر میوفیبریل‌های ماهیچه اسکلتی قرار دارد و در شکست پروتئین‌های ماهیچه شرکت می‌نماید (۲۲). ژن Sen1^۵ مرتبط با آتروفی نیز بیان بالاتری در مرغ بومی نسبت به مرغ تجاری داشت.

افزایش بیان ۲۸ روزگی دو ژن FBXO30^۱ و FBXO32 در مرغ بومی نشان می‌دهد دخالت ژن‌های F-box در آتروفی ماهیچه اسکلتی از سنین پایین عمر این جوجه شروع شده است. وانگ و همکاران گزارش نمود در آتروفی ناشی از FBXO32 افزایش بیان ژن RUNX1 می‌تواند از آتوفازی ماهیچه اسکلتی جلوگیری نماید (۴۶). مطابق با این مطالعه، در این آزمایش نیز بیان ژن RUNX1 در مرغ بومی تقریباً یک سوم مقدار آن در جوجه تجاری مشاهده شد.

بیان برخی ژن‌های تقویت‌کننده اثر لیگازهای یوبیکوئیتینی

ژن KLF15^۲ نقش تنظیمی منفی بر توده ماهیچه داشته و سرکوب آن موجب هایپرτροφی ماهیچه می‌گردد (۸). شیمیزو و همکاران ثابت نمودند این ژن سبب افزایش بیان ژن‌های لیگازهای یوبیکوئیتین E3 می‌شود (۳۷). همچنین بیان این ژن از طریق فعال نمودن آنزیم‌های موثر در شکست اسیدهای آمینه منشعب و سرکوب

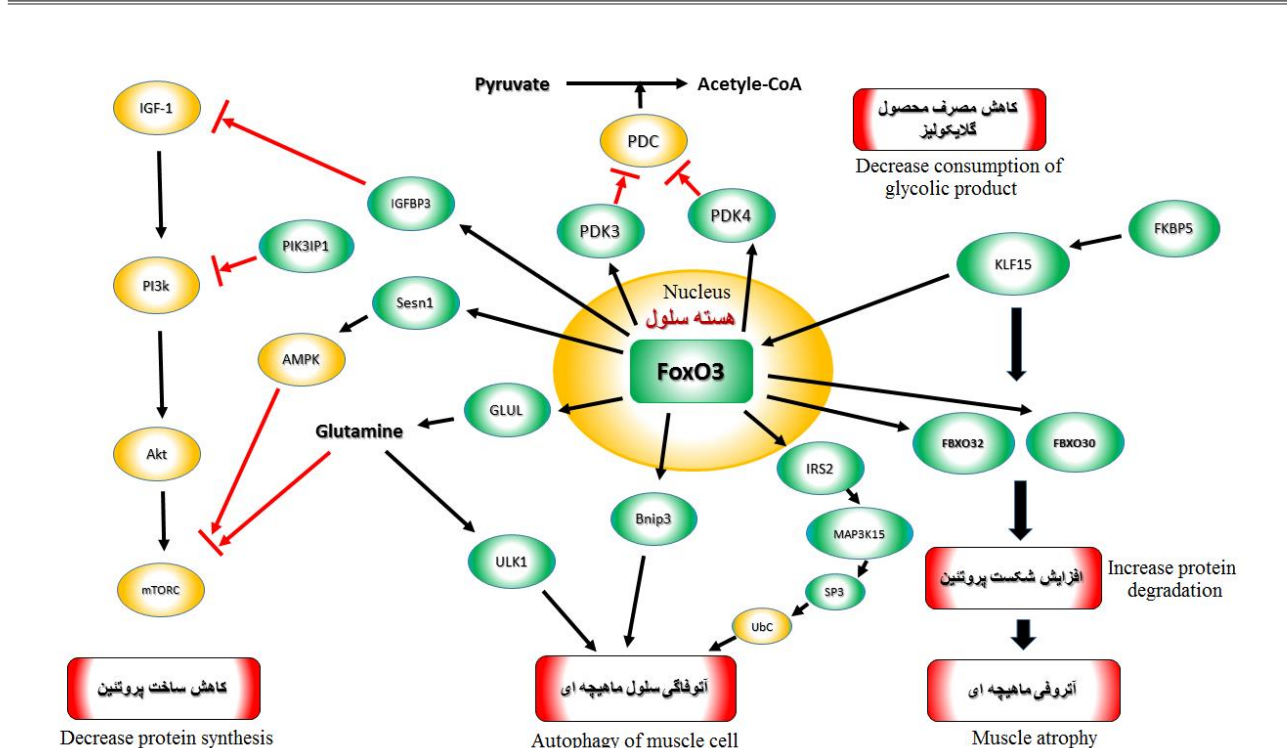
3- FK506 Binding Protein 5

4- Cullin 3

5- Sestrin 1 (Sesn1)

1- F-Box Protein 30

2- Kruppel Like Factor 15



متابولیسم تک کربنی شود (۳۸). هر سه آنزیم در مرغ بومی بیان بالاتری نسبت به جوجه تجاری داشتند. این موضوع نشان‌دهنده حجم بالای اسید آمینه آزاد و شکسته شده در ماهیچه مرغ بومی است و اینکه بدن به‌جای استفاده از گلوکز با منشاء کربوهیدراتی، از چنین منابعی استفاده نموده است.

ژن‌های موثر بر متابولیسم گلوکز و چربی

متابولیسم تبدیل پایروویت به استیل کوانزیم A توسط کمپلکس پایروویت دهیدروژناز (PDC) واقع در میتوکندری انجام می‌شود. پروتئین‌های PDK3 و PDK4 در ماتریکس میتوکندری واقع شده و موجب ممانعت از فعالیت آنزیمی PDC می‌شوند و بدین ترتیب تبدیل پایروویت به استیل کوانزیم A را کاهش می‌دهند. FOXO می‌تواند به ناحیه پروموتوری این دو ژن متصل شده و موجب افزایش رونویسی آنها گردد (۹). افزایش بیان PDK3 و PDK4 در مرغ بومی، باعث افزایش گلوکونئوژنز (از طریق حفظ گلوکز و سایر سوبستراهای گلوکونئوژنز نظیر آلانین) و نیز همزمان موجب کاهش گلیکولیز (از طریق غیرفعال نمودن PDC) شده است. پایروویت اگرچه عمده سوبسترای گلوکونئوژنز است ولی برای تبدیل به گلوکز باید ابتدا وارد میتوکندری شود. برای این منظور پایروویت از طریق MPC1 و MPC2 واقع در غشای داخلی میتوکندری به ماتریکس انتقال می‌یابد (۱۳). بنابراین افزایش بیان MPC1 در مرغ بومی نشانه افزایش فعالیت گلوکونئوژنز از طریق انتقال پایروویت به درون میتوکندری بوده است. یکی از مهمترین ژن‌های موثر در متابولیسم چربی UCP3 است که ورود اسیدهای چرب را به میتوکندری تسهیل می‌نماید (۲۷). پروتئین‌های UCP در پستانداران و پرندگان می‌توانند عمل ترموژنز (تولید حرارت به طریق غیر لرزشی) را در ماهیچه‌های اسکلتی انجام دهند (۳). منتهی این عمل به‌واسطه نشت پروتون^۲ یا جفت ناشدگی میتوکندریایی^۳ موجب ناکارآمدی میتوکندریایی شده و میزان هدررفت انرژی از این طریق را حدود ۳۰ درصد میزان متابولیسم پایه تخمین می‌زنند (۳۰). بنابراین افزایش بیان این میتو پروتئوم در مرغ بومی می‌تواند تا حدی علت نامناسب بودن ضریب تبدیل غذا در این مرغ را توجیه نماید.

ژن‌های موثر بر فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندریایی در مرغ بومی

در ماهیچه‌های اسکلتی افزایش تقاضای انرژی سبب افزایش بیان ژن‌های مرتبط با فسفریلاسیون اکسیداتیو می‌شود. در مرغ بومی احتمالاً افزایش بیان ژن‌های UQRQCQ، CMC2، ADCK3 و

RORA^۱ و BMP7 مرتبط با هیپوکسی (۱۵) و نیز بالا بودن چند برابری بیان کربنیک آنهیدراز ۹ (CA9) که از آن به‌عنوان بیومارکر هیپوکسی یاد می‌شود (۳۲) بیانگر بروز این وضعیت در مرغ بومی در مطالعه حاضر می‌باشد. وجود ژن ULK1 برای شروع اتوفآژی ضروری می‌باشد (۴۷). در شرایط وفور غذایی AMPK توام با Ulk1 بوده و تحت شرایط گرسنگی و روزه‌داری از آن جدا شده و آن را فسفریله می‌نماید. این عمل موجب فعال شدن این پروتئین شده و آن نیز ژن‌های پایین دست را فعال می‌نماید تا اتوفآژی به‌صورت جریانی از فعال شدن آبشاری ژن‌های مختلف شروع گردد (۲۹). افزایش بیان FoxO3 منجر به افزایش چند برابری بیان ژن GLUL (گلوتامین سینتتاز) و متعاقب آن افزایش سطح گلوتامین می‌شود (۴۴). گلوتامین سینتتاز با بلوکه کردن مسیر mTORC1 مانع ساخت پروتئین شده و در نتیجه فعال شدن همزمان Ulk1 می‌تواند اتوفآژی را آغاز نماید (۴۴). در گرسنگی‌های مزمن و روزه‌داری بدن در تلاش جهت بالا بردن سطح گلوکز، با افزایش شکست اسیدهای آمینه منشعب نظیر والین، لئوسین و ایزولئوسین در ماهیچه اسکلتی از یک‌طرف موجب افزایش ساخت گلوتامین توسط گلوتامین سینتتاز شده (۱۹) و از طرف دیگر اسکلت کربنی آنها را تبدیل به آلانین یعنی عمده منبع سوبسترای گلوکونئوژنز می‌نماید. آلانین عمده اسید آمینه آزاد شده از ماهیچه‌های اسکلتی و جذب شده توسط کبد است (۶). در مرغ بومی سطح بیان ژن‌های GLUL، Ulk1 معنی‌دار و تقریباً دو برابر میزان آن در مرغ تجاری بود. افزایش بیان ژن‌های مرتبط با اتوفآژی و آپوپتوز میتوکندری سلول ماهیچه‌ای می‌تواند سبب از بین رفتن توان فسفریلاسیون اکسیداتیو، کاهش عملکرد مسیر تولید انرژی و نامناسب شدن راندمان غذایی در مرغ بومی شود.

ژن‌های موثر بر متابولیسم اسیدهای آمینه حاصل از شکست پروتئین

در طی شکست اسیدهای آمینه منشعب، ژن MCCC2 آنزیم کربوکسیلاز میتوکندریایی وابسته به بیوتین را کددهی می‌نماید. این آنزیم یک مرحله از فرآیند شکست اسید آمینه لئوسین و تبدیل آن به استواستات و استیل کوانزیم A را انجام می‌دهد (۴۳). در طی روزه داری و یا شرایط مشابه، در ماهیچه اسکلتی لئوسین با ممانعت کردن از اکسیداسیون گلوکز و پایروویت می‌تواند گلوکونئوژنز را افزایش دهد (۱۰). ترئونین نیز توسط آنزیم‌های TDH و GCAT (همچنین KBL نیز خوانده می‌شود) به گلايسين و استیل کوانزیم A شکسته می‌شود (۴۲). استیل کوانزیم A می‌تواند وارد سیکل کربس و یا ساخت اگزوالواستات گردد. گلايسين نیز می‌تواند با شکسته شدن وارد

2- Proton leak
3- Mitochondrial uncoupling

1- RAR Related Orphan Receptor A

موجب افزایش بیان ژن‌های مرتبط با اکسیداسیون اسیدهای آمینه (نظیر MCCC2 و TDH) و افزایش بیان پاپروویت دهیدروژناز کیناز (PDK3 و PDK4) و در نتیجه کاهش اکسیداسیون هوازی پاپروویت شد. بدین ترتیب مسیر سیستم تولید انرژی از اکسیداسیون کامل کربوهیدرات‌ها به سمت اکسیداسیون اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب و نیز افزایش گلوکونوژنز تغییر نموده تا بدین وسیله نیازهای مواد مغذی بدن تأمین گردد. در مرغ بومی افزایش بیان ژن UCP3 می‌تواند تا حدی موجب کاهش کارآمدی میتوکندری و نامناسب شدن ضریب تبدیل غذا در مقایسه با جوجه تجاری گردد. این تغییرات در مسیرهای تولید انرژی، در نتیجه غالب و تثبیت شدن ژن‌هایی است که در سیر تکاملی این مرغ موجب سازگاری آن با شرایط و کمبودهای غذایی شده است. بنابراین در برنامه‌های اصلاح نژادی مرغ بومی اصفهان، احتمالاً به‌گزینی بر علیه ژن PIK3IP1 و بر له ژن SGK1 می‌تواند از فعال شدن FoxO3 و در نتیجه افزایش بیان لیگازهای E3 و میتوپروتئوم‌های مرتبط با مسیرهای شکست پروتئین ماهیچه‌ای جلوگیری نموده و موجب بهبود و افزایش سرعت رشد در این مرغ گردد.

TFB2M در ارتباط با فعالیت ژنوم هسته‌ای در تلاش جهت افزایش بیان سیتوکروم b و سیتوکروم C و کوانزیم Q و فرآیندهای رونویسی در ژنوم میتوکندری بوده است تا بدین ترتیب و با افزایش فعالیت میتوکندری، تقاضای انرژی ماهیچه‌های اسکلتی در این مرغ تأمین گردد. این موضوع می‌تواند نشان‌دهنده وجود ارتباط بیشتر ژنوم هسته ای با ژنوم میتوکندریایی در مرغ بومی باشد. به‌رحال در این مطالعه امکان بررسی میزان بیان ژن‌های کد شونده توسط میتوکندری وجود نداشت.

نتیجه‌گیری کلی

در مرغ بومی افزایش بیان ژن PI3KP1 و در نتیجه فعال شدن فاکتور رونویسی FoxO3، از یک طرف موجب کاهش ساخت (در نتیجه از کار افتادن مسیر IGF1-PI3K-AKT) و از طرفی دیگر باعث افزایش شکست پروتئین‌های ماهیچه‌ای (در نتیجه افزایش بیان لیگازهای یوبیکویتیینی FBXO32 و FBXO30) شد. برآیند این دو موضوع موجب کاهش رشد هایپرτροφی ماهیچه اسکلتی این مرغ در مقایسه با جوجه تجاری گردید. همچنین افزایش بیان ژن FoxO3 و آزاد شدن اسیدهای آمینه ناشی از شکست پروتئین‌های ماهیچه‌ای

منابع

1. Bottje, W. G., and G. E. Carstens. 2012. Variation in Metabolism: Biological Efficiency of Energy Production and Utilization That Affects Feed Efficiency. Pages 251-273 in Feed Efficiency in the Beef Industry. Wiley-Blackwell.
2. Brunet, A., J. Park, H. Tran, L. S. Hu, B. A. Hemmings, and M. E. Greenberg. 2001. Protein kinase SGK mediates survival signals by phosphorylating the forkhead transcription factor FKHRL1 (FOXO3a). *Molecular and Cellular Biology* 21(3):952-965.
3. Criscuolo, F., M. del Mar Gonzalez-Barroso, Y. Le Maho, D. Ricquier, and F. Bouillaud. 2005. Avian uncoupling protein expressed in yeast mitochondria prevents endogenous free radical damage. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 272(1565):803-810.
4. Davis, R. V., S. J. Lamont, M. F. Rothschild, M. E. Persia, C. M. Ashwell, and C. J. Schmidt. 2015. Transcriptome analysis of post-hatch breast muscle in legacy and modern broiler chickens reveals enrichment of several regulators of myogenic growth. *PLoS One* 10(3):e0122525.
5. Dennis, G., B. T. Sherman, D. A. Hosack, J. Yang, W. Gao, H. C. Lane, and R. A. Lempicki. 2003. DAVID: database for annotation, visualization, and integrated discovery. *Genome Biology* 4(9):1.
6. Felig, P., T. Pozefsk, E. Marlis, and G. F. Cahill. 1970. Alanine: key role in gluconeogenesis. *Science*, 167(3920):1003-1004.
7. Feng, C.-C., C.-C. Lin, Y.-P. Lai, T.-S. Chen, S. Marthandam Asokan, J.-Y. Lin, K.-H. Lin, V. P. Viswanadha, W.-W. Kuo, and C.-Y. Huang. 2016. Hypoxia suppresses myocardial survival pathway through HIF-1 α -IGFBP-3-dependent signaling and enhances cardiomyocyte autophagic and apoptotic effects mainly via FoxO3a-induced BNIP3 expression. *Growth Factors*, 34(3-4):73-86.
8. Fisch, S., S. Gray, S. Heymans, S. M. Haldar, B. Wang, O. Pfister, L. Cui, A. Kumar, Z. Lin, and S. Sen-Banerjee. 2007. Kruppel-like factor 15 is a regulator of cardiomyocyte hypertrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(17):7074-7079.
9. Furuyama, T., K. Kitayama, H. Yamashita, and M. Nozomu. 2003. Forkhead transcription factor FOXO1 (FKHR)-dependent induction of PDK4 gene expression in skeletal muscle during energy deprivation. *Biochemical Journal*, 375(2):365-371.
10. Chang, T. W., and A. Goldberg. 1978. Leucine inhibits oxidation of glucose and pyruvate in skeletal muscles during fasting. *Journal of Biological Chemistry*, 253(10): 3696-3701.
11. Haas, B. J., A. Papanicolaou, M. Yassour, M. Grabherr, P. D. Blood, J. Bowden, M. B. Couger, D. Eccles, B. Li,

- and M. Lieber. 2013. De novo transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis. *Nature Protocols*, 8(8):1494-1512.
12. He, Q., S. Wang, L. Leng, W. Na, Q. Wang, and H. Li. 2014. Differentially expressed genes in the liver of lean and fat chickens. *Genetics and Molecular Research* 13(4):10823-10828.
13. Herzig, S., E. Raemy, S. Montessuit, J.-L. Veuthey, N. Zamboni, B. Westermann, E. R. Kunji, and J.-C. Martinou. 2012. Identification and functional expression of the mitochondrial pyruvate carrier. *Science*, 337(6090):93-96.
14. Huang, X.-Y., Z.-L. Huang, J.-H. Yang, Y.-H. Xu, J.-S. Sun, Q. Zheng, C. Wei, W. Song, and Z. Yuan. 2016. Pancreatic cancer cell-derived IGFBP-3 contributes to muscle wasting. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 35(1):46.
15. Hyun, S. W., and Y. S. Jung. 2014. Hypoxia induces FoxO3a-mediated dysfunction of blood-brain barrier. *Biochemical and biophysical research communications*, 450(4):1638-1642.
16. Jagoe, R. T., S. H. Lecker, M. Gomes, and A. L. Goldberg. 2002. Patterns of gene expression in atrophying skeletal muscles: response to food deprivation. *The FASEB Journal*, 16(13):1697-1712.
17. Kelley, D. E. 2005. Skeletal muscle fat oxidation: timing and flexibility are everything. *Journal of Clinical Investigation*, 115(7):1699-1702.
18. Kim, D., B. Langmead, and S. L. Salzberg. 2015. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. *Nature Methods*, 12(4):357-360.
19. King, P. A., L. Goldstein, and E. A. Newsholme. 1983. Glutamine synthetase activity of muscle in acidosis. *Biochemical Journal*, 216(2):523-525.
20. Kobayashi, T., D. Maria, N. Morrice, and P. Cohen. 1999. Characterization of the structure and regulation of two novel isoforms of serum-and glucocorticoid-induced protein kinase. *Biochemical Journal*, 344(1):189-197.
21. Kong, B.-W., N. Hudson, D. Seo, S. Lee, B. Khatri, K. Lassiter, D. Cook, A. Piekarski, S. Dridi, and N. Anthony. 2017. RNA sequencing for global gene expression associated with muscle growth in a single male modern broiler line compared to a foundational Barred Plymouth Rock chicken line. *BMC Genomics*, 18(1):82.
22. Lange, S., S. Perera, P. Teh, and J. Chen. 2012. Obscurin and KCTD6 regulate cullin-dependent small ankyrin-1 (sAnk1. 5) protein turnover. *Molecular Biology of the Cell*, 23(13):2490-2504.
23. Lecker, S. H., A. L. Goldberg, and W. E. Mitch. 2006. Protein degradation by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *Journal of the American Society of Nephrology*, 17(7):1807-1819.
24. Lee, J. H., A. V. Budanov, and M. Karin. 2013. Sestrins orchestrate cellular metabolism to attenuate aging. *Cell Metabolism* 18(6):792-801.
25. Liu, C.-C., Y.-C. Lin, Y.-H. Chen, C.-M. Chen, L.-Y. Pang, H.-A. Chen, P.-R. Wu, M.-Y. Lin, S.-T. Jiang, and T.-F. Tsai. 2016. Cul3-KLHL20 ubiquitin ligase governs the turnover of ULK1 and VPS34 complexes to control autophagy termination. *Molecular Cell*, 61(1):84-97.
26. Lohse, M., A. Bolger, A. Nagel, A. R. Fernie, J. E. Lunn, M. Stitt, and B. Usadel. 2012. RobiNA: a user-friendly, integrated software solution for RNA-Seq-based transcriptomics. *Nucleic Acids Research*, 41(W1):W622-W627.
27. MacLellan, J. D., M. F. Gerrits, A. Gowing, P. J. Smith, M. B. Wheeler, and M.-E. Harper. 2005. Physiological increases in uncoupling protein 3 augment fatty acid oxidation and decrease reactive oxygen species production without uncoupling respiration in muscle cells. *Diabetes*, 54(8):2343-2350.
28. Mammucari, C., G. Milan, V. Romanello, E. Masiero, R. Rudolf, P. Del Piccolo, S. J. Burden, R. Di Lisi, C. Sandri, and J. Zhao. 2007. FoxO3 controls autophagy in skeletal muscle in vivo. *Cell Metabolism*, 6(6):458-471.
29. Matsunaga, K., E. Morita, T. Saitoh, S. Akira, N. T. Krstakis, T. Izumi, T. Noda, and T. Yoshimori. 2010. Autophagy requires endoplasmic reticulum targeting of the PI3-kinase complex via Atg14L. *The Journal of Cell Biology*, 190(4):511-521.
30. Mookerjee, S. A., A. S. Divakaruni, M. Jastroch, and M. D. Brand. 2010. Mitochondrial uncoupling and lifespan. *Mechanisms of Ageing and Development*, 131(7):463-472.
31. Motsepe, R., M. Mabelebele, D. Norris, D. Brown, J. Ngambi, and M. Ginindza. 2016. Carcass and meat quality characteristics of South African indigenous chickens. *Indian Journal of Animal Research*, 50(4) 580-587.
32. Olive, P. L., C. Aquino-Parsons, S. H. MacPhail, S. Y. Liao, J. A. Raleigh, M. I. Lerman, and E. J. Stanbridge. 2001. Carbonic anhydrase 9 as an endogenous marker for hypoxic cells in cervical cancer. *Cancer Research*, 61(24):8924-8929.
33. Quinsay, M. N., Y. Lee, S. Rikka, M. R. Sayen, J. D. Molkentin, R. A. Gottlieb, and Å. B. Gustafsson. 2010. Bnip3 mediates permeabilization of mitochondria and release of cytochrome c via a novel mechanism. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 48(6):1146-1156.
34. Sandri, M. 2008. Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiology*, 23(3):160-170.
35. Sandri, M., C. Sandri, A. Gilbert, C. Skurk, E. Calabria, A. Picard, K. Walsh, S. Schiaffino, S. H. Lecker, and A. L. Goldberg. 2004. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell*, 117(3):399-412.
36. Schmidt-Strassburger, U., T. G. Schips, H. J. Maier, K. Kloiber, F. Mannella, K. E. Braunstein, K. Holzmann, A. Ushmorov, S. Liebau, and T. M. Boeckers. 2012. Expression of constitutively active FoxO3 in murine forebrain

- leads to a loss of neural progenitors. *The FASEB Journal*, 26(12):4990-5001.
37. Shimizu, N., N. Yoshikawa, N. Ito, T. Maruyama, Y. Suzuki, S.-i. Takeda, J. Nakae, Y. Tagata, S. Nishitani, and K. Takehana. 2011. Crosstalk between glucocorticoid receptor and nutritional sensor mTOR in skeletal muscle. *Cell Metabolism* 13(2):170-182.
38. Shyh-Chang, N., J. W. Locasale, C. A. Lyssiotis, Y. Zheng, R. Y. Teo, S. Ratanasirintrao, J. Zhang, T. Onder, J. J. Unternaehrer, and H. Zhu. 2013. Influence of threonine metabolism on S-adenosylmethionine and histone methylation. *Science*, 339(6116):222-226.
39. Song, H. K., J. Kim, J. S. Lee, K. J. Nho, H. C. Jeong, J. Kim, Y. Ahn, and W. J. Park. 2015. Pik3ip1 modulates cardiac hypertrophy by inhibiting PI3K pathway. *PloS One* 10(3):e0122251.
40. Taylor, S. W., E. Fahy, B. Zhang, G. M. Glenn, D. E. Warnock, S. Wiley, A. N. Murphy, S. P. Gaucher, R. A. Capaldi, and B. W. Gibson. 2003. Characterization of the human heart mitochondrial proteome. *Nature Biotechnology*, 21(3):281-286.
41. Trapnell, C., B. A. Williams, G. Pertea, A. Mortazavi, G. Kwan, M. J. Van Baren, S. L. Salzberg, B. J. Wold, and L. Pachter. 2010. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. *Nature Biotechnology*, 28(5):511-515.
42. Tressel, T., R. Thompson, L. Zieske, M. Menendez, and L. Davis. 1986. Interaction between L-threonine dehydrogenase and aminoacetone synthetase and mechanism of aminoacetone production. *Journal of Biological Chemistry*, 261(35):16428-16437.
43. Tymoczko, J. L., J. M. Berg, and L. Stryer. 2011. *Biochemistry: a short course*. Macmillan.
44. Van Der Vos, K. E., P. Eliasson, T. Proikas-Cezanne, S. J. Vervoort, R. Van Boxtel, M. Putker, I. J. Van Zutphen, M. Mauthe, S. Zellmer, and C. Pals. 2012. Modulation of glutamine metabolism by the PI (3) K-PKB-FOXO network regulates autophagy. *Nature Cell Biology*, 14(8):829-837.
45. Wang, J., P. Alexander, L. Wu, R. Hammer, O. Cleaver, and S. L. McKnight. 2009. Dependence of mouse embryonic stem cells on threonine catabolism. *Science*, 325(5939):435-439.
46. Wang, X., C. Blagden, J. Fan, S. J. Nowak, I. Taniuchi, D. R. Littman, and S. J. Burden. 2005. Runx1 prevents wasting, myofibrillar disorganization, and autophagy of skeletal muscle. *Genes & Development*, 19(14):1715-1722.
47. Wirth, M., J. Joachim, and S. A. Tooze. 2013. Autophagosome formation-the role of ULK1 and Beclin1-PI3KC3 complexes in setting the stage. Pages 301-309 in *Proc. Seminars in Cancer Biology*. Elsevier.
48. Zhao, J., J. J. Brault, A. Schild, P. Cao, M. Sandri, S. Schiaffino, S. H. Lecker, and A. L. Goldberg. 2007. FoxO3 coordinately activates protein degradation by the autophagic/lysosomal and proteasomal pathways in atrophying muscle cells. *Cell Metabolism*, 6(6):472-83.
49. Zheng, B., S. Ohkawa, H. Li, T. K. Roberts-Wilson, and S. R. Price. 2010. FOXO3a mediates signaling crosstalk that coordinates ubiquitin and atrogen-1/MAFbx expression during glucocorticoid-induced skeletal muscle atrophy. *The FASEB Journal*, 24(8):2660-2669.



The Effect of Mitoproteum Genes on Breast Muscle Growth of Isfahan Native Chickens by RNA-seq Data

S. N. Albooshoke^۱- M. Tahmoorespur^{۲*}- M. R. Bakhtiarizadeh^۳- M. R. Nasiry^۲- S. Esmaeilkhanian^۴

Received: 15-07-2017

Accepted: 16-09-2017

Introduction Native chicken breeds are important genetic resource and well adapted to the local environmental conditions. However, growth rate and feed efficiency of these breeds are not appropriate. On the other hand modern broilers grow faster and offer a higher nutritional efficiency than the indigenous chicken breeds. This advantage is the result of the severe genetic selection programs, which were designed to increase production. In this study, a systematic identification of mitoProteome genes and new pathways related to growth rate of pectoralis muscle in chicken has been made using gene expression profiles of two distinct breeds: Isfahan native, a slow-growing Iranian breed possessing low growth rate and Ross 708, a commercial fast-growing broiler line.

Materials and Methods All the birds were reared under the same management, environmental and nutritional conditions. The diet was the same throughout the whole experiment and formulated to contain 20% CP and 3000 kcal ME/kg. The birds received feed and water freely (ad libitum). On day 28 post-hatch, six birds were randomly selected from each breed, weighed and sacrificed. From each bird, 1 to 2 g of tissue was excised from the posterior region of the left pectoralis major muscle. Total RNA was isolated from breast muscle samples. Using Truseq Stranded RNA Prep kit (Illumina), each sample was converted to a uniquely indexed cDNA library, and the resulting cDNA libraries were pooled and sequenced on an Illumina Hiseq 2000 sequencer. An average of 70 million paired end reads (150 bp) were produced from all sample, 70% of which were properly mapped to the reference genome (EnsemblGgal4). We analyzed the sequence data using bioinformatics tools Hisat2 and Cufflinks. Using Hisat2 aligner, more than 72% of clean reads (in average) were mapped back to the Galgal4 reference genome. In addition, about 90% of reads were aligned concordantly.

Results and Discussion On the first day after hatching, the weight of commercial chicks were heavier than native. This process continued until the end of the test, 28 days. The commercial chickens have a heavier weight, higher growth rate, and lower feed conversion rates than native chickens. The RNA-Seq of four muscle samples yielded around 131,590,636 million of raw 150 bp paired end reads, of which 94,483,431 and 37,107,205 reads were for native and commercial breeds, respectively. We identified 606 differentially expressed genes (DEGs) between two breeds with at least 2-fold differences (P -adjusted (Benjamini) ≤ 0.05 , $\log_2FC \geq 2$). Of these, 249 and 357 genes were up-regulated in native and commercial broilers, respectively. In the native chickens, FoxO3 transcription factor activated the atrophy pathway related to E3 ubiquitin ligases and led to increased proteolysis and reduced the skeletal muscle size as compared to the commercial broilers. Hypoxia and regulation of the metabolic process of the reactive oxygen species (ROS) were among the most important significant biological processes in native chickens. The analysis of the genes associated with the mitoProteome revealed significant changes in the expression of many genes involved in transcription regulation and growth. Also the increased expression of FoxO3 gene and the releasing of amino acids caused by the degradation of proteins, increased the expression of amino acid catabolism enzyme's (such as MCCC2 and TDH), as well increased expression of pyruvate dehydrogenase kinases (PDK4 and PDK3). This led to reducing of the aerobic oxidation of pyruvate and increasing gluconeogenesis. Increasing the UCP3 gene expression in native chickens can partly reduce mitochondrial efficiency and inappropriate feed conversion ratio compared to commercial chickens. These changes were also reflective of a complicated adaptation program that facilitates proteolysis and reduces oxidative metabolism of glucose and pyruvate in the muscles. These metabolic pathways have evolved to reduce the requirements of indigenous chickens and increase the ability of these strains to overcome the circumstances and environmental stress and resist nutritional deficits.

Conclusion Our results suggested that different expression patterns of some genes including SGK1,

1- Animal science department, Khuzestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ahwaz, 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- Associate Professor, Animal Science Research Institute, Karaj, Iran

(* Corresponding author email: Tahmoores@um.ac.ir)

FBXO32, FBX030, IRS2 , SP3, CUL, PIK3IP1 and FoxO3 in native breed might represent a cause for the poor growth performance for this breed than commercial breed. Hence, evaluation of native chicken based on these candidate genes would accelerate the efficient native chicken breed in near future. These results expand our knowledge of the genes transcribed in the breast muscle of two breeds and provide a basis for future research of the molecular mechanisms underlying the chicken breed differences.

Keywords: Breast muscle, Native chicken, Mitoproteome, RNA-seq



آنالیز ژنتیکی کروموزم‌های اتوزومی و وابسته به جنس صفات قبل از شیرگیری در گوسفند

مهربان

میثم لطیفی^{*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۰

چکیده

هدف از این تحقیق برآورد وراثت‌پذیری کروموزم‌های اتوزومی و وابسته به جنس در صفات قبل از شیرگیری گوسفند مهربان بود. داده‌ها و اطلاعات شجره در طی سال‌های ۱۳۷۳ الی ۱۳۸۹ توسط جهاد کشاورزی استان همدان جمع‌آوری شده بود. به منظور تعیین اثرات ثابت از رویه GLM نرم‌افزار SAS استفاده شد. اثرات ثابت مدل شامل گله-سال، فصل زایش، جنسیت، تیپ تولد و سن مادر بود. سن بره در زمان از شیرگیری به‌عنوان متغیر کمکی برای وزن شیرگیری در نظر گرفته شد. به منظور برآورد پارامترهای ژنتیکی و همبستگی ژنتیکی صفات مورد بررسی از روش حداکثر درست‌نمایی محدود شده و نرم‌افزار Wombat استفاده شد. وراثت‌پذیری‌های مستقیم اتوزومی و وراثت‌پذیری‌های مستقیم وابسته به کروموزوم جنسی برای صفات قبل از شیرگیری، به‌ترتیب در دامنه‌ی ۰/۱۸ تا ۰/۵۵ و ۰/۰۳ تا ۰/۱۱ برآورد گردید. همبستگی‌های ژنتیکی اتوزومی، کروموزوم‌های وابسته به جنس، ژنتیکی مادری و محیط دائم مادری، به‌ترتیب در دامنه‌ی ۰/۳۱- تا ۰/۹۱، ۰/۳۳ تا ۰/۹۸ و ۰/۳۳ تا ۰/۹۹ متغیر بود. نتایج نشان داد، واریانس مستقیم کروموزوم وابسته به جنس، همانند واریانس ژنتیکی مادری دارای اثر می‌باشد و وارد کردن این اثر به مدل، می‌تواند برآورد دقیق‌تری از وراثت‌پذیری مستقیم کروموزوم اتوزومی را حاصل نماید.

واژه‌های کلیدی: صفات قبل از شیرگیری، گوسفند مهربان، وراثت‌پذیری کروموزوم وابسته به جنس، وراثت‌پذیری مستقیم کروموزوم اتوزومی

مقدمه

محدود شده^۲ به صورت گسترده برای آنالیز داده‌ها، به منظور تخمین اجزای واریانس، برآورد وراثت‌پذیری مادری، اثر محیط پایدار و همبستگی اثر ژنتیکی مستقیم و مادری استفاده می‌شود (۸). از این مدل‌ها می‌توان به مدل پدری، مدل دام، مدل مادری، مدل‌های چند صفتی و مدل رگرسیون تصادفی اشاره کرد. مزیت استفاده از مدل‌های چند صفتی، برآورد اجزای واریانس ژنتیکی و همبستگی ژنتیکی برای بیش از یک صفت، کاهش ارباب ناشی از حذف و افزایش صحت ارزیابی می‌باشد (۵). محققین زیادی وارد نکردن اثرات مادری در مدل‌های حیوانی را منجر به بیش برآورد وراثت‌پذیری مستقیم و کاهش صحت ارزیابی در صفات مورد مطالعه گزارش کرده‌اند (۳) و (۲۹). بیشتر این مطالعات با این فرض که واریانس ژنتیکی افزایشی تحت تاثیر کروموزم‌های اتوزومی بوده، انجام شده و اثر کروموزم‌های وابسته به جنس نادیده گرفته شده است. تغییرات ژنتیکی کروموزوم‌های وابسته به جنس ممکن است منجر به بیش برآورد واریانس ژنتیکی افزایشی کروموزم‌های اتوزومی شود و یا با واریانس باقی

یکی از مهمترین گوسفندان بومی ایران، نژاد مهربان می‌باشد که زیستگاه آن واقع در استان همدان در غرب کشور است. گوسفند مهربان، نژادی دینه‌دار و دارای پشم ضخیم است که به رنگ‌های قهوه‌ای، کرم و یا خاکستری دیده می‌شود. حدود سه میلیون راس از این نژاد وجود دارد و هدف اصلی از پرورش این نژاد تولید گوشت می‌باشد (۲۹). موفقیت در برنامه‌های اصلاح نژادی مستلزم استفاده از مدل‌های آماری مناسب جهت برآورد پارامترهای ژنتیکی، همبستگی ژنتیکی بین صفات و به تبع آن شناسایی افراد برتر به‌عنوان والدین نسل بعد می‌باشد (۱۹ و ۳۰). صحت تخمین پارامترهای ژنتیکی و به ویژه همبستگی ژنتیکی، نیازمند داده‌های زیاد و روش‌های تحلیلی موثر ژنتیکی با در نظر گرفتن همه‌ی اثرات بالقوه می‌باشد. در حال حاضر مدل‌های حیوانی مختلط با استفاده از روش حداکثر درست‌نمایی

۱- دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام دانشگاه کردستان، ایران

(Email: mlganjnameh@gmail.com)

(*)- نویسنده مسئول

DOI: 10.22067/ijasr.v10i3.68031

مواد و روش‌ها

داده‌های مورد استفاده در این تحقیق مربوط به گوسفند نژاد مهربان بود که در بین سال‌های ۱۳۷۳ الی ۱۳۸۹، توسط جهاد کشاورزی استان همدان گردآوری شد. مدیریت گله‌های گوسفند مهربان به روش نیمه‌متحرک و روستایی می‌باشد. جفتگیری حیوانات به صورت کنترل شده و پدر مادر هر بره ثبت می‌شود و پس از تولد بره، رکوردگیری‌های لازم انجام می‌شود. به منظور ثبت رکوردها در دفاتر خاصی شماره‌ی گوش بره، رکوردهای وزن کشی شده در سن‌های مختلف، تاریخ تولد، تاریخ وزن کشی، جنسیت و شماره‌ی گله ثبت می‌گردد. صفات مورد مطالعه شامل وزن تولد، وزن شیرگیری (WW)، میانگین افزایش وزن روزانه از تولد تا شیرگیری (ADG) و نسبت کلیبر (KR) بود:

$$KR_{0-WW} = \frac{ADG}{WW^{0.75}} \quad (1)$$

آماره توصیفی صفات مورد مطالعه در جدول ۱ آورده شده است. به منظور آماده‌سازی داده‌ها از نرم‌افزار Microsoft Visual FoxPro (9.0) و برای تعیین اثرات ثابت از رویه GLM نرم‌افزار SAS 8.2 استفاده شد (۲۲). اثرات ثابت مدل شامل گله-سال (گله ۳۵ سطح و سال ۱۷ سطح)، فصل زایش (بهار، تابستان، پاییز و زمستان)، جنسیت (نر و ماده)، تیپ تولد (۱ تا ۴ قلو) و سن مادر (۲ تا ۷ ساله) بود. سن بره در زمان از شیرگیری به عنوان متغیر کمکی برای وزن شیرگیری در نظر گرفته شد ($P < 0.001$).

مانده ادغام شود، که در هر دو حالت نامطلوب می‌باشد (۱۲). میر (۱۶) با استفاده از شبیه‌سازی و روش درستمایی محدود شده، مدل حیوانی را که علاوه بر اثرات ژنتیکی و اثرات پایدار محیطی، شامل اثر افزایشی کروموزوم‌های وابسته به جنس بود را مورد بررسی قرار داد و بیان کرد مدل برازش شده، قابل به تفکیک واریانس ژنتیکی افزایشی به اثرات کروموزوم‌های اتوزومی و وابسته به جنس می‌باشد. وطن خواه و همکاران (۲۷) با بررسی آنالیز ژنتیکی کروموزوم‌های اتوزومی، وابسته به جنس و اثر ژنتیک مادری در صفت نرخ زنده‌مانی بره در نژاد لری بیان کردند، انتخاب ژنتیکی براساس ترکیبی از سه ارزش اصلاحی کروموزوم اتوزومی، کروموزوم وابسته به جنس و مادری، با ضریب اقتصادی مناسب، به منظور بهبود ژنتیکی نرخ زنده‌مانی بره مناسب می‌باشد. در تحقیقی دیگر، زمانی و الماسی (۳۰) با بررسی وراثت پذیری کروموزوم‌های جنسی در بز مرخز نشان دادند که ژن‌های وابسته به جنس به احتمال زیاد، اثر کمتری در وزن‌های بدن در سنین اولیه و اثر بیشتری در وزن‌های بدن در سنین بالاتر دارند. هدف از این تحقیق برآورد پارامترهای ژنتیکی کروموزوم‌های اتوزومی و وابسته به جنس در صفات قبل از شیرگیری گوسفند مهربان، با استفاده از آنالیز چند صفتی و برآورد همبستگی‌های ژنتیکی بین صفات مورد بررسی می‌باشد.

جدول ۱- آمار توصیفی صفات مورد مطالعه در گوسفند مهربانی

Table 1- Summary statistics of traits used in Mehraban sheep

صفات	وزن تولد (کیلوگرم)	وزن شیرگیری (کیلوگرم)	افزایش وزن روزانه (گرم)	نسبت کلیبر (گرم)
Traits	Birth weight (Kg)	Weaning weight (Kg)	Average daily gain (gr)	Kleiber Ratio (gr)
تعداد رکورد	6645	3685	3685	3685
Number of records				
تعداد نر	271	230	230	230
Number of sire				
تعداد ماده‌ها	4105	2509	2509	2509
Number of dams				
میانگین	3.67	21.75	190.66	18.79
Mean				
کمینه	1.40	9.00	49.15	8.74
Min				
بیشینه	6.00	30.00	373.02	31.47
Max				
ضریب تغییرات	20.65	18.62	24.17	15.60
Coefficient Variation				

Wombat با معیار همگرایی 10^{-8} استفاده شد (۱۷). مدل حیوانی چند صفتی مورد استفاده به صورت ذیل بود (۳۰):

به منظور برآورد پارامترهای ژنتیکی و همبستگی ژنتیکی صفات مورد بررسی از روش حداکثر درستمایی محدود شده و نرم‌افزار

واریانس محیط دائمی مادری و واریانس باقیمانده می‌باشند. از تقسیم مؤلفه‌های (کو)واریانس بر واریانس فنوتیپی، وراثت‌پذیری‌های مستقیم اتوزومی، وابسته به جنس، مادری و اثر محیط دائم مادری برای هر صفت برآورد گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی عوامل ثابت در هر صفت در جدول ۲ نشان داده شده است. معنی‌دار بودن اثرات گله-سال و فصل بر روی صفات وزن بدن توسط محققین زیادی معنی‌دار گزارش شده است (۱۳، ۱۸ و ۲۹). معنی‌دار بودن اثرات گله، سال و فصل می‌تواند به علت مدیریت گله، تغییرات ناشی از مقدار بارندگی، کمیت و کیفیت علوفه در سال‌های مختلف باشد. اثر جنس، تیپ تولد و اثر سن مادر در همه‌ی صفات معنی‌دار نبود. علت معنی‌دار بودن اثر جنس، تیپ تولد و سن مادر بر وزن تولد می‌تواند به علت ترشح هورمون‌های مسئول رشد در جنس نر و ماده، محدود بودن فضای رحمی و رقابت جنین‌ها برای غذای دریافتی از مادر باشد. معنی‌دار بودن اثر جنس، تیپ تولد و سن مادر بر روی صفات بدن توسط تعداد زیادی از محققین گزارش شده است (۵ و ۱۵).

$$y_i = X_i b_i + Z_{1i} a_i + Z_{1i} s_i + Z_{2i} m_i + Z_{3i} p e_i + e_i \quad (2)$$

که $y_i, b_i, a_i, s_i, m_i, p e_i$ و e_i به ترتیب بردار مشاهدات، بردار اثرات ثابت، بردار اثر ژنتیکی افزایشی کروموزم اتوزومی، بردار اثر ژنتیکی افزایشی کروموزم وابسته به جنس، بردار اثر ژنتیکی مادری، بردار اثر محیط دائم مادری و اثر باقی‌مانده می‌باشند. Z_{2i}, Z_{1i}, X_i و Z_{3i} نیز به ترتیب ماتریس‌های طرح مرتبط به رکوردها برای صفات لام می‌باشند. برای برآورد اثر ژنتیکی افزایشی کروموزم وابسته به جنس در فایل شجره علاوه بر شماره‌های حیوان، پدر و مادر، ستون دیگری که بیانگر تعداد کروموزوم‌های X می‌باشد (عدد یک برای حیوان نر و عدد دو برای حیوان ماده) اضافه گردید. فرضیات ذیل در مورد واریانس‌ها در نظر گرفته شد:

$$V(a) = A\sigma_a^2, V(s) = S\sigma_s^2, V(m) = A\sigma_m^2, V(c) = I_d\sigma_{pe}^2 \text{ و } V(e) = I_n\sigma_e^2$$

که A و S به ترتیب برابر ماتریس‌های خویشاوندی برای لوکوس‌های کروموزم اتوزومی و لوکوس‌های کروموزم وابسته به جنس می‌باشند. I_n و I_d نیز به ترتیب برابر ماتریس‌های یک‌ه برای مادرها و مشاهدات می‌باشند. همچنین $\sigma_a^2, \sigma_s^2, \sigma_m^2, \sigma_{pe}^2$ و σ_e^2 به ترتیب واریانس ژنتیکی افزایشی برای کروموزم اتوزومی، واریانس ژنتیکی افزایشی برای کروموزم وابسته به جنس (۹)، واریانس ژنتیکی مادری،

جدول ۲- اثرات ثابت معنی‌دار در هر صفت

Table 2- Significantly fixed effects on each trait

صفات	وزن تولد	وزن شیرگیری	افزایش وزن روزانه	نسبت کلیبر
Traits	Birth weight (Kg)	Weaning weight (Kg)	Average daily gain (gr)	Kleiber ratio (gr)
گله-سال	***	***	***	***
Herd-year				
فصل	***	***	ns	ns
Season				
جنس	***	***	ns	*
Sex				
تیپ تولد	***	***	ns	ns
Birth Type				
سن مادر	***	ns	ns	ns
Dam age				
سن از شیرگیری	-	***	-	-
Age of weaning				

ns: غیر معنی‌دار ($P > 0.05$); *: معنی‌دار ($P < 0.01$); ***: خیلی معنی‌دار ($P < 0.001$).

ns: not significant ($P > 0.05$); *: significant ($P < 0.01$); ***: highly significant ($P < 0.001$).

با مقدار گزارش شده در بز مرخز و وراثت‌پذیری مستقیم در گوسفندان نژاد هورو و سانتا اینز قرابت دارد (۱، ۲ و ۳۰). مقدار وراثت‌پذیری مادری در این تحقیق ۰/۰۱ برآورد گردید که از مقادیر گزارش شده در نژاد سانتا اینز (۰/۱۴)، نژاد قزل (۰/۰۴) و نژاد لری (۰/۱۱) کمتر است (۲، ۴ و ۱۸). اثر محیط دائم مادری در این مطالعه ۰/۰۴ برآورد گردید که در دامنه مقادیر گزارش شده در نژاد سانتا اینز (۰/۵۷) و نژاد کردی

برآورد مؤلفه‌های (کو)واریانس، پارامترهای ژنتیکی و همبستگی ژنتیکی بین صفات در جدول ۳ آورده شده است. وراثت‌پذیری مستقیم اتوزومی صفت وزن تولد ۰/۲۱ برآورد گردید. مقدار وراثت‌پذیری مستقیم برآورد شده برای صفت وزن تولد در نژاد سردی، مینز و سنگسری به ترتیب ۰/۰۷، ۰/۴۶ و ۰/۳۵ گزارش شده است (۶، ۱۱ و ۲۸). مقدار وراثت‌پذیری مستقیم اتوزومی برآورد شده در این مطالعه

(۰/۰۳) می‌باشد (۲ و ۲۴). بحرینی بهزادی و همکاران (۳) بیان کردند، اگر اثرات مادری در صفات مورد بررسی مؤثر باشد و در مدل وارد نشود، برآورد واریانس ژنتیکی افزایشی شامل حداقل بخشی از واریانس مادری می‌شود. به طور کلی صفات رشد تحت تاثیر ژن‌های فرد، اثرات مادری و اثرات محیطی می‌باشند و استفاده از مدل‌های مناسب جهت تفکیک این اثرات منجر به افزایش صحت ارزیابی می‌شود.

مقدار وراثت‌پذیری مستقیم اتوزومی برای صفت وزن شیرگیری در این مطالعه ۰/۲۱ برآورد شد که از مقدار گزارش شده در بز مرخز (۰/۱۳) بیشتر (۳۰)، و با مقادیر وراثت‌پذیری مستقیم در نژاد هورو (۰/۲۰)، نژاد ماکویی (۰/۲۱) و نژاد سنگسری (۰/۱۸) قرابت دارد (۱).

۱۰ و ۲۸). مقدار وراثت‌پذیری مادری برآورد شده برای صفت وزن از شیرگیری با مقادیر گزارش شده در نژاد هورو همخوانی دارد (۱). اثر محیطی دائم مادری وزن شیرگیری در نژاد ماکویی، کرمانی و مارواری بیشتر از مقدار به‌دست آمده در این تحقیق می‌باشد (۱۰، ۲۰ و ۲۵). مقادیر گزارش شده برای هر یک از نژادهای مذکور به ترتیب ۰/۰۸، ۰/۱۳ و ۰/۰۸ بود. در حیوانات جوان شیر مادر و رفتار مادری تاثیر زیادی در رشد حیوان دارد (۷ و ۱۴). به دلیل تنوع بیشتر چند قلوژی و رقابت بین بره‌ها برای شیر دریافتی از مادر، اثرات مادری در گوسفند اهمیت بیشتری نسبت به گاو دارد، و این عامل باعث شباهت بین دو قلوها و شباهت مادر و بره در سال‌های مختلف می‌شود (۲۶).

جدول ۳- وراثت‌پذیری و اثرات محیط دائم مادری (در قطر و به صورت ضخیم)، همبستگی ژنتیکی (پایین قطر) و فنوتیپی (بالای قطر) برای اثرات مستقیم اتوزومی، وابسته به جنس و اثرات مادری

Table 3- Heritability estimates and maternal permanent environmental effects (diagonal in bold), genetic (below diagonal) and phenotypic (above diagonal) correlation estimates for autosomal, sex-linked and maternal effects

صفات وزن بدن Body weight traits	تولد Birth	وزن شیرگیری Weaning weight	افزایش وزن روزانه Average daily gain	نسبت کلیبر Kleiber ratio
اتوزومی Autosomal				
Birth weight	0.21 ± 0.06	0.03 ± 0.02	-0.16 ± 0.02	-0.28 ± 0.02
Weaning weight	0.02 ± 0.02	0.18 ± 0.08	0.94 ± 0.00	0.67 ± 0.01
Average daily gain	-0.24 ± 0.21	0.91 ± 0.04	0.34 ± 0.09	0.85 ± 0.01
Kleiber Ratio	-0.31 ± 0.16	0.58 ± 0.13	0.85 ± 0.04	0.55 ± 0.10
کروموزم وابسته به جنس Sex-linked				
Birth weight	0.03 ± 0.04			
Weaning weight	0.58 ± 0.08	0.11 ± 0.06		
Average daily gain	0.62 ± 0.05	0.98 ± 0.04	0.10 ± 0.07	
Kleiber Ratio	0.33 ± 0.05	0.76 ± 0.25	0.84 ± 0.15	0.07 ± 0.07
ژنتیک مادری Maternal Genetic				
Birth weight	0.01 ± 0.07			
Weaning weight	0.39 ± 0.07	0.15 ± 0.06		
Average daily gain	0.37 ± 0.10	0.99 ± 0.04	0.11 ± 0.07	
Kleiber Ratio	0.33 ± 0.15	0.87 ± 0.26	0.93 ± 0.15	0.09 ± 0.09
اثر محیط دائم مادری Maternal permanent environmental effect				
Birth weight	0.04 ± 0.05			
Weaning weight	0.64 ± 0.15	0.00 ± 0.05		
Average daily gain	-0.26 ± 0.10	-0.06 ± 0.05	0.00 ± 0.06	
Kleiber Ratio	-0.20 ± 0.16	-0.09 ± 0.03	0.99 ± 0.26	0.06 ± 0.08

افزایش وزن روزانه در نژاد هورو ۰/۱۵ و نژاد کردی ۰/۱۳ و مقدار وراثت‌پذیری مستقیم اتوزومی در بز مرخز ۰/۱۳ برآورد گردید (۱، ۲۱ و ۳۰). مقدار وراثت‌پذیری مستقیم اتوزومی برای صفت میانگین افزایش وزن روزانه در این تحقیق ۰/۳۴ برآورد شد که از مقادیر گزارش شده توسط این محققین بیشتر است. مقدار وراثت‌پذیری

نرخ رشد و تبدیل بازده غذایی دو صفت اقتصادی مهم می‌باشند و شاخص کلیبر یک شاخص مفید برای بررسی این صفات می‌باشد. به علت بالا بودن همبستگی بین نسبت کلیبر، بازده خوراکی و صفات رشد، انتخاب برای نسبت کلیبر می‌تواند منجر به افزایش بازده غذایی و صفات رشد شود (۱). وراثت‌پذیری مستقیم برای صفات میانگین

تغذیه میش‌ها در سال‌های اخیر منجر به نبود شیر کافی برای بره‌ها می‌شود. بنابراین بره‌های سنگین‌تر در هنگام تولد قادر به نشان دادن پتانسیل رشد خود نمی‌باشند. همبستگی ژنتیکی اتوزومی بین صفات مختلف در دامنه‌ی ۰/۳۱- تا ۰/۹۱ بود. همبستگی ژنتیکی اتوزومی بین وزن تولد با میانگین افزایش وزن روزانه (۰/۲۴-) و وزن تولد با نسبت کلیبر (۰/۳۱-) منفی برآورد شد. وجود همبستگی ژنتیکی منفی اتوزومی می‌تواند به دلیل مکانیسم متفاوت ژنتیکی صفات و یا نامساعد بودن شرایط محیطی و به تبع بیان یا خاموش شدن ژن‌ها در یک بازه‌ی زمانی خاص باشد. شات و مکی تانیلا (۲۳) و محمدی و همکاران (۱۸) همبستگی ژنتیکی بین صفات وزن تولد با میانگین افزایش وزن روزانه و وزن تولد با نسبت کلیبر را منفی گزارش کردند. وجود همبستگی ژنتیکی اتوزومی مثبت بین سایر صفات مورد مطالعه، بیانگر این است که انتخاب برای هریک از صفات منجر به پاسخ به انتخاب مثبت برای صفات دیگر می‌شود. محمدی و همکاران (۱۸) بیان کردند در صورت وجود همبستگی مثبت بین صفات میانگین افزایش وزن روزانه و نسبت کلیبر، انتخاب برای نرخ رشد می‌تواند بازده استفاده از خوراک را در مراحل مختلف رشد بهبود بخشد (۱۸). همبستگی مستقیم کروموزم‌های وابسته به جنس و ژنتیکی مادری مثبت و به ترتیب در دامنه‌ی ۰/۳۳ تا ۰/۹۸ و ۰/۳۳ تا ۰/۹۹ برآورد شد. همبستگی ژنتیکی مثبت بین ژن‌های کروموزم‌های وابسته به جنس می‌تواند موجب افزایش پاسخ به انتخاب، در هر یک از جنس‌ها شود، همچنین وجود همبستگی ژنتیکی مادری بین صفات می‌تواند نشان دهنده‌ی اثر مشترک ژن‌های مادری در صفات قبل از شیرگیری در گوسفند نژاد مهربان باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد واریانس مستقیم کروموزم وابسته به جنس، همانند واریانس ژنتیکی مادری روی صفات قبل از شیرگیری دارای اثر می‌باشد و وارد کردن این اثر به مدل، برآورد دقیق‌تری از وراثت‌پذیری مستقیم کروموزم اتوزومی را رقم می‌زند. همچنین وجود همبستگی ژنتیکی مثبت بین کروموزم‌های وابسته به جنس می‌تواند موجب افزایش پاسخ به انتخاب، در جنس‌های مختلف شود.

مادری و اثر محیط دائم مادری برای صفت میانگین افزایش وزن روزانه به ترتیب ۰/۱۱ و صفر برآورد شد که با گزارشات سایر محققین قرابت دارد (۶ و ۲۱).

وراثت‌پذیری مستقیم اتوزومی برای صفت نسبت کلیبر وزن از شیرگیری در این مطالعه ۰/۵۵ برآورد شد که از مقادیر وراثت‌پذیری مستقیم در گوسفندان نژاد هورو ۰/۰۹، نژاد ماکوئی ۰/۲۰ و نژاد کرمانی ۰/۰۸ بیشتر است (۱، ۱۳ و ۲۰). محمدی و همکاران (۱۸) بیان کردند که حیواناتی که نسبت کلیبر بالایی دارند نیازمند انرژی نگهداری کمتری می‌باشند. وراثت‌پذیری مادری برای صفت نسبت کلیبر در این تحقیق مشابه مقادیر گزارش شده در نژاد هورو (۰/۰۸) و نژاد لری (۰/۱۰) می‌باشد (۱ و ۱۸). اثر محیط دائم مادری برای صفت نسبت کلیبر ۰/۰۶ برآورد شد که در دامنه مقادیر گزارش شده در نژاد کرمانی (۰/۰۱) و نژاد لری (۰/۰۹) بود (۱۸ و ۲۰).

زمانی و الماسی (۳۰) علت ناچیز بودن وراثت‌پذیری وابسته به جنس صفات مرتبط با رشد را، نقش ناچیز و نزدیک به صفر اثرات افزایشی ژن‌های وابسته به جنس بیان کردند. در این مطالعه، وراثت‌پذیری کروموزوم وابسته به جنس برای صفات وزن تولد، وزن شیرگیری، میانگین افزایش وزن روزانه و نسبت کلیبر به ترتیب ۰/۰۳، ۰/۱۱، ۰/۱۰ و ۰/۰۷ برآورد شد. مقدار وراثت‌پذیری کروموزوم جنسی برای صفات زنده‌مانی بره در گوسفند لری بختیاری در دامنه‌ی ۰/۰۲- تا ۰/۰۱ و صفات وزن بدن در بز مرخز در دامنه‌ی ۰/۰۲ تا ۰/۰۷ گزارش شده است (۲۷ و ۳۰). مشابه نتایج وطن خواه و همکاران (۲۷)، این مطالعه نشان می‌دهد که اثرات کروموزوم جنسی مانند اثرات ژنتیک مادری دارای اثر می‌باشد و در نتیجه بخشی از واریانس ژنتیکی افزایشی تحت تاثیر واریانس کروموزوم وابسته به جنس می‌باشد، بنابراین وارد کردن اثر کروموزوم وابسته به جنس در مدل منجر به برآورد دقیق‌تری از واریانس ژنتیکی اتوزومی می‌شود.

همبستگی فنوتیپی صفات مورد مطالعه در دامنه‌ی ۰/۲۸- تا ۰/۹۴ و همبستگی محیط دائم مادری در دامنه‌ی ۰/۲۶- تا ۰/۹۹ قرار دارد. وجود همبستگی فنوتیپی منفی (بین صفت وزن تولد با صفات میانگین افزایش وزن روزانه و نسبت کلیبر) و همبستگی محیط دائم مادری منفی (بین صفات وزن تولد و وزن شیرگیری با صفات میانگین افزایش وزن روزانه و نسبت کلیبر) را می‌توان به نیازهای تغذیه‌ای و رفتار مادری میش نسبت داد. وجود خشکسالی و نبود مرتع جهت

منابع

1. Abegaz, S., J. B. van Wyk, and J. J. Olivier. 2005. Model comparisons and genetic and environmental parameter estimates of growth and the Kleiber ratio in Horrosheep. South African Journal of Animal Science, 35(1): 30-40.
2. Aguirre, E. L., E. C. Mattos, J. P. Eler, A. D. Barreto Neto, and J. B. Ferraz. 2016. Estimation of genetic parameters and genetic changes for growth characteristics of Santa Ines sheep. Genetics and Molecular Research, 15(3): 1-12.
3. Bahreini Behzadi, M. R., F. E. Shahroudi, and L. D. Vn Vleck. 2007. Estimates of genetic parameters for growth

- traits in Kermani sheep. *Journal of Animal Breeding Genetics*, 124: 296-301.
4. Baneh, H., S. H. Hafezian., A. Rashidi., M. Gholizadehand, and G. Rahimi. 2010. Estimation of Genetic Parameters of Body Weight Traits in Ghezel Sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2: 149-153.
5. Barazandeh, A., S. Molaei-Moghbeli., M. Vatankhah, and M. Mohammadabadi. 2012. Estimating non-genetic and genetic parameters of pre-weaning growth traits in Raini Cashmere goat. *Tropical Animal Health and Production*, 44:811-817.
6. Boujenane, I., and I. T. Diallo. 2017. Estimates of genetic parameters and genetic trends for pre weaning growth traits in Sardi sheep. *Small Ruminant Research*, 146: 61-68.
7. Bradford, G. E. 1972. The role of maternal effects in animal breeding. VII. Maternal effects in sheep. *Journal of Animal Sciences*, 35: 1324-1334.
8. Di, j., Y. Zhang., K. Tian., Lazate., J. Liu., X. Xu., Y. Zhang, and T. Zhang. 2011. Estimation of (co)variance components and genetic parameters for growth and wool traits of Chinese superfine merino sheep with the use of a multi-trait animal model. *Livestock Science*, 138: 278-288.
9. Fernando, R. L, and M. Grossman. 1990. Genetic evaluation with autosomal and X-chromosomal inheritance. *Theoretical and Applied Genetics*, 80: 75-80.
10. Ghafouri-Kesbi, F, and H. Baneh. 2012. Genetic parameters for direct and maternal effects on growth traits of sheep. *Archiv Tierzucht*, 55(6): 603-611.
11. Gizaw, S., S. Lemma., H. Komen, and J. A. M. Van Arendonk. 2007. Estimates of genetic parameters and genetic trends for live weight and fleece traits in Menz sheep. *Small Ruminant Research*, 70: 145-153.
12. Husby, A., H. Schielzeth., W. Forstmeier, L. Gustafsson, and A. Qvarnstrom. 2012. Sex chromosome linked genetic variance and the evolution of sexual dimorphism of quantitative traits. *Evolution*, 67(3): 609-619.
13. Jafari, S, and R. Razzagzadeh. 2016. Genetic analysis and the estimates of genetic and phenotypic correlation of growth rates, Kleiber ratios, and fat-tail dimensions with birth to yearling live body weight traits in Makuie sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 48: 667-672.
14. Lewis, R. M., and P. R. Beatson. 1999. Choosing maternal effect models to estimate (co)variances for live and fleece weight in New Zealand Coop worth sheep. *Livestock Production Science*, 58: 137-150.
15. Matika, O., J. B., van Wyk, G. J. Erasmus, and, R. L. Baker. 2003. Genetic parameter estimates in Sabi sheep. *Livestoc Production Science*, 79: 17-28.
16. Meyer, K. 2008. Likelihood calculations to evaluate experimental designs to estimate genetic variances. *Heredity*, 101:212-221.
17. Meyer, K. 2013. WOMBAT-A program for mixed model analyses by restricted maximum likelihood. *Animal Genetics and Breeding Unit, Armidale*, pp. 105.
18. Mohammadi, K., R. Abdollahi-Arpanahib, F. Amraeic, E. Mirza Mohamadid, and A. Rashidid. 2015. Genetic parameter estimates for growth and reproductive traits in Lori sheep. *Small Ruminant Research*, 131: 35-42.
19. Mrode, R. A. 2005. Linear models for the prediction of animal breeding values. *CAB International*.
20. Rashidi, A., M. S. Mokhtari, A. Safi Jahanshahi, and M. R. Mohammad Abadi. 2008. Genetic parameter estimates of pre-weaning growth traits in Kermani sheep. *Small Ruminant Research*, 74: 165-171.
21. Saghi, D. A., and A. R. Shahdadi. 2016. Estimation of Genetic Parameters of Kleiber Ratio and Growth Traits in Kurdish Sheep. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 8(2): 370-381.
22. SAS Institute. 2001. SAS /STAT user's Guide: statistics. Release 8.2. SAS Institute Inc., Cary, NC.
23. Shaat, I, and A. Maki-Tanila. 2009. Variation in direct and maternal genetic effects for meat production traits in Egyptian Zaraibi goats. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 126: 198-208.
24. Shokrollahi, B., and M. Zandieh. 2012. Estimation of genetic parameters for body weights of Kurdish sheep in various ages using multivariate animal models. *African Journal of Biotechnology*, 11: 2119-2123.
25. Singh, H., U. Pannu, H. K. Narula, A. Chopra, V. Naharwara, and S. K. Bhaka. 2016. Estimates of (co)variance components and genetic parameters of growth traits in Marwari sheep. *Journal of Applied Animal Research*, 44(1): 27-35.
26. Snyman, M. A., J. J. Olivier, and W. J. Olivier. 1996. Variance components and genetic parameters for body weight and fleece traits of Merino sheep in an arid environment. *South African Journal of Animal Science*, 26: 11-14.
27. Vatankhah, M., A. Talebi, and H. Blair. 2016. Genetic analysis of Lori-Bakhtiari lamb survival rate up to yearling age for autosomal and sex-linked. *Small Ruminant Research*, 136:121-126.
28. Yousefi, Z., M. T. Beige Nasiri, N. Moradi, and M. Imani. 2016. Estimation of Genetic Parameters for Direct and Maternal Effects in Growth Traits of Sangsari Sheep Using Gibbs Sampling. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 8(2): 382-391.
29. Zamani, P., and H. Mohammadi. 2008. Comparison of different models for estimation of genetic parameters of early growth traits in the Mehraban Sheep. *Journal of Animal Breeding Genetic*, 125: 29-34.
30. Zamani, P, and M. Almasi. 2017. Estimation of autosomal and sex-linked heritabilities for growth related traits in Markhoz breed of goats. *Iranian Journal of Animal Science*, 48(1): 109-117. (In Persian).



Genetic Analysis of Autosomal and Sexual Chromosomes of Pre-Weaning Traits in Mehraban Sheep

M. Latifi^{1*}

Received: 17-10-2017

Accepted: 31-12-2017

Introduction Mehraban sheep is one of the important Iranian breeds. This breed mainly distributed in the western province of Hamadan, Iran. This breed is fat-tailed and has carpet wool with light brown, cream or grey colour. There are approximately 3 million heads of Mehraban sheep and primarily used for meat production. Accurate estimation of genetic parameters and in particular genetic correlations requires large data sets and effective methods for genetic analyses with considering all potential effects. In livestock, the animal mixed model using REML procedure, which allowed to estimate variance components such as maternal heritability, permanent environmental effects and the correlation between direct and maternal genetic effects for investigated traits, is used extensively for data analysis. Many researchers reported that ignoring maternal effects leads to over-estimation of direct heritability and consequently, reduced accuracy of prediction. Therefore, in order to obtain an optimal genetic gain in a selection scheme, including maternal effects will decrease the bias of predicted responses to selection. In genetic evaluation of animals, it is generally assumed that only autosomal chromosomes are involved and the effect of sex chromosomes ignored. In Markhoz goat, it has been shown that sex-linked genes may have less effect at the early ages and more noticeable effects were indicated on body weights at older ages. The aim of this study were to estimate the genetic parameters of autosomal and sex-Linked additive genetics effects for pre-weaning traits in Mehraban sheep using multi-trait analyses and to estimate genetic correlations between traits.

Material and method The data set used in this study was collected between 1994 and 2010 from Mehraban sheep breeding station in Hamadan province, Iran. The analyzed traits were birth weight (BW), weaning weight (WW), average daily gain (ADG) from birth to weaning and Kleiber Ratio from birth to weaning. The GLM procedure of SAS software was used to identify which the fixed effects that are required to be considered in the animal model. The model accounting for fixed effects included herd-year (combined as herd-year effect), sex (male or female), birth type (single or twin), age of dam (2-6 years old) and the age of weaning (in days) was used as a covariate for WW ($P < 0.001$). Also, random effects included direct additive genetic effects in autosomal chromosomes, direct additive genetic effects in sex-linked, maternal genetic effects, maternal permanent environmental effects and the residual effects. (Co) variance components and genetic parameters were estimated using a multi-trait analysis via the Restricted Maximum Likelihood (REML) method with WOMBAT software. Convergence criterion was assumed 10^{-8} .

Result and discussion The interaction between herd and year of lambing was significant for all traits. Significant influence of herd and year of lambing could be explained by difference in management, climate conditions and feeding. Also, all traits were significantly affected by sex, birth type and age of dam. The significance of these effects is mainly due to endocrine system between two genders, limited uterine space especially in young ewes, competition for milk between the twins or maternal ability of dam. For birth weight, weaning weight, average daily weight from birth to weaning weight (ADG) and Kleiber Ratio (KR), estimated direct autosomal heritabilities were 0.21, 0.18, 0.34 and 0.55, estimated direct sex-linked heritabilities were 0.03, 0.11, 0.10 and 0.07, estimated maternal heritabilities were 0.01, 0.15, 0.11 and 0.09, and ratio of maternal permanent environmental variance to phenotypic variance were 0.04, 0.0, 0.0 and 0.06, respectively. According to these results, growth rate and Kleiber ratio in Mehraban sheep are categorized as moderate and high heritable traits, therefore a favorable genetic gain would be expected through selection programs. Estimated direct sex-linked heritabilities were close to the estimates of maternal heritabilities. This suggests that sex-linked effects need to be considered in selecting for growth traits in Mehraban sheep. The autosomal, sex-chromosome, maternal genetic, maternal environmental effects and phenotypic correlations were ranged from -0.31 to 0.91, 0.33 to 0.99, -0.26 to 0.99 and -0.28 to 0.94, respectively.

Conclusion The results of this study indicated that the direct variance of sex chromosomes has an affect

1- PhD candidate of Animal Genetics and Breeding, University of Kurdistan, Iran

(*- Corresponding author email: mlganjnameh@gmail.com)

similar maternal genetic variance, and it could contribute to a more accurate estimation of the direct autosomal heritability. Also, positive genetic correlations between sex chromosomes could increase the response to selection of each sexes.

Keywords: Autosomal heritability, Mehraban sheep, Pre-weaning weights, Sex-linked heritability



تعیین محدوده مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم گوسفندان بالغ سنگسری به روش Reference Value Advisor

محمود احمدی همدانی*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۱

چکیده

ایجاد محدوده مرجع اختصاصی نژاد، ابزار مهمی جهت پایش سلامتی در نژادهای مختلف گوسفند محسوب می‌شود. هدف از مطالعه حاضر ایجاد محدوده مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی منتخب سرم برای گوسفندان بالغ به ظاهر سالم نژاد سنگسری با روش Reference Value Advisor (RVA) و مقایسه فراسنجه‌های تحت مطالعه در بین دو جنس نر و ماده این نژاد بود. نمونه خون ۶۰ رأس گوسفند سالم و بالغ (رنج سنی ۲ تا ۴ سال) سنگسری از هر دو جنس (۲۶ میش و ۳۴ قوچ) از مرکز اصلاح نژاد گوسفند سنگسری در دامغان برای تعیین محدوده مرجع مورد استفاده قرار گرفتند. مهمترین فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم توسط دستگاه اتوآنالایزر (Mindray, BS-120) اندازه‌گیری شدند. محدوده مرجع فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده با روش RVA مطابق با دستورالعمل انجمن کلینیکال پاتولوژی دامپزشکی آمریکا، تعیین شد. محدوده مرجع داده‌ها باتوجه به حجم نمونه با روش Robust Box-cox transformation، گزارش شدند و سطح اطمینان ۹۰٪ به‌وسیله روش بوت استرپینگ غیرپارامتری تعیین گردید. محدوده مرجع تعیین شده برای فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم بدین شرح بودند: آسپاراتات آمینو ترانسفراز ۳۳۸/۴۰-۱۰/۸۶ واحد/لیتر، آلکالین فسفاتاز ۵۶۴/۸۴-۴۹/۲۴ واحد/لیتر، گاما گلوتامیل ترانسفراز ۶۲/۲۳-۲۴/۱۴ واحد/لیتر، ازت اوره خون ۲۶/۴۳-۶/۹۱ میلی‌گرم/دسی‌لیتر، آل‌بومین ۳/۶۳-۰/۹۲ گرم/دسی‌لیتر و پروتئین تام ۱۳/۹۵-۵/۱۹ گرم/دسی‌لیتر. از میان فراسنجه‌های مذکور تنها میزان پروتئین تام در نرها به‌صورت معنی‌داری بیشتر از ماده‌ها بود. با مشخص نمودن محدوده مرجع می‌توانیم اطلاعات پایه‌ای را جهت تفسیر نتایج بیوشیمیایی در گوسفند سنگسری ایجاد و به بهینه‌سازی مدیریت این گونه نیز کمک نماییم.

واژه‌های کلیدی: بیوشیمی بالینی، جنس، گوسفند سنگسری، محدوده مرجع

مقدمه

باشد. همچنین به علت فقدان منابع غذایی در مناطق خشک و نیمه خشک، این نژاد به‌طور منظم سالیانه از منطقه سمنان به منطقه مازندران یا خراسان مهاجرت می‌کند. مهمترین هدف پرورش این نژاد بره‌زایی و تولید گوشت می‌باشد (۱۹).

نرم‌افزار RVA مجموعه‌ای طراحی شده در مایکروسافت اکسل برای ویندوز ۲۰۰۳ می‌باشد که به دلیل توسعه گسترده به ابزاری مهم جهت تعیین محدوده مرجع مبدل گشته است. انتخاب محاسبات انجام شده برطبق دستورالعمل فدراسیون بین‌المللی بیوشیمی بالینی و مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی صورت می‌گیرد و شامل این موارد می‌شود:

۱- آمار توصیفی متداول شامل حجم نمونه، میانگین، میانه، انحراف معیار، حداقل و حداکثر مقادیر

۲- تست توزیع نرمال داده‌ها برطبق تست Anderson-Darling

به‌همراه هیستوگرام و نمودار Q-Q

۳- تست وجود داده‌های پرت که از تست‌های Dixon-Reed و

توکی استفاده می‌شود.

بیوشیمی بالینی و خون‌شناسی برای تعیین سلامتی، تشخیص و پیش‌آگهی بیماری ضروری هستند. گرچه این پارامترها ممکن است تحت تأثیر نژاد، تغذیه، سن، جنس، استرس و بیماری قرار بگیرند (۳). تفسیر نتایج بیوشیمی بالینی به‌همراه یافته‌های بالینی و سایر نتایج تست‌های پاراکلینیکی می‌توانند تشخیص افتراقی و یا پیش‌آگهی خاصی را ایجاد کنند (۵ و ۲۳). گوسفندان به لحاظ اقتصادی تولیدکننده‌های مهم گوشت، پشم و شیر در خیلی از کشورها هستند. گوسفند سنگسری یکی از نژادهای مهم گوسفند بدون دنبه ایرانی است که سبک وزن و کوچک‌جثه است و کاملاً به مناطق خشک و نیمه‌خشک کوهستانی مخصوصاً استان سمنان آداپته شده است. سیستم پرورش گله‌های گوسفند سنگسری به‌صورت غیرمتمرکز می‌باشد.

۱- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان

(*) نویسنده مسئول: (Email: ahmadi.hamedani@semnan.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.v10i3.66483

شدند. سپس نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه کلینیکال پاتولوژی آموزشکده دامپزشکی شهپیرزاد منتقل شدند و بلافاصله سرم آنها از طریق سانتریفیوژ با $g \times 800$ به مدت ۱۰ دقیقه (۲۰) جهت اندازه گیری فراسنجه‌های بیوشیمیایی، جدا گردید.

تمامی آزمایشات بیوشیمی توسط دستگاه اتوآنالایزر اتوماتیک (Mindray مدل BS-120) و با استفاده از کیت‌های تجاری (پارس آزمون، تهران) در آزمایشگاه کلینیکال پاتولوژی بیمارستان حیوانات خانگی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان آنالیز شدند. فراسنجه‌های بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده شامل پروتئین تام، آلبومین، ازت اوره خون، آلکالین فسفاتاز، گاما گلوتامیل ترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز بودند.

محدوده مرجع بر طبق دستورالعمل انجمن کلینیکال پاتولوژی دامپزشکی آمریکا تعیین و با روش RVA آنالیز شدند. برای محاسبه فواصل مرجع (RI) در صورتی که تعداد داده‌ها ($n \geq 40$) باشد از روش غیرپارامتری استفاده می‌شود و دامنه اطمینان ۹۰ درصد به روش بوت استرپینگ تعیین می‌گردد. اما اگر تعداد داده‌ها ($20 < n < 40$) باشد از روش‌های پارامتری استفاده می‌کنیم بدین ترتیب که ابتدا نرمال و متقارن بودن داده‌ها را با روش Darling/Symmetry test - p-Anderson value توسط نرم‌افزار اکسل RVA محاسبه می‌شود اگر توزیع داده‌ها نرمال باشد از روش پارامتری استاندارد داده‌های تغییر نیافته (standard untransformed data) و نرمال نباشد اما متقارن باشد از روش پارامتری رابوست داده‌های تغییر نیافته (Robust untransformed data) محدوده رفرانس تعیین می‌گردد. اما اگر پس از تغییر داده‌ها با نرم‌افزار اکسل RVA توزیع داده‌ها نرمال گردید از روش پارامتری استاندارد داده‌های تغییر یافته باکس-کاکس (standard BOX-COX transformed data) و اگر پس از تغییر داده‌ها با نرم افزار توزیع داده‌ها نرمال نگردید اما متقارن گردید از روش پارامتری رابوست داده‌های تغییر یافته باکس-کاکس (Robust BOX-COX Transformed data) استفاده می‌کنیم. در مواردی که توزیع پارامترها نرمال بود از آزمون آماری T مستقل (Independent-Samples T test) و اگر توزیع نرمال نبودند از آزمون من ویتنی برای مقایسه‌ی میانگین فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم بین دو جنس استفاده شد و مقادیر $P < 0.05$ به‌عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

محدوده مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی گوسفند سنگسری بالغ گزارش شده در جدول ۱ براساس روش غیرپارامتری محاسبه و سطح اطمینان ۹۰٪ از محدوده‌های مرجع به روش بوت استرپینگ تعیین شدند. در جدول ۲ و ۳ محدوده مرجع، روش مورد استفاده براساس نرمال یا غیرنرمال بودن توزیع داده‌ها و اختلاف آماری این پارامترها بین قوچ‌ها و میش‌های سنگسری گزارش شده است.

۴- محاسبه محدوده مرجع: برای هر سری از داده‌ها، RVA پنج محدوده مرجع را براساس مفروضات توزیع داده‌ها، محاسبه و گزارش می‌کند. چهار محدوده مرجع ابتدایی از طریق روش پارامتری استاندارد و Robust داده‌های خام و تغییر یافته حاصل می‌شوند. محدوده‌های استاندارد به نرمال بودن توزیع داده‌ها قبل و پس از تغییر آنها نیاز دارند، درحالی‌که روش Robust تنها به تقارن داده‌ها نیاز دارند. پنجمین محدوده بدون هیچ فرضی درباره توزیع داده‌ها حاصل می‌شود. بنابراین روش غیرپارامتری مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما تنها زمانی قابل محاسبه است که حجم نمونه به اندازه کافی بزرگ باشد ($n \geq 40$).

۵- سطوح اطمینان محدوده‌های مرجع برای هر روش: برای روش استاندارد، وقتی $n \leq 20$ سطح اطمینان ۹۰٪ با روش بوت استرپینگ پارامتری حاصل می‌شود. در سایر موارد روش بوت استرپینگ غیرپارامتری به کار گرفته می‌شود. برای روش غیرپارامتری، سطح اطمینان بر طبق حجم نمونه $370 < n < 120$ تعیین می‌شود، اگر حجم نمونه کوچکتر از ۱۲۰ باشد، روش بوت استرپینگ به کار گرفته می‌شود (۹).

گزارشات محدودی از تعیین محدوده مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم در برخی نژادهای گوسفند وجود دارد (۱۷ و ۲۶). در این راستا مجابی و همکاران (۲۰) میزان طبیعی فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون گوسفندان نژاد قزل را گزارش نموده‌اند. در مطالعه دیگری که توسط متقی‌نیا و همکاران (۲۲) انجام شد مقادیر برخی از فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون گوسفندان نژاد بلوچی را بررسی نمودند. اطلاعات منتشر شده‌ای در مورد محدوده مرجع اختصاصی نژاد برای گوسفند سنگسری موجود نمی‌باشد، لذا هدف از مطالعه حاضر ایجاد محدوده مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی منتخب سرم برای گوسفندان بالغ به ظاهر سالم نژاد سنگسری با روش استاندارد RVA و مقایسه فراسنجه‌های تحت مطالعه در بین دو جنس نر و ماده این نژاد بود.

مواد و روش‌ها

از مرکز اصلاح نژاد گوسفند سنگسری در دامغان، تعداد ۶۰ رأس گوسفند سالم و بالغ با رنج سنی ۲ تا ۴ سال از هر دو جنس (۲۶ میش و ۳۴ قوچ) انتخاب شدند. تمام اطلاعات شامل وضعیت سلامتی این حیوانات در زمان گذشته و حال، وضعیت تولیدمثلی آنها، داروهایی که مصرف کرده بودند، در قالب یک فرم یادداشت گردید. همچنین معاینات کامل جسمانی به‌وسیله دامپزشکان باتجربه همان مرکز از هر گوسفند صورت گرفت.

به منظور کاهش استرس، نمونه‌های خون کامل در همان مرکز اصلاح نژاد با کمترین تغییر در برنامه روزمره دام‌ها از گوسفندان اخذ شد. نمونه‌های خون در لوله‌های ساده فاقد ماده ضد انعقاد جمع‌آوری

جدول ۱ - تعیین فواصل مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی منتخب سرم گوسفندان بالغ و سالم سنگسری به روش Reference Value Advisor for select serum biochemical parameters of healthy adult Sangsari sheep using Reference Value Advisor

متغیرهای بیوشیمیایی Biochemical variables	آمار توصیفی Descriptive statistics				محدوده مرجع با سطح اطمینان ۹۰٪ Reference interval with 90% CI		مقادیر مرجع گزارش شده Previously published RI
	تعداد N	میان Median	حداقل Min	حداکثر Max	حد پایین محدوده مرجع Lower limit RI	حد بالا محدوده مرجع Upper limit RI	
آلکالین فسفاتاز ALP (U/L)	60	289.07	37.71	588.65	49.24 (37.71-118.92)	64.84 (511.09-588.65)	70-390
گاماگوتامیل ترانسفراز GGT (U/L)	60	33.38	24.13	63.37	24.14 (24.13-24.86)	62.23 (54.23-63.37)	20-52
آسیبازتات آمینوترانسفراز AST (U/L)	60	157.42	7.97	347.82	10.86 (7.97-18.38)	38.40 (297.44-347.82)	60-280
ازت اوره خون BUN (mg/dl)	60	15.07	6.79	27.16	6.91 (6.79-8.40)	26.43 (23.59-27.16)	10-35
پروتئین تام TP (g/dl)	60	9.28	4.82	14.07	5.19 (4.82-6.14)	13.95 (13.54-14.07)	6-7.9
آلبومین Alb (g/dl)	60	2.00	0.80	3.53	0.92 (0.80-1.07)	3.63 (3.32-3.75)	2.4-3

محدوده مرجع به وسیله روش Robust Box-Cox transformed data تعیین شد. محدوده‌های مرجع با سطح اطمینان ۹۰ درصد گزارش شده‌اند. سطح اطمینان به وسیله روش بوت استرپینگ غیرپارامتری تعیین گردید. مقادیر مرجع گزارش شده توسط رادوستیس و همکاران (۳۴).

جدول ۲ - تعیین فواصل مرجع فراسنجهای بیوشیمیایی قوچ‌های سنگسری به روش Reference Value Advisor and compare them with ewes
 Table 2- Determining the reference interval (RI) for serum biochemical parameters of Sangsari rams using Reference Value Advisor and compare them with ewes

متغیرهای بیوشیمیایی Biochemical variables	آمار توصیفی Descriptive statistics				محدوده مرجع با سطح اطمینان ۹۰٪ Reference interval with 90% CI		روش Method	P- Value
	تعداد N	میان Median	حداقل Min	حداکثر Max	حد پایین محدوده مرجع Lower limit RI	حد بالا محدوده مرجع Upper limit RI		
آلکالین فسفاتاز ALP (U/L)	34	299.25	127.47	506.54	106.08 (79.70-151.85)	568.55 (494.84-642.58)	BCTD*	0.613
گاماگلو تاویل ترانسفراز GGT (U/L)	34	39.19	24.13	63.37	20.80 (16.49-25.45)	58.30 (53.99-63.25)	SUD**	0.154
آسپارات آمینوترانسفراز AST (U/L)	34	191.61	17.78	347.82	(47.35)	360.12 (311.42-401.13)	SUD**	1.174
ازت اوره خون BUN (mg/dl)	34	17.15	8.40	27.16	8.15 (5.96-10.85)	26.04 (23.91-28.01)	BCTD*	0.815
پروتئین تام TP (g/dl)	34	10.22	4.82	14.07	4.66 (3.69-6.10)	15.59 (14.28-16.84)	SUD**	0.006
آلبومین Alb (g/dl)	34	2.36	1.05	3.75	0.74 (0.33-1.12)	3.77 (3.41-4.11)	SUD**	0.133

* توزیع نرمال نداشتند و به روش Robust-Box-Cox transformed data محاسبه شد.

** توزیع نرمال داشتند و به روش Standard-untransformed data (SUD) محاسبه شد.

جدول ۳- تعیین فواصل مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی میش‌های سنگسری به روش Reference Value Advisor و مقایسه آنها با قوچ‌ها
 Table 3- Determining the reference interval (RI) for serum biochemical parameters of Sangsari ewes by Reference Value Advisor and compare them with rams

متغیرهای بیوشیمیایی Biochemical variables	آمار توصیفی Descriptive statistics			محدوده مرجع با سطح اطمینان ۹۰٪ Reference interval with 90% CI		روش Method	P- Value
	تعداد N	میان Median	حد اقل Min	حد اکثر Max	حد پایین محدوده مرجع Lower limit RI	حد بالا محدوده مرجع Upper limit RI	
آلکالین فسفاتاز ALP (U/L)	26	300.47	37.71	588.65	29.98 (1.22-77.70)	702.89 (553.95-798.91)	0.613
گاماگوتامیل ترانسفراز GGT (U/L)	24	29.41	24.16	49.17	22.41 (21.33-23.59)	54.49 (43.73-73.45)	0.154
آسیارات آمینوترانسفراز AST (U/L) ³	25	102.02	7.97	220.43	1.36 (18.49)	279.89 (232.63-333)	1.174
ازت اوره خون BUN (mg/dl)	26	11.03	6.79	25.78	5.95 (5.37-6.81)	26.86 (20.08-33.11)	0.815
پروتئین تام TP (g/dl)	26	8.31	6.03	13.64	5.75 (6.39)	12.83 (11.33-14.12)	0.006
آلبومین Alb (g/dl)	26	1.91	0.80	2.69	0.84 (0.62-1.13)	2.77 (2.46-3.01)	0.133

* توزیع نرمال نداشتند و به روش Robust-Box-Cox transformed data

** توزیع نرمال داشتند و به روش Standard-untransformed data (SUD)

محدوده مرجع آنها محاسبه شد.

محدوده مرجع آنها محاسبه شد.

جدول ۴- مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی گوسفند سنگسری با سایر منابع

Table 4- Comparison the hematological parameters of Iranian Sangsari sheep with other references

متغیرهای بیوشیمیایی Biochemical variables	محدوده مرجع Reference Intervals			
	گوسفند سنگسری Sangsari sheep	گوسفند بیگه‌ورن Bighorn sheep	گوسفند چورا -da-Terra sheep Churra	گوسفند کرادی Karadi sheep
آلکالین فسفاتاز ALP (U/L)	49.24 - 564.84	73 - 575	15 - 331	68 - 387
گاماگلوتامیل ترانسفراز GGT (U/L)	24.14 - 62.23	20 - 130	10 - 90	-
آسپاراتات آمینوترانسفراز AST (U/L)	10.86 - 338.40	78 - 312	58 - 300	79 - 323
ازت اوره خون BUN (mg/dl)	6.91 - 26.43	5 - 28	7.59 - 31.80	-
پروتئین تام TP (g/dl)	5.19 - 13.95	6.00 - 9.3	6.31 - 8.81	5.03 - 6.14
آلبومین Alb (g/dl)	0.92 - 3.63	2.8 - 3.7	-	3.46 - 3.58

محدوده مرجع همگی پارامترها کمتر و حد بالای محدوده مرجع اکثر آنها به استثناء ازت اوره بیشتر از مقادیری که قبلاً گزارش شده بود، هستند. این اختلافات ممکن است به علت تفاوت در جمعیت مورد مطالعه از نظر تعداد محدود مشاهدات در مطالعه حاضر، سن، جنس، سویه، شرایط محیطی، تغذیه، شیوه زندگی و به‌ویژه روش آماری به کار رفته، باشد (۴، ۸، ۱۰، ۱۱ و ۱۸). همانگونه که از نتایج جدول ۲ و ۳ مشخص است میانگین غلظت پروتئین تام سرم در قوچ‌ها به‌صورت معنی‌داری ($P < 0.05$) از میش‌ها بیشتر است. این یافته‌ها با نتایج گزارش شده توسط خان (۱۶) و استیمو (۲۶) کاملاً مطابق هستند. یکی از دلایل این یافته می‌تواند ناشی از این موضوع باشد که اکثر قوچ‌های مورد مطالعه بزرگتر از ۳ سال بودند و همانگونه که ذکر شد افزایش سن به‌طور معنی‌داری منجر به افزایش پروتئین تام و آلبومین در این مطالعه گردید. نتایج مطالعه ما نشان داد که ازت اوره خون در قوچ‌ها به‌صورت معنی‌داری ($P < 0.05$) از میش‌ها بیشتر است. این نتایج با یافته‌های به‌دست آمده توسط برجسن و همکاران (۴) و استیمو (۲۶) مطابقت داشت. افزایش سطح ازت اوره خون در قوچ‌ها می‌تواند ناشی از افزایش دامینه شدن یا کم بودن میزان متابولیسم پایه در قوچ‌ها نسبت به میش‌ها باشد. سایر فراسنجه‌های بیوشیمیایی تحت تأثیر جنس قرار نگرفتند که این یافته‌ها با نتایج گزارش شده توسط مستقنی و همکاران (۲۱)، خان (۱۵) و استیمو (۲۶) کاملاً مطابقت داشتند.

در جدول ۴ مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی بین گوسفند سنگسری و گوسفند بیگه‌ورن (۴)، گوسفند چورا (۱۶) و گوسفند کرادی (۷) مشخص شده است. از بین فراسنجه‌های بیوشیمیایی تحت مطالعه، تنها پروتئین تام در میش‌ها توزیع نرمال داشت و به روش استاندارد داده‌های خام (SUD) محدوده مرجع آن محاسبه شد و به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) را نسبت به قوچ‌ها نشان داد. درحالی‌که در قوچ‌ها آلکالین فسفاتاز و ازت اوره توزیع نرمال نداشتند و به روش Robust- BCTD محدوده مرجع آنها محاسبه شد. تفسیر نتایج بیوشیمیایی در نژادهای مختلف گوسفند، با درنظر گرفتن محدوده مرجع برای هر پارامتر، در تقابل با تاریخچه، یافته‌های بالینی و سایر آزمایشات پاراکلینیک، به کلینیسین در جهت رسیدن به تشخیص قطعی کمک می‌کند (۲۳). یکی از ویژگی‌های منحصر به فرد گوسفند سنگسری سازگاری بسیار زیاد آنها با مناطق بیابانی و کوهستانی است. این نژاد اندازه نسبتاً کوچک و وزن سبکی دارد و اکثر مطالعات بر خصوصیات ژنتیکی مرتبط با این صفت متمرکز شده اند (۱۲ و ۱۴). با درنظر گرفتن ویژگی‌هایی که در بالا ذکر شد و باتوجه به فقدان محدوده مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی، تعیین محدوده مرجع در گوسفند سنگسری ضروری به‌نظر می‌رسد. به منظور ایجاد محدوده مرجع جامع در گوسفند سنگسری طیفی از مهمترین فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم با یک روش به روز و استاندارد که مورد تأیید جامعه کلینیکال پاتولوژی دامپزشکی آمریکا می‌باشد، مورد ارزیابی قرار گرفتند. تقریباً اکثر محدوده‌های تعیین‌شده برای فراسنجه‌های بیوشیمیایی در این مطالعه با مقادیر مرجع گزارش شده توسط رادوستیتس و همکاران (۲۴) اختلاف داشتند، به گونه‌ای که حد پایین

نتیجه‌گیری کلی

احتمال بسیار زیاد می‌تواند به دلیل اختلاف اختصاصی نژاد باشد. با مشخص نمودن محدوده مرجع می‌توانیم اطلاعات پایه‌ای را جهت تفسیر نتایج بیوشیمیایی در گوسفند سنگسری ایجاد و به بهینه‌سازی مدیریت این گونه نیز کمک نماییم.

داده‌های حاصل محدوده مرجعی از فراسنجه‌های بیوشیمیایی را در گوسفند سنگسری برای نخستین بار فراهم نمود. مطالعه حاضر نشان داد که اختلافات مشخص در فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده به

منابع

1. Alonso, A. J., R. D. Theresa, M. Garcia, J. R. Gonzalez, and M. Vallejo. 1997. The effects of age and reproductive status on serum and blood parameters in Merino breed sheep. *Journal of veterinary medicine*, 44(1): 223-231.
2. Antunović, Z. M., Z. Šperanda, and Z. V. Steiner. 2004. The influence of age and the reproductive status to the blood indicators of the ewes. *Arch Tierz Dummerstorf*, 1(47): 265-273.
3. Baumgartner, W., and A. Pernthaner. 1994. Influence of age, season, and pregnancy upon blood parameters in Austrian Karakul sheep. *Small Ruminant Research*, 13(2): 147-151.
4. Borjesson, D. L., M. M. Christopher, and W. M. Boyce. 2000. Biochemical and hematologic reference intervals for free-ranging desert bighorn sheep. *Journal of wildlife Disease*, 36(2): 294-300.
5. Braun, J. P., C. Trumel, and P. Bezille. 2010. Clinical biochemistry in sheep: a selected review. *Small Ruminant Research*, 92(1): 10-18.
6. Carlos, M. M., J. H. Leite, D. F. Chaves, A. M. Vale, D. A. Façanha, M. M. Melo, and B. Soto-Blanco. 2015. Blood parameters in the morada nova sheep: influence of age, sex and body condition score. *Journal of animal Plant Science* 25(4): 950-955.
7. Khan, K. M. H., K. A. Ahmed, E. H. Ahmad, and C. A. Omar. 2013. Study of some serum biochemical parameters of Karadi sheep in Sulaimani city, Iraq. *Research opinions in animal and veterinary sciences*, 3(12): 443-446.
8. Farver, T. B. 2008. Concepts of normality in clinical biochemistry. Pages 21-27: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. J. J. Kaneko., J. W. Harvey, and M. L. Bruss, ed. Academic Press, New York.
9. Geffre, A., D., Concordet, J. P., Braun, and C. Trumel. 2011. Reference value advisor: a new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel. *Veterinary Clinical Pathology*, 40(1): 107-112.
10. Greenwood, B. 1977. Hematology of the sheep and goat. Pages 305-344: *Comparative clinical hematology*. R. K. Archer, and L. B. Jeffcott, ed. Oxford Press, Blackwell.
11. Jain, N. C. 1993. Comparative hematology of common domestic animals. Pages 19-53: *Essentials of veterinary hematology*. N.C. Jain, ed. Philadelphia Press, Lea and Febiger.
12. Jamshidi, R., M. M. Kasiryan, and H. Hafezian. 2009. Application of PCR-RFLP technique to determine BMP15 gene polymorphism in Sangsari sheep breed of Iran. *Journal of Animal Veterinary Advances*, 8(10): 1906-1910.
13. Jangsangthong, A., P. Suwanachat, P. Jaykum, S. Buamas, W. Kaewkongjan, and S. Buranasinsup. 2012. Effect of sex, age and strain on hematological and blood clinical chemistry in healthy canine. *Journal of Applied Animal Science*, 5(3): 26-38.
14. Kasiryan, M. M., H. Hafezian, and N. Hassani. 2011. Genetic polymorphism BMP15 and GDF9 genes in Sangsari sheep of Iran. *International Journal of Genetics Molecular Biogy*, 3(1): 31-34.
15. Kessabi, M., and D. Lamnaouer. 1981. Serum proteins and their fractions in Timahdite sheep in Morocco: variations with age and liver or lung diseases. *Annales de Recherches Veterinaires*, 12(3): 233-237.
16. Khan, K. H., K. A. Ahmed, E. H. Ahmad, and C. A. Omar. 2013. Study of some serum biochemical parameters of Karadi sheep in Sulaimani city, Iraq. *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences*, 3(12): 443-446.
17. Kiran, S., A. M. Bhutta., B. A. Khan, S. Durrani, M. Ali, and M. Ali. 2012. Effect of age and gender on some blood biochemical parameters of apparently healthy small ruminants from Southern Punjab in Pakestan. *Asianian Pacific Journal Tropical Biomedicine*, 2(4): 304-306.
18. Kramer, J. W. 2000. Normal hematology of cattle, sheep and goats. Pages 1075-1084: *Schalm's veterinary hematology*. B. F. Feldman, J. G. Zinkl, and J. C. Williams, ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
19. Miraei-Ashtiani, S. R., S. A. Seyedalian, and M. Moradi Shahrba-bak. 2007. Variance components and heritabilities for body weight traits in Sangsari sheep, using univariate and multivariate animal models. *Small Ruminant Research*, 73(1): 109-114.
20. Mojabi, A., M. Abbas Ali Pour Kabire, S. Safi, S. Bokaie, and T. Sharifi. 2000. Evaluation of normal range of major serum biochemical parameters in apparently healthy Ghezel sheep breed. *Journal of Veterinary Research*, 55: 19-27. (In Persian).
21. Mostaghni, K., K. Badiei, and M. Emadi. 2005. Hematology and serum biochemistry of captive wild sheep (*Ovis*

- orientalis esphahanica*) in Iran. Comparative Clinical Pathology, 13(4): 158-161.
22. Motaghi Nia, G. H., H. Farhangfar, and M. Jafari. 2012. Evaluation of inbreeding and its effect on weight of wool among Baluchi sheep in Abbas Abad breeding station, Mashhad. Journal of Animal Science Research, 22 (1): 122-129. (In Persian).
23. Polizopoulou, Z. S. 2010. Hematological tests in sheep health management. Small Ruminant Research, 92(1): 88-91
24. Radostits, O. M., C. C. Gay, D. C. Blood, and K. W. Hinchcliff. 2000. Veterinary Medicine. Saunders Company, London, UK.
25. Roubies, N., N. Panousis, A. Fytianou, P. D. Katsoulos, N. Giadinis, and H. Karatzias. 2006. Effects of age and reproductive stage on certain serum biochemical parameters of Chios sheep under Greek rearing conditions. Journal of Veterinary Medicine, 53(6): 277-281.
26. Sitmo, M. S. 2014. Effect of gender on some plasma biochemical parameters of sheep from Southern Al Jabal Al Akhdar in Libya. Journal of American Sciences, 10(8).
27. Yamaguchi, R., H. Terashima, S. Yoneyama, S. Tadano, and N. Ohkohchi. 2012. Effects of platelet-rich plasma on intestinal anastomotic healing in rats: PRP concentration is a key factor. Journal of Surgical Research, 173(2): 258-266.



Determination of Reference Interval for Select Serum Biochemical Parameters of Healthy Adult Sangsari Sheep Using Reference Value Advisor

M. Ahmadi-hamedani^{1*}

Received: 30-07-2017

Accepted: 01-01-2018

Introduction The expected values of hematologic and serum biochemical parameters in domestic animal species can be affected by breed, age, environment, and nutrition. Established breed-specific reference intervals (RI) are an important tool for monitoring the health of sheep. There is a lack of published data on biochemical RI for Sangsari sheep. Thus, the aims of this study were to establish RI for select of serum biochemical parameters for Sangsari sheep by Reference Value Advisor (RVA) method and provide information on the studied parameters for both sex of this breed in order to form a basis for clinical interpretation.

Materials and Methods Sixty healthy Sangsari sheep including 26 ewes and 34 rams (2–4 years old) were chosen from the breeding station of Sangsari sheep among 150 sheep in Damghan, Semnan, Iran. The type of feeding, all the animals had free access to water and to good-quality alfalfa hay (90.0 % DM, 15.8 CP % DM, 50.4NDF%DM, 31.6ADF%DM, 5.8 lignin% DM, and 2.2 EE % DM). Concentrate (23 % oats, 36 % corn, 38 % barley, and 3% mineral and vitamin supplements) was provided once daily (200 g per animal per day). In the sampling day, breeder signed a subscription form and completed a primary questionnaire consisting of specific questions about past and current health status, sexual status, medications used, and familial and reproductive medical history. Complete physical examinations were performed by the same experienced veterinarian on each sheep. In order to reduce stress, blood samples were taken in the station with minimal changes in the usual schedule of the sheep. Blood samples (taken from the jugular vein) were collected in simple tubes in order to separate the serum (centrifuged at 3000 rpm for 10 min) for biochemical analysis. Samples transported at +4 °C to the laboratory department of the Faculty of Veterinary Medicine, Semnan, Iran. Biochemical parameters were measured by a autoanalyzer. These parameters included alkaline phosphatase (ALP), gamma glutamyltransferase (GGT), aspartate aminotransferase (AST), blood urea nitrogen (BUN), total protein (TP) and albumin (Alb). For statistical analysis, data were analyzed by Reference Value Advisor and outliers were deleted if detected according to Tukey or Dixon. RIs, according to sample size, were determined using a robust method and following Box-Cox transformation of data. The data were normally distributed, and differences between sexes in biochemical parameters were analyzed using independent sample T test. A value of $P < 0.05$ was considered as significant.

Results and Discussion The RI of biochemical parameters obtained from adult healthy Sangsari sheep includes the following: ALP 49.24-564.84 u/l; GGT 24.14-62.23 u/l; AST 10.86-338.40 u/l; BUN 6.91-26.43 mg/dl; TP 5.19-13.95 gr/dl and Alb 0.92-3.63 gr/dl. Established RI of biochemical parameters for ewes and rams, respectively including: ALP 29.98-702.89 u/l; GGT 22.41-54.49 u/l; AST 1.36-279.89 u/l; BUN 5.95-26.86 mg/dl; TP 5.75-12.83 gr/dl; Alb 0.84-2.77 gr/dl and ALP 106.08-568.55 u/l; GGT 20.80-58.30 u/l; AST 360.12 u/l; BUN 8.15-26.04 mg/dl; TP 4.66-15.59 g/dl and Alb 0.74-3.77 g/dl. Interpretation of the biochemical results in different breeds of sheep, with regard to RI for each parameter, in conjunction with history, clinical findings and other paraclinical tests helps the clinician to reach a definitive diagnosis. A unique feature of Sangsari sheep is that they are highly adaptable with desert and mountain ranges with high tolerance of drought conditions. This breed is also relatively small size and light weight, and most studies have focused on genetic characteristics associated with this trait. In view of the characteristics mentioned above and considering the lack of reference range for biochemical parameters, it is necessary to determine reference intervals in Sangsari sheep. In order to establish a comprehensive reference interval in Sangsari sheep, a select biochemical parameters were evaluated in the present study. Almost most of the established RI for biochemical parameters in this study differed from previously published RI, so that the lower and upper limits of RI of these parameters (with the exception of BUN) were lower and higher than the values previously reported. Differences between obtained RI for the Sangsari sheep and previously reported RI for other breeds may be attributed to variations in hormonal influences, hydration status, dietary differences, or adaptations to a desert environment, age, breed, season of

1- Assistant professor of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran
(* - Corresponding author email: ahmadi.hamedani@semnan.ac.ir)

study and analytic method.

Conclusion The obtained data provided reference interval for biochemical parameters in Sangsari sheep for the first time. Present study demonstrates significant differences in most of the biochemical parameters. Reference intervals determined in this study provide a baseline for interpreting biochemical results in Sangsari sheep, and contribute to optimization of the management of this species.

Keywords: Clinical biochemistry, Sangsari sheep, Reference Interval, Sex

Contents

Ruminant nutrition

Effect of Live Bacterial Cultures on *In Vitro* Digestibility and Ruminal Fermentation Parameters 322

J. Bayatkouhsar- A. M. Tahmasbi- A. A. Naserian- R. Valizadeh- R. Safari

Role of Dietary Zinc Supplementation on Performance of Fattening Lamb: A Meta-Analysis 337

N. Naghdi- R. Valizadeh- A. A. Naserian- A. Asoodeh

***In Situ* Rumen Degradability of Halophyte Plants *Atriplex leucoclada*, *Suaeda fruticosa* and *Seidlitzia rosmarinus* Individually or Mixed in Dromedary Camels** 351

A. Abarghani- M. Chaji- H. Mansori- M. Mamouei- K. Mirzadeh- H. Roshanfekr

The Effect of Myrtle (*Myrtus communis*) Leaves on Digestibility, Some Blood and Rumen Metabolites and Protozoa Morphology in Arabi Sheep 364

K. Salehpour- T. Mohammadabadi- M. R. Ghorbani

Poultry nutrition

Effect of Different Levels of Wild Pistachio (*pistaciaatlantica*) Leaves Extract on Performance, Ceca Microbial Population and Immunity Responses in Broiler Chickens 378

S. KordZanganeh- M. R. Ghorbani- A. Tatar- H. Barzegar

Determination of Chemical Composition and Protein Quality of Different Commercial Samples of Soybean Meals and Corn Gluten Meal Using Biological and Chemical Assays 390

R. Jabbari- H. Janmohammadi- S. A. Mirghelenj- R. Kinfar

Genetic and breeding

Improving Genomic Evaluation of Holstein Cattle Using a Haplotype-Based Relationship Matrix 401

M. Forutan- S. Ansari Mahyari- F. Schenkel- M. Sargolzaei

The Effect of Mitoproteum Genes on Breast Muscle Growth of Isfahan Native Chickens by RNA-seq Data 415

S. N. Albooshoke- M. Tahmoorespur- M. R. Bakhtiarizadeh- M. R. Nasiry- S. Esmaeilkhanian

Genetic Analysis of Autosomal and Sexual Chromosomes of Pre-Weaning Traits in Mehraban Sheep 424

M. Latifi

Physiology

Determination of Reference Interval for Select Serum Biochemical Parameters of Healthy Adult Sangsari Sheep Using Reference Value Advisor 433

M. Ahmadi-hamedani

«Research and Scientific Journal»
Iranian Journal of Animal Science Research

Vol. 10

No. 3

Fall 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>