

نشریه علمی-پژوهشی پژوهشهای علوم دامی ایران



جلد ۱۰ شماره ۴
سال ۱۳۹۷



Vol. 10 No. 4
2019

Iranian Journal of Animal Science Research

ISSN:2008-3106

۳۱۰۶-۲۰۰۸:شاپا

(شماره پیاپی: ۳۶)

عنوان مقالات

تغذیه نشخوارکنندگان

- اثر سن از شیرگیری بره بر عملکرد تولیدی و اقتصادی میش و بره بلوچی ۴۳۵
مجید جعفری- رضا ولی زاده - عباسعلی ناصریان
بررسی اثر روش‌های مختلف خشک کردن برگ بلوط گونه *Q. persica* و افزودن پلی اتیلن گلیکول بر غلظت ترکیبات
فتولی، جمعیت پروتوزوایی و تولید گاز متان ۴۴۹
زینب غلامی - فرشید فتح نیا - حسین جهانی عزیز آبادی - گلناز تاسلی
پاسخ هضمی گوسفند مهربان به شکل فیزیکی دانه جو و استفاده از مونسنین در جیره ۴۶۳
شهرام نجفی - محمد مهدی طباطبایی - خلیل زابلی - علی اصغر ساکی - احمد احمدی
تعیین خصوصیات آنژی اکسیدانی، ارزش غذایی و قابلیت هضم شکمبه‌ای- روده‌ای برگ پنه (*Pistacia atlantica*) به روش
کیسه‌های نایلونی ۴۷۷
فاطمه گنجی - مسلم باشتی - همایون فرهنگ‌فر - سیداحسان غیانی

تغذیه طیور

- اثرات جاذب آلومینوسیلیکات نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی بر عملکرد، وزن نسبی اجزای لاشه و فراسجه‌های یوشیمیایی
خونی جوجه گوشتی تحت چالش با آفاتوکسین B₁ ۴۸۹
حسن کیهانی یزدی- سید جواد حسینی واشان- نظر افضلی - محسن مجتهدی - علی اله رسانی
تأثیر گیاه گزنه (*Urtica dioica*) بر پارامترهای سرم و بیان ژنهای نیتریک اکسید سنتتاز و اندوتلین ۱ در جوجه‌های گوشتی
درگیر با فشار خون ریوی ۵۰۱
بهنام احمدی پور - فریبرز خواجهلی
تأثیر مکمل آنزیمی بر انرژی قابل سوخت و ساز، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جو بدون پوشینه در جوجه‌های گوشتی ۵۱۳
حمید طیموری - حیدر زرقی - ابوالقاسم گلپای
تأثیر سطوح و منابع متیونین و جایگزینی آن با بتائین بر عملکرد و صفات لاشه جوجه‌های گوشتی در دو شرایط دمایی متداول
و تنش گرمایی ۵۲۵
فاطمه صاحبی اعلاء - احمد حسن آبادی - ابوالقاسم گلپای

ژنتیک و اصلاح

- تجزیه و تحلیل پروفایل بیان ایزو فرم‌های ژن‌های مرتبط با باقیمانده خوراک مصرف شده در کبد مرغ بومی اصفهان و مرغ
سویه راس با استفاده از داده‌های RNA-Seq ۵۴۱
حمیدرضا ایزدینا - مجتبی طهمورث پور - محمدرضا بختیاریزاده - محمدرضا نصیری - سعید اسماعیل خاتیان
بررسی عملکرد الگوریتم هوشمند تجزیه مقدار تکین (SVD) در بازیابی ژنوتیپ‌های از دست‌رفته در سناریوهای مختلف از
تعداد نشانگر، اندازه جمعیت و فراوانی آلل نادر ۵۵۳
فرهاد غفوری کسبی - علی گوردز تله جردی

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران

Iranian Journal of Animal Science Research

جلد ۱۰

شماره ۴

سال ۱۳۹۷

Contents

Ruminant nutrition

- Effects of Weaning Age on Production and Economic Performance of Baluchi Ewe and Lamb 446
M. Jafari- R. Valizadeh- A. A. Naserian
Investigation the Effect of Different Drying Methods of *Q. persica* Oak Leaves and PEG
Supplementation on Concentration of Phenolic Component, Protozoa Population, and
Methane Production 461
Z. Gholami- F. fattahnia- H. Jahani-Azizabadi- G. Taasoli
Mehraban Sheep Response to Monensin Applied and Physical Form of Barley Grain- Emphasis on
Protein Metabolism 475
Sh. Najafi- M. M. Tabatabaei- Kh. Zaboli- A. A. Saki- A. Ahmadi
Determination of Antioxidant Properties, Nutritional Value and Rumen-Intestinal Digestion of *Pistacia
Atlantica* Leaf with Nylon Bags Method 487
F. Ganji- M. Bashtani- H. Farhangfar- S. E. Ghiasi

Poultry nutrition

- Effects of Physical Modification of Nanostructure Aluminosilicate on Growth Performance, Carcass
Traits and Blood Parameters of Broiler Chicken Challenged with Aflatoxin B₁ 499
H. Keyhani-Yazdi- S. J. Hosseini-Vashan- N. Afzali- M. Mojtahedi- A. Allahresani
Effect of *Urtica dioica* on Serum Parameters and Genes Expression of Nitric Oxide Synthase and
Endothelin-1 in Broiler Chickens Involved in Pulmonary Hypertension 511
B. Ahmadipour- F. Khajali
Effect of Enzyme Supplementation on AMEn, Dry Matter and Crude Protein Digestibility of Hull-Less
Barley in Broiler Chickens 522
H. Tiemouri- H. Zarghi- A. Golian
The Effect of Dietary Supplemental Methionine Source and Betaine Replacement on the Growth
Performance and Carcass Characteristics of Normal and Heat-Stressed Broiler Chickens 539
F. Sahebi Ala- A. Hassanabadi- A. Golian

Genetic and breeding

- Isoform Expression Profile Analysis of Residual Feed Intake for Isfahan Native and Ross Chickens
Using *RNA-Seq* Data 551
H. R. Izadnia- M. Tahmoorepur- M. R. Bakhtiarizadeh- M. R. Nassiri- S. Esmailkhanien
Studying the Performance of Intelligent Singular Value Decomposition Algorithm (SVD) in
Imputation of Missing Genotypes in Different Scenarios of Number of Marker, Population Size
and Minor Allele Frequency 560
F. Ghafouri-Kesbi- A. Goudarztaejardi

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 ۴ زمستان 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 گلپای	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 ۹۱۷۷۵-۱۱۶۳

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

- تغذیه نشخوار کنندگان
- ۴۳۵ اثر سن از شیرگیری بر عملکرد تولیدی و اقتصادی میش و بره بلوچی
مجید جعفری - رضا ولی زاده - عباسعلی ناصریان
- ۴۴۹ بررسی اثر روش های مختلف خشک کردن برگ بلوط گونه *Q. persica* و افزودن پلی اتیلن گلیکول بر غلظت ترکیبات فنولی، جمعیت پروتوزوآیی و تولید گاز متان
زینب غلامی - فرشید فتاح نیا - حسین جهانی عزیز آبادی - گلناز تاسلی
- ۴۶۳ پاسخ هضمی گوسفند مهربان به شکل فیزیکی دانه جو و استفاده از مونسین در جیره
شهرام نجفی - محمد مهدی طباطبایی - خلیل زابلی - علی اصغر ساکی - احمد احمدی
- ۴۷۷ تعیین خصوصیات آنتی اکسیدانی، ارزش غذایی و قابلیت هضم شکمبه ای - رو ده ای برگ بنه (*Pistacia atlantica*) به روش کیسه های نایلونی
فاطمه گنجی - مسلم باشتنی - همایون فرهنگ فر - سیداحسان غیاثی
- تغذیه طیور
- ۴۸۹ اثرات جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی بر عملکرد، وزن نسبی اجزای لاشه و فراسنجه های بیوشیمیایی خونی جوجه گوشتی تحت چالش با آفلاتوکسین B₁
حسن کیهانی یزدی - سید جواد حسینی و اشان - نظر افضلی - محسن مجتهدی - علی اله رسانی
- ۵۰۱ تاثیر گیاه گزنه (*Urtica dioica*) بر پارامترهای سرم و بیان ژنهای نیتریک اکسید سنتتاز و اندوتلین ۱ در جوجه های گوشتی درگیر با فشار خون ربوی
بهنام احمدی پور - فربرز خواجعلی
- ۵۱۳ تأثیر مکمل آنزیمی بر انرژی قابل سوخت وساز، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جو بدون پوشینه در جوجه های گوشتی
حمید تیموری - حیدر زرقی - ابوالقاسم گلکان
- ۵۲۵ تأثیر سطوح و منابع متیونین و جایگزینی آن با بتائین بر عملکرد صفات لاشه جوجه های گوشتی در دو شرایط دمایی متداول و تنش گرمایی
فاطمه صاحبی اعلاء - احمد حسن آبادی - ابوالقاسم گلکان
- ژنتیک و اصلاح
- ۵۴۱ تجزیه و تحلیل پروفایل بیان ایزو فرم های ژن های مرتبط با باقیمانده خوراک مصر ف شده در کبد مرغ بومی اصفهان و مرغ سویه راس با استفاده از داده های RNA-Seq
حمیدرضا ایزدینا - مجتبی طهمورث پور - محمدرضا بختیاری زاده - محمدرضا نصیری - سعید اسماعیل خانیان
- ۵۵۳ بررسی عملکرد الگوریتم هوشمند تجزیه مقدار تکین (SVD) در بازیابی ژنوتیپ های از دست رفته در سناریوهای مختلف از تعداد نشانگر، اندازه جمعیت و فراوانی آلل نادر
فرهاد غفوری کسبی - علی گودرز تله جردی

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)

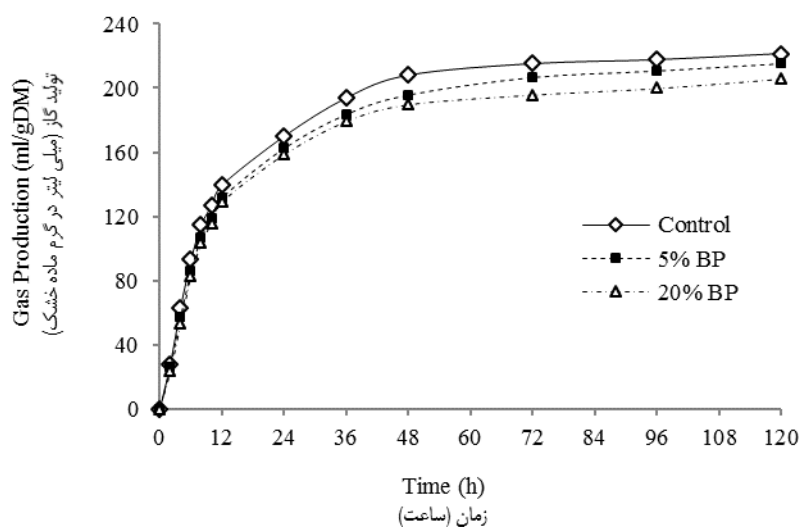
✓ **از اعداد انگلیسی در محورهای افقی و عمودی در شکل ها استفاده شود. توجه: در مورد شکل، از الگوهای سیاه و سفید استفاده**

شود و رنگ زمینه در کلیه شکلها بایستی سفید باشد.

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

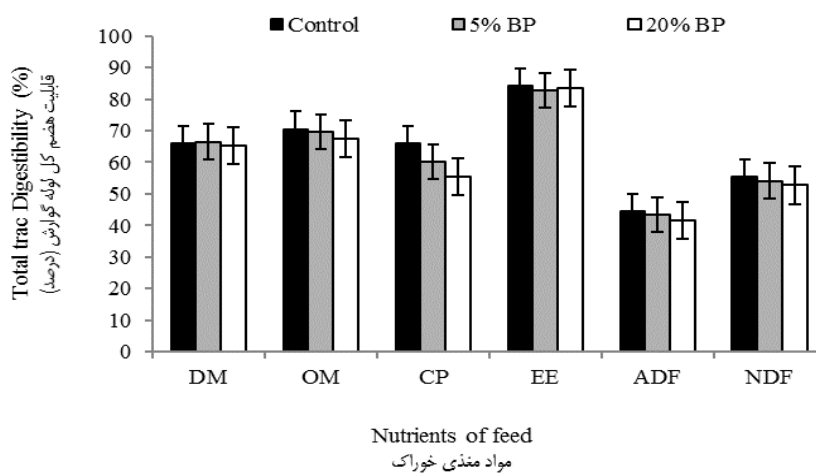
✓ **از آوردن کادر دور شکل و خطوط طولی در شکل خودداری شود.**

✓ **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.



اثر سن از شیرگیری بر عملکرد تولیدی و اقتصادی میش و بره بلوچی

مجید جعفری^۱ - رضا ولی زاده^{۲*} - عباسعلی ناصریان^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۱۸

چکیده

این آزمایش به منظور تعیین بهترین سن از شیرگیری بره برای افزایش بازده تولیدی و اقتصادی میش‌ها و بره‌های بلوچی انجام شد. تعداد ۳۰ راس میش بلوچی تک‌قلوزا و شکم دوم زایش با میانگین وزن 47 ± 0.5 کیلوگرم و ۳۰ راس بره آنها (۱۵ راس نر و ۱۵ راس ماده) با میانگین وزن $4/5 \pm 0.05$ کیلوگرم به‌طور تصادفی به ۳ گروه ۱۰ راسی شامل ۵ راس بره نر و ۵ راس بره ماده تقسیم شدند. بره‌ها در سه سن ۴، ۸ و ۱۲ هفتگی بعد از زایش به روش ناگهانی از شیر گرفته و میش‌ها نیز خشک شدند. میزان افزایش وزن روزانه، وزن، ماده خشک مصرفی روزانه، فراسنجه‌های خونی بره‌ها در هفته دوازدهم بعد زایش، وزن و ماده خشک مصرفی روزانه میش‌ها در زمان از شیرگیری و نسبت اقتصادی سود به هزینه در هر تیمار با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS در قالب طرح کاملاً تصادفی بررسی شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده، زود از شیرگیری بره‌ها در سن ۴ هفتگی موجب بهبود معنی‌دار در افزایش وزن روزانه، وزن، مقدار ماده خشک مصرفی روزانه در میش‌ها و بره‌ها و کاهش مصرف شیر توسط بره‌ها شد. سطح آنزیم ALP و هورمون IGF-1 سرم خون بره‌های از شیرگرفته شده در ۴ هفتگی در مقایسه با دو گروه دیگر بالاتر بود. نسبت اقتصادی سود به هزینه نیز نشان داد از شیرگیری در ۴ هفتگی می‌تواند موجب افزایش معنی‌دار سود دامدار در مقایسه با دو روش دیگر شود.

واژه‌های کلیدی: افزایش وزن روزانه، سن از شیرگیری، فراسنجه‌های خونی، نسبت سود به هزینه

مقدمه

بوده ولی با توجه به وضعیت نامناسب مراتع کشور، این دام‌ها نمی‌توانند به حداکثر رشد خود برسند (۱۶).

مدت شیرخوارگی بره یکی از عوامل موثر در روند رشد آن است. این مدت تحت تاثیر عوامل متعددی از جمله فصل زایمان، میزان شیر میش، میزان دسترسی میش و بره به علوفه مرغوب، نژاد و همچنین سیستم پرورش بره و میش قرار دارد (۱۳). در ایران، دامداران روستایی و عشایری معمولاً بره را زمانی از شیر می‌گیرند که مراتع در وضعیت مطلوبی باشد. کاهش مدت زمان شیرخوارگی بره می‌تواند با نتایج مطلوبی از جمله فروش شیر مازاد میش و کمک به اقتصاد خانوار دامدار، وارد نمودن بره‌های زود از شیرگرفته به سیستم پروار و پرورش آن‌ها در شرایط کاملاً کنترل شده از نظر تغذیه، مدت پروار، وزن مطلوب کشتار و زمان مناسب برای عرضه به بازار مصرف همراه باشد (۱۶).

بولاند و همکاران (۴) در آزمایشات خود بره‌ها را در سن ۲ ماهگی از میش‌ها جدا نموده و وارد سیستم پروار کردند. این کار موجب افزایش وزن کشتار بره‌ها شد و از نظر تعادل دام در مرتع نیز موجب کاهش تراکم دام در فصل بهار بر مراتع موجود گردید. در این شرایط میش‌ها نیز مدت زمان بیشتری برای جبران کاهش وزن داشته و شیر بیشتری تولید کردند.

گوسفند در ایران هنوز منبع اصلی گوشت قرمز است ولی مقدار تولید آن نتوانسته نیاز مصرف‌کننده داخلی را تأمین کند. تعداد گوسفند در ایران ۴/۰۸۶ درصد تعداد گوسفندان دنیا می‌باشد ولی مقدار گوشت تولیدی گوسفند در کشور تنها ۲/۲۸۵ درصد مقدار تولید جهانی آن است (۲۰). لذا ضرورت دارد روش‌های نوین پرورش گوسفند و راهکارهای افزایش تولید شیر و گوشت مورد توجه قرار گیرند. از سوی دیگر پرورش گوسفند در ایران بیشتر بر مبنای حداکثر استفاده از مراتع طبیعی است و به دلیل عدم مدیریت صحیح دام و مرتع، مراتع موجود شدیداً تخریب شده‌اند (۲۸). یکی از روش‌های کاهش تراکم دام در مراتع، زود از شیر گرفتن بره‌ها است. این عمل علاوه بر کاهش تعداد دام در مرتع در فصل بهار می‌تواند موجب بهبود رشد و حتی ضریب تبدیل و بازده غذایی دام‌های پرواری گردد (۲۴). پتانسیل افزایش وزن روزانه در بره‌های نر و ماده در سنین پایین، معمولاً بالاتر

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد

(Email: valizadeh@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.v10i4.64178

(*) نویسنده مسئول:

فحلی مجدداً تلقیح شدند. در طی این مدت آب، سنگ نمک و خوراک به صورت آزاد در اختیار میش‌ها قرار گرفت. هر روز ساعات ۷ و ۱۵ آخورها با خوراک پر و صبح روز بعد مقدار باقیمانده جمع‌آوری شد. خوراک میش‌ها حاوی ۶۵ درصد یونجه و ۳۵ درصد کنسانتره بود (۲۲). میش‌های گروه دوم در سن ۸ هفتهگی مشابه گروه قبل خشک و همانند گروه اول نگهداری شدند. میش‌های گروه سوم نیز در سن ۱۲ هفتهگی مشابه دو گروه قبل خشک و ۲ هفته بعد مشابه دو گروه دیگر تلقیح شدند.

فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده

وزن تولد هر یک از بره‌ها و وزن میش‌ها در زمان زایش به تفکیک ثبت و تا پایان دوره آزمایش هر هفته یکبار، هرکدام از میش‌ها و بره‌ها به صورت انفرادی قبل از خوراک‌دهی صبحگاهی، توزین شدند. در طول آزمایش هر دو هفته یکبار از علوفه، کنسانتره مصرفی و پس‌مانده‌های موجود نمونه‌گیری و میزان ماده خشک و مواد مغذی آنها تعیین شد (جداول ۱ و ۲).

در طول آزمایش، روزانه مقدار خوراک ریخته شده در ظروف خوراک اندازه‌گیری شد. ضمناً روزانه قبل از خوراک‌دهی صبح مقدار خوراک باقی مانده در ظروف غذا اندازه‌گیری گردید. مقدار ماده خشک مصرفی میش‌ها و بره‌ها از تفاوت خوراک عرضه شده منهای خوراک باقیمانده و ضرب آن در میزان ماده خشک خوراک محاسبه گردید. میانگین افزایش وزن روزانه (ADG^1) برای هر بره و میش تعیین شد. هر هفته یکبار میزان شیر مصرفی هر بره از روش توزین بره قبل و بعد شیر خوردن تعیین گردید (۲۸).

در سنین ۴، ۸ و ۱۲ هفتهگی ۴ ساعت بعد از تغذیه صبحگاهی از تمام بره‌ها ۱۰ سی سی نمونه خون از سیاهرگ و داج اخذ شد. نمونه‌های خون در ۳۰۰۰ دور برای مدت ۱۵ دقیقه به منظور جداسازی سرم سانتریفیوژ شد (۱۱). غلظت گلوکز، آل‌بومین و گلوبولین، نیتروژن اوره‌ای (SUN^2)، کلسترول، تری‌گلیسیرید، آنزیم ALP^3 و هورمون $IGF-1^4$ در سرم توسط دستگاه آنالیز بیوشیمیایی خودکار (۲۳ و ۱۵) با استفاده از کیت‌های تجاری (شرکت آزمون پارس، تهران، ایران) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده تعیین شد. تجزیه اقتصادی عملکرد سن از شیرگیری و نسبت سود به هزینه با استفاده از داده‌ها و نتایج حاصله در طول دوره و براساس قیمت‌های بازار انجام شد. تغییرات وزن زنده بره‌ها و میش‌ها با استفاده از قیمت روز هر کیلوگرم دام زنده‌کش ارزش‌گذاری شد. قیمت خوراک مصرفی

وزن از شیرگیری بره اثر قابل توجهی بر رشد بعد از شیرگیری و یا رشد در طی دوره پروار دارد (۲۵). به لحاظ نظری، امکان از شیرگیری بره‌ها در سنین پایین‌تر با توجه به توانایی فیزیولوژیکی آنها و مدیریت پرورش و تغذیه وجود دارد (۱۸). با توجه به موارد ذکر شده، هدف از انجام این آزمایش تعیین سن مناسب از شیرگیری بره‌های نژاد بلوچی برای به‌دست آوردن بالاترین راندمان عملکرد تولیدی و اقتصادی میش‌ها و بره‌ها بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد آزمایش و مدیریت پرورش

این مطالعه در مرکز اصلاح نژاد دام شمال شرق ایران واقع در جنوب شرقی شهرستان مشهد در اراضی عباس‌آباد در محدوده زمانی زمستان ۱۳۹۴ تا بهار سال بعد انجام شد. تعداد ۳۰ رأس میش بلوچی تک‌قلوزا و شکم دوم زایش با میانگین وزن در زمان زایش 47 ± 0.5 کیلوگرم و ۳۰ رأس بره آنها (شامل ۱۵ رأس نر و ۱۵ رأس ماده با میانگین وزن تولد 4.5 ± 0.5 کیلوگرم) به‌طور تصادفی انتخاب شدند. بره‌های تازه متولد شده همراه با مادر تا ۳ روز اول زندگی در زایشگاه نگهداری شدند تا امکان مصرف آغوز کافی را داشته باشند. سپس بره‌ها به ۳ گروه ۱۰ تایی (هر گروه شامل ۵ راس بره نر و ۵ راس بره ماده) به‌صورت کاملاً تصادفی تقسیم و در جایگاه‌های انفرادی (مساحت به ازای هر بره ۰/۵ متر مربع) نگهداری شدند. بره‌ها به صورت آزادانه به آب تازه، سنگ نمک و خوراک دسترسی داشتند. به منظور اطمینان از دسترسی دائمی بره‌ها به غذا، هر روز ظرف‌های خوراک در ساعات ۷ و ۱۵ پر شد. غذا به صورت آزاد در اختیار آنها بود و به صورت روزانه با توجه به غذای مانده و مصرف خوراک روز قبل تصحیح گردید. جیره‌های آزمایشی بر اساس جداول استاندارد غذایی تنظیم شدند (۲۲).

گروه اول بره‌ها تا ۴ هفتهگی، در ساعات ۹ و ۱۷، هر نوبت به مدت ۲ ساعت از شیر مادر تغذیه کرده و در طی ساعات دیگر به خوراک دسترسی آزاد داشتند. این گروه از بره‌ها در سن ۴ هفتهگی به روش ناگهانی (۲۸) از شیر گرفته شده و تا سن ۱۲ هفتهگی با خوراک شامل ۱۰ درصد برگ یونجه و ۹۰ درصد کنسانتره تغذیه شدند (۲۲). گروه دوم بره‌ها تا سن ۸ هفتهگی مشابه بره‌های گروه اول شیر خورده و نگهداری شدند. سپس در سن ۸ هفتهگی به روش ناگهانی از شیر گرفته و تا سن ۱۲ هفتهگی با خوراک فوق تغذیه شدند. گروه سوم بره‌ها نیز تا سن ۱۲ هفتهگی با شیر مادر تغذیه و دسترسی آزاد به خوراک فوق داشته و در این سن به روش ناگهانی از شیر گرفته شدند.

میش‌های گروه اول از روز سوم بعد از زایش به باکس‌های انفرادی با ابعاد ۲/۵ در ۱/۵ متر منتقل و در سن ۴ هفتهگی بعد زایش به روش ناگهانی خشک و ۲ هفته بعد با استفاده از روش همزمانی

1- Average daily gain

2- Serum urea nitrogen

3- Alkaline phosphatase

4- Insulin-like growth factor-1

براساس قیمت اجزای تشکیل دهنده تعیین شد. معیار محاسبه درآمد، ارزش ریالی میزان افزایش وزن بره‌ها (در طول ۱۲ هفته) و افزایش وزن میش‌ها (از زمان شیرگیری تا زمان جفت‌گیری که دو هفته بعد از شیرگیری بود) و هزینه‌ها بر اساس مقدار ریالی هزینه‌های شیر مصرفی بره‌ها، خوراک مصرفی و هزینه کارگری به ازای هر راس

جدول ۱- ترکیب شیمیایی و نسبت جیره‌های آزمایشی

Table 1- Chemical composition of experimental diets and their component

دام Animal	خوراک Feed	درصد ماده خشک %DM	انرژی متابولیسمی (مگا کالری در کیلوگرم) ME (Mcal/kg)	فیبر نامحلول در شوینده خنثی (درصد) %NDF	خاکستر %Ash	پروتئین خام (درصد) %CP	فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (درصد) %ADF	کلسیم (درصد) %Ca	فسفر (درصد) %P
میش Ewe	کنسانتره	88.81	2.35	25.63	4.13	16.20	11.10	0.60	0.24
	جیره	89.60	1.99	35.88	7.94	15.84	24.36	0.78	0.39
بره Lamb	کنسانتره	88.23	3.17	12.62	3.67	19.58	6.11	0.55	0.29
	جیره	88.40	2.98	15.49	4.30	17.79	8.65	0.59	0.31

جدول ۲- مواد خوراکی بخش کنسانتره جیره‌های آزمایشی

Table 2- The constitutive feeds of experimental concentrate

اجزا Components	بره Lamb	میش Ewe
ذرت Corn	%40	%15
جو Barley	%25	%40
کنجاله سویا Soybean meal	%28	%5
کنجاله تخم پنبه Cotton seed meal	-	%10
سبوس Bran	%3	%15
پودر ماهی Fish powder	-	%2
تفاله چغندر قند Sugar beet pulp	-	%11
ملاس Molasses	%3	-
آهک Lime	%0.5	%1
مکمل معدنی Mineral supplements	%0.25	%0.5
مکمل ویتامینی Vitamin supplements	%0.25	%0.5

مکمل معدنی شامل عناصر معدنی منیزیم، روی، آهن، مس، کبالت، ید و سلنیوم و مکمل ویتامینی شامل ویتامین‌های A، E و D₃

بود.

تجزیه و تحلیل آماری

در این مدل، Y_{ij} متغیر وابسته، μ میانگین جمعیت، A_i سن از شیرگیری و e_{ij} خطای تصادفی می باشد. مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن در سطح معنی داری ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج و بحث

عملکرد رشد بره ها

اثرات سن از شیرگیری بر عملکرد رشد بره ها در پایان هفته دوازدهم در جدول ۳ نشان داده شده است.

داده های به دست آمده شامل میزان افزایش وزن روزانه، وزن فراسنجه های خونی بره ها، میزان مصرف خوراک و شیر در هفته دوازدهم آزمایش، وزن و ماده خشک مصرفی روزانه میش ها در زمان از شیرگیری و نسبت سود به هزینه هر روش با رویه GLM نرم افزار SAS ویرایش ۹/۱ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و با در نظر گرفتن وزن اولیه به عنوان متغیر کمکی تجزیه و تحلیل شد (۲۱). مدل آماری به صورت زیر بود:

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

جدول ۳- اثر سن از شیرگیری بر عملکرد تولیدی بره های بلوچی

Table 3- Effect of weaning age on production performance of Baluchi lambs

متغیر Parameter	سن از شیرگیری Age of weaning			p-value
	۴ هفته 4 weeks	۸ هفته 8 weeks	۱۲ هفته 12 weeks	
میانگین افزایش وزن روزانه ADG ¹ (g/d)	224.20±2.039 ^a	181.55±1.960 ^b	121.34±1.920 ^c	<0.0001
وزن Weight (kg)	16.84±0.051 ^a	15.99±0.047 ^b	14.86±0.048 ^c	<0.0001
ماده خشک مصرفی Dry matter intake (g/head/d)	1170.01±16.520 ^a	1018.55±15.880 ^b	283.21±15.570 ^c	<0.0001

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 ($P < 0.05$).

سن از شیرگیری: ۴، ۸ و ۱۲ هفته، پس از زایش هر گروه از بره ها به روش ناگهانی از شیر گرفته شدند.

Weaning Age: 4, 8 and 12 weeks, after lambing lambs were weaned suddenly.

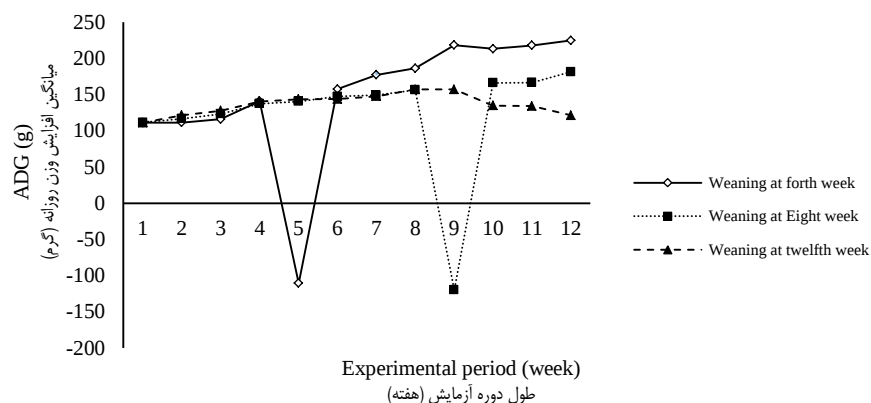
¹Average daily gain

هفتگی وزن معنی دار بوده و وزن در هفته دوازدهم برای بره های از شیر گرفته شده در هفته چهارم در مقایسه با دو گروه دیگر به طور معنی داری بالاتر بود.

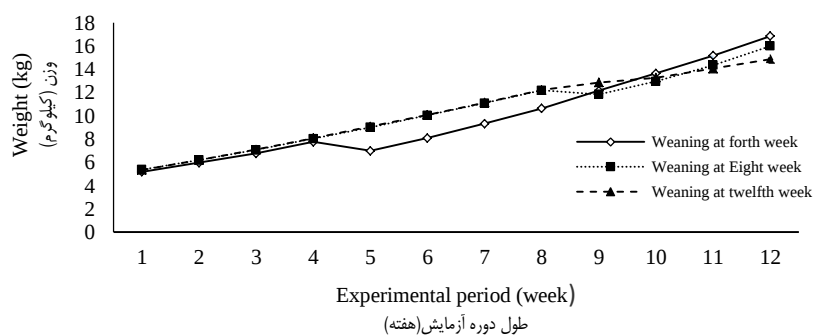
بررسی اثر سن از شیرگیری بر مقدار خوراک روزانه مصرفی بره ها در انتهای هفته دوازدهم اختلافات معنی داری را نشان داد. این مقدار در بره های از شیر گرفته شده در هفته چهارم به دلیل مصرف زودتر خوراک در مقایسه با دو گروه دیگر بالاتر بود. تغییرات مصرف خوراک روزانه بره ها در شکل ۳ نشان می دهد که با از شیرگیری بره ها در هفته های چهارم و هشتم، متعاقب از شیرگیری، مقدار مصرف خوراک روند افزایشی یافته ولی شیب نمودار در این دو روش به تدریج کاهش یافته است. در بره های از شیر گرفته شده در هفته دوازدهم نیز به تدریج میزان مصرف خوراک افزایش یافته ولی در مجموع میزان مصرف در گروه سوم به شکل معنی داری کمتر از دو گروه دیگر بود.

اثر سن از شیرگیری بر افزایش وزن روزانه بره ها در انتهای هفته دوازدهم معنی دار بود ($P < 0.05$). این مقدار برای بره های از شیر گرفته شده در هفته چهارم برابر 224.20 ± 2.039 بود که در مقایسه با دو گروه دیگر بره ها بالاتر و دارای اختلاف معنی دار بود ($P < 0.05$). بررسی روند تغییرات میانگین افزایش وزن روزانه در شکل ۱ نشان داد که با از شیرگیری بره ها در هفته های چهارم و هشتم وزن روزانه بره ها کاهش داشت. در عین حال در هر دو سن پس از شیرگیری بره ها میانگین افزایش وزن روزانه روند افزایشی به خود گرفت ولی در بره های از شیر گرفته شده در هفته دوازدهم از ۹ هفتهگی به بعد روند کاهشی مشاهده شد.

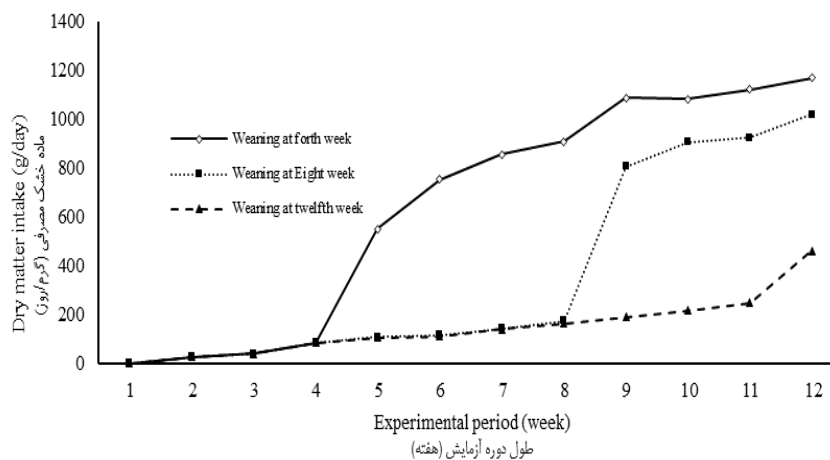
اثر سن از شیرگیری بر تغییرات هفتگی وزن نیز معنی دار بود. بررسی روند تغییرات هفتگی وزن در شکل ۲ نشان می دهد که در هر سه گروه وزن هفتگی روند افزایشی داشت. این روند در بره های از شیر گرفته در هفته های چهارم و هشتم در زمان از شیرگیری با کاهش روبه رو ولی در هفته های بعد روند مجدداً افزایشی می باشد. همچنین در انتهای هفته دوازدهم اثر سن از شیرگیری بر تغییرات



شکل ۱- اثر سن از شیرگیری بر میانگین افزایش وزن روزانه بره‌های بلوچی
Figure 1- Effect of weaning age on average daily gain of Baluchi lambs



شکل ۲- اثر سن از شیرگیری بر تغییرات وزن روزانه بره‌های بلوچی
Figure 2 - Effect of weaning age on weight changes of Baluchi lambs



شکل ۳- اثر سن از شیرگیری بر ماده خشک مصرفی روزانه بره‌های بلوچی
Figure 3 - Effect of weaning age on daily dry matter intake of Baluchi lambs

همچنین بررسی مقدار شیر روزانه مصرفی بره‌ها نشان داد از هفته نهم بعد از زایش بتدریج مقدار تولید شیر کاهش می‌یابد. آزمایشات زیادی در این خصوص انجام شده از جمله در برخی گزارش‌ها سن از شیرگیری بره‌ها را ۱۷ روزگی و برخی دیگر ۳۰ روزگی گزارش نموده‌اند (۲۶). در آزمایش دیگری، سن از شیرگیری بره‌های آواسی ۳۵ روزگی گزارش شده است (۱۰). به‌طور کلی، اکثر محققین سن از شیرگیری بره را بین ۶ تا ۸ هفتگی گزارش نموده‌اند (۵).

در مطالعات لمبرتز و همکاران (۱۹) و اکیز و همکاران (۹)، تا مدتی بعد از شیرگیری، نرخ رشد دام‌های زود از شیر گرفته شده در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت و حتی منفی شد که می‌تواند به دلیل استرس، تغییر جیره و یا نیاز به سازگاری با رژیم‌های غذایی و مدیریتی باشد، در هر حال به تدریج با گذشت زمان افزایش وزن در بره‌ها مشاهده شد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

امسان و همکاران (۱۰) گزارش کردند بره‌های از شیر گرفته شده در سنین کم وزن زنده کمتری در سن ۱۵ روزگی نسبت به گروه شاهد داشتند. همچنین این بره‌ها پس از تطابق با جیره جدید نرخ رشد بسیار سریع‌تری نسبت به گروه شاهد دارند که این نتایج با نتایج پژوهش انجام شده مطابق است.

ژانگ و همکاران (۳۰) در مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که بره‌های زود از شیر گرفته شده در سن ۳۰ روزگی وزن زنده بیشتری در مقایسه با گروه شاهد داشتند. تصور می‌شود سن کمتر برای از شیرگیری بره، استرس فیزیولوژیکی (ناشی از جدا شدن از مادر) کمتری در بره ایجاد (۲۵) و لذا توانایی مصرف خوراک توسط بره‌ها بیشتر خواهد بود (۱).

قربانی و همکاران (۱۴) گزارش کردند زود از شیرگیری و تغذیه با خوراک جامد موجب توسعه بهتر شکمبه و در نتیجه بهبود و افزایش میزان مصرف خوراک می‌شود. این امر در تحقیقات آلوارز-رودریگز و همکاران (۱) نیز ثابت شده است. بنابراین سن کمتر از شیرگیری می‌تواند با تحریک شکمبه بره و توسعه سریع‌تر آن موجب افزایش مصرف خوراک و نرخ رشد بره شود (۱۷) که با نتایج مطالعه حاضر مطابق است.

در آزمایشات انجام شده توسط چای و همکاران (۵) در گروه تیمار با گذشت زمان میزان شیر مصرفی کم شده و میزان مصرف خوراک نیز در مقایسه با گروه‌های تیمار کمتر شد بنابراین میزان افزایش وزن روزانه نیز کمتر بود که با نتایج این پژوهش مطابق است. در یک مطالعه مشابه دنسو و همکاران (۸) گزارش کردند تغذیه با مواد خوراکی جایگزین شیر نرخ رشد را بشدت افزایش خواهد داد ولی روی بهره‌وری مصرف خوراک اثری نخواهد داشت.

فراسنجه‌های سرم خون بره‌ها

بررسی فراسنجه‌های گلوکز، آلبومین، گلوبولین، ازت اوره‌ای، کلسترول و تری‌گلیسیرید در سرم خون بره‌ها در هفته دوازدهم آزمایش تغییرات معنی‌دار را نشان نداد. اما مقدار ALP و هورمون IGF-1 در سنین مختلف از شیرگیری تفاوت معنی‌دار را نشان داد. در جدول ۴ اثرات سن از شیرگیری بر این فراسنجه‌ها در هفته دوازدهم آزمایش نشان داده شده است.

جدول ۴- اثر سن از شیرگیری بر فراسنجه‌های سرم خون بره‌های بلوچی

Table 4- Effect of weaning age on plasma metabolites of Baluchi lambs

متغیر Parameter	سن از شیرگیری Age of weaning			p-value
	۴ هفتگی 4 weeks	۸ هفتگی 8 weeks	۱۲ هفتگی 12 weeks	
آلکالین فسفاتاز ALP ¹ (IU/L)	83.91±0.527 ^a	72.99±0.507 ^b	65.24±0.497 ^c	<0.0001
فاکتور رشد شبه انسولینی IGF-1 ² (ng/ml)	96.33±0.941 ^a	78.26±0.904 ^b	54.34±0.887 ^c	<0.0001

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).

سن از شیرگیری: ۴، ۸ و ۱۲ هفتگی، پس از زایش هر گروه از بره‌ها به روش ناکهانی از شیر گرفته شدند.

Weaning Age: 4, 8 and 12 weeks, after lambing lambs were weaned suddenly.

¹Alkaline Phosphatase

² Insulin-like growth factor-1

بره‌ها مرتبط می‌باشد. در مطالعات انجام شده در بره‌های زود از شیر گرفته، میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) سرم به‌عنوان یک نشانگر اصلی برای میزان رشد استخوان‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد. از طرفی این فاکتور ارتباط مستقیمی با میزان افزایش وزن روزانه نیز دارد (۸). در مطالعه چای و همکاران (۵) میزان این فاکتور در بره‌های تیمار بالاتر از گروه شاهد بود و با میزان افزایش وزن روزانه ارتباط مستقیم داشت. در آزمایش انجام شده نیز میزان این آنزیم در بره‌های از شیرگرفته در ۴ هفتهگی بالاتر از سایر گروه‌ها بوده و با بالاتر بودن میانگین افزایش وزن روزانه و وزن نهایی این بره‌ها ارتباط مستقیم دارد.

عملکرد رشد میش‌ها

جدول ۵ اثرات سن از شیرگیری را بر عملکرد رشد میش‌ها در زمان از شیرگیری نشان می‌دهد. در زمان از شیرگیری وزن میش‌ها معنی‌دار بود ($P < 0.05$). از شیرگیری در ۴ هفتهگی موجب وزن بالاتر میش در مقایسه با دو سن دیگر شد. بررسی روند تغییرات وزن میش‌ها در شکل ۴ نشان می‌دهد که پس از زایش روند کاهشی در وزن میش‌ها دیده می‌شود و این روند در این آزمایش تا هفته نهم که اوج تولید شیر بود دیده شد. از این هفته به بعد بتدریج وزن میش‌ها افزایش یافت. ولی در میش‌های از شیر گرفته در ۴ و ۸ هفتهگی، از هفته بعد از شیرگیری روند افزایش وزن در میش‌ها دیده شد و در هفته دوازدهم وزن میش‌های از شیر گرفته شده در هفته چهارم از دو گروه دیگر به شکل معنی‌داری بالاتر بود ($P < 0.05$).

غلظت گلوکز سرم نشان‌دهنده نرخ استفاده دام از انرژی است. وقتی میزان گلوکز سرم کم شود یعنی دام با کمبود انرژی و یا اشکال در استفاده از انرژی خوراک روبه‌روست (۶). در مطالعه چای و همکاران (۵) در میزان گلوکز تفاوت معنی‌دار دیده نشد. آلبومین و گلوبولین ترکیبات جامد اصلی موجود در سرم و یک شاخص برای وضعیت تغذیه و سلامت دام هستند. در مطالعه چای و همکاران (۵) میزان آلبومین و گلوبولین سرم تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. نیتروژن آورده‌ای سرم منعکس‌کننده متابولیسم پروتئین در بدن بوده و غلظت آن تابع منابع نیتروژن خوراک و میزان مصرف پروتئین می‌باشد (۶). در مطالعه چای و همکاران (۵) میزان این فاکتور در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌دار نداشت که نشان می‌دهد میزان استفاده از نیتروژن تحت تاثیر سن از شیرگیری قرار نمی‌گیرد. همچنین غلظت چربی سرم اغلب با میزان سوخت و ساز چربی در بدن مرتبط است. در مطالعه آنها و همچنین مطالعه اری و همکاران (۱۱) غلظت کلسترول و تری گلیسیرید سرم خون بین تیمارها تفاوت نداشت. همگی نتایج مطالعات ذکر شده فوق با نتایج مطالعه حاضر مطابق بود.

فاکتور شبه انسولین موثر در رشد (IGF-I) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین فاکتورها در رشد بره شناخته می‌شود. در آزمایشات چای و همکاران (۵)، میزان این فاکتور در بره‌های تیمار افزایش داشت. از طرفی هافمن و همکاران (۱۵) گزارش کردند در بره‌های با تغذیه نامناسب میزان رشد کاهش یافت که همزمان با کاهش معنی‌دار میزان گردش IGF-I در خون خواهد بود. در این آزمایش نیز میزان این فاکتور در بره‌های از شیرگرفته در ۴ هفتهگی به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه‌های دیگر بود که با بالاتر بودن وزن نهایی این گروه از

جدول ۵- اثر سن از شیرگیری بر عملکرد تولیدی میش‌های بلوچی

Table 5- Effect of weaning age on production performance of Baluchi ewes

متغیر Parameter	سن از شیرگیری Age of weaning			p-value
	۴ هفتهگی 4 weeks	۸ هفتهگی 8 weeks	۱۲ هفتهگی 12 weeks	
وزن Weight (kg)	43.45±0.108 ^a	41.07±0.107 ^b	39.30±0.107 ^c	<0.0001
ماده خشک مصرفی Dry matter intake (g/head/d)	1583.66±5.903 ^a	1491.64±5.865 ^b	1430.32±5.851 ^c	<0.0001

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

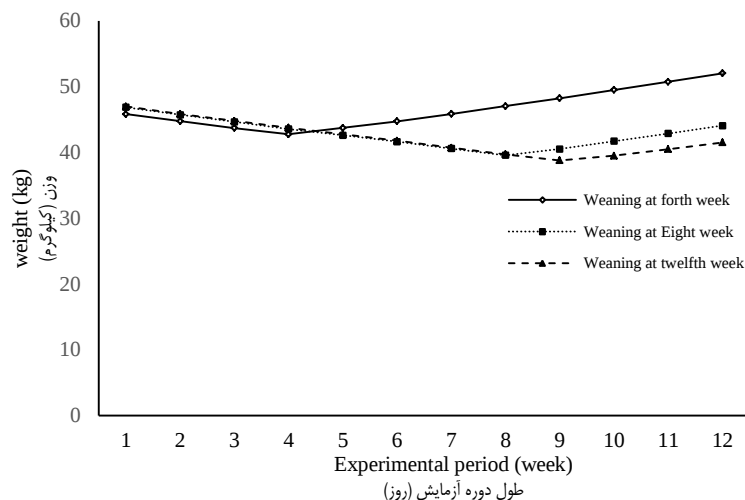
Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

سن از شیرگیری: ۴، ۸ و ۱۲ هفتهگی، پس از زایش هر گروه از بره‌ها به روش ناگهانی از شیر گرفته شدند.

Weaning Age: 4, 8 and 12 weeks, after lambing lambs were weaned suddenly.

¹Average daily gain

²Feed conversion ratio



شکل ۴ - اثرات سن از شیرگیری بر تغییرات وزن روزانه میش‌های بلوچی
Figure 4 - Effect of weaning age on weight changes of Baluchi ewes

ارائه برنامه‌های مدیریتی برای افزایش راندمان تولیدی و تولیدمثلی میش باشد.

برابر تحقیقات کورنر-توماس و همکاران (۷)، به دلیل کیفیت پایین مراتع و عدم رشد کافی گیاهان مرتعی، در ماه‌های خرداد تا تیر، احتمال کمی وجود دارد که میش به وزن زنده مناسب در اوایل تابستان که زمان جفت‌گیری‌ها می‌باشد، برسد. از آنجا که وزن بالاتر میش در زمان جفت‌گیری منجر به بهبود نرخ تخمک‌گذاری و درصد تولد بره می‌شود، زود از شیرگیری می‌تواند منجر به وزن بالاتر و لذا بهبود پارامترهای تولیدمثلی گردد. از سوی دیگر در مناطق با تابستان خشک و منابع علوفه‌ای محدود نیز زود از شیرگرفتن بره منجر به وزن بالاتر در زمان جفت‌گیری و عملکرد تولیدمثلی بهتر میش‌ها نسبت به میش‌هایی که بره‌هایشان در سن ۱۲ هفتگی از شیر گرفته شده‌اند، می‌گردد. آزمایش انجام شده منجر به ۰/۴ تا ۲/۲ کیلوگرم تفاوت در وزن زنده بدن شد. در آزمایش حاضر نیز وزن میش‌ها در زمان جفت‌گیری در گروه زود از شیرگرفته به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروه‌ها بوده و انتظار می‌رود پارامترهای تولیدمثلی در این گروه بالاتر از سایر گروه‌ها باشد.

اسمیتون و همکاران (۲۶) در مطالعات خود دریافتند هزینه‌های مازاد روش زود از شیرگیری بره‌ها، با کاهش میزان ماده خشک مصرفی میش‌ها در مرحله بعد از جفت‌گیری تا انتهای ماه سوم آبستنی، جبران می‌شود. از سوی دیگر میش‌ها بعد از ۴ تا ۶ هفته شیردهی، در زمان جفت‌گیری دارای ۲ کیلوگرم افزایش وزن زنده بیشتر نسبت به میش‌هایی هستند که مدت زمان بیشتری شیر تولید کرده‌اند. توابع وزن زنده / نرخ تخمک‌گذاری نیز نشان داد این ۲

مطالعه اثرات سن از شیرگیری بر مقدار ماده خشک روزانه مصرفی میش‌ها در طول آزمایش نشان داد اثر سن از شیرگیری بر مقدار خوراک روزانه مصرفی میش‌ها معنی‌دار ($P < 0.05$) و مقدار ماده خشک مصرفی روزانه در گروه از شیرگیری شده در ۴ هفتگی از دو گروه دیگر بالاتر بود.

بررسی‌ها نشان داد که وزن میش در گروه از شیرگیری شده در هفته چهارم بالاتر از سایر گروه‌ها بود. دلیل این امر آن است که با از شیرگیری زودتر، میش وزن کمتری را در حین شیردهی از دست داده است. سقط جنین، تلفات بره و بالا بودن درصد میش‌های قصر در گله‌ها از جمله عوامل موثر در پایین بودن بازده تولیدمثل است. بازده تولیدمثل نقش اساسی در تعیین بازده اقتصادی پرورش گوسفند داشته و بهبود بازده تولیدمثل گوسفند، به‌عنوان گامی مهم در جهت توسعه مدیریت پرورش این دام شناخته شده است. عموماً بازده تولیدمثل در سیستم‌های پرورش غیرمتمرکز گوسفند، به دلیل محدودیت خوراک، پایین بوده و بهبود بازده در چنین سیستم‌هایی نیازمند اصلاح سیستم مدیریت به منظور تأمین مواد غذایی در مراحل حساس چرخه تولید می‌باشد. این مراحل شامل دوره قبل از جفت‌گیری تا هنگام جفت‌گیری برای افزایش میزان تخمک‌ریزی، دوره جفت‌گیری و بلافاصله بعد از آن برای حداقل نمودن مرگ و میر جنین، اواخر دوره آبستنی برای جلوگیری از کاهش وزن تولد بره و اوایل دوره شیردهی برای بهبود سرعت رشد بره می‌باشند. طبق مطالعات اکثر محققین، اثر وزن زنده تأثیر زیادی بر بازده تولیدمثل گوسفند دارد و با زود از شیرگیری بره‌ها میزان کاهش وزن در زمان از شیرگیری و جفت‌گیری کمتر خواهد بود (۱۲). لذا نتایج تحقیق حاضر می‌تواند منجر به

جدول ۶ اثرات سن از شیرگیری را بر نسبت سود به هزینه در طول آزمایش نشان می‌دهد. اثر سن از شیرگیری بر نسبت سود به هزینه معنی‌دار و مقدار آن در شیرگیری در ۴ هفتگی به مراتب بیشتر از دو سن دیگر بود ($P<0.05$).

کیلوگرم مزیت در میش‌هایی که زود از شیر گرفته شده‌اند، به‌طور متوسط ۷ درصد نرخ تخمک‌گذاری بالاتری ایجاد می‌کند.

نسبت سود به هزینه

جدول ۶- اثر سن از شیرگیری بر نسبت سود به هزینه

Table 6- Effect of weaning age on benefit to cost ratio

متغیر Parameter	سن از شیرگیری Age of weaning			p-value
	۴ هفتگی 4 weeks	۸ هفتگی 8 weeks	۱۲ هفتگی 12 weeks	
نسبت سود به هزینه Benefit to cost ratio	0.592±0.005 ^a	0.355±0.005 ^b	0.310±0.005 ^c	<0.0001

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

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

سن از شیرگیری: ۴، ۸ و ۱۲ هفتگی، پس از زایش هر گروه از بره‌ها به روش ناگهانی از شیر گرفته شدند.

Weaning Age: 4, 8 and 12 weeks, after lambing lambs were weaned suddenly.

گزارش دادند درآمد حاصل از دام‌های زود از شیرگیری، بیشتر از دام‌هایی است که به روش سنتی از شیر گرفته شده‌اند. بر اساس مطالعات واترمن و همکاران (۲۹) درآمد خالص از شیرگیری به‌ازای هر راس دام بر اساس اندازه‌گیری داده‌های خوراک و عملکرد خواهد بود. این محققین در مطالعات خود به این نتیجه رسیدند وزن دام‌های زود از شیر گرفته در مقایسه با دام‌های گروه شاهد به مراتب بالاتر بود. این افزایش درآمد می‌تواند افزایش هزینه ناشی از مصرف خوراک در دام‌های زود از شیر گرفته را جبران کند. این موضوع در نتایج تحقیق حاضر نیز دیده شد.

تراویس و همکاران (۲۷) در طی چند سال متوالی برنامه زود از شیرگیری را در یک گله گاو اجرا نمودند. بر اساس نتایج حاصله در سال اول، درآمد خالص برای گوساله‌های زود از شیر گرفته در مقایسه با گروه شاهد کمتر بود که می‌تواند به دلیل کمتر بودن هزینه‌های خوراک گروه شاهد در مقایسه با گروه زود از شیرگیری شده باشد. البته در سال‌های بعد درآمد حاصله از گوساله‌های زود از شیر گرفته شده که با جیره تغذیه شدند، هزینه‌های اضافی ناشی از مصرف جیره را پوشش داد لذا در مجموع، زود از شیرگیری، بهره‌وری اقتصادی بالاتری را نسبت به روش‌های رایج از شیرگیری نشان می‌دهد.

در سال دوم، گروه زود از شیرگیری شده ۲ درصد افزایش درآمد خالص را در مقایسه با گروه شاهد نشان داد. بخشی از این افزایش درآمد، به دلیل افزایش در نرخ باروری است که اجازه می‌دهد تعداد گوساله بیشتری در سال بعد داشته باشد. در تحقیق حاضر افزایش درآمد در گروه زود از شیرگیری شده در ۴ هفتگی در سال اول نیز

در این آزمایش میانگین هزینه خوراک برای بره‌های از شیرگرفته در ۴ هفتگی به‌طور معنی‌داری بالاتر از دو گروه دیگر و در خصوص میش‌ها این نسبت بر عکس بود. از سوی دیگر میانگین هزینه شیر مصرفی بره‌ها در بین سه گروه دقیقاً بر عکس خوراک بوده و اختلافات بین گروه‌ها معنی‌دار بودند. هزینه کارگری نیز در گروه‌ها با توجه به متغیر بودن تعداد روزها دارای اختلاف معنی‌دار بود. میانگین هزینه کاهش وزن از زمان زایش تا زمان از شیرگیری در میش‌های از شیرگرفته در ۴ هفتگی به‌صورت معنی‌داری کمتر از دو گروه دیگر بود. میانگین درآمد ناشی از افزایش وزن بره‌ها در گروه از شیرگرفته در ۴ هفتگی به‌صورت معنی‌داری بالاتر از دو گروه دیگر بود. همچنین میزان درآمد ناشی از افزایش وزن میش‌ها از زمان شیرگیری تا زمان جفت‌گیری (۲ هفته بعد از شیرگیری) در میش‌های گروه ۴ هفته به‌صورت معنی‌داری بالاتر از دو گروه دیگر بود.

برابر تحقیقات انجام شده ثابت شده در تشکیل یک تابع ریاضی تشریح‌کننده فعالیت اقتصادی حیوانات اهلی، درآمدها (I) و هزینه‌ها (C) به سه روش می‌توانند ترکیب شوند: $Q=C/I$ ، $E=I/C$ و $P=I-C$ که معادله E و Q پایه و اساس مناسب‌تری برای برآورد ارزش اقتصادی دارد زیرا درآمدهای یک سیستم پرورش گوسفند می‌تواند به‌وسیله کاهش هزینه‌ها، افزایش مقدار محصول یا افزایش ارزش محصول یا هر دو افزایش یابد (۲۹). در این آزمایش از مدل E استفاده شد.

شبیه‌سازی مدل‌های اقتصادی نشان داده‌اند که زود از شیرگیری منجر به بیشترین درآمد ناخالص می‌شود (۱۴). بلانکو و همکاران (۳)

مشاهده شد.

همچنین بر اساس مطالعات برکر- نیف و همکاران (۲) زود از شیرگیری، احتیاجات غذایی مادران را کاهش و آنها را قادر می‌سازد تا وزن بدن خود را سریع‌تر بازیابی کنند. این موضوع در این تحقیق نیز مشاهده شد. این اضافه وزن مازاد با فاصله کمتر پس از زایش، ادغام و نرخ باروری را بهبود می‌دهد. بنابراین، بخشی از افزایش بالقوه سود ممکن است در اثر افزایش راندمان تولیدمثل رخ دهد.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این پژوهش از شیرگیری بره‌ها در چهار هفتگی می‌تواند علاوه بر بهبود صفات اقتصادی و تولیدی در بره‌ها باعث بهبود عملکرد تولیدی و تولید مثلی در میش‌ها شود. آماده شدن سریع‌تر میش برای آبستنی بعدی و در نتیجه کاهش فاصله دو زایش و امکان اجرای برنامه‌های نوین تولید مثلی از جمله این موارد است. از

منابع

سوی دیگر در سن یک ماهگی، ضریب تبدیل غذایی خوراک نسبت به شیر در بره‌ها کمتر است، لذا بهتر است بجای دادن خوراک به مادر برای تولید شیر، این خوراک مستقیماً به بره‌ها داده شود. بدین ترتیب ضمن استفاده کارآمدتر از خوراک، فشار متابولیکی کمتری به مادر وارد می‌شود و آمادگی وی را برای آبستنی بعدی افزایش می‌دهد. از سوی دیگر با اجرای این روش، بره‌ها زودتر وارد برنامه پروار شده و همراه مادر به چرا نرفته و فشار وارده بر مراتع نیز کمتر خواهد شد. همچنین با اجرای این برنامه می‌توان میش‌های حذفی گله را نیز سریع‌تر و قبل از آنکه به دلیل شیردهی طولانی وزن خود را از دست بدهند، پروار و روانه بازار کرد. علاوه بر این از نظر اقتصادی با بررسی نسبت سود به هزینه به‌عنوان یک شاخص ارزیابی اقتصادی می‌توان گفت زود از شیرگیری بره‌ها می‌تواند به اقتصاد دامدار کمک معنی‌داری کند.

1. Álvarez-Rodríguez, J., A. Sanz, R. Ripoll-Bosch, and M. Joy. 2010. Do alfalfa grazing and lactation length affect the digestive tract fill of light lambs? *Small Ruminant Research*, 94:109-116.
2. Barker-Neef, J. M., D. D. Buskirk, J. R. Black, M. E. Doumit, and S. R. Rust. 2001. Biological and economic performance of early-weaned Angus steers. *Journal of Animal Science*, 79:2762-2769.
3. Blanco, M., D. Villalba, G. Ripoll, H. Sauerwein, and I. Casasús. 2009. Effects of early weaning and breed on calf performance and carcass and meat quality in autumn-born bull calves. *Livestock Science*, 120:103-115.
4. Boland, H. T., G. Scaglia PAS., W. S. Swecker Jr, and N. C. Burke. 2008. Effects of alternate weaning age on behavior, blood metabolites, and performance of beef calves. *The Professional Animal Scientist*, 24:539-551.
5. Chai, J., Q. Diao, H. Wang, Y. Tu, X. Tao, and N. Zhang. 2015. Effects of weaning age on growth, nutrient digestibility and metabolism, and serum parameters in Hu lambs. *Animal Nutrition Journal*, 1(4):344-348.
6. Cieślak, M., N. Chmielewska, K. Romanowicz, J. Młynarczuk, and M. Wańkowska. 2015. Sex-dependent differences in the effect of early weaning on the chosen hormones secretion in sheep during the postnatal transition to puberty—Preliminary results. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 18(1):71-78.
7. Corner-Thomas, R. A., R. E. Hickson., S. T. Morris, and P. R. Kenyon. 2014. The influences of live weight and body condition score of ewe lambs from breeding to lambing on the live weight of their singleton lambs to weaning. *Small Ruminant Research*, 119:16-21.
8. Danso, A. S., P. Morel, P. R. Kenyon, and H. T. Blair. 2014. Effect of early life diet on lamb growth and organ development. Pages 205-208 in *Proc. New Zealand Society of Animal Production*, Napier.
9. Ekiz, B., E. Ekiz, H. Yalcintan, O. Kocak, and A. Yilmaz. 2012. Effects of suckling length (45, 75 and 120d) and rearing type on cortisol level, carcass and meat quality characteristics in Kivircik lambs. *Meat Science*, 92:53-61.
10. Emsen, E., M. Yaprak, O. C. Bilgin, B. Emsen, and H. W. Ockerman. 2004. Growth performance of Awassi lambs fed calf milk replacer. *Small Ruminant Research*, 53:99-102.
11. Eri, S., F. Samadi, and S. Hasani. 2014. Study of interrelationship between blood serum concentrations of estrogen, progesterone, urea nitrogen, glucose, cholesterol and triglyceride with some postpartum reproductive parameters in dairy cows. *Animal Science Researches*, 24(2): 73-82. (In Persian).
12. Esmaeili-Zadeh, A., S. R. Miraei-Ashtiani, and M. Akbari Gharaei. 2004. Effects of ewe live weight and body condition at mating on fertility and lambing season of Kurdy sheep in extensive production system. *Pajouhesh & Sazandegi*, 61:8-16. (In Persian).
13. Galvani D. B., C. C. Pires, C. H. Hübner, S. Carvalho, and T. P. Wommer. 2014. Growth performance and carcass traits of early-weaned lambs as affected by the nutritional regimen of lactating ewes. *Small Ruminant Research*, 120:1-5.
14. Ghorbani, G. R., R. Kowsar, M. Alikhani, and A. Nikkhah. 2007. Soymilk as a novel milk replacer to stimulate early calf starter intake and reduce weaning age and costs. *Journal of Dairy Science*, 90:5692-5697.

15. Hoffman, M. L., M. A. Rokosa, S. A. Zinn, T. A. Hoagland, and K. E. Govoni. 2014. Poor maternal nutrition during gestation in sheep reduces circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 in offspring. *Domestic Animal Endocrinology*, 49:39-48.
16. Karami, M. and M. Talebi. 2007. Effect of weaning period on carcass characteristics of Lori- Bakhtiari lambs. *Pajouhesh & Sazandegi*, 73:21-29. (In Persian).
17. Knightsa, M., I. Siewa, R. Ramgattiea, D. Singh-Knightsb, and G. Bournec. 2012. Effect of Period of weaning on the reproductive performance of Barbados Blackbelly ewes and lamb growth reared in the tropics. *Journal of Small Ruminant Research*, 103:205-210.
18. Lama, S., D. Grilli, V. Egea, M. Fucili, L. Allegratti, and J. C. Guevara. 2014. Rumen development and blood metabolites of Criollo kids under two different rearing systems. *Livestock Science*, 167:171-177.
19. Lambertz, C., P. R. Bowen, G. Erhardt, and M. Gauly. 2015. Effects of weaning beef cattle in two stages or by abrupt separation on nasal abrasions, behavior, and weight gain. *Animal Production Science*, 55(6):786-792.
20. Ministry of Agriculture Jihad. 2015. Database of livestock statistics.
21. Mohammadi, H., M. Moradi Shahrabak, and H. Moradi Shahrabak. 2013. Estimation of (co)variance component and genetic parameters for total weight of lamb weaned per ewe joined in Zandi sheep. *Journal of Livestock Research*, 1(1):49-58. (In Persian).
22. NRC. 1985. Nutrient Requirement of Sheep. National Academy Press Washington, D. C.
23. Paez Lama. S., D. Grilli, V. Egea, M. Fucili, L. Allegratti, J. C. Guevara. 2014. Rumen development and blood metabolites of Criollo kids under two different rearing systems. *Livestock Science*, 167:171-177.
24. Simeonov, M. 2013. Effect of different Ages of early weaning of lambs of dairy breeds and systems for feeding them. Ph.D Thesis. Institute of Forage Crops, Pleven., Bulgaria.
25. Simitzis, P., Petrou, M., Demiris, N., and Deligeorgis, S. 2012. Effect of pre-weaning temporary isolation within different age periods on the early post-weaning behavior of juvenile lambs. *Applied Animal Behavior Science*, 141:43-48.
26. Smeaton, D. C., R. M. W. Sumner, T. W. Knight, and T. K. Wadams. 2012. Effects of Period of weaning, pasture allowance, and shearing Period on ewe and lamb live weight, wool growth, and subsequent ovulation rate of the ewe. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 11:41-45.
27. Travis Mulliniks, J., R. C. Waterman, and T. W. Geary. 2013. Economics of early weaning in northern Great Plains beef cattle production system. *Journal of Agricultural Sciences*, 4(5):219-223.
28. Valizadeh, R. 2011. Sheep and Goat Production. Ferdowsi University of Mashhad press. (In Persian).
29. Waterman, R. C., T. W. Geary, J. A. Paterson, and R. J. Lipsey. 2012. Early weaning in the Northern Great Plains beef cattle production systems: I. Performance and reproductive response in range beef cows. *Livestock Science*, 148:26-36.
30. Zhong, R. Z., H. X. Sun, G. D. Li, H. W. Liu, and D. W. Zhou. 2014. Effects of inoculation with rumen fluid on nutrient digestibility, growth performance and rumen fermentation of early weaned lambs. *Livestock Science*, 162:154-158.



Effects of Weaning Age on Production and Economic Performance of Baluchi Ewe and Lamb

M. Jafari¹- R. Valizadeh^{2*}- A. A. Naserian²

Received: 04-05-2017

Accepted: 09-12-2017

Introduction: Early-weaning of lambs could led to improve the efficiency and profitability of Baluchi ewes and lambs in Iranian sheep husbandry. Early weaning of lambs can stimulate growth of gastrointestinal tract, minimize weaning stress and guarantee post-weaning health. However, results on weaning age of lambs vary widely because of the effects of available feeds, feeding management and genotype.

Iranian rural and nomadic herders are usually weaning their lambs when the pastures are in good condition. Reducing the duration of suckling lamb can be associated with optimal results, including sales of surplus milk of ewes and helping the herder household's economy and entering the early weaned lambs into the feedlot systems and breed the ewes in a well-controlled condition. The aim of this study was to determine the appropriate weaning age of Baluchi lambs to achieve the better production and economic performances as well as the higher ewe's reproductive efficiency.

Materials and Methods: Thirty monoparous Baluchi ewes in their second lambing with an average body weight of 47 ± 0.5 (Kg) and their lambs (15 males and 15 females with an average birth weight of 4.5 ± 0.05 Kg) were allocated to the experimental groups randomly. The lambs were left with their mothers for 3 days, in order to consume adequate colostrum and then were divided into 3 groups according to their gender (5 males and 5 females in each group) and kept in individual boxes. The experimental ewes were also kept separately in individual boxes. These lambs were allowed to be with their mothers twice a day for 2 hours. Lambs had free access to water and TMR ration including 10% Alfalfa leaves and 90% concentrate. Ewes also had free access to water and a TMR ration containing 65% alfalfa hay and 35% concentrate. The respective lambs were weaned at ages of 4, 8 and 12 weeks, abruptly and fed with the above noted TMR ration. The birth weight of each lamb and the weight of ewes were recorded at birth and until the end of the test weekly, each of the ewes and lambs were weighed individually before morning feeding. During the experiment, every two weeks, samples were taken from forage, consumed concentrate and existing residues, and their dry matter and nutrient content were determined. The average daily weight gain, weight fluctuations, dry matter intake, milk consumption and blood parameters at age of 12 weeks in lambs, weight fluctuations, dry matter intake at weaning time in ewes and benefit to cost ratio were measured. Data were analyzed with Proc GLM of SAS (9.1) software in completely randomized design.

Results and Discussion: Based on the results, early weaning of lambs at age of 4 weeks led to a significant ($P < 0.05$) improvement in average daily weight gain, body weight, dry matter intake, reduction in milk consumption at the end of week 12 by lambs, and improvement in body weight and dry matter intake at the weaning time by ewes. Also, the daily milk consumption of lambs showed that the production of milk decreased gradually from the ninth week after lambing. ALP enzyme levels and IGF-1 hormone in serum of lambs weaned at age of 4 weeks were higher in comparison with the other 2 groups. In this experiment, the average cost of feed for lambs weaned at age of 4 weeks was significantly higher than the other two groups, and in the ewes, this ratio was in contrast. On the other hand, the average cost of milk consumed by lambs in the three groups was completely reverse the feeds and the differences between groups were significant. The cost of labor was also significant in the groups due to the variability of the number of days. Average weight loss of ewes from lambing to weaning their lambs at age of 4 weeks was significantly lower than the other two groups. The average benefit from lamb weight gain in the group weaned at age of 4 weeks was significantly higher than the other two groups.

1- PhD Student of Ruminant Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

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

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

Also, the benefit from ewe weight gain from the weaning to mating (2 weeks after weaning) was significantly higher in the ewes weaned their lambs at age of 4 weeks than in the other two groups. The benefit to cost indicator showed weaning of lambs at age of 4 weeks could be a suitable and economical management practice in rural and nomadic situation in sheep industry.

Conclusion: The obtained results revealed that early weaning of lambs (at age of 4 weeks) may be regarded as a method of lambs and ewes' management in Iranian sheep husbandry. Preparing ewes for the next pregnancy and reducing the lambing interval are the noticeable results. The offered feeds can be used efficiently, and ewe's readiness for the next pregnancy increased by lowering metabolic stress. Furthermore, according to the benefit to cost ratio indicator, better economical outcome could be resulted.

Keywords: Age of weaning, Benefit to cost ratio, Blood parameters, Body weight, Early-weaning



بررسی اثر روش‌های مختلف خشک کردن برگ بلوط گونه *Q. persica* و افزودن پلی‌اتیلن گلیکول بر غلظت ترکیبات فنولی، جمعیت پروتوزوایی و تولید گاز متان

زینب غلامی^۱ - فرشید فتاح‌نیا^۲ - حسین جهانی عریز آبادی^{۳*} - گلناز تاسلی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۰۲

چکیده

هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر روش‌های مختلف خشک کردن برگ بلوط گونه *Q. persica* و افزودن پلی‌اتیلن گلیکول بر غلظت ترکیبات فنولی و اثر آن بر جمعیت پروتوزوا، کل گاز تولیدی و تولید گاز متان در شرایط آزمایشگاه بود. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و به صورت فاکتوریل دو×چهار با دوازده تکرار برای هر تیمار در دو دوره انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل روش‌های مختلف خشک کردن برگ بلوط (خشک کردن در آفتاب، در سایه، در آون و به روش انجماد) با و بدون پلی‌اتیلن گلیکول بودند. روش‌های مختلف خشک کردن بر غلظت کل ترکیبات فنولی، تانن متراکم و تانن قابل هیدرولیز اثر معنی‌داری داشت. اما روش خشک کردن بر محتوای کل تانن تاثیر معنی‌داری نداشت. در همه تیمارهای آزمایشی جمعیت پروتوزوا تحت تاثیر پلی‌اتیلن گلیکول افزایش معنی‌داری را نشان دادند. بیشترین و کمترین جمعیت پروتوزوا به ترتیب در تیمار خشک کردن با انجماد و آون مشاهده شد. با افزودن پلی‌اتیلن گلیکول تولید گاز افزایش غیر معنی‌داری نشان داد. در همه تیمارها (به جز برگ خشک شده در آفتاب و آون) با افزودن پلی‌اتیلن گلیکول تولید گاز متان به طور معنی‌داری افزایش یافت (۵۳/۶ درصد). بیشترین و کمترین درصد متان به ترتیب در تیمار خشک کردن با انجماد و آون (به ترتیب ۱۴ و ۸/۷ درصد کل گاز تولیدی) مشاهده شد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که خشک کردن با استفاده از آون غلظت کل ترکیبات فنولی و تانن قابل هیدرولیز برگ بلوط و تولید گاز متان ناشی از تخمیر میکروبی برگ را نسبت به سایر روش‌های خشک کردن به میزان بیشتری کاهش داد. بنابراین با توجه به یافته‌های این مطالعه به نظر می‌رسد خشک کردن برگ بلوط با آون روش مناسب‌تری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: برگ بلوط، پروتوزوا، ترکیبات فنولی، روش‌های خشک کردن، گاز متان

مقدمه

پرسیکا^۵ است (۲۳). در مناطقی از کشور که جنگل‌های بلوط سهم عظیمی در پوشش جنگلی آن مناطق دارند، برگ‌های درختان بلوط از منابع ارزان قیمت و قابل دسترس تأمین‌کننده بخش علوفه‌ای جیره دام‌های نشخوارکننده به حساب می‌آیند. در کنار این موضوع، طی دوره‌هایی از سال که کمبود کمی و کیفی علوفه مرغوب حس می‌گردد در حدود نیمی از بخش علوفه‌ای جیره توسط دامداران محلی با برگ بلوط جایگزین می‌شود (۲۳ و ۴۰). مشکل اصلی استفاده از برگ‌ها و میوه درختان بلوط وجود مواد ضد تغذیه‌ای از جمله تانن‌ها و اثر منفی آن بر عملکرد دام می‌باشد (۲۹). اثر تانن‌ها بر حیوان نشخوارکننده به نوع، مقدار تانن، ترکیب جیره و گونه حیوان بستگی دارد (۲۹). اثرات محدودکنندگی تانن‌ها را می‌توان به کاهش استفاده از مواد مغذی، به‌ویژه پروتئین، کاهش رشد و عملکرد، کاهش خوش‌خوراکی و مصرف خوراک و کاهش در فعالیت آنزیم‌های گوارشی ارتباط داد. در کنار اثرات ضد تغذیه‌ای تانن‌ها در غلظت زیاد، اثرات مثبت تانن‌های متراکم در غلظت بهینه شامل بهبود افزایش

شرایط آب و هوایی خشک و نیمه خشک، کاهش میزان بارندگی در سال‌های اخیر همراه با کاهش تولید علوفه به ازای هر رأس واحد دامی در کشور موجب شده تا تغذیه دام بخش قابل توجهی از هزینه‌های درگردش واحدهای دامپروری را به خود اختصاص دهد (۴۰). جنگل‌های زاگرس که تحت عنوان جنگل‌های نیمه خشک طبقه‌بندی می‌شوند، با ۵ میلیون هکتار وسعت، ۴۰ درصد از کل مساحت جنگل‌های ایران را به خود اختصاص می‌دهند. یکی از گونه‌های غالب درختان در این جنگل‌ها، بلوط کوورکوس

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشگاه ایلام

۲- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشگاه ایلام

۳- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشگاه کردستان

۴- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشگاه ایلام

(Email: ho.jahani@uok.ac.ir)

(*)- نویسنده مسئول

DOI: 10.22067/ijasr.v10i4.64596

حاوی ترکیبات فنولی باعث کاهش اثرات منفی تانن می‌شود، اما روش‌های سنتی در این زمینه خیلی کارآمد نبوده‌اند (۲۹ و ۳۳). با توجه به ویژگی‌های شیمیایی انواع ترکیبات فنولی و همچنین رفتار بیولوژیکی متغیر تانن‌ها پس از خشک شدن (۲)، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر روش‌های مختلف خشک کردن برگ درخت بلوط به‌عنوان منبع غنی از ترکیبات فنولی بر محتوای ترکیبات تاننی و تاثیر آن بر تخمیر شکمبه‌ای برگ بلوط، تولید گاز متان و جمعیت پروتوزوایی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

برگ درختان بلوط از منطقه جنگلی اطراف دانشگاه ایلام با مشخصات جغرافیایی (عرض جغرافیایی: ۳۳ درجه و ۶۶ دقیقه شرقی، طول جغرافیایی: ۴۶ درجه و ۳۸ درجه شمالی و ارتفاع: ۱۵۴۸ متر از سطح دریا) جمع‌آوری گردید. به‌طور تصادفی از ۱۰ اصله درخت بلوط گونه *Q. persic* و از تمام سرشاخه‌ها نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌های برداشت شده از همه درختان با هم مخلوط و با روش‌های اشاره شده در جدول ۱ خشک شدند. در بین روش‌های به‌کار رفته خشک کردن در آفتاب به‌عنوان روش معمول در نظر گرفته شده است.

وزن زنده، جلوگیری از نفخ، افزایش تولید شیر، افزایش نرخ تخمک‌ریزی و درصد بهره‌زایی، کاهش نماتودهای روده‌ای و کاهش تولید نیتروژن-آمونیاکی و متان در شکمبه می‌باشد (۲۹). به‌طور کلی افزودن پلی‌اتیلن‌گلیکول در جیره‌های حاوی سطوح زیاد تانن در نشخوارکنندگان، سودمند می‌باشد. امروزه گاز متان تولیدی بر حسب نوع جیره دام سبب هدر رفتن ۱۲-۲ درصد انرژی خام جیره مصرفی می‌شود (۱۷). در یک مقیاس جهانی، متان تولید شده توسط نشخوارکنندگان اهلی ۱۸ درصد از سهم کل تولید گازهای گلخانه‌ای را تشکیل می‌دهد (۳۹). کاهش متان منجر به افزایش تولید شیر و گوشت در نشخوارکنندگان می‌گردد (۲۹ و ۷). روش‌های مختلفی به منظور کاهش اثرات ضد تغذیه‌ای ترکیبات فنولی به‌کار گرفته شده است. از جمله می‌توان به استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول (۲۷) اشاره کرد. افزودن پلی‌اتیلن‌گلیکول در جیره‌های حاوی ۱۵-۵ درصد تانن متراکم سودمند به نظر می‌رسد اما در خوراک‌های با محتوای کم تانن (۴-۲ درصد) سبب کاهش رشد پشم، وزن، تولید شیر و تولیدمثل می‌شود که می‌تواند با کاهش جذب پروتئین در روده، تجزیه بیش‌تر پروتئین در شکمبه و یا کاهش بازدهی سنتز پروتئین میکروبی همراه باشد (۲۷). از طرفی افزودن پلی‌اتیلن گلیکول به‌عنوان روشی کارآمد در کاهش اثرات منفی ترکیبات فنولی، برخی از اثرات سودمند ترکیبات فنولی مانند کاهش تولید متان را نیز از بین می‌برد (۴۴). از طرفی گزارشات بسیاری نشان داده‌اند روش خشک کردن گیاهان

جدول ۱- دما، مدت زمان و روش‌های خشک کردن نمونه‌های برگ بلوط

Table 1- Time, temperature and methods of drying of oak leave

روش خشک کردن	میانگین دما	مدت خشک کردن
Method of drying	Temperature average	Time of drying
آفتاب	39°C	3 day
Sun-drying		
سایه	27°C	5 day
Dry-shade		
آون	55°C	2 day
Oven-drying		
انجماد	-89°C	24 hour
Freeze-drying		

فنول‌های قابل استخراج و ترکیبات فنولی باقی‌مانده پس از جذب تانن توسط پلی‌وینیل‌پیرولیدین به‌دست آمد. در نتیجه کل تانن‌های قابل استخراج از تفاوت ترکیبات فنولی، قبل و بعد از افزودن پلی‌وینیل‌پیرولیدین ارزیابی گردید. از اسید تانیک (Sigma alderich, 1401-55-4) به‌عنوان استاندارد برای تعیین مقدار کل ترکیبات فنولی و کل تانن‌های قابل استخراج استفاده

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی

کل ترکیبات فنولی نمونه‌های آزمایشی با استفاده از معرف فولین سیوکالتو^۱ تعیین شد. برای استخراج ترکیبات فنولی از محلول استون استفاده گردید. کل تانن‌های قابل استخراج از تفاوت بین کل

1- Folin Ciocalteu

تکرار هر دوره را ۲۴ ساعت پس از شروع کشت برداشته و ۵ میلی‌لیتر از مایع کشت به ۵ میلی‌لیتر از فرمالین ۵۰ درصد (فرمالدئید ۱۸/۵) مخلوط و تا زمان رنگ آمیزی و شمارش در یخچال نگهداری شد. در ادامه یک میلی‌لیتر از این مخلوط در یک لوله آزمایش ۱۶×۱۵۰ میلی‌متری ریخته شد سپس ۲ قطره رنگ سبز بریلینت به لوله اضافه گردید و به خوبی تکان داده شدند و به مدت یک شب در شرایط دمایی آزمایشگاه نگهداری شدند (ایوان و همکاران، ۲۰۰۱). سپس ۹ میلی‌لیتر گلیسرول ۳۰٪ به یک میلی‌لیتر مایع شکمبه رنگ‌آمیزی شده اضافه شد. بدین ترتیب نمونه حاصل نسبت به مایع شکمبه اصلی ۲۰ برابر رقیق گردید. شمارش با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۱۰ و برای تعیین جنس‌های مختلف طبق روش اگیموتو و ایمای (۳۵) از بزرگ‌نمایی ۴۰ با استفاده از لام نئوبار انجام شد. نتایج شمارش به صورت غلظت (تعداد در هر میلی‌لیتر از مایع شکمبه) گزارش شدند.

آنالیز آماری

تجزیه واریانس ترکیبات فنولی با استفاده از طرح کاملاً تصادفی و مدل آماری زیر انجام شد.

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

در این مدل، Y_{ij} = متغیر وابسته، μ = میانگین کل جامعه برای صفت مورد نظر، T_i = اثر تیمار (روش‌های خشک کردن)، e_{ij} = اثر خطای آزمایشی می‌باشند.

تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده از آزمون تولید گاز برای تولید کل گاز و گاز متان بر پایه طرح کاملاً تصادفی و در قالب آزمایش فاکتوریل ۲×۴ و با استفاده از مدل آماری زیر انجام گرفت.

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ij}$$

در این مدل، A_i = اثر فاکتور A (روش‌های خشک کردن)، B_j = اثر فاکتور B (پلی‌اتیلن گلیکول)، $(AB)_{ij}$ = اثر متقابل فاکتور A و B و e_{ij} = خطای آزمایشی بودند.

از داده‌های خام شمارش پروتوزوا لگاریتم گرفته شد و پس از آن مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ویرایش ۹/۱ (۲۰۰۱) و رویه مدل‌های خطی عمومی و مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی با استفاده از روش چند دامنه‌ای دانکن و در سطح آماری ۵ درصد تجزیه آماری شدند.

نتایج و بحث

تأثیر روش خشک کردن بر غلظت ترکیبات فنولی

نتایج حاصل از اثر روش‌های خشک کردن بر ترکیبات فنولی در جدول ۲ آورده شده است. اثر روش‌های خشک کردن بر کل ترکیبات فنولی معنی‌دار بود ($P < 0.01$)، که در آن بیش‌ترین مقدار مربوط به

گردید. میزان جذب نور هر یک از استانداردها و نمونه‌های حاصل از عصاره‌ی حاوی پلی‌وینیل‌پیرولیدین و یا فاقد پلی‌وینیل‌پیرولیدین در طول موج ۲۲۵ نانومتر اندازه‌گیری (۳ تکرار برای هر نمونه) و ثبت گردید (۲۸). میزان تانن متراکم طبق روش بوتانول-HCL و میزان تانن قابل هیدرولیز با استفاده از معرف رودانین و طبق روش ماکار (۲۸) به‌دست آمد.

آزمون تولید گاز

بافر مورد استفاده در این آزمایش بر اساس روش پیشنهاد شده توسط منک و استینگاس (۳۰) تهیه شد و روش کار براساس روش تئودور و همکاران (۵۱) انجام شد. برای تعیین فراسنجه‌های تولید گاز، مایع شکمبه از ۲ رأس قوچ کردی دارای فیستولای شکمبه‌ای و با متوسط وزن زنده 3 ± 60 کیلوگرم قبل از خوراک صبحگاهی جمع‌آوری و بلافاصله با پارچه متقال چهار لایه صاف و تا زمان استفاده در دمای ۳۸ درجه و در شرایط بی‌هوای نگهداری شد. حیوانات در جایگاه‌های انفرادی با ابعاد ۱×۱ متر و دارای آخور و آب‌خوری مجزا نگهداری می‌شدند. دام‌های آزمایشی با جیره حاوی ۵۰ درصد علوفه و ۵۰ درصد کنسانتره به صورت جیره کامل و مخلوط شده در سطح نگهداری تغذیه می‌شدند. در این روش برای اندازه‌گیری تخمیر از بطری‌های شیشه‌ای ۱۲۰ میلی‌لیتری (۱۲ بطری برای هر تیمار و در دو دوره) استفاده گردید. برای تعیین پارامترهای تولید گاز، ابتدا نمونه‌های خشک شده برگ بلوط با استفاده از آسیاب با غربال یک میلی‌متری آسیاب شدند. تیمارهای آزمایشی شامل روش‌های مختلف خشک کردن برگ بلوط (خشک کردن در آفتاب، در سایه، در آون و به روش انجماد) با و بدون پلی‌اتیلن گلیکول بودند. در هر شیشه مقدار ۳۷۵ میلی‌گرم ماده خشک از نمونه‌های آزمایشی با و یا بدون پلی‌اتیلن گلیکول (دو برابر وزن نمونه‌های آزمایشی)، ۲۵ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی و ۱۲/۵ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه‌ی ریخته شد. برای تعیین روند تولید گاز، گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۹، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از شروع کشت اندازه‌گیری و با فشارسنج فشار گاز تولیدی ثبت شد. برای تعیین میزان گاز متان تولیدی بر اساس روش پیشنهادی فوز و همکاران (۱۹) ۲۴ ساعت پس از شروع انکوباسیون و ثبت گاز تولیدی ۳ تکرار از ۱۲ تکرار هر تیمار را برداشته و به هر بطری مقدار ۴ میلی‌لیتر سود ۱۰ مولار اضافه شد و بعد از گذشت ۱۰ دقیقه، مقدار گاز بطری‌های شیشه‌ای دوباره قرائت و حذف شدند. اختلاف حجم به‌دست آمده بیان‌گر میزان انتشار گاز متان بود (۱۹).

شمارش پروتوزوا

جهت بررسی جمعیت پروتوزوا، برای هر تیمار ۳ تکرار از ۱۲

تیمار انجماد و کمترین مربوط به تیمار آون بود. همچنین روش‌های مختلف خشک کردن اثر معنی‌داری بر غلظت تانن متراکم و تانن قابل هیدرولیز داشت ($P < 0.05$). اما روش خشک کردن بر محتوای کل تانن تأثیر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). کاهش ترکیبات فنولی ممکن است به دلیل فرآیندهای آنزیمی باشد که در طی مراحل خشک کردن اتفاق می‌افتد. روش‌های سنتی خشک کردن (مانند خشک کردن در مجاورت آفتاب و جریان طبیعی هوا) نمی‌توانند آنزیم‌های تجزیه‌کننده ترکیبات فنولی همانند پلی‌فنول اکسیداز را غیرفعال کنند (۲۳). سطح رطوبت در برگ‌ها نقش مهمی در غیر فعال‌سازی تانن ایفا می‌کند و روش‌هایی که در آن از دماهای پایین‌تری برای هیدراسیون استفاده می‌شود محتوای ترکیبات فنولی را کمتر کاهش می‌دهند (۱۵). در آزمایش حاضر با توجه به این‌که همه روش‌های خشک کردن محتوای رطوبت را به زیر ۱۵ درصد کاهش دادند، اتلاف کم‌تر ترکیبات فنولی در روش سایه نسبت به آفتاب می‌تواند به این واقعیت نسبت داده شود که کاهش سطح رطوبت برگ‌های بلوط هنگام خشک کردن گیاه، می‌تواند سطح تانن را کاهش دهد. مشابه با نتایج آزمایش حاضر، آنتیا و همکاران (۳) گزارش کردند که خشک کردن گیاه نعنای با آون و انجماد به‌ترتیب کم‌ترین و بیش‌ترین ترکیبات فنولی را داشت و روش‌های سنتی خشک کردن (آفتاب و سایه) نسبت به آون ترکیبات فنولی بالاتری داشتند. در پژوهشی دیگر دزوولا و همکاران (۱۶) که روی برگ و ساقه آکاسیا صورت گرفت، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان ترکیبات فنولی به‌ترتیب مربوط به روش‌های خشک کردن در انجماد و آون بود. همچنین پادماجا و همکاران (۳۷) کاهش در محتوای تانن متراکم برای برگ‌های کاساوا و لئوکانا که در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت خشک شده بودند را به‌ترتیب ۱۰/۱ و ۲۱/۴ درصد بیان کردند. نتایج آزمایش دیملو و تاپلین (۱۴) نشان داد که دماهای بالا محتوای تانن برگ لکونا را کاهش می‌دهد. ازطرفی انور و همکاران (۱۴) بیان کردند خشک کردن کلم بروکلی به روش آون (۳) روز در ۴۰ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با روش هوا خشک (۱۰) روز در ۲۵ درجه سانتی‌گراد سبب افزایش محتوای ترکیبات فنولی می‌شود. برخلاف نتایج پژوهش حاضر، کاتسوبه و همکاران (۳۹) در آزمایشی نشان دادند خشک کردن در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد یا کم‌تر بر غلظت ترکیبات فنولی تأثیری ندارد.

جمعیت پروتوزوا

اثر روش‌های مختلف خشک کردن و افزودن پلی اتیلن گلیکول بر جمعیت پروتوزوا در جدول ۳ نشان داده شده است. اثر پلی اتیلن گلیکول بر جمعیت پروتوزوا معنی‌دار بود ($P < 0.01$). اثر روش خشک کردن بر جمعیت پروتوزوای انتودینیوم، ایزوتریشیا

پروستوما و بوشلیا پاروا معنی‌دار بود ($P < 0.05$). افزایش تعداد پروتوزوا در زمان استفاده از پلی اتیلن گلیکول می‌تواند نشان‌دهنده کاهش اثرات منفی تانن‌ها بر جمعیت پروتوزوا باشد. پلی اتیلن گلیکول به دلیل تمایل بالا برای اتصال به تانن‌ها می‌تواند اثرات منفی تانن‌ها را بر جمعیت و فعالیت پروتوزوا و تخمیر میکروبی برطرف کرده و در نهایت منجر به افزایش تعداد پروتوزوا و بهبود تخمیر میکروبی شود (۴۶). یافته‌های بوکمین و همکاران (۷) و بهاتا و همکاران (۹) نیز نشان داد که افزودن پلی اتیلن گلیکول به محیط کشت حاوی برگ درختان آکاسیا و کالوتیروس و یا گیاهان حاوی تانن تعداد و ماندگاری پروتوزوا را در مقایسه با تیمار شاهد (بدون پلی اتیلن گلیکول) افزایش می‌دهد که یافته‌های این مطالعه را تأیید می‌کند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بدون توجه به اثر روش‌های خشک کردن و پلی اتیلن گلیکول، تعداد هولوتریش‌ها کم‌تر از انتودینومورف‌ها بود. همچنین یانز رویز و همکاران (۵۴) نیز گزارش دادند استفاده از پلی اتیلن گلیکول در جیره دام‌های تغذیه شده با تفاله زیتون به دلیل برطرف کردن اثرات منفی تانن متراکم، موجب افزایش جمعیت پروتوزوا شد. بهاتا و همکاران (۹) گزارش کردند که افزودن پلی اتیلن گلیکول به محیط کشت حاوی ترکیبات تانن دار سبب افزایش جمعیت پروتوزوای خصوصاً گونه انتودینومورف‌ها شد. اما در مقابل ابرقویی و همکاران (۱) گزارش کردند افزودن پلی اتیلن گلیکول (۹۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) به جیره حاوی تفاله انگور، اثرات متفاوتی بر جمعیت پروتوزوایی داشت، به این صورت که جمعیت ایزوتریش‌ها و دیستیریش‌ها^۱ کاهش و انتودینیوم و دیپلودینوم افزایش یافت. نتایج متفاوت به‌دست آمده در آزمایش ابرقویی و همکاران (۱) علاوه بر نوع و ماهیت تانن به میزان ساپونین موجود در تفاله انگور نیز ارتباط دارد. نتایج متفاوت در رابطه با اثرات متفاوت تانن و پلی اتیلن گلیکول بر جمعیت پروتوزوای شکمبه ممکن است به دلیل نوع جیره، گونه حیوان، تفاوت‌های فردی، روش نمونه‌برداری (۴)، مقدار و نوع تانن (میزان تانن متراکم و قابل هیدرولیز) نمونه آزمایشی (۳۹) مرتبط باشد. افزایش تعداد پروتوزوا در تیمار آون نسبت به سایر روش‌های خشک کردن به دلیل پایین‌تر بودن ترکیبات فنولی در تیمار آون می‌باشد. چرا که تانن‌ها با اثر مستقیم بر پروتوزواها و با محدود کردن فرآیند تخمیر شکمبه می‌توانند جمعیت پروتوزوای شکمبه را کاهش دهند (۴۶). کاتسوبه و همکاران (۳۷) نشان دادند استفاده از مقدار ۱۰۵ گرم ماده خشک برگ درخت گوش (*Entrerolobium*) که حاوی تانن می‌باشد، در جیره باعث کاهش تعداد کل پروتوزوا شد. از آن‌جا که برخلاف باکتری‌ها سلولایتیک، جمعیت پروتوزوای از پروتئین با قابلیت انحلال‌پذیری کم به‌عنوان منبع نیتروژن استفاده می‌کنند (۱)، لذا غلظت کم تانن جیره به دلیل

اتصال کمتر به پروتئین جیره و جلوگیری از تجزیه سریع آن می‌تواند دلیل افزایش جمعیت پروتوزوآ در تیمارهای مذکور باشد (۱). اثر متقابل بین روش خشک کردن و پلی‌اتیلن گلیکول بر جمعیت پروتوزوآ معنی‌دار نبود ($P > 0.05$)، اما در همه موارد با افزودن پلی‌اتیلن گلیکول

جدول ۲ - اثر روش‌های مختلف خشک کردن بر غلظت ترکیبات فنولی برگ بلوط (درصد ماده خشک)^۱

Table 2- Effect of different drying methods on concentration of phenolic compounds of oak leave (% DM)¹

ترکیبات شیمیایی Chemical composition	روش خشک کردن Method of drying				SEM	P-Value
	آفتاب Sun shine	سایه Shadow	آون Oven	انجماد Freeze		
کل ترکیبات فنولی Total Phenolic compounds	17.4 ^b	19.4 ^{ab}	14.7 ^b	24.0 ^a	1.2	<0.01
تانن کل Total tannins	9.5	9.9	9.1	10.2	1.6	0.96
تانن متراکم Condensed tannins	1.2 ^b	1.3 ^b	1.5 ^a	1.2 ^b	0.05	<0.01
تانن قابل هیدرولیز Hydrolysable tannins	8.2 ^b	8.6 ^a	7.9 ^c	8.7 ^a	0.05	<0.01

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

¹Mean with different alphabets are statistically different ($P < 0.05$).

تولید کل گاز

رشد میکروبی و کاهش فعالیت آنزیم‌های میکروبی می‌شود (۳۱). در واقع تانن‌ها با مهار فعالیت میکروارگانیسم‌ها و یا آنزیم‌های ترشح شده توسط میکروب‌ها تخمیر شکمبه‌ای و در پی آن تولید گاز را مهار می‌کنند (۳۱). عامل دیگر ترکیب شدن تانن‌ها با مواد مغذی مانند پروتئین‌ها (۱۶)، کربوهیدرات‌ها و مواد معدنی (۴۳) است که آن‌ها را از دسترس میکروارگانیسم‌ها خارج می‌کنند و در نتیجه موجب کاهش تخمیر و تولید گاز می‌شوند. در ساختار مولکولی پلی‌اتیلن گلیکول تعداد زیادی اکسیژن فعال وجود دارند که قادر به تشکیل پیوند هیدروژنی با گروه‌های فنولی موجود در تانن می‌باشند به این ترتیب ترکیبات فنولی را از محلول جدا کرده و رسوب می‌دهند (۲۴) و با افزایش فراهمی مواد مغذی برای میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه افزایش رشد و افزایش فعالیت آن‌ها تولید گاز بیش‌تر می‌شود (۵). نتایج به‌دست آمده با نتایج آره‌اب و همکاران (۵)، بوئو و همکاران (۹)، سالاما و همکاران (۴۱) و بن‌سلام و همکاران (۸) که گزارش کردند استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول تولید گاز در شرایط آزمایشگاه را افزایش می‌دهد، مطابقت داشت.

اثر پلی‌اتیلن گلیکول و روش خشک کردن بر تولید گاز برگ بلوط پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در جدول ۳ آورده شده است. هرچند افزودن پلی‌اتیلن گلیکول توان تولید گاز را به لحاظ عددی افزایش داد اما تفاوت بین تیمارهای آزمایشی پس از ۲۴ ساعت معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). همچنین اثر روش‌های خشک کردن بر توان تولید گاز معنی‌دار نبود اما بیش‌ترین میزان تولید گاز مربوط به تیمار آون و کم‌ترین مربوط به تیمارهای انجماد و سایه بود ($P > 0.05$). نمودارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ میزان گاز تولیدی تیمارهای آزمایشی با و بدون پلی‌اتیلن گلیکول را طی ۹۶ ساعت انکوباسیون نشان می‌دهند. هرچند که میزان گاز تولیدی پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت اما نتایج این مطالعه نشان داد که ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون کل گاز تولیدی با افزودن پلی‌اتیلن گلیکول در تمام تیمارهای آزمایشی افزایش یافت. افزایش تولید گاز در حضور پلی‌اتیلن گلیکول نشان‌دهنده کاهش اثرات منفی تانن بر فرآیندهای تخمیر شکمبه است (۱۱). اثر مهارکنندگی تانن‌ها احتمالاً باعث کاهش اتصال میکروبی به ذرات خوراک، کاهش

جدول ۳- اثر روش‌های مختلف خشک کردن و افزودن پلی اتیلن گلیکول بر جمعیت پروتوزوآ (تعداد $\times 10^5$)^۱Table 3- Effect of different drying methods and polyethylene glycol on protozoa population ($\times 10^5$)¹

		انتودینیوم <i>Entodinium</i>	ایزوتریشا پروستوما <i>Isotricha prostoma</i>	بوشلیا پاروا <i>Boshiliya paroa</i>
پلی اتیلن گلیکول Polyethylene glycol	+	5.7 ^a	3.2 ^a	1.7 ^a
	-	3.2 ^b	1.5 ^b	1.8 ^b
SEM		0.35	0.25	0.22
P- value		<0.01	<0.01	0.05
روش خشک کردن Method of drying	آفتاب Sun	4.2 ^{ab}	2.5 ^{ab}	1.3 ^b
	سایه Shadow	3.5 ^b	1.7 ^b	1 ^b
	آون Oven	6 ^a	3.3 ^a	2.7 ^a
	انجماد Freeze	4 ^b	1.3 ^b	0.5 ^b
		0.5	0.35	0.31
		0.015	0.017	<0.01
SEM				
P- value				
تیمار ^۲ Treatment ²	1	3.3	2	1
	2	2.3	1.3	0.67
	3	5	2	2.7
	4	2	0.7	0
	5	5	3	1.7
	6	4	2	1.3
	7	7	4	2.7
	8	6	3	1
SEM		0.71	0.5	0.44
P- value		0.39	0.17	0.72

^۱ میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$)^۲ تیمار ۱- برگ بلوط خشک شده در آفتاب بدون PEG، تیمار ۲- برگ بلوط خشک شده در آفتاب با PEG، تیمار ۳- برگ بلوط خشک شده در سایه بدون PEG، تیمار ۴- برگ بلوط خشک شده در سایه با PEG، تیمار ۵- برگ بلوط خشک شده در آون بدون PEG، تیمار ۶- برگ بلوط خشک شده در آون با PEG، تیمار ۷- برگ بلوط خشک شده به روش انجماد بدون PEG، تیمار ۸- برگ بلوط خشک شده به روش انجماد با PEG.^۱Mean with different alphabets are statistically different ($P < 0.05$).^۲Treatments, 1- Sun dry without PEG, 2- Sun dry with PEG, 3- Shadow dry without PEG, 4- Shadow dry with PEG, 5- Oven dry without PEG, 6- Shadow dry with PEG, 7- Freez dry without PEG, 8- Freez dry with PEG.

جدول ۴- اثر روش‌های خشک کردن برگ بلوط و افزودن پلی‌اتیلن گلیکول بر تولید گاز و متان تولیدی به‌ازای ۳۷۵ میلی‌گرم نمونه خشک برگ بلوط بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون

Table 4- Effect of different drying methods on gas and methane production from 375 mg dry oak leave after 24h of incubation

		تولید گاز ^۱ Gas production ¹ (ml)	گاز متان (% از کل گاز تولیدی) Methane (% of total gas)
پلی‌اتیلن گلیکول polyethylene glycol	+	109.6	15.1 ^a
	-	101.1	7.0 ^b
SEM		3.84	0.56
P- value		0.13	<0.01
روش خشک کردن Method of drying	آفتاب Sun	103.7	9.6 ^b
	سایه Shadow	102.7	12.1 ^{ab}
	آون Oven	112.2	8.7 ^b
	انجماد Freeze	102.7	14.0 ^a
		5.4	0.92
SEM			
P- value		0.54	<0.05
تیمار ^۲ Treatment ²	1	111.5	4.6 ^a
	2	104.3	5.4 ^a
	3	103.6	5.5 ^a
	4	112.8	12.0 ^b
	5	87.8	12.7 ^b
	6	103.2	13.9 ^b
	7	101.7	12.2 ^b
	8	111.7	21.7 ^c
SEM		7.7	1.13
P- value		0.18	<0.05

^۱ a (ml gas/375 mg DM)

^۲ تیمار ۱- برگ بلوط خشک شده در آفتاب بدون PEG، تیمار ۲- خشک شده در آفتاب با PEG، تیمار ۳- خشک شده در سایه بدون PEG، تیمار ۴- خشک شده در سایه با PEG، تیمار ۵- خشک شده در آون بدون PEG، تیمار ۶- خشک شده در آون با PEG، تیمار ۷- خشک شده به روش انجماد بدون PEG، تیمار ۸- خشک شده به روش انجماد با PEG

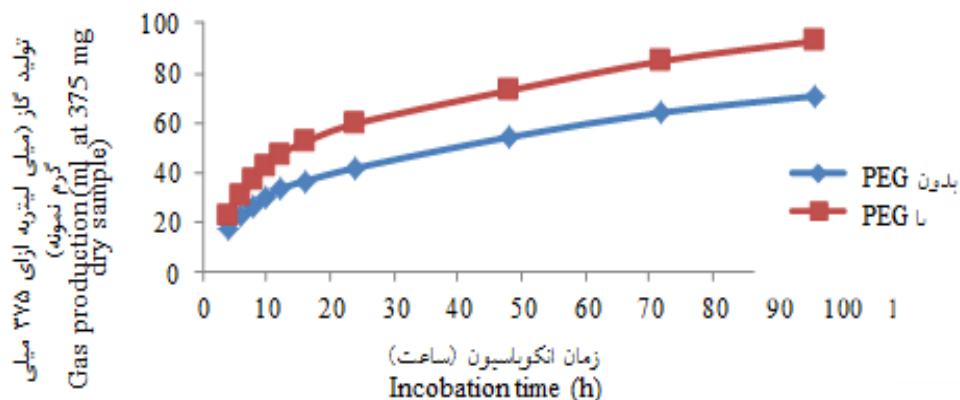
²Treatments, 1- Sun dry without PEG, 2- Sun dry with PEG, 3- Shadow dry without PEG, 4- Shadow dry with PEG, 5- Oven dry without PEG, 6- Shadow dry with PEG, 7- Freez dry without PEG, 8- Freez dry with PEG.

تولید متان

اثر روش‌های مختلف خشک کردن برگ بلوط و افزودن پلی‌اتیلن گلیکول بر تولید متان در جدول ۳ آمده است. روش‌های مختلف خشک کردن و افزودن پلی‌اتیلن گلیکول اثر معنی‌داری بر تولید گاز متان داشتند ($P < 0.01$). به‌طوری که کم‌ترین تولید گاز متان در تیمار آون و بیش‌ترین در تیمار خشک کردن با برودت مشاهده شد. همچنین اثر متقابل پلی‌اتیلن گلیکول و روش خشک کردن بر تولید گاز متان معنی‌دار بود ($P < 0.01$). بیش‌ترین افزایش در تولید متان پس از افزودن پلی‌اتیلن گلیکول به‌ترتیب در تیمار سایه (۵۴/۱۷ درصد) و انجماد (۴۳/۸ درصد) مشاهده شد. در این دو تیمار برگ بلوط بیش‌ترین غلظت ترکیبات فنولی را در بین روش‌های خشک کردن داشت. بنابراین به نظر می‌رسد هرچقدر غلظت ترکیبات فنولی بیش‌تر باشد افزودن پلی‌اتیلن گلیکول سبب افزایش بیش‌تری در تولید متان خواهد شد. کاهش بیش‌تر تولید گاز متان در برگ بلوط خشک شده با آون احتمالاً به دلیل بالاتر بودن میزان تانن متراکم آن می‌باشد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزودن پلی‌اتیلن گلیکول به محیط کشت حاوی برگ بلوط منجر به افزایش تولید متان شد ($P < 0.01$). تیمار حاوی برگ بلوط خشک شده به روش انجماد همراه پلی‌اتیلن گلیکول بیش‌ترین مقدار تولید گاز متان را داشت. بالاتر بودن تولید گاز متان با افزودن پلی‌اتیلن گلیکول احتمالاً به دلیل افزایش جمعیت پروتوزوای و کاهش اثرات ترکیبات فنولی (خصوصاً تانن متراکم) بر باکتری‌های تولیدکننده متان می‌باشد. پروتوزوا با فراهم کردن هیدروژن مورد نیاز باکتری‌های متانوژن شرایط مناسب را برای فعالیت آن‌ها ایجاد می‌کنند. بنابراین با استفاده از ترکیباتی مانند پلی‌اتیلن گلیکول که کاهنده اثرات ضد پروتوزوای تانن‌ها می‌باشند جمعیت پروتوزوا و در پی آن تولید متان افزایش می‌یابد (۵۳). مطالعات پیشین کاهش تولید متان با افزودن تانن‌ها و یا ترکیبات تانن‌دار را گزارش کرده‌اند (۲۰ و ۵۰). استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول جهت خنثی کردن تانن و اثرات سمی آن بسیار چالش برانگیز و قابل بحث می‌باشد، ممکن است کاهش اثرات سمی تانن‌های متراکم با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول مناسب نباشد چراکه باعث افزایش تولید گاز متان و کاهش بازده استفاده از انرژی می‌شود (۴). متانوژن‌ها در شرایط بی‌هوازی شکمبه با دی‌اکسید کربن و گاز هیدروژن محیط، گاز متان تولید می‌کنند (۱۸) که به کاهش گاز هیدروژن موجود در

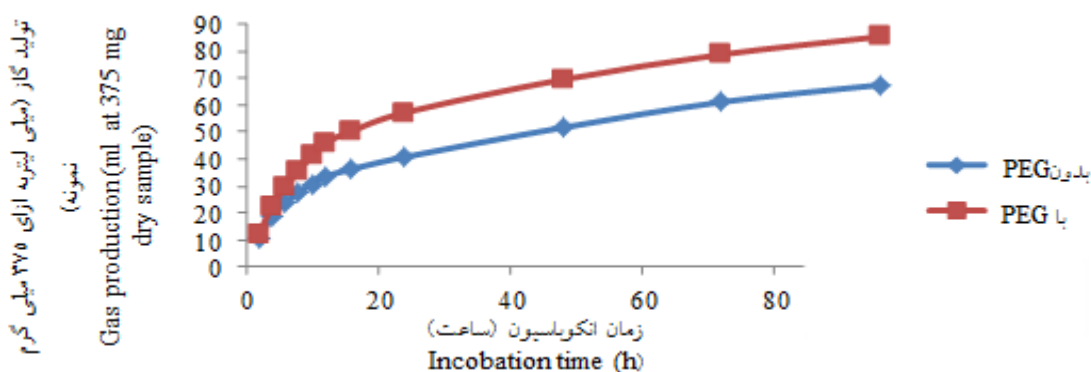
محیط شکمبه می‌انجامد. در صورتی که گاز هیدروژن در محیط شکمبه تجمع یابد واکنش اکسیداسیون و احیای نیکوتین آمید دی‌هیدروژناز مهار و سبب کند شدن واکنش‌های رشد میکروبی، هضم علوفه و در نهایت مهار تولید اسیدهای چرب فرار می‌گردد (۷). جمعیت پروتوزوای مژک‌دار از طریق تأمین هیدروژن برای باکتری‌های تولیدکننده متان در تولید متان نقش دارند (۳۷). پروتوزوای پلیپلاسترون، اپیدینیوم کوداتوم، ایزوتریشیا پروستوما و انتودینیوم کوداتوم نقش به‌سزایی در تولید متان دارند (۴۱ و ۳۷). همان‌طور که قبل بحث شد، با توجه به نتایج جدول ۲، پروتوزوای انتودینیوم کوداتوم و ایزوتریشیا پروستوما در تیمار انجماد به همراه پلی‌اتیلن گلیکول به‌ترتیب ۳ و ۴ برابر بیش‌تر بود. مشابه با نتایج این آزمایش، صفائی و همکاران (۴۴) نیز افزایش تولید گاز متان را در اثر افزودن پلی‌اتیلن گلیکول به تفاله انگور گزارش کردند. بیوجمین و همکاران (۷) گزارش کردند استفاده از برگ درختان حاوی تانن متراکم، به مقدار ۱۸ گرم در کیلوگرم ماده خشک، در جیره گوساله‌های پرواری تأثیری بر تولید متان و قابلیت هضم ماده خشک ندارد. کمتر بودن تولید متان در برگ بلوط خشک شده با آون احتمالاً به خاطر بالاتر بودن میزان تانن متراکم آن می‌باشد. مطالعات نشان داده که تانن‌های متراکم به میزان بیش‌تری از تانن قابل هیدرولیز خاصیت ممانعتی از تولید متان دارند (۲۸ و ۴۹). همچنین هوریگوم و همکاران (۲۴) کاهش تولید متان در شرایط آزمایشگاهی و پاچالا (۴۱) در دام‌هایی که از علوفه‌های حاوی تانن متراکم تغذیه می‌کردند را گزارش کردند. سالاما و همکاران (۴۴) و چرچ (۱۳) نیز در تحقیقی تأکید کردند که تولید متان در شکمبه بر اثر فعالیت آرکیاهای متانوژن صورت می‌گیرد و وجود تانن‌های متراکم در خوراک نشخوارکنندگان برای آرکیاها سمی است و در نهایت باعث کاهش تولید متان می‌گردد. می‌توان درصد بالای تولید متان در تیمار انجماد را به میزان کم‌تر تانن متراکم آن نسبت داد.

غلظت تانن متراکم در برگ بلوط خشک شده با آون به‌طور معنی‌داری نسبت به برگ خشک شده با سایر روش‌های خشک کردن بالاتر بود (۱/۵ در مقابل ۱/۲ و ۱/۳ درصد ماده خشک). کمتر بودن تولید متان و بالاتر بودن جمعیت پروتوزوا در برگ بلوط خشک شده با آون نشان می‌دهد که احتمالاً اثر مستقیم برخی تانن‌ها بر متانوژن‌ها بیش‌تر از اثر غیر مستقیم آنها به‌واسطه تأثیر بر پروتوزوا می‌باشد.



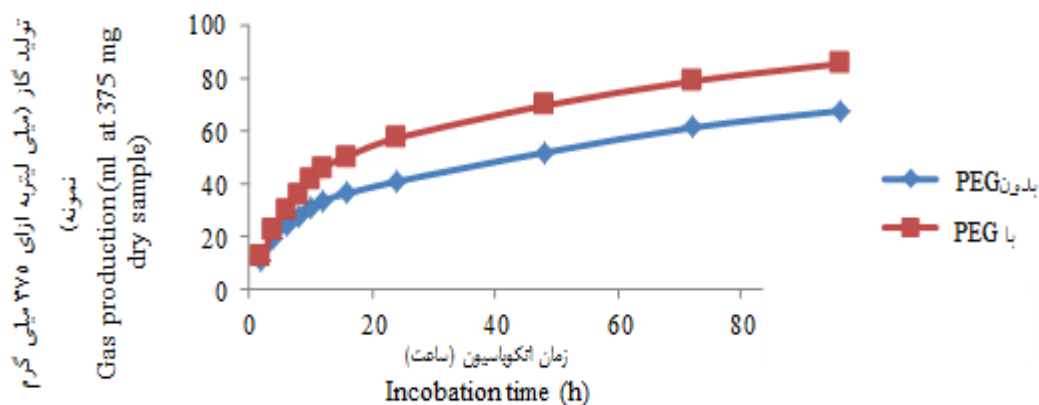
شکل ۱- گاز تولیدی (میلی‌لیتر) برگ بلوط خشک شده در آفتاب با و بدون پلی‌اتیلن گلیکول در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Figure 1- Gas production (ml) of sun dried oak leave with and without PEG at different times of incubation



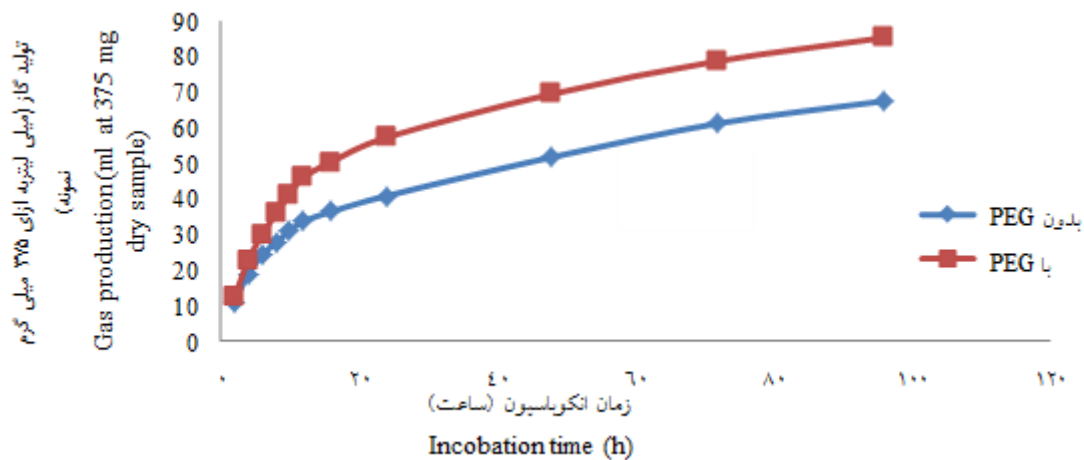
شکل ۲- گاز تولیدی (میلی‌لیتر) برگ بلوط خشک شده در سایه با و بدون پلی‌اتیلن گلیکول در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Figure 2- Gas production (ml) of shadow dried oak leave with and without PEG at different times of incubation



شکل ۳- گاز تولیدی (میلی‌لیتر) برگ بلوط خشک شده در آون با و بدون پلی‌اتیلن گلیکول در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Figure 3- Gas production (ml) of oven dried oak leave with and without PEG at different times of incubation



شکل ۴- گاز تولیدی (میلی لیتر) برگ بلوط خشک شده در فریزر با و بدون پلی اتیلن گلیکول در زمان های مختلف انکوباسیون

Figure 4- Gas production (ml) of freeze dried oak leave with and without PEG at different times of incubation

بهتری می باشند. اما با توجه به تاثیر متفاوت این روش ها بر غلظت تانن متراکم باید اثر روش خشک کردن بر دیگر جنبه های تخمیر شکمبه ای نیز مورد مطالعه قرار گیرد. از طرفی بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه به نظر می رسد کاهش اثرات سمی تانن های متراکم با افزودن پلی اتیلن گلیکول روشی مناسب نباشد چون باعث افزایش تولید گاز متان می شود. همچنین نتایج مطالعه حاضر پیشنهاد می کند که هر چقدر غلظت ترکیبات فنولی در ماده خوراکی بیشتر باشد میزان افزایش در تولید متان با افزودن پلی اتیلن گلیکول بیشتر خواهد بود.

نتیجه گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که روش خشک کردن بر غلظت ترکیبات فنولی برگ بلوط موثر است. در بین روش های مورد استفاده روش خشک کردن با انجماد و در سایه بیشترین غلظت ترکیبات فنولی را سبب شد. در حالی که روش خشک کردن در آفتاب و آون سبب کاهش تولید متان از تخمیر برگ بلوط نسبت به روش سایه و انجماد شد. بنابراین به نظر می رسد در انتخاب روش های خشک کردن مواد خوراکی حاوی ترکیبات فنولی استفاده از روش های خشک کردن مبتنی بر استفاده از حرارت ناشی از نور مستقیم آفتاب و یا آون از نظر زیست محیطی و بازده استفاده از انرژی در شکمبه روش های

منابع

1. Abarghuei, M. J., Y. Rouzbehan, and D. Alipour. 2010. The influence of the grapepomace on the ruminal parameters of sheep. *Livestock Science*, 132(4):73-79.
2. Animut, G., A. Goetsch, R. C. Estell, L. J. Merkel, T. Dawson, and R. Puchala. 2004. Effects of methods of exposure to Eastern red cedar foliage on cedar consumption by Boer crossbred wether goats, *Small Ruminant Research*, 54(2): 197-212.
3. Antia, O., G. Vlasios, and G. Vassilis. 2013. Effect of Drying Method on the Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Spearmint. *Small Ruminant Research*, 31(3): 509-512.
4. Anwar, F., U. Kalsoom, B. Sultana, M. Mushtaq, T. Mehmood, and H. A. Arshad. 2013. Effect of drying method and extraction solvent on the total phenolics and antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.) extracts. *International Food Research Journal*, 20(1): 653-659.
5. Arhab, R., D. Macheboeuf, M. Aggoun, H. Bousseboua, D. Vialva, and J. M. Besle. 2009. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* gas production and digestibility of tannin containing feedstuffs from North African Arid Zone. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10(2): 475-478.
6. Barry, T. N., and D. A. Forss, 1983. The condensed tannin content of vegetative *Lotus pedunculatus*, its regulation by fertiliser application, and effect upon protein solubility. *Journal of Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 34(3): 1047-1051.
7. Beauchemin, K. A., S. M. McGinn, T. F. Martinez, and T. A. McAllister. 2007. Use of condensed tannin extract from *quebracho* trees to reduce methane emission from cattle. *Journal of Animal Science*, 85(2): 1900-1903.

8. Ben Salem, H., H. P. S. Makkar, A. Nefzaoui, L. Hassaypun, and S. Abidi. 2005. Benefit from the association of small amount of tannin-rich shrub foliage (*Acacia cyanophylla* Lind) with soya bean meal given as supplementation to Barbarian sheep feed an oat hay. *Animal Feed Science and Technology*, 122(4): 173-178.
9. Bhatta, A. A. R., S. Vaithyanathan, N. P. Singh, A. K. Shinde, and D. L. Verma. 2013. Effect of tree leaves as supplements on nutrient digestion and rumen fermentation pattern in sheep grazing semi-arid range of India. *Small Ruminant Research*, 60 (3): 273-280.
10. Bueno, I. C. S., D. M. Vitti, S. S. Helder Louvandini, and A. L. Abdalla. 2008. A new approach for *in vitro* bioassay to measure tannin biological effects based on a gas production technique. *Animal Feed Science and Technology*, 141(3):152-170.
11. Bunglavan, S. J., and N. Dutta. 2013. Use of tannin as organic protectants of proteins in digestion of ruminants. *Journal of Livestock Science*, 114(1): 67-77.
12. Canbolat, O., A. Kamalak, E. Ozkose, M. Ozkan, and P. Sahin. 2005. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* gas production, metabolizable energy and organic matter digestibility of *Quercus*. *Livestock Research*, 14(2): 7-11.
13. Church, D. C. 1984. The Ruminant Animal. Digestive Physiology and Nutrition.
14. Dehority, B. A. 1984. Evaluation of subsampling and fixation procedure for counting rumen protozoa. *Applied Environmental Microbiology*, 48(1): 182-185.
15. D'Mello, J. P. F., and D. E. Taplin. 1978. Leucaena leucocephala in poultry diets for the tropics. *World Rev. World Rev. Animal Production*, 14(2): 4147-4149.
16. Deinum, B., and A. Maassen. 1994. Effects of drying temperature on chemical composition and *in vitro* digestibility of forages. *Animal Feed Science and Technology*, 12(1):46-75.
17. Dzowela, B. H., L. Hove, and P. L. Mafongoya. 1995. Effect of drying method on chemical composition and *in vitro* digestibility of multi-purpose tree and shrub fodders. *Journal of Tropical Grasslands*, 12(3): 29-263.
18. Eckard, R. J., C. Grainger, and C. A. M. de Klein. 2010. Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: A review. *Livestock Science*, 130(1): 47-51.
19. Fievez, V., C. Boeckaert, B. Vlaeminck, J. Mestdagh, and D. Demeyer. 2007. *In vitro* examination of DHA-edible micro-algae: Effect on rumen methane production and apparent degradability of hay. *Animal Feed Science and Technology*, 136(3): 80-84.
20. Gameda, B. S., and A. Hassen. 2015. Effect of Tannin and Species Variation on *In vitro* Digestibility, Gas, and Methane Production of Tropical Browse Plants. *Asian-Australas Journal of Animal Science*, 28(2): 188-199.
21. Hagerman, A. E., M. E. Rice, and N. T. Ritchard. 1996. Mechanisms of protein precipitation for tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin catechin (procyanidin). *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 46(1): 900-907.
22. Halimi-Shabestari, A., R. Salamatdoust-nobar, N. Maheri-Sis, A. Ghorbani, K. Mirzadeh-Ahari, A. Noshadi, H. Samadi, and J. Saliminezhad. 2011. Evaluation effects of clove methanol extract on methane production in the *in vitro* condition. *Journal of Nutrition*, 10(1): 1154-1158.
23. Hess, H. D., L. M. Monsalve, C. E. Lascano, J. E. Carulla, T. E. Daz, and M. Kreuzer. 2003. Supplementation of a tropical grass diet with forage legumes and Sapindus saponaria fruits: effects on *in vitro* ruminal nitrogen turnover and methanogenesis. *Australian Journal of Agricultural Research*, 54(2): 703-706.
24. Horigome, T., R. Kumar, and K. Okamoto. 1988. Effects of condensed tannins prepared from leaves of fodder plants on digestive enzymes *in vitro* and in the intestine of rats. *British Journal Nutrition*, 60(4): 275-280.
25. Janpour, A., A. BanjShafiei, and J. Eshaghi Rad. 2010. Investigation of natural regeneration characteristics in west oak forests within different levels of site factors (case study: Piranshahr region). *Iranian Journal of Forest*, 2(4): 209-214. (In Persian).
26. Jones, G. A., T. A. McAllister, A. D. Muir, and J. Cheng. 1994. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop). condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(3): 1374-1378.
27. Katsube, T., Y. Tsurunaga, M. Sugiyama, T. Furuno, and Y. Yamasaki. 2009. Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. *Journal of Food Chemistry*, 113(4) 964-969.
28. Leinmuller, E., H. Steingass, and K. H. Menke. 1991. Tannins in feeds for ruminants. II Effects on rumen metabolism *in vitro*. *eU bersichten zur Tierernahrung*, 19(3):45-70.
29. Lim, Y. Y., and J. Murtijaya. 2007. Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *Journal of Food Science and Technology*, 40(1): 1664-1667.
30. Makkar, H. P. S., and K. Becker. 1997. Adaptation of cattle to tannins: role of proline-rich proteins in oak-fed cattle. *Journal of Animal Science*, 67(1): 277-280.
31. Makkar, H. P. S. 2000. Quantification of Tannins in Tree Foliage Animal Production and Health. Section International Atomic Energy Agency. Wagramer Strasse 5, P.O. Box 100. A-1400 Vienna, Austria.
32. Makkar, H. P. S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Journal of Small Ruminant Research*, 49(3): 241-245.

33. Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* production using rumen fluid. *Journal of Animal Research and Development*, 28(3): 7-10.
34. McSweeney, C. S., B. Palmer, D. M. McNeill, and D. O. Krause. 2001a. Microbial interactions with tanning polyphenolics: nutritional consequences for ruminants. *Journal of Animal Feed Science*, 91(3): 83-85.
35. Mueller-Harvey, I., and A. B. McAllan. 1992. Tannins: their biochemistry and nutritional properties. I.A. Morrison, ed. *Advances in plant cell biochemistry and biotechnology*. JAI Press Ltd., London, UK, 1: 151-217.
36. Navas-Camacho, A., M. A. Laredo, A. Qaesta, H. J. Anzola, and C. Leon. 1993. Effect of supplementation with tree legume forage on rumen function livestock. *Livestock. Research Journal Development*, 5(2): 1-13.
37. Newbold, C. J., B. Lassalas, and J. P. Jouany. 1995. The importance of methanogens associated with ciliate protozoa in ruminal methane production *in vitro*. *Letter Applied Microbial*, 21(4): 230-235.
38. Ogimato, K., and S. Imai. 1981. *Atlas of Rumen Microbiology*. Japan Scientific Societies Press: Tokyo Japan.
39. Orskov, E. R., and I. McDonald. 1997. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92(1): 499-452.
40. Padmaja, G. 1989. Evaluation of techniques to reduce assayable tannin and cyanide in cassava leaves. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 37(2): 712-716.
41. Puchala, R., B. R. Min, A. L. Goetsch, and T. Sahlu. The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. 2005. *Journal of Animal Science*, 83(1):182-192.
42. Ranilla, M. J., J. P. Jouany, and D. P. Morgavi. 2007. Methane production and substrate degradation by rumen microbial communities containing single protozoal species *in vitro*. *Letters in Applied Microbiology*, 45(2): 675-680.
43. Reay, D., P. Smith, and A. V. Amstel. 2010. *Methane and Climate Change: Ruminants*. First ed. TJ International: UK.
44. Safaei, A. R., N. M. Torabi nejad, H. Mansori, and S. Zerehdaran. 2015. Adding PEG on the methane gas production in the rumen, digestibility and metabolism energy of grape and lemon refuses. *Journal of Animal Production*, 9(1): 9-12.
45. Sallama, S. M. A. H., I. C. S. Buenob, P. B. Godoy, E. F. Nozella, D. M. S. S. Vittib, and A. L. Abdalla. 2010. Ruminal fermentation and tannins bioactivity if some browses using a semi-automated gas production technique. *Journal of Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12(3): 1-7.
46. SAS Institute. 2000. *SAS Use's Guide : Statistics Version 8.01 ed*. SAS Institute, Inc., Cary, North Carolina.
47. Silankov, N., H. Tagari, and A. Shkolink. 1993. Comparison of rate of passage, fermentation rate and efficiency of digestion of highfiber diet in desert Bedouin goats as compared to Swiss Saanen goats. *Small Ruminant Research*, 12(1): 45-50.
48. Sliwinski, B. J., R. S. Carla, A. Machmuller, and M. Kreuzer, 2002. Efficacy of plant extracts rich in secondary constituents to modify rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 101(2):101-114.
49. Tan, H. Y., C. C. Sieo, N. Abdullah, J. B. Liang, and X. D. Huang. 2011. Effects of condensed tannins from *Leucaena* on methane production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 169(3):185-193.
50. 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*, 48(3-4): 185-197.
51. Van Acker, S. A. B. E., G. O. Plemper van Balen, D. J. Van den Berg, A. Bast, and W. J. F. van der Vijgh. 1998. Influence of iron chelation on the antipoxidant activity of flavanoids. *Biochemical Pharmacology*, 56(1): 935-938.
52. Wang, C. J., S. P. Wang, and H. Zhou. 2009. Influences of flavomycin, ropadiar and saponins on nutrient digestibility, rumen fermentation, and methane emission from sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 148(2): 157-166.
53. Williams, C. M., J. S. Eun, C. M. Dschaak, J. W. MacAdam, B. R. Min, and A. J. Young. 2010. Case study: *in vitro* ruminal fermentation characteristics of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) hay in continuous cultures. *Professional Animal Scientist*, 26(2): 570-575.
54. Yanez Ruiz, D. R., A. Moumen, A. I. Martin Garcia, and E. Molina Alaide. 2004. Ruminal fermentation and degradation patterns, protozoa population and urinary purine derivatives excretion in goats and wethers fed diets based on two stage olive cake: effect of PEG supply. *Journal of Animal Science*, 82(4): 2023-2026.



Investigation the Effect of Different Drying Methods of *Q. persica* Oak Leaves and PEG Supplementation on Concentration of Phenolic Component, Protozoa Population, and Methane Production

Z. Gholami¹- F. fattahnia¹- H. Jahani-Azizabadi^{2*}- G. Taasoli¹

Received: 23-05-2017

Accepted: 23-12-2017

Introduction: Zagros forests that are classified as semi-arid forests, approximately includes around 40 percent of the Iran forests. Dominant tree species of Zagros forests is Oak trees. Oak leaves are an inexpensive and available feed source for ruminant, in particular in low forage seasons. The main problem for the use of Oak leaves and fruit are their phenolic compounds and its negative effects on animal performance at high concentration. The negative effects of high concentration of tannin and phenolic compounds on ruminant performance dependent on the kind and concentration of phenolic compounds, diet composition, and animal species. There are evidence that supplementation of polyethylene glycol (PEG) at high concentration of phenolic compounds resulted in a decrease of the negative effect of phenolic compounds. In contrast, low concentration of phenolic compounds resulted in an improvement in daily gain, milk production, ovulation rate and a decrease in methane and ammonia production. The objective of this study was to investigate the effect of different drying methods of oak leaves (*Q. persica*) on the concentration of phenolic components of dried leaves and PEG supplementation on in vitro protozoa population and total gas and methane production.

Materials and Methods: This experiment was conducted in a completely randomized design with a 4× 2 factorial arrangement of treatments to investigate the effects of dryings methods (sunshine, shadow, oven and freeze drying) on the concentration of phenolic compounds of Oak leaves and effects of PEG supplementation on in vitro ruminal microbial fermentation of dried Oak leaves. An *in vitro* gas production technique was used to measure the effects of drying methods and PEG supplementation on total gas and methane production and protozoa abundance with fermentation of Oak leaves. Rumen content was obtained from two fistulated sheep (39±4.5 kg body weight) before morning feeding. The ruminal content was immediately strained through four layers of cheesecloth. Animals were fed twice daily with a 50:50 alfalfa hay: concentrate diet that formulated for maintenance requirements. In the laboratory, under anaerobic conditions, 37.5 mL of buffered rumen fluid (ratio of rumen fluid to buffer was 1:2) was added into 120 mL bottles containing 0.375 g of ground Oak leaves with (0.75g) or without PEG (12 replicates for each treatment in two runs). The buffer was prepared as proposed by McDougall. Bottles were sealed and placed in shaking water bath for 96 h at 38.6°C. Headspace gas pressure was recorded using a pressure transducer at 2, 4, 6, 9, 12, 24, 48, 72 and 96 h of the incubation. Methane production and protozoa population were determined at 24 h of incubation. The concentration of phenolic compounds, condensed and hydrolysable tannins were determined.

Results and Discussion: Results of the present study showed that concentration of phenolic compounds, condensed and hydrolysable tannins affected by drying methods ($P<0.01$), but total tannins was not affected ($P>0.01$). In all experimental treatments, the protozoa population was increased by PEG supplementation ($P<0.01$). The highest and the lowest protozoa population were observed in freeze and oven drying methods, respectively ($P<0.05$). In all treatment (except for sunshine and oven drying) adding PEG resulted in a significantly increased ($P<0.01$) in the methane production after 24 h of incubation. It is notable that the highest and the lowest percentage of methane production were observed in freeze and oven dryings methods, respectively ($P<0.01$). The effect of drying method on the gas production was not significant ($P<0.05$) and the addition of PEG resulted to numerically increase in gas ($P>0.05$). Although, gas production at 24h of incubation not affected by treatments, but results of this experiment demonstrated an increase in 96h gas production with PEG supplementation.

1- Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

1- Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

2- Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

1- Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

(* - Corresponding author email: ho.jahani@uok.ac.ir)

Conclusion: The results of the present study demonstrated that the oven drying of oak leaves resulted in a further reduction in total phenolic compounds and hydrolysable tannins concentration and the most decrease in methane production due to microbial fermentation of oak leaves, relative to the control. In addition, it appears that PEG supplementation not recommendable method for decrease negative effects of tannins, because resulted in an increase in the methane production.

Keywords: Drying methods, Methane production, Oak leaves, Phenolic compound, Protozoa



پاسخ هضمی گوسفند مهربان به شکل فیزیکی دانه جو و استفاده از موننسن در جیره

شهرام نجفی^۱ - محمد مهدی طباطبایی^۲ - خلیل زابلی^{۳*} - علی اصغر ساکی^۴ - احمد احمدی^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۲۲

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تأثیر موننسن و شکل فیزیکی دانه جو (پرک کردن) بر قابلیت هضم اجزای جیره و متابولیسم پروتئین در گوسفند مهربان انجام شد. بدین منظور از تعداد ۲۴ رأس گوسفند نر مهربان با میانگین وزن $52/98 \pm 6/15$ کیلوگرم به صورت آزمایش فاکتوریل 2×2 در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل جیره‌های حاوی (۱) دانه جو کامل، (۲) دانه جو کامل به همراه موننسن، (۳) دانه جو پرک شده و (۴) دانه جو پرک شده به همراه موننسن بودند. مقدار موننسن در تیمارهای مربوطه ۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم خوراک مصرفی بود. آزمایش تعیین قابلیت هضم به صورت جمع آوری مستقیم مدفوع (روش درون تنی) انجام شد. خون گیری در روز آخر آزمایش (در ساعات ۱ و ۵ بعد از خوراک دهی صبح) و جمع آوری ادرار در طول کل دوره آزمایش انجام گرفت. نتایج نشان داد اثر اصلی شکل فیزیکی دانه جو (پرک کردن) باعث کاهش قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی شد. اما مصرف موننسن و اثر متقابل بین موننسن و شکل فیزیکی دانه اثری بر آنها نداشت. قابلیت هضم سایر مواد مغذی جیره تحت تأثیر شکل فیزیکی دانه جو و مصرف موننسن قرار نگرفتند. ابقاء نیترژن، نیترژن میکروبی سنتز شده و آلانتوئین دفعی تحت تأثیر شکل فیزیکی دانه جو قرار نگرفت. اما مصرف موننسن سبب افزایش ابقاء نیترژن و کاهش آلانتوئین دفعی شد. غلظت گلوکز و اوره پلاسما نیز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. به طور کلی، شکل فیزیکی دانه جو سبب افزایش قابلیت هضم و بهبود متابولیسم نیترژن نشد. اما مصرف موننسن ابقاء نیترژن در گوسفندان را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: ابقاء نیترژن، پرک کردن، دانه جو، قابلیت هضم و موننسن

مقدمه

نام تجاری رومنین^۵، به طور گسترده‌ای در صنعت دامپروری مورد استفاده قرار می‌گیرد. مصرف این ماده اولین بار در سال ۱۹۷۵ در گاوهای پرواری و در سال ۱۹۷۸ در گاوهای شیری توسط موسسه FDA^۶ مجاز شمرده شد (۲۰). موننسن (رومینزین) باعث سهولت ورود یون سدیم به درون باکتری شده و زمانی که غلظت درونی سدیم تحت تأثیر موننسن افزایش پیدا کند، فعالیت پمپ سدیم-پتاسیم افزایش یافته و موجب کاهش ذخیره ATP در درون باکتری می‌شود. همچنین موننسن با تغییر غلظت یون هیدروژن در درون سلول باکتری، پلازماسیون غشاء باکتری را مختل نموده و از ورود متابولیت‌هایی مانند گلوکز به درون باکتری جلوگیری کرده و در نهایت سبب مرگ باکتری می‌شود. لازم به ذکر است که باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی، حساسیت بیشتری به موننسن و سایر یونوفرها دارند (۲۰). یکی از مهم‌ترین اهداف استفاده از این ماده، تغییر الگوی تخمیر شکمبه است (۲۰). اغلب تحقیقات انجام شده، افزایش تولید اسید پروپیونیک و ثابت ماندن مقدار کل اسیدهای چرب فرار شکمبه را با مصرف موننسن گزارش کرده‌اند

افزودنی‌ها ترکیبات فاقد انرژی و مواد مغذی هستند که به منظور اهداف خاصی به جیره غذایی حیوانات اهلی اضافه می‌گردند. یکی از این ترکیبات، یونوفرها می‌باشند. یونوفرها به منظور افزایش عملکرد دام، کاهش ابتلا به بیماری‌ها و بهبود کیفیت تولیدات دامی استفاده می‌شود (۳۴). اینها، مولکول‌هایی با ساختار شیمیایی متفاوت و ساز و کار مشترکی هستند که از طریق به دام انداختن یک کاتیون یک یا دو ظرفیتی مانند سدیم، پتاسیم، کلسیم و هیدروژن، در تبادلات غشاء سلولی اختلال ایجاد می‌کنند (۲۰). موننسن به عنوان یکی از معروف‌ترین و فراوان‌ترین یونوفرها در تغذیه دام می‌باشد. این ماده با

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

۴- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
(Email: khzaboli@gmail.com)

(*- نویسنده مسئول)

DOI: 10.22067/ijasr.v10i4.66146

5- Rumensin

6- U. S. Food and Drug Administration

مواد و روش‌ها

۱- حیوانات، مواد خوراکی و تیمارهای آزمایشی: در این

تحقیق از تعداد ۲۴ رأس گوسفند نر مهربان با میانگین وزن $6/15 \pm$ ۵۲/۹۸ کیلوگرم به مدت ۲۱ روز استفاده شد. ابتدا حیوانات به منظور سازگاری به محیط جدید و شرایط آزمایش به داخل یک سالن سر پوشیده مجهز به قفس‌های انفرادی منتقل و به مدت ۷ روز در آنجا نگهداری شدند. در طول این مدت، عملیات بهداشتی و خوراندن قرص ضد انگل بر روی آنها انجام گرفت. پس از آن دام‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه آزمایشی تقسیم شد و به‌منظور تعیین قابلیت هضم به‌روش درون‌تنی به‌مدت ۱۴ روز در داخل قفس‌های متابولیکی (۷ روز به‌منظور عادت‌دهی به جیره آزمایشی و ۷ روز هم دوره نمونه‌برداری) نگهداری شد. در کل دوره آزمایش، حیوانات به آب آشامیدنی و سنگ نمک دسترسی آزاد داشتند. جیره‌های آزمایشی شامل ۴۰ درصد علوفه و ۶۰ درصد کنسانتره بود که در دو وعده صبح (ساعت ۸) و بعدازظهر (ساعت ۱۶) در اختیار دام‌ها قرار می‌گرفت (جدول ۱). مقدار مصرف خوراک روزانه در گوسفندان ۲ درصد وزن بدن آنها در نظر گرفته شد (۲۵). علوفه یونجه از رقم همدانی و دانه جو نیز از رقم والفجر بود. مونسین نیز از شرکت پارس خوراک (با غلظت ۱۰ درصد) تهیه گردید.

۲- روش نمونه‌گیری: در طول دوره اصلی آزمایش (دوره

جمع‌آوری از مدفوع)، مقدار خوراک مصرفی، باقیمانده خوراک، مدفوع تولید شده و ادرار دفع شده در هر دام به‌طور روزانه ثبت و از آنها نمونه‌برداری شد. نحوه جمع‌آوری ادرار به این صورت بود که ابتدا کل ادرار دفعی (در طول ۲۴ ساعت) در هر دام (با استفاده از قیف‌های مخصوص جمع‌آوری ادرار) در ظروف ۵ لیتری به‌طور جداگانه جمع‌آوری شد. برای حفظ ترکیبات نیتروژنه و جلوگیری از فعالیت میکروبی، به ظروف جمع‌آوری ادرار به‌طور روزانه اسید سولفوریک ۵۰ درصد اضافه گردید تا pH آن به کمتر از ۳ کاهش یابد. پس از ثبت حجم ادرار دفعی روزانه، مقدار ۲ درصد آن به‌عنوان نمونه برداشت و به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌های ادرار مربوط به هر دام در روزهای مختلف بر روی هم ریخته شد و برای آزمایشات بعدی در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۱۸). در روز آخر آزمایش در ساعات ۱ و ۵ بعد از خوراک‌دهی صبحگاهی، از همه گوسفندان از طریق ورید و داج خون‌گیری شد. به منظور جداسازی پلاسما، نمونه‌های خون در آزمایشگاه سانتریفوژ شده (۳۰۰۰ rpm، به مدت ۲۰ دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) و پلاسمای به‌دست آمده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

(۱۳، ۲۰ و ۳۹). همچنین، مونسین با کنترل فعالیت باکتری‌های تجزیه‌کننده پروتئین در شکمبه، باعث کاهش دامیناسیون اسیدهای آمینه و کاهش تولید آمونیاک در شکمبه می‌شود و در نتیجه از طریق کاهش تجزیه شکمبه‌ای پروتئین و اسیدهای آمینه موجود در جیره و انتقال آن به روده کوچک از اتلاف پروتئین در شکمبه جلوگیری می‌کند (۱۱). نتیجه این تغییر در الگوی تخمیر شکمبه، افزایش بازده خوراک و ابقاء انرژی و پروتئین و در نهایت بهبود عملکرد دام است (۲۰).

یکی دیگر از روش‌های تغییر الگوی تخمیر شکمبه در ارتباط با تخمیر نشاسته، فرآوری دانه غلات می‌باشد که امروزه به صورت‌های مختلفی مانند فرآوری به‌روش گرم، خشک، مرطوب و سرد به‌کار گرفته می‌شود. یکی از این روش‌ها، پرک کردن دانه غلات است. پرک کردن دانه، شامل تغییر شکل فیزیکی و یا اندازه دانه از طریق عبور دادن آن از بین دو غلطک دوار است (۴). استفاده از دانه غلات در تغذیه دام از اهمیت خاصی برخوردار است. این دسته از مواد خوراکی به‌دلیل دارا بودن نشاسته، در تأمین انرژی مورد نیاز دام مورد توجه می‌باشد. گزارش شده است که تخمیر نشاسته در شکمبه در مقایسه با هضم آن در روده، از نظر بازده تولید انرژی کمتر است (۲۸). اما افزایش هضم نشاسته در شکمبه، سبب افزایش انرژی قابل دسترس برای رشد میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌گردد (۹). لذا عواملی که مرتبط با تخمیر شکمبه‌ای نشاسته می‌باشند، بایست به‌گونه‌ای به‌کار گرفته شوند که از یک سو فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه دچار اختلال نگردد و از سوی دیگر، بالاترین بازده انرژی‌زایی حاصل گردد.

دانه جو یکی از مهم‌ترین دانه غلات در تغذیه نشخوارکنندگان است. پرک کردن دانه جو از طریق کاهش اندازه و افزایش سطح تماس ذرات نشاسته موجود در دانه، سبب افزایش تخمیر نشاسته توسط میکروب‌های شکمبه می‌گردد. از طرف دیگر، با افزایش تخمیر نشاسته، انتظار می‌رود که جمعیت گروهی از باکتری‌های شکمبه افزایش یابد و از آنجایی که مونسین به عنوان یک مکمل، با مهار برخی از این باکتری‌ها، می‌تواند روند تخمیر شکمبه را تغییر دهد، لذا در این تحقیق سعی شد تا اثر همزمان پرک کردن دانه جو و مصرف مونسین بر قابلیت هضم، سنتز پروتئین میکروبی و متابولیسم نیتروژن در گوسفند نر مهربان مورد بررسی قرار گیرد.

جدول ۱ - مواد خوراکی استفاده شده در تیمارهای آزمایشی (بر حسب درصد)

Table 1- Feed ingredients used in experimental treatment (based on percentage)

تیمارهای آزمایشی	ساقه یونجه	دانه جو کامل	دانه جو پرک شده	کنجاله سویا	مونسنین ^۱	مکمل*
Treatments	Alfalfa stem	Whole barley grain	Cracked barley grain	Soybean meal	Monensin	Permixon
تیمار ۱	40	52.45	-	5.37	-	2.18
Treatment 1						
تیمار ۲	40	52.45	-	5.37	0.03	2.15
Treatment 2						
تیمار ۳	40	-	52.45	5.37	-	2.18
Treatment 3						
تیمار ۴	40	-	52.45	5.37	0.03	2.15
Treatment 4						

* ترکیب مکمل در هر کیلوگرم: ویتامین آ ۵۰۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین د ۳۰۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین ای ۱۰۰ واحد بین المللی، کلسیم ۱۹۰۰۰، فسفر ۹۰۰۰۰، سدیم ۵۰۰۰۰، مس ۳۰۰، آهن ۳۰۰۰، منگنز ۲۰۰۰، ید ۱۰۰، کبالت ۱۰۰، سلنیوم ۱، منیزیم ۱۹۰۰۰ و روی ۳۰۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم بود.

^۱ مونسنین دارای غلظت ۱۰ درصد (۱۰۰۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بود.

*: Premix composition per kg: vitamin A, 500,000 IU; vitamin D, 300,000 IU; vitamin E, 100 IU; Ca, 190,000; P, 90,000; Na, 50,000; Cu, 300; Fe, 3000; Mn, 2000; I, 100; Co, 100; Se, 1; Mg and Zn 3000 mg/kg.

^۱ The monensin concentration was 10% (100000mg/kg).

جدول ۲ - ترکیب شیمیایی مواد خوراکی و جیره آزمایشی استفاده شده در آزمایش (بر حسب ماده خشک)

Table 2- Chemical composition of the feedstuffs and experimental diet used in experiment (based on DM)

	ماده خشک	ماده آلی	پروتئین خام	فیبر خام	چربی خام	عصاره عاری از نیتروژن
	Dry matter	Organic matter	Crude protein	Crude fiber	Ether extract	Nitrogen free extract
ساقه یونجه	95.80	94.25	9.22	43.28	1.42	40.33
Alfalfa stem						
کنجاله سویا	92.00	94.10	37.09	6.84	7.01	49.10
Soybean meal						
دانه جو (معمولی یا پرک شده)	92.00	97.45	11.12	6.41	1.61	78.31
Barley grain (Whole or cracked)						
جیره آزمایشی*	93.77	93.16	12.14	20.96	1.48	60.70
Experimental diet						

* مقدار انرژی قابل متابولیسم جیره آزمایشی معادل ۲/۵۳ (مگا کالری بر کیلوگرم ماده خشک) بود که بر اساس NRC (۱۹۸۵) برآورد شد.

* Metabolisable energy of experimental diet was 2.53 (Mcal/kg DM) that estimated by NRC (1985).

۳- روش آنالیز نمونه‌ها: درصد ماده خشک و ترکیب شیمیایی

خاکستر خام، پروتئین خام، الیاف خام و چربی خام) نمونه‌های خوراک و مدفوع و مقدار نیتروژن موجود در ادرار از روش AOAC (۳) تعیین شد و مقدار نیتروژن ابقاء شده (درصد) نیز از رابطه زیر محاسبه گردید: $100 \times (\text{نیتروژن خورده شده بر حسب گرم}) / ((\text{نیتروژن ادرار بر حسب گرم}) + (\text{نیتروژن مدفوع بر حسب گرم})) = \text{درصد نیتروژن ابقاء شده}$

میزان پروتئین میکروبی سنتز شده از طریق اندازه‌گیری مقدار آلانتوئین موجود در ادرار با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل Varian Cary 100 conc، استرالیا) در طول موج ۵۲۲ نانومتر تعیین

شد. برای این منظور، ابتدا آلانتوئین تحت شرایط قلیایی ضعیف در دمای بالا هیدرولیز شده و به اسید آلانتوئیک تبدیل می‌شود. سپس اسید آلانتوئیک در محلول اسیدی ضعیف به اوره و اسید گلی اگزلیک تبدیل می‌شود. اسید گلی اگزلیک با هیدرو کلراید فنیل‌هیدرازین واکنش داده و به فنیل‌هیدرازون تبدیل می‌شود. سپس با اضافه کردن اسید کلریدریک غلیظ و پتاسیم فری‌سیانید، جذب نوری نمونه‌ها خوانده می‌شود (۳۰). اندازه‌گیری فراسنجه‌های پلاسما (شامل گلوکز و اوره) با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی دستی (شرکت پارس آزمون، ایران) و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد.

۴- تجزیه آماری داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده از آزمایش، با استفاده از نرم‌افزار SAS (۳۲) و به‌صورت آزمایش

مقدار نشاسته فرار کرده از روده کاسته می‌شود (۳۶). برآیند این عوامل سبب افزایش هضم نشاسته در کل دستگاه گوارش می‌شود که عامل اصلی آن، افزایش هضم نشاسته در شکمبه است. این بهبود هضم، وابسته به نوع دام، نوع دانه غله و روش فرآیند کردن دانه نیز می‌باشد. اما شواهد نشان می‌دهد که گوسفند با جویدن کامل دانه جو، استفاده موثرتری از آن در مقایسه با گاو می‌کند. بر این اساس، فرآیند کردن دانه غلات ممکن است تأثیر اندکی بر هضم نشاسته در گوسفند داشته باشد و حتی در برخی شرایط باعث کاهش قابلیت هضم نیز شود (۳۶).

در رابطه با اثر مصرف مونسین بر قابلیت هضم جیره گزارشات مختلفی ارایه شده است. مشابه نتایج ما، خالصی زاده و همکاران (۱۴) گزارش کردند که اضافه کردن مونسین به جیره گوسفندان بلوچی اثری بر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و دیواره سلولی نداشت. نتایج مشابهی نیز توسط سیلوا و همکاران (۳۴) در گوسفند و مارتینو و همکاران (۱۸) در گاوهای شیری گزارش شد. اما بر خلاف نتایج ما، زین و برکویس (۴۱) گزارش کردند که مصرف مونسین باعث کاهش قابلیت هضم ماده آلی جیره در گوساله‌های پرواری شد.

در تحقیق حاضر، با توجه به درصد بالای دانه جو در جیره‌های آزمایشی، انتظار می‌رود باکتری‌های آمیلولیتیک (تجزیه‌کننده نشاسته) به عنوان جمعیت غالب میکروبی شکمبه باشند. این‌ها جزو گروه باکتری‌های گرم مثبت بوده و مصرف مونسین سبب مهار اینها می‌شود. لذا با کاهش فعالیت این باکتری‌ها، ممکن است هضم مواد مغذی جیره کاهش یابد (۱۷). از طرف دیگر، با کاهش فعالیت این باکتری‌ها که مهم‌ترین باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک در شکمبه می‌باشند، تولید اسید لاکتیک در شکمبه کاهش یافته و از افت pH شکمبه جلوگیری می‌شود و از این طریق شرایط برای فعالیت باکتری‌های سلولولیتیک مساعد شده و متعاقب آن هضم فیبر بهبود می‌یابد (۱۴). اما از طرف دیگر، برخی از باکتری‌های تجزیه‌کننده سلولز مانند رومینو کوکوس‌ها ممکن است تحت تأثیر مونسین مهار شوند و لذا هضم فیبر در موقع مصرف مونسین کاهش پیدا کند (۲۴). که در نهایت، برآیند عوامل فوق تعیین‌کننده مقدار هضم ماده خشک، ماده آلی و فیبر جیره در شکمبه خواهد بود.

نتایج مربوط به متابولیسم نیتروژن در گوسفندان مورد آزمایش در جدول ۴ ارایه شده است. اثر تغییر شکل فیزیکی دانه جو، مصرف مونسین و ترکیب تیمارهای آزمایشی بر مقدار نیتروژن خورده شده، درصد نیتروژن موجود در مدفوع و ادرار معنی‌دار نبود. اما درصد نیتروژن ابقاء شده در بدن، تحت تأثیر مصرف مونسین قرار گرفت ($P < 0.05$). برای بررسی متابولیسم نیتروژن در بدن بایست مقدار پارامترهای فوق اندازه‌گیری شود (۱۵). مقدار نیتروژن خورده شده

فاکتوریل 2×2 در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مدل آماری استفاده شده به صورت $y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ijk}$ بود که در آن، y_{ijk} مقدار هر مشاهده، μ میانگین صفت اندازه‌گیری شده، A_i اثر فاکتور مونسین، B_j اثر فاکتور شکل فیزیکی دانه جو، AB_{ij} برهم‌کنش بین فاکتور مونسین و شکل فیزیکی دانه جو و e_{ijk} اثر خطای آزمایشی بود. مقایسه میانگین‌ها نیز به روش دانکن در سطح خطای ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به قابلیت هضم ماده خشک و مواد مغذی جیره در جدول ۳ ارایه شده است. تغییر شکل فیزیکی دانه جو باعث کاهش معنی‌دار قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی شد ($P < 0.05$). اما قابلیت هضم سایر اجزای جیره تحت تأثیر تغییر شکل فیزیکی دانه جو قرار نگرفت. همچنین، اضافه کردن مونسین به جیره و ترکیب تیمارها نیز اثری بر قابلیت هضم ماده خشک و سایر مواد مغذی جیره نداشت.

مشابه نتایج ما، زین و برکویس (۴۱) بیان کردند که تغییر شکل فیزیکی دانه جو (دانه جو غلطک خورده خشک) در مقایسه با دانه معمولی، سبب کاهش قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی جیره شد. اما بر خلاف نتایج ما، در آزمایشی که توسط افشار و همکاران (۱) انجام گرفت، پرک کردن دانه جو در مقایسه با دانه جو فراوری نشده اثری بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در گوسفند نداشت. آنها درصد قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را در جیره حاوی دانه جو معمولی به ترتیب $68/45$ و $70/41$ درصد و در جیره دارای دانه جو پرک شده به ترتیب $67/62$ و $70/07$ درصد گزارش کردند. ماتراس و همکاران (۱۹) گزارش کردند که تغییر شکل فیزیکی دانه سورگوم (غلطک خورده خشک) در بره‌های در حال رشد اثری بر قابلیت هضم ماده خشک جیره نداشت. اختلاف نتایج ما با نتایج سایر محققین می‌تواند به دلیل تفاوت در ترکیب شیمیایی جیره، نسبت علوفه به کنسانتره در جیره و نوع دام و شرایط فیزیولوژیک آن باشد (۱). اثر اصلی فرآیند کردن مکانیکی سرد دانه غلات (مانند پرک کردن)، تغییر محل هضم نشاسته از روده به شکمبه است. به عبارت دیگر، فرآوری فیزیکی دانه غلات سبب افزایش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای آنها می‌شود و میزان نشاسته تخمیر پذیر در شکمبه افزایش می‌یابد. در واقع این عمل از طریق کاهش اندازه ذرات و افزایش سطح تماس ذرات دانه جو سبب بهبود بازده استفاده از نشاسته توسط میکروب‌های شکمبه می‌شود (۳۸). با افزایش هضم نشاسته در شکمبه، مقدار نشاسته وارد شده به روده کاهش می‌یابد. این تغییر در میزان نشاسته ورودی به روده، به عنوان یک مزیت تلقی می‌گردد. زیرا با کاهش حجم نشاسته وارد شده به روده، هضم آن در روده افزایش می‌یابد و از

بستگی به مقدار ماده خشک مصرفی و درصد پروتئین خام جیره دارد (۱۵). با توجه به اینکه درصد پروتئین خام در تیمارهای آزمایشی در یک اندازه بودند و مقدار ماده خشک مصرفی هم بر اساس وزن دامها تنظیم شده بود و در یک محدوده بودند (۲ درصد وزن بدن)، لذا مقدار

جدول ۳ - قابلیت هضم مواد مغذی در گوسفندان تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی (درصد)

Table 3- Digestibility of nutrients in the sheep fed with experimental treatments (%)

		ماده خشک DM	ماده آلی OM	پروتئین خام CP	فیبر خام CF	چربی خام EE	ان اف ای NFE
اثر شکل فیزیکی Physical form	دانه جو معمولی Whole barley	73.82 ^a ± 2.30	74.94 ^a ± 2.41	65.08 ± 5.60	30.42 ± 2.50	30.42 ± 6.50	82.54 ± 2.00
	دانه جو پرک شده Cracked barley	71.58 ^b ± 2.34	72.84 ^b ± 2.31	64.42 ± 5.89	29.02 ± 2.11	29.02 ± 5.10	80.90 ± 2.91
	SEM *	0.799	0.743	1.826	1.974	1.896	0.848
اثر موننسن Monensin	بدون موننسن Without Monensin	72.72 ± 2.00	73.99 ± 2.10	64.08 ± 3.90	28.80 ± 5.10	53.88 ± 3.5	81.98 ± 2.40
	با موننسن With Monensin	72.68 ± 3.10	73.82 ± 3.00	65.44 ± 7.10	30.64 ± 6.50	53.94 ± 8.8	81.53 ± 2.80
	SEM	0.799	0.743	1.826	1.974	1.896	0.848
اثر تیمارها ^۱ Treatments	تیمار ۱ Treatment 1	73.42 ± 1.30	74.55 ± 1.61	64.76 ± 4.57	29.18 ± 6.03	56.38 ± 11.47	82.17 ± 2.39
	تیمار ۲ Treatment 2	74.21 ± 3.10	75.33 ± 3.07	65.41 ± 6.78	31.66 ± 7.29	55.75 ± 19.25	82.90 ± 1.61
	تیمار ۳ Treatment 3	72.02 ± 2.40	73.42 ± 2.50	63.41 ± 3.40	28.42 ± 4.59	51.38 ± 15.76	81.79 ± 2.63
	تیمار ۴ Treatment 4	71.14 ± 2.20	72.31 ± 2.19	65.46 ± 7.91	29.63 ± 5.99	52.12 ± 19.64	80.17 ± 3.16
	SEM	1.123	1.050	2.582	2.792	2.681	1.201
P-value	شکل فیزیکی Physical form (P)	0.0202	0.0225	0.5634	0.8108	0.81	0.2131
	موننسن Monensin (M)	0.6401	0.5121	0.2830	0.3982	0.8920	0.4474
	تیمارها Treatments	0.0909	0.0611	0.3205	0.4388	0.5601	0.4150
	شکل فیزیکی × موننسن P × M	0.1818	0.3468	0.2639	0.4817	0.2815	0.3483

^۱ تیمارهای آزمایشی به ترتیب: ۱) دانه جو معمولی بدون موننسن، ۲) دانه جو معمولی با موننسن، ۳) دانه جو پرک شده بدون موننسن، ۴) دانه جو پرک شده با موننسن. حروف غیر مشابه در هر ستون و هر بخش نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح خطای ۵ درصد می باشد.

1- Treatments included: 1) Whole barley grain without Monensin, 2) Whole barley grain with Monensin, 3) Cracked barley grain without Monensin and 4) Cracked barley grain with Monensin.

* SEM: Standard error of mean.

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

درصد و در موقع مصرف دانه جو پلت شده این مقادیر به ترتیب ۲۳/۸۸، ۵۶/۰۳ و ۲۰/۰۹ درصد شد و تغییر شکل فیزیکی دانه جو اثری بر پارامترهای فوق نداشت. ماتراس و همکاران (۱۹) نیز گزارش کردند که تغییر شکل فیزیکی دانه غلات (غلطک خورده خشک) در

مشابه نتایج ما، کیران و موتسوانگو (۱۶) اثر تغییر شکل فیزیکی دانه جو (پرک کردن و پلت کردن) را در برهه های نر سافولک بررسی کردند و مشاهده نمودند که در موقع مصرف دانه جو پرک شده، درصد نیتروژن مدفوع، ادرار و ابقاء شده به ترتیب ۲۳/۲۳، ۵۸/۹۹ و ۱۷/۷۷

بره‌های در حال رشد، اثری بر ابقاء نیتروژن نداشت.

در رابطه با اثر مونسنین بر متابولیسم نیتروژن نیز مشابه نتایج ما، اووامر و همکاران (۲۷) گزارش کردند علی‌رغم اینکه مصرف ۳۳ میلی گرم مونسنین به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره در بره‌های نر نائی، اثری بر مقدار نیتروژن خورده شده نداشت، اما مقدار نیتروژن ابقاء شده در بدن افزایش معنی‌داری نشان داد. بر خلاف نتایج فوق، مارتینو و همکاران (۱۸) مقدار ۲۴ میلی گرم مونسنین به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره در گاوهای شیری به‌کار بردند و مشاهده نمودند مقدار نیتروژن خورده شده، نیتروژن مدفوع، نیتروژن ادرار و نیتروژن ابقاء شده تحت تأثیر مصرف مونسنین قرار نگرفتند. نتایج مشابهی نیز توسط فویک‌لانگ و همکاران (۱۰) در گاوهای نر شیری و مونرات و همکاران (۳۲) در گاوهای نر پرواری به‌دست آمد. اولین بار اثر یونوفرها بر متابولیسم نیتروژن در سال ۱۹۷۰ مشخص شد و تحقیقات نشان داد که با مصرف مونسنین، میزان تجزیه پروتئین در شکمبه، تجمع آمونیاک و سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه کاهش می‌یابد (۲۹). در همین راستا، زین و همکاران (۴۲) گزارش کردند که مصرف ۳۱ میلی گرم مونسنین به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره در گاوهای پرواری، سرعت عبور نیتروژن میکروبی از شکمبه به روده را ۱۴/۵ درصد کاهش و هضم شکمبه‌ای نیتروژن خوراک را نیز ۱۰/۴ درصد کاهش داد.

در بیشتر مطالعات انجام شده نیز نیتروژن ابقاء شده با مصرف یونوفرها افزایش یافته است (۲۰). زیرا مونسنین با کنترل باکتری‌های پروتئولیتیک در شکمبه، باعث کاهش دامیناسیون اسیدهای آمینه و کاهش غلظت آمونیاک در شکمبه شده و در نتیجه، از اتلاف پروتئین در شکمبه جلوگیری می‌کند. همچنین، مونسنین باعث کاهش رشد باکتری‌های شکمبه و کاهش سنتز پروتئین میکروبی می‌شود. تحت این شرایط نرخ پروتئین عبوری با منشاء خوراک از شکمبه به روده افزایش می‌یابد. نسبت بالاتر نیتروژن با منشاء خوراکی به نیتروژن میکروبی که به روده کوچک وارد شده است، باعث بهبود قابلیت هضم نیتروژن و افزایش ابقاء نیتروژن در بدن می‌شود. زیرا قابلیت هضم نیتروژن خوراکی در مقایسه با نیتروژن میکروبی بالاتر است و نیز به دلیل عدم وجود اسید نوکلئیک در پروتئین با منشاء خوراکی، ارزش غذایی آن هم بالاتر از نیتروژن میکروبی است (۲۰). در همین رابطه، گزارش شده است که منشاء نیتروژن موجود در مدفوع شامل نیتروژن خوراکی، نیتروژن میکروبی شکمبه (یا روده بزرگ) و نیتروژن درون‌زاد است. مقدار نیتروژن میکروبی و درون‌زاد در مدفوع (نیتروژن متابولیکی) بسیار قابل توجه است. اما مقدار نیتروژن با منشاء خوراکی در آن خیلی کم است. زیرا قابلیت هضم واقعی پروتئین خوراک در روده بین ۹۰-۸۵ درصد برآورد می‌گردد (۲۱).

نتایج مربوط به مقدار آلانتوئین دفع شده، نیتروژن میکروبی سنتز شده و نیتروژن ادراری دفعی ادرار در جدول ۵، ارایه شده است. تغییر

شکل فیزیکی دانه جو اثری بر میزان آلانتوئین دفعی، نیتروژن میکروبی سنتز شده و نیتروژن ادراری نداشت. اما مصرف مونسنین باعث کاهش معنی‌دار آلانتوئین دفعی شد ($P < 0.05$). در رابطه با اثر ترکیب تیمارها، اثر همزمان تغییر شکل فیزیکی دانه جو همراه با مصرف مونسنین، هیچکدام از پارامترهای فوق را تحت تأثیر قرار ندادند.

استفاده از مشتقات پورینی ادرار (آلانتوئین، اسید اوریک، گزانتین و هیپوگزانتین)، اولین بار توسط ریس و همکاران (۳۱) به‌عنوان شاخص تولید پروتئین میکروبی پیشنهاد شد. خوراک نشخواکندگان حاوی مشتقات پورینی اندکی است که اکثر آنها نیز به‌طور گسترده در شکمبه تجزیه می‌شوند. لذا اسیدهای نوکلئیک موجود در مواد هضم شده روده، ضرورتاً منشاء میکروبی دارند که در شکمبه سنتز شده‌اند. این اسیدهای نوکلئیک از دیواره روده جذب شده و در بدن به مشتقات پورینی تجزیه می‌شوند و از طریق ادرار دفع می‌گردند. لذا دفع مشتقات پورینی در ادرار ارتباط مستقیم با پورین میکروبی جذب شده و به عبارت ساده تر پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبه دارد (۴۰). در نشخواکندگان آلانتوئین مهم‌ترین محصول کاتابولیسم پورین‌ها بوده و به‌عنوان اصلی‌ترین ترکیب پورینی ادرار محسوب می‌شود. در این رابطه، چن و گومس (۸) گزارش کردند که در ادرار گوسفند در حالت طبیعی، مقدار آلانتوئین ۸۰-۶۰ درصد، اسید اوریک ۳۰-۱۰ درصد و گزانتین و هیپوگزانتین نیز ۱۰-۵ درصد می‌باشد. گزارش شده است که افزودنی‌ها، ترکیب جیره، شرایط فیزیولوژیکی دام، تفاوت فلور میکروبی شکمبه و انرژی مصرفی دام بر مقدار مشتقات پورینی دفع شده از طریق ادرار اثرگذار است. احتمالاً این اثرگذاری از طریق تغییر فعالیت میکروب‌های شکمبه و یا تغییر جریان عبور میکروب‌ها از شکمبه به روده می‌باشد (یو و همکاران، ۲۰۰۲).

مشابه نتایج ما، کیران و موتس‌وانگو (۱۶) گزارش کردند که تغییر شکل فیزیکی دانه غلات در گوسفندان نر سافولک، هیچکدام از مقادیر آلانتوئین و نیتروژن میکروبی سنتز شده را تحت تأثیر قرار نداد. انرژی فاکتور محدودکننده برای تولید پروتئین میکروبی در شکمبه است و فرآوری دانه غلات از طریق افزایش انرژی قابل دسترس برای رشد میکروب‌های شکمبه، سبب افزایش تولید پروتئین میکروبی می‌شود (۹). افزایش هضم شکمبه‌ای ناشسته در اثر تغییر شکل فیزیکی آن، سبب بهبود مصرف نیتروژن در شکمبه و متعاقب آن کاهش دفع نیتروژن به‌صورت ادرار نیز می‌شود (۳۸). در این رابطه، داویس و همکاران (۹) گزارش کردند که افزایش تخمیر کربوهیدرات‌ها در شکمبه باعث افزایش بازچرخش ادرار از خون به شکمبه شده و در نتیجه تولید پروتئین میکروبی افزایش می‌یابد. البته در آزمایش ما، علت اصلی اثر نگذاشتن فرآوری دانه جو بر فراسنجه‌های متابولیسم پروتئین می‌تواند به نوع غله (دانه جو) استفاده شده نیز مربوط باشد.

جدول ۴ - متابولیسم نیتروژن در گوسفندان تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی
Table 4- Nitrogen metabolism in the sheep fed with experimental treatments

		نیتروژن خورده شده (گرم در روز) Nitrogen intake (g/d)	نیتروژن (گرم در روز) Nitrogen (g/day)		
			در مدفوع In feces	در ادرار In urine	ایبقاء شده Retention
اثر شکل فیزیکی Physical form	دانه جو معمولی	15.09 ± 1.98	5.27 ± 0.39	6.14 ± 0.43	3.68 ± 0.37
	Whole barley				
	دانه جو پرک شده	14.35 ± 1.47	5.10 ± 0.28	5.92 ± 0.29	3.33 ± 0.36
	Cracked barley				
	SEM *	0.520	0.182	0.283	0.396
اثر موننسن Monensin	بدون موننسن	14.81 ± 2.04	5.32 ± 0.58	6.35 ± 0.41	3.15 ^b ± 0.51
	Without Monensin				
	با موننسن	14.63 ± 1.34	5.05 ± 0.44	5.72 ± 0.60	3.86 ^a ± 0.65
	With Monensin				
	SEM	0.520	0.182	0.283	0.396
اثر تیمارها ^۱ Treatments	تیمار ۱	14.95 ± 2.16	5.27 ± 0.57	6.33 ± 0.77	3.35 ± 0.90
	Treatment 1				
	تیمار ۲	14.62 ± 1.79	5.06 ± 0.78	5.71 ± 0.90	3.86 ± 0.71
	Treatment 2				
	تیمار ۳	14.37 ± 1.73	5.26 ± 0.49	6.23 ± 0.55	2.89 ± 0.88
	Treatment 3				
	تیمار ۴	14.74 ± 1.22	5.09 ± 0.81	5.77 ± 0.89	3.88 ± 1.02
	Treatment 4				
	SEM	0.736	0.258	0.369	0.281
P-value	شکل فیزیکی	0.2922	0.5636	0.3902	0.3859
	Physical form (P)				
	موننسن	0.9700	0.2825	0.1301	0.0201
	Monensin (M)				
	تیمارها	0.4111	0.3230	0.6101	0.4170
	Treatments				
	شکل فیزیکی × موننسن	0.3152	0.2608	0.2759	0.5833
	P × M				

^۱ تیمارهای آزمایشی به ترتیب: ۱) دانه جو معمولی بدون موننسن، ۲) دانه جو معمولی با موننسن، ۳) دانه جو پرک شده بدون موننسن، ۴) دانه جو پرک شده با موننسن

حروف غیر مشابه در هر ستون و هر بخش نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح خطای ۵ درصد می باشد.

1- Treatments included: 1) Whole barley grain without Monensin, 2) Whole barley grain with Monensin, 3) Cracked barley grain without Monensin and 4) Cracked barley grain with Monensin.

* SEM: Standard error of mean. Means with different superscript letters in columns are significantly different (P<0.05).

آلاتوتئین دفعی به میزان ۱۴ درصد در مقایسه با گروه شاهد شد. مک گافی و همکاران (۲۰) نیز بیان نمودند که رشد میکروبی (ستتر پروتئین میکروبی) با مصرف موننسن کاهش می یابد. همچنین، تاماچارون و همکاران (۳۵) گزارش کردند که مصرف موننسن (۳۲۰

اثر موننسن بر آلاتوتئین دفعی با نتایج پوس و همکاران (۲۹) همخوانی دارد. ایشان اثر منفی موننسن در تولید پروتئین میکروبی و در نتیجه کاهش آلاتوتئین دفعی را گزارش کردند. آلن و هاریسون (۲) نیز گزارش کردند که مصرف موننسن در گوسفند سبب کاهش

(۲۲). مقادیر مشاهده شده در رابطه با مقدار گلوکز و اوره پلاسما در تحقیق حاضر، با مقادیر گزارش شده برای گوسفند (گلوکز، ۳۰-۶۵ میلی گرم بر دسی لیتر و اوره، ۲۰/۰-۸/۰ میلی گرم بر دسی لیتر) توسط بلاد و استادرت (۷) همخوانی دارد.

مشابه نتایج ما، بابایی و همکاران (۵) از دو نوع دانه جو غلطک شده و آسیاب شده در جیره بره‌های پرواری زل استفاده نموده و گزارش کردند که غلظت گلوکز خون تحت تأثیر تغییر شکل فیزیکی دانه جو قرار نگرفت. کیران و موتسوانگو (۱۶) نیز اثر تغییر شکل فیزیکی دانه جو (پرک کردن و پلت کردن) را در بره‌های نر سافولک بررسی کردند و گزارش کردند که غلظت اوره پلاسما تحت تأثیر فرآیند کردن قرار نگرفت. اما بر خلاف نتایج ما، شیاوسی و همکاران (۳۳) اثر شکل فیزیکی دانه ذرت (دانه کامل در مقابل دانه آسیاب شده) را بر عملکرد گوساله‌های از شیر گرفته شده بررسی کردند و گزارش نمودند که مقدار گلوکز خون تحت تأثیر تغییر شکل فیزیکی دانه قرار گرفت و مقدار آن از ۸۵/۴ در دانه کامل ذرت به ۸۳/۳ میلی گرم در دسی لیتر در دانه آسیاب شده کاهش یافت. در رابطه با اثر مونسنین بر غلظت گلوکز و اوره خون تحقیقات زیادی انجام شده است. مشابه نتایج ما، حجت‌پناه و همکاران (۱۲) گزارش کردند که مصرف مونسنین در جیره بره‌های بلوچی اثری بر غلظت گلوکز و اوره خون نداشت. آنها مقدار صفر، و ۲۰۰ میلی گرم در روز مونسنین را در گوسفند نر بلوچی به کار برد و گزارش کردند که غلظت گلوکز خون در تیمارهای فوق به ترتیب ۷۰/۸۷ و ۷۰/۶۲ میلی گرم بر دسی لیتر و اوره خون نیز ۱۵/۵۷ و ۱۷/۳۱ میلی گرم بر دسی لیتر شد و تفاوت بین تیمارها معنی دار نبود. نتایج مشابهی نیز توسط سیلوا و همکاران (۳۴) در گوسفندان پرواری به دست آمد. اما بر خلاف نتایج ما، کیوانلو شهرستانی و همکاران (۱۳) مقادیر صفر، ۱۵ و ۳۰ میلی گرم مونسنین به ازای هر کیلوگرم ماده خشک در جیره بره‌های مغانی استفاده نموده و گزارش کردند که مصرف مونسنین سبب افزایش معنی دار گلوکز خون شد. به طوری که این مؤلفان بیان کردند که مونسنین با تغییر الگوی تخمیر شکمبه و افزایش نسبت مولار اسید پروپیونیک (تنها اسید چرب فرار گلوکزساز شکمبه) به کل اسیدهای چرب فرار، می‌تواند سبب افزایش گلوکز پلاسما شود. اما در آزمایش ما، چنین تغییری مشاهده نشد. همچنین، مونسنین با تغییر فلور میکروبی شکمبه از طریق اثر بر میکروب‌های تجزیه‌کننده پروتئین سبب کاهش تولید آمونیاک در شکمبه شده و در نهایت سبب کاهش اوره خون می‌شود. این وضعیت می‌تواند سبب افزایش بازده استفاده از نیتروژن در دام نیز گردد.

میلی گرم در روز) در گاوهای شیری هلشتاین باعث کاهش معنی‌دار آلانتوئین در ادرار شد. ایشان کاهش آلانتوئین دفعی در ادرار را نشان‌دهنده کاهش فعالیت میکروبی شکمبه بیان کردند. همچنین، مشابه نتایج ما، یانگ و همکاران (۳۹) گزارش کردند که مصرف ۳۳۰ میلی گرم مونسنین در روز در جیره گاوهای شیری اثر معنی‌داری بر نیتروژن میکروبی سنتز شده و بازده سنتز نیتروژن میکروبی نداشت. مونرات و همکاران (۲۳) نیز مقدار ۲۵ میلی گرم مونسنین به ازای هر کیلوگرم از ماده خشک جیره در گوساله‌های نر پرواری به کار بردند و مشاهده نمودند که نیتروژن میکروبی سنتز شده و بازده سنتز نیتروژن میکروبی تغییر معنی‌داری نشان نداد.

اما برخلاف نتایج ما، فویکلانگ و همکاران (۱۰) گزارش کردند که مصرف ۳۳ میلی گرم مونسنین به ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره گاوهای نر، اثری بر آلانتوئین دفعی، نیتروژن میکروبی سنتز شده و بازده سنتز نیتروژن میکروبی نداشت. همچنین، تحقیقات تیوند و جونی (۳۷) نشان داد که مصرف لازالوسید در جیره گوسفندان، سنتز پروتئین میکروبی را به طور معنی‌داری کاهش داد. آنها گزارش کردند که اضافه کردن مقدار صفر، ۲۱ و ۴۳ میلی گرم لازالوسید به ازای هر کیلوگرم از ماده خشک جیره گوسفندان سبب شد که نیتروژن میکروبی سنتز شده به ترتیب ۱۴/۲، ۱۲/۳ و ۱۱/۲ گرم در روز باشد.

در رابطه با اثر همزمان تغییر شکل فیزیکی دانه غلات و مصرف مونسنین بر نیتروژن اوره‌ای ادرار، بیان شده است که مصرف مونسنین باعث کاهش تولید آمونیاک در شکمبه شده و به تبع آن، جذب آمونیاک به خون کاهش یافته و مقدار اوره ادرار کاهش نشان می‌دهد. همچنین، تغییر شکل فیزیکی دانه غلات، سبب بهبود استفاده از نشاسته در شکمبه شده و راندمان استفاده از نیتروژن در شکمبه از این طریق افزایش یافته و در نهایت دفع نیتروژن اوره‌ای ادرار کاهش می‌یابد (۶). بیان شده است که تفاوت در بازده سنتز پروتئین میکروبی می‌تواند تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی از قبیل نوع جیره، محیط شکمبه، نسبت علوفه به کنسانتره، منبع نیتروژن و کربوهیدرات، سرعت رقت شکمبه و تعداد دفعات خوراک‌دهی باشد که اثرات خیلی از عوامل فوق هنوز اثبات نشده است (۴۰).

نتایج مربوط به غلظت گلوکز و اوره پلاسما در ساعات صفر و ۵ بعد از خوراک‌دهی صبح در جدول ۶ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌گردد، اثر تغییر شکل فیزیکی دانه جو، مصرف مونسنین و ترکیب تیمارهای آزمایشی بر غلظت گلوکز و اوره خون معنی‌دار نبود. اندازه‌گیری نیتروژن اوره‌ای و گلوکز خون به ترتیب به عنوان شاخصی از وضعیت پروتئین و انرژی در بدن حیوانات محسوب می‌شود (۱۵) و

جدول ۵ - مقدار آلانتوئین دفع شده، نیتروژن و پروتئین میکروبی سنتز شده، بازده سنتز نیتروژن میکروبی و نیتروژن ادرار در تیمارهای آزمایشی

Table 5- Allantoin excretion, microbial nitrogen and protein synthesis, efficiency of microbial nitrogen and urinary urea nitrogen in the experimental treatments

		آلانتوئین دفع شده	نیتروژن میکروبی سنتز شده	پروتئین میکروبی سنتز شده	بازده سنتز نیتروژن میکروبی *	نیتروژن ادرار
		Allantoin excretion (g/dL)	Microbial nitrogen synthesis (g/day)	Microbial protein synthesis (g/day)	Efficiency of microbial nitrogen (g/kg DOMI)	Urinary urea N(g/day)
اثر شکل فیزیکی Physical form	دانه جو معمولی	0.27 ± 0.03	5.28 ± 0.09	33.00 ± 0.56	9.50 ± 0.93	3.20 ± 0.25
	دانه جو پرک شده	0.29 ± 0.02	5.69 ± 0.13	35.56 ± 0.81	10.90 ± 0.91	2.63 ± 0.11
	Cracked barley					
	SEM *	0.022	0.346	2.163	0.839	0.328
اثر موننسن Monensin	بدون موننسن	0.32 ^a ± 0.07	5.74 ± 1.18	35.88 ± 3.38	10.66 ± 2.23	2.60 ± 1.21
	با موننسن	0.23 ^b ± 0.08	5.23 ± 1.10	32.69 ± 3.88	9.74 ± 2.80	3.03 ± 1.36
	With Monensin					
	SEM	0.022	0.346	2.163	0.839	0.328
اثر تیمارها ^۱ Treatments	تیمار ۱	0.32 ± 0.03	5.48 ± 1.00	34.25 ± 4.25	10.14 ± 2.20	2.69 ± 1.20
	تیمار ۲	0.22 ± 0.08	5.07 ± 0.80	31.69 ± 4.00	8.86 ± 1.40	3.71 ± 1.50
	تیمار ۳	0.33 ± 0.10	5.99 ± 1.20	37.44 ± 3.75	11.19 ± 2.20	2.52 ± 1.20
	تیمار ۴	0.24 ± 0.07	5.29 ± 1.30	33.06 ± 4.13	10.62 ± 3.60	2.75 ± 1.00
	Treatment 4					
	SEM	0.031	0.490	3.215	1.186	0.443
	P-value	0.4418	0.1379	0.1251	0.2231	0.1051
Physical form (P)						
موننسن		0.0010	0.1400	0.1515	0.2415	0.0571
Monensin (M)						
تیمارها		0.4420	0.8474	0.8009	0.9010	0.1609
Treatments						
شکل فیزیکی × موننسن		0.3303	0.4298	0.3942	0.2974	0.3388
P × M						

* بازده سنتز نیتروژن میکروبی (گرم بر کیلوگرم ماده آلی قابل هضم خورده شده)

^۱ تیمارهای آزمایشی به ترتیب: ۱) دانه جو معمولی بدون موننسن، ۲) دانه جو معمولی با موننسن، ۳) دانه جو پرک شده بدون موننسن، ۴) دانه جو پرک شده با موننسن. حروف غیر مشابه در هر ستون و هر بخش نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح خطای ۵ درصد می باشد.

* Efficiency of microbial nitrogen (g/kg digestible organic matter intake)

1- Treatments included: 1) Whole barley grain without Monensin, 2) Whole barley grain with Monensin, 3) Cracked barley grain without Monensin and 4) Cracked barley grain with Monensin.

* SEM: Standard error of mean. Means with different superscript letters in columns are significantly different (P<0.05).

جدول ۶ - غلظت گلوکز و اوره پلاسما در ساعات مختلف پس از خوراک دهی صبح در گوسفندان تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی

Table 6- Glucose and urea concentration in plasma at various hours after the morning feeding in the sheep fed with experimental treatments

		گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر) Glucose (mg/dL)		اوره (میلی گرم بر دسی لیتر) Urea (mg/dL)	
		ساعت صفر Hour 0	ساعت ۵ Hour 5	ساعت صفر Hour 0	ساعت ۵ Hour 5
اثر شکل فیزیکی Physical form	دانه جو معمولی Whole barley	65.70 ± 3.69	67.18 ± 3.89	16.37 ± 0.97	15.55 ± 0.96
	دانه جو پرک شده Cracked barley	64.87 ± 3.90	69.77 ± 4.02	15.24 ± 1.24	15.91 ± 1.36
	SEM *	1.581	1.718	1.067	1.037
اثر موننسن Monensin	بدون موننسن Without Monensin	63.89 ± 8.59	69.49 ± 6.32	16.39 ± 4.25	17.00 ± 4.17
	با موننسن With Monensin	66.68 ± 7.92	67.46 ± 7.42	15.23 ± 4.25	14.45 ± 3.33
	SEM	1.581	1.718	1.067	1.037
اثر تیمارها ^۱ Treatments	تیمار ۱ Treatment 1	63.52 ± 8.58	67.50 ± 4.00	17.05 ± 4.86	17.06 ± 4.86
	تیمار ۲ Treatment 2	67.88 ± 7.33	66.86 ± 4.05	15.70 ± 2.65	14.04 ± 2.65
	تیمار ۳ Treatment 3	64.26 ± 9.16	71.48 ± 7.71	15.74 ± 3.62	16.94 ± 3.62
	تیمار ۴ Treatment 4	65.48 ± 8.51	68.06 ± 10.07	14.75 ± 3.63	14.87 ± 3.63
	SEM	2.236	2.430	1.509	1.466
P-value	شکل فیزیکی Physical form (P)	0.8490	0.1892	0.8979	0.4966
	موننسن Monensin (M)	0.0705	0.2403	0.4440	0.0875
	تیمارها Treatments	0.7105	0.2725	0.5960	0.0910
	شکل فیزیکی × موننسن P × M	0.3119	0.2747	0.4215	0.2509

^۱ تیمارهای آزمایشی به ترتیب ۱) دانه جو معمولی بدون موننسن، ۲) دانه جو معمولی با موننسن، ۳) دانه جو پرک شده بدون موننسن ۴) دانه جو پرک شده با موننسن حروف غیر مشابه در هر ستون و هر بخش نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح خطای ۵ درصد می باشد.

1- Treatments included: 1) Whole barley grain without Monensin, 2) Whole barley grain with Monensin, 3) Cracked barley grain without Monensin and 4) Cracked barley grain with Monensin.

* SEM: Standard error of mean. Means with different superscript letters in columns are significantly different (P<0.05).

پروپیونیک، اسکلت کربنی اسیدهای آمینه دامینه شده در شکمبه و گلیسرول حاصل از شکستن تری گلیسریدها می باشد. همان طور که ذکر شد، موننسن سبب افزایش نسبت مولار اسید پروپیونیک در شکمبه می شود. افزایش تولید اسید پروپیونیک ممکن است در گلوکونئوزن مورد استفاده قرار گیرد و در نتیجه در مصرف اسیدهای آمینه برای تولید گلوکز (دامینه شدن آنها) صرفه جویی شود (۱۳). همچنین، موننسن با کاهش فعالیت باکتری های پروتئولیتیک سبب

در رابطه با اثر تغییر شکل فیزیکی دانه غلات همراه با مصرف موننسن، نوسو و همکاران (۲۶) مقادیر صفر و ۳۰ میلی گرم موننسن به ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره را به همراه دو نوع دانه ذرت (فلیک شده در مقابل پرک شده) در گوساله های از شیر گرفته به کار بردند و بیان کردند که غلظت گلوکز خون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. سوبسترای اصلی برای ساخت گلوکز در بدن شامل اسید

کاهش تولید آمونیاک و کاهش دامینه شدن اسیدهای آمینه خوراک در شکمبه شده و از این طریق می‌تواند سبب کاهش اوره خون شود (۱۱).
دانه جو (پرک کردن) سبب افزایش قابلیت هضم اجزای جیره، ابقاء نیتروژن در بدن و سنتز پروتئین میکروبی نشد. اما مصرف مونسنین در جیره (علی‌رغم اینکه اثری بر قابلیت هضم نداشت) باعث کاهش آلانتوئین دفع شده گردید.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که تغییر شکل فیزیکی

منابع

1. Afshar, S., M. Kazemi-Bonchenari, and H. R. Ferdowsi. 2015. Effect of feeding whole or cracked barley grain accompanied by soybean meal or urea on nutrients digestibility and parameters of rumen in Mehraban sheep. *Research on Animal Production*, 6(11):102-107.
2. Allen, J. D., and D. G. Harrison. 1979. The effect of dietary monensin upon digestion in the stomachs of sheep. *Proceedings of the nutrition society*, n.38, p.32A.
3. AOAC, 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Association of official analytical chemists. Wilson Blvd, Arlington, VA 22201-3301 USA.
4. Armstrong, D. G. 1972. Development in cereal processing, ruminants. in: *Cereal processing and digestion*. Published by the U.S. Feed Grains Council, London; England, Pp: 9-37.
5. Babaei, M., Y. Chashnidel, and E. Dirandeh. 2016. Effect of cobalt and barley grain processing on performance, digestibility of nutrients and rumen and blood parameters in fattening lambs. *Animal Production Research*, 5(1):1-13.
6. Beckett, S., I. Lean, R. Dyson, W. Tranter, and L. Wade. 1998. Effects of monensin on the reproduction, health, and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81:1563-1573.
7. Blood, D. C., and V. P. Studdert. 1999. *Saunders comprehensive veterinary dictionary*. Published by Saunders Ltd., Better World Books: West (Reno, NV, U.S.A.).
8. Chen, X. B., and M. J. Gomes. 1995. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- an overview of the technical details. Occasional Publication 1992. International Feed Resources Unit, Rowett Research Institute, Aberdeen, UK.
9. Davies, K. L., J. J. McKinnon, and T. Mutsvangwa. 2013. Effects of dietary ruminally degradable starch and ruminally degradable protein levels on urea recycling, microbial protein production, nitrogen balance, and duodenal nutrient flow in beef heifers fed low crude protein diets. *Canadian Journal of Animal Science*, 93:123-136.
10. Foiklang, S., M. Wanapat, and T. Norrapoke. 2016. Effect of grape pomace powder, mangosteen peel powder and monensin on nutrient digestibility, rumen fermentation, nitrogen balance and microbial protein synthesis in dairy steers. *Asian Australas Journal of Animal Sciences*, 29(10):1416-1423.
11. Gracla, C. C. G., M. G. D. Mendoza, M. S. Gonzalez, P. M. Cobos, C. M. E. Ortega, and L. R. Ramirez. 2000. Effect of yeast culture (*Sachromyces cervisiae*) and monensin on ruminal fermentation and digestion in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 83:165-170.
12. Hodjatpanah, A. A., M. Danesh-Mesgaran, and A. R. Vakili. 2010. Effects of diets containing monensin, garlic acid or turmeric powder on ruminal and blood metabolite responses of sheep. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(24):3104-3108.
13. Keyvanloo-Shahrestanaki, M., T. Ghoorchi, S. Hassani, and Y. Jafari-Ahangari. 2008. The effect of different levels of monensin on finishing performance and blood metabolites in Moghani lambs. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 15(3):109-118.
14. Kholesizadeh, A., A. R. Vakili, M. Danesh Mesgaran, and R. Valizadeh. 2011. The effects of garlic oil (*Allium sativa*), turmeric powder (*Curcuma iongalinn*) and monensin on total apparent digestibility of nutrients in Baloochi lambs. *International Journal of Biological, Bimolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 5(11):791-793.
15. Khalid, M. F., M. Sarwar, A. U. Rehman, M. A. Shahzad, and N. Mukhtar. 2012. Effect of dietary protein sources on lamb's performance: A review. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 2(2):111-120.
16. Kiran, D., and T. Mutsvangwa. 2007. Effects of barley grain processing and dietary ruminally degradable protein on urea nitrogen recycling and nitrogen metabolism in growing lambs. *Journal of Animal Science*, 85:3391-3399.
17. Lean, I. J., L. Wade, and S. D. Bechet. 1997. Bovine somatotropin and monensin: Emerging technologies. Department of animal science, University of Sydney, Australia.
18. Martineau, R., C. Benchaar, H. V. Petit, H. Lapierre, D. R. Ouellet, D. Pellerin, and R. Berthiaume. 2007. Effects of lasalocid or monensin supplementation on digestion, ruminal fermentation, blood metabolites, and milk

- production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90:5714-5725.
19. Matras, J., S. J. Bartle, and R. L. Preston. 1991. Nitrogen utilization in growing lambs: effect of grain (starch) and protein sources with various rates of ruminal degradation. *Journal of Animal Science*, 69:339-347.
 20. McGuffey, R. K., L. F. Richardson, and J. I. D. Wilkinson. 2001. Ionophores for dairy cattle: Current status and future outlook. *Journal of Dairy Science*, 84:194-203.
 21. McDonald, P., A. R. Edwards, J. F. D. Greenhalp, and C. A. Morgan. 2002. *Animal nutrition*. (6th Ed), Prentice Hall, London.
 22. Mohammadi, V., E. Anassori, and S. Jafari. 2016. Measure of energy related biochemical metabolites changes during peri-partum period in Makouei breed sheep. *Veterinary Research Forum*, 7(1): 35-39.
 23. Monnerat, J. P. I. D. S., P. V. R. Paulino, E. Detmann, S. C. V. Filho, R. D. F. Valadares, and M. S. Duarte. 2013. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and monensin on digestion, ruminal parameters, and balance of nitrogenous compounds of beef cattle fed diets with different starch concentrations. *Tropical Animal Health and Production*, DOI 10.1007/s11250-013-0356-9.
 24. Nagaraja, T. G., T. B. Avery, E. E. Bartley, S. J. Galitzer, and A. D. Dayton. 1981. Prevention of lactic acidosis in cattle by lasalocid or monensin. *Journal of Animal Science*, 53(1):206-216.
 25. National Research Council. 1985. *Nutrient requirements of sheep*. 6th Revised Edition, National Academy Press, Washington, D.C, USA.
 26. Nussio, C. M. B., F. A. P. Santos, M. Zopollatto, A. V. Pires, and J. B. Morais. 2003. Corn Processing (steam flaked vs. steam rolled) and monensin for pre and post early weaning dairy calves. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32(1):229-239.
 27. Owaimer, A. N., M. S. Kraidees, M. Al-Saiady, S. Zahran, and M. A. Abouheif. 2003. Effects of feeding monensin in combination with zeranol implants on performance, carcass traits and nutrient digestibility of growing lambs. *Asian Australasian Journal of Animal Science*, 16(9):1274-1279.
 28. Owens, F. N., R. A. Zinn, and Y. K. Kim. 1986. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *Journal of Animal Science*, 63(5):1634-1648.
 29. Poos, M. I., T. L. Hanson, and T. J. Klopfenstein. 1979. Monensin effects on diet digestibility, ruminal protein bypass and microbial protein synthesis. *Journal of Animal Science*, 48:1516-1524.
 30. Puchala, R., and G. W. Kulasek. 1992. Estimation of microbial protein flow from the rumen of sheep using microbial nucleic acid and urinary excretion of purine derivatives. *Canadian Journal of Animal Science*, 72: 821-830.
 31. Rys, R., A. Antoniewicz, and J. Maciejewicz. 1975. Allantoin in urine as an index of microbial protein in the rumen. In *tracer studies on non-protein-nitrogen for ruminants* (2), Pp: 95-98. Vienna: International Atomic Energy Authority.
 32. SAS. 1999. *The SAS System for Windows*. Release 8.0.1. SAS Institute Inc, Cary, USA.
 33. Shiasi, H., A. D. Foroozandeh, and P. Shakeri. 2015. Effects of different levels and physical form of corn and wheat grains in the starter diet on growth of dairy calves. *Journal of Ruminant Research*, 2(4):69-85.
 34. Silva, F. G. B., S. M. Yamamoto, E. M. S. D. Silva, M. A. A. Queiroz, L. A. Gordiano, and M. A. Formiga. 2015. Propolis extract and sodium monensin on ruminal fermentation and hematological parameters in sheep. *Actascientiarum. Animal Sciences*, 37(3):273-280.
 35. Thammacharoen, S., S. Chanpongsang, and N. Chaiyabutr. 2001. Effects of monensin administration on mammary function in late lactating crossbred Holstein cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 14(12):1712-1718.
 36. Theurer, C. B. 1986. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. *Journal of Animal Science*, 63:1649-1662.
 37. Thivend, P., and J. P. Jouany. 1983. Effect of lasalocid sodium on rumen fermentation and digestion in sheep. *Reproduction Nutrition Development*, 23(5):817-828.
 38. Tothi, R., P. Lund, M. R. Weisbjerg, and T. Hvelplund. 2003. Effect of expander processing on fractional rate of maize and barley starch degradation in the rumen of dairy cows estimated using rumen evaluation and *in situ* techniques. *Animal Feed Science and Technology*, 104:71-94.
 39. Yang, W. Z., C. Benchaar, B. N. Ametaj, A. V. Chaves, M. L. He, and T. A. McAllister. 2007. Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 90:5671-5681.
 40. Yu, P., A. R. Egan, L. Boon-ek, and B. J. Leury. 2002. Purine derivative excretion and ruminal microbial yield in growing lambs fed raw and dry roasted legume seeds as protein supplements. *Animal Feed Science and Technology*, 95:33-48.
 41. Zinn, R. A., and J. L. Borques. 1993. Influence of sodium bicarbonate and monensin on utilization of a fat supplemented, high energy growing finishing diet by feedlot steers. *Journal of Animal Science*, 71:18-25.
 42. Zinn, R. A., A. Plascencia, and R. Barajas. 1994. Interaction of forage level and monensin in diets for feedlot cattle on growth performance and digestive function. *Journal of Animal Science*, 72:2209-2215.



Mehraban Sheep Response to Monensin Applied and Physical Form of Barley Grain- Emphasis on Protein Metabolism

Sh. Najafi¹- M. M. Tabatabaei²- Kh. Zaboli^{3*}- A. A. Saki⁴- A. Ahmadi³

Received: 15-07-2017

Accepted: 13-11-2017

Introduction In ruminants, dietary manipulation such as applying feed additive or increasing fermentable carbohydrate in diet, improve rumen fermentation and enhance animal performance. Monensin, as a feed additive, increases propionate production, decreases ammonia production and protein degradation in rumen, this lead to improving energy and protein utilization. In addition, grain processing effects on starch fermentation; this could be increasing availability of energy for ruminal microorganisms. One of these processing methods is cracking barley grain. Since, monensin may be influenced on this processing and starch fermentation pattern, therefore the aim of this study, was evaluated the effects of monensin applied in diet and grain processing (cracked barley grain) on nutrients digestibility and protein metabolism in Mehraban sheep.

Materials and Methods In this trial, 24 Mehraban male sheep with an average body weight of 52.98 ± 6.15 kg were used on 2×2 factorial experiment in a completely randomized design. Experimental factors were included the effects of monensin (diets containing monensin vs. without monensin) and physical form of barley grain (whole grain vs. cracked grain) as fallowing explanation. Sheep were kept in individual stalls for compatibility to the new environment and experimental conditions for 7 days. Then, were randomly divided into 4 groups (treatments) based on body weight and transferred to metabolic cages to determine the nutrients digestibility and nitrogen retention. The treatments were: Barley grain, Barley grain + monensin, cracked barley grain and cracked barley grains + monensin. Monensin was added to the related treatments in 30 mg per kg of feed intake. Determination of nutrients digestibility was conducted by directly collection of feces (in vivo method) for 14 days (the feces and urine samples were taken at the 7 final days). The experimental diets (40% forage and 60% concentrate) were offered twice in daily at morning (8:00 h) and evening (16:00 h). Urinary nitrogen, allantoin excretion, and chemical composition of feeds and feces (dry matter, organic matter, crude protein, ether extract, crude fiber and nitrogen free extract) were determined. Microbial protein synthesis was estimated by measuring the urinary allantoin excretion. Blood samples were taken on the final day (at 0 and 5 hours after the morning feeding) for determination of plasma glucose and urea concentration.

Results and Discussion The results have shown that the physical form of barley grain significantly decreased dry matter and organic matter digestibility ($P < 0.05$). Dry matter and organic matter digestibility in treatments with whole barley grain were 73.82 and 74.94 and in treatments with cracked barley grain were 71.58 and 72.84 percentage, respectively. Other nutrients digestibility (crude protein, ether extract, crude fiber and nitrogen free extract) were not affected by physical form of barley grain. Also, using of monensin and physical form of barley grain had no effect on dry matter and nutrients digestibility. Nitrogen metabolism parameters (nitrogen intake and % nitrogen in feces, urine and retention) were not affected by physical form of barley grain. Since, crude protein percentage in all treatments was equal, and dry matter intake was adjusted based on animal body weight and was in a similar range, therefore the nitrogen intake was similar in all treatments and there was no differences between them. But, % nitrogen retention significantly was increased by monensin using ($P < 0.05$) and its amount were 21.23 and 26.33 (% of N intake) for treatments with and without monensin, respectively. Monensin prevents the ruminal proteolytic bacteria, and decreases ammonia production and deamination of amino acids in rumen. Thus, it prevents the loss of protein in the rumen, which result is increasing nitrogen retention. Allantoin excretion, microbial nitrogen synthesis, efficiency of microbial nitrogen and urinary urea were similar in the treatments with whole barley grains and cracked barley grains and there were no significant

1- M.Sc. graduated, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

2- Associate Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

3- Assistant Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

4- Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

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

differences between them. Using of monensin significantly decreased allantoin excretion ($P<0.05$) and its value were 0.32 and 0.23 g/dl in treatments with and without monensin, respectively. Plasma glucose and urea concentrations (at 0 and 5 hours after the morning feeding) were not affected by the physical form of barley grain, monensin and treatments response. Plasma glucose and urea concentrations were 63.52, 67.88, 64.26, 65.48 mg/dl and 17.05, 15.70, 15.74, 14.75 mg/dl for treatments 1, 2, 3 and 4 at 0 hour after morning feeding, respectively. These parameters were 67.50, 66.86, 71.48, 68.06 mg/dl and 17.06, 14.04, 16.94, 14.87 mg/dl at 5 hour after morning feeding, respectively.

Conclusion Generally, nutrients digestibility, nitrogen retention and microbial nitrogen synthesis were not increased by physical form of barley grain. But, increased nitrogen was found by monensin in the sheep.

Keywords: Barley grain, Cracked barley, Digestibility, Monensin, Nitrogen retention



تعیین خصوصیات آنتی اکسیدانی، ارزش غذایی و قابلیت هضم شکمبه‌ای - روده‌ای برگ بنه (*Pistacia atlantica*) به روش کیسه‌های نایلونی

فاطمه گنجی^۱ - مسلم باشتی^{۲*} - همایون فرهنگ‌فر^۳ - سیداحسان غیانی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۰۲

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی ارزش غذایی، خصوصیات آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنولی برگ بنه در مراحل مختلف رشد و همچنین قابلیت هضم شکمبه‌ای - روده‌ای برگ بنه به روش کیسه‌های نایلونی انجام شد. برگ بنه طی سه مرحله از کوهپایه‌های اطراف شهرستان بیرجند جمع‌آوری و خشک گردید. ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری، مقدار کل ترکیبات فنولی، تانن و فعالیت آنتی اکسیدانی به‌وسیله ۲،۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه‌گیری شد. با پیشرفت مرحله رشد درصد ماده خشک، چربی خام، NDF و ADF افزایش یافت. در مراحل اولیه رشد بیشترین میزان ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی مشاهده شد. مقدار کل ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدان کل برگ بنه در پایان مرحله رشد به‌ترتیب ۵/۳۶ و ۸۳/۲۷ درصد گزارش شد. بیشترین اسید چرب غیراشباع برگ بنه اسید لینولنیک به میزان ۲۶/۵۴ درصد گزارش شد. بخش سریع تجزیه ماده خشک برگ بنه ۲۸/۰۳ درصد و تجزیه‌پذیری مؤثر آن در نرخ عبور ۰/۰۴، ۰/۰۶ و ۰/۰۸ به‌ترتیب ۴۸/۲۹، ۴۳/۳۹ و ۴۰/۴۰ درصد بود. کمترین نرخ تجزیه‌پذیری (C) در مورد پروتئین خام دیده شد (۰/۱۳۷). قابلیت هضم ماده خشک در کل دستگاه گوارش بیشتر از قابلیت هضم پروتئین خام بود. برگ بنه به دلیل دارا بودن اسید لینولنیک به‌عنوان یک منبع امگا-۳ و نیز ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی بالا دارای ارزش غذایی بالایی است و می‌توان در جیره‌نویسی دام‌ها به منظور غنی‌سازی و افزایش پایداری اکسیداتیو محصولات دامی نظیر شیر و گوشت، از این اطلاعات بهره برد.

واژه‌های کلیدی: آنتی اکسیدان، برگ بنه، تجزیه‌پذیری، کیسه‌های نایلونی، مرحله رشد

مقدمه

مورد استفاده قرار گرفتن نیتروژن برای نشووارکنندگان و میکروارگانیسم‌های آن ارائه می‌دهد (۴۷). بنه درختی مرتفع با ارتفاع ۲ تا ۷ متر و عمری طولانی از جمله گونه‌های وحشی پسته با نام علمی *Pistacia atlantica* می‌باشد که انتشار آن از جزایر قناری و کشورهای ساحل دریای مدیترانه شروع می‌شود و تا آسیای صغیر، سوریه، قفقاز، ایران، افغانستان و پاکستان امتداد می‌یابد. بنه در ایران در حد فاصل استان‌های فارس و کردستان به‌صورت انبوه و در بقیه نقاط کشور به‌صورت پراکنده دیده می‌شود (۴۸). در مناطق کوهستانی ایران، به‌ویژه دامنه‌های زاگرس درخت بنه به وفور یافت می‌شود (۱۹). به‌طوری که حدود ۲/۵ میلیون هکتار از جنگل‌های ایران، جنگل‌های بنه هستند. این درخت به‌طور معمول مقاومت بالایی در شرایط نامناسب و سخت اقلیمی را داراست که ویژگی خاصی برای آن محسوب می‌گردد (۵۱). گیاه بنه بسته به شرایط محیطی و ژنتیکی غنی از ترکیبات فنلی می‌باشد (۱۶). عصاره بنه دارای خواص احیاءکنندگی بسیار بالایی می‌باشد (۸). سه وارسته برای بنه شناسایی شده است که عبارتند از: موتیکا، کردیکا و کابولیکا. رایج‌ترین وارسته بنه در ایران موتیکا می‌باشد که بیش از ۹۵ درصد درختان بنه را

قیمت بالای خوراک در تغذیه دام، دامپروران را به سوی منابع ارزان قیمت خوراکی همچون سرشاخه‌ها و برگ‌های درختان سوق داده است. چوپانان و دامپروران در فصل خزان و در موقع کمبود علوفه در طبیعت با تکان دادن برگ‌های این درختان خوراک مورد نیاز دام‌های خود را فراهم می‌سازند (۲۰). برای استفاده بهتر و مطمئن‌تر از تولیدات زراعی بهتر است که آنها مورد ارزیابی تغذیه‌ای قرار گیرند. اگرچه عملکرد دام بهترین شاخص ارزیابی کیفیت خوراک است. اما انجام آزمایشات به روش درون تنی خیلی گران است و کار و زحمت زیادی می‌طلبد (۹). روش کیسه‌های نایلونی پیش‌بینی نسبتاً خوبی از مصرف و هضم خوراک را فراهم می‌سازد و اطلاعات خوبی در زمینه

۱- دانشجوی دکتری تغذیه دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

۳- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

۴- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

(Email: mbashtani@birjand.ac.ir

*) نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/ijasr.v10i4.66327

ترکیب آنتی اکسیدان، از رنگ بنفش به زرد تغییر رنگ می دهد. بنابراین هرچه بر ماده آنتی اکسیدانت افزوده شود و یا ماده دارای قدرت آنتی اکسیدانی بیشتری باشد DPPH بیشتری مصرف شده و رنگ بنفش بیشتر به رنگ زرد متمایل می شود.

میزان ۰/۵ میلی لیتر از عصاره استونی برگ بنه به ۱/۵ میلی لیتر محلول متانولی ۰/۱ میلی مولار DPPH اضافه گردید. نمونه ها برای ۶۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شدند. جذب محلول های حاصله و بلانک بعد از این مدت زمان در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و درصد بازدارندگی به وسیله فرمول زیر محاسبه گردید.

$$RSC = 100 * (A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}) \quad (۱)$$

که A_{sample} و A_{blank} به ترتیب میزان جذب نوری شاهد و نمونه می باشد.

ترکیب اسید چرب برگ بنه با استفاده از روش گاز کروماتوگرافی اندازه گیری شد (AOAC ۲۰۰۵).

تعیین فراسنجه های تجزیه پذیری برگ بنه حاصله از مرحله سوم (مرحله رسیدگی کامل) با استفاده از روش کیسه های نایلونی (۴۶) و دو رأس گاو دارای فیستولای شکمبه ای که در سطح نگهداری تغذیه می شدند انجام شد. جیره گاوها حاوی ۷۰ درصد علوفه و ۳۰ درصد کنسانتره (شامل ۳۵ درصد دانه جو، ۱۸ درصد دانه درت، ۱۰ درصد کنجاله سویا، ۱۵ درصد کنجاله کلزا، ۱۱/۵ درصد سیوس گندم، ۷ درصد ملاس، ۱ درصد مکمل معدنی-ویتامینی، ۲ درصد پودر صدف و ۰/۵ درصد نمک (بر حسب ماده خشک) بود که در دو نوبت صبح و عصر در اختیار حیوانات قرار گرفت.

به منظور تعیین روند تجزیه پذیری، ابتدا مقدار ۵ گرم از نمونه آسیاب شده داخل کیسه های نایلونی از جنس الیاف پلی استر مصنوعی به ابعاد ۱۵×۱۰ سانتی متر و قطر منافذ ۵۰ میکرومتر ریخته شد و کیسه ها (۶ تکرار) به مدت ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت در شکمبه انکوباسیون شدند. برای زمان صفر، کیسه ها تنها با آب سرد شسته شدند، به طوری که آب زلال از آن ها خارج گردید. کیسه های حاوی نمونه پس از خروج از شکمبه با آب شستشو داده شدند، سپس کیسه ها با استفاده از آون تحت خلا در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید. میزان ناپدید شدن ماده خشک با توجه به اختلاف مقدار ماده خشک نمونه ها قبل و بعد از انکوباسیون محاسبه شد. همچنین میزان تجزیه پذیری پروتئین خام نمونه ها با توجه به میزان ماده خشک باقیمانده و تعیین میزان پروتئین خام قبل و بعد از انکوباسیون نمونه ها توسط دستگاه کج لال، محاسبه گردید.

برای تخمین ضرایب a، b و c از معادله ارسکوف و مکدونالد (۱۹۷۹) استفاده شد.

$$P = a + b(1 - e^{-ct}) \quad (۲)$$

به خود اختصاص داده است (۱۹). اخیراً استفاده از ترکیبات فنلی موجود در گیاهان به دلیل ویژگی های بالقوه آنتی اکسیدانی و اثرات سلامتی بخش، به ویژه هنگامی که این ترکیبات در مقادیر بالا در مواد غذایی حضور دارند، افزایش یافته است (۳ و ۱۳). متابولیت های ثانویه مشتق از گیاهان مانند فنل و فلاونوئید تام مشتق از گیاهان دارای پتانسیل قوی برای پاک سازی رادیکال های آزاد می باشند که در تمام قسمت های مختلف گیاهی مانند برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند (۳۸). هدف از این پژوهش، تعیین ارزش غذایی، خصوصیات آنتی اکسیدانی و قابلیت هضم شکمبه ای - روده ای برگ بنه (*Pistacia atlantica*) به روش برون تنی بود.

مواد و روش ها

این مطالعه در ایستگاه تحقیقاتی دامپروری و آزمایشگاه تغذیه دام دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند انجام شد. در این آزمایش برگ بنه طی سه مرحله (ابتدای فصل رویش، اواسط و انتهای فصل رویش) از کوهپایه های اطراف شهرستان بیرجند جمع آوری و در درجه حرارت محیط و بدون تابش مستقیم نور خورشید خشک گردید. به منظور کم کردن اثرات جانبی محل، در هر یک از شیب های شمالی، جنوبی، شرقی و غربی چند اصله درخت انتخاب شد و پس از نشانه گذاری، برگ بنه طی سه مرحله (ابتدای فصل رویش، اواسط و انتهای فصل رویش) برداشت و خشک گردید. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از: ۱- برگ بنه ابتدای فصل رویش، ۲- برگ بنه اواسط فصل رویش، و ۳- برگ بنه انتهای فصل رویش. سپس نمونه های هواخشک، آسیاب و با توری ۲ میلی متری الک شد و برای انجام مراحل بعدی از این نمونه ها استفاده شد. تجزیه تقریبی نمونه های حاصل از جمله ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر به روش AOAC (۲۰۰۵) تعیین شد. الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی به روش ون سوست (۱۹۹۱) و با کمک دستگاه آنکوم اندازه گیری شد. برای تعیین انرژی خام برگ بنه از دستگاه بمب کالریمتر (مدل PARR 1266 کشور آمریکا) استفاده شد. مقدار کل ترکیبات فنولی توسط روش فولین سیوکالتو (۳۶) اندازه گیری شد. مقدار کل تانن از طریق محاسبه میزان اختلاف ترکیبات فنولی قبل و بعد از واکنش با پلی وینیل پلی پیرولیدون محاسبه شد (۳۳). تانن متراکم توسط روش پورتر و همکاران (۱۹۸۶) اندازه گیری شد. با کسر میزان تانن متراکم از تانن کل، تانن قابل هیدرولیز به دست آمد. برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی به وسیله ۲، ۲- دی فنیل -۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) از روش ترکمن و همکاران (۲۰۰۶) استفاده شد. DPPH ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل وجود گروه های فنیل در ساختارش به راحتی به صورت رادیکال درآمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می باشد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از

که در این معادله:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad (۶)$$

Y_{ij} = مقدار هر مشاهده، μ = میانگین کل، T_i = اثر تیمار، e_{ij} = اثر خطای آزمایشی

P = مقدار ناپدید شدن در زمان t ، a = بخش سریع تجزیه
 b = بخش کند تجزیه، c = ثابت نرخ تجزیه و t = مدت زمان

انکوباسیون در شکمبه (ساعت) می‌باشد.

جهت تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای و پس از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام با استفاده از روش *in situ* و دستگاه شبیه‌ساز هضم (*in vitro*)، مقدار ۵ گرم نمونه داخل کیسه‌های پلی‌استری با ابعاد 10×15 سانتی‌متر و با قطر منافذ ۵۰ میکرون ریخته شد و کیسه‌ها به مدت ۱۶ ساعت در شکمبه انکوباسیون شدند. پس از خروج کیسه‌ها از شکمبه با آب سرد شسته شدند تا آب زلال از آن‌ها خارج شد. سپس کیسه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون تحت خلا در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک برای هر نمونه از اختلاف وزن نمونه‌ها قبل و بعد از انکوباسیون محاسبه شد. قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام نیز با توجه به میزان ماده خشک باقیمانده و تعیین میزان پروتئین خام قبل و بعد از انکوباسیون نمونه‌ها توسط دستگاه کجل‌دال، محاسبه گردید. از باقیمانده نمونه‌ها جهت تعیین قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام استفاده شد. بر اساس روش گارگالو و همکاران (۲۰۰۶) و با کمک دستگاه شبیه‌ساز هضم^۱، قابلیت هضم روده‌ای تعیین شد.

قابلیت هضم شکمبه‌ای، پس از شکمبه‌ای و کل دستگاه گوارشی ماده خشک و پروتئین خام نمونه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر تعیین شد:

(۳)

وزن نمونه بعد از انکوباسیون شکمبه‌ای - وزن نمونه قبل از انکوباسیون شکمبه‌ای = قابلیت هضم شکمبه‌ای
وزن نمونه قبل از انکوباسیون شکمبه‌ای

(۴)

= قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای

وزن نمونه بعد از انکوباسیون در دستگاه شبیه ساز هضم - وزن نمونه بعد از انکوباسیون شکمبه‌ای
وزن نمونه بعد از انکوباسیون شکمبه‌ای

(۵)

(قابلیت هضم شکمبه‌ای - ۱) × قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای = قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه آماری داده‌های مربوط به ترکیبات شیمیایی و خصوصیات تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام تیمارهای آزمایشی با نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۲) نسخه ۹.۱ در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی کرامر در سطح ۵ درصد خطا انجام شد. مدل آماری طرح به‌صورت زیر می‌باشد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی برگ بنه

نتایج مربوط به ترکیب شیمیایی در سه مرحله رشد در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به اعداد موجود در جدول بیشترین مقدار ماده خشک مربوط به انتهای فصل رویش (۴۹/۴۱ درصد) و کمترین میزان مربوط به ابتدای فصل رویش (۱۹/۵۱ درصد) بود. بیشترین مقدار پروتئین خام مربوط به مرحله اول (اوایل رشد) (۱۶/۴۱ درصد) و کمترین میزان در انتهای فصل رشد (۱۲/۴۰ درصد) مشاهده شد ($P < 0.05$).

در مرحله بلوغ علاوه بر اینکه نسبت برگ‌ها به ساقه کاهش می‌یابد نسبت دیواره سلولی، ساقه و لیگنینی شدن نیز افزایش می‌یابد و میزان پروتئین کاهش می‌یابد (۳۱ و ۳۵). مرحله رشد مهم‌ترین عامل مؤثر بر ترکیب و ارزش غذایی گیاه است (۲، ۱۶، ۳۹ و ۴۳). مرحله رویش گیاه اثر مستقیم بر روی ارزش غذایی آن دارد به طوری که میزان پروتئین خام از حداکثر ۲۱۵ تا ۹۲ گرم در هر کیلوگرم ماده خشک با توجه به مرحله رویش متغیر است (۵۵). اکبریان و کوچکی (۱۹۹۲) بیان می‌کنند که با پیشرفت رشد درصد پروتئین خام کاهش می‌یابد. مشایخی و همکاران (۱۳۹۵) در آزمایشی که روی برگ بنه انجام دادند میزان پروتئین خام آن را ۱۴/۶۲۶ درصد گزارش کردند که به نتایج به‌دست آمده در آزمایش حاضر نزدیک می‌باشد. همچنین نخعی و همکاران (۱۳۹۳) میزان پروتئین خام برگ بنه را در بازه‌های زمانی اردیبهشت تا آبان‌ماه در محدوده ۱۳/۶۶ تا ۱۴/۴۷ درصد گزارش کردند. بهگر و همکاران (۲۰۰۹) میزان پروتئین خام پوسته پسته را 16.21 ± 0.55 درصد گزارش کردند. شجاعیان و کاظمی (۱۳۹۴) میزان پروتئین خام برگ بادام را در محدوده ۸/۱۳-۸/۷۱ درصد گزارش کردند که پایین‌تر از پروتئین خام برگ کهور ایرانی (۹/۲۶ درصد) می‌باشد. مقدار پروتئین خام گونه‌های بلوط از ۳۶/۲ تا ۸۶/۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک گزارش شده است که مقدار پروتئین خام در تمام گونه‌های بلوط از مقدار پروتئین خام برگ بادام کمتر یا مساوی بوده است (۴۲) این اختلاف می‌تواند به‌واسطه شرایط آب و هوایی و خاک باشد (۱۴ و ۲۹). نتایج مربوط به میانگین الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی در سه مرحله رشد آزمایشی در جدول ۱ نشان داده شده است. با پیشرفت مرحله رشد درصد NDF و ADF برگ بنه افزایش یافت. با این وجود اختلاف آماری معنی‌داری بین مراحل رشد مشاهده نشد.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی برگ بنه در مراحل مختلف رشد (درصد ماده خشک)

Table 1- Chemical composition of *Pistacia atlantica* leaf in different stages of growth (% DM)

مورد Case	تیمار* Treatment			P-value	SEM
	1	2	3		
ماده خشک DM	19.51 ^c	45.06 ^b	49.41 ^a	0.0001	0.257
پروتئین خام CP	16.41 ^a	12.51 ^b	12.40 ^{bc}	0.0001	0.112
چربی خام Fat	1.82 ^c	5.62 ^a	3.43 ^b	0.0001	0.139
خاکستر Ash	5.58 ^b	6.19 ^{ab}	7.27 ^a	0.052	0.380
فیبر نامحلول در شوینده خنثی NDF	33.65	33.82	38.04	0.163	2.09
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ADF	16.81	17.00	17.74	0.311	0.840
انرژی خام (کالری بر گرم) GE (cal/g)	4066.44 ^{ab}	4159.05 ^b	3881.96 ^{ac}	0.014	46.369

حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) است.

* ۱: برگ بنه ابتدای فصل رویش ۲: برگ بنه اواسط فصل رویش ۳: برگ بنه انتهای فصل رویش (رسیدگی کامل)

Different letters in each row indicates significant difference ($P < 0.05$).

* 1. Early in the growing season

2. Middle of the growing season

3. End of the growing season

داوطلبانه و هضم را توسط نشخوارکنندگان کوچک افزایش می‌دهد (۱۵).

بیشترین میانگین چربی خام مربوط به مرحله دوم رشد برگ بود (۵/۶۲ درصد) و کمترین میانگین هم در مرحله اول دیده شد (۱/۸۲ درصد) ($P < 0.05$). نخعی و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی فاکتورهای تغذیه‌ای برگ بنه در بازه‌های زمانی مختلف میزان چربی خام برگ بنه را در محدوده ۱ تا ۵ درصد گزارش دادند که به نتایج حاضر نزدیک می‌باشد. در مطالعه‌ای دیگر، میانگین چربی خام پوسته پسته ۶/۳۲ ± ۰/۱۸ درصد گزارش گردید (۶).

بیشترین میانگین خاکستر مربوط به مرحله سوم (۷/۲۷ درصد) و کمترین میانگین مربوط به مرحله اول (۵/۵۸ درصد) بود که دارای تفاوت معنی دار آماری بودند ($P < 0.05$). شجاعیان و کاظمی (۱۳۹۴) میزان خاکستر برگ بادام را در محدوده ۱۸/۱۴ - ۱۵/۲۰ درصد گزارش کردند که به‌طور متوسط دوبرابر میزان خاکستر برگ بنه در مطالعه حاضر بود. اسماعیلی سیرچی و همکاران (۱۳۹۴) میزان خاکستر پوشش مغز پسته را ۶/۲۲ درصد گزارش کردند که به نتایج مطالعه حاضر نزدیک می‌باشد.

بیشترین میانگین انرژی خام در مرحله اول (۴۰۶۶/۴۴) و کمترین میزان در مرحله سوم (۳۸۸۱/۹۶) مشاهده شد. میزان انرژی به‌دست آمده با میزان انرژی گزارش شده برای برگ بنه (۳۵۹۰/۲۴) توسط نخعی و همکاران (۱۳۹۳) مطابقت دارد.

عرفان‌زاده و ارزانی (۲۰۰۳) گزارش دادند با توجه به اینکه گیاهان جوان معمولاً از سلول‌های جوان تشکیل یافته‌اند دارای دیواره سلولی نازک و ظریف می‌باشند. در نتیجه در مرحله رویشی و مراحل ابتدایی رشد مقدار لیگنین، ADF، فیبر خام و سلولز کم بوده ولی همزمان با افزایش سن گیاه دیواره سلولی ضخیم‌تر و خشبی‌تر می‌شود و بر میزان الیاف خام و لیگنین افزوده می‌گردد. به‌طور کلی با افزایش رشد گیاه بر میزان لیگنین و الیاف خام آن افزوده می‌شود. این تغییرات اصولاً حاصل توسعه مواد هیدرات کربنی ساختمانی است که عمدتاً از سلولز، همی سلولز و لیگنین تشکیل می‌شوند و با افزایش حجم گیاه برای دوام آن ضروری است (۴۰). نتایج به‌دست آمده در مورد NDF و ADF برگ بنه با نتایج مشایخی و همکاران (۱۳۹۵) همخوانی دارد. همچنین نخعی و همکاران (۱۳۹۳) میزان NDF و ADF برگ بنه را به‌ترتیب در محدوده ۳۲/۸ تا ۳۴ درصد و ۲۲/۸ تا ۲۴/۳۸ درصد گزارش کردند که به نتایج حاضر نزدیک می‌باشد. شجاعیان و کاظمی (۱۳۹۴) میزان NDF و ADF برگ بادام را به‌ترتیب در محدوده ۴۴/۴ - ۴۷/۳۳ درصد و ۱۹/۵ - ۲۰/۰۱ درصد ماده خشک گزارش کردند. اسماعیلی سیرچی و همکاران (۱۳۹۴) میزان NDF و ADF پوشش مغز پسته را به‌ترتیب ۴۵/۱۴ و ۴۰/۷۲ درصد گزارش کردند. در بررسی دیگری، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی پوسته پسته به‌ترتیب ۲۵ ± ۰/۱ و ۲۰/۳۷ ± ۰/۳ درصد گزارش شده است (۶). محتوی فیبر علوفه یکی از حیاتی‌ترین عوامل تعیین قابلیت هضم و مصرف آن است (۵۷). محتوی فیبرهای پایین‌تر احتمالاً مصرف

ترکیب فنولی و قدرت آنتی اکسیدانی برگ بنه

اشباع موجود در برگ بنه اسید پالمیتیک است که حدود ۱۸ درصد کل روغن برگ بنه را شامل می‌شود. استئاریک اسید (۱۸:۰) و میریستیک اسید (۱۴:۰) در ردیف دوم قرار می‌گیرند. همچنین مقادیر ناچیزی لوریک اسید (حدود ۳/۰۱ درصد) و آراشیدونیک اسید (۱/۹۹ درصد) نیز در این روغن وجود دارد. نتایج حاضر با نتایج نخعی و همکاران (۱۳۹۳) در زمینه پروفایل اسیدهای چرب برگ بنه همخوانی دارد. آزمایش انجام شده توسط این محققین نیز نشان داد؛ مهمترین اسیدهای چرب اشباع برگ بنه به ترتیب اسید پالمیتیک (۱۷/۸ درصد)، استئاریک اسید (۱۰/۴ درصد) و میریستیک اسید (۹/۸ درصد) بوده و بیشترین اسید چرب غیراشباع، اسید لینولنیک (۲۷/۱ درصد) گزارش گردید که به نتایج مطالعه حاضر نزدیک می‌باشد.

فراسنجه‌های تجزیه پذیری برگ بنه

فراسنجه‌های تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک برگ بنه در جدول ۴ ارائه شده است. فراسنجه‌های تجزیه پذیری اغلب تحت تأثیر ویژگی‌هایی همچون ترکیب شیمیایی و ساختار دیواره سلولی مواد خوراکی قرار می‌گیرد (۲۵). با توجه به نتایج موجود در جدول ۴ بخش سریع تجزیه ماده خشک برگ بنه ۲۸/۰۳ درصد و تجزیه پذیری مؤثر آن در نرخ عبور ۰/۰۴، ۰/۰۶ و ۰/۰۸ به ترتیب ۴۸/۲۹، ۴۳/۳۹ و ۴۰/۴۰ درصد بود. کمترین نرخ تجزیه پذیری (c) در مورد پروتئین خام دیده شد (۰/۱۳۷). در تمامی نرخ‌های عبور بیشترین تجزیه پذیری مؤثر در نرخ عبور ۴ درصد ملاحظه شد. با افزایش نرخ عبور تجزیه پذیری مؤثر کاهش یافت. علاوه بر تجزیه پذیری، نرخ تجزیه پذیری به وسیله روش کیسه‌های نایلونی برای تخمین فراهمی مواد مغذی در نشخوارکنندگان مهم می‌باشد (۷). زیاد بودن نسبت تجزیه پذیری مؤثر ماده خشک سبب فراهم نمودن انرژی مورد نیاز به شکل اسیدهای چرب فرار برای دام و میکروب‌های شکمبه می‌شود. در تجزیه پذیری مؤثر، سرعت‌های عبور پایین دارای تجزیه پذیری مؤثر بالا و سرعت‌های بالا دارای تجزیه پذیری مؤثر پایین هستند که با توجه به مدت ابقا بیشتر ماده خشک در سرعت‌های عبور پایین در شکمبه نتایج دور از انتظار نیست (۲۸). در مطالعه قوی پنجه و همکاران (۱۳۹۴) بخش سریع تجزیه ماده خشک برگ زرشک ۰/۳۳ و تجزیه پذیری مؤثر آن در نرخ عبور ۰/۰۲، ۰/۰۵ و ۰/۰۸ به ترتیب ۶۴/۵، ۵۸/۵ و ۵۴/۸ درصد به دست آمد. مقدم و همکاران (۴۱) تجزیه پذیری مؤثر برگ مو در نرخ عبور ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۸ درصد گزارش کردند. باشتی و همکاران (۵) بخش سریع تجزیه، بخش نامحلول و ثابت نرخ تجزیه ی برگ عناب را به ترتیب ۰/۳۱، ۰/۳۵ و ۰/۰۴ نیز گزارش نمودند، تجزیه پذیری مؤثر برگ عناب در نرخ عبور ۰/۰۴ نیز ۴۸ درصد گزارش شد. بهلولی و همکاران (۱۳۸۶) مقدار ناپدید شدن اجزای مختلف محصولات فرعی پسته را اندازه گیری کردند و گزارش

نتایج مربوط به ترکیبات فنولی و قدرت آنتی اکسیدانی برگ بنه در جدول ۲ آمده است. به لحاظ ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدان کل بین تیمارها اختلاف آماری معنی داری مشاهده شد ($P < 0.05$). در تمامی موارد در اولین مرحله از رشد بیشترین ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی وجود داشت، به طور کلی در مراحل اولیه رشد بیشترین میزان ترکیبات فنولی (فنول کل، کل تانن، PVP، تانن متراکم، تانن قابل هیدرولیز و آنتی اکسیدان کل) مشاهده شد که تا مرحله سوم این میزان کاهش یافت. اصولاً با افزایش کل ترکیبات فنلی خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتر می‌شود. در برگ انجیر کوهی حدود ۰/۶ درصد مواد تلخ ماندی مثل فیکوسین (Ficusin) و برگاپتن (Bergaptene) وجود دارد (۲۴). برگ درخت بلوط نیز حاوی مقادیر زیادی از ترکیبات فنولی از جمله تانن‌ها می‌باشد که به عنوان مواد ضد تغذیه‌ای عمل می‌کنند (۵۴). بهلولی و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند پوست پسته حاوی ۷/۵-۹/۵ درصد فنول و ۳/۵-۴/۵ درصد تانن است. در بررسی انجام شده توسط نخعی و همکاران (۱۳۹۳) مقدار کل ترکیبات فنولی و تانن به ترتیب ۳۶/۰۴ و ۲۲/۸۶ میلی گرم بر گرم ماده خشک گزارش گردید. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی برگ بنه ۵۸/۷۸ گزارش گردید. وجود برخی مغایرت‌ها در مقایسه نتایج حاضر با تحقیقات پیشین می‌تواند به دلیل فاکتورهای مهمی مانند وارسته، شرایط آب و هوایی، منطقه جغرافیایی، ویژگی‌های خاک و رسیدگی محصول باشد (۱۲ و ۳۲). فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های گیاهی از ترکیبات فنلی ناشی می‌شود. بنابراین باید ارتباط و همبستگی نزدیکی بین مقدار ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی وجود داشته باشد (۴۵). به علت اینکه میزان تجمع ترکیبات فنلی در عصاره حاصل از مرحله اول بیشتر از دو مرحله دیگر بود لذا انتظار می‌رود که فعالیت آنتی اکسیدانی این مرحله نیز بیشتر از سایر مراحل باشد.

پروفایل اسیدهای چرب برگ بنه

نتایج مربوط به پروفایل اسیدهای چرب میوه بنه در جدول ۳ آمده است. روغن برگ بنه مورد استفاده در آزمایش حاضر حاوی ۴۴/۸۵ درصد اسید چرب اشباع، ۱۷/۸۳ درصد اسید چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه، ۱۰/۸۸ درصد اسید چرب غیر اشباع با دو پیوند دوگانه و ۲۶/۵۴ درصد اسید چرب غیر اشباع با سه پیوند دوگانه بود. نتایج تحقیقات پیشین نشان می‌دهد برگ بنه دارای اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع اسید لوریک (۱۲:۰)، اسید میریستیک (۱۴:۰)، اسید پالمیتیک (۱۶:۰)، اسید پالمیتولیک (۱۶:۱)، اسید استئاریک (۱۸:۰)، اسید اولئیک (۱۸:۱)، اسید لینولیک (۱۸:۲)، اسید لینولنیک (۱۸:۳) می‌باشد (۴۵). اسید لینولنیک (۱۸:۳) بیشترین درصد اسیدهای چرب غیر اشباع را در روغن برگ بنه تشکیل می‌دهند. مهمترین اسید چرب

اگر بخواهیم مقادیر بیشتری پروتئین محلول در جیره داشته باشیم استفاده بیشتر از آن توصیه می‌شود. در مجموع پروتئین خام قابل تجزیه در شکمبه پوسته پسته خشک شده تقریباً با یونجه برابری می‌کند ولی تجزیه پذیری مؤثر پروتئین خام آن از یونجه کمتر می‌باشد. در تحقیقی که به منظور تعیین و مقایسه میزان تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام دو رقم کنجاله پسته وحشی در شکمبه به وسیله کیسه‌های نایلونی انجام شد نتایج نشان داد که میزان بخش سریع تجزیه (a) کنجاله بنه ۲۳/۲۳ درصد و بخش کند تجزیه (b) ۴۳/۱ درصد می‌باشد. همچنین تجزیه پذیری مؤثر پروتئین خام در نرخ عبور ۸ درصد در ساعت ۵۳/۳۳ درصد گزارش شد. کاهش تجزیه پذیری مؤثر پروتئین خام می‌تواند موجب سنتز ناکارآمد پروتئین میکروبی در شکمبه شود (۲۸).

نمودند که بیشترین مقدار مواد محلول در آب به ترتیب مربوط به مغز، پوسته نرم رویی، خوشه، برگ و پوسته چوبی بود. این مقدار برای مجموعه بقایا ۵۱ درصد بود. در مطالعه‌ای که به منظور تعیین ارزش غذایی و تجزیه پذیری پوسته پسته خشک شده توسط مهدوی و همکاران (۱۳۸۷) انجام شد، نتایج نشان داد میزان بخش سریع تجزیه (a) و بخش کند تجزیه (b) ماده خشک پوسته پسته بیشتر از یونجه می‌باشد ولی ثابت نرخ تجزیه (c) پوسته پسته کمتر از یونجه به دست آمد (۰/۰۴ در مقابل ۰/۰۸). به هر حال مجموع ماده خشک قابل تجزیه پوسته پسته بیشتر از یونجه برآورد شد. تجزیه پذیری مؤثر ماده خشک پوسته پسته بیشتر از یونجه بود (۷۶/۰۴ در مقایسه با ۶۴/۴۱). پروتئین پوسته پسته در مقایسه با یونجه بخش سریع تجزیه (a) بیشتر و بخش کند تجزیه (b) پایین‌تری داشت. به عبارتی میزان پروتئین محلول در آب پوسته پسته بالاتر از یونجه می‌باشد. بنابراین

جدول ۲- ترکیبات فنولی و قدرت آنتی‌اکسیدانی برگ بنه (درصد)

Table 2- Phenolic compounds and antioxidant activity *Pistacia atlantica* leaf (%)

ترکیبات فنولی و قدرت آنتی‌اکسیدانی Phenolic compounds and antioxidant activity	تیمار [*] Treatment			P-value	SEM
	1	2	3		
کل فنول Total phenol	6.41 ^a	5.18 ^c	5.36 ^b	0.0001	0.006
کل تانن Total tannin	4.59 ^a	3.81 ^b	3.69 ^c	0.0001	0.004
فنول‌های غیر تاننی PVP	1.81 ^a	1.37 ^c	1.68 ^b	0.0001	0.004
تانن متراکم Condensed tannin	2.68 ^a	2.15 ^c	2.28 ^b	0.0001	0.004
تانن قابل هیدرولیز Hydrolysable tannin	1.91 ^a	1.66 ^b	1.42 ^c	0.0001	0.005
آنتی‌اکسیدان کل Total antioxidant	85.91 ^a	85.28 ^{ab}	83.27 ^c	0.0004	0.225

حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) است.

* ۱: برگ بنه ابتدای فصل رویش ۲: برگ بنه اواسط فصل رویش ۳: برگ بنه انتهای فصل رویش (رسیدگی کامل)

Different letters in each row indicates significant difference ($P < 0.05$).

* 1. Early in the growing season 2. Middle of the growing season 3. End of the growing season

جدول ۳- پروفایل اسیدهای چرب برگ بنه

Table 3- Profile of fatty acids *Pistacia atlantica* leaf

اسید چرب (گرم در ۱۰۰ گرم اسید چرب متیله شده) Fatty acid (g/100 g of methylated fatty acid)	
C12:0	3.01
C12:1	1.68
C14:0	10.21
C14:1	1.5
C16:0	18.02
C16:1t	0.45
C16:1	1.7
C17:0	1.67
C18:0	9.95
C18:1	12.5
C18:2	10.88
C20:0	1.99
C18:3	26.54

جدول ۴- فراسنجه‌های تجزیه پذیری و تجزیه پذیری مؤثر شکمبه‌ای برگ بنه

Table 4- Degradability parameters and Effective degradability *Pistacia atlantica* leaf

مورد Case	فراسنجه‌های تجزیه پذیری* Degradability parameters			تجزیه پذیری مؤثر (درصد) در سرعت عبور Effective degradability (%/KP)		
	a	b	c	0.04	0.06	0.08
ماده خشک DM	0.2803±0.017	0.5598±0.027	0.0227±0.001	0.4829±0.01	0.4339±0.01	0.4040±0.01
پروتئین خام CP	0.1260±0.028	0.6755±0.143	0.0137±0.004	0.2910±0.023	0.2462±0.026	0.2201±0.027

*a= Rapid part degradation

b= Potentially degradable fraction

a* = بخش سریع تجزیه b = بخش کند تجزیه c = ثابت نرخ تجزیه در ساعت
c= Constant degradation rate

مقایسه با میوه بنه بیشتر بودن تانن کل می‌باشد (به ترتیب در برگ و میوه بنه ۳/۶۹ و ۱/۶۲ درصد). نتایج آزمایش‌های مختلف اثرات متفاوتی از تانن را روی هضم پروتئین نشان داده‌اند که آثار مثبت و منفی بسته به غلظت و ماهیت تانن و ترکیبات موجود در خوراک متغیر است (۲۷).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد هرچند برگ بنه در مقایسه با گیاهان مشابه و همچنین میوه بنه از قابلیت هضم پایین‌تری برخوردار است اما به دلیل دارا بودن حدود ۲۶/۵۴ درصد اسید چرب غیر اشباع لینولنیک به عنوان یک منبع امگا-۳ و نیز ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی بالاتر دارای ارزش غذایی بالایی است و می‌توان در جیره نویسی دام‌ها به منظور غنی سازی و افزایش پایداری اکسیداتیو محصولات دامی نظیر شیر و گوشت، از این اطلاعات بهره برد. با این وجود، تأیید پتانسیل استفاده از برگ بنه به صورت درون تنی در تغذیه دام مستلزم آزمایشات تکمیلی دیگری در این زمینه می‌باشد.

قابلیت هضم شکمبه‌ای، پس از شکمبه‌ای و کل دستگاه گوارشی ماده خشک و پروتئین خام برگ بنه

قابلیت هضم شکمبه‌ای، پس از شکمبه‌ای و کل دستگاه گوارشی ماده خشک و پروتئین خام برگ بنه در جدول ۵ نشان داده شده است. قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام بالاتر از قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای و کل دستگاه گوارشی ماده خشک و پروتئین خام برگ بنه بود. در مجموع قابلیت هضم ماده خشک در کل دستگاه گوارش بیشتر از قابلیت هضم پروتئین خام بود که علت آن بالا بودن قابلیت هضم شکمبه‌ای و پس از شکمبه‌ای آن در مقایسه با قابلیت هضم پروتئین خام می‌باشد. در مطالعه‌ای دیگری که نویسندگان مقاله بر روی میوه بنه انجام دادند قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام ۸۵/۱۴ درصد گزارش گردید و دلیل آن بالا بودن میزان پروتئین محلول میوه بنه عنوان شد (۲۱). با توجه به مطالعات محدود انجام شده در این زمینه، در بررسی منابع مختلف گزارشاتی مشابه جهت مقایسه نتایج به دست آمده با آن‌ها موجود نمی‌باشد و به نظر می‌رسد احتمالاً یکی از دلایل کاهش قابلیت هضم شکمبه‌ای برگ بنه در

جدول ۵- قابلیت هضم شکمبه‌ای، پس از شکمبه‌ای و کل دستگاه گوارشی برگ بنه (درصد)

Table 5- Ruminal digestibility, Post-Ruminal and total tract of *Pistacia atlantica* leaf (%)

قابلیت هضم شکمبه‌ای، پس از شکمبه‌ای و کل دستگاه گوارشی ماده خشک Ruminal digestibility, Postruminal and total tract of dry matter	
قابلیت هضم شکمبه‌ای Ruminal digestibility	38.94±2
قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای ماده خشک هضم نشده در شکمبه Post-Ruminal digestibility	7.29±0.14
قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش Total tract	43.39±0.09
قابلیت هضم شکمبه‌ای، پس از شکمبه‌ای و کل دستگاه گوارشی پروتئین خام Ruminal digestibility, Postruminal and total tract of crude protein	
قابلیت هضم شکمبه‌ای Ruminal digestibility	18.93±2.21
قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای ماده خشک هضم نشده در شکمبه Post-Ruminal digestibility	9.19±0.94
قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش Total tract	26.38±0.76

* برای تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای نمونه‌ها به مدت ۱۶ ساعت در شکمبه انکوباسیون شدند.

To determine rumen digestibility, samples were incubated in rumen for 16 hours

منابع

1. Akbarinia, A., and A. Koochaki. 1992. Effect of harvesting stages on growth characteristics, yield and nutritional value of some barley cultivars. Journal of Pajouhesh and Sazandegi, 15.
2. Alavi, S. 2000. Assessing the nutritional value of animal feed resources in the country (Forage and fibrous). Master's thesis, Department of Jihad Ministry of Education and Research, the Center for Higher Education Imam Khomeini, Tehran, 105 pages. (In Persian).
3. Anagnostopoulou, M. A., P. Kefalas, V. P. Papageorgiou, A. N. Assimopoulou, and D. Boskou. 2006. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). Food Chemistry, 94: 19-25.
4. AOAC. 2005. Official Methods of Analysis (18th ed). USA: Association of Official Analytical Chemists.
5. Bashtani, M., M. R. Tehrani, A. A. Naserian, M. H. Fathi, and F. Ganji. 2012. Determination of chemical composition and nutritional value of *Ziziphus jujube* mill foliage using in vitro methods. Journal of Livestock Research, 1(3): 1-8. (In Persian).
6. Behgar M., R. Valizadeh, M. Mirzaee, A. A. Naserian, and M. R. Nasiri. 2009. Correlation between the physical and chemical properties of some forages and non-forage fiber source. Journal of Animal and Veterinary Advances, 8 (11): 2280-2285. (In Persian)
7. Belachew, Z., K. Yisehak, T. Taye, and G. Janssens. 2013. Chemical composition and in sacco ruminal degradation of tropical trees rich in condensed tannins. Czech Journal of Animal Science, 58: 176-192.
8. Benhammou, N., A. B. Fawzia, and P. Tatjanak. 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2(2): 022-8.
9. Besharati, M., A. Taghizadeh, H. John Momhmadi, and G. H. Moghadam. 2008. Determination of the degradability of grape sub-products using gas production and nylon bags. Journal of Agricultural Sciences, University of Tabriz, 18(3): 173-185. (In Persian)
10. Bohluli, A., and A. Naserian. 2007. Chemical composition and the amount of disappearance of various components of pistachio. Proceedings of the 2nd Congress of Animal and Aquatic Sciences. (In Persian)

11. Daneshrad, A., and Y. Aynechi. 1980. Chemical studies of the oil from pistacia nuts growing wild in Iran. Journal of American Oil Chemistry Society, 57: 248-9.
12. Di bella G., R. Maisano, L. Lopera, V. Loturco, F. Salvo, and G. Dugo. 2007. Statistical Characterization of Sicilian Olive Oils from the Peloritana and Maghrebian Zones According to the fatty acid profile. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 6568-6574.
13. Dillard, C. G. and G. B. German. 2000. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. Science of Food and Agriculture, 80: 1744-1756.
14. Duguma, B., J. Tonye, J. Kanmegne, T. Manga, and T. Enoch, 1994. Growth of 10 multipurpose tree species on acid soils in Sangmelima. Cameroon Agroforestry System, 27(2): 107-119.
15. El Hassan, S. M., A. Lahlou Kassi, C. J. Newbold, and R. J. Wallace. 2000. Chemical composition and degradation characteristics of foliage of some African multipurpose trees. Animal Feed Science & Technology. 86: 27-37.
16. Erfanzade, R., and H. Arzani. 2002. Study of quality changes in forage species of Trifolium repens in two phenological stages of flowering and seeding. The 2th National Conference of pasture and rangeland, Iran 405: 409-410. (In Persian)
17. Erfanzadeh, R., and H. Arzani. 2003. Study on effects of phenological stages and soil characteristics on forage quality of two range species of Trifolium pratense and Coronilla varia (Case study: Javaher deh, Ramsar). Journal of Pajouhesh and Sazandegi, 58: 24.
18. Esmaeili-Seirchi N., O. Diani, and R. Tahmasebi, 2015. Determination of chemical Compounds and nutritive value of seed coat Pistachios by using Gas production. First National Congress on Advanced Research in Animal Science, 27-28 May, Faculty of Agriculture, University of Birjand. pp. 739-742. (In Persian)
19. Farhoosh, R., J. Tavakoli, and M. H. Haddad Khodaparast. 2008. Chemical composition of kernel oils from two current subspecies of Pistacia atlantica in Iran. Journal of American Oil Chemistry Society, 85: 723-729.
20. Fazaeli, H. 2012. Optimum using of agricultural by-products in ruminants nutrition. 6th Congress of Animal Science. Isfahan University of Technology, pp: 9-16.
21. Ganji, F., M. Bashtani, H. Farhangfar, and S. E. Ghiasi. 2017. Effect of different growth stages on the chemical composition, antioxidant properties and rumen-intestinal digestion of Pistacia atlantica with nylon bags method. Animal Science Researches, accepted. (In Persian).
22. Gargallo, S., S. Calsamiglia, and A. Ferret. 2006. Technical note: A modified three-step *in vitro* procedure to determine intestinal digestion of proteins. Journal of Animal Science, 84: 2163-2167.
23. Ghavipanjeh, N., M. H. Fathi, H. Farhangfar, and J. Modaresi, 2016. In-situ and In-vitro nutritional evaluation of Barberry (Berberis Vulgaris) leaf. 7th Iranian Congress of Animal Sciences, 7-8 September, Karaj. (In Persian).
24. Giraldo, E., M. A. Viruel, M. Loepz-Corrales, J. I. Hormoza. 2005. Characterization and Cross-species Transferability of Microsatellites in the Fig (*Ficus carica* L.). Journal of Horticultural Science and Biothenology, 80: 217-222.
25. Givens, D. I., E. Owen, R. F. E. Axford, and H. M. Omend. 2000. Forage evaluation in ruminant nutrition, CABI publishing.
26. Grasser, L. A., J. G. Fadel, L. Garnett, and E. J. Depeters. 1995. Quantity and economic importance of nine selected by-products used in California dairy rations. Journal of Dairy Science, 75: 962-971.
27. Hervas, G., F. Pilar Frutos, R. Javier Giraldez Angel, C. Mantecón Mar'ia, and P. Alvarez Del. 2004. Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. Animal Feed Science and Technology 109: 65-78.
28. Hor, S. A., F. ZamaniDehkordi, and A. D. FrouzandehShahraki. 2015. International conference on sustainable development, strategies and challenges with a focus on Agriculture, Natural Resources, Environment and Tourism, 42-42 Feb 4025, Tabriz, Iran.
29. Jackson, F. S., T. N. Barry, C. Lascano, and B. Palmer. 1996. The extractable and bound condensed tannin content of leaves from tropical tree, shrub and forage legumens. Journal of the Science of Food and Agriculture, 71: 103-110.
30. Lagouri, V., and D. Boskou. 1996. Nutrient antioxidants in oregano. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 47: 493-7.
31. Larry, W. V., A. Allentorell, R. R. Neil, and E. Tombartliett. 1997. Comparison of forage value on private and public grazing leases. Journal of Range Management, 50(3): 300-306.
32. Lopez-Feria, S., S. Cardenas, J. A. Garc-Mesa, and M. V. Alcarcel. 2008. Classification of extra virgin olive oils according to the protected designation of origin, olive Variety and geographical origin. Talanta, 75: 937-943.
33. Makkar, H. P. S., and B. Singh. 1993. Effect of storage and urea addition on detannification and in sacco dry matter digestibility of mature oak (*Quercus incana*) leaves. Animal Feed Science and Technology, 41: 247-259.
34. Mahdavi, A., M. Zaghari, M. Zahedifar, A. Nikkhah, and A. Aghashahi. 2008. Determination of nutritional value and the possibility of using different levels of dry pistachio shell on the performance of fattening Afshari lambs in Iran. Journal of Agricultural Science and Natural Resources, 15(5). (In Persian).
35. Marinas, A., R. Garcia-Gonzalez, and M. Fondevila. 2003. The nutritive value of five pasture species occurring in the summer grazing ranges of the Pyrenees. Journal of Animal Science, 76: 461-469.

36. Marino, M. A., A. Mazzanti, S. G. Assuero, F. Gastal, H. E. Echeverria, and F. Andrade. 2004. Nitrogen dilution curves and nitrogen use efficiency during winter-spring growth of annual ryegrass. *Agronomy Journal*, 96: 601-607.
37. Mashayekhi, M., T. S. Vafa, S. M. Qureshi, and H. Sepehri Moghaddam. 1395. Determination of the chemical composition and digestibility of mountain pistachio by gas production method. Seventh Iranian Congress of Animal Sciences. 17th and 18th of September. College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran. (In Persian).
38. Mathew, S., and T. E. Abraham. 2006. *In vitro* antioxidant activity and scavenging effects of Cinnamomum verum leaf extract assayed by different methodologies. *Food and Chemical Toxicology*, 44:198-206.
39. McDonald, P. R., A. Edwards, and J. F. Greenhagh. 1990. Animal nutrition. 4th edition, John Wiley and Sons, Inc, New York.
40. Modirshanechi, M. 2000. Forage production and plant management, Astan Qods Razavi publications P:448.
41. Moghadam, M., A. Taghizadeh, A. Nobakht, and A. Ahmadi. 2012. The nutritional value of grape pulp and raspberry leaves with the use of nylon bags and gas production method. *Animal Science Researches*, 3: 435-443. (In Persian).
42. Moslemi nia, M., M. Usefelahi, H. Mansouri, and Gh. Jalilvand. 2010. The nutritional value of Prosopis juliflora in different stages of growth by method of gas production. 4th Iranian Congress of Animal Sciences, Karaj. (In Persian).
43. Mousavi, M. A. 1995. Determination of Chemical Composition and Gross Energy of Livestock and Poultry Food in Kermanshah Province. Master's thesis, Faculty of Agriculture, University of Tehran, 134 pages. (In Persian).
44. Mowrey, A. and J. N. Spain. 1999. Results of a nationwide survey to determine feedstuffs fed to lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82: 445-451.
45. Nakhaei, M., Gh. Bagherzadeh., Sh. Ghollasi, and R. Hossein Abadi. 1393. Study of physicochemical, phytochemical and antioxidant activity and Separating gum from the leaves of the Cordica subspecies. Master's Thesis. Chemistry College. University of Birjand. (In Persian).
46. Orskov, E. R., and I. Mcdonald. 1979. The estimation of protein degradation in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Agriculture Science*, 92: 499-503.
47. Orskov, E. R. 2000. The in situ technique for the estimation of forage degradability. In: D.I. Givens, E. Owen, R.F.E. Axford and H.M. Omed (Editors), *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp.175-188.
48. Padulosi, S., and A. Hadj-Hassan. 1998. towards a comprehensive documentation of distribution and use of Pistacia: genetic diversity in central and west asia. North Africa and Mediterranean Europe. Report of the IPGRI Workshop, 4: 25-30.
49. Porter, L. J., L. N. Hrstich, and B. G. Chan. 1986. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry*, 25:223-230.
50. Rajesh, M., A. Nagarajan, S. Perumal, and M. Sellamuthu. 2008. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of Camellia sinensis, Ficus bengalensis and Ficus racemosa. *Food Chemistry*, 107:1000-1007.
51. Rezaeyan, S., M. Pourmajidian., H. Jalilvand, and A. Parsakhoo. 2009. Growth parameters of Pistaciaatlantica Desfundrer different soil conditions in Iran. *African Journal of Plant Science*, 3:184-9.
52. SAS Institute Inc., 2002. Statistical Analysis System (SAS) User's Guide, SAS Institute, Cary, NC, USA.
53. Shojaeian, K., and H. Kazemi, 2015. Determine the chemical composition and gas production parameters in almond leaves. First National Congress on Advanced Research in Animal Science, 27-28 May, Faculty of Agriculture, University of Birjand. pp. 657-661. (In Persian).
54. Singh, P., A. K. Verma, N. N. Pathak, and J. Biswas. 1998. Nutritive value of oak (Quercus semecarpifolia) leaves in Pashmina kids. *Animal Feed Science and Technology*, 72: 183-187.
55. Tabataba'I, M. 1993. Practical Feeding to the Cattle, First Edition, Bu-Ali Sina University Press, Hamadan, p. 209. (In Persian).
56. Taghizadeh, A., J. Shojaee., G. H. Moghaddam, H. Jomammadi, and P. Yasan. 2002. Determination of dry matter and crude protein degradability of some woody and dense food by in situ method in sheep. *Journal of Agricultural Science*, 11(3): 100-93. (In Persian).
57. Takeoka, T. G., T. L. Dao, R. Teranishi, R. Wong, S. Flessa, L. Harden, and R. Edwards. 2000. Identification of three triterpenoids in almond hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 3437-3439.
58. Torkaman, J. and S. H. Seyam. 2009. Measurment of tannin in tree barks of Oak, Beech, Alder, Hornbeam and Black walnut. *Journal of Medicinal Plant*, 8(29): 58-63.
59. 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.



Determination of Antioxidant Properties, Nutritional Value and Rumen-Intestinal Digestion of *Pistacia Atlantica* Leaf with Nylon Bags Method

F. Ganji¹- M. Bashtani^{2*}- H. Farhangfar³- S. E. Ghiasi⁴

Received: 24-07-2017

Accepted: 23-12-2017

Introduction This study was carried out to investigate the chemical composition, antioxidant properties and phenolic compounds of *Pistacia atlantica* leaf at different stages of growth. Intestinal digestibility of determined by nylon bags method.

Materials and Methods In order to prepare experimental treatments, *Pistacia atlantica* leaf (PAL) were collected and dried in three stages (early growing season, mid and end of growing season) from foothills of the around the city of Birjand. The treatments were: 1. PAL in early growing season, 2. PAL in middle of growing season, and 3. PAL at the end of growing season. Neutral detergent fiber and acid detergent fiber was determined. The total amount of phenolic compounds was measured. The total amount of tannins was obtained by calculating the difference between before and after the reaction with polyvinyl pyrrolidone (PVP). Condensed tannin was measured. Antioxidant activity was measured by 2, 2 diphenyl-1-picaryl hydrazil (DPPH). To investigate nutritional value of *Pistacia atlantica* leaf (PAL) by nylon bags method, two Holstein cows fitted with a flexible rumen fistula, fed forage and concentrate in total mixed ration (TMR) at maintenance level twice daily. To determine degradability coefficients, 5 g of DM of PAL sample (ground using 2 mm screen mill) were placed in individual polyester bags and feed samples were incubated for 0, 2, 4, 8, 12, 16, 24, 48, 72, 96 and 120 h. Also, ruminal and post ruminal digestibility were determined with the incubation of samples for 16 hours in the rumen by Daisy system.

Results and Discussion The results showed with the advance stage of growth increased, percentage of dry matter, Ash, NDF and ADF. The highest amount of dry matter belonged to the end of the growing season (49.41%) and the lowest was related to the beginning of the growing season (19.51%). The highest amount of crude protein observed at the first stage (early growth) (16.41%) and the lowest at the end of the growing season ($P < 0.05$). With the advancement of the growth stage, the percentage of NDF and ADF was increased ($P < 0.05$). The highest average crude fat was related to the second stage (5.62%) and the lowest average was observed in the first stage (1.82%). The highest average ash was related to the end of growing season (7.27%) and the lowest average was observed in the first stage (5.58%). The highest antioxidant and phenolic compounds was observed in the early stages of growth, this amount decreased in the third stage. The most unsaturated fatty acids of this oil were linolenic acid (26.54%), linoleic acid (10.88%) and oleic acid (12.5%). Also the most saturated fatty acid of this oil was palmitic acid (18.02%). *Pistacia* leaf oil used in the experiment was contain a 44.85 % saturated fatty acids, 17.83 % unsaturated fatty acid with one double bond, 10.88 % unsaturated fatty acid with two double bonds and 26.54 % unsaturated fatty acids with three double bonds. With increasing incubation time degradability of dry matter and crude protein increased. The rapid part degradation of the dry matter was 28.33% and its effective degradation at the passage rates of 0.04, 0.06 and 0.08 was 48.29, 43.39 and 40.40% respectively. The lowest constant degradation rate (c) was found for crude protein (0.0137). Most effective degradability was observed in 4% pass rate. The effective degradation rate was reduced by increasing the pass rate. Ruminal digestibility of dry matter and crude protein was higher than digestibility of post-ruminal. Overall, the digestibility of dry matter in the total digestive tract was higher than crude protein digestibility. This is due to the high rumen digestibility of dry matter compared with the digestibility of crude protein.

Conclusions Based upon the present research it is concluded that *Pistacia atlantica* leaf has good degradability. It has high nutritional value and compatible or even is a good alternative to conventional feed ingredients in livestock feed. Also, *Pistacia atlantica* leaf is rich in phenolic compounds and antioxidant, and it can be used as

1- PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran

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

3- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran

4- Assistant Prof., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran

(*- Corresponding author email: mbashtani@birjand.ac.ir)

an alternative to synthetic antioxidants. Due to having about 55.25 percent unsaturated fatty acids, it has a high nutritional value and could be used in livestock diets in order to enrich and enhance oxidative stability of animal products.

Keywords: Antioxidant, Degradability, Growth Stages, Nylon Bags, *Pistacia Atlantica* Leaf



اثرات جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی بر عملکرد، وزن نسبی اجزای لاشه و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خونی جوجه گوشتی تحت چالش با آفلاتوکسین B₁

حسن کیهانی یزدی^۱ - سید جواد حسینی واشان^{۲*} - نظر افضلی^۲ - محسن مجتهدی^۲ - علی اله رسانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۵/۳۰

چکیده

هدف از این آزمایش، ارزیابی اثرات جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی (BF) بر عملکرد، وزن نسبی اجزای لاشه، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی تحت چالش با آفلاتوکسین B₁ بود. برای این منظور از ۱۶۰ قطعه جوجه‌خروس یک روزه راس ۳۰۸ در یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار و ۸ پرند در هر تکرار به مدت ۳۵ روز استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد منفی (C)، شاهد مثبت (جیره پایه + آفلاتوکسین AFB₁) و سه سطح: ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی (BF) که به جیره پایه آلوده به آفلاتوکسین AFB₁ اضافه گردید بود. مقدار آفلاتوکسین افزوده شده به جیره‌های آلوده در دوره آغازین و رشد برابر ۵۰۰ ppb و در دوره پایانی ۱۰۰۰ ppb آفلاتوکسین بود. در ۳۵ روزگی، خون‌گیری از یک پرند از هر تکرار به عمل آمد و یک قطعه پرند کشتار و اجزای لاشه آن توزین و وزن نسبی آن‌ها تعیین گردید. نتایج نشان داد که افزودن BF ۰/۲۵ به جیره آلوده باعث افزایش مصرف خوراک، کاهش درصد چربی بطنی و LDL سرم خون در دوره پرورش گردید ($P < 0/05$). بالاترین وزن بدن در تیمار ۰/۵ درصد BF نسبت به شاهد مشاهده شد ($P < 0/05$). ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های تغذیه شده با AFB₁ در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/05$). کمترین غلظت تری‌گلیسرید در شاهد مثبت در مقایسه با گروه دریافت‌کننده همزمان آفلاتوکسین و ۰/۷۵ درصد BF مشاهده شد. میزان فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در تیمار AF نسبت به شاهد منفی و ۰/۵ درصد BF افزایش معنی‌داری داشت. بنابراین یافته‌های این آزمایش آفلاتوکسین باعث کاهش شاخص‌های عملکردی می‌شود و افزودن جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی در سطح ۰/۵ درصد به جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین، اثرات منفی آفلاتوکسین را بر عملکرد بهبود بخشیده و درصد چربی بطنی را کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین B₁، اجزای لاشه، بنتونیت فرآوری فیزیکی، جوجه گوشتی، عملکرد

مقدمه

حساسیت به تنش‌های میکروبی و محیطی و افزایش مرگومیر است. هپاتوتوکسیکوزیس، تضعیف سیستم ایمنی، جهش‌زایی، ناهنجاری‌های مادرزادی و سرطان‌زایی از عمده‌ترین اثرات آفلاتوکسین‌ها در گونه‌های مختلف حیوانی می‌باشند. از نشانه‌های آفلاتوکسیکوزیس در طیور بی‌حالی، بی‌اشتهایی به همراه کاهش رشد، کاهش راندمان غذایی، کاهش تولید تخم‌مرغ، افزایش حساسیت به تنش‌های میکروبی و محیطی و افزایش مرگومیر است (۷ و ۱۰).

از برجسته‌ترین اثرات مداومت مصرف آفلاتوکسین تغییر پروتئین سرمی است عمدتاً تغییر پروتئین تام خون به دلیل کاهش مقادیر آلفا و بتا-گلوبولین و آلبومین رخ می‌دهد زیرا تغییر مقدار گاما-گلوبولین همیشگی نیست (۲۷). تغذیه جوجه‌های گوشتی با جیره‌ی حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین باعث کاهش پروتئین تام و آلبومین و افزایش آسپاراتات

مایکوتوکسین‌ها، متابولیت‌های قارچی سمی برای مهره‌داران و سایر گروه‌های حیوانی حتی در مقادیر اندک می‌باشند که در میان آن‌ها، آفلاتوکسین بیشترین سمیت را برای انسان و حیوانات دارد که آفلاتوکسین B₁ سمی‌ترین آن‌ها است (۱۲، ۲۱ و ۳۶). آفلاتوکسیکوزیس، بیماری مهمی در صنعت طیور محسوب می‌شود. نشانه‌های آفلاتوکسیکوزیس در طیور بی‌حالی، بی‌اشتهایی به همراه کاهش رشد، کاهش راندمان غذایی، کاهش تولید تخم‌مرغ، افزایش

۱- دانش‌آموخته پرورش و مدیریت تولید طیور، گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

۲- بترتیب دانشیار، استاد و استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

۳- استادیار گروه شیمی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

(*)- نویسنده مسئول: (Email: jhosseiniv@birjand.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.v10i4.64649

جیره‌های آلوده به آفاتوکسین، باعث بهبود وزن جوجه‌های گوشتی و طیور می‌گردد (۳، ۱۷، ۲۶، ۳۲ و ۳۳). پژوهشگران با بررسی اندازه ذرات بنتونیت بر قابلیت جذب آفاتوکسین در روش ایزوترم دریافتند ذرات درشت‌تر بنتونیت قدرت جذب پایین‌تری برای جذب آفاتوکسین دارند و ظاهراً ذرات با اندازه ۰/۱-۱ میکرومتر عامل اصلی جذب مایکوتوکسین‌ها می‌باشند بنابراین اندازه ذرات بنتونیت می‌تواند یکی از فاکتورهای اصلی موثر بر جذب آفاتوکسین‌ها در دستگاه گوارش باشد (۲۴).

هرچند مطالعات زیادی در زمینه استفاده از بنتونیت در کاهش جذب آفاتوکسین و سایر سموم در دستگاه گوارش انجام شده است ولی اطلاعاتی کمی در رابطه با فرآوری ترکیبات بنتونیتی در جهت افزایش قابلیت جذب آن‌ها انجام شده است. یکی از راهکارهای افزایش جذب آن‌ها فرآوری حرارتی در جهت افزایش سطح جذب است که این روش به لحاظ زمانی و تکنولوژی، هزینه زیادی نیاز ندارد و به راحتی می‌توان آن را در سطح وسیع مورد استفاده قرار داد. بنابراین هدف از این آزمایش مطالعه اثرات سطوح جاذب آلومینوسیلیکات نانوساختار فرآوری شده فیزیکی (BF) بر عملکرد، وزن نسبی اجزای لاشه، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی چالش یافته با آفاتوکسین B₁ بود.

مواد و روش‌ها

فرآوری فیزیکی بنتونیت: فرآوری فیزیکی بنتونیت طی دو مرحله شامل فرآوری حرارتی و جداسازی ذرات در سائز نانو انجام می‌گیرد. فرآوری حرارتی در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و به منظور دهیدراته کردن بنتونیت و افزایش قابلیت جذب و جداسازی ذرات نانو و در جهت افزایش سطح جذبی بنتونیت انجام می‌شود. بدین منظور ابتدا نمونه بنتونیت از معادن اطراف گناباد تهیه و ناخالصی‌های آن حذف گردید و با آسیاب ریموند خرد و فرآوری حرارتی روی آن انجام شد. ذرات آردی ۲۰۰ (۷۴ میکرون) جداسازی شد و سپس به منظور بررسی ترکیبات و ساختار معدنی بنتونیت، نمونه‌ای آزمایشی، مورد آزمون طیف نگاری فلورسانس اشعه ایکس (XRF^۴) قرار داده شد. در این روش، پرتو ایکس به نمونه مجهول تابیده و با برانگیخته کردن اتم‌ها باعث پدید آمدن پرتو ایکس ثانویه می‌شود. با تعیین طول موج پرتو ایکس ثانویه مربوط به هر عنصر، مقدار عناصر موجود در نمونه بنتونیت مورد اندازه‌گیری قرار می‌گیرد (۱ و ۱۵). علاوه بر این، به منظور بررسی ساختار بلوری و فاصله‌ی بین صفحات بنتونیت نمونه‌ها توسط آزمون پراش اشعه ایکس (XRD^۵) مورد مطالعه قرار گرفتند. ناحیه پرتو X در طیف الکترومغناطیس در محدوده بین پرتو

آمینوترانسفراز^۱ (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)^۲، گاما گلوتامیل ترانسفراز^۳ GGT^۳ گردید (۳۴). تغذیه جوجه‌های گوشتی در سطوح ۱۰-۰ ppm آفاتوکسین به مدت ۳ هفته نشان داد که پروتئین تام و بتا گلوبولین در سطوح بالاتر از ۱/۲۵ ppm و غلظت آلفا گلوبولین در غلظت بالاتر از ۲/۵ ppm کاهش می‌یابد، از طرف دیگر، غلظت آلبومین سرم (حساس‌ترین شاخص سرمی) حتی در مقادیر پایین آفاتوکسین نیز کاهش یافت (۱۹).

با توجه به عوارض منفی آفاتوکسین در طیور، پژوهش‌های بسیاری در جهت حداقل نمودن اثرات زیان‌بار آفاتوکسین انجام شده است. از جمله روش‌های حداقل نمودن جذب آفاتوکسین در دستگاه گوارش، استفاده از ترکیبات جاذب در جیره غذایی پرند است. این مواد شامل خانواده آلومینوسیلیکات‌ها (بنتونیت، زئولیت، بنتونیت‌های فرآوری شده)، زغال فعال، دیاتومیت (فسیل دیاتومه) و دیواره سلولی مخمر است (۶، ۱۴، ۲۳ و ۲۸).

رس‌ها گروه خاصی از آلومینوسیلیکات‌های آبدار با ساختار بلورین لایه‌ای می‌باشند. کانی‌های رسی بخش مهمی از خانواده آلومینوسیلیکات‌های آبدار یا فیلیوسیلیکات‌ها را تشکیل می‌دهند که درصد زیادی از آب در بین صفحات سیلیکاتان قرار گرفته است. یکی از روش‌های اصلی شناسایی رس‌ها اندازه ذراتشان است. ذرات نانویی یا نانو بلورها مشخص‌کننده ذراتی است که نظم بلورینی در حدود اندازه نانومتر (۱۰^{-۹} متر) دارند. بنتونیت نوعی رس است که از دگرسانی شیشه‌های موجود در سنگ‌های آذرآواری (توف‌ها و خاکسترهای آتشفشانی) و یا از دگرسانی سنگ‌های آذرین در طی دوره‌های زمین‌شناسی به وجود می‌آید و به صورت ذرات رس کوچک‌تر از ۲ میکرون مشاهده می‌شوند (۲۹).

آلومینوسیلیکات‌ها ساختار ویژه و اختصاصی دارند به دلیل حضور کاتیون‌ها در ساختار آن‌ها دارای بار الکتریکی هستند لذا این ترکیبات جهت خنثی شدن بار موجود در ساختارشان تمایل به اتصال به سموم قطبی از جمله آفاتوکسین نشان می‌دهند. از میان این جاذب‌ها، بنتونیت به دلیل ویژگی جذبی بالا مورد بررسی قرار گرفته است و این رس‌ها توانایی جذب آفاتوکسین در مطالعات آزمایشگاهی و کاهش اثرات سوء آفاتوکسین را در مطالعات مزرعه‌ای نشان داده‌اند (۲۰).

تأثیرات سودمند بنتونیت در جیره بر سلامتی انسان‌ها و حیوانات اهلی، توسط بسیاری از محققان تایید شده است. بنتونیت به عنوان یک افزودنی خوراکی، می‌تواند آلاینده‌های مختلفی از قبیل آفاتوکسین‌ها را جذب کند و مقادیر کمتری را برای دستگاه گوارش در دسترس بگذارد. بررسی پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهد که استفاده از آلومینوسیلیکات کلسیم سدیم هیدراته و بنتونیت در

1- Aspartate aminotransferase

2- Alkaline phosphatase

3- Gamma Glutamyl Transferase

4- X-ray Fluorescence

5- X-Ray Diffraction

با پیشنهادات کمیته تحقیقات جوجه راس ۳۰۸ اجرا شد. جیره‌های غذایی نیز مطابق توصیه کمیته تغذیه راس ۳۰۸ در قالب سه دوره آغازین (۱-۱۰ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۳۵-۲۵ روزگی) در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. ترکیب مواد خوراکی جیره‌های آزمایشی و مواد مغذی محاسبه شده در طی دوره‌های آغازین، رشد و پایانی در جدول (۱) ارائه شده است.

در ۳۵ روزگی، از یک قطعه پرندۀ از هر تکرار خون‌گیری به عمل آمد و فراسنجه‌های خونی شامل غلظت پروتئین تام (TP)، کلسترول (CHOL)، تری‌گلیسرید (TG)، لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (HDL)، فعالیت آنزیم‌های آسپارات‌آمینوترانسفراز (AST)، آلانین-آمینوترانسفراز (ALT)، لاکتات‌دهیدروژناز (LDH) و آلکالین فسفاتاز (ALP) توسط کیت‌های شرکت پارس آزمون، بر پایه‌ی روش‌های استاندارد آزمایشگاهی و توسط دستگاه طیف‌سنجی خودکار (اوتوآنالایزر) مدل جسان چم ۲۰۰ ایتالیاً^۳ اندازه‌گیری شد. برای محاسبه لیپوپروتئین‌ها با چگالی پایین (LDL) از رابطه زیر و نسبت HDL/کلسترول و LDL/HDL استفاده شد (۱۲).

$$LDL = TC - (HDL + TG/5)$$

در سن ۳۵ روزگی از هر تکرار یک پرندۀ به روش ذبح اسلامی کشتار و وزن نسبی اجزای لاشه شامل، سینه، ران، کبد، قلب، سنگدان، پیش‌معدۀ، طحال، چربی بطنی و بورس فابرسیوس در مقایسه با وزن زندۀ پرندۀ محاسبه شد.

تجزیه آماری داده‌های آزمایشی توسط نرم‌افزار SAS و مدل خطی عمومی (GLM) با رابطه ۱ مورد آنالیز آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح احتمال ($P < 0.05$) انجام گرفت.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad \text{رابطه ۱:}$$

Y_{ij} : متغیر وابسته؛

μ : میانگین صفت؛

T_i : اثر تیمار؛

e_{ij} : اثر خطای آزمایشی

نتایج و بحث

طیف‌سنجی بنتونیت: داده‌های حاصل از طیف‌سنجی XRD نشان داد در قسمت مونتوریلونیت (بافت اصلی بنتونیت) فاصله لایه‌ها برابر با ۱/۵۴ نانومتر (آنگستروم $d_{001} = 154/4$ ، $\theta = 7/1$) است و داده‌های طیف‌سنجی XRF نمونه بنتونیت فرآوری شده در جدول ۲ آورده شده است. باتوجه به اینکه Al_2O_3 فقط در بافت مونتوریلونیت موجود می باشد مقدار اکسید آلومینیوم موجود در این نمونه در مقایسه با نمونه‌های تست شده در سایر پژوهش‌ها سطح مناسبی داشت که نشان‌دهندۀ خلوص نمونه بنتونیت می‌باشد مقدار SiO_2 موجود در

گاما و فرابنفش قرار دارد که با تاباندن پرتو X به نمونه می‌توان اطلاعاتی در رابطۀ با ساختار، اندازه‌گیری میانگین فواصل بین لایه‌ها و تعیین موقعیت تک بلورها را به‌دست آورد (۳، ۲۱ و ۲۲).

تهیه و تولید سم آفاتوکسین: در محیط استریل کالچر قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس سویه NRRL 2999 روی پتری‌دیش یک‌بار مصرف حاوی محیط کشت مخمر آگار^۱ (YEA) کشت داده شد و پس از ۷ روز انکوباسیون در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد محیط برای کشت روی برنج‌ها استفاده شد (۳۰). به فلاسک‌های ارلن مایر (۲۵۰ سی‌سی) حاوی ۳۰ گرم برنج خشک، ۱۷ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد تا برنج‌ها آب را به خود جذب کنند پس از آن درب ارلن‌ها با پنبه بسته و روی آن فویل آلومینیومی قرار داده شد و در دمای ۱۲۱ °C و فشار ۱۵ lb/In2 به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو (استریل) گردید. در مرحله بعد، قسمتی از محیط کشت پتری‌دیش توسط آنس برداشته و به داخل ارلن‌ها اضافه و درب ارلن‌ها با پنبه بسته شد، به‌منظور جلوگیری از دست دادن رطوبت محیط کشت برنج در دوران تخمیر، روی آن‌ها فویل آلومینیومی کشیده و در داخل انکوباتور به مدت ۷ روز قرار داده شد (۳۵). در طی هفت روز به‌منظور جلوگیری از چسبندگی دانه‌های برنج و مصرف سم تولیدشده توسط خود قارچ روزانه یک تا سه مرتبه فلاسک‌ها با رعایت نکات بهداشتی تکان داده شد تا تمامی دانه‌های برنج از هم جدا شود و قارچ در تمامی محیط کشت برنج پراکنده شود و در محیطی به دور از نور خشک گردید غلظت سم توسط دستگاه کروماتوگرافی با عملکرد بالا^۲ (HPLC) تعیین گردید. سپس براساس غلظت آفاتوکسین B1 در نمونه‌های آلوده، مقدار مورد نیاز به جیره‌های آزمایشی آلوده (۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم در جیره آغازین و رشد و ۱۰۰۰ میکروگرم در کیلوگرم در جیره پایانی) اضافه شد.

مراحل مزرعه‌ای آزمایش: در این پژوهش از ۱۶۰ قطعه جوجه نر یک‌روزه راس ۳۰۸ استفاده شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار و ۸ پرندۀ در هر تکرار به مدت ۳۵ روز اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) شاهد منفی (C)، (۲) شاهد مثبت (جیره پایه + آفاتوکسین B1 (AF)، (۳) شاهد مثبت + ۰/۲۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی (BF۰/۲۵)، (۴) شاهد مثبت + ۰/۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی (BF۰/۵)، (۵) شاهد مثبت + ۰/۷۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی (BF۰/۷۵) بودند. غلظت آفاتوکسین در جیره‌های آلوده به آفاتوکسین تا ۲۱ روزگی برابر ۵۰۰ ppb و در دوره پایانی ۱۰۰۰ ppb آفاتوکسین بود. در طی آزمایش، برنامه نوری، دمایی، واکسیناسیون و رطوبت مطابق

1- Yeast Extract Agar

2- High performance liquid Chromatography

نمونه نشان دهنده وجود ناخالصی‌های غیر رسی کمتر مانند کوارتز و کریستوبالیت در مقایسه با برخی پژوهش‌های پیشین می‌باشد (۲۳). همچنین نتایج طیف‌سنجی XRF نشان داد که نمونه بنتونیت مورد استفاده عاری از مقادیر بالای فلزات سنگین بود.

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره پایه در طی دوره‌های آغازین، رشد و پایانی

Table 1- Ingredients and chemical composition of the basal diet used for starter, grower and finisher period

اجزای جیره (%)	جیره آغازین Starter	جیره رشد Grower	جیره پایانی Finisher
ذرت Corn	53.44	57.06	59.21
کنجاله سویا Soya bean meal	35.70	34.03	32.62
پودرماهی Fish meal	5.00	2.50	-
روغن سویا Soya oil	2.68	3.14	4.70
کربنات کلسیم Carbonate calcium	1.15	1.16	1.26
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.07	1.22	1.51
مکمل ویتامینی و معدنی Vitamin and mineral Premix	0.25	0.25	0.25
نمک Salt	0.40	0.40	0.30
دی ال متیونین DL- Methionine	0.25	0.24	0.15
لیزین هیدروکلرید Lysine Hydrochloride	0.06	-	-
ترکیب شیمیایی (%) به غیر از انرژی قابل متابولیسم (Chemical composition (% except for AME)			
انرژی متابولیسمی Apparent metabolisable energy (Kcal kg	3000	3050	3150
پروتئین خام Crud protein	22	21	19
لیزین lysine	1.45	1.33	1.17
متیونین + سیستین Methionine + cysteine	1.15	0.99	0.83
کلسیم Calcium	0.99	0.90	0.90
کلر Choloride	0.20	0.19	0.18
سدیم Soduim	0.22	0.21	0.20
فسفر قابل دسترس Available phosphorus	0.48	0.450	0.450

* هر کیلوگرم مکمل ویتامینی-معدنی تأمین کننده موارد زیر است: ۹۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۴۵۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D3، ۵۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین E، ۳ گرم ویتامین K3، ۲ گرم ویتامین B1، ۷ گرم ویتامین B2، ۱۴ گرم ویتامین B3، ۵۵ گرم ویتامین B5، ۳ گرم ویتامین B6، ۷۵/۱ گرم ویتامین B9، ۰۱۵/۰ گرم ویتامین B12، ۶۲۵ گرم کولین، ۱۲۰ گرم منگنز، ۴۰ گرم آهن، ۱۰۰ گرم روی، ۱۶ گرم مس، ۱/۲۵ گرم ید، ۰/۳ گرم سلنیوم.

جدول ۲- تعیین درصد وزنی اکسید عناصر در ترکیب بنتونیت توسط دستگاه XRF

Table 2- Determining the composition weight percentage of the elements oxide in bentonite samples by XRF

اکسید عنصر	درصد وزنی	اکسید عنصر	درصد وزنی
Element oxide	Percentage weight	Element oxide	Percentage weight
Cl	0.797	SO ₃	0.592
Na ₂ O	2.432	MgO	2.092
CaO	2.706	MnO	0.030
Fe ₂ O ₃	1.994	ZnO	0.011
Al ₂ O ₃	11.612	SrO	0.019
SiO ₂	65.728	ZrO ₂	0.028
L.O.I	11.297	TiO ₂	0.263

(1025°C, 1 hrs)

شد که این تفاوت در دوره‌ی اول از لحاظ آماری معنی‌دار بود. افزودن ۰/۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی به جیره‌ی آلوده، اثرات منفی آفلاتوکسین را کاهش داد و باعث بهبود وزن جوجه‌ها در دوره‌های مختلف آزمایش و کل دوره آزمایش در مقایسه با جوجه‌های تیمار آلوده شد که در دوره‌های اول، دوم و کل دوره آزمایش از لحاظ آماری معنی‌دار بود که با نتایج بسیاری از پژوهش‌های پیشین مطابقت دارد (۳، ۱۸ و ۲۵). نتایج نشان داد افزودن سطح ۰/۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی به جیره‌ی آلوده باعث بهبود وزن جوجه‌ها حتی فراتر از تیمار شاهد نیز گردید زیرا بنتونیت‌ها بر فرآیند هضم مواد مغذی نیز اثر می‌گذارند و باعث افزایش راندمان هضم و جذب مواد مغذی می‌شوند (۲۳ و ۲۵) این مکانیزم اثر می‌تواند از جمله مکانیزم‌های احتمالی در جهت افزایش وزن بدن و کاهش ضریب تبدیل (۳۷) در جوجه‌های تغذیه شده با جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی باشد.

افزودن سطح ۰/۲۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی به جیره آلوده تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن جوجه‌ها در مقایسه با تیمار شاهد و آلوده در کل دوره آزمایش نداشت که با نتایج پژوهشی که سطح ۰/۳ درصد بنتونیت سدیم به جیره آلوده به آفلاتوکسین افزوده شده بود مطابقت داشت (۳۴ و ۳۶). با توجه به افزایش وزن جوجه‌ها در سطح ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم می‌توان نتیجه گرفت که سطح ۰/۲۵ درصد بنتونیت سدیم احتمالاً ظرفیت کافی برای جذب غلظت ۱۰۰۰ و ۵۰۰ آفلاتوکسین در جیره آلوده را نداشت و سطح مناسبی برای جذب آفلاتوکسین در جیره‌های حاوی این سطوح آفلاتوکسین نبود.

نتایج مربوط به صفات عملکردی پرندگان آزمایشی در جدول ۳ ارائه شده است. افزودن سطح ۰/۲۵ جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی به جیره پایه آلوده با آفلاتوکسین باعث افزایش مصرف خوراک در دوره‌های مختلف پرورش و کل دوره پرورش نسبت به تیمار آلوده و شاهد شد که در دوره دوم و کل دوره پرورش این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار بود. افزودن سطح ۰/۵ درصد بنتونیت فرآوری شده به جیره آلوده به آفلاتوکسین باعث افزایش مصرف خوراک در دوره‌های دوم، سوم و کل دوره پرورش در مقایسه با تیمار شاهد و آلوده شد که این تفاوت در دوره دوم پرورش از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$). بر اساس گزارش پژوهشگران استفاده از ۰/۳ درصد بنتونیت سدیم در جیره‌ی جوجه‌های گوشتی تأثیر منفی بر مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی نداشت و استفاده از ۰/۳ درصد بنتونیت در جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین باعث بهبود مصرف خوراک جوجه‌ها در مقایسه با تیمار آلوده شد (۳۲). بر اساس گزارش پژوهشگران مختلف تغذیه‌ی جوجه‌های گوشتی با جیره‌ی آلوده به ۵۰۰ و ۱۰۰ آفلاتوکسین و حاوی ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم باعث افزایش مصرف خوراک در مقایسه با تیمار آلوده شد (۱۸ و ۲۵).

احتمالاً، افزایش مصرف خوراک در سطوح ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد بنتونیت به دلیل اتصال آفلاتوکسین در دستگاه گوارش و عدم تأثیر سم بر آنزیم‌های گوارشی دستگاه گوارش می‌گردد. فعالیت آنزیم‌های پانکراس از جمله آمیلاز و تریپسین در اثر آلودگی جیره به آفلاتوکسین کاهش می‌یابد (۳۰). اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر افزایش وزن جوجه‌های گوشتی نشان داد که تغذیه‌ی جوجه‌های گوشتی با جیره آلوده به آفلاتوکسین باعث کاهش وزن آن‌ها نسبت به جوجه‌های تیمار شاهد در دوره‌های پرورشی و کل دوره پرورش

جدول ۳ - اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های عملکردی جوجه‌های گوشتی چالش یافته با آفلاتوکسین B1

Table 3- Effects of experimental on performance parameters of broiler chickens challenged with aflatoxin B1

Experimental treatment	T1	T2	T3	T4	T5	SEM	P- value
مصرف خوراک (گرم/پرند)							
Feed intake (gr/bird)							
۱-۷ روزگی (1-7 d)	112.53	109.92	115.20	108.19	113.25	2.58	0.3711
۸-۲۱ روزگی (8-21 d)	773.05 ^d	824.43 ^{dc}	957.14 ^a	896.98 ^{ab}	861.59 ^{bc}	14.22	0.0001
۲۱-۳۵ روزگی (21-35 d)	1916.46	1866.64	2021.07	2053.04	2059.52	51.17	0.0593
۱-۳۵ روزگی (1-35 d)	2802.05 ^b	2801.00 ^b	3093.42 ^a	3058.22 ^{ab}	3034.36 ^{ab}	62.42	0.0071
افزایش وزن (گرم/پرند)							
Body weight gain (gr/bird)							
۱-۷ روزگی (1-7 d)	108.78 ^a	94.53 ^b	105.31 ^a	104.93 ^a	109.21 ^a	1.65	0.0001
۸-۲۱ روزگی (8-21 d)	557.00 ^{ab}	522.19 ^b	554.84 ^{ab}	595.58 ^a	561.09 ^{ab}	10.38	0.0035
۲۱-۳۵ روزگی (21-35 d)	1021.79	993.57	987.86	1013.93	1074.99	29.01	0.2620
۱-۳۵ روزگی (1-35 d)	1687.57 ^{ab}	1550.29 ^b	1648.01 ^{ab}	1714.45 ^a	1645.30 ^{ab}	35.18	0.0463
ضریب تبدیل غذایی							
Feed conversion ratio							
۱-۷ روزگی (1-7 d)	1.034 ^b	1.163 ^a	1.095 ^{ab}	1.03 ^b	1.037 ^{ab}	0.02	0.0240
۸-۲۱ روزگی (8-21 d)	1.387 ^c	1.725 ^a	1.579 ^b	1.506 ^b	1.536 ^b	0.01	0/0001
۲۱-۳۵ روزگی (21-35 d)	1.876 ^b	2.047 ^a	1.999 ^{ab}	2.029 ^{ab}	2.015 ^{ab}	0.04	0/0215
۱-۳۵ روزگی (1-35 d)	1.660 ^b	1.877 ^a	1.806 ^a	1.785 ^a	1.845 ^a	0.02	0/0002

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

1. Mean with different alphabets are statistically different ($P < 0.05$).

T₁: شاهد (جیره پایه بدون افزودنی)، T₂: جیره پایه + آفلاتوکسین B₁ (AFB₁)، T₃: جیره پایه + آفلاتوکسین B₁ + ۰/۲۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فراوری شده فیزیکی، T₄: جیره پایه + آفلاتوکسین B₁ + ۰/۵۰ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فراوری شده فیزیکی، T₅: جیره پایه + آفلاتوکسین B₁ + ۰/۷۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فراوری شده فیزیکی

T₁: control (C), T₂: control diet + aflatoxin B₁ (AF), T₃: control diet + aflatoxin B₁ and 0.25%BF, T₄: control diet + aflatoxin B₁ and 0.5% BF, T₅: control diet + aflatoxin B₁ and 0.75%BF

(اسمکتیت‌ها) در جیره علاوه بر کاهش غلظت جیره و همچنین به دلیل جذب بالای مواد مغذی ضروری جیره مانند ویتامین A، ریوفلاوین و مواد معدنی منگنز و روی باعث کاهش وزن جوجه‌ها در مقایسه با تیمار شاهد می‌گردد (۳۶).

اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر ضریب تبدیل غذایی نشان داد که تغذیه جوجه‌ها با جیره آلوده به آفلاتوکسین باعث افزایش معنی‌دار

استفاده از سطح ۰/۷۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فراوری شده فیزیکی، تأثیری بر وزن بدن جوجه‌ها در مقایسه با تیمار شاهد و آلوده نداشت. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش پیشین استفاده از دو نمونه بنتونیت در سطح ۰/۵ درصد در جیره جوجه‌های گوشتی هیچ تأثیر منفی بر وزن جوجه‌های گوشتی در مقایسه با تیمار شاهد نداشت؛ اما استفاده از سطوح بالاتر از ۰/۵ درصد بنتونیت

افزودن سطوح مختلف بنتونیت فرآوری شده باعث کاهش چربی بطنی جوجه‌های گوشتی در مقایسه با تیمار آلوده گردید که در سطح ۰/۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در نتیجه، احتمالاً آفلاتوکسین موجود در خوراک توسط سطوح مختلف بنتونیت جذب شده و باعث کاهش اثرات منفی آفلاتوکسین و جلوگیری افزایش چربی لاشه شده است. تیمارهای آزمایشی مختلف تأثیر معنی‌داری بر وزن نسبی اجزای لاشه نداشتند.

ضریب تبدیل غذایی دوره اول و دوم و کل دوره پرورش در مقایسه با تیمار شاهد گردید که با نتایج بسیاری از پژوهش‌ها مطابقت داشت (۲، ۹ و ۳۷). آفلاتوکسین به دلیل نقش ممانعتی در فرآیند ساخت پروتئین‌ها و اثر منفی بر هضم و جذب مواد مغذی در دستگاه گوارش باعث افزایش ضریب تبدیل غذایی می‌گردد (۳۲).

اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر وزن نسبی اجزای لاشه (درصد) و اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی در سن ۳۵ روزگی در جدول ۴ نشان داده شده است. چربی حفره بطنی جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی آفلاتوکسین در مقایسه با تیمار شاهد افزایش نشان داد و

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر وزن نسبی اجزای لاشه (درصد) و اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی در سن ۳۵ روزگی چالش‌یافته با آفلاتوکسین B1

Table 4- Effects of experimental treatments of carcass components and body organs broiler chickens challenged with aflatoxin B1

	Experimental treatment					SEM	P- value
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅		
لاشه Carcass	63.94	62.09	60.78	61.45	61.61	0.777	0.0997
پشت و گردن Back & neck	20.95	21.28	19.94	21.54	20.68	0.751	0.6206
سینه Breast	22.79	22.90	21.28	21.96	22.57	0.797	0.5908
ران Thigh	18.18	17.93	19.56	17.94	18.35	0.670	0.4332
چربی بطنی Abdominal fat	1.22 ^{ab}	1.50 ^a	1.30 ^{ab}	0.99 ^b	1.24 ^{ab}	0.104	0.0486
سنگدان Gizzard	1.42	1.53	1.39	1.37	1.53	0.095	0.6045
پیش معده Proventriculus	0.44	0.44	0.47	0.49	0.53	0.026	0.1751
پانکراس Pancreas	0.24	0.23	0.26	0.24	0.26	0.012	0.3818
قلب Heart	0.64	0.65	0.62	0.67	0.60	0.048	0.8637
کبد Liver	2.52 ^{ab}	2.54 ^{ab}	2.23 ^b	2.61 ^a	2.36 ^{ab}	0.120	0.0215
بورس Bursa	0.19	0.22	0.23	0.22	0.21	0.021	0.7779
طحال Spleen	0.11	0.12	0.10	0.10	0.95	0.009	0.4670

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

Mean with different alphabets are statistically different ($P < 0.05$).

T₁ شاهد (جیره پایه بدون افزودنی)، T₂: جیره پایه + آفلاتوکسین B₁ (AFB₁)، T₃: جیره پایه + آفلاتوکسین B₁ + ۰/۲۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی، T₄: جیره پایه + آفلاتوکسین B₁ + ۰/۵۰ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی، T₅: جیره پایه + آفلاتوکسین B₁ + ۰/۷۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی

T₁: control (C), T₂: control diet + aflatoxin B₁ (AF), T₃: control diet + aflatoxin B₁ and 0.25%BF, T₄: control diet + aflatoxin B₁ and 0.5% BF, T₅: control diet + aflatoxin B₁ and 0.75%BF

جدول ۵- اثرات فرآوری فیزیکی بنتونیت بر فراسنجه های خونی جوجه های گوشتی چالش یافته با آفلاتوکسین B1

Table 5- Effects of experimental treatments on blood parameters

تیمارهای آزمایشی Experimental treatment							
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	SEM	P-value
CHOL	127.12	149.07	124.85	132.90	136.15	6.87	0.1580
HDL	46.62	55.07	46.20	48.77	51.87	2.64	0.1462
LDL	67.68 ^{ab}	76.34 ^a	57.06 ^b	65.72 ^{ab}	60.44 ^{ab}	4.28	0.0535
TG	64.10 ^c	88.30 ^{bc}	107.92 ^{ab}	92.00 ^b	119.13 ^a	6.06	0.0001
TP	4.10	3.91	3.75	3.77	3.79	0.28	0.8280
LDH	2024.8	2492.0	1610.8	2437	1669.3	431.19	0.4216
ALP	2880.3 ^c	4247.8 ^{ab}	3041.8 ^{bc}	3539.0 ^a	3877.0 ^{abc}	309.65	0.0059
ALT	2.50 ^b	5.00 ^a	3.75 ^{ab}	3.25 ^b	3.75 ^{ab}	0.38	0.0054
AST	254.27	299.73	242.80	221.20	245.50	30.34	0.4826

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

Mean with different alphabets are statistically different ($P < 0.05$).

T₁ شاهد (جیره پایه بدون افزودنی)، T₂: جیره پایه + آفلاتوکسین B₁ (AFB₁)، T₃: جیره پایه + آفلاتوکسین B₁ + ۰/۲۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی، T₄: جیره پایه + آفلاتوکسین B₁ + ۰/۵۰ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی، T₅: جیره پایه + آفلاتوکسین B₁ + ۰/۷۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی

T₁: control (C), T₂: control diet + aflatoxin B₁ (AF), T₃: control diet + aflatoxin B₁ and 0.25%BF, T₄: control diet + aflatoxin B₁ and 0.5% BF, T₅: control diet + aflatoxin B₁ and 0.75%BF

پیشین نیز گزارش شده است افزودن آفلاتوکسین B1 به جیره جوجه های گوشتی بر عملکرد کبد اثر می گذارد و باعث افزایش فعالیت آنزیم های کبدی مانند آلکالین فسفاتاز، آلانین آسپارات آمینوترانسفراز شد که یافته های پژوهش حاضر با نتایج بسیاری از تحقیقات پیشین مبنی بر اثر منفی آفلاتوکسین بر فعالیت آنزیم های کبدی مطابقت دارد (۱۱ و ۱۸). اثرات منفی آفلاتوکسین بر بافت کبد و کلیه از طریق فعال سازی مسیرهای اکسیداتیو می باشد و باعث افزایش این مواد در سلول های کبدی و کلیوی می گردد (۱۶). با پیشرفت بیماری بزرگ شدن کبد (هپاتو مگالی) در اثر تجمع چربی در بافت کبد مشاهده شد (۱۹). در نتیجه آفلاتوکسین با تاثیر منفی بر بافت کبد باعث عملکرد ضعیف کبد و در نتیجه اختلال در سوخت ساز و نهایتاً متابولیتهای خونی می گردد.

افزودن سطوح مختلف جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی باعث کاهش اثرات آفلاتوکسین و کاهش میزان فعالیت آنزیم های کبدی ALT، AST و LDH در مقایسه با تیمار آلوده گردید که در سطح ۰/۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فرآوری شده فیزیکی فعالیت آنزیم ALT کاهش معنی داری نشان داد ($P < 0.05$) این یافته ها با نتایج محققان دیگر مبنی بر کاهش فعالیت آنزیم های کبدی در هنگام افزودن بنتونیت به جیره های آلوده مطابقت دارد (۹، ۱۱، ۱۳ و ۳۴).

اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر فراسنجه های خونی ۳۵ روزگی جوجه های گوشتی چالش یافته با آفلاتوکسین B1 در جدول ۵ نشان داده شده است. تحلیل داده ها نشان داد که تغذیه جوجه های گوشتی با جیره ی آلوده به آفلاتوکسین باعث کاهش عددی پروتئین تام و افزایش کلسترول تری گلیسرید، LDL و HDL در مقایسه با تیمار شاهد گردید. بر اساس پژوهش های محققان سطوح ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۵۰۰ و ۱۰۰۰ آفلاتوکسین باعث کاهش سطح پروتئین تام خون جوجه های گوشتی در مقایسه با تیمار شاهد گردید (۸ و ۳۴). افزودن سطوح مختلف بنتونیت فرآوری شده به جیره های آلوده به آفلاتوکسین باعث افزایش عددی پروتئین تام، HDL، LDL در مقایسه با تیمار آلوده گردید ($P < 0.05$). نتایج این تحقیق با یافته های پژوهشی که افزودن ۰/۳ درصد مونتموریلونیت (بنتونیت) نانو ساختار باعث افزایش معنی دار غلظت پروتئین تام و آلبومین نسبت به تیمار آلوده را گزارش کرده بودند مطابقت دارد (۳۴). احتمالاً افزودن بنتونیت به جیره های آلوده به آفلاتوکسین، با افزایش دفع سموم و کاهش اثرگذاری بر کبد، زمینه را برای افزایش سنتز پروتئین ها در کبد و کلیه فراهم نموده و در نتیجه غلظت پروتئین خون افزایش یافت که با نتایج محققین پیشین هم خوانی دارد (۳۴).

نتایج نشان داد که تغذیه جوجه های گوشتی با جیره ی آلوده به آفلاتوکسین باعث افزایش معنی دار فعالیت آنزیم های ALP و ALT در مقایسه با تیمار شاهد گردید ($P < 0.05$). به طور مشابه در مطالعات

نتیجه گیری کلی

خوراک، کاهش درصد چربی بطنی و LDL سرم خون در دوره پرورش گردید ($P < 0/05$). افزودن ۰/۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فراوری شده فیزیکی به جیره آلوده باعث افزایش وزن بدن و کاهش میزان فعالیت آنزیم ALT گردید.

نتایج این پژوهش نشان داد آفاتوکسین باعث افزایش ضریب تبدیل خوراک، فعالیت آنزیم کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و کاهش تری گلیسرید شد، افزودن ۰/۲۵ درصد جاذب آلومینوسیلیکاته نانو ساختار فراوری شده فیزیکی به جیره آلوده باعث افزایش مصرف

منابع

1. Asadifard, G., G. Tilaki, M. Ranjbar, M. Dini, A. Arab, M. Ghajavand, A. Kargari, and O. Moradi. 2006. Introduction to Nanotechnology Laboratory. Published by Nanotechnology Initiative Council Secretariat. (In Persian).
2. Azimi, J., M. A. Karimi Torshizi, A. A. Allame, and H. Ahari. 2013. The effect of additive two trade toxin binder and natural Zeolit to feed content aflatoxin B1 on performance and immune system of broiler chicks. Iranian Journal of Animal Science Research, 4(4): 292-297. (In Persian).
3. Bailey, C. A., G. W. Latimer, A. C. Barr, W. L. Wagle, A. U. Haq, J. E. Balthrop, and L. F. Kubena. 2006. Efficacy of Montmorillonite Clay (NovaSil PLUS) for Protecting Full-Term Broilers from Aflatoxicosis. Poultry Research, 15:198-206.
4. Bennett, J. W., and M. Klich. 2003. Mycotoxins. Clinical Microbiology Reviews, 16(3): 497-516.
5. Braun, R. D. 1987. Introduction to Instrumental Analysis, McGraw-Hill, New York.
6. Bridane, Y. O., R. Col, H. Basmacioglu, and H. Oguz. 2004. Effect of esterified glucomannan on aflatoxicosis: II) Serum biochemical-hematological and bone parameters. World's Poultry Congress. Turkey, Istanbul.
7. Charmley, L. L., H. L. Trenholm, and D. B. Prelusky. 1995. Mycotoxins: their origin, impact and importance; insight into common methods of control and elimination. PP. 41-63 In: T. Lyons and K. A. Jacques (Eds). Pp 41-63.
8. Chen, X., R. Murdoch, Q. Zhang, D. J. Shafer, and T. J. Applegate. 2016. Effects of dietary protein concentration on performance and nutrient digestibility in Pekin ducks during aflatoxicosis. Poultry Science, 95:834-841.
9. Dos Anjos, F. R., D. R. Ledoux, G. E. Rottinghaus, and M. Chimonyo. 2015. Efficacy of adsorbents (bentonite and diatomaceous earth) and turmeric (Curcuma longa) in alleviating the toxic effects of aflatoxin in chicks, British Poultry Science, 04:53.
10. Edrington, T. S., A. B. Sarr, L. F. Kubena, R. B. Harvey, and I. D. Phillips. 1996. Hydrated sodium calcium aluminosilicate (HSCAS). Acidic HSCAS and activated charcoal reduce urinary excretion of aflatoxin M1 in turkey poults. Lack of effect by activated charcoal on aflatoxicosis. Toxicology Letters, 89(2): 115-122.
11. Eraslan, G., D. Essiz, M. Mehmet akdogan, F. Sahindokuyucu, L. Altintas, and S. E. Hismiogullari. 2005. Effects of dietary aflatoxin and sodium bentonite on some hormones in broiler chickens. Bull Vet Inst Pulawy, 49: 93-96.
12. Friedewald, W. T., R. I. Levy, and D. S. Fredrickson. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clinical Chemistry, 18:499-502.
13. Ghahri, H., A. Solimannezhad, D. Mohajeri, and A. Zakir. 2010. The effect of Sodium Bentonite, Yeast cell wall and humic acid of reducing kidney damage aflatoxin and blood parameters of broiler chicks. Veterinary Journal of Islamic Azad University of Tabriz, 4(3): 907-914. (In Persian).
14. Gholampour Azizi, I., and A. Khosravi. 2007. Aflatoxin Pervention and Immunoassay. Research Unit of Islamic Azad University Babol, Mabas Publisher. (In Persian).
15. Golestani Fard, F., M. A. Bahrevar, and E. Salahi. 2013. The methods of identification and analysis of material. Published by Elmo-Sanaat Iran University. (In Persian).
16. He, Q. R., J. Kim, and R. P. Sharma. 2004. Silymarin protects against liver damage in BALB/c mice exposed to fumonisin B-1 despite increasing accumulation of free sphingoid bases. Toxicology Science, 80(2): 335-342.
17. Hussein, H. S., and J. M. Brasel. 2001. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology, 167: 101-134.
18. Kermanshahi, H., A. R. Hazegh, and N. Afzali. 2009. Effect of Sodium Bentonite in Broiler Chickens Fed Diets Contaminated with Aflatoxin B1. Journal of Animal and Veterinary Advances, 8(8): 1631-1636.
19. Leeson, S., G. Diaz, and J. D. Summers. 2001. Poultry Metabolic Disorders and Mycotoxins. Translators to Persian: Jafari, R. A., Mayahi, M. Publisher Shahid Chamran University.
20. Lemke, S. L., S. E. Ottinger, K. Mayura, C. L. Ake, K. Pimpukdee, N. Wang, and T. D. Phillips. 2001. Development of a multi-tiered approach to the in vitro prescreening of clay-based enteric sorbent. Animal Feed Science and Technologies, 93: 17-29.

21. Marashi, P., S. Kaviani, H. Sarpoolaky, and A. R. Zolfaghari. 2004. Electron Microscopes and new analysis methods as nano world investigation tools. Published by Elmo-Sanaat Iran University. (In Persian).
22. Masumy, A. 1995. Instrumental Chemistry. Islamic Azad University, North Tehran. (In Persian).
23. Mojtahedi, M. 2013. Identification of nanostructured and nanoporous bentonite adsorbents and their efficiency on aflatoxin b1 detoxification In Vitro and In Vivo. PhD thesis, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (In Persian).
24. Mulder, I., A. L. Barrientos, M. G. Velazquez, G. N. Tenorio Arvide, and J. B. Dixon. 2008. Smectite clay sequestration of aflatoxin B1: particle size and morphology. *Clays and Clay Minerals*, 56(5): 558-570(13).
25. Pasha, T. N., M. U. Farooq, F. M. Khattak, M. A. Jabbar, and A. D. Khan. 2007. Effectiveness of sodium bentonite and two commercial products as aflatoxin absorbents in diets for broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 132: 103-110.
26. Phillips, T. D., L. F. Kubena, R. B. Harvey, D. R. Taylor, and N. D. Heidelbaugh. 1988. Hydrated sodium calcium aluminosilicate: A high affinity sorbent for aflatoxin. *Poultry Science*, 67: 243-247.
27. Pier, A. C. 1973. Effects of aflatoxin on immunity. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 163: 1268-1269.
28. Raju, M. V. L. N., and G. Devegowda. 2000. Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin). *British Poultry Science*, 41(5): 640-650.
29. Razmara, M., and M. Ghafoori. 2006. Fundamentals of clay mineralogy, Published by Ferdowsi University, Iran. (In Persian).
30. Richard, J. L., A. C. Pier, R. D. Stubblefield, O. L. Shotwell, R. L. Lyon, and R. C. Cutlip. 1983. Effect of feeding corn naturally contaminated with aflatoxin on feed efficiency, on physiologic, immunologic, and pathologic changes and on tissue residues in steers.
31. Ritter, A. C., M. Hoeltz, and I. B. Noll. 2011. Toxigenic potential of *Aspergillus flavus* tested in different culture conditions. *Ciência e Tecnologia de Alimentos Campinas*, 31(3): 623-628.
32. Rosa, C. A. R., R. Miazzi, C. Magnoli, M. Salvano, S. M. Chiacchiera, S. Ferrero, M. Saenz, E. C. Q. Carvallho, and A. Dalcero. 2001. Evaluation of the efficacy of bentonite from the south of Argentina to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. *Poultry Science*, 80: 139-144.
33. Schell, T., M. Lindemann, E. Kornegay, and D. Blodgett. 1993. Effects of feeding aflatoxin-contaminated diets with and without clay to weanling and growing pigs on performance, liver function, and mineral metabolism. *Journal of Animal Science*, 71: 1209-1218.
34. Shi, Y. H., Z. R. Xu, J. L. Feng, and C. Z. Wang. 2006. Efficacy of modified montmorillonite nanocomposite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology*, 129:138-148.
35. Shotwell, O. L., C. W. Hesseltine, R. D. Stubblefield, and W. G. Sorenson. 1966. Production of aflatoxin on rice. *Applied Microbiology*, American Society of Microbiology, 14(3): 425-8.
36. Velazquez, A. L. B. 2011. Texas bentonites as amendments of aflatoxin-contaminated poultry feed. M.Sc. thesis of Texas A&M University.
37. Yalagod, S. G. 2014. Studies on low levels of aflatoxin induced immunotoxicity in broiler chicken and its amelioration. PhD, thesis, Karanataka Veterinary, Animal and Fisheries Sciences University, Bidar Department of Veterinary Pathology, Veterinary College. Bangalor.



Effects of Physical Modification of Nanostructure Aluminosilicate on Growth Performance, Carcass Traits and Blood Parameters of Broiler Chicken Challenged with Aflatoxin B1

H. Keyhani-Yazdi¹ - S. J. Hosseini-Vashan^{2*} - N. Afzali² - M. Mojtahedi² - A. Allahresani³

Received: 26-05-2017

Accepted: 21-08-2017

Introduction: Fungi can grow in feed that maintained under normal temperature and high moisture condition. At the same condition, the fungi can produce mycotoxins in the feed. In poultry production, mycotoxicosis caused by key mycotoxins such as: Aflatoxin B1, Ochratoxin, T2toxin, Zearalenone and deoxynivalenol (DON, vomitoxin). Mycotoxins especially aflatoxin had undesirable influence on feed intake, body weight, feed conversion ratio and carcass characteristics. The Aflatoxin infected feed cause injuries on poultry's carcass especially liver and heart. Various aspects of the aflatoxicosis in poultry husbandry including effects on bird's performance, digestion, metabolism, and organ function, metabolism of the toxin, and remnant of toxic residues to poultry products have been the subjects of several comprehensive reviews. The aflatoxin has vast economic losses in poultry industry via increase the mortality and reduces the growth performance. In order to reducing aflatoxin side effects, some ways were proposed such as inactivation of toxin, toxin adsorbent. Bentonite is the main toxin adsorbent. Bentonite can decrease the aflatoxin absorption from gut. Therefore this study was done to evaluate the effects of different levels of physical modified Nanostructure bentonite (PNB) on growth performance, carcass components and blood indices in broilers challenged by aflatoxin B1 (AFB1).

Material and Methods: One hundred and sixty day-old Ross 308 broiler chicks were bought from a great hatchery in South Khorasan, Iran. The birds were assigned to 20 experimental units with the same mean group body weight at initial experiment. The birds were reared for 35 days. The experiment was conducted in a completely randomized design with 5 treatments, 4 replicates and 8 birds in each. Experimental groups consisted of: negative control (C), positive control (basal diet with aflatoxin B1) (AF) and three level 0.25, 0.50 and 0.75 % of Physical modified Nanostructure bentonite added to basal diet with aflatoxin B1(positive control). The aflatoxin were added to starter and grower diets at 500 ppm and to finisher diets at 1000 ppm. At 21 and 35 days of age, one bird from each replicate was randomly selected and bled and blood parameters involved the concentration of cholesterol, triglyceride, LDL, HDL, total protein, and enzyme activity of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and lactate dehydrogenase were determined. One bird from each replicate of treatment were slaughtered and carcass components involved breast, thigh, abdominal fat, spleen, bursa of fabricius, and pancreas were weighed and the relative weight of organs were calculated. The data were analyzed by SAS software and general linear model (GLM) was used to analyze the data. The differences among means were determined by Tuckey's multiple range test.

Results and Discussion: The results showed that aflatoxin increased feed conversion ratio and reduced triglyceride as compared to control diet. The blood lipid was negatively influenced by infected aflatoxin diets in broilers. Supplementation of 0.25% Physical modified Nanostructure bentonite to the infected diet of broilers was significantly increased the feed intake, decreased the concentration of LDL ($P<0.05$). The lower relative weight of abdominal fat were observed in broilers fed diets contained aflatoxin and 0.25% Physical modified Nanostructure bentonite (PNB) ($P<0.05$). Birds fed infected diets and contained 0.75% PNB had higher triglyceride concentration compare to positive control. The ALT enzyme activity significantly increased in negative control treat compare to negative control and 0.50% PNB ($P<0.05$). In this research, the supplementation of Physical modified Nanostructure bentonite to broilers infected with aflatoxin reduced the undesirable effects of aflatoxin. As with previous research report that aflatoxin increased the feed conversion ratio and decreased the nutrient digestion and absorption. Inclusion of aflatoxin to broiler diets had undesirable effects on liver activity and liver injuries. The liver enzyme activities are indices to evaluate of liver function. The birds had higher liver enzyme activity, which may negatively affected by side effects of aflatoxin. The last literature were reported that the lower nutrient utilization might be a factor of the effects of the toxin on

1- Graduate Student of management and poultry production, Animal Science Department, University of Birjand, Iran

2- Associate Professor, Professor, Assistant Professor, Animal Science Department, University of Birjand, Birjand, Iran

3- Assistant Professor, Chemistry Science Department, University of Birjand, Birjand, Iran

(*- Corresponding author email: jhosseini@birjand.ac.ir)

systemic metabolism rather than an effect on digestive functionality. Bentonite can adsorb the aflatoxin and reduce the side effects of them on broiler growth performance, digestive and liver function.

Conclusion: The result of this research showed that aflatoxin may decrease the performance parameters and addition of Physical modified Nanostructure bentonite reduced the negative effects of aflatoxin on performance and increased percentage of abdominal fat, therefore, the 0.5% Physical modified Nanostructure bentonite suggested to add in broiler diets contained aflatoxin.

Key words: Aflatoxin B₁, Physical modified bentonite, Broiler chicken, Growth performance, carcass components.



تاثیر گیاه گزنه (*Urtica dioica*) بر پارامترهای سرم و بیان ژنهای نیتریک اکسید سنتتاز و اندوتلین ۱ در جوجه‌های گوشتی درگیر با فشار خون ریوی

بهنام احمدی پور^{۱*} - فربرز خواجعلی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۱

چکیده

این تحقیق جهت بررسی تاثیر استفاده از پودر برگ گیاه گزنه بر وزن نسبی برخی اندام‌ها، فراسنجه‌های سرمی و خونی و بیان ژنهای نیتریک اکسید سنتتاز (NOS) و اندوتلین ۱ (ET1) در قلب و ریه جوجه‌های گوشتی پرورش‌یافته در ارتفاع بالا (۲۱۰۰ متر از سطح دریا) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی سطوح مختلف پودر برگ گیاه گزنه (صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) در جیره جوجه‌های گوشتی بود. نتایج آزمایش نشان داد که افزودن پودر برگ گیاه گزنه به خوراک، موجب کاهش معنی‌دار وزن نسبی قلب و کبد و همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینو ترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز در سرم جوجه‌های گوشتی شد ($P<0/05$). در مقابل، میزان پروتئین تام سرم، آلبومین و نیتریک اکسید سرم در تیمارهای حاوی گزنه افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد ($P<0/05$). سطوح ۱ و ۱/۵ درصد گیاه گزنه موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن نیتریک اکسید سنتتاز (NOS) در قلب و ریه و کاهش معنی‌دار بیان ژن اندوتلین ۱ (ET1) در این دو اندام گردید ($P<0/05$). به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن سطوح ۱ و ۱/۵ درصد پودر برگ گیاه گزنه به خوراک جوجه‌های گوشتی پرورش‌یافته در ارتفاع بالا دارای اثرات مثبتی بر شاخص‌های فشار خون ریوی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، جوجه‌گوشتی، فراسنجه‌های سرم، فشار خون ریوی، گیاه گزنه

مقدمه

اکسیژن بدن را نامناسب‌تر کرده و شرایط را برای بروز فشار خون ریوی و آسیب بیش از پیش مستعد می‌کند (۲۹). یکی از عوامل مهم بروز عارضه فشارخون ریوی بروز تنش‌های اکسیداتیو و آزاد شدن بیش از اندازه رادیکال‌های آزاد (ROS)^۳ در بدن پرنده می‌باشد (۲۸). این فرایند موجب آسیب به غشای اندوتلیال مویرگ‌ها و پراکسیداسیون غشاء سلول‌های کبدی می‌گردد (۲۳). با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و هجوم آن‌ها به طرف بافت‌های پر خون مانند قلب، ریه و کبد، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت‌ها برای خنثی کردن آن‌ها کافی نمی‌باشد و در پی آن دیواره سلول‌های اندوتلیال عروق خونی دچار تغییرات ساختاری (remodeling) می‌شود (۹). علاوه بر این، واکنش رادیکال‌های سوپر اکسید با نیتریک اکسید منجر به تولید پروکسی نیترات می‌گردد که یک ترکیب اکسیدان است که خود موجب آسیب به غشاء سلول می‌گردد (۲۸). با کاهش سنتر نیتریک اکسید انقباض عروق ریوی و مقاومت در برابر جریان خون ریوی افزایش یافته و با افزایش برون ده قلبی برای تأمین اکسیژن هائپرتروفی بطن راست قلب (RV) بروز پیدا نموده و نقص در عملکرد قلب ایجاد می‌گردد (۳۲). یکی از راه‌های افزایش توان

انتخاب ژنتیکی فشرده‌ای که در چند دهه اخیر در جهت افزایش سرعت رشد جوجه‌های گوشتی صورت گرفته است، موجب شده است که وزن بدن یک جوجه گوشتی از ۱ تا ۵۶ روزگی به حدود ۱۰۰ برابر برسد. پیامد این وضعیت، بر هم خوردن تعادل بین اندام‌های تأمین‌کننده اکسیژن (قلب و ریه‌ها) و اندام‌های مصرف‌کننده اکسیژن و در نهایت عارضه فشار خون ریوی بوده‌است (۴۰). عواملی مانند ارتفاع بالا، تهویه نامناسب، کاهش میزان اکسیژن محیط، اختلالات پاتولوژیک ریه (مثل بیماری مزمن تنفسی و برونشیت) که کاهش ظرفیت اشباع شدن خون با اکسیژن را در پی دارد (۴) و یا عواملی از قبیل سرما، مصرف دان پلت شده و چربی بالای جیره که با بالا بردن فعالیت‌های متابولیکی موجب افزایش نیاز به اکسیژن می‌شوند، تعادل

۱- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

*- نویسنده مسئول: (Email: behnam.ahmadipour@gmail.com)

DOI: 10.22067/ijasr.v10i4.67175

شاهد بود. گیاه گزنه از مراتع استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری گردید و شناسایی آن توسط کارشناس هرباریوم دانشگاه شهرکرد صورت پذیرفت. برگ گیاه جدا و با انتقال به آزمایشگاه در محیط سایه و تحت تهویه مناسب خشک گردید و توسط آسیاب برقی به پودر تبدیل و مورد استفاده قرار گرفت.

در سن ۴۲ روزگی، با توجه به میانگین وزنی تکرارها ۲ پرنده از هر تکرار (هر تیمار ۸ قطعه جوجه) خون‌گیری و سپس کشتار گردیدند. نمونه‌های خون (۳ میلی‌لیتر) از سیاهرگ بال هر پرنده گرفته شد و سرم تهیه گردید. غلظت مالون دی آلدهید (MDA) سرم بر اساس روش نیر و ترنر (۲۴) و غلظت نیتریک اکسید سرم به روش بهروج و همکاران (۶) اندازه‌گیری شد. همچنین، غلظت پروتئین تام، آلومین، اوره سرم و فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) در سرم با دستگاه اتوانالایزر (BT 3000) با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری گردید. به منظور تعیین وزن قلب و بطن‌های قلبی برش‌های لازم برای جدا کردن قلب و بطن‌ها انجام گرفت و نسبت وزن بطن راست به وزن بطن‌ها با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم تعیین گردید. نسبت وزن بطن راست به وزن بطن‌ها (RV/TV) شاخصی از هایپرتروفی بطن راست در پرندگان است. پرندگان تلف شده در طول آزمایش نیز کالبدگشایی شدند و نسبت وزنی بطن راست به کل دو بطن اندازه‌گیری شد. مواردی که نسبت مذکور بالاتر از ۰/۲۵ بود، به‌عنوان تلفات ناشی از فشار خون ریوی ثبت گردید (۲۹).

جهت تعیین نسبی بیان ژن‌های نیتریک اکسید سنتتاز (NOS) و اندوتلین (ET1) در بین تیمارهای آزمایشی قطعاتی از بطن چپ و ریه جوجه‌های کشتار شده جدا و بلافاصله نمونه‌ها در تانک حاوی نیتروژن مایع ریخته شد و تا زمان استخراج RNA در فریزر -۷۰- درجه سلسیوس نگهداری گردید. برای استخراج RNA به ۱۰۰ mg از بافت خرد شده ریه یا قلب، محلول دنا تارکننده RNX PLUS (متعلق به شرکت سیناژن) اضافه و بعد از افزودن کلروفرم و اتانول (۷۵٪) مرحله استخراج RNA به پایان رسید. برای تولید cDNA از کیت مخصوص PrimeScript™ RT Reagent Kit محصولات شرکت بیوتکنولوژی تاکارا، ژاپن، استفاده گردید (۲). ژن‌های NOS و ET1 به‌عنوان ژن هدف و ژن β -Actin به‌عنوان ژن مرجع انتخاب و پرایمرهای موردنظر با استفاده از نرم افزار Primer-Blast قابل دسترس در شبکه اینترنت (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHome) طراحی گردید.

جدول ۲ توالی پرایمرهای مورد استفاده را نشان می‌دهد. نمونه‌ها جهت انجام Real-time PCR آماده شدند. برای هر نمونه ۱۰ μ L رنگ اینتر کاله Sybr-Green شرکت تاکارا، ژاپن، ۱ μ L پرایمر و

آنتی‌اکسیدانی بدن استفاده از گیاهان دارویی می‌باشد. امروزه تعداد بی‌شماری از داروهای بیولوژیکی رایج در عرصه داروسازی دارای منشا گیاهی می‌باشند (۳۷ و ۴۴). گیاه گزنه یکی از این گیاهان دارویی است که به‌طور وسیع در جهان به دلیل داشتن ترکیبات قوی آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی و تحریک سیستم ایمنی جهت درمان بیماری‌های قلبی و عروقی، تنفسی، سرطانی و آلرژیکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. یکی از اثرات مهم این گیاه کاهش فشار خون می‌باشد (۲۱). گیاه گزنه با نام علمی *اورتیکا دیویکا* *Urtica dioica* یک گیاه چند ساله علفی است که متعلق به خانواده Urticaceae می‌باشد. این گیاه در اکثر نقاط کشور مانند استان‌های شمالی، نواحی غربی و مرکزی رشد می‌نماید (۴۵). گزنه به علت داشتن ترکیبات پلی‌فنلی از قبیل لانالول، کاربوفیلین، کاروون، نفتالن، آنیتول، کارواکرول، فیتول، فتالیدها و فلاونوئیدها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و کاهش رادیکال‌های آزاد است (۱۵). این ترکیبات با فعالیت آنتی‌اکسیدانی قادر هستند به‌طور قوی عوامل فعالی مثل نیتريت پراکسید و رادیکال هیدروکسید را غیرفعال کنند (۱ و ۸). گیاه گزنه باعث افزایش ترشح نیتریک اکسید از سلول‌های اندوتلیال و همچنین موجب باز شدن کانال‌های پتاسیم می‌گردد و این امر باعث اتساع عروق و افزایش خون‌رسانی به سلول‌ها می‌شود (۳۶). با توجه به اینکه افزایش میزان ترکیبات اکسیدانی و کاهش غلظت نیتریک اکسید در بروز عارضه فشار خون ریوی و آسیب در جوجه‌های گوشتی دارای نقش مهمی هستند، هدف تحقیق حاضر بررسی اثرات برگ گیاه دارویی گزنه بر فشار خون ریوی در جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در ایستگاه پرورش مرغ دانشگاه شهرکرد (ارتفاع ۲۱۰۰ متری از سطح دریا) انجام شد. پرورش جوجه‌های گوشتی در چنین ارتفاعی، شرایط کمبود فشار اکسیژن را به آسانی فراهم می‌سازد. در این تحقیق از تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار (۱۵ جوجه در هر تکرار) استفاده شد. جیره‌های آزمایشی بر پایه ذرت و سویا و با توجه به نیازهای توصیه شده شورای پژوهش‌های ملی آمریکا ۱۹۹۴ (۲۵) و با استفاده از نرم‌افزار UFFDA برای دو دوره آغازین (۲۱-۱ روزگی) و رشد (۴۲-۲۲ روزگی) تنظیم شدند (جدول ۱). در طول دوره پرورش، آب و خوراک به‌صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار گرفت و از یک برنامه نوری ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی استفاده شد. دمای سالن در هفته اول، دوم و سوم به‌ترتیب ۳۲، ۲۵ و ۲۰ درجه سلسیوس و از هفته چهارم تا پایان دوره ۱۵ درجه سلسیوس تنظیم گردید (۳۲).

تیمارهای آزمایشی شامل جیره شاهد (بدون گزنه) و تیمارهای ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد پودر برگ گزنه به جای سبوس گندم در جیره

فافل (۱۳) جهت ارزیابی بیان ژن در تیمارهای آزمایشی استفاده گردید. آنالیز داده‌ها در یک طرح کاملاً تصادفی با استفاده از روش GLM توسط نرم‌افزار آماری SAS (۳۱) انجام گردید. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

actin- β و NO و ET1 و ۱ μ L از cDNA استخراج شده اضافه و حجم مخلوط را با آب مقطر (یونیزه) به ۲۵ μ L رسانده و در دستگاه Thermocyclor (Rotor Gene Q 6000, Qiagen, USA) قرار داده شد (۱۷). برای به‌دست آوردن بازده (efficiency) هریک از نمونه‌ها از برنامه کامپیوتری Line Reg PCR استفاده شد و از روش

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره‌های مورد استفاده در جوجه‌های گوشتی در مرحله استارتر و رشد
Table 1- Composition of the basal diet for broilers during starter and grower stages

اجزای جیره (درصد) Item (%)	استارتر (۱ تا ۲۱ روزگی) Starter (1–21days)	رشد (۲۲ تا ۴۲ روزگی) Grower (22–42 days)
ذرت Corn	51.8	58.4
کنجاله سویا Soybean meal (44% CP)	38.6	32.5
روغن سویا Soy oil	4	3.9
دی - کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.7	1.3
صدف Oyster shell	1.5	1.5
نمک Salt	0.3	0.3
دی - ال متیونین DL-Methionine	0.1	0.1
ال - لایزین L-Lysine	-	-
مکمل معدنی Mineral supplement ^a	0.25	0.25
مکمل ویتامینه Vitamin supplement ^b	0.25	0.25
¹ سبوس گندم Wheat bran	1.5	1.5
ترکیب محاسباتی جیره Calculated composition		
انرژی قابل سوخت و ساز (کیلوکالری در کیلوگرم) AME (kcal/kg)	3000	3100
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	21.5	19.5
سیستین + متیونین (درصد) Methionine + cysteine (%)	0.9	0.72
لیزین (درصد) Lysine (%)	1.26	1.03
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.95	0.88
فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorus	0.43	0.35
سدیم (درصد) Sodium (%)	0.18	0.15
کلر (درصد) Chlorine (%)	0.27	0.29
پتاسیم (درصد) Potassium (%)	0.9	0.92
تبادل الکترولیتی (میلی اکی والان/کیلوگرم) Na+K-Cl (mEq/kg)	232	233

^۱ جایگزینی سطوح مختلف (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) پودر برگ گزنه با سبوس گندم ۴ جیره آزمایشی تهیه گردید.

^۱ With replacing different levels (0, 0.5, 1 and 1.5%) of *Urtica dioica* leaves with wheat bran provided five experimental diets.

^a Provided the following per kg of diet: vitamin A (trans retinyl acetate), 3600IU; vitamin D3 (cholecalciferol), 800 IU; vitamin E (dl- α -tocopheryl acetate), 7.2 mg; vitamin K3, 1.6 mg; thiamine, 0.72 mg; riboflavin, 3.3 mg; niacin, 0.4 mg; pyridoxin, 1.2 mg; cobalamine, 0.6 mg; folicacid, 0.5 mg; choline chloride, 200 mg.

^b Provided the following per kg of diet: Mn (from MnSO₄-H₂O), 40mg; Zn (from ZnO), 40mg; Fe (from FeSO₄-7H₂O), 20mg; Cu (from CuSO₄-5H₂O), 4 mg; I [from Ca (IO₃)₂-H₂O], 0.64 mg; Se (from sodium selenite), 0.08 mg.

جدول ۲- ترتیب و سایر مشخصات پرایمرهای به کار گرفته شده در واکنش PCR

Table 2- Details of the primers used for quantitative real time PCR analysis of chicken mRNAs

ژن Target	ترتیب پرایمر Primers	طول قطعه (جفت باز) PCR product (bp)	کد شناسایی Accession No.
بتا اکتین β -Actin	5'-AGCGAACGCCCCAAAGTTCT-3' 5'-AGCTGGGCTGTTGCCTTCACA-3'	139	NM_205518.1
نیتریک اکسید سنتتاز ۱ iNOS	5'-AGGCCAAACATCCTGGAGGTC-3' 5'-TCATAGAGACGCTGCTGCCAG-3'	371	U46504
اندوتلین ۱ ET-1	5'-GGACGAGGAGTGCCTGTATT-3' 5'-GCT CCAGCAAGCATCTCTG-3'	141	XM418943

SOD1: superoxide dismutase 1; iNOS: inducible nitric oxide synthase; ET-1: endothelin 1; bp: base pair

نتایج و بحث

طبق داده‌های جدول ۳ جوجه‌هایی که جیره‌ی حاوی سطوح ۰/۵ تا ۱/۵ درصد برگ گزنه را مورد تغذیه قرار دادند، بازدهی وزن قلب و کبد نسبت به وزن زنده جوجه‌ها در ۴۲ روزگی و همچنین نسبت بطن راست به کل بطن‌ها (RV/TV) کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داده‌است و بهترین عملکرد مربوط به تیمار حاوی ۱ درصد گزنه است ($P < 0.05$). نسبت RV/TV شاخصی برای تعیین فشار خون ریوی در مرغ‌های گوشتی می‌باشد. چنانچه این نسبت از ۲۵ درصد بالاتر باشد، نشان‌دهنده این است که جوجه‌های گوشتی درگیر عارضه فشار خون ریوی می‌باشند (۲۹). میانگین داده‌های این آزمایش نشان می‌دهد که نسبت RV/TV در گروه کنترل بالاتر از ۰/۲۵ می‌باشد و به نحوی درگیری پرندگان با فشار خون ریوی را نشان می‌دهد. در شرایط کمبود فشار اکسیژن و سرما به دلیل انقباض عروق و مقاومت عروقی در برابر جریان خون ریوی، فشار وارده به بطن راست جهت افزایش برون ده قلب بالا رفته و در نتیجه منجر به پررشدی بطن راست و افزایش وزن بطن راست و کل قلب می‌گردد (۴۱). گزنه حاوی ترکیبات پلی‌فنلی از جمله فتالیدها و فلاونوئیدها است (۱۵) فلاونوئیدها با بلوکه کردن کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ مانع از ورود کلسیم به داخل سلول عضله شده و در نتیجه سبب رفع انقباض عضله می‌شود (۱۸). همچنین ترکیبات فنالیدی با مهار اثر نور آدرنالین بر گیرنده‌های آدرنرژیک عضلات صاف عروق خونی

باعث اتساع عروق خونی و کاهش فشار خون می‌گردند (۳۸). بر اساس آزمایش‌ها، عصاره گیاه گزنه موجب ترشح بیشتر اکسید نیتریک از سلول‌های اندوتلیال عروق و باز کردن کانال‌های پتاسیم می‌گردد (۳۶)، که این عوامل باعث اتساع عروق و کاهش فشار خون می‌شوند که به نظر می‌رسد با کاهش فشار مکانیکی روی قلب از هاپیرتروفی قلب و خصوصاً هاپیرتروفی بطن راست جلوگیری به عمل می‌آورد. مطالعات نشان می‌دهد که در جوجه‌های درگیر با آسیب قلب و کبد بیشتر از جوجه‌های سالم است (۲ و ۳۲). کبد مهمترین محل لیپوژنز در پرندگان می‌باشد (۶). بر اساس تحقیقات اگرچه کبد حدود ۲/۵ تا ۳ درصد از وزن بدن را تشکیل می‌دهد، اما نزدیک به ۲۰ درصد اکسیژن مورد استفاده در بدن صرف فرآیند متابولیسم می‌شود (۱۰). در شرایط کمبود اکسیژن بیشترین تنش‌های اکسیداتیو در کبد صورت گرفته و آسیب‌های جدی را به سلول‌های کبدی رسانده و موجب نکروزه شدن و افزایش وزن کبد می‌گردد (۳۰). ترکیبات فلاونوئیدی از طریق مکانیسم‌هایی مانند فعالیت مستقیم برای شکندگی رادیکال‌های آزاد، کلیت شدن با یون‌های فلزی و مهار اکسیدازها از استرس‌های اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند (۳۵). نقش آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها مربوط به گروه‌های هیدروکسیل (OH) می‌باشد که روی اسکلت فلاون قرار دارند و عمل متقابل آن‌ها با ملکول‌های ROS باعث خنثی شدن رادیکال‌های آزاد می‌گردد و باعث تثبیت و بی‌ضرر شدن رادیکال‌ها می‌گردد (۱۱).

همچنین گروه‌های هیدروکسیل حلقه فلاوون با انجام واکنش با یون‌های فلزی از جمله یون Fe^{2+} و Cu^{2+} ایجاد کلیت‌های موقتی می‌نمایند و با احیاء این یون‌های فلزی از قدرت اکسیدانی آن‌ها

کاسته و در نتیجه تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسید شدن چربی‌ها را کاهش می‌دهند (۱۶).

جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف گزنه بر وزن نسبی برخی اندام‌ها و اجزای لاشه جوجه‌گوشی در سن ۴۲ روزگی (درصد وزن زنده)

Table 3- Effect of different levels of *Urtica dioica* on the relative weight of different organs and carcass traits in broiler chickens at 42 days of age. (% of live body weight)

اجزای لاشه Carcass Ingredient	سطوح گزنه در جیره (درصد) Dietary levels of <i>Urtica dioica</i> (%)				SEM	p-value
	Control (0)	0.5	1	1.5		
کبد Liver	2.41 ^a	2.19 ^b	2.14 ^b	2.04 ^b	0.05	0.0002
قلب Heart	0.736 ^a	0.66 ^b	0.645 ^b	0.657 ^b	0.016	0.002
شاخص آسیتی RV:TV	0.33 ^a	0.27 ^b	0.23 ^c	0.24 ^c	0.011	0.0001

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

Superscripts in the same row with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

RV: TV – right ventricle to total ventricle weight ratio.

گزنه دلیلی بر توان آنتی‌اکسیدانی این گیاه دارویی می‌باشد. در آزمایشی (۳۳) که تأثیر ترکیبات فنلی اعم از اسید گالیک، اسید تانیک و تیمول در جوجه‌های گوشتی بررسی شد. با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات عملکرد پرنده افزایش و میزان MDA و اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع کاهش نشان داده است که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

آنزیم‌های ALT و AST در کبد یافت می‌شود و در صورت آسیب سلول‌های هپاتوسایت کبدی به سرعت در جریان خون آزاد گردیده و جهت تشخیص سریع آسیب‌های کبدی از آن‌ها استفاده می‌گردد. در شرایط طبیعی متابولیسمی حدود ۱ تا ۲ درصد اکسیژن مصرفی تبدیل به رادیکال‌های آزاد می‌گردد که توسط سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن حذف می‌گردند، اما در شرایط هاپیوکسی میزان تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد و این افزایش رادیکال‌ها و ضعف سیستم آنتی‌اکسیدانی موجب بروز استرس‌های اکسیداتیو و تخریب غشاء سلولی می‌گردد که موجب آسیب شدید به اندام‌های داخلی از جمله کبد، ریه، قلب می‌گردد (۱۲). جوجه‌هایی که در شرایط محیطی سرد پرورش یافتند به دلیل نیاز بیشتر به اکسیژن نشانه‌های پاتولوژی فشار خون ریوی با افزایش رادیکال‌های آزاد آغاز گردید و غلظت ALT و AST در سرم افزایش یافت که نشانه‌ای از آسیب به سلول‌های کبدی است (۱۴). بنابراین می‌توان اظهار نمود که در پژوهش حاضر به دلیل شرایط هاپیوکسی و افزایش ظرفیت رادیکال‌های آزاد در گروه شاهد عامل پراکسید شدن سلول‌های کبدی و تخریب سلول‌های کبدی، منجر به افزایش آنزیم‌های ALT و

جدول ۴ تأثیر سطوح مختلف برگ گزنه بر غلظت فراسنجه‌های سرم را نشان می‌دهد. مقایسه آماری نشان می‌دهد که غلظت آنزیم‌های ALT، ALK در تمام تیمارهایی که گزنه را دریافت می‌نمایند و AST در گروه‌های دریافت‌کننده ۱ و ۱/۵ درصد گزنه کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) را نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد. همچنین در گروه‌های دریافت‌کننده گزنه غلظت اوره و مالون دی‌الدهید کاهش و غلظت نیتریک اکسید، آلبومین و کل پروتئین سرم افزایش معنی‌داری ($P < 0.05$) را نسبت به گروه شاهد به وجود آورده است. کمبود فشار اکسیژن اولین عامل توسعه فشار خون ریوی و ناهنجاری آسیت می‌باشد. با بروز تنش‌های اکسیداتیو و افزایش رادیکال‌های آزاد و آغاز عارضه فشار خون ریوی غلظت فراسنجه‌هایی از قبیل مالون دی‌الدهید (۲)، اوره، AST و ALT در سرم (۵) افزایش و غلظت آلبومین (۴۳) و پروتئین سرم (۷) کاهش می‌یابند که با آزمایش حاضر تطابق دارد. در جوجه‌های درگیر با عارضه‌ی آسیت مقدار ALP افزایش یافته که علت آن پراکسیداسیون بافتی و صدمه به کبد و ریه و قلب است (۳). به نظر می‌رسد که گزنه با داشتن ترکیبات پلی‌فنلی و فلاونوئیدی با حمایت از سلول‌های کبدی و حذف رادیکال‌های آزاد میزان ALP سرم را نسبت به تیمار شاهد کاهش داده است. همچنین فلاونوئیدها از طریق حذف رادیکال‌های آزاد و با کاهش تنش‌های اکسیداتیو موجب افزایش فعالیت سلول‌های لنفاوی می‌شوند (۴۷). ترکیب مالون دی‌الدهید نشان‌دهنده پراکسید شدن لیپیدها در بدن می‌باشد و به‌عنوان شاخصی از تنش‌های اکسیداتیو است (۲). کاهش غلظت مالون دی‌الدهید در تیمارهای دریافت‌کننده

گردیده است. با افزایش سطوح گزنه میزان فعالیت آنزیم‌های مورد آزمایش کاهش یافته‌است که می‌تواند بیانگر نقش محافظتی ترکیبات موثر گزنه را از کبد نشان دهد.

AST سرم گردید. در صورتی که در سایر تیمارها ترکیبات پلی‌فنلی گزنه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش داده و با حذف رادیکال‌های آزاد مانع از تخریب سلول‌های کبدی و موجب کاهش آنزیم‌های کبدی می‌گردند. به نظر می‌رسد شرایط هاپوکسی و نبود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در تیمار شاهد موجب بروز آسیب‌های مزمن کبدی

جدول ۴- تاثیر سطوح مختلف گزنه بر فراسنجه‌های خونی و سرمی جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

Table 4- Effect of *Urtica dioica* on serum and blood variables in broiler chickens measured at 42 days of age

فراسنجه Metabolites	سطوح گزنه در جیره (درصد) Dietary levels of <i>Urtica dioica</i> (%)				SEM	p-value
	Control (0)	0.5	1	1.5		
اوره Urea	6.37 ^a	5.5 ^b	4.6 ^c	4.7 ^{bc}	0.282	0.0004
پروتئین Protein (g/dl)	3.4 ^b	4 ^{ab}	4.5 ^a	4.8 ^a	0.261	0.004
آلبومین Albumin (g/dl)	2 ^b	2.1 ^b	2.5 ^a	2.7 ^a	0.136	0.001
آلکالین فسفاتاز Alkaline phosphatase (U/l)	2955.8 ^a	2572.3 ^b	2147.4 ^c	2216.8 ^c	88.5	0.0001
الانین آمینو ترانسفراز Alanine amino transaminase (U/l)	3.8 ^a	3.3 ^b	2.9 ^c	2.7 ^c	0.09	0.0001
اسپارتات آمینو ترانسفراز Spartat amino transaminase (U/l)	199.8 ^a	190.6 ^{ab}	165.9 ^b	159.3 ^b	10.5	0.032
مالون دی‌الدهید Malondialdehyde (μmol/l)	4.88 ^a	2.96 ^b	2.74 ^b	2.48 ^b	0.375	0.0003
نیتریک اکسید Plasma nitric oxide (μmol/l)	9.58 ^b	14.86 ^a	16.65 ^a	17.5 ^a	1.6	0.007

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$)

Superscripts in the same row with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

دریافت‌کننده گزنه بالاتر بود که نشان‌دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه است (۴۶). تحقیقات Yener و همکاران (۴۲) نشان داد که عصاره گزنه با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی که دارد از تخریب و نکروزه شدن سلول‌های کبدی ممانعت نموده و قوام بافت کبد را حفظ می‌نماید و دارای یک اثر تثبیت‌کننده روی هپاتوسیت‌ها است که از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد حاصل می‌گردد.

به نظر می‌رسد یکی از عوامل مهم در ممانعت از بروز عارضه فشار خون ریوی، حفظ بافت کبد است که بدین صورت توسط گیاه گزنه در تیمارهای آزمایشی حاصل شده و از تخریب و افزایش وزن کبد در این آزمایش ممانعت نموده‌است. می‌توان گفت که در شرایط ارتفاع بالا و هاپوکسی و درگیر شدن

تعدادی از محققین در آزمایشی با استفاده از تتراکلرید کربن که به‌عنوان ترکیبی که موجب افزایش تنش‌های اکسیداتیو می‌گردد، آسیب‌های حاد کبدی را در موش‌ها به‌وجود آوردند و با استفاده از سطوح مختلف عصاره گزنه نشان دادند در تیماری که از ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره به ازای هر کیلوگرم وزن زنده دریافت کرده بودند، غلظت پروتئین، مالون دی‌الدهید و آنزیم‌های ALT، ALP و AST سرم تا حدود ۳۰ درصد نسبت به تیمار دریافت‌کننده تتراکلرید کربن کاهش و آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز غلظت ۴ برابری را در تیمار دریافت‌کننده عصاره گزنه نشان داده است که با نتایج آزمایش حاضر تطابق دارد (۳۰). همچنین در طی آزمایشی در موش‌های درگیر با آسم تجربی مشخص گردید که غلظت نیتریک اکسید و آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز در گروه‌های

جوجه‌ها با عارضه فشار خون ریوی و تخریب سلولی، میزان نشت پلاسما از اندام کبد در محوطه بطنی افزایش می‌یابد و پروتئین‌های موجود در سرم خصوصاً آلبومین به درون محوطه‌ی بطنی وارد شده و در نتیجه موجب کاهش مجموع پروتئین‌های سرم خون می‌گردد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که در سطوح ۱ تا ۱/۵ درصد پودر برگ گزنه به دلیل اثر محافظت‌کنندگی ترکیبات پلی‌فنلی، میزان نشت پلاسما کاهش یافته و در نتیجه از کاهش پروتئین سرم ممانعت به‌عمل آمده است.

جدول ۵ اثر گزنه بر بیان ژن‌های نیتریک اکسید سنتتاز (NOS)

جدول ۵- تأثیر سطوح مختلف گزنه بر بیان ژن‌های نیتریک اکسید سنتتاز و اندوتلین-۱ در بافت‌های ریه و بطن راست قلب جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

Table 5- Effect of *Urtica dioica* on expression of iNOS and ET-1 genes in the right ventricle (heart) and lung of broiler chickens measured at 42 days of age

اندام	Gene	سطوح گزنه در جیره (درصد)				SEM	p-value
		Dietary levels of <i>Urtica dioica</i> (%)					
		Control (0)	0.5	1	1.5		
بطن راست قلب							
Heart (Right ventricle)	ET1	0.302 ^a	0.0045 ^b	0.0039 ^b	0.0038 ^b	0.048	0.0001
	iNOS	0.001 ^b	0.0026 ^b	0.235 ^a	0.258 ^a	0.043	0.0001
ریه							
Lung	ET1	1.06 ^a	0.167 ^b	0.011 ^b	0.006 ^b	0.166	0.0002
	iNOS	0.0008 ^b	0.0017 ^a	0.031 ^a	0.227 ^a	0.045	0.003

¹ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$)

Superscripts in the same column with different letters are significantly different ($P < 0.05$). iNOS: inducible nitric oxide; ET-1: endothelin1

به‌طور معنی‌داری از شیوع عارضه فشار خون ریوی جلوگیری نموده است. مطالعات گذشته هم نشان می‌دهد که تخریب عروق در عارضه فشار خون ریوی عامل تلفات جوجه‌ها می‌باشد (۳۹). همچنین ترکیبات پلی‌فنلی با ممانعت از تکثیر سلول‌های صاف عضلانی عروق از ضخیم شدن عروق ریوی جلوگیری می‌نماید (۲۲). ریشه گزنه باعث افزایش تولید نیتریک اکسید از سلول‌های آندوتلیال شده و به‌طور معنی‌داری از کاهش این ماده جلوگیری می‌کند این عمل احتمالاً از طریق یکی از فلاونوئیدهای مهم عصاره ریشه گزنه به نام کوئرستین انجام می‌گیرد (۲۷) همچنین ترکیبات فتالیدی و فلاونوئیدی گزنه به دلیل توان متسع‌کنندگی عروق با اثر بر غشاء آندوتلیال عروق موجب گشاد کردن رگ‌ها و کاهش فشار خون در عروق (۱۹) و با بهبود عملکرد قلب از عارضه فشار خون ریوی و آسیب جلوگیری نمایند. با تخریب دیواره عروق ترشح اندوتلین-۱ افزایش یافته و فشار مضاعف بر بطن راست قلب را در پی دارد به دلیل اینکه تعداد و شدت ضربان قلب جهت تأمین اکسیژن افزایش می‌یابد که این امر نسبت مستقیمی با عارضه فشار خون ریوی دارد (۳۴). به نظر می‌رسد در این آزمایش کاهش معنی‌دار عارضه فشار

نیتریک اکسید به‌عنوان یک گشادکننده عروق سهم به‌سزایی در تسهیل جریان خون در عروق ریوی دارد که با کاهش مقاومت عروق در برابر فشار خون موجب کاهش فشار بر بطن راست جهت پمپاژ خون به ریه‌ها شده و از این‌رو کاهش نسبت شاخص آسیتی RV/TV را در پی داشته است (۲۰ و ۴۰). از طرفی اندوتلین-۱ از سلول‌های غشاءپوششی عروق ترشح و با اتصال به رسیپتور^۱ ETAR (ETAR) سلول‌های صاف عضلانی عروق موجب انقباض عروق خونی می‌گردند (۲۶). به نظر می‌رسد عامل افزایش غلظت نیتریک اکسید در سرم به دلیل تغذیه گیاه گزنه باشد. بر اساس نتایج در سطوح ۱ و ۱/۵ درصد بیان ژن نیتریک اکسید سنتتاز در قلب و ریه افزایش یافته است که موجب افزایش غلظت نیتریک اکسید پلاسما گردیده است. تحقیقات نشان داده است که کاهش بیان ژن نیتریک اکسید سنتتاز و کاهش در سنتز نیتریک اکسید در بطن‌های قلب و ریه‌ها باعث نقص در عملکرد قلب و همچنین شیوع عارضه فشار خون ریوی و آسیب را در جوجه‌های گوشتی می‌گردد (۱۷). نتایج آزمایش حاضر نشان داده‌است گیاه گزنه به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی خود

1- Endothelin-1 binds to type A receptors (ETAR)

نتیجه‌گیری کلی

برگ گیاه گزنه به‌طور معنی‌داری عرضه فشار خون ریوی را در جوجه‌های پرورش‌یافته در ارتفاع بالا از سطح دریا کاهش می‌دهد. اثرات مفید این گیاه دارویی مرتبط به ترکیبات پلی‌فنلی و فلاونوئیدی می‌باشد که دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، متسع‌کنندگی عروق و افزایش‌دهندگی سنتز نیتریک اکسید است. بنابراین گیاه گزنه می‌تواند یکی از گیاهان دارویی موثر در کاهش فشار خون ریوی در جوجه‌های گوشتی باشد.

خون ریوی در تیمارهای حاوی گزنه بر اساس شاخص آسیتی مربوط به توان بالای گیاه دارویی گزنه در کاهش بیان ژن اندوتلین ۱ باشد. مطالعات نشان داده است که ترکیبات فتالیدی و فلاونوئیدی موجود در گیاه کرفس کوهی بیان ژن‌های نیتریک اکساید سنتتاز را در قلب جوجه‌های گوشتی افزایش و اندوتلین ۱ را کاهش داده است که به نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد (۲).

منابع

1. Abrol, S. O., A. Trehan, and O. P. Katore. 2005. Comparative study of different silymarin formulations: formulation and in vitro/in vivo evaluation. *Current Drug Delivery*, 2: 45-51.
2. Ahmadipour, B., H. Hassanpour, E. Asadi, F. Khajali, F. Rafiei, and F. Khajali. 2015. *Kelussia odoratissima* Mozzaf- A promising medicinal herb to prevent pulmonary hypertension in broiler chickens reared at high altitude. *Journal of Ethnopharmacology*, 159: 49-54.
3. Arab, H., R. Jamshidi, A. Rassouli, G. Shams, and M. Hassanzadeh. 2006. Generation of hydroxyl radicals during ascites experimentally. *British Poultry Science*, 47: 216-222.
4. Baghbanzadeh, A., and E. DeCuypere. 2008. Ascites syndrome in broilers: Physiological and nutritional perspectives. *Avian Pathology*, 37:117-126.
5. Balog, J. M., B. D. Kidd, W. E. Huff, G. R. Huff, N. C. Rath, and N. B. Anthony. 2003. Effect of Cold Stress on Broilers Selected for Resistance or Susceptibility to Ascites Syndrome. *Poultry Science*, 82:1383-1387.
6. Behrooj, N., F. Khajali, and H. Hassanpour. 2012. Feeding reduced-protein diets to broilers subjected to hypobaric hypoxia is associated with the development of pulmonary hypertension syndrome. *British Poultry Science*, 53: 658-664.
7. Biswas, N. K., M. R. Dalapati, and M. K. Bhowmik. 1995. Ascites syndrome in broiler chickens: Observations on certain biochemical and pathological changes. *Indian Journal of Animal Sciences*, 65:1068-1072.
8. Boots Agnes, W., and R. M. Haenen Guido. 2002. Oxidative damage shifts from lipid peroxidation to thiol arylation by catecholcontaining antioxidants. *Biochemistry*, 1583: 279-284.
9. Bottje, W., and R. Wideman. 1995. Potential role of free radicals in the pathogenesis of pulmonary hypertension syndrome. *Avian and Poultry Biology Reviews*, 6:211-231.
10. Brigitte, V., and M. Michael. 2008 The Hepatic Microcirculation: Mechanistic Contributions and Therapeutic Targets in Liver Injury and Repair. *Physiological Reviews*, 9:1269-1339.
11. Chang, W., Z. Shao, J. Yin, S. Mehendale, C. Wang, Y. Qin., W. Chen, C. Chien, L. Becker, T. Vanden Hoek, and C. Yuan. 2007. Comparative effects of flavonoids on oxidant scavenging and ischemia-reperfusion injury in cardiomyocytes. *European Journal of Pharmacology*, 566:58-66.
12. Chen, J., and B. Meyrick. 2004. Hypoxia increases Hsp90 binding to eNOS via PI3K-Akt in porcine coronary artery endothelium. *Laboratory Investigation*, 84: 182-190.
13. Dorak, T. 2006. Real time PCR. by Taylor & Francis Group. School of Clinical Medical Sciences (Child Health) Newcastle University Newcastle-upon-Tyne. UK. pp 60- 66.
14. Fathi, M., K. Nazeradl, Y. EbrahimNezhad, H. Aghdam Shahryar, M. Daneshyar, and T. Tanha. 2011. The role of oxidative stress in the development of congestive heart failure (CHF) in broilers with pulmonary hypertension syndrome (PHS). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8: 176-181.
15. Gul, S., B. Demirci, K. H. Baser, H. A. Akpulat, and P. Aksu. 2012. Chemical composition and in vitro cytotoxic, genotoxic effects of essential oil from *Urtica dioica*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88:666-671.
16. Guo, M., C. Perez, Y. Wei, E. Rapoza, G. Su, F. Bou-Abdallah, and N. Chasteen. 2007. Iron-binding properties of plant phenolics and cranberry's bio-effects. *Dalton Transactions*, 4951-4961.
17. Hassanpour, H., A. Yazdani, K. Khabir Soreshjani, and S. Asgharzadeh. 2009. Evaluation of endothelial and inducible nitric oxide synthase genes expression in the heart of broiler chickens with experimental pulmonary hypertension. *British Poultry Science*, 50:725-732.

18. Hernandez-Abreu, O., P. Castillo-España, I. Leon-Rivera, M. Ibarra- Barajas, R. Villalobos-Molina, J. Gonzalez-Christen, and *et al.* 2009. Antihypertensive and vasorelaxant effects of tilianin isolated from *Agastache mexicana* are mediated by NO/cGMP pathway and potassium channel opening. *Biochemical Pharmacology*, 78: 54-61.
19. Jorge, V. G., J. R. LuisAngel, T. S. Adrian, A. C. Francisco, S. G. Anuar, E. S. Samuel, S. O. Angel, and H. N. Emmanuel. 2013. Vasorelaxant activity of extracts obtained from *Apium graveolens*: possible source for vasorelaxant molecules isolation with potential antihypertensive effect. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3:776-779.
20. Khajali, F., and S. Fahim. 2010. Influence of dietary fat source and supplementary α - tocopheryl acetate on pulmonary hypertension and lipid peroxidation in broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94: 767-772.
21. Legssyer, A., A. Ziyat, H. Mekhfi, M. Bnouham, A. Tahri, M. Serhrouchni, J. Hoerter, and R. Fischmeister. 2002. Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. In isolated rat heart and aorta. *Phytotherapy Research*, 16: 503-507.
22. Lu, Q., T. Q. Qiu, and H. Yang. 2006. Ligustilide inhibits vascular smooth muscle cells proliferation. *European Journal of Pharmacology*, 542:136-140.
23. Ma, A., and H. Chen. 2008. Antioxidant therapy for prevention of inflammation, ischemic reperfusion injuries and allograft rejection. *Cardiovasc. Hematol. Agents in Medicinal Chemistry*, 6: 20-43.
24. Nair, V., and G. Turner. 1984. The thiobarbituric acid test for lipid peroxidation: structure of the adduct with malondialdehyde. *Lipids*, 19: 804-805.
25. National Research Council (NRC). 1994. Nutrient Requirements for Poultry, 9th revised edn, National Research Council, NY.
26. Odom, T., L. Martinez-Lemus, R. Hester, E. Becker, J. Jeffre, G. Meininger, and G. Ramirez. 2004. *In vitro* hypoxia differentially affects constriction and relaxation responses of isolated pulmonary arteries from broiler and leghorn chickens. *Poultry Science*, 83:835-841.
27. Rodriguez, L., J. Reyes-Esparza, S. Burchielb, and D. Herrera-Ruiza. 2008. Risks and Benefits of Commonly used Herbal Medicines in México, *Toxicology Pharmacology*, 227(1): 125-135.
28. Ruiz-Feria, C. A. 2009. Concurrent supplementation of arginine, vitamin E, and vitamin C improve cardiopulmonary performance in broilers chickens. *Poultry Science*, 88: 526-535.
29. Saedi, M., and F. Khajali. 2010. Blood gas values and pulmonary hypertension as affected by dietary sodium source in broiler chickens reared at cool temperature in a high altitude area. *Acta Veterinaria Hungarica*, 58: 379-388.
30. Sarma Katak, M., V. Murugamani, A. Rajkumari, P. Singh Mehra, D. Awasthi, and R. Yadav. 2012. Antioxidant, Hepatoprotective, and Anthelmintic Activities of Methanol Extract of *Urtica dioica* L. Leaves. *Pharmaceutical Crops*, 3: 38-46.
31. SAS Institute. 2000. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition. Cary, NC, USA.
32. Sharifi, M. R., F. Khajali, and H. Hassanpour. 2016. Antioxidant supplementation of low-protein diets reduced susceptibility to pulmonary hypertension in broiler chickens raised at high altitude. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 100:69-76.
33. Starcevic, K., L. Krstulovic, D. Brozic, M. Mauric, Z. Stojevic, Z. Mikulec, M. Bajic, and T. Masek. 2015. Production performance, meat composition and oxidative susceptibility in broiler chicken fed with different phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(6):1172-1178.
34. Stewart, D. J., R. D. Levy, P. Cernacek, and D. Langleben. 1991. Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease? *Annals of Internal Medicine*, 114:464-469.
35. Surai, P. 2014. Polyphenol compounds in the chicken/animal diet: from the past to the future. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98:19-31.
36. Testai, L., S. Chericoni, V. Calderone, and G. Wencioni. 2002. Nierip Cardiovascular effects of *Urtica dioica* root extracts, In vitro and in vivo pharmacological studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 81: 105-109.
37. Tiwari, M., U. K. Dwivedi, and P. Kakkar. 2014. *Tinospora cordifolia* extract modulates COX-2, iNOS, ICAM-1, pro-inflammatory cytokines and redox status in murine model of asthma. *Journal of Ethnopharmacology*, 153:326-337.
38. Vergara-Galicia, J., L. Jimenez-Ramirez, A. Tun-Suarez, F. Aguirre-Crespo, and G. Salazar-Gómez. 2013. Vasorelaxant activity of extracts obtained from *Apium graveolens*: Possible source for vasorelaxant molecules isolation with potential antihypertensive effect. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 13:60154-9.
39. Wideman, R. F., K. R. Hamal, M. T. Bayona, A. G. Lorenzoni, D. Cross, F. Khajali, D. D. Rhoads, G. F. Erf, and N. B. Anthony. 2011. Plexiform lesions in the lungs of domestic fowl selected for susceptibility to pulmonary arterial hypertension: Incidence and histology. *Anatomical Record*, 294:739-755.
40. Wideman, R. F., G. Rhoads, G. C. Erf, and N. B. Anthony. 2013. Pulmonary arterial hypertension (ascites syndrome) in broilers: A review. *Poultry Science*, 92:64-83.

41. Yang, X., Y. Luo, Q. Zeng, K. Zhang, X. Ding, S. Bai, and J. Wang. 2014. Effects of low ambient temperatures and dietary vitamin C supplement on growth performance, blood parameters, and antioxidant capacity of 21-day-old broilers. *Poultry Science*, 93:898-905.
42. Yener, Z., I. Celik, F. Ilhan, and R. Bal. 2009. Effects of *Urtica dioica* L. seed on lipid peroxidation, antioxidants and liver pathology in aflatoxin-induced tissue injury in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47:418-424.
43. Yersin, A. G., W. E. Huff, L. F. Kubena, M. A. Elissalde, R. B. Harvey, D. A. Witzel, and L. E. Giroir. 1992. Changes in hematological, blood gas and serum biochemical variables in broilers during exposure to stimulated high altitude. *Avian Diseases*, 36:189-197.
44. You, H., S. Chen, L. Mao, B. Li, Y. Yuan, R. Li, and X. Yang. 2014. The adjuvant effect induced by di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) is mediated through oxidative stress in a mouse model of asthma. *Food and Chemical Toxicology*, 71:272-281.
45. Zargari, A. 1994. Herbal drugs. Fifth eds, vol 4 TUS publication institute. pp: 418- 9. (In Persian).
46. Zemmouri, H., O. Sekiou, S. Ammar, A. El Feki, M. Bouaziz, M. Messarah, and A. Boumendjel. 2017. *Urtica dioica* attenuates ovalbumin-induced inflammation and lipid peroxidation of lung tissues in rat asthma model. *Pharmaceutical Biology*, <http://dx.doi.org/10.1080/13880209.2017.1310905>.
47. Zhu, Q. Y., Y. Huang, and Z. Y. Chen. 2000. Interaction between flavonoids and α -tocopherol in human low density lipoprotein. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 11: 14-21.



Effect of *Urtica dioica* on Serum Parameters and Genes Expression of Nitric Oxide Synthase and Endothelin-1 in Broiler Chickens Involved in Pulmonary Hypertension

B. Ahmadipour^{1*} - F. Khajali²

Received: 31-08-2017

Accepted: 10-02-2018

Introduction

Modern strains of broiler chickens are susceptible to pulmonary hypertension syndrome (PHS) because of the mismatch between oxygen demanding muscles and oxygen-supplying organs (i.e. heart and lungs). Intensive genetic selection for rapid growth over the past several decades has reduced allometric growth of the heart and lungs in modern broiler chickens compared with their chronological counterparts. The susceptibility of broilers to PHS is exacerbated whenever they are raised at high altitudes where the availability of atmospheric oxygen is limited. Pulmonary arterioles in broilers respond to hypoxia by vasoconstriction and if the situation sustains, broiler develop pulmonary hypertension with subsequent right ventricular failure that finally leads to ascites. Research has addressed the impact of nutritional factors including energy, protein, electrolytes and feed restriction on the development of PHS. However, the effects of herbal medicine in the prevention and control of PHS in broiler chickens have not been adequately studied. *Urtica dioica* is a medicinal herb that belongs to the family of *Urticaceae* and it grows in most parts of the world. *Urtica dioica* is used because of antioxidant and anti-inflammatory compounds for the treatment of cardiovascular, respiratory, cancerous and allergic diseases. One of the important effects of this plant is the reduction of blood pressure. The purpose of the present study was to examine the effects of different levels of this medicinal plant in preventing pulmonary PHS in broiler chickens.

Materials and Methods

The experiment was conducted in the experimental facility of Shahrekord University, Shahrekord, Iran, which had an altitude of 2100 m above sea level. A total of 240 day-old broilers (Ross308) were randomized across 16 floor pens (15 birds per pen). A control diet based on corn and soybean meal were formulated for the starting (1–3 weeks of age) and growing (4–6 weeks of age) stages according to NRC (1994) recommendations. Three additional diets were prepared by substituting 0.5%, 1%, and 1.5% *Urtica dioica* for wheat bran in the control diet.

At 42 days of age, 8 birds per treatment were selected for blood collection and then killed by decapitation. Blood samples (3mL) were collected from the brachial vein. Serum samples were used for the determination of nitric oxide (NO), malondialdehyde (MDA), urea, albumin, alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST). To measure the expression of the gene, the heart and lung samples were harvested and the right ventricles dissected and immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -70°C for subsequent RNA analysis. The levels of nitric oxide synthase (NOS), Endothelin 1 (ET-1) and β -actin transcripts were determined by real-time reverse transcriptase (RT)-PCR. Results were compared by GLM using SAS (2007) software in a completely randomized design. Means were separated by Duncan's multiple range test.

Results and Discussion

The results of the experiment showed that broiler chickens fed a diet containing 0.5 to 1.5% *Urtica dioica* leaves, the efficiency of heart and liver weight relative to the live weight of the chickens and right ventricular ratio to total ventricles showed a significant decrease compared to control group ($P < 0.05$). Birds received *Urtica dioica* at 1 and 1.5% had significantly ($P < 0.05$) higher circulatory concentrations of nitric oxide, protein and albumin

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

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

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

though significantly ($P<0.05$) lower serum concentrations of malondialdehyde, alkaline phosphatase, alanine amino transaminase and aspartate amino transaminase when compared to the birds fed the control diet. The expression of endothelin 1 (ET-1) and nitric oxide synthase (NOS) genes in the heart and lung of broiler chickens has been affected by feeding *Urtica dioica* to broiler chickens. NOS gene has been highly over expressed in the heart and lung of broilers fed *Urtica dioica* from 1 to 1.5 % increase relative to the control. On the other hand, *Urtica dioica* significantly suppressed the expression of ET-1 in the heart and lung ($P<0.05$). The *Urtica dioica* contains polyphenolic compounds, including phthalides and flavonoids, which have antioxidant properties. This compound can prevent oxidative stress by scavenging of reactive oxygen species (ROS), activation of antioxidant enzymes, metal chelating activity. It also causes more nitric oxide secretion from vascular endothelial cells and opening of potassium channels. The *Urtica dioica* extract prevents the destruction and necrosis of the liver cells and maintains the consistency of the liver tissue and has a stabilizing effect on hepatocytes.

Conclusion

In conclusion, levels of 1 to 1.5% *Urtica dioica* in the diet can significantly prevent PHS in broiler chickens reared at high altitudes. Beneficial effects of this medicinal plant are attributed to vasorelaxant and antioxidant actions that mediated through polyphenolic compounds. Therefore, *Urtica dioica* is a promising medicinal herb to prevent pulmonary hypertension in broiler chickens reared at high altitude.

Keywords: Chicken, Gene expression, Pulmonary hypertension, Serum biochemical parameters, *Urtica dioica*



تأثیر مکمل آنزیمی بر انرژی قابل سوخت‌وساز، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جو بدون پوشینه در جوجه‌های گوشتی

حمید تیموری^۱ - حیدر زرقی^{۲*} - ابوالقاسم گلیان^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۹

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر مکمل آنزیمی "سلولاز-پکتیناز-زایلاناز" بر میزان انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری تصحیح‌شده برای ازت (AME_n)، قابلیت هضم ظاهری پروتئین خام (CPD) و قابلیت هضم ماده خشک (DMD) دو واریته جو بدون پوشینه در جوجه‌های گوشتی به روش جمع‌آوری کل مدفوع با استفاده از تعداد ۶۴ قطعه جوجه‌خروس گوشتی "سویه راس ۳۰۸" در سن ۲۳-۱۶ روزگی انجام شد. آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل 2×2 شامل دو واریته جو بدون پوشینه (بومی طیس و HMB-83-7) با و بدون افزودن مکمل آنزیمی، با ۴ تیمار، ۴ تکرار و ۴ قطعه پرند در هر تکرار انجام شد. جیره‌های آزمایشی به نحوی تنظیم شدند که غلات مورد آزمایش تنها منابع تأمین‌کننده انرژی و پروتئین خام جیره‌ها باشند. میزان CPD، DMD، AME_n جو بدون پوشینه به ترتیب $64/39 \pm 2/80$ درصد، $59/50 \pm 7/66$ درصد و $30/34 \pm 2/12$ کیلوکالری در کیلوگرم ماده هوا خشک به دست آمد. میزان CPD و DMD، AME_n در جو بدون پوشینه واریته بومی طیس به‌طور معنی‌داری از واریته HMB-83-7 بیشتر بود. افزودن مکمل آنزیمی باعث افزایش CPD و DMD، AME_n جو بدون پوشینه به میزان $2/41$ ، $5/18$ و $5/93$ درصد نسبت به مقدار برآورد شده برای جیره‌های بدون آنزیم شد. بر اساس نتایج این آزمایش میزان AME_n ، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جو بدون پوشینه تحت تأثیر واریته واقع است. افزودن آنزیم‌های برون‌زادی به جیره باعث بهبود انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری تصحیح‌شده برای ازت، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جو بدون پوشینه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، انرژی قابل سوخت‌وساز، جو بدون پوشینه، جوجه‌های گوشتی، پروتئین خام

مقدمه

نیز خوانده می‌شود. یکی از ارقام جو است که به علت جدا شدن پوشینه از دانه در زمان برداشت در مقایسه با جو معمولی دارای فیبر خام کمتری بوده و یک جایگزین احتمالی مناسب برای ذرت در تغذیه طیور محسوب می‌شود (۲۱) گزارش شده است، می‌توان از جو بدون پوشینه در ترکیب جیره جوجه‌های گوشتی به‌شرط استفاده از مکمل‌های آنزیمی استفاده کرد (۱۰ و ۲۳). در صورت استفاده از جو بدون پوشینه در جیره جوجه‌های گوشتی، به دلیل وجود پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای محلول (NSPs) به‌خصوص بتاگلوکان‌ها ویسکوزیته محتویات دستگاه گوارش افزایش می‌یابد (۱۰ و ۲۳). به جهت ظرفیت محدود آنزیم‌های گوارشی جوجه‌ها به‌خصوص در سنین پایین، نشان داده شده است که افزودن مواد خوراکی حاوی پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای به جیره می‌تواند در دستگاه گوارش موجب بروز تغییرات فیزیکی و شیمیایی در شیرابه گوارشی شده و کارکردهای هضمی دستگاه گوارش و سلامت آن را تحت تأثیر سوء قرار دهد (۹).

غلات به‌عنوان منابع نشاسته‌ای و تأمین‌کننده انرژی، بخش عمده جیره طیور را تشکیل می‌دهند. ازجمله این منابع خوراکی ذرت و گندم می‌باشند. اما به دلیل مصرف این غلات برای تغذیه انسان (۲۰) و محدودیت تأمین آب، شرایط آب و هوایی و زراعی کشت ذرت در ایران، انگیزه کافی برای جایگزینی برخی مواد خوراکی به‌جای ذرت، در جیره غذایی طیور به وجود آمده است و دانستن این مطلب که در حال حاضر بیش از ۵۰ درصد ذرت دانه‌ای موردنیاز کشور از طریق واردات تأمین می‌شود (۶ و ۳۴)، بر ضرورت استفاده از مواد خوراکی جایگزین ذرت دانه‌ای در جیره‌های طیور می‌افزاید. جو بدون پوشینه که به نام‌های جو لخت^۴ و جو بدون پوشینه^۵

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

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

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

(Email: h.zarghi@um.ac.ir)

(*)- نویسنده مسئول

DOI: 10.22067/ijasr.v10i4.65113

4- Naked Barley

5- Hullless Barley

6- Soluble non starch polysaccharide

متابولیسمی منتقل شدند. هر قفس دارای ۲۵۰۰ سانتی مترمربع مساحت کف و مجهز به دان خوری و آب خوری دستی و سینی کشویی گالوانیزه مخصوص جمع آوری فضولات بود.

دمای جایگاه پرورش در زمان ورود جوجه‌ها در دامنه ۳۰ تا ۳۲ درجه سانتی گراد تنظیم شد و پس از ۷۲ ساعت هرروز ۰/۵ تا ۰/۴ درجه سانتی گراد تا رسیدن دمای جایگاه پرورش به ۲۲-۲۰ درجه سانتی گراد کاهش یافت. همچنین در سه روز نخست، برنامه نوری ۲۴ ساعت روشنایی و پس از آن ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت خاموشی تا پایان دوره آزمایش اعمال شد.

تیمارها و جیره‌های آزمایشی

اعمال تیمارهای آزمایشی شامل دو وارسته جو بدون پوشینه (بومی طیس و HMB-83-7) با و بدون افزودن مکمل آنزیمی (صفر و ۰/۵ گرم آنزیم در کیلوگرم جیره، میزان توصیه شده توسط شرکت سازنده)، در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل (۲×۲)، ۴ تیمار با ۴ تکرار و ۴ قطعه پرند در هر تکرار انجام شد. جیره‌های آزمایشی به نحوی تنظیم شدند که نمونه‌های جو بدون پوشینه مورد آزمایش تنها منبع تأمین کننده انرژی و ازت جیره باشد (۲۵). درصد اجزای تشکیل دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ ارائه شده است.

رکورد برداری

جوجه‌ها به مدت ۸ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند که ۴ روز اول (۱۶ تا ۱۹ روزگی) به منظور دوره عادت پذیری و ۴ روز بعد (۲۰ تا ۲۳ روزگی) به عنوان دوره رکورد برداری مصرف خوراک و فضولات دفعی در نظر گرفته شد. در دوره رکورد برداری، ابتدا پس از ۱۲ ساعت محرومیت از غذا به منظور تخلیه محتویات شکم، سینی‌های مخصوص جمع آوری فضولات در زیر قفس‌ها قرار گرفتند. جوجه‌ها به مدت ۳ روز کامل به صورت آزاد با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند و پس از اعمال ۱۲ ساعت محرومیت از غذا، سینی‌های جمع آوری کود برداشته شدند. مقدار خوراک مصرفی جوجه‌های هر قفس در ۳ روز آزمایش با کسر خوراک باقی مانده از خوراک داده شده تعیین شد (۲۵). فضولات دفعی به مدت ۴۸ ساعت در جریان هوای ملایم اتاق قرار گرفت و سپس در آن با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد تا کاملاً خشک شوند. مدفوع خشک شده ۲ ساعت در شرایط آزمایشگاهی قرار داده شد تا با شرایط محیط به تعادل برسد، پر و ضایعات احتمالی جدا و وزن کل فضولات دفع شده هر قفس تعیین شد. از خوراک‌های آزمایشی و فضولات دفعی برای آزمایش‌ها بعدی نمونه تهیه شد (۳۲).

نتایج حاصل از آزمایش‌های زیادی حاکی از بهبود انرژی قابل سوخت و ساز غلات در صورت استفاده از آنزیم‌های برون زادی همراه با خوراک است. افزودن آنزیم‌های برون زادی به جیره‌های بر پایه غلات با ویسکوزیته بالا (گندم، جو، تریتیکاله، یولاف، چاودار) سبب کاهش اثرات ضد تغذیه‌ای پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای (۴)، کاهش ویسکوزیته محتویات هضمی (۱۹)، افزایش سرعت عبور مواد هضمی (۱۴)، افزایش اثر بخشی آنزیم‌های درون زادی مثل کیموتریپسین و لیپاز (۱۳)، بهبود قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام (۵)، چربی (۲۶)، میزان انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری (۱۱) و به طور کلی بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی می‌گردد (۱۵ و ۳۳). افزایش انرژی قابل سوخت و ساز غلات بر اثر مکمل نمودن جیره مصرفی با آنزیم‌های برون زادی تحت تأثیر تجزیه دیواره سلولی توسط آنزیم و بهبود هضم و جذب مواد مغذی محتوی سلول است (۷ و ۹). آزمایش حاضر به منظور تعیین انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای ازت جو بدون پوشینه در جوجه‌های گوشتی و بررسی اثر افزودن مکمل آنزیمی "سلولاز-بتاگلوکاناز-زایلاناز" بر انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای ازت و قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام دو وارسته جو بدون پوشینه (بومی طیس و HMB-83-7) در جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه غلات و مکمل‌های مورد استفاده در آزمایش

دو وارسته جو بدون پوشینه مورد استفاده در این آزمایش شامل وارسته‌های بومی طیس و HMB-83-7 بودند که از مرکز تحقیقات کشاورزی استان خراسان رضوی به مقدار لازم تهیه شدند. مکمل آنزیمی مورد استفاده در این آزمایش مکمل آنزیمی سافیزیم^۱ حاوی ۲۵ واحد سلولاز، ۱۶۰۰ واحد بتاگلوکاناز و ۳۵۰۰ واحد زایلاناز در هر گرم مکمل آنزیمی بود^۲.

پرندگان، جایگاه و شرایط پرورش

تعداد ۱۰۰ قطعه جوجه خروس گوشتی "سویه راس ۳۰۸" یک روزه از موسسه جوجه کشی تجاری نزدیک به محل انجام آزمایش تهیه شد. جوجه‌ها تا سن ۱۵ روزگی در قفس تحت شرایط کنترل شده محیطی پرورش یافتند. سپس در سن ۱۶ روزگی تعداد ۶۴ قطعه از پرندگان با کمترین انحراف وزن از میانگین وزن جامعه برای انجام آزمایش انتخاب و به طور تصادفی هر ۴ قطعه جوجه به یک قفس

1- Safizym, Lsaffre®, Marquette-lez-lille, France

۲- هر واحد فعالیت آنزیمی معادل میزان آنزیم مورد نیاز برای تولید یک میلی مول قند احیا در هر دقیقه در pH = 4.8 و دمای ۵۰ درجه سانتی گراد است.

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده جیره‌های آزمایشی^۱
Table 1- The ingredients of experimental diet¹

اقلام خوراکی Ingredients	کیلوگرم جیره/ گرم g/kg diet
جو بدون پوشینه واریته طیس Tabas native hull-less barley variety	963
جو بدون پوشینه واریته HMB-83-7 HMB-83-7 hull-less barley variety	963
دی کلسیم فسفات Di-calcium phosphate	19
سنگ آهک Limestone	11
نمک طعام Salt	2
مکمل ویتامینه ^۱ Vitamin- premix ²	2.5
مکمل معدنی ^۲ Mineral premix ³	2.5

^۱ هریک از جیره‌های آزمایشی به دو قسمت تقسیم و به یک قسمت آن مقدار ۰/۵ گرم در کیلوگرم مکمل آنزیمی حاوی حداقل ۳۵۰۰ واحد فعالیت بتاگلوکانازی و ۱۶۰۰ واحد فعالیت آرابینوزایلاز و ۲۵ واحد فعالیت سلولازی در گرم و به قسمت دیگر ۰/۵ گرم در کیلوگرم سبوس گندم اضافه شد.

^۲ هر کیلوگرم جیره حاوی ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۸۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۳۶ میلی‌گرم ویتامین E، ۵ میلی‌گرم ویتامین K3، ۱/۵۳ میلی‌گرم تیامین، ۷/۵ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۱۲/۲۴ میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، ۳۰/۴ میلی‌گرم نیاسین، ۱/۵۳ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۱/۶ میلی‌گرم کوبالامین، ۱۱۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۱۶۰ میلی‌گرم منگنز، ۸۴/۵ میلی‌گرم روی، ۲۵۰ میلی‌گرم آهن، ۲۰ میلی‌گرم مس، ۱/۶ میلی‌گرم ید، ۰/۴۷۵ میلی‌گرم کبالت و ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم می‌باشد.

¹Diets were divided into two parts of with or without the enzyme supplemented; in diets supplemented with enzyme 0.5 g wheat bran /kg of diets were replaced with an enzyme cocktail containing xylanases min 1600 U/g, β -glucanases 3500 U/g and cellulases 25 U/g.

²Vitamin permix Supplied the following, per kilogram of diet: vitamin A, 11000 IU; vitamin D3, 1800 IU; vitamin E, 36 mg; vitamin K3, 5 mg; vitamin B12, 1.6 mg; thiamine, 1.53 mg; riboflavin, 7.5 mg; niacin, 30 mg; pyridoxine, 1.53 mg; biotin, 0.03 mg; folic acid, 1 mg; panthotenic acid, 12.24 mg; choline chloride, 1100 mg; etoxycoin, 0.125 mg;

³Mineral permix Supplied the following per kilogram of diet: Zn-sulfate, 84 mg; Mn- sulfate, 160 mg; Cu-sulfate, 20 mg; Se, 0.2 mg; I, 1.6 mg; Fe, 250 mg.

تجزیه شیمیایی

آمد (۲۵).

$$\text{CPD} / \text{DMD} = \frac{(\text{Nf} \times \text{FI}) - (\text{Ne} \times \text{Ex})}{(\text{Nf} \times \text{FI})} \times 100 \quad (\text{رابطه } ۱)$$

که در این رابطه: CPD = قابلیت هضم ظاهر پروتئین خام، DMD = قابلیت هضم ماده خشک، Nf = نسبت مواد مغذی خوراک، FI = مقدار خوراک مصرفی، Ne = نسبت مواد مغذی فضولات و Ex = مقدار فضولات دفعی می‌باشند.

$$\text{AMEDiet} = \frac{(\text{GEf} - \text{GEE})}{\text{FI}} \quad (\text{رابطه } ۲)$$

$$\text{AMEndiet} = \text{AMEDiet} - \frac{8.73 \times (\text{Ni} - \text{Ne})}{\text{FI}} \quad (\text{رابطه } ۳)$$

$$\text{AMEnhbl} = \frac{\text{AMEndiet}}{0.963} \quad (\text{رابطه } ۴)$$

که در این رابطه‌ها: AMEDiet = انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری جیره‌های آزمایشی (کیلوکالری در گرم)، AMEndiet = انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری تصحیح‌شده برای ازت جیره‌های آزمایشی (کیلوکالری در گرم)، AMEnhbl = انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری تصحیح‌شده برای ازت جو بدون پوشینه، GEf = میزان انرژی

تجزیه شیمیایی نمونه‌های جو بدون پوشینه مورد استفاده در آزمایش، شامل میزان ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام، الیاف خام، کلسیم، فسفر و انرژی خام مطابق روش‌های پیشنهادی AOAC (۲۰۰۰) انجام شد. برای تعیین انرژی خام جیره‌های آزمایشی و فضولات جمع‌آوری شده از بمب کالری متر^۱ استفاده شد.

محاسبات

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی (ماده خشک و پروتئین خام) جو بدون پوشینه با روش جمع‌آوری کل فضولات از طریق رابطه ۱ به‌دست آمد (۱۸). مقادیر انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری و انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری تصحیح‌شده برای ازت جو بدون پوشینه با روش جمع‌آوری کل فضولات از طریق رابطه‌های ۲، ۳ و ۴ به‌دست

خام مصرفی (کیلوکالری)، $GEE =$ میزان انرژی خام دفعی
(کیلوکالری)، $Fi =$ مقدار خوراک مصرفی (گرم)، $Ni =$ میزان ازت
مصرفی (گرم)، $Ne =$ میزان ازت دفعی (گرم) می‌باشند.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad (\text{رابطه ۵})$$

که در این رابطه: Y_{ijk} = مقدار صفت موردنظر، μ = میانگین جامعه، α_i = اثر واریته i جو بدون پوشینه، β_j = اثر مکمل آنزیمی (استفاده یا عدم استفاده از آنزیم)، $\alpha\beta_{ij}$ = اثر متقابل واریته جو بدون پوشینه $\times$ مکمل آنزیمی، ε_{ijk} = خطای آزمایش در هر مشاهده می‌باشند.

نتایج و بحث

تعیین ترکیب شیمیایی جو بدون پوشینه

ترکیب شیمیایی دو واریته جو بدون پوشینه مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۲ گزارش شده است.

آنالیز آماری

نتایج به دست آمده از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با روش فاکتوریل، با استفاده از نرم افزار آماری SAS ویرایش ۹/۱ (۲۰۰۳)، رویه مدل عمومی خطی (GLM) مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. داده‌ها برای اثرات اصلی واریته جو بدون پوشینه و مکمل آنزیمی و برای اثرات متقابل واریته جو بدون پوشینه $\times$ مکمل آنزیمی آنالیز شدند. کلیه میانگین‌های مربوط به اثرات اصلی و اثرات متقابل توسط آزمون توکی در سطح احتمال ($P < 0.05$) مقایسه شدند. مدل ریاضی طرح آماری به شرح رابطه ۵ بود.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی دو واریته جو بدون پوشینه (بر اساس هوا خشک)

Table 2- Chemical composition two varies of hull-less barley (as-fed basis)

انرژی خام	عصاره عاری از ازت	خاکستر	فیبر خام	چربی خام	پروتئین خام	ماده خشک	واریته جو بدون پوشینه
Gross energy	Nitrogen free extract	Ash	Crude fiber	Eater extract	Crude protein	Dry mater	Hull-less barley variety
kcal/kg			(%)				
4431	70.96	3.20	2.70	1.95	14.49	93.30	HMB-83-7
4552	70.49	3.00	3.80	2.75	12.46	92.50	بومی طبس
							Tabas native

قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین جو بدون پوشینه

اثر واریته جو بدون پوشینه، افزودن مکمل آنزیمی و متقابل واریته جو بدون پوشینه با افزودن مکمل آنزیمی بر قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جو بدون پوشینه در جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ نشان داده شده است. قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام بین دو واریته جو بدون پوشینه مورد استفاده در این آزمایش اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$)، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام به دست آمده برای جو بدون پوشینه واریته بومی طبس به طور معنی‌دار از جو بدون پوشینه واریته HMB-83-7 بیشتر بود ($P < 0.05$)، همچنین اثر افزودن آنزیم بر قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جو بدون پوشینه معنی‌دار بود ($P < 0.05$)، اما اثر متقابل واریته جو بدون پوشینه و افزودن آنزیم بر شاخص‌های مورد مطالعه معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

میانگین قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام دو واریته جو بدون پوشینه به ترتیب 59.50 ± 7.66 درصد و 64.39 ± 2.80 درصد بر اساس ماده هوا خشک تعیین گردید. قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جو بدون پوشینه واریته بومی طبس به طور معنی‌داری از

واریته HMB-83-7 بیشتر بود (مقادیر 67.45 و 67.41 درصد به ترتیب برای قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جو بدون پوشینه واریته بومی طبس در مقایسه با مقادیر 64.67 و 55.11 درصد برای قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جو بدون پوشینه واریته HMB-83-7).

افزودن مکمل آنزیمی باعث افزایش قابلیت هضم ماده خشک جو بدون پوشینه از 64.39 درصد به 67.73 درصد (5.18 درصد بهبود نسبت به مقدار پایه) همچنین افزایش قابلیت هضم پروتئین خام جو بدون پوشینه از 59.50 درصد به 63.03 درصد (5.93 درصد بهبود نسبت به مقدار پایه) شد به طوری که تفاوت‌های ایجاد شده معنی‌دار بودند ($P < 0.05$). میزان افزایش قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام بر اثر افزودن مکمل آنزیمی بین دو واریته جو بدون پوشینه مورد مطالعه در این آزمایش متفاوت بود. به طوری که در جو بدون پوشینه واریته بومی طبس با افزودن مکمل آنزیمی میزان قابلیت هضم ماده خشک از 64.66 درصد به 70.24 درصد (8.62 درصد بهبود نسبت به مقدار پایه) و قابلیت هضم پروتئین خام از 63.88 به 70.94 درصد (11.05 درصد بهبود نسبت به مقدار پایه) افزایش یافت ولی میزان بهبود قابلیت هضم ماده خشک در جو بدون پوشینه واریته

HMB-83-7 به میزان کمتر یعنی ۱/۶۸ درصد و در خصوص قابلیت هضم پروتئین خام میزان افزایش ناچیز بود.

جدول ۳- اثر واریته و مکمل آنزیمی بر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و پروتئین خام جو بدون پوشینه در جوجه‌های گوشتی

Table 3- Effects of variety and enzyme supplementation on hull-less barley dry mater and crude protein apparent digestibility in broiler chickens

اثرات Effects	قابلیت هضم پروتئین خام Crude protein apparent digestibility	قابلیت هضم ماده خشک Dry mater digestibility
	(%)	
واریته Variety		
بومی طیس Tabas native	67.41 ^a	67.45 ^a
HMB-83-7	55.11 ^b	64.67 ^b
SEM	1.80	0.52
آنزیم (کیلوگرم جیره/گرم) Enzyme (g/kg diet)		
0.0	59.50 ^b	64.39 ^b
0.5	63.03 ^a	67.73 ^a
SEM	1.80	1.52
واریته * آنزیم Variety * Enzyme		
بومی طیس Tabas native	0.0	64.66
	0.5	70.24
HMB-83-7	0.0	64.13
	0.5	65.21
SEM	2.50	2.15
	P-Value	
واریته	0.01	0.05
Variety		
آنزیم	0.05	0.05
Enzyme		
واریته × آنزیم	0.19	0.31
Variety × Enzyme		

^{a, b} میانگین‌های هر ستون برای هر اثر (اصلی و متقابل) که حرف مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

^{a, b} Means with different superscripts within a column for each effect are significantly different ($P < 0.05$).

جیره بر پایه ذرت-کنجاله سویا در جوجه‌های گوشتی (در سن ۲۱ روزگی) سبب بهبود قابلیت هضم پروتئین و اسیدهای آمینه شده است (۲۷). گزارش شده است که اثربخشی افزودن مولتی آنزیم (آمیلاز-زایلاناز-پروتئاز) به جیره ذرت-کنجاله سویا در بهبود قابلیت هضم پروتئین و اسیدآمینه در آزمایش با جوجه‌های گوشتی در مقایسه با افزودن آنزیم‌های آمیلاز و زایلاناز به‌تنهایی بیشتر بود (۲۶).

بهبود قابلیت هضم پروتئین خام با افزودن آنزیم‌های برون‌زادی به جیره، ممکن است در اثر کاهش اتلاف اسیدآمینه، در نتیجه حذف اثرات نامطلوب پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای محلول جو بدون پوشینه باشد. پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای دیواره سلولی، پروتئین محتوی سلول را کپسوله می‌کنند، افزودن آنزیم‌های شکننده دیواره سلولی باعث آزادسازی این پروتئین‌ها می‌شود (۲). هسلمن و امان

نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش با گزارش کیارای و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد، ایشان گزارش کردند با افزودن آنزیم زایلاناز به جیره بر پایه گندم، قابلیت هضم ماده خشک جیره ۲/۷ درصد بهبود یافته است (۱۹)، همچنین اسماعیل‌پور و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که افزودن مولتی آنزیم به جیره بر پایه گندم، سبب افزایش قابلیت هضم ماده خشک از ۶۲/۳۷ به ۶۹/۲۷ درصد شد (۱۴). پور رضا و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند با افزودن مولتی آنزیم (زایلاناز-بتاگلوکاناز) به جیره بر پایه تریتیکاله، قابلیت هضم پروتئین خام بهبود یافت (۲۴). تحقیقات نشان داده است که افزودن مولتی آنزیم (آمیلاز-زایلاناز) به جیره بر پایه ذرت-کنجاله سویا باعث بهبود قابلیت هضم پروتئین و اسیدهای آمینه در جوجه‌های گوشتی شده است (۲۸). همچنین افزودن مولتی آنزیم (آمیلاز-زایلاناز-پروتئاز) به

نتایج به دست آمده از این آزمایش با گزارش‌ها سایر محققان مبنی بر این که افزودن مکمل‌های آنزیمی اثر مثبتی بر بهره‌وری از انرژی غلات حاوی NSP بالا در جوجه‌های گوشتی دارد، مطابقت دارد (۱۶ و ۳۰). کروچ و همکاران (۱۹۹۷) گزارش نمودند که افزودن آنزیم زایلاناز به جیره‌های بر پایه گندم جوجه‌های گوشتی بر اثرات نامطلوب پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای غلبه کرده و میزان ارزش انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری گندم را بهبود می‌بخشد (۱۱).

گزارش شده است افزودن مکمل آنزیمی به جیره موجب افزایش انرژی قابل سوخت‌وساز گندم و جو می‌شود (۲۹). با افزودن مکمل آنزیمی حاوی بتاگلوکاناز به جیره، انرژی قابل متابولیسم دانه جو به طور معنی‌داری افزایش یافت (۲۵). افزودن مکمل‌های آنزیمی زایلاناز-بتاگلوکاناز، باعث بهبود انرژی قابل سوخت‌وساز به میزان ۱۷۰ کیلوکالری در کیلوگرم جیره مصرفی بر پایه گندم شد (۱۲). نتایج به دست آمده از این آزمایش به گزارش به دست آمده از آزمایش بررسی اثر افزودن مکمل آنزیمی زایلاناز-بتاگلوکاناز بر انرژی قابل سوخت‌وساز گندم، ترتیکاله و ذرت در جوجه‌های گوشتی مطابقت دارد، در این آزمایش افزودن آنزیم برون زادی باعث بهبود معنی‌دار انرژی قابل سوخت‌وساز گندم و ترتیکاله به ترتیب به میزان ۱۵۸ و ۱۵۷ کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک شد اما بر میزان انرژی قابل سوخت‌وساز ذرت تأثیر معنی‌داری نداشت، اگرچه در ذرت نیز افزودن مکمل آنزیمی باعث افزایش ارزش انرژی قابل سوخت‌وساز آن به میزان ۳۶ کیلوکالری در کیلوگرم شد (۳۲).

با بررسی نتایج جدول ۳ مشاهده می‌شود اثربخشی افزودن مکمل آنزیمی بر میزان بهبود انرژی قابل سوخت‌وساز دو واریته جو بدون پوشینه مورد استفاده در این آزمایش متفاوت بود. به طوری که افزودن آنزیم به جو بدون پوشینه واریته بومی طیس، موجب بهبود ارزش انرژی آن به میزان ۱۰۹ کیلوکالری بر کیلوگرم (۳/۴۸ درصد بهبود نسبت به مقدار پایه) و در جو بدون پوشینه واریته HMB-83-7 با افزودن آنزیم میزان انرژی قابل سوخت‌وساز غله مورد آزمایش به میزان ۲۰ کیلوکالری بر کیلوگرم (۰/۶۲ درصد بهبود نسبت به مقدار پایه) شده است. بخش زیادی از پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای غلاتی همچون گندم، جو، چاودار و ترتیکاله را بتاگلوکان و آرابینوزایلان محلول و نامحلول شامل می‌شوند (۵ و ۳۴). مقدار الیاف خام موجود در غلات فوق‌الذکر با توجه به گونه، واریته، زمان رشد و نمو، شرایط آب و هوایی و غیره می‌تواند بسیار متفاوت باشد. این امر به نوبه خود به این مفهوم است که ارزش غذایی مواد خوراکی می‌تواند بسیار متفاوت باشد (۳۴). استفاده از آنزیم‌های افزودنی نظیر زایلاناز برای تجزیه آرابینوزایلان و بتاگلوکاناز برای تجزیه بتاگلوکان می‌تواند این تنوع و اختلاف در ارزش غذایی را کاهش داده و باعث بهبود عملکرد خوراک و ثبات در پاسخ پرند به این نوع جیره‌ها باشد (۳).

(۱۹۸۶) نشان دادند که دیواره سلولی به صورت سد فیزیکی در برابر آنزیم‌های داخلی عمل کرده و بهره‌وری از نشاسته و پروتئین و سایر مواد مغذی محصور شده داخل خود را کاهش می‌دهد (۱۷). پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای اثرات زیان‌آوری بر انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری در جوجه‌های گوشتی دارند. این پیامدهای کاهنده ممکن است به دلیل تغییر فیزیولوژی دستگاه گوارش، تغییر اکوسیستم روده و تغییر زمان عبور مواد مغذی از روده باشد (۲۲). در اکثر منابع افزایش چسبندگی محتویات هضمی دستگاه گوارش به عنوان مهم‌ترین عامل مؤثر بر انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری در جیره‌های بر پایه غلات حاوی پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای محلول بالا گزارش شده است (۵، ۷، ۱۷ و ۳۴). وقتی پرندگان با این نوع مواد خوراکی تغذیه می‌شوند، در محیط دستگاه گوارش به خصوص روده کوچک یک شرایط فیزیکی چسبنده ایجاد می‌شود که می‌تواند منجر به کاهش واکنش آنزیم‌ها با سوبسترا و افزایش ضخامت لایه آب ساکن در مجاورت پرزهای مخاط و در نتیجه کاهش قابلیت هضم و جذب مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی شود (۷، ۸ و ۹).

انرژی قابل سوخت‌وساز جو بدون پوشینه

نتایج تعیین انرژی قابل سوخت‌وساز دو واریته جو بدون پوشینه و بررسی اثر افزودن آنزیم به جیره بر انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری آن‌ها در جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ گزارش شده است. اختلاف انرژی بین دو واریته جو بدون پوشینه مورد آزمایش در این مطالعه معنی‌داری بود ($P < 0.05$)، اما اثر افزودن آنزیم و اثر متقابل واریته جو بدون پوشینه و افزودن آنزیم بر AME_n معنی‌دار نبود.

میانگین انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری تصحیح شده برای ازت دو واریته جو بدون پوشینه 3034 ± 212 کیلوکالری در هر کیلوگرم ماده هوا خشک تعیین گردید. میزان انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری تصحیح شده برای ازت جو بدون پوشینه واریته بومی طیس ۳۱۳۵ کیلوکالری در کیلوگرم ماده هوا خشک و برای واریته HMB-83-7 میزان آن معادل ۲۹۵۲ کیلوکالری در کیلوگرم ماده هوا خشک به دست آمده آمد. میزان AME_n برای نمونه جو بدون پوشینه بومی طیس به طور معنی‌داری از میزان AME_n برای واریته HMB-83-7 بیشتر بود. میانگین انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری تصحیح شده برای ازت به دست آمده برای جو بدون پوشینه نزدیک نتایج گزارش شده توسط سایر محققین (۱ و ۳۱) بود، این محققین میزان AME_n جو بدون پوشینه را در دامنه ۳۴۱۲-۳۲۳۰ کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک گزارش کردند.

میزان AME_n برآورد شده برای جو بدون پوشینه در پرندگانی که جیره حاوی مکمل آنزیمی دریافت کرده بودند در مقایسه با پرندگان تغذیه شده با جیره بدون آنزیم، به طور متوسط ۷۳ کیلوکالری در هر کیلوگرم (۲/۴۱ درصد بهبود نسبت به مقدار پایه) افزایش داشته است.

جدول ۴- اثر واریته و مکمل آنزیمی بر انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری جو بدون پوشینه در جوجه‌های گوشتی

Table 4- Effects of variety and enzyme supplementation on hull-less barley apparent metabolizable energy (AME) in broiler chickens

اثرات Effects	AME	AME _n
واریته Variety	(کیلوگرم ماده هوا خشک/کیلوکالری) (kcal/kg as fed basis)	
بومی طیس Tabas native	3253 ^a	3189 ^a
HMB-83-7	3037 ^b	2961 ^b
SEM	58.52	55.19
آنزیم (کیلوگرم جیره/گرم) Enzyme (g/kg diet)		
0.0	3108	3034
0.5	3182	3107
SEM	58.52	55.19
واریته * آنزیم Variety Enzyme		
بومی طیس Tabas native	0.0	3193
	0.5	3244
HMB-83-7	0.0	2952
	0.5	2970
SEM	82.76	87.05
	P-Value	
واریته	0.01	0.01
واریته * آنزیم Variety Enzyme	0.35	0.39
واریته * آنزیم * واریته × آنزیم Variety × Enzyme	0.56	0.54

^{a, b} میانگین‌های هر ستون برای هر اثر (اصلی و متقابل) که حرف مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

^{a, b} Means with different superscripts within a column for each effect are significantly different at $P < 0.05$.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به‌دست آمده از این آزمایش میزان قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام و AME_n جو بدون پوشینه به‌ترتیب ۶۴/۳۹ و ۵۹/۵۰ درصد و ۳۰۳۴ کیلوکالری در کیلوگرم ماده هوا خشک برآورد شد. میزان AME_n و قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام در جو بدون پوشینه واریته بومی طیس به‌طور معنی‌دار از واریته HMB-83-7 بیشتر بود. افزودن مکمل آنزیمی "سلولاز-بتاگلوکاناز-زایلاناز" به جیره جوجه‌های گوشتی باعث بهبود انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح‌شده برای ازت، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جو بدون پوشینه به‌ترتیب ۲/۴۱، ۵/۱۸ و ۵/۹۳ درصد

سپاسگزاری

بدین‌وسیله مؤلفین از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد و معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی که امکان اجرای این پژوهش را فراهم نمودند، قدردانی می‌نمایند (کد طرح: ۳/۳۰۵۶۷).

نسبت به مقدار برآورد شده برای جیره‌های بدون آنزیم شد.

منابع

1. Aherne, F., O. Beever, L. Campbell, M. Edney, and M. Therrien. 1995. Production and feeding of hullless barley. Publ. 1904/E. Agriculture and Agri-Food Canada, Ottawa, Ontario, Canada.
2. Angkanaporn, K., M. Choct, W. L. Bryden, E. F. Annison, and G. Annison. 1994. Effects of wheat pentosanase on endogenous amino-acid losses in chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 66:399-404.
3. Bedford, M., and G. Partridge. 2010. *Enzymes in farm animal nutrition*. 2 ed. CAB International Publisher.
4. Bedford, M. R. 1995. Mechanism of action and potential environmental benefits from the use of feed enzymes. *Animal Feed Science and Technology*, 53:145-155.
5. Bedford, M. R., and H. L. Classen. 1992. Reduction of intestinal viscosity through manipulation of dietary rye and pentosanase concentration is effected through changes in the carbohydrate composition of the intestinal aqueous phase and results in improved growth rate and food conversion efficiency of broiler chicks. *The Journal of Nutrition*, 122(3):560-569.
6. Chizari, A., and M. Hajiheidary. 2010. The effects of market factors and government policies on maize marketing in Iran. *African Journal of Agricultural Research*, 5(12):1351-1359.
7. Choct, M., and G. Annison. 1992a. Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chickens: roles of viscosity and gut microflora. *British Poultry Science*, 33(4):821-834.
8. Choct, M., and G. Annison. 1992b. The inhibition of nutrient digestion by wheat pentosans. *The British Journal of Nutrition*, 67(1):123-132.
9. Choct, M., R. J. Hughes, R. P. Trimble, K. Angkanaporn, and G. Annison. 1995. Non-starch polysaccharide-degrading enzymes increase the performance of broiler chickens fed wheat of low apparent metabolizable energy. *The Journal of Nutrition*, 125(3):485-492.
10. Classen, H. L., G. L. Campbell, G. G. Rosnagel, R. Bhatti, and R. D. Reichert. 1985. Studies on the use of hullless barley in chicken diets: Deleterious effects and methods of alleviation. *Canadian Journal of Animal Science*, 65:725-733.
11. Crouch, A. N., J. L. Grimes, P. R. Ferket, and L. N. Thomas. 1997. Enzyme supplementation to enhance wheat utilization in starter diets for broilers and turkeys. *Journal of Applied Poultry Research*, 6:147-154.
12. Dusel, G., H. Kluge, and H. Jeorch. 1998. Xylanase supplementation of wheat-based rations for broilers: influence of wheat characteristics. *Journal of Applied Poultry Science*, 7:119-131.
13. Engberg, R. M., M. S. Hedemann, S. Steinfeldt, and B. B. Jensen. 2004. Influence of whole wheat and xylanase on broiler performance and microbial composition and activity in the digestive tract. *Poultry Science*, 83(6):925-938.
14. Esmaeilipour, O., H. Moravej, M. Shivazad, M. Rezaian, S. Aminzadeh, and M. M. Van Krimpen. 2012. Effects of diet acidification and xylanase supplementation on performance, nutrient digestibility, duodenal histology and gut microflora of broilers fed wheat based diet. *British Poultry Science*, 53(2):235-244.
15. Freitas, D. M., S. L. Vieira, C. R. Angel, A. Favero, and A. Maiorka. 2011. Performance and nutrient utilization of broilers fed diets supplemented with a novel mono-component protease. *The Journal of Applied Poultry Research*, 20:322-334.
16. Friesen, O. D., W. Guenter, R. R. Marquardt, and B. A. Rotter. 1992. The effect of enzyme supplementation on the apparent metabolizable energy and nutrient digestibilities of wheat, barley, oats, and rye for the young broiler chicks. *Poultry Science*, 71(10):1710-1721.
17. Hesselman Kand Aman, P. 1986. The effect of β -glucanase on the utilization of starch and nitrogen by broiler chickens fed on barley of low or high viscosity. *Animal Feed Science and Technology*, 15:83-93.
18. Hughes, R. J. 2008. Relationship between digesta transit time and apparent metabolisable energy value of wheat in chickens. *British Poultry Science*, 49 (6):716-720.
19. Kiarie, E., L. F. Romero, and V. Ravindran. 2014. Growth performance, nutrient utilization, and digesta characteristics in broiler chickens fed corn or wheat diets without or with supplemental xylanase. *Poultry Science*, 93(5):1186-1196.
20. King, D., D. Ragland, and O. Adeola. 1997. Apparent and true metabolizable energy values of feedstuffs for ducks. *Poultry Science*, 76(10):1418-1423.
21. Macdonald, P., R. A. Edwards, and J. F. D. Greenhalgh. 1995. *Animal Nutrition*. 5 ed. Co published in the United States with John Wiley & Sons Inc, New York.
22. McNab, J. M., and K. N. Boorman. 2002. *Poultry feedstuffs: supply, composition, and nutritive value*. CAB International Publisher.
23. Newman, R. K., and C. W. Newman. 1988. Nutritive value of a new hull-less barley cultivar in broiler chick diets. *Poultry Science*, 67(11):1573-1579.
24. Pourreza, J., A. H. Samie, and E. Rowghani. 2007. Effect of supplementation enzyme on nutrient digestibility and performance of broiler chicks fed diets containing triticale. *International Journal of Poultry Science*, 6 (2):115-117.

25. Ravindran, V., Z. V. Tilman, P. C. H. Morel, G. Ravindran, and G. D. Coles. 2007. Influence of β -glucanase supplementation on the metabolisable energy and ileal nutrient digestibility of normal starch and waxy barleys for broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 134:45-55.
26. Rodriguez, M. L., A. Rebole, S. Velasco, L. T. Ortiz, J. Trevino, and C. Alzueta. 2011. Wheat- and barley-based diets with or without additives influence broiler chicken performance, nutrient digestibility and intestinal microflora. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(1):184-190.
27. Romero, L. F., J. S. Sands, S. E. Indrakumar, P. W. Plumstead, S. Dalsgaard, and V. Ravindran. 2014. Contribution of protein, starch, and fat to the apparent ileal digestible energy of corn- and wheat-based broiler diets in response to exogenous xylanase and amylase without or with protease. *Poultry Science*, 93(10):2501-2513.
28. Rutherford, S. M., T. K. Chung, and P. J. Moughan. 2007. The effect of a commercial enzyme preparation on apparent metabolizable energy, the true ileal amino acid digestibility, and endogenous ileal lysine losses in broiler chickens. *Poultry Science*, 86(4):665-672.
29. Scott, T. A., F. G. Silversides, H. L. Classen, M. L. Swift, M. R. Bedford, and J. W. Hall. 1998. A broiler chick bioassay for measuring the feeding value of wheat and barley in complete diets. *Poultry Science*, 77(3):449-455.
30. Shakouri, M. D., and H. Kermanshahi. 2003. Effect of NSP degrading enzyme supplement on the nutrient digestibility of young chickens fed wheat with different viscosities and triticales. *Journal of Agriculture Science and Technology*, 5:105-112.
31. Sharifi, S. D., F. Shariatmadari, and A. Yaghobfar. 2012. Effects of inclusion of hull-less barley and enzyme supplementation of broiler diets on growth performance, nutrient digestion and dietary metabolisable energy content. *Journal of Central European Agriculture*, 13 (1):193-207.
32. Zarghi, H., A. Golian, H. Kermanshahi, and H. Aghel. 2011. Effect of enzyme supplementation on metabolisable energy of corn, wheat and triticales grains in broiler chickens using total excreta collection or marker methods. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 2 (3):105-112, (In Persian).
33. Zarghi, H., A. Golian, H. Kermanshahi. 2016. The effect of triticales and enzyme cocktail (Xylanase & β -Glucanase) replacement in grower diet on performance, digestive organ relative weight, gut viscosity and gut morphology of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 8 (2): 298-312, (In Persian).
34. Zarghi, H., A. Golian, and H. Kermanshahi. 2010. Relationship of Chemical Composition and Metabolisable Energy of Triticales for Poultry. In proceeding of: British Society of Animal Science World Poultry Science. (UK, 2010-04-12)



Effect of Enzyme Supplementation on AMEn, Dry Matter and Crude Protein Digestibility of Hull-Less Barley in Broiler Chickens

H. Tiemouri¹- H. Zarghi^{2*}- A. Golian³

Received: 14-06-2017

Accepted: 18-02-2018

Introduction

Cereal grains are the major source of energy for commercial poultry nutrition and incorporate about 60-70% of the diet volume. Corn is mainly used in the production of poultry feed mixtures, but the amount of corn production in Iran is not sufficient and more than 50% of corn requirement for poultry production is provided via import, therefore, for economic reasons its content in poultry diets might reduce. Barley can be the preferred grain for cultivation in many areas in Iran due to its resistance to drought region. Hull-less barley (HLB) differs from conventional barley in that the hulls firmly attached to the kernel and consequently is detached after thrashing, leading to a higher level of valuable nutrients and increased nutrient density. Reported that the HLB has a higher AME and protein content than hulled barley because of diluting effect of the fibrous hulls. The high protein content in HLB compared to corn grain and its considerable AMEn make it a potentially good ingredient for poultry diet formulation. However, since the high content of non-starch polysaccharides (NSP) probably decrease nutrient digestibility and performance due to the lack of an appropriate enzyme in the digestive tract of chickens, some concern has been expressed in relation to the inclusion levels of HLB in broiler diets. This experiment was carried out to study the influence of enzyme supplementation on the apparent metabolizable energy corrected for nitrogen (AMEn), apparent digestibility of dry matter (DMD), and crude protein (ACD) of two varieties of HLB by using the total excreta collection method in broiler chickens.

Materials and Methods Sixty-four male broiler chicks "Ross-308", 16d of age, assigned to 16 metabolic cages in a completely randomized design (CRD) experiment with a factorial arrangement (2×2), 4 treatments with 4 replicates/treatment and 4 birds/replicate. The factors included two varieties of HLB (HMB-83-7 and native of Tabas, Iran) and two levels of enzyme cocktail (was a blend of 3500 U/g β -glucanase, 1600 U/g xylanase, 25 U/g cellulase and 1000 U/g phytase activity obtained from Phileo-Lesaffre-Animal-Care, Co. "Marcq-en-Baroeul-France") supplementation (0 and 0.5 g/kg of diet). The experimental diets were made so that the HLB barley was the sole source of energy and nitrogen supply. The digestion trial included a 4-day preliminary period in 16–19d of age, followed by 4 days of total excreta collection. The feed was provided ad libitum during the preliminary and the collection period. During the collection period (20-23d of age) total feed intake was measured, and excreta from each cage were collected twice a day, pooled, and kept frozen at -18°C until subsequent analyses. The excreta samples were freeze-dried to determine DM content. The dried excreta and diet samples were ground through 20 mesh screens, and nutrient content was determined according to AOAC (2000). The gross energy of the dried excreta and diet samples was measured. The apparent digestibility of crude protein (CPD) and dry matter (DMD) of HLB was calculated. The apparent metabolizable energy corrected for nitrogen (AMEn), of HLB was calculated.

Results and Discussion The average DMD, CPD and AMEn of HLB were obtained 64.39±2.80%, 59.50±7.66% and 3034±212 kcal/kg as-fed basis, respectively. The DMD, CPD and AMEn of HLB in Tabas native variety were 67.45, 67.41% and 3189 kcal/kg as-fed basis respectively, which were significantly more than HMB-83-7 variety (Vs 64.67, 55.1% and 2961 kcal/kg for DMD, CPD and AMEn). Dietary enzyme supplementation increased the hull-less barley DMD (64.39% Vs 67.73%, 5.18% improvement compared to basal content), as well as increasing the CPD (50.59% Vs 63.03%, 5.93% improvement compared to base value) and AMEn (3034 Vs 3107 kcal/kg, 2.41% improvement compared to base value), so that the differences were significant ($P < 0.05$). The effectiveness of dietary enzyme supplementation on the improvement of nutritional value of different HLB varieties that used in this experiment was varied. The Tabas native HLB variety was more effected than HMB-83-7 variety by dietary enzyme supplementation. Hull-less barley contains considerably higher levels of anti-nutritional factors consisting mainly of soluble non-starch polysaccharides (NSPs),

1, 2 and 3- MSc graduated, Assistant Professor and Professor, respectively, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

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

especially β -glucans compared to corn and wheat. Water-soluble β -glucan with gel-forming characteristics increases the gastrointestinal (GI) tract viscosity, decreases digestive enzymes contact with substrates, increases the thickness of the unstirred water layer in the GI tract mucosa and hence depresses nutrient digestibility. Many researchers have studied the beneficial effects of the addition of exogenous enzymes to the rich non-starch polysaccharide diets. The positive nutritional effects achieved by the dietary supplementation of exogenous enzymes are proposed to be caused by several mechanisms. Mainly, it has been shown that the anti-nutritive effects of viscous cereals such as barley, wheat, rye, oats, and triticale are associated with raised intestinal viscosity caused by soluble β -glucans and arabinoxylans present in those cereals. These problems are overcome by dietary supplementation of β -glucanases and xylanases. It is assumed that the ability of β -glucanases and xylanases to degrade plant cell walls leads to release of nutrients from grain endosperm.

Conclusion According to the results of this experiment; the hull-less barley AMEn, DMD and CPD value affected by variety. The dietary exogenous enzyme supplementation improved the hull-less barley DMD, CPD and AMEn value.

Keywords: Apparent metabolizable energy, Broiler chickens, Enzyme, Hull-less barley, Crude protein



تأثیر سطوح و منابع متیونین و جایگزینی آن با بتائین بر عملکرد و صفات لاشه جوجه‌های گوشتی در دو شرایط دمایی متداول و تنش گرمایی

فاطمه صاحبی اعلاء^۱ - احمد حسن آبادی^{۲*} - ابوالقاسم گلیان^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۱

چکیده

هدف از این آزمایش بررسی تأثیر سطوح و منابع متیونین و جایگزینی آن با بتائین بر عملکرد و صفات لاشه جوجه‌های گوشتی در دو شرایط دمایی متداول و تنش گرمایی از سن ۱ تا ۴۲ روزگی بود. ۱۲۰۰ قطعه جوجه‌گوشتی راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش اسپلیت فاکتوریل با سه سطح متیونین (۳۰ درصد کمتر از احتیاجات، احتیاجات، ۳۰ درصد بیشتر از احتیاجات) × دو منبع متیونین (دی ال و یا ال-متیونین) × دو حالت جایگزینی و یا عدم جایگزینی بتائین مصنوعی با ۳۰ درصد متیونین مصنوعی) × دو شرایط دمایی با ۵ تکرار و ۱۰ پرنده در هر تکرار استفاده شد. دمای یکی از سالن‌ها متداول و دیگری از ۲۴-۱۰ روزگی روزانه به مدت شش ساعت در ۳۲°C حفظ شد. مصرف خوراک پرندگان تغذیه شده با جیره دارای متیونین بالاتر از احتیاجات به‌طور معنی‌داری کمتر از دو سطح دیگر بود. افزایش وزن در جیره‌های برابر با احتیاجات و بیشتر از احتیاجات متیونین به‌طور معنی‌داری بالاتر بود. ضریب تبدیل در جیره دارای ال-متیونین کمتر از احتیاجات، نسبت به دی‌ال-متیونین در همان سطح بهبود معنی‌داری داشت. شاخص کارایی تولید با افزایش سطح دی‌ال-متیونین جیره بهبود یافت. کمترین سطح متیونین کاهش معنی‌داری در وزن لاشه و ران نسبت به بالاترین سطح متیونین داشت. بالاترین سطح متیونین در دمای متداول، وزن سینه بالاتری نسبت به همان سطح در تنش گرمایی داشت. تنش گرمایی عملکرد و تولید لاشه را کاهش و چربی شکمی و تلفات را افزایش داد. به‌طور کلی، بتائین با ۳۰ درصد از متیونین مصنوعی جیره قابل جایگزین است و همچنین، ال-متیونین ضریب تبدیل خوراک را نسبت به دی‌ال-متیونین بهبود بخشید.

واژه‌های کلیدی: بتائین، تنش گرمایی، جوجه گوشتی، عملکرد، متیونین

مقدمه

به صورت بالقوه برای سلول سمی هستند و هر دوی آنها در صورت کمبود دهنده و یا گیرنده‌های متیل در سلول‌های بدن تجمع می‌یابند. جایگزین‌های دهنده متیل ممکن است نیاز جیره‌ای متیونین را با قرار دادن متیونین به‌عنوان دهنده متیل یا با فراهم کردن گروه متیل لازم برای تبدیل هموسیستئین به متیونین کاهش دهند (۵۷). تأمین گروه‌های متیل مورد نیاز بدن توسط بتائین، متیونین بیشتری برای ساخت پروتئین و در نتیجه رشد ماهیچه‌ها در دسترس قرار می‌گیرد. علاوه بر این، در نتیجه متابولیسم بتائین اسید آمینه گلیسین در بدن تولید می‌شود. گلیسین از جمله اسیدهای آمینه مهم در ساخت پروتئین و رشد عضلات است (۳۰).

تنش گرمایی یکی از عواملی است که به دلیل وارد آوردن ضرر و زیان مالی ناشی از کاهش عملکرد طیور و افزایش تلفات، می‌تواند به‌عنوان یک مشکل جدی برای پرورش‌دهندگان طیور مورد توجه قرار گیرد. یکی از راه‌های کاهش تنش گرمایی استفاده از بتائین در جیره می‌باشد. بتائین به دلیل دارا بودن خاصیت تنظیم فشار اسمزی از مصرف انرژی توسط پمپ‌های یونی سلول جلوگیری می‌کند، در نتیجه انرژی مورد نیاز برای نگهداری پرنده، حتی در شرایط تنش گرمایی کاهش یافته و مقادیر بیشتری انرژی صرف رشد و تولید می‌شود (۲۳). بنابراین به دلیل اثرات متقابل بین کولین، بتائین و

در جوجه‌های گوشتی و در جیره‌های بر پایه ذرت و کنجاله سویا، متیونین به‌عنوان اولین اسید آمینه محدودکننده شناخته می‌شود (۲۶). زنجیره جانبی حاوی گوگرد، متیونین را به اسید آمینه اصلی برای ساخت پروتئین و سایر عملکردهای بیولوژیکی تبدیل کرده است. طیور قادر به استفاده از ایزومرهای L و یا D متیونین می‌باشند؛ زیرا مسیر آنزیمی منحصر به فردی برای تبدیل ایزومرهای دی-متیونین به ال-متیونین در کبد و کلیه وجود دارد (۴). مطالعات آزمایشگاهی نشان داد که تنش گرمایی جذب دی-متیونین را در مقایسه با ال-متیونین تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۵) اما در مطالعات دیگر تفاوتی در عملکرد بین منابع مختلف متیونین در یک دوره ۵ روزه بعد از اینکه پرندگان در معرض تنش گرمایی قرار گرفتند گزارش نشده است (۴۲). بتائین یک ترکیب دهنده گروه متیل است که برای ساخت متیونین از هموسیستئین ضروری است (۲). متیونین و هموسیستئین

۱- دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(Email: hassanabadi@um.ac.ir)

(*- نویسنده مسئول)

متیونین، این مولکولهای حاوی نیتروژن ممکن است در جیره‌های با حداقل قیمت قادر به جایگزینی به جای همدیگر باشند. همچنین این مواد ممکن است زمانی که بیشتر از سطح حداقل مکمل‌سازی شوند سودمندی‌هایی را به همراه داشته باشند (۵۳). با توجه به ماهیت به هم پیوسته بتائین، کولین و متیونین، بسیاری از تحقیقات جایگزینی یکی از مولکول‌ها را به جای دیگری در جیره طیور مورد بررسی قرار داده‌اند که نتایج متفاوتی در پی داشته است.

سودمندی استفاده از بتائین در صنعت طیور به صورت افزایش راندمان لاشه و درصد ماهیچه سینه و همچنین کاهش چربی شکمی (۲۱)، بهبود رشد و ضریب تبدیل خوراک در جیره دارای کمبود متیونین (۴۰)، بهبود عملکرد تحت تنش گرمایی (۴۸)، افزایش ریمتیلایسون هموسیستئین از طریق متیونین سینتاز (۳۷) گزارش شده است. هرچند در این بین مطالعاتی نیز وجود دارد که اثرات معنی‌داری را از افزودن بتائین مشاهده نکردند (۵۷، ۳۸). لوکیک و همکاران (۲۷) بیان کردند که با جایگزینی کامل متیونین با بتائین باعث کاهش وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک شد درحالی‌که سرعت مرگ و میر نیز کاهش یافت. گزارش شده است که مکمل‌سازی بتائین تا ۲۵ درصد متیونین جیره عملکرد رشدی را تحت تاثیر قرار نداد اما باعث افزایش ماهیچه سینه و محتوای پروتئین ماهیچه سینه در جوجه‌های گوشتی شد (۱۶).

از آنجایی که اطلاعات در مورد مقایسه منابع ال و دی ال- متیونین در شرایط تنش گرمایی محدود می‌باشد و همچنین تعیین مقدار مورد نیاز بدن به گروه متیل مشکل و پیچیده می‌باشد، مقدار دقیق مورد نیاز این گروه در جیره در منابع علمی گزارش نشده است. از طرفی به دلیل عدم درک کامل از مکانیسم‌های فیدبکی برای متابولیسم بتائین و چگونگی سودمند بودن آن برای حیوانات و صنعت طیور نیاز است تا مطالعات بیشتری در این زمینه انجام شود. از این روی، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر جایگزینی سطوح و منابع متیونین و جایگزینی آن با بتائین بر عملکرد رشد و صفات لاشه جوجه‌های گوشتی در دو شرایط دمایی متداول و تنش گرمایی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

پرندگان، جایگاه و جیره‌های آزمایشی: این پژوهش با استفاده از ۱۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸ با دو جنس مخلوط در دو سالن مجاور با شرایط یکسان انجام شد. سالن‌ها به عنوان واحد اصلی و ۱۲ جیره مختلف به عنوان واحد فرعی در نظر گرفته شد و آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت اسپلیت فاکتوریل با دو سطح جایگزینی بتائین (جایگزینی و یا عدم جایگزینی بتائین مصنوعی با ۳۰ درصد متیونین مصنوعی) × سه سطح متیونین (۳۰ درصد کمتر از احتیاجات، سطح احتیاجات، ۳۰ درصد بیشتر از

احتیاجات) × دو منبع متیونین (دی ال و یا ال) × دو شرایط دمایی با ۵ تکرار و ۱۰ پرنده در هر تکرار انجام شد. جیره پایه ذرت-سویا مطابق با جدول احتیاجات مواد مغذی پیشنهادی سویه راس ۳۰۸ (به جز برای متیونین) برای سه دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) تنظیم شد که در جدول ۱ گزارش شده است (۳). سطح متیونین جیره پایه ۳۰ درصد کمتر از احتیاجات بود که با افزودن متیونین (دی ال-متیونین و یا ال-متیونین) مصنوعی به سطح احتیاجات یا ۳۰ درصد بیشتر از آن رسید. بتائین با ۳۰ درصد از متیونین مصنوعی در هر جیره جایگزین شد. جیره‌های آزمایشی به صورت زیر تهیه شدند:

جیره ۱ و ۲ = جیره پایه با سطح دی ال-متیونین و یا ال-متیونین ۳۰ درصد متیونین کمتر از احتیاجات و بدون افزودن بتائین مصنوعی، جیره ۳ و ۴ = جیره پایه با سطح دی ال-متیونین و یا ال-متیونین ۳۰ درصد متیونین کمتر از احتیاجات همراه با بتائین مصنوعی معادل ۳۰ درصد متیونین مصنوعی جیره،

جیره ۵ و ۶ = رساندن سطح متیونین جیره پایه به سطح احتیاجات با افزودن دی ال و یا ال-متیونین و بدون افزودن بتائین مصنوعی

جیره ۷ و ۸ = رساندن سطح متیونین جیره پایه به سطح احتیاجات با افزودن دی ال-متیونین و یا ال-متیونین همراه با بتائین مصنوعی معادل ۳۰ درصد متیونین مصنوعی جیره

جیره ۹ و ۱۰ = رساندن سطح متیونین جیره پایه به سطح ۳۰ درصد بیشتر از احتیاجات متیونین با افزودن دی ال و یا ال-متیونین و بدون افزودن بتائین مصنوعی

جیره ۱۱ و ۱۲ = رساندن سطح متیونین جیره پایه به سطح ۳۰ درصد بیشتر از احتیاجات متیونین با افزودن دی ال-متیونین و یا ال- متیونین همراه با بتائین مصنوعی معادل ۳۰ درصد متیونین مصنوعی جیره.

بتائین جایگزین ۳۰ درصد از دی ال-متیونین و یا ال-متیونین مصنوعی جیره شد مقدار آن بر اساس وزن مولکولی محاسبه گردید (گروه متیل موجود در بتائین ۳/۷۵ برابر گروه متیل موجود در متیونین می‌باشد) (۱۶). برنامه نوری به صورت ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت خاموشی اعمال شد و آب و خوراک در کل دوره به صورت آزاد و مداوم در اختیار پرندگان قرار گرفت. دمای هر دو سالن تا سن ۱۰ روزگی جوجه‌ها در دمای توصیه شده دفترچه راهنمای پرورش سویه تنظیم گردید. بعد از این سن، دمای یکی از سالن‌ها هر هفته ۳ درجه کاهش داده شد تا به دمای پایه (۲۳ °C) در سن ۲۸ روزگی برسد و تا پایان دوره در این دما ثابت نگه داشته شد. دمای سالن دیگر از ساعات ۸:۰۰ تا ۹:۳۰ صبح به تدریج به ۳۲ درجه سانتی‌گراد رسانیده شد و به مدت ۶ ساعت در این دما حفظ شد (ساعت ۱۵:۳۰). بعد از آن دما به تدریج به دمای پایه کاهش داده شد (ساعت ۱۷:۰۰).

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره‌های پایه در بازه زمانی مختلف (%)^۱Table 1- Ingredients and nutrient composition of basal experimental diets in different periods (%)¹

اجزاء Ingredients, %	آغازین (۱-۱۰ روزگی) Starter (1-10 d)	رشد (۱۱-۲۴ روزگی) Grower (11-24 d)	پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) Finisher (25-42 d)
ذرت، ۸ درصد پروتئین Corn, ۸ % CP	31.21	25.37	29.99
کنجاله سویا، ۴۴ درصد پروتئین Soybean meal, 44 % CP	39.09	33.97	28.56
گندم Wheat	20.00	30.00	30.00
روغن سویا Soybean oil	5.360	6.740	7.470
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.870	1.640	1.700
سنگ آهک Limestone	1.140	1.050	1.060
نمک طعام NaCl	0.360	0.350	0.350
دی ال-متیونین ^۱ DL-Methionine ¹	0.050	0.030	0.030
ال-لیزین هیدروکلرید L-Lysine - HCl	0.320	0.270	0.280
ال-ترئونین L-Threonine	0.100	0.080	0.060
مکمل ویتامینی Vitamin premix ²	0.250	0.250	0.250
مکمل معدنی Mineral premix ²	0.250	0.250	0.250
مقدار محاسبه شده (%) Calculated values (%)			
انرژی قابل متابولیسم، کیلوکالری/کیلوگرم Metabolisable energy, Kcal/kg	3000	3100	3200
پروتئین خام Crude protein%	23.00	21.50	19.50
کلسیم Calcium	0.960	0.870	0.870
فسفر قابل دسترس Available phosphorus	0.480	0.430	0.430
سدیم Sodium	0.160	0.160	0.160
متیونین Methionine	0.392	0.357	0.239
متیونین+سیستین Methionine+cystine	0.756	0.709	0.652
لیزین Lysine	1.440	1.290	1.160
ترئونین Threonine	0.970	0.880	0.780

^۱ ال-متیونین نیز با مقادیر مشابه با دی ال-متیونین به جیره‌های دارای ال-متیونین افزوده شد.^۱ L-methionine was also added to diets containing L-methionine with similar amounts to DL-methionine^۲ مکمل ویتامینه و مواد معدنی مواد زیر را در هر کیلوگرم از جیره تأمین می‌کرد: ویتامین A، ۸۸۰۰ واحد بین‌المللی؛ کوله کلسیفرول، ۲۵۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، ۸۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K3، ۲/۲ میلی‌گرم؛ ویتامین B12، ۰/۰۱ میلی‌گرم؛ تیامین، ۱/۵ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین؛ ۴ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۳۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۰/۵ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ پیریدوکسین، ۲/۵ میلی‌گرم؛ اسید پنتوتنیک، ۸ میلی‌گرم؛ کولین کلراید، ۵۰ میلی‌گرم بتائین، ۱۹۰ میلی‌گرم؛ روی، ۶۵ میلی‌گرم؛ منگنز، ۷۵ میلی‌گرم؛ سلنیوم، ۰/۲ میلی‌گرم؛ ید، ۰/۹ میلی‌گرم؛ مس، ۶ میلی‌گرم؛ آهن، ۷۵ میلی‌گرم^۲ applied per kg of diet: vitamin A as acetate, 8800 IU; Cholecalciferol, 2500 IU; vitamin E (as dl-α tocopherol) 80 IU, vitamin K3, 2.2 mg; Vitamin B12, 0.01 mg, thiamine, 1.5 mg; Riboflavin, 4 mg; Niacin 35 mg, folic acid 0.5 mg; Biotin, 0.15 mg; pyridoxine 2.5 mg; pantothenate, 8 mg; choline chloride, 50 mg; Betaine 190 mg; Zinc, 65 mg; Magnesium, 75 mg; selenium, 0.2 mg; iodide, 0.9 mg; Copper, 6 mg; Iron, 75 mg.

بتائین؛ BC_{ijk} : برهم کنش سطح زام فاکتور سطح متیونین و سطح k ام فاکتور نوع متیونین؛ BD_{jl} : برهم کنش سطح زام فاکتور سطح متیونین و سطح l ام فاکتور بتائین؛ CD_{kl} : برهم کنش سطح k ام فاکتور نوع متیونین و سطح l ام فاکتور بتائین؛ ABC_{ijk} : برهم کنش سطح زام فاکتور دما و سطح زام فاکتور سطح متیونین و سطح k ام فاکتور نوع متیونین؛ ABD_{ijl} : برهم کنش سطح زام فاکتور دما و سطح l ام فاکتور بتائین؛ BCD_{jkl} : برهم کنش سطح زام فاکتور سطح متیونین و سطح k ام فاکتور نوع متیونین و سطح l ام فاکتور بتائین؛ $ABCD_{ijkl}$: برهم کنش سطح زام فاکتور دما و سطح زام فاکتور سطح متیونین و سطح k ام فاکتور نوع متیونین و سطح l ام فاکتور بتائین؛ E_{bijklr} : اشتباه فرعی

نتایج و بحث

نتایج مربوط به اثرات سطوح و منابع متیونین و بتائین و همچنین اثرات متقابل آن‌ها بر عملکرد رشد و درصد تلفات جوجه‌های گوشتی در شرایط دمایی متداول و تنش گرمایی در سن ۴۲ روزگی در جدول ۲ گزارش شده است. مصرف خوراک در پرندگان تغذیه شده با سطح بالاتر از احتیاجات متیونین نسبت به پرندگان تغذیه شده با جیره‌های دارای سطح احتیاجات و کمتر از احتیاجات متیونین به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$). افزایش وزن جوجه‌ها در جیره‌های دارای متیونین احتیاجات و بالاتر از احتیاجات نسبت به جیره دارای متیونین کمتر از احتیاجات به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($P < 0.05$). منابع متیونین و جایگزینی بتائین با ۳۰ درصد از متیونین مصنوعی جیره تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک، افزایش وزن، ضریب تبدیل خوراک شاخص کارایی تولید و درصد تلفات نداشت ($P > 0.05$). اثر دما بر این شاخص‌ها معنی‌دار گردید و پرندگانی که تحت شرایط تنش گرمایی پرورش یافتند مصرف خوراک، افزایش وزن و شاخص کارایی تولید کمتر و ضریب تبدیل خوراک و درصد تلفات بیشتری را نسبت به هم‌تای خود در شرایط دمایی متداول نشان دادند ($P < 0.05$). اثر متقابل دوگانه بین منبع متیونین و سطح متیونین در مورد ضریب تبدیل خوراک و شاخص کارایی تولید معنی‌دار بود (جدول ۳). به‌طوری‌که پرندگان تغذیه شده با جیره دارای ال-متیونین و سطح پایین‌تر از احتیاجات متیونین ضریب تبدیل پایین‌تری (۱/۹۴) نسبت به پرندگان تغذیه شده با جیره دارای دی ال-متیونین در همان سطح (۲/۰۲) نشان دادند؛ اما بین سایر سطوح دی ال و ال-متیونین به‌صورت متناظر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). شاخص کارایی تولید با افزایش سطح دی ال-متیونین جیره بهبود یافت ($P < 0.05$) اما تفاوتی بین بالاترین سطح ال-متیونین و سطح استاندارد آن مشاهده نشد.

افزایش وزن و خوراک مصرفی روزانه جوجه‌ها به صورت گرم در روز به‌ازای هر جوجه برای تمام واحدهای آزمایشی در پایان هر دوره اندازه‌گیری شد. به منظور افزایش دقت در اندازه‌گیری افزایش وزن بدن، دانخوری‌ها ۲ ساعت قبل از توزین از دسترس جوجه‌ها خارج می‌شد و برای جوجه‌های تلف شده نیز تصحیح انجام گرفت. مقدار خوراک مصرفی برای هر جوجه با استفاده از فرمول روز مرغ به‌دست آمد و ضریب تبدیل برای هر واحد آزمایشی از تقسیم مقدار خوراک مصرفی بر افزایش وزن بدن در کل دوره محاسبه شد. برای تعیین درصد تلفات هر پن در کل دوره، تلفات هر پن شمارش و درصد آن نسبت به کل جوجه‌های آن پن محاسبه گردید. به منظور به‌دست آوردن میزان عملکرد گله در تیمارهای مختلف، شاخص کارایی تولید برای هر تیمار با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۲۸).

(۱)

$100 \times ((\text{تعداد روزهای پرورش} \times \text{ضریب تبدیل خوراک}) / \text{درصد}$

زنده مانی $\times$ وزن زنده (کیلوگرم)) = شاخص کارایی تولید

در روز پایانی آزمایش (سن ۴۲ روزگی) از هر واحد آزمایشی یک قطعه پرند (۵ قطعه از هر تیمار) که وزن آن به میانگین وزنی پن نزدیک بود، انتخاب، توزین و کشتار شد. پس از انجام عملیات پوست‌کنی، وزن لاشه، سینه و ران‌ها و همچنین اندام‌های داخلی شامل قلب، کبد، طحال، بورس فابریسیوس، چربی شکمی و پانکراس اندازه‌گیری شد.

تجزیه آماری: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت اسپلیت فاکتوریل $2 \times 3 \times 2 \times 2$ (دو منبع متیونین ال و یا دی ال-متیونین $\times$ دو شرایط دمایی $\times$ سه سطح متیونین $\times$ دو سطح بتائین) با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (۴۷) و رویه مدل خطی عمومی GLM مورد تجزیه آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ($P < 0.05$) انجام شد. مدل آماری به صورت زیر بود:

(۲)

$$Y_{ijklr} = \mu + A_i + E_{a_{ir}} + B_j + C_k + D_l + AB_{ij} + AC_{ik} + AD_{il} + BC_{jk} + BD_{jl} + CD_{kl} + ABC_{ijk} + ABD_{ijl} + BCD_{jkl} + ABCD_{ijkl} + E_{bijklr}$$

Y_{ijklr} : مشاهده مربوط به سطح زام فاکتور دما و سطح زام فاکتور سطح متیونین و سطح k ام فاکتور نوع متیونین و سطح l ام فاکتور بتائین در تکرار r ام؛ μ : میانگین مشاهدات، A_i : اثر سطح زام فاکتور دما؛ $E_{a_{ir}}$: اشتباه اصلی در واحد اصلی مربوط به سطح زام فاکتور دما در تکرار r ام؛ B_j : اثر سطح زام فاکتور سطح متیونین؛ C_k : اثر سطح k ام فاکتور نوع متیونین؛ D_l : اثر سطح l ام فاکتور بتائین؛ AB_{ij} : برهم کنش سطح زام فاکتور دما و سطح زام فاکتور سطح متیونین؛ AC_{ik} : برهم کنش سطح زام فاکتور دما و سطح k ام فاکتور نوع متیونین؛ AD_{il} : برهم کنش سطح زام فاکتور دما و سطح l ام فاکتور

جدول ۲- تأثیر سطوح متیونین و جایگزینی بتائین بر عملکرد رشد، تلفات (%) و شاخص کارایی تولید جوجه‌های گوشتی در شرایط دمایی متداول و تنش گرمایی در سن ۴۲ روزگی^۱

Table 2- Effects of methionine levels and betaine replacement on growth performance, mortality (%) and production efficiency factor of broilers in normal and heat stress conditions at 42 day of age¹

متغیر Item	مصرف خوراک (گرم/پرند/روز) Feed intake (g/bird/d)	افزایش وزن (گرم/پرند/روز) Weight gain (g/bird/d)	ضریب تبدیل خوراک (گرم:گرم) Feed conversion ratio (g : g)	شاخص کارایی تولید Production efficiency factor	تلفات (%) Mortality (%)
دما Temp					
تنش گرمایی Heat stress	95.12 ^b	52.76 ^b	1.811	316.4	7.166 ^a
متداول Normal	98.04 ^a	56.20 ^a	1.752	365.9	2.666 ^b
SEM ^۲	0.5915	0.274	0.007	4.212	1.142
دی ال- DL-Met	96.49	54.14	1.790	239.5	5.166
ال-متیونین L-Met	96.66	54.82	1.772	342.8	4.663
SEM	0.8134	0.509	0.011	4.863	0.819
-30%	97.14 ^a	49.42 ^b	1.987	275.0	5.750
توصیه شده recommended	98.86 ^a	57.39 ^a	1.703	371.3	4.250
+30%	93.73 ^b	56.62 ^a	1.655	377.1	4.750
SEM	0.990	0.612	0.016	5.956	1.003
دارای بتائین +betaine	96.54	54.78	1.770	343.7	4.666
فاقد بتائین - betaine	96.61	54.18	1.797	338.6	5.166
SEM	0.814	0.505	0.016	4.861	0.819
Source of variation	P-value				
دما Temp	0.025	0.008	0.003	0.001	0.049
منبع متیونین Met source	0.878	0.344	0.102	0.641	0.667
سطح متیونین Met level	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	0.562
بتائین Betaine	0.955	0.403	0.219	0.465	0.667
منبع متیونین × دما Temp × Met source	0.837	0.532	0.189	0.291	0.667
سطح متیونین × دما Temp × Met level	0.945	0.745	0.812	0.439	0.780
بتائین × دما Temp × Betaine	0.965	0.821	0.634	0.356	0.885
بتائین × سطح متیونین × دما Temp × Met source × Met level × Betaine	0.979	0.999	0.945	0.950	0.920
سطح متیونین × سطح متیونین × دما Temp × Met source × Met level	0.933	0.992	0.767	0.888	1.000
بتائین × سطح متیونین × دما Temp × Met level × Betaine	0.994	0.984	0.882	0.733	0.920
بتائین × سطح متیونین × دما Temp × Met source × Betaine	0.986	0.797	0.729	0.923	0.885
سطح متیونین × منبع متیونین Met source × Met level	0.999	0.337	0.030	0.033	0.374
بتائین × سطح متیونین Met level × Betaine	0.987	0.942	0.867	0.262	0.780
بتائین × سطح متیونین × منبع متیونین Met source × Met level × Betaine	0.999	0.916	0.872	0.664	0.780
بتائین × منبع متیونین Met source × Betaine	0.989	0.953	0.879	0.555	0.667

هر چهار فاکتور دارای ۵ تکرار و ۱۰ قطعه پرند در هر تکرار بود. ^۱ سطوح متیونین به صورت: ۳۰٪ = سطح دی ال یا ال-متیونین ۳۰ درصد کمتر از احتیاجات، توصیه شده = دی ال و یا ال-متیونین در سطح احتیاجات، ۴۰٪ = سطح دی ال و یا ال-متیونین ۴۰ درصد بیشتر از احتیاجات. ^۲ در جیره‌های دارای بتائین، بتائین جایگزین ۳۰ درصد از دی ال و یا ال-متیونین مصنوعی در هر جیره شد. ^۳ در هر ستون حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

^۱ Each four-factor combinations had 5 replicate pens of 10 birds each (r=5). ^۲ -30%= DL- or L-Met was 30% lower than recommendation, recommende = DL- or L-Met was recommendation levels, +30%= DL- or L-Met was 30% higher than recommendation levels. ^۳ In diet containing betaine, betaine was replaced with 30% of supplemental DL - or L-methionine. ^{a-c} Means without common superscript within a column was significantly different (p<0.05).

متیونین ۷۵ درصد کمتر از احتیاجات) با سطوح ۰/۰۵، ۰/۱ یا ۰/۱۵ درصد متیونین یا بتائین (در سطحی برابر) مکمل سازی شد پاسخ به بتائین بیشتر از متیونین بود، در حالی که ما از افزودن بتائین در سطح برابر با متیونین پاسخ های مشابه و غیر معنی داری را مشاهده نمودیم. بتائین به دلیل خاصیت اسمولیتی می تواند ساختار و عملکرد روده و به دنبال آن عملکرد رشدی را بهبود بخشد. بنابراین به نظر می رسد که بتائین و متیونین می توانند در کمبودهای کم متیونین منجر به یک پاسخ رشدی برابر در جوجه های گوشتی شوند.

تغذیه جیره های دارای کمبود متیونین به پرندگان باعث افزایش فعالیت بتائین-هموسیستئین-متیل ترانسفراز می شود که به طور ویژه ای انتقال گروه های متیل ناپایدار تشکیل شده را از بتائین به هموسیستئین تسریع می کند که در نتیجه به طور برگشتناپذیری به سیستئین جهت ساخت پروتئین تبدیل می شود و یا اینکه از طریق ری متیلاسیون توسط دیگر منابع دهنده متیل به متیونین تبدیل می شود که این افزایش فعالیت بتائین-هموسیستئین-متیل ترانسفراز با افزودن بتائین نیز حاصل می شود (۱۳). بنابراین یکسان بودن عملکرد رشدی جوجه های تغذیه شده با جیره حاوی بتائین در این مطالعه می تواند به دلیل همزمان شدن کمبود متیونین با افزودن بتائین باشد. نتایج تحقیقات پستی و همکاران (۳۶) و ژان و همکاران (۶۰) نیز نشان داد که در جیره های ذرت-سویا حدود ۲۵ درصد از احتیاجات متیونین جیره می تواند با بتائین جایگزین شود. از طرفی برخی از مطالعات نشان دادند که بتائین نمی تواند جایگزین متیونین در جیره های دارای کمبود متیونین شود (۱۵). در مطالعه انجام شده توسط میاحی و معتمد (۲۹) افزودن ۱ و ۲ کیلوگرم در تن بتائین بر جیره پایه تأثیری بر عملکرد جوجه های گوشتی در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی نداشت. رحیمی و همکاران (۳۹) تأثیر بتائین را بر میزان دفع اوسیت در بیماری کوکسیدیوز و عملکرد جوجه های گوشتی مورد بررسی قرار دادند. نتایج بررسی آنها نشان داد که افزودن بتائین به میزان ۰/۱۵ درصد بر افزایش وزن بدن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک اثری ندارد. مدیر صانعی و همکاران (۳۲) تأثیر بتائین بر میزان کارایی سالیونامیسین در جوجه های گوشتی مبتلا به عفونت کوکسیدیای تجربی را مورد مطالعه قرار دادند و مشاهده کردند که بتائین همراه با سالیونامیسین در جیره سبب بهبود عملکرد جوجه های گوشتی مبتلا به کوکسیدیوز می شود ولی بر خوراک مصرفی تأثیر ندارد. ثعلبی و همکاران (۴۵) اثر جایگزینی سطوح ۰، ۱۳ و ۲۶ درصد بتائین را با متیونین در دو شرایط دمایی متداول و تنش گرمایی مورد بررسی قرار دادند که تیمار تغذیه شده با سطح ۱۳ درصد جایگزینی در دمای متداول بهترین مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک را نسبت به گروه شاهد نشان داد. گزارش شده است که بتائین

تأثیر متیونین و بتائین بر درصد وزنی بخش های مختلف لاشه و وزن نسبی اندام های گوارشی جوجه های گوشتی در شرایط دمایی متداول و تنش گرمایی و همچنین اثرات متقابل آنها در جدول ۴ تا ۶ گزارش شده است. جوجه های تغذیه شده با جیره های دارای کمترین سطح متیونین وزن لاشه کمتری نسبت به جوجه های تغذیه شده با بالاترین سطح متیونین داشتند ($P < 0.05$) که اختلاف آنها با جوجه های تغذیه شده با سطح احتیاجات متیونین معنی دار نبود ($P > 0.05$). همچنین جیره دارای کمترین سطح متیونین وزن ران کمتری نسبت به دو سطح دیگر متیونین داشتند ($P < 0.05$). منبع متیونین و سطح بتائین اثر معنی داری بر هیچ یک از بخش ها نداشت ($P > 0.05$). تنش گرمایی باعث کاهش وزن لاشه و ران جوجه های گوشتی در مقایسه با دمای نرمال شد. اثر متقابل دما و سطح متیونین برای درصد وزن سینه معنی دار بود ($P < 0.05$)؛ به طوری که پرندگان تغذیه شده با بالاترین سطح متیونین در شرایط دمایی نرمال وزن سینه بالاتری نسبت به هم تای خود در شرایط تنش گرمایی داشتند. درصد چربی شکمی در سطح احتیاجات و کمتر از احتیاجات متیونین به ترتیب کمترین (۱/۲۱۶) و بیشترین (۱/۵۲۰) مقدار را داشت ($P < 0.05$). تنش گرمایی نیز باعث افزایش معنی دار درصد چربی شکمی شد ($P < 0.05$).

متیونین ارتباط مستقیمی با بهبود عملکرد در پرندگان دارد که می تواند به دلیل اثر متیونین در تحریک فاکتورهای رشدی و ساخت و شکستن پروتئین ها باشد (۱۲). زمانی که غلظت مواد مغذی در جیره افزایش می یابد، پرندگان خوراک مصرفی خود را جهت دریافت مقدار کافی مواد مغذی کاهش می دهند (۷). در پژوهش حاضر نیز با افزایش سطح متیونین جیره میزان خوراک مصرفی کاهش یافت. نتایج ما در مورد افزایش وزن و خوراک مصرفی با نتایج تعدادی از محققین همخوانی داشت (۱۱، ۱۲، ۲۲). برخی از محققین بر این باورند که سطوح اسید آمینه توصیه شده توسط NRC (۳۴) برای حداکثر عملکرد رشدی پرنده کافی نمی باشد (۳۱، ۴۹). در این مطالعه با افزودن سطح متیونین از ۱۰۰ به ۱۳۰ درصد احتیاجات مصرف خوراک کاهش و ضریب تبدیل بهبود یافت که با نتایج پیشین همخوانی داشت.

جایگزینی بتائین با ۳۰ درصد از متیونین مصنوعی جیره تفاوت معنی داری را در هیچ یک از پارامترهای عملکردی نشان نداد. بنابراین می توان چنین گفت که بتائین می تواند با جایگزین شدن مقداری از متیونین جیره عملکردی مشابه با متیونین داشته باشد. توانایی بتائین برای جایگزین شدن با بخشی از متیونین جیره جوجه های گوشتی موضوعی بحث برانگیز است و در این زمینه نظرات مختلفی وجود دارد. ویرتاتن و روسی (۵۶) گزارش کردند که جیره پایه (سطح

رشد خوک‌ها را با افزایش ساخت هورمون رشد افزایش می‌دهد (۴۳). در مجموع، این نتایج نشان می‌دهد که تأثیر مکمل‌سازی بتائین بر عملکرد پرند ممکن است بستگی به ترکیب جیره، سطح متیونین جیره و مقدار بتائین مکمل شده و عوامل مدیریتی پرورش داشته باشد.

یکی از اهداف مطالعه حاضر، مقایسه پاسخ عملکردی پرندگان به نوع متیونین جیره بود. تفاوت معنی‌داری بین دو منبع دی و ال-متیونین مشاهده نشد اما بین منبع متیونین و سطح متیونین اثر متقابل معنی‌داری برای ضریب تبدیل خوراک وجود داشت (جدول ۳)، به گونه‌ای که پرندگان تغذیه شده با جیره دارای سطح پایین متیونین و حاوی ال-متیونین ضریب تبدیل پایین‌تری (۱/۹۴) نسبت به پرندگان تغذیه شده با جیره حاوی دی ال-متیونین (۲/۰۲) در همان سطح نشان دادند. بسیاری از محققین بازدهی یکسانی را بین ال-متیونین و

دی ال-متیونین گزارش کردند (۱۴). اما گزارشاتی هم وجود دارد که بیان می‌کند ال-متیونین بهره‌وری بالاتری نسبت به دی ال-متیونین دارد (۵۱، ۵۲). طبق نتایج تحقیقات شن و همکاران (۵۲) پرندگان به ۱۳۸ و ۱۴۱ واحد از دی ال-متیونین برای رسیدن به افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک که با ۱۰۰ واحد ال-متیونین حاصل می‌شود نیاز دارند. بنابراین ال-متیونین نسبت به دی ال-متیونین توسط پرندگان به صورت مؤثرتری مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ زیرا اسید آمینه دی ال-متیونین در بدن باید به ال-متیونین تبدیل شود. بهره‌وری متفاوت از ایزومرهای متیونین در بین مطالعات می‌تواند به دلیل تفاوت در سن پرندگان مورد مطالعه باشد (۸)، زیرا تحقیقات نشان داده‌اند که بیان دی‌آمینو اسید اکسیدازها در پرندگان جوان بسیار کمتر است (۹). اکثر این تحقیقات در سن ۸ تا ۲۰ روزگی و بیشتر انجام شده است در حالی که در مطالعه حاضر جیره‌های آزمایشی از روز اول اعمال شد.

جدول ۳- اثر متقابل منبع متیونین و سطح متیونین بر ضریب تبدیل خوراک و شاخص کارایی تولید در شرایط دمایی متداول و تنش گرمایی در سن ۴۲ روزگی^۱

Table 3- Interaction effect of Met source and Met level on feed conversion ratio and production efficiency factor in broilers fed diet containing methionine and betaine in normal and heat stress conditions at 42 day of age¹

منبع متیونین Met source	سطح متیونین ^۲ Met level	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio (g : g)	شاخص کارایی تولید Production efficiency factor
دی ال-متیونین DL-Met	-30%	2.02 ^a	267.3 ^c
	توصیه شده	1.71 ^c	363.0 ^b
	recommended		
ال-متیونین L-Met	+30%	1.65 ^d	388.4 ^a
	-30%	1.94 ^b	282.8 ^c
	توصیه شده	1.70 ^c	379.7 ^{ab}
	recommended		
	+30%	1.66 ^{cd}	365.8 ^{ab}
SEM		0.016	8.423
P-value		0.030	0.0331

^۱ هر چهار فاکتور دارای ۵ تکرار و ۱۰ قطعه پرند در هر تکرار بود. ^۲ سطوح متیونین به صورت: -۳۰٪ = سطح دی ال یا ال-متیونین ۳۰ درصد کمتر از احتیاجات، توصیه شده = دی ال و یا ال-متیونین در سطح احتیاجات، +۳۰٪ = سطح دی ال و یا ال-متیونین ۳۰ درصد بیشتر از احتیاجات. ^{a-c} در هر ستون حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها بود.

¹Each four-factor combinations had 5 replicate pens of 10 birds each (r=5). ²-30%= DL- or L-Met was 30% lower than recommendation, recommended = DL- or L-Met was recommendation levels, +30%= DL- or L-Met was 30% higher than recommendation levels. ^{a-c} Means without common superscript within a column was significantly different (p<0.05).

شده در بدن پرند قابل توضیح است (۵۸). بنابراین مکانیسم‌های کیفیتی و محیطی مانند کاهش مصرف خوراک و افزایش مصرف آب

تنش گرمایی بار متابولیکی را در حیوان و انسان ایجاد می‌کند و آسبایی که بر عملکرد پرند وارد می‌کند با تغییرات فیزیولوژیکی ایجاد

جایگزین مؤثری برای دی ال-متیونین باشد که با نتایج ما همخوانی نداشت. در مطالعه ثعلبی و همکاران (۴۵) گروه دریافت‌کننده ۱۳ درصد جایگزینی با بتائین و گروه شاهد بیشترین درصد وزنی گوشت سینه را داشتند و اثر بتائین بر درصد گوشت سینه در تیمارهای تحت تنش گرمایی بیش از تیمارهای قاعد تنش گرمایی بود. محققین دیگر گزارش کردند که بتائین در تولید گوشت سینه نسبت به متیونین مؤثرتر عمل می‌کند (۵۶).

تحقیقات نشان داده است که بتائین همانند متیونین می‌تواند باعث افزایش درصد گوشت سینه و کاهش چربی شکمی در پرندگان شود. این محققین بیان کردند که بتائین در جیره‌های دارای کمبود متیونین با کنترل مقدار بتائین-هموسیستین-متیل ترانسفراز می‌تواند جایگزین متیونین شود. بنابراین مکمل‌سازی جیره با بتائین می‌تواند وزن لاشه و بخش‌های مختلف آن را تحت تأثیر قرار دهد که به دلیل خاصیت متیل‌دهندگی بتائین در افزایش متیونین، سیستمین و گلايسين برای ساخت پروتئين می‌باشد (۱، ۶۱). در مطالعه حاضر افزایش سطح متیونین جیره تا سطح احتیاجات کاهش معنی‌داری را در مقدار چربی شکمی ایجاد کرد و با افزایش سطح متیونین به بیش از سطح احتیاجات میزان چربی شکمی نسبت به جیره دارای سطح استاندارد متیونین افزایش معنی‌داری را نشان داد. در مورد چربی شکمی نیز می‌توان به تأثیر مثبت بتائین در این تحقیق اشاره کرد. بتائین جیره اثرات مثبتی را بر خصوصیات لاشه خوک‌ها از طریق کاهش میزان چربی لاشه و ضخامت چربی پشت اعمال می‌کند بدون اینکه تأثیری بر عملکرد خوک‌ها داشته باشد (۴۶). بهبود در میزان چربی لاشه ممکن است به دلیل دسترسی بیشتر متیونین و سیستمین برای رسوب پروتئین باشد؛ زیرا افزایش فراهمی اسیدهای آمینه جیره برای ساخت پروتئین منجر به کاهش فراهمی اسیدهای آمینه جهت دامیناسیون و نهایتاً ساخت بافت چربی می‌شود (۱۹). بر این اساس تغییرات در سطح هورمون‌ها و فاکتورهای درگیر در رشد و تنظیم ساخت و تجزیه چربی، همچنین فعالیت کمتر آنزیم‌های لیپوژنیک در جیره‌های مکمل شده با بتائین مشاهده شده است. نقش دیگر بتائین در متابولیسم چربی، افزایش ساخت ترکیبات متیله شده در کبد و کلیه مانند کارنیتین و کراتین می‌باشد. افزایش در غلظت کارنیتین در کبد می‌تواند اکسیداسیون اسیدهای چرب را تسهیل کند و قابلیت دسترسی اسیدهای چرب بلند زنجیر را برای ذخیره شدن در بافت چربی کاهش دهد (۲۰).

در درجه اول جهت تقلیل سرعت متابولیسم و افزایش اتلاف حرارتی بدن مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳۳). در مطالعه حاضر پرندگان پرورش یافته در شرایط تنش گرمایی مصرف خوراک کمتری را نسبت به همتای خود در شرایط بدون تنش گرمایی داشتند. تحقیقات نشان داده است که تنش گرمایی مزمن باعث کاهش مصرف خوراک (۱۶/۴ درصد)، کاهش وزن بدن (۳۲/۶ درصد) و افزایش ضریب تبدیل غذایی (۲۵/۶ درصد) در سن ۴۲ روزگی می‌شود (۵۴). نتایج ما با نتایج محقق دیگر (۵، ۱۰) که بیان کردند عملکرد پرند با قرار گرفتن در معرض تنش گرمایی در مقایسه با تیمار کنترل کاهش می‌یابد مطابقت دارد. تنش گرمایی باعث مختل شدن تعادل باکتری‌های روده شده و از این روی باعث کاهش قابلیت هضم و جذب مواد مغذی می‌شود (۱۹). همچنین گزارش شده است که کاهش وزن بدن احتمالاً به دلیل آزاد شدن هورمون‌هایی مانند هورمون تحریک‌کننده تیروئید می‌باشد که با افزایش سرعت متابولیسم پایه منجر به کاهش وزن بدن می‌شود (۱۷). شاخص کارایی تولید بیانگر عملکرد تولیدی طیور می‌باشد زیرا بازتابی از میانگین وزن زنده، ضریب تبدیل خوراک و بقای گله است. بنابراین طیوری که عملکرد بهتری داشته باشند شاخص کارایی تولید بالاتری نیز خواهند داشت. از آنجایی که کمترین سطح متیونین و همچنین اعمال تنش گرمایی اثر منفی بر عملکرد پرندگان داشت انتظار می‌رود که پرندگان تغذیه شده با جیره دارای سطح پایین متیونین و پرندگان پرورش یافته در شرایط تنش گرمایی شاخص کارایی تولید کمتری را به خود اختصاص دهند.

در مطالعه حاضر، با افزایش سطح متیونین جیره پایه به سطح احتیاجات و ۳۰ درصد بیشتر از احتیاجات درصد وزن لاشه، سینه و ران بهبود یافت. نقش تنظیمی متیونین بر عملکرد و تولید گوشت سینه در جوجه‌های گوشتی در چندین مطالعه نشان داده شده است (۶). در یک گزارش تولید گوشت سینه در پرندگان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵۱ درصد متیونین در سن ۴۲ روزگی بیشتر از پرندگان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۴۱ درصد متیونین در سن ۲۲ تا ۴۲ روزگی بود که این امر ممکن است به دلیل رسوب بیشتر پروتئین در ماهیچه سینه باشد (۵۹).

در این پژوهش، همانند شاخص‌های عملکردی، جایگزین کردن بتائین با ۳۰ درصد متیونین جیره پاسخ‌های مشابه با متیونین نشان داد. مک دویت و همکاران (۳۰) بیان کردند که بتائین ممکن است برخی اثرات مفید را بر تولید گوشت سینه داشته باشد اما نمی‌تواند

جدول ۴- تأثیر سطح و منبع متیونین و جایگزینی بتائین بر درصد وزن لاشه (نسبت به وزن زنده) و سینه و ران (نسبت به وزن لاشه) جوجه‌های گوشتی در شرایط دمایی متداول و تنش گرمایی در سن ۴۲ روزگی^۱

Table 4- Effects of methionine (Met) levels and sources and betaine replacement on carcass yield (Percentage of live weight) and breast yield and thighs (Percentage of carcass weight) of broilers in normal and heat stress conditions at 42 day of age¹

متغیر Item	لاشه ^۲ Carcass	سینه Breast	ران‌ها Thighs
دما Temp	67.31 ^b	26.77	22.31 ^b
تنش گرمایی Heat stress	69.23 ^a	28.02	24.81 ^a
متداول Normal	0.389	0.164	0.439
SEM ^۳	68.13	27.23	23.72
منبع متیونین Met source			
دی ال-متیونین DL-Met	68.41	27.56	22.40
ال-متیونین L-Met	0.383	0.282	0.264
SEM	67.22 ^b	25.99	22.52 ^b
	68.48 ^{ab}	27.90	23.99 ^a
	69.17 ^a	28.30	۲۴.۱۷ ^a
سطح متیونین ^۴ Met level	0.470	0.346	0.323
بتائین ^۴ betaine	68.31	27.47	23.73
دارای بتائین + betaine	68.23	27.32	23.39
فاقد بتائین - betaine	0.383	0.282	0.264
SEM			
Source of variation	P-value		
دما Temp	0.024	0.005	0.015
منبع متیونین Met source	0.602	0.421	0.405
سطح متیونین Met level	0.017	<0.001	<0.001
بتائین Betaine	0.875	0.709	0.368
منبع متیونین × دما Temp × Met source	0.355	0.846	0.885
سطح متیونین × دما Temp × Met level	0.455	0.031	0.357
بتائین × دما Temp × Betaine	0.781	0.846	0.636
بتائین × سطح متیونین × دما Temp × Met source × Met level × Betaine	0.815	0.404	0.818
سطح متیونین × دما Temp × Met source × Met level	0.653	0.800	0.756
بتائین × سطح متیونین × دما Temp × Met level × Betaine	0.442	0.857	0.983
بتائین × منبع متیونین × دما Temp × Met source × Betaine	0.257	0.434	0.501
سطح متیونین × منبع متیونین Met source × Met level	0.493	0.928	0.956
بتائین × سطح متیونین Met level × Betaine	0.641	0.422	0.976
بتائین × سطح متیونین × منبع متیونین Met source × Met level × Betaine	0.798	0.924	0.922
بتائین × منبع متیونین Met source × Betaine	0.470	0.470	0.617

^۱ هر چهار فاکتور دارای ۵ تکرار و ۱۰ پرنده در هر تکرار بود. ^۲ لاشه پوست کنده شده. ^۳ سطوح متیونین به صورت: ۳۰٪ = سطح دی ال یا ال-متیونین ۳۰ درصد کمتر از احتیاجات، توصیه شده = دی ال و یا ال-متیونین در سطح احتیاجات، ۳۰٪ = سطح دی ال و یا ال-متیونین ۳۰ درصد بیشتر از احتیاجات. ^۴ در جیره‌های دارای بتائین، بتائین جایگزین ۳۰ درصد از دی ال و یا ال-متیونین مصنوعی در هر جیره شد. ^{a-c} در هر ستون حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها بود.

^۱ Each four-factor combinations had 5 replicate pens of 10 birds each (n=5). ^۲ carcass without feathers and skin ^۳ 30% = DL- or L-Met was 30% lower than recommendation, recommended = DL- or L-Met was recommendation levels, +30% = DL- or L-Met was 30% higher than recommendation levels. ^۴ In diet containing betaine, betaine was replaced with 30% of supplemental DL - or L-methionine. ^{a-c} Means without common superscript within a column was significantly different (p<0.05).

جدول ۵- اثر متقابل دما و سطح متیونین بر درصد وزن سینه (درصدی از وزن لاشه) جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره دارای سطوح مختلف متیونین در شرایط دمایی متداول و تنش گرمایی در ۴۲ روزگی^۱

Table 5- Interaction effect of temperature and Met level on breast yield (Percentage of carcass weight) in broilers fed diet containing different levels of methionine in normal and heat stress conditions at 42 day of age¹

متغیر Item	سطح متیونین *Met level	سینه Breast
	-30%	25.95 ^c
تنش گرمایی Heat stress	توصیه شده recommended	27.40 ^{bc}
	+30%	26.97 ^{bc}
	-30%	26.02 ^c
متداول Normal	توصیه شده recommended	28.41 ^{ab}
	+30%	29.63 ^a
SEM		0.490
P-value		0.031

^۱ هر چهار فاکتور دارای ۵ تکرار و ۱۰ پرند در هر تکرار بود. ^۲ سطوح متیونین به صورت: ۳۰٪- = سطح دی ال یا ال-متیونین ۳۰ درصد کمتر از احتیاجات، توصیه شده = دی ال و یا ال-متیونین در سطح احتیاجات، ۳۰٪+ = سطح دی ال و یا ال-متیونین ۳۰ درصد بیشتر از احتیاجات. ^{a-c} در هر ستون حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

¹Each four-factor combinations had 5 replicate pens of 10 birds each (r=5). ²-30%= DL- or L-Met was 30% lower than recommendation, recommende = DL- or L-Met was recommendation levels, +30%= DL- or L-Met was 30% higher than recommendation levels. ^{a-c} Means without common superscript within a column was significantly different (p<0.05).

انرژی برای ساخت پروتئین و چربی دارد. معمولاً، بازده انرژی برای رسوب پروتئین بسیار کمتر از چربی است (۶۱). بنابراین، زمانی که انرژی قابل متابولیسم به بیش از انرژی نگهداری می‌رسد تنش گرمایی باعث افزایش در ساخت چربی می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که تنش گرمایی باعث کاهش عملکرد پرند می‌شود و جایگزین کردن بتائین با ۳۰ درصد متیونین مصنوعی جیره پاسخ مشابهی را در عملکرد پرندگان دارد و استفاده از متیونین در سطح کمتر از حد توصیه شده باعث کاهش عملکرد شده و افزودن سطح متیونین از ۱۰۰ به ۱۳۰ درصد احتیاجات، مصرف خوراک را کاهش و ضریب تبدیل خوراک را بهبود می‌بخشد. همچنین ال-متیونین در بهبود ضریب تبدیل خوراک نسبت به دی ال-متیونین مؤثرتر بود.

با توجه به نتایج جدول ۴ تا ۶ تنش گرمایی اثر منفی بر وزن لاشه و بخش‌های مختلف آن و همچنین میزان چربی شکمی داشته است. ژانگ و همکاران (۶۱) گزارش کردند که تنش گرمایی مزمن باعث کاهش نسبت ماهیچه سینه در جوجه‌های گوشتی شد در حالی که نسبت ماهیچه ران را افزایش داد. در مطالعه ساهین و سیرانی (۴۴)، که اثر سطوح افزایشی متیونین (۰/۰۲۵ و ۰/۰۵ درصد) را در دو شرایط دمایی متفاوت (۳۰ و ۲۱ درجه سانتی‌گراد) با دو روش خوراکی و آشامیدنی مورد بررسی قرار دادند، دمای بالا باعث کاهش معنی‌دار وزن لاشه، ران‌ها و سینه شد. کاهش وزن لاشه می‌تواند به دلیل دریافت ناکافی انرژی و مواد مغذی، کاهش ساخت و ذخیره گلیکوژن (به‌عنوان مهمترین منبع انرژی) باشد (۱۸). افزایش چربی شکمی در پرندگان پرورش یافته در شرایط تنش گرمایی (جدول ۶) را می‌توان چنین توضیح داد که در دمای بالای محیطی، بازده استفاده از انرژی قابل متابولیسم برای نگهداری و تولید ۱۰۰ درصد نیست و استفاده از انرژی قابل متابولیسم بالاتر از نگهداری بستگی به تقسیم شدن

جدول ۶- تأثیر سطوح متیونین و جایگزینی بتائین بر درصد وزن نسبی اندام‌های گوارشی (درصدی از وزن زنده) جوجه‌های گوشتی در شرایط دمایی متداول و تنش گرمایی در سن ۴۲ روزگی^۱

Table 6- Effects of methionine levels and betaine replacement on relative weight of digestive organs of broilers (Percentage of live weight) in normal and heat stress conditions at 42 day of age¹

متغیر Item	قلب Heart	کبد Liver	طحال Spleen	پانکراس Pancrease	بورس فابریسیوس Bursa of fabricius	چربی شکمی Abdominal fat
دما Temp	0.515	2.092	0.116	0.202	0.147	1.434 ^a
تنش گرمایی Heat stress	0.513	2.031	0.119	0.194	0.152	1.330 ^b
متداول Normal	0.011	0.023	0.003	0.010	0.001	0.016
SEM ^۲	0.533	2.111	0.116	0.200	0.151	1.387
دی ال-متیونین DL-Met	0.496	2.012	0.117	0.196	0.148	1.377
ال-متیونین L-Met	0.018	0.061	0.003	0.009	0.002	0.015
SEM	0.531	2.191	0.113	0.197	0.145	1.520 ^a
-30% توصیه شده recommended	0.501	1.961	0.115	0.200	0.154	1.216 ^c
+30%	0.510	2.033	0.120	0.190	0.150	1.410 ^b
SEM	0.022	0.075	0.004	0.011	0.003	0.019
دارای بتائین +Betaine	0.534	2.110	0.116	0.188	0.149	1.373
فاقد بتائین -Betaine	0.494	2.013	0.114	0.178	0.150	1.391
SEM	0.010	0.061	0.003	0.009	0.002	0.015
Source of variation	P-value					
دما Temp	0.903	0.133	0.844	0.605	0.110	0.011
منبع متیونین Met source	0.167	0.254	0.925	0.801	0.500	0.672
سطح متیونین Met level	0.638	0.092	0.509	0.983	0.184	<0.001
بتائین Betaine	0.132	0.270	0.982	0.966	0.905	0.398
منبع متیونین × دما Temp × Met source	0.440	0.870	0.534	0.718	0.552	0.459
سطح متیونین × دما Temp × Met level	0.512	0.819	0.605	0.904	0.749	0.355
بتائین × دما Temp × Betaine	0.397	0.746	0.664	0.979	0.781	0.516
بتائین × سطح متیونین × دما Temp × Met source × Met level × Betaine	0.251	0.810	0.988	0.998	0.831	0.829
سطح متیونین × منبع متیونین × دما Temp × Met source × Met level	0.382	0.702	0.910	0.993	0.839	0.841
بتائین × سطح متیونین × دما Temp × Met level × Betaine	0.898	0.912	0.360	0.963	0.890	0.724
بتائین × منبع متیونین × دما Temp × Met source × Betaine	0.502	0.903	0.930	0.872	0.552	0.246
سطح متیونین × منبع متیونین Met source × Met level	0.513	0.816	0.899	0.986	0.970	0.651
بتائین × سطح متیونین Met level × Betaine	0.247	0.344	0.734	0.918	0.815	0.630
بتائین × منبع متیونین × سطح متیونین Met source × Met level × Betaine	0.922	0.320	0.947	0.951	0.499	0.366
بتائین × منبع متیونین Met source × Betaine	0.796	0.541	0.604	0.911	0.405	0.349

^۱ هر چهار فاکتور دارای ۵ تکرار و ۱۰ پرند در هر تکرار بود. ^۲ سطوح متیونین به صورت ۳۰٪ = سطح دی ال یا ال-متیونین ۳۰ درصد کمتر از احتیاجات، توصیه شده = دی ال و یا ال-متیونین در سطح احتیاجات، ۳۰٪ = سطح دی ال و یا ال-متیونین ۳۰ درصد بیشتر از احتیاجات. ^۳ در جیره‌های دارای بتائین، بتائین جایگزین ۳۰ درصد از دی ال و یا ال-متیونین مصنوعی در هر جیره شد. ^{a-c} در هر ستون حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

¹Each four-factor combinations had 5 replicate pens of 10 birds each (r=5). ²-30%= DL- or L-Met was 30% lower than recommendation, ³recommende = DL- or L-Met was recommendation levels, +30%= DL- or L-Met was 30% higher than recommendation levels. ^{a-c} Means without common superscript within a column was significantly different (p<0.05).

منابع

- Alirezaei, M., H. R. Gheisari, V. R. Ranjbar, and A. Hajibemani. 2012. Betaine: a promising antioxidant agent for enhancement of broiler meat quality. *British Poultry Science*, 53: 699-707.
- Alipanah, A., M. Daneshyar, and P. Farhoomand. 2018. Effects of different dietary levels of betaine and Lysine on meat and bone characteristics of broiler chickens under cold induced ascites. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 1 (1).
- Aviagen. 2014. Nutrition Specifications Manual: Ross 308. Aviagen Ltd., Scotland, UK. 3
- Baker, D. H. 2006. Comparative species utilization and toxicity of sulfur amino acids. *Journal of Nutrition*, 136:1670S-1675S.
- Bartlett, J. R., and M. O. Smith. 2003. Effects of different levels of zinc on the performance and immune competence of broilers under heat stress. *Poultry Science*, 82:1580-1588.
- Bouyeh, M., and O. K. Gevorgyan. 2011. Influence of excess lysine and methionine on cholesterol, fat and performance of broiler chicks. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10:1546-1550.
- Bowmaker, J. E., and R. M. Gous. 1991. The response of broiler breeder hens to dietary lysine and methionine. *British Poultry Science*, 32:1069-1088.
- Cho, E. S., D. W. Andersen, Jr. L. J. Filer, and L. D. Stegink. 1980. D methionine utilization in young miniature pigs, adult rabbits, and adult dogs. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 4:544-547.
- D'Aniello, A., G. D'Onofrio, M. Pischetola, G. D'Aniello, A. Vetere, L. Petrucelli, and G. H. Fisher. 1993. Biological role of d-amino acid oxidase and d-aspartate oxidase. Effects of d-amino acids. *Journal of Biological Chemistry*, 268:26941-26949.
- Del Vesco, A. P., E. Gasparino, D. O. Grieser, V. Zancanela, F. R. S. Gasparin, J. Constantin, and A. R. Oliveira Neto. 2014. Effects of Met supplementation on the redox state of acute heat stress-exposed quails. *Journal of Animal Science*, 92:806-815.
- Del Vesco, A. P., E. Gasparino, D. O. Grieser, V. Zancanela, M. A. M. Soares, and A. R. Oliveira Neto. 2015. Effects of methionine supplementation on the expression of oxidative stress-related genes in acute heat stress-exposed broilers. *British Journal of Nutrition*, 113, 549-559.
- Del Vesco, A. P., E. Gasparino, R. A. Oliveira Neto, R. Marcelo Rossi, M. Amélia Menck Soares, and S. Caroline Claudinoda Silva. 2013. Effect of Met supplementation on mitochondrial genes expression in the breast muscle and liver of broilers. *Livestock Science*, 151: 284-291.
- Emmert, J. L., T. A. Garrow, and D. H. Baker. 1996. Hepatic betaine-homocysteine methyltransferase activity in the chicken is influenced by dietary intake of sulfur amino acids, choline and betaine. *Journal of Nutrition*, 126: 2050-2058.
- Esteve-Garcia, E., and R. E. Austic. 1993. Intestinal absorption and renal excretion of dietary methionine sources by the growing chicken. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 4:576-587.
- Esteve-Garcia, E., and S. Mack. 2000. The effect of DL-methionine and betaine on growth performance and carcass characteristics of broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 87: 85-93.
- Fu, Q., Z. X. Leng, L. R. Ding, T. Wang, C. Wen, and Y. M. Zhou. 2016. Complete replacement of supplemental dl-methionine by betaine affects meat quality and amino acid contents in broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 212: 63-69.
- Ganesan, B., R. Anandan, and P. Thandayan Lakshmanan. 2011. Studies on the protective effects of betaine against oxidative damage during experimentally induced restraint stress in Wistar albino rats. *Cell Stress and Chaperones*, 16:641-652.
- Geraert, P. A., J. C. F. Padilha, and S. Guillaumin. 1996. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: growth performance, body composition and energy retention. *British Journal of Nutrition*, 75:195-204.
- He, S., S. Zhao, S. Dai, D. Liu, and S. G. Bokhari. 2015. Effects of dietary betaine on growth performance, fat deposition and serum lipids in broilers subjected to chronic heat stress. *Animal Science Journal*, 1-7.
- Huang, Q., Z. Xu, X. Han, and W. Li. 2008. Effect of dietary betaine supplementation on lipogenic enzyme activities and fatty acid synthase mRNA expression in finishing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 140:365-375.
- Jahanian, R., and H. R. Rahmani. 2008. The effect of dietary fat level on the response of broiler chicks to betaine and choline supplements. *International Journal of Biological Sciences*, 8: 362-367.
- Kauomar, N., P. Farhoomand, and S. K. Ebrahimzadeh. 2011. Effects of chromium methionine supplements on the performance and serum metabolites of broiler chickens. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 9: 292-294.
- Kettunen, H., S. Peuranen, and K. Tiihonen. 2001. Betaine aids in the osmotic regulation of duodenal epithelium of broiler chicks, and affects the movement of water across the small intestinal epithelium in vitro. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 129:595-603.

24. Klasing, K., K. Adler., J. Remus, and C. Calvert. 2002. Dietary betaine increases intraepithelial lymphocytes in the duodenum of coccidia-infected chicks and increases functional properties of phagocytes. *Journal of Nutrition*, 132: 2274-2282.
25. Knight, C. D., C. W. Wuelling, C. A. Atwell, and J. J. Dibner. 1994. Effect of intermittent periods of high environmental temperature on broiler performance responses to sources of methionine activity. *Poultry Science*, 73:627-639.
26. Liu, Z., A. Bateman, M. Bryant, A. Abebe, and D. Roland. 2004. Estimation of bioavailability of DL-methionine hydroxy analogue relative to DL-methionine in layers with exponential and slope-ratio model. *Poultry Science*, 83:1580-1586.
27. Lukic, M., Z. Jokic, V. Petricevic, Z. Pavlovski, Z. Skrbic, and L. Stojanovic. 2012. The effect of full substitution of supplemental methionine with betaine in broiler nutrition on production and slaughter results. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 28: 361-368.
28. Marcu, A., I. Vacaru-Opriș, G. Dumitrescu Petculescu, L. Ciochină, A. Marcu, M. Nicula, I. Peț, D. Dronca, B. Kelcirov, and C. Mariș. 2013. The influence of genetics on economic efficiency of broiler chickens growth. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 46:339-346.
29. Mayahi, M., and N. Motamed. 2010. The effect of betaine on broiler performance. *Quarterly Shahid Chamran University Journal of Science*, 27: 119-126. (In Persian).
30. McDevitt, R. M., S. Mack, and I. R. Wallis. 2000. Can betaine partially replace or enhance the effect of methionine by improving broiler growth and carcass characteristics. *British Poultry Science*, 41:473-480.
31. Mendonça, C. X, and L. S. Jensen. 1989. Influence of protein concentration on the sulphur containing amino acid requirement of broiler chickens. *Poultry Science*, 30:889-98.
32. Modirsanei, M., M. M. Kiaei, S. Rahbari, Z. Khaki, S. Nourikhah, and F. Amini. 2004. Effect of betaine on the efficacy of salinimysine in broiler chickens in experimental coccidiosis. *Journal of Veterinary Research*, 4: 305-311. (In Persian).
33. Mujahid, A., Y. Yoshiki, Y. Akiba, and M. Toyomizu. 2005. Super-oxide radical production in chicken skeletal muscle induced by acute heat stress. *Poultry Science*, 84: 307-314.
34. National Research Council .1994. 'Nutrient requirements for poultry.' 9th revised edn. (National Academy Press: Washington, DC).
35. Neto, M. G., G. M. Pesti, and R. I. Bakalli. 2000. Influence of dietary protein level on the broiler chicken's response to methionine and betaine supplements. *Poultry Science*, 79: 1478-1484.
36. Pesti, G. M., A. E. Harper, and M. L. Sunde. 1979. Sulfur amino acid and methyl donor status of corn-soy diets fed to starting broiler chicks and turkey poultry's. *Poultry Science*, 58: 1541-1547.
37. Pillai, P. B., A. C. Fanatico, K. W. Beers, M. E. Blair, and J. L. Emmert. 2006. Homocysteine remethylation in young broilers fed varying levels of methionine, choline, and betaine. *Poultry Science*, 85: 90-95.
38. Rafeeq, M., T. N. Pasha, N. Rashid, B. Hilal, and I. Shahzad. 2011. Effect of supplementation of methionine, betaine and choline on the performance of broiler chicken in early life fed methionine deficient ration. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 21: 778-780.
39. Rahimi, Sh., M. B. Tavakoli, and S. M. M. Kiaei. 2002. The effect of betaine on oocysts shedding in coccidiosis and performance of broilers. *Journal of Veterinary Research*, 58: 49-52. (In Persian).
40. Rao, S. V. R., M. V. L. N. Raju, A. K. Panda, P. S. Ria, and A. G. S. Sunder. 2011. Effect of supplementing betaine on performance, carcass traits and immune responses in broiler chicken fed diets containing different concentrations of methionine. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24: 662-669.
41. Rhoads, R. P., L. H. Baumgard, and J. K. Suagee. 2013. Metabolic priorities during heat stress with an emphasis on skeletal muscle. *Journal of Animal Science*, 91:2492-2503.
42. Ribeiro, A. M. L., A. M. Jr. Penz, and R. G. Teeter. 2001. Effects of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid as DL-methionine on broiler performance and compensatory growth after exposure to two different environmental temperatures. *The Journal Applied Poultry Research*, 10:419-426.
43. Rojas-Cano, M., L. Lara., M. Lachica, J. Aguilera, and I. Fernandez-Figares. 2011. Influence of betaine and conjugated linoleic acid on development of carcass cuts of Iberian pigs growing from 20 to 50kg body weight. *Meat Science*, 88:525-530.
44. Sahin, C., and K. Seyrani. 2014. Possible effects of delivering methionine to broilers in drinking water at constant low and high environmental temperatures. *Italian Journal of Animal Science*, 13:3013.
45. Salabi, F., M. Bujarpur, G. Fayazi, S. Salary, and M. Nazari. 2012. Evaluation of the effect of betaine substitute by methionine on performance, carcass quality and some blood parameters of broiler chickens at normal and heat stress condition. *Iranian Veterinary Journal*, 8: 15-23. (In Persian).
46. Sales, J. 2011. A meta-analysis of the effects of dietary betaine supplementation on finishing performance and carcass characteristics of pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 165: 68-78.
47. SAS Institute Inc. 2004. User'sguide, version 9.1. Cary, NC: SAS Institute Inc.

48. Sayed, M. A. M. and J. Downing. 2011. The effects of water replacement by oral rehydration fluids with or without betaine supplementation on performance, acid-base balance, and water retention of heat-stressed broiler chickens. *Poultry Science*, 90: 157-167.
49. Schutte, J. B., and M. Pack, 1995. Effects of dietary sulphur containing amino acids on performance and breast meat deposition of broiler chicks during the growing and finishing phases. *British Poultry Science*, 36:747-762.
50. Schutte, J. B., J. D. Jong, W. Smink, and M. Pack. 1997. Replacement value of betaine for DL methionine in male broiler chicks. *Poultry Science*, 76: 321-325.
51. Shen, Y. B., A. C. Weaver, and S. W. Kim. 2014. Effect of feed grade l-methionine on growth performance and gut health in nursery pigs compared with conventional dl-methionine. *Journal of Animal Science*, 92:5530-5539.
52. Shen, Y. B., P. Ferket, I. Park, R. D. Malheiros, and S. W. Kim. 2015. Effects of feed grade l-methionine on intestinal redox status, intestinal development, and growth performance of young chickens compared with conventional dl-methionine. *Journal of Animal Science*, 93:2977-2986.
53. Simon, J. 1999. Choline, betaine and methionine interactions in chickens, pigs and fish (including crustaceans). *World's Poultry Science Journal*, 55: 353-374.
54. Sohail, M. U., M. E. Hume, J. A. Byrd, D. J. Nisbet, A. Ijaz, A. Sohail, M. Z. Shabbir, and H. Rehman. 2012. Effect of supplementation of prebiotic mannan-oligosaccharides and probiotic mixture on growth performance of broilers subjected to chronic heat stress. *Poultry Science*, 91: 2235-2240.
55. Tan, G. Y., L. Yang, Y. Q. Fu, J. H. Feng, and M. H. Zhang. 2010 Effects of different acute high ambient temperatures on function of hepatic mitochondrial respiration, antioxidative enzymes, and oxidative injury in broiler chickens. *Poultry Science*, 89:115-22.
56. Virtanen, E., and L. Rosi. 1995. Effects of betaine on methionine requirement of broiler under various environmental conditions. In: *Processing of Australian Poultry Science Symposium*, University of Sydney, Sydney NSW, Australia. 88-92.
57. Waldroup, P. W., M. A. Motl, F. Yan, and C. A. Fritts. 2006. Effects of betaine and choline on response to methionine supplementation to broiler diets formulated to industry standards. *The Journal of Applied Poultry Research*, 15: 58-71.
58. Willemsen, H., Q. Swennen, N. Everaert, P. A. Geraert, Y. Mercier, A. Stinckens, E. Decuyper, and J. Buyse. 2011. Effects of dietary supplementation of methionine and its hydroxyl analog DL-2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid on growth performance, plasma hormone levels, and the redox status of broiler chickens expose to high temperatures. *Poultry Science*, 90: 2311-2320.
59. Zhai, W., L. F. Araujo, S. C. Burgess, A. M. Cooksey, K. Pendarvis, Y. Mercier, and A. Corzo. 2012. Protein expression in pectoral skeletal muscle of chickens as influenced by dietary methionine. *Poultry Science*, 91: 2548-2555.
60. Zhan, X. A., J. X. LI, Z. R. Xuandr, and Q. Zhao. 2006. Effects of methionine and betaine supplementation on growth performance, carcass composition and metabolism of lipids in male broilers. *British Poultry Science*, 47: 576-580.
61. Zhang, Z. Y., G. Q. Jia, J. J. Zuo, Y. Zhang, J. Lei, L. Ren, and D. Y. Feng. 2012. Effects of constant and cyclic heat stress on muscle metabolism and meat quality of broiler breast fillet and thigh meat. *Poultry science*, 91: 2931-2937.



The Effect of Dietary Supplemental Methionine Source and Betaine Replacement on the Growth Performance and Carcass Characteristics of Normal and Heat-Stressed Broiler Chickens

F. Sahebi Ala¹ - A. Hassanabadi^{2*} - A. Golian²

Received: 11-10-2017

Accepted: 10-02-2018

Introduction Heat stress is considered as one of the most important stressors accompanied by economic losses to the poultry industry. It causes reductions in weight gain and a series of metabolic disorders in broiler farms. Methionine is one of the most limiting amino acids, playing a crucial role in body protein synthesis, and therefore it would be beneficial to spare its function as a methyl donor. Broilers can utilize the isomers and analogs of methionine for protein synthesis, because of the unique enzymatic pathways to convert methionine isomers to L-methionine in the liver and kidney. Betaine is a common term for trimethylglycine, a substrate for betaine-homocysteine methyl transferase in the liver and kidney that acts as a methyl donor during methionine synthesis from homocysteine. The present study aimed to evaluate the effects of supplemental methionine sources and betaine replacement on growth performance and carcass characteristics of normal and heat-stressed broiler chickens.

Materials and Methods This experiment was carried out in two adjoining poultry houses (n=1200, Ross 308). The experiment was designed in a 2 (Met sources)×2 (temperature)×3(Met levels)×2 (betaine levels) split-plot form, with two poultry houses (60 pens each) as the main plot and 12 different diets as the subplot, with 5 replicates of 10 birds each. Mash corn-soybean meal basal diets were prepared for starter (1–10 d), grower (11–24 d) and finisher (25–42 d) periods to meet 2014 Ross 308 nutrient recommendations, except for Met. Methionine levels in basal diets were adjusted at 30% lower than recommendation. They were increased to recommendation and/or 30% more than recommendation by supplementing DL-Met and/or L-Met. Betaine was substituted with 30% of supplemental DL-Met and/or L-Met. The betaine levels were calculated according to a molecular weight basis. Betaine contains about 3.75 times the methyl groups compared with Met. The temperature of both houses was set to thermal comfort temperature until 10 d of age. Then, the temperature of one house was gradually decreased by approximately 3°C/week until reached to the basal temperature (23°C) at d 28 and remained constant thereafter. In the other house, the temperature was gradually increased to 32°C between 0800 and 0930 and this high temperature was maintained for 6 h (until 1530). After that, the temperature was gradually decreased to the basal level by 1700. Body weight gain (WG) and feed consumption (FI) were recorded periodically, and feed conversion ratio (FCR) was calculated for each period by dividing feed intake by weight gain taking into account the mortality weights.

Results and Discussion Feed intake in broilers fed diet with 30% higher methionine was significantly lower than the other two groups. Body weight gain was higher in birds fed diets with recommended or 30% higher than recommended methionine compare to those fed diets with 30% less than recommended. It is tendentiously due to the inciting effect of Met on growth by means of growth factors and its influence on protein synthesis and breakdown. FCR in diet of 30% less than recommended methionine and containing L-methionine was significantly improved in comparison to diet containing DL-methionine in the same level. Chicks required 138 or 141 units of DL-methionine to achieve the same daily weight gain and G: F of birds receiving 100 units of L-methionine. Also, a number of studies have shown that the effectiveness of DL-methionine is similar to that of L-methionine in chicks. In this study, replacing of betaine with 30% of supplemental methionine, showed no significant differences on performance parameters, which implies the sparing effect of betaine for methionine. It appears that methionine and betaine supplementation to slightly methionine deficient broiler diets could result in an equivalent growth response and that methionine could be slightly spared by betaine. The production efficiency factor improved by elevated levels of DL-methionine, but no difference was found between highest

1- PhD student, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

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

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

level of methionine and its standard level. Carcass yield, breast yield and thighs yield had significant increase in birds fed diets with recommended or 30% less than recommended methionine. This may be due to increased muscle protein deposition induced by methionine. Birds fed diets with recommended or 30% less than recommended methionine had the lowest and highest percentage of abdominal fat, respectively. The improvement in carcass lean percentage may be attributed to a higher availability of recommended and cystine for protein deposition. This is because an enhanced utilization of dietary amino acids for protein synthesis may result in fewer amino acids available for deamination and eventual synthesis of adipose tissue. In the present study, replacing betaine with 30% methionine showed similar responses to methionine. Changes in hormone levels and growth factors involved in the regulation of fat synthesis and degradation, as well as lower activities of lipogenic enzymes, have been observed following dietary betaine supplementation. Heat stress reduced performance and carcass yield and increased mortality and abdominal fat content. HS disturbs the intestinal flora balance and thereby diminishes nutrient digestibility and absorption.

Conclusion These results indicated that replacing 30% of methionine with betaine resulted same result in broiler performance. The use of methionine below the recommended level, reduces performance in broiler chickens. L-methionine appears to be more effective methionine source in improving the FCR than DL-methionine.

Key words: Betaine, Broiler chicken, Heat Stress, Methionine, Performance

تجزیه و تحلیل پروفایل بیان ایزو فرم‌های ژن‌های مرتبط با باقیمانده خوراک مصرف‌شده

در کبد مرغ بومی اصفهان و مرغ سویه راس با استفاده از داده‌های RNA-Seq

حمیدرضا ایزدینیا^۱ - مجتبی طهمورث پور^{۲*} - محمدرضا بختیاری زاده^۳ - محمدرضا نصیری^۴ - سعید اسماعیل خانیان^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۰۹

چکیده

باقیمانده خوراک مصرف‌شده (RFI) تفاوت بین مقدار واقعی خوراک مصرف شده با مقدار مورد انتظار آن در هر دام می‌باشد. انتخاب برای بهبود بازده خوراک دام از طریق RFI به دلیل استقلال فنوتیپی آن از وزن متابولیکی بدن و افزایش وزن بدن پیشنهاد شده است. جهت کشف ارتباط بین ساختار بیان ژن‌ها و ایزو فرم‌های مرتبط با آن‌ها و همچنین نقش تنظیمی آن‌ها در باقیمانده خوراک مصرف‌شده در مرغ، پروفایل ترانسکرپت‌های کبد در سن ۴۲ روزگی در دو گروه مرغ بومی اصفهان و مرغ راس مورد بررسی قرار گرفت. باقیمانده خوراک مصرف‌شده جوجه‌های بومی اصفهان و سویه راس به ترتیب $(+13.430 \pm 5.393 \text{ g/day})$ و $(-11.212 \pm 4.435 \text{ g/day})$ بود. آنالیز تفرقی بیان با استفاده از بسته نرم‌افزاری Cuffdiff (v2.2.1) برای بیش از ۴۵۰۷۰ ایزو فرم مربوط به ۱۹۰۰۳ ژن انجام شد. طبقه‌بندی ایزو فرم‌های بر اساس نتایج Cuffcompare تعداد ۱۶۱۲۱ ایزو فرم در مرغ بومی اصفهان کاهش بیان نشان دادند و ۲۸۹۴۹ ایزو فرم افزایش بیان نشان دادند. از کل ایزو فرم‌های شناسایی شده ۲۱۰۸۱ ایزو فرم جدید بودند. ۲۰۶ ایزو فرم تغییر بیان یافته بین مرغ سویه راس و مرغ بومی اصفهان شناسایی شد. از بین این ایزو فرم‌ها، در مرغ بومی اصفهان نسبت به مرغ سویه راس، تعداد ۱۲۶ ایزو فرم مربوط به ۹۹ ژن کاهش و ۸۰ ایزو فرم مربوط به ۵۵ ژن، افزایش بیان نشان دادند. نتایج تجزیه و تحلیل عملکردی ژن‌ها نشان داد ایزو فرم‌های کاهش بیان یافته‌ی گونه بومی عمدتاً در فرایندهای زیستی مختلف از جمله واکنش‌دهی به استرس، پاسخ به ترکیب حاوی اکسیژن، واکنش‌دهی به چربی، توسعه ارگان‌های حیوان، واکنش‌دهی به مواد مغذی، واکنش‌دهی به سیتوکین‌ها، پاسخ به سطوح تغذیه، فرایند بیوسنتز مولکول‌های تکی، فرایندهای بیوسنتز چربی‌ها و فرایندهای تنظیم ارگانیزم‌های چندان نقش داشتند. شناسایی ژن‌های اختلاف بیان یافته و ایزو فرم‌های آن‌ها بین جوجه‌های دو نژاد منجر به شناسایی ژن‌های کاندید مهم برای برنامه‌های به‌نژادی، از جمله EGR1، IL15، RSAD2 و DUSP16 شد. این ژن‌ها می‌توانند با باقیمانده بالاتر نژاد بومی مرتبط باشند.

واژه‌های کلیدی: ایزو فرم، باقیمانده خوراک مصرف‌شده، مرغ، RNA-Seq

مقدمه^۱

حیوانی و تخم مرغ به‌ویژه در روستاها دارد. همچنین مرغ بومی نسبت به شرایط نامساعد محیطی و بیماری‌ها از مقاومت بالایی برخوردار بوده و جهت نگهداری به هزینه کمتر و شرایط ساده‌تری نیاز دارند (۲۰). علی‌رغم مزایای ذکرشده، مرغ بومی در زمینه افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک بازده پایینی دارند.

با توجه به سهم ۷۰ درصدی هزینه خوراک در مجموع هزینه‌های تولید فرآورده‌های دامی، بازده خوراک، تبدیل به یکی از صفات ژنتیکی مهم در دام و طیور شده است. بازده خوراک معمولاً تحت عنوان ضریب تبدیل غذایی^۲، یا مقدار خوراک مورد نیاز برای به‌دست آوردن یک واحد وزن بدن، بیان می‌شود. عامل عمده در میزان مصرف خوراک، تنوع در نیاز نگهداری است، که در محاسبه ضریب تبدیل غذایی نادیده گرفته می‌شود. مقدار زیادی از تفاوت در بهره‌وری

اکثر کشورهای جهان برای نگهداری و ارزیابی منابع ژنتیکی بومی خود ارزش قابل توجهی قائل‌اند. نژادهای بومی حیوانات هر کشور به‌عنوان سرمایه ملی و ذخایر استراتژیک هر کشوری محسوب می‌شوند. مرغ بومی نقش بسیار مهم و اساسی در تولید پروتئین

۱- دانشجوی دکتری پردیس بین‌الملل دانشگاه فردوسی مشهد و محقق مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی آباد

۲- استاد دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار پردیس ابوریحان دانشگاه تهران

۴- دانشیار دانشگاه فردوسی مشهد

۵- دانشیار موسسه علوم دامی کشور

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

DOI: 10.22067/ijasr.v10i4.69061

فرم‌های مختلف ژن‌های درگیر در راندمان خوراک، در سلول‌های مرغ بومی اصفهان و مقایسه آن با سویه تجاری راس بود. اطلاعات به‌دست آمده از این مطالعه می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی مرغان بومی، در جهت افزایش میانگین تولید، مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

حیوانات، استخراج RNA و توالی‌یابی

آزمایش روی جوجه‌های سویه راس (راندمان تولید بالا) و توده بومی اصفهان (راندمان تولید پایین) انجام شد. از هر گروه ۶۰ قطعه جوجه‌خروس انتخاب و از روز ۲۴ تا ۴۲ روزگی به مدت ۱۹ روز در قفس پرورش داده شدند. جوجه‌های هر دو گروه در سالن مرغداری مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی‌آباد، با شرایط مدیریتی یکسان پرورش داده شدند. مصرف خوراک روزانه، میانگین افزایش وزن روزانه و متوسط وزن متابولیکی برای هر دو گروه اندازه‌گیری شد و در پایان با استفاده از آن‌ها باقیمانده خوراک مصرفی (RFI) در پایان ۴۲ روزگی برای هر دو گروه محاسبه شد.

روش اندازه‌گیری باقیمانده خوراک مصرفی

برای اندازه‌گیری باقیمانده خوراک مصرفی هر پرند در قفس‌های انفرادی قرار داده شده و خوراک مصرفی روزانه^۴ (FI) از مقدار خوراک خورده شده در طی ۱۹ روز (از روز ۲۴ تا ۴۲) تقسیم بر تعداد روزها، و افزایش وزن روزانه^۵ (DG) از تفاوت وزن ۲۴ روزگی با وزن ۴۲ روزگی تقسیم بر تعداد روزها محاسبه شد. با استفاده از این ارقام مقدار باقیمانده خوراک مصرفی از رابطه زیر محاسبه خواهد شد (۲۴).

$$RFI_i = FI_i - (\beta_0 + \beta_1 DG_i + \beta_2 MBW_i)$$

$$RFI_i = \text{باقیمانده غذای مصرفی}$$

$$FI_i = \text{مقدار غذای مصرفی حقیقی روزانه}$$

$$DG_i = \text{متوسط افزایش وزن روزانه}$$

$$MBW_i = \text{وزن متابولیکی بدن}$$

$$\beta_1 \text{ و } \beta_2 \text{ ضرایب تابعیت مقدار غذای مصرفی حقیقی از متوسط}$$

رشد روزانه و وزن متابولیکی هستند.

سپس از هر نژاد ۱۰ نمونه از بافت کبد (از قسمت‌های مشابه در هر پرند) جمع‌آوری شد و بلافاصله در نیتروژن مایع قرار داده شد و به آزمایشگاه برای استخراج RNA ی کل منتقل شد (۲۹). استخراج RNA از نمونه‌های کبد هر پرند به صورت جداگانه با استفاده از TRIzol شرکت (Invitrogen, USA) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. برای بررسی کمیت و خلوص RNA استخراج

بین طيور، در میزان خوراک مصرفی قابل مشاهده است که توسط وزن متابولیکی بدن، وزن بدن (BW^1) و توده تخم‌مرغ (EM^2) قابل توضیح و تفسیر نمی‌باشد. این تفاوت در میزان مصرف غذا، در اختلاف باقیمانده خوراک مصرف‌شده (RFI) منعکس می‌شود (۲۶).

باقیمانده خوراک مصرف‌شده (RFI) تفاوت بین جذب واقعی خوراک دام و آنچه که پیش‌بینی می‌شود حیوان بر اساس وزن بدن و سطح عملکردش جذب می‌کند، می‌باشد. دام‌های کارا کمتر از حد انتظار می‌خورند و شاخص RFI^3 آن‌ها منفی یا پایین است. درحالی‌که دام‌های ناکارا بیش از اندازه می‌خورند و شاخص RFI آن‌ها مثبت یا بالا است. انتخاب برای بهبود بازده خوراک دام از طریق RFI به دلیل استقلال فنوتیپی آن از وزن متابولیکی بدن و افزایش وزن بدن پیشنهاد شده است (۱۷). در همه گونه‌ها، شواهد حاکی از وجود پایه و اساس ژنتیکی تنوع در بهره‌وری است (۲۸). مطالعات گذشته نشان داده است که برخی ژن‌ها، ممکن است، نقش مهمی در کنترل RFI از طریق تأثیر بر دستگاه گوارش و فرایندهای متابولیک (۱۲) بازی کنند. به نظر می‌رسد تغییرات در باقیمانده خوراک مصرف‌شده نتیجه تغییرات در بیان ژن‌های مرتبط با آن باشد و بررسی تغییرات ترانسکریپتوم در جوجه‌های با RFI بالا می‌تواند به کشف سازوکارهای مؤثر بر آن کمک کند.

از فناوری توالی‌یابی RNA (RNA-Seq) به‌عنوان یک روش قدرتمند، دقیق و با حساسیت بالا می‌توان در تعیین کمیت سطح بیان ژن و بررسی پروفایل ترانسکریپتوم استفاده کرد (۲۷). اسپلایسینگ جایگزین (AS) یک سازوکار رایج در یوکاریوت‌ها است که پیچیدگی ترانسکریپتوم و تنوع عملکردی را افزایش می‌دهد (۳۳). اسپلایسینگ جایگزین فرایندی است که به موجب آن چندین ایزو فرم mRNA بالغ از یک mRNA نابالغ ایجاد می‌شود. اسپلایسینگ فرایندی است که در آن pre-mRNA تغییر می‌یابد تا امتدادهای خاصی از رشته‌های کد نشده که اینترون نامیده می‌شوند را حذف کند. امتدادهایی که باقی می‌مانند شامل رشته‌های کد شده پروتئینی هستند و اگرزون نامیده می‌شوند. گاهی اوقات پیام‌های pre-mRNA ممکن است به چندین روش مختلف اسپلایس شوند که سبب می‌شود تا یک ژن چندین پروتئین را رمز کند و با تغییر عملکرد پروتئین‌های متعدد تولید کند (۲۵). اسپلایسینگ جایگزین می‌تواند فنوتیپ جاندار را تحت تأثیر قرار دهد و باعث بیماری شود (۲۲) و همچنین عملکرد ژن را در بافت‌های مختلف و یا شرایط محیطی متفاوت تغییر و یا حتی ژن را به‌طور کامل غیرفعال کند (۱۳). هدف از این مطالعه مقایسه تمامی رونوشت‌های یک سلول (ترانسکریپتوم) و پروفایل ایزو

1- body weight

2- Egg mass

3- RFI=residual feed intake

4- feed intake

5- Daily Gain

شناسایی ایزو فرم‌های جدید

برای شناسایی ایزو فرم‌های مختلف ژنی و اندازه‌گیری بیان ایزو فرم‌ها، نیازمند بررسی جایگاه‌های اسپلیسینگ بین آگزون‌ها می‌باشد. بدین منظور از رونوشت‌های مونتاژ شده که به وسیله Cufflinks نقشه‌یابی شده بودند برای مقایسه بیان ایزو فرم‌ها به وسیله Cuffcompare استفاده شد. Cuffcompare رونوشت‌های مونتاژ شده را با یک ژنوم مرجع مقایسه می‌کند و هر رونوشت را به رونوشت‌های شناخته شده، جدید و ایزو فرم‌های جدید بالقوه طبقه‌بندی می‌کند.

نتایج و بحث

ویژگی‌های رشد و باقیمانده خوراک مصرفی

نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری باقیمانده خوراک مصرف شده نشان داد میانگین افزایش وزن و مصرف خوراک جوجه‌های بومی اصفهان و سویه راس در طول ۱۹ روز (۲۴ تا ۴۲ روزگی) به ترتیب 441.06 ± 6.769 و 439.29 ± 8.054 گرم بود. باقیمانده خوراک مصرف شده جوجه‌های بومی اصفهان و سویه راس نیز به ترتیب 13.430 و 11.212 - بود.

ارزیابی داده‌های به دست آمده از توالی‌یابی RNA

کل توالی‌های خوانده شده به ترتیب برای نمونه اول و دوم مرغ بومی اصفهان 14510042 و 21186451 و برای نمونه‌های اول و دوم سویه راس به ترتیب 19034129 و 15790197 خوانش در فرمت FASTQ دریافت شد. طول متوسط قطعات توالی‌یابی شده برای دو نمونه ۱۵۰ نوکلئوتید و متوسط کیفیت قطعات (Phred quality score) برای هر دو نمونه حدود ۸۳ درصد بود. محتوای GC برای نمونه‌های مرغ بومی اصفهان ۴۵٪ و برای نمونه‌های سویه راس ۴۶٪ بود (جدول ۱). بعد از پیرایش تعداد خوانش‌ها به ترتیب برای نمونه اول و دوم مرغ بومی اصفهان 14246264 و 20854515 و برای نمونه‌های اول و دوم سویه راس به ترتیب 18723445 و 15566191 خوانش بود.

آنالیز تفرقی بیان ایزو فرم

آنالیز تفرقی بیان ایزو فرم برای بیش از ۴۵۰۷۰ ایزو فرم مربوط به ۱۹۰۰۳ ژن انجام شد. بر اساس نتایج Cuffcompare تعداد ۱۶۱۲۱ ایزو فرم در مرغ بومی اصفهان کاهش بیان و ۲۸۹۴۹ ایزو فرم افزایش بیان نشان دادند. نتایج نشان داد از کل ایزو فرم‌های شناسایی شده ۲۱۰۸۱ ایزو فرم جدید بودند و ۲۰۶ ایزو فرم با بیان متفاوت و معنی‌دار بین مرغ سویه راس و مرغ بومی اصفهان شناسایی

شده از دستگاه نانودراپ (Thermo Scientific™ Nano Drop2000) و ژل الکتروفورز استفاده شد. پس از اطمینان از کمیت و کیفیت RNA استخراجی، از هر نژاد دو نمونه pooled شده (هر نمونه متشکل از سه نمونه RNA استخراج شده) آماده و جهت توالی‌یابی با روش Illumina توالی‌یاب پلت فرم HiSeq 2000 به شرکت BGI چین ارسال شد.

قبل از انجام هم ردیفی^۱ کیفیت توالی خوانش‌های خام با استفاده از نرم‌افزار Fastqc (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>) بررسی شد (۱). برای حذف خوانش‌های با کیفیت پایین و یا خوانش‌های خام حاوی توالی‌های مربوط به آداپتور و پرایمر و Poly-N از نرم‌افزار Trimmomatic (نسخه ۰/۳۶) (۱۹) استفاده شد. خوانش‌های پیرایش شده جهت بررسی کیفیت مجدداً با نرم‌افزار Fastqc بررسی شدند.

نقشه‌یابی با ژنوم مرجع

ژنوم مرجع برای مرغ (Galgal4) و فایل حاشیه‌نویسی GTF از <http://asia.ensembl.org/info/data/ftp/index.html> دریافت شد. پس از کنترل کیفیت و ویرایش خوانش‌ها به منظور نقشه‌یابی خوانش‌های دست آمده با ژنوم مرجع از نرم‌افزار Hisat2 انجام شد (۱۶). به منظور قابل استفاده کردن قطعات کوتاه توالی‌یابی شده و تشکیل قطعه بلندتری از mRNA هر ژن (Contigs) این قطعات کوتاه سر هم^۳ گردیدند. سر هم کردن و اتصال دادن توالی‌های کوتاه اسیدنوکلیک‌ها به منظور احیا و بازسازی توالی مبداء، از ژنوم مرجع (Reference Genome) مرغ (Galgal4) و با استفاده از نرم‌افزار Cufflinks انجام شد. حدود ۸۳٪ از قطعات توالی‌یابی شده با ژنوم مرجع سر هم شدند.

آنالیز تفرقی بیان ژن با استفاده از بسته نرم‌افزاری Cuffdiff (v2.2.1) صورت گرفت. بررسی آنتولوژی ایزو فرم‌های تغییر بیان یافته شامل فرایندهای بیولوژیکی ژن‌ها توسط سایت دیوید (<https://david.ncicrf.gov>) انجام گرفت (۶). بدین منظور لیست ایزو فرم‌های افزایش و کاهش بیان یافته به طور مجزا با لیست ژن‌های مرغ به عنوان مرجع مورد مقایسه آماری قرار گرفتند. در آنالیز نهایی از P-value تصحیح شده در سطح کمتر از ۵ درصد ارائه شده است استفاده گردید.

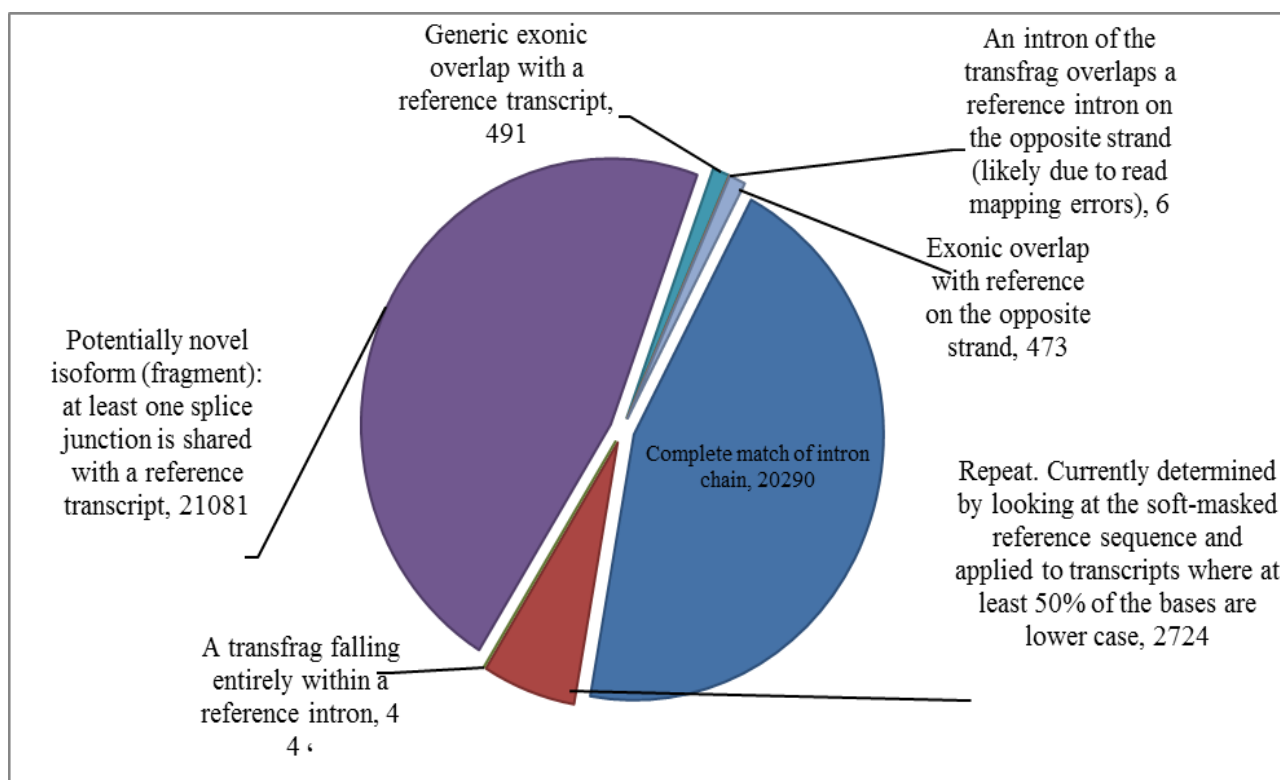
- 1- Alignment
- 2- Messenger RNA
- 3- Assembly

شد (شکل ۱).

جدول ۱- مشخصات توالی‌یابی برای هر یک از نمونه‌های مرغ بومی و سویه راس با استفاده از Illumina HiSeq-2000.

Table 1- Sequencing characteristics for each indigenous chicken and Ross strain using Illumina HiSeq-2000

Sample name نمونه	Raw data کل خوانش‌ها	Cleaned data داده‌های پیرایش شده	Read lengths of sequences Nucleotide طول توالی‌های خوانده شده (نوکلئوتید)	GC % درصد سیتوزین به گوانین	Overall alignment rate (%) میانگین هم‌ترازی (%)
Native 1 نژاد بومی نمونه ۱	14510042	14246264	150	45%	83.23
Native 2 نژاد بومی نمونه ۲	21186451	20884515	150	45%	84.82
Commercial 1 سویه راس نمونه ۱	19034129	18723445	150	46%	83.11
Commercial 2 سویه راس نمونه ۲	15790197	15566191	150	46%	82.41



شکل ۱- طبقه‌بندی ایزو فرم‌های شناسایی شده بر اساس کد کلاس داده‌های RNA_Seq

Figure 1- Classification of identified Isoform Based on Data Class Code RNA_Seq.

به‌دلیل تخصصی بودن کلمات، از ترجمه فارسی اجتناب گردید.

بیشترین ایزو فرم مربوط به ژن C11H19ORF12 با ۹ ایزو فرم بود که از این تعداد ۸ ایزو فرم جدید بودند (جدول ۲). همچنین در (شکل ۲)، ۱۰ ژن با بالاترین و پایین‌ترین بیان نسبی نشان داده شده

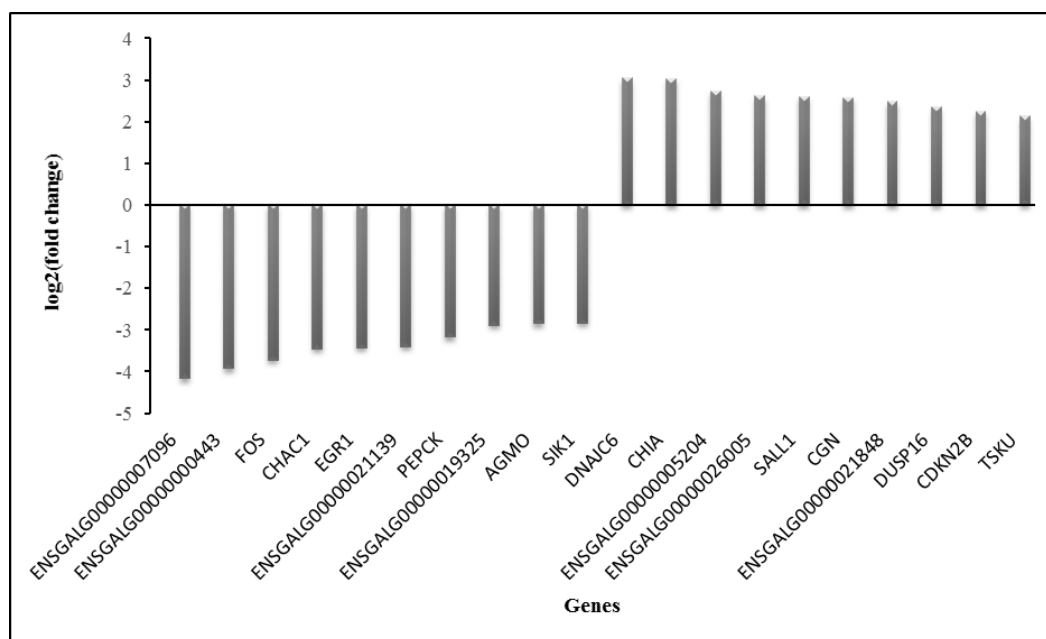
از بین این ایزو فرم‌ها، در مرغ بومی اصفهان نسبت به مرغ سویه راس، تعداد ۱۲۶ ایزو فرم مربوط به ۹۹ ژن کاهش و ۸۰ ایزو فرم مربوط به ۵۵ ژن، افزایش بیان نشان دادند ($q\text{-value} \leq 0.05$).

است.

جدول ۲- ژن‌های تغییر بیان یافته در مرغ بومی و تجاری با کمترین و بیشترین ایزو فرم

Table 2- Differentially expressed genes in native and commercial chicken with the lowest and highest isoform

Gene ژن	Cuff compare category to distinguish transcripts by symbols						Sum مجموع	DEG ژن‌های تغییر بیان یافته
	Generic exonic overlap with a reference transcript همپوشانی کلی اگزون‌ها با رونوشت مرجع	Complete match of intron chain مطابقت کامل زنجیره اینترون	Potential y novel isoform قابلیت ایزوفرمی جدید	Exonic overlap with reference on the opposite strand همپوشانی اگزون‌ها با زنجیره مخالف رونوشت مرجع	An intron of the transfrag overlaps a reference intron on the opposite strand قطعات ترانسکریپتی اینترونی همپوشانی کرده با اینترون مرجع در رشته مخالف	A transfrag falling entirely within a reference intron قطعات ترانسکریپتی با تطابق کامل با اینترون مرجع		
FNBP1	0	2	5	0	0	0	7	Yes
DUSP16	0	1	6	0	0	0	7	Yes
SLC25A47	0	1	6	0	0	0	7	Yes
C11H19ORF12	0	1	8	0	0	0	9	Yes
ENSGALG000000015101	0	1	0	0	0	1	2	Yes
ENSGALG000000016648	0	1	0	1	0	0	2	Yes
BUB1	0	1	1	0	0	0	2	Yes
CD3D	0	1	1	0	0	0	2	Yes



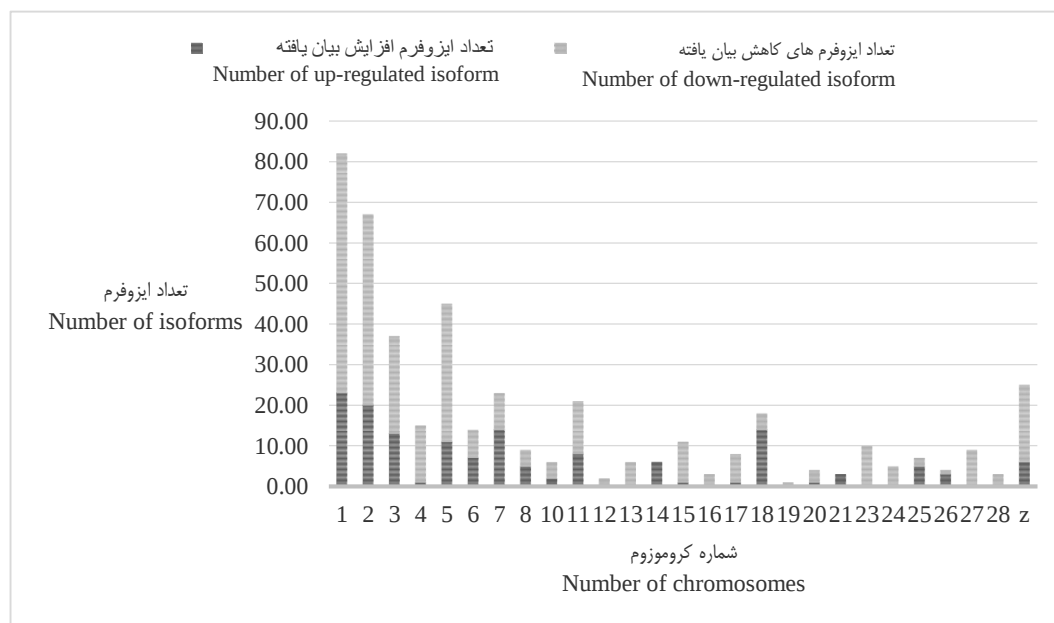
شکل ۲- ۱۰ ایزو فرم افزایش و کاهش بیان یافته در مرغ بومی اصفهان

Figure 2- 10 isoform up- and down-regulated in the Isfahan Native Chickens

به‌دلیل تخصصی بودن کلمات، از ترجمه فارسی اجتناب گردید.

کاهش بیان یافته در نژاد مرغ بومی اصفهان نشان داد بیشترین ایزوفرم‌های کاهش بیان یافته روی کروموزوم ۱ و کمترین آنها روی کروموزوم ۱۹ بود (شکل ۳).

رتبه‌بندی ژن‌ها بر اساس میزان بیان نسبی صورت گرفت. بیان‌های به‌دست آمده نرمال و تبدیل به FPKM شده و مقادیر با بیش از ۱۰ مقدار میانگین خوانش‌ها و سطح معنی‌داری بنجامینی کوچکتر از ۵ درصد به‌عنوان بیان‌های متفاوت معنی‌دار بین دو گروه بومی و تجاری مشخص شد. بررسی پراکشی ایزوفرم‌های افزایش و



شکل ۳- پراکندگی ایزو فرم‌های افزایش بیان یافته و کاهش بیان یافته روی کروموزوم‌ها در مرغ بومی اصفهان

Figure 3- Dispersion of the up- and down-regulated isoform on Chromosomes in Isfahan Native Chicken

مورد توصیف مشخصات ترانسکریپتوم بافت کبدی در مرغ‌های بومی اصفهان با بهره‌گیری از فناوری RNA-Seq محسوب می‌شود. نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان داد در جوجه‌های بومی اصفهان سرعت رشد کند و مصرف خوراک نسبت به مقدار پیش‌بینی شده بیشتر بود و دارای باقیمانده خوراک مصرف شده بالای (+ RFI) بودند. به نظر می‌رسد قابلیت هضم انرژی و مواد مغذی در این گروه پایین‌تر از سویه رأس بود و مشاهدات نشان داد جوجه‌های بومی در طول دوره پرورش فعالیت فیزیکی بیشتری داشتند. مطالعات قبلی حاکی از همبستگی احتمالی میان فعالیت فیزیکی و تغییر RFI در طیور، خوک‌ها و گاوهای گوشتی بود (۲۴).

پیرایش متناوب mRNA نقش مهمی در ایجاد تنوع رونوشت‌ها (Transcript) و پروتئین‌های سلولی ایفا می‌کند (۴). بیشتر ژن‌ها در ژنوم موجودات واریات‌ها و ایزو فرم‌های مختلف در سطح mRNA ایجاد می‌کنند که منجر به ساخت پروتئین‌هایی با عملکرد زیستی متفاوت می‌گردد. اسپلاسینگ جایگزین تنظیم‌کننده ژنتیکی و اپی ژنتیکی پردازش pre-mRNA برای افزایش تنوع ترانسکریپتوم و پروتئوم است (۳۴).

آنالیز هستی‌شناسی ژن‌های کاهش بیان یافته در مرغان بومی اصفهان نسبت مرغان سویه راس منجر به گروه‌بندی ژن‌ها در ۱۳۶ گروه عملکرد زیستی شد ($P\text{-value} > 0.05$). در این مطالعه بیشتر ایزو فرم‌های کاهش بیان یافته در پرندگان با باقیمانده خوراک مصرفی بالا (high RFI) در ارتباط با پاسخ ایمنی و فرایند متابولیک بدن و رشد و توسعه بافت‌ها و استرس بود. از بین این ۱۳۶ عملکرد زیستی ۱۰ عملکرد مهم در ارتباط با متابولیسم و راندمان خوراک مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج آنالیز هستی‌شناسی ژن‌های افزایش یافته در مرغان بومی اصفهان نسبت به مرغان سویه راس منجر به گروه‌بندی ژن‌ها در ۲ عملکرد زیستی شد ($P\text{-value} > 0.05$) (جدول ۳).

در این مطالعه با استفاده از فناوری RNA-Seq، ترانسکریپتوم بافت کبدی دو نژاد مرغ با باقیمانده خوراک مصرف‌شده مختلف بررسی شد. فرآیندهای زیستی مهم، ژن‌های کلیدی و ترانسکریپت‌های جدید مربوط به RFI شناسایی شدند. که می‌توان از آن‌ها برای درک مکانیسم‌های ژنتیکی شکل‌دهنده تفاوت‌ها در RFI و نرخ رشد در مرغ‌ها استفاده کرد. مطالعه حاضر اولین گزارش در

جدول ۳- گروه‌بندی ایزو فرم‌های افزایش و کاهش بیان یافته در مسیرهای بیولوژیکی

Table 3- Grouping down and up-regulated isoform in biological Pathways

Term نام مسیر	Count تعداد	% درصد	P-value سطح معنی‌داری
Down regulated کاهش بیان یافته			
Response to stress پاسخ به استرس	27	36.48648649	0.000741399
Response to oxygen-containing compound پاسخ به ترکیب حاوی اکسیژن	15	20.27027027	0.001229044
Response to cytokine پاسخ به سیتوکین	10	13.51351351	0.003584148
Response to nutrient پاسخ به مواد مغذی	5	6.756756757	0.004337417
Response to lipid پاسخ به چربی	10	13.51351351	0.005648751
Animal organ development توسعه اندام حیوانات	21	28.37837838	0.012460537
Single-organism biosynthetic process فرایند بیوسنتز مولکول‌های تکی	12	16.21621622	0.01316849
Regulation of multi-organism process فرایندهای تنظیم ارگانیزم‌های چندگانه	6	8.108108108	0.015269748
Response to nutrient levels پاسخ به سطوح مواد مغذی	6	8.108108108	0.019975104
Lipid biosynthetic process فرایند مای بیوسنتز چربی‌ها	7	9.459459459	0.033346723
Up regulated افزایش بیان یافته			
Single-organism process فرایند بیوسنتز مولکول‌های تکی	29	85.29411765	0.040237742
Glucosamine-containing compound metabolic process پروتئین متابولیک ترکیبی حاوی گلوکوزامین	2	5.882352941	0.042036261

واکنش‌دهی به مواد مغذی^۵، واکنش‌دهی به سیتوکین‌ها^۶، پاسخ به سطوح تغذیه^۷، فرایند بیوسنتز مولکول‌های تکی^۸، فرایند مای بیوسنتز چربی‌ها^۹ و فرایندهای تنظیم ارگانیزم مای چندگانه^{۱۰} نقش داشتند. اکثر این عبارات مربوط به مواد مغذی (اسیدهای چرب، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها) و متابولیسم بودند. می‌دانیم که متابولیسم پروتئین‌ها و لیپیدها عواملی مهم در راندمان خوراک هستند.

- 5- response to nutrient
- 6- response to cytokine
- 7- response to nutrient levels
- 8- single-organism biosynthetic process
- 9- lipid biosynthetic process
- 10- regulation of multi-organism process

مطالعات قبلی نشان داد چندین ژن قادر به ایفا کردن نقش‌های مهم در تغییر میزان RFI از طریق تأثیرگذار گذاشتن بر فرایندهای متابولیکی و سیستم گوارشی هستند (۱۲). هم‌راستا با مطالعات قبلی (۳۵)، نتایج آنالیز ژن آنتالوژی این پژوهش نشان داد ایزوفرم‌های کاهش بیان یافته‌ی گونه مرغ بومی عمدتاً در فرایندهای زیستی مختلف از جمله واکنش‌دهی به استرس^۱، پاسخ به ترکیب حاوی اکسیژن^۲، واکنش‌دهی به چربی^۳، توسعه ارگان‌های حیوان^۴،

- 1- response to stress
- 2- response to oxygen-containing compound
- 3- response to lipid
- 4- animal organ development

در فرایند زیستی پاسخ به استرس تعداد ۲۷ ژن گروه‌بندی شدند. این عملکرد زیستی شامل فرایندهای که منجر به تغییر در وضعیت و یا فعالیت یک سلول و یا یک موجود زنده (از نظر جنبش، ترشح، تولید آنزیم، بیان ژن، و غیره) به عنوان نتیجه یک اختلال در هموستاز سلولی شناخته می‌شود و معمولاً در اثر عوامل خارجی (به عنوان مثال دما، رطوبت، اشعه) بروز می‌کند. پاسخ به استرس اکسیداتیو یک عامل مهم مؤثر بر RFI هست. افراد با باقیمانده خوراک مصرف‌شده پایین، به استرس حساس هستند (۱۴ و ۳۲). از ژن‌های مهم مرتبط با باقیمانده خوراک مصرف‌شده در این عملکرد زیستی ژن RSAD2 می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد ۳ ایزو فرم از این ژن شناسایی شد که یک ایزو فرم از آن‌ها جدید بود. این ژن نقش یک تعدیل‌کننده چربی را ایفا کرده و نسبت چربی به پروتئین را در کبد تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش بیان RSAD2 در جوجه‌های بومی اصفهان ممکن باعث افزایش خوراک مصرفی و کاهش راندمان مصرف انرژی شود. در مطالعات قبلی گزارش شده که این ژن در نژادهای که باقیمانده خوراک پایین داشتند افزایش بیان نشان داد و هدر رفت انرژی را، با تنظیم سوخت‌وساز لپتین و اسیدهای چرب تعدیل می‌کند.

عملکرد زیستی توسعه اندام حیوانات مربوط به توسعه یک بافت یا بافت‌های است که با یکدیگر برای انجام یک عملکرد خاص کار می‌کنند. این عملکرد زیستی شامل زیرشاخه‌های توسعه قلب، بازسازی ارگان‌های حیوانات، توسعه مجاری تنفسی، توسعه مغز، توسعه سیستم‌های عصبی معده و چند زیرشاخه مهم دیگر که به طور مستقیم و غیرمستقیم می‌توانند بر باقیمانده خوراک مصرف‌شده مؤثر باشند. مطالعات گذشته نشان داد فرایندهای فیزیولوژیکی عمده که سبب تنوع در باقی‌مانده خوراک مصرف‌شده (RFI) می‌شوند، شامل میزان مصرف خوراک، هضم غذا، سوخت‌وساز بدن (آنابولیسم و کاتابولیسم مرتبط با آن)، همچنین تنوع در ترکیب بدن، فعالیت بدنی و حرارت هستند (۲۳).

گرابس و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند فاکتورهای مؤثر میزان تأثیر آن‌ها را در انتخاب گاوهای گوشتی برای RFI پایین و بالا شامل فعالیت حیوان (۱۰ درصد)، قابلیت هضم خوراک (۱۰ درصد)، حرارت افزایشی (۹ درصد)، ترکیب بدن (۵ درصد)، الگوهای تغذیه‌ای (۲ درصد) و سایر فاکتورها (۲۷ درصد) می‌باشد. ۳۷ درصد باقی‌مانده تغییرات توسط متابولیسم بافت‌ها، ترن آور پروتئین و استرس شامل استرس اکسیداتیو تعریف می‌شود. در ارتباط با عوامل تغییر بهره‌وری خالص خوراک، نقش متابولیسم، ترن آور پروتئین و استرس از بین هفت فاکتور ذکر شده، کمتر از سایر موارد مورد بحث و بررسی قرار گرفته است (۸). اطلاعات مربوط به نقش فعالیت، الگوهای تغذیه‌ای (۳۳)، قابلیت هضم خوراک (۸) و ترکیب بدن (۳۰)، در خوک‌هایی که برای RFI انتخاب شده‌اند موجود است. از ژن‌های مهم این عملکرد زیستی، ژن STAT1 با چهار ایزو فرم شامل دو ایزو

فرم شناخته‌شده و دو ایزو فرم جدید بر روی کروموزوم ۷ بود. فاکتورهای خانواده STAT پروتئین‌های سیتوپلاسمی هستند که در پاسخ به فاکتورهای رشد، سایتوکین‌ها و هورمون‌ها فعال می‌شوند (۵). سیتوکین‌ها دسته‌ای از مولکول‌های پروتئینی محلول در آب هستند که از سلول‌های گوناگون و بیشتر در پاسخ به یک تحریک، ترشح می‌شوند و وظیفه انتقال پیام بین سلول‌ها را بر عهده‌دارند. پی‌آمد حضور سیتوکین، تغییر در رفتار سلول‌های دارای گیرنده سیتوکین ترشح‌شده از جمله رشد، تغییر و یا مرگ سلول است (۱۱). STATها کارکردهای مهمی از جمله افزایش تولید IFN- γ و افزایش پیام‌دهی دارند. مطالعات گذشته نشان داده بیان این ژن‌ها با تجمع چربی در بدن مرتبط است (۳۱). گزارشات گذشته نشان داد بین راندمان تبدیل خوراک طیور و رسوب چربی در بدن مرغ همبستگی منفی وجود دارد (۷). به نظر می‌رسد تغییر بیان ایزو فرم‌های ژن STAT1 می‌تواند در راستای تفاوت RFI بین مرغان سویه راس و بومی اصفهان باشد.

فرایند پاسخ به سطح مواد مغذی شامل فرایندهایی است که منجر به تغییر در حالت یا فعالیت یک سلول یا یک ارگانیزم (از نظر جنبش، ترشح، تولید آنزیم، بیان ژن و غیره) می‌شود. این تغییر فعالیت به عنوان نتیجه یک محرک، منعکس‌کننده وجود، عدم وجود یا غلظت مواد مغذی هستند. در این مسیر بیولوژیکی ژن IL15 در مرغ بومی نسبت به مرغ تجاری کاهش بیان داشت. سه ایزو فرم از این ژن شناسایی شد. که دو ایزو فرم جدید بودند. این ژن می‌تواند متابولیسم گلوکز و تمایز سلول‌های چربی را تنظیم کند (۲۱). بنابراین، کاهش بیان این ژن در نژاد بومی می‌تواند در ارتباط با افزایش رسوب چربی باشد. مرغ‌های با راندمان خوراک پایین، چربی شکمی بیشتری دارند و به نظر می‌رسد انرژی به دست آمده از مواد مغذی را برای تجمع چربی بیشتر مصرف می‌کنند (۳۷). در این مطالعه، کاهش بیان IL15 در نژاد بومی را می‌توان به راندمان پایین تر این نژاد از لحاظ متابولیسم مواد مغذی و چربی‌ها نسبت داد که می‌تواند به افزایش RFI آن نسبت به مرغ‌های تجاری منجر شود. فرایندهای پاسخ به ترکیب حاوی اکسیژن مربوط به تغییر حالت یا فعالیت سلول‌ها یا ارگانیزم (از نظر جنبش، ترشح و تولید آنزیم، بیان ژن و غیره) در نتیجه ترکیبات حاوی اکسیژن است. کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک مولکول‌های پیچیده‌ای هستند که حاوی اکسیژن هستند. اختلاف متابولیسم میتوکندریایی کبد با تولید بیشتر رادیکال‌های اکسیژن در مرغ و خوک باراندام خوراک پایین قبلاً گزارش شده است (۲، ۳، ۹، ۱۰ و ۱۵). از ژن‌های مرتبط با RFI که در این مسیر بیولوژیکی گروه‌بندی شدند ژن EGR1 با دو ایزو فرم (یک ایزو فرم جدید) و بر روی کروموزوم ۱۳ بود. مطالعات گذشته نشان داد ژن EGR1 در مرغ‌های با باقیمانده خوراک مصرفی پایین (LRFI) افزایش بیان داشت. تنظیم‌کننده‌های اصلی ژن به رشد سلولی و تمایز

مرتبط با آن‌ها به دست داد. یافته‌های ما نشان می‌دهد تعداد زیادی از ژن‌های مرتبط با متابولیسم (چربی، اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌ها و همچنین ویتامین‌ها)، رشد، استرس اکسیداتیو و ایمنی می‌تواند باعث اختلاف در باقیمانده خوراک مصرف‌شده باشند. شناسایی ژن‌های تغییر بیان یافته و ایزو فرم‌های آن‌ها بین جوجه‌های دو گروه بومی و تجاری منجر به شناسایی ژن‌های کاندید مهم برای برنامه‌های به‌نژادی، از جمله EGR1، IL15، RSAD2 و DUSP16 شد. این ژن‌ها می‌توانند با باقیمانده خوراک مصرف‌شده بالاتر نژاد بومی مرتبط باشند.

مربوط هستند همچنین در پاسخ به استرس اکسیداتیو فعال می‌شوند. که با نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر همخوانی داشت. علت کاهش بیان این ژن در مرغان بومی اصفهان می‌تواند به علت راندمان پایین این پرندگان باشد. تحقیقات گذشته در حیوانات مختلف حساس بودن دام‌های باراندام بالا را به استرس را تأیید می‌کنند.

نتیجه‌گیری کلی

مطالعه حاضر یک تصویر از تغییرات بیان ژن‌ها و ایزو فرم‌های ژن‌های مرتبط با باقیمانده خوراک مصرف‌شده در بافت کبد مرغان بومی و مرغان سویه راس (تجاری) و همچنین عملکردهای زیستی

منابع

1. Bolger, A. M., M. Lohse, and B. Usadel. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30:2114-2120.
2. Bottje, W., and G. Carstens. 2009. Association of mitochondrial function and feed efficiency in poultry and livestock species. *Journal of Animal Science*, 87: E48-E63.
3. Bottje, W., N. Pumford, C. Ojano-Dirain, M. Iqbal, and K. Lassiter. 2006. Feed efficiency and mitochondrial function. *Poultry Science*, 85:8-14.
4. Chen, M., and J. L. Manley. 2009. Mechanisms of alternative splicing regulation: insights from molecular and genomics approaches. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 10:741-754.
5. Darnell, J. E. 1997. STATs and gene regulation. *Science*, 277:1630-1635.
6. 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: R60.
7. Gandomani, V. T., A. Mahdavi, H. Rahmani, A. Riasi, and E. Jahanian. 2014. Effects of different levels of clove bud (*Syzygium aromaticum*) on performance, intestinal microbial colonization, jejunal morphology, and immunocompetence of laying hens fed different n-6 to n-3 ratios. *Livestock Science*, 167:236-248.
8. Grubbs, J. K. 2012. Protein profile and reactive oxygen species production in mitochondria from pigs divergently selected for residual feed intake.
9. Grubbs, J. K., A. Fritchen, E. Huff-Lonerger, J. C. Dekkers, N. K. Gabler, and S. M. Lonergan. 2013a. Divergent genetic selection for residual feed intake impacts mitochondria reactive oxygen species production in pigs. *Journal of Animal Science*, 91:2133-2140.
10. Grubbs, J. K., A. N. Fritchen, E. Huff-Lonerger, N. K. Gabler, and S. M. Lonergan. 2013b. Selection for residual feed intake alters the mitochondria protein profile in pigs. *Journal of Proteomics*, 80:334-345.
11. Hardman, J. G., and L. Limbird. 2001. Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10th. USA: McGraw-Hill Companies, Inc.
12. Herd, R., and P. Arthur. 2009. Physiological basis for residual feed intake. *Journal of Animal Science*, 87: E64-E71.
13. Hiller, D., H. Jiang, W. Xu, and W. H. Wong. 2009. Identifiability of isoform deconvolution from junction arrays and RNA-Seq. *Bioinformatics*, 25:3056-3059.
14. Iqbal, M., N. Pumford, Z. Tang, K. Lassiter, T. Wing, M. Cooper, and W. Bottje. 2004. Low feed efficient broilers within a single genetic line exhibit higher oxidative stress and protein expression in breast muscle with lower mitochondrial complex activity. *Poultry Science*, 83:474-484.
15. Iqbal, M., N. Pumford, Z. Tang, K. Lassiter, C. Ojano-Dirain, T. Wing, M. Cooper, and W. Bottje. 2005. Compromised liver mitochondrial function and complex activity in low feed efficient broilers are associated with higher oxidative stress and differential protein expression. *Poultry Science*, 84:933-941.
16. Kim, D., B. Langmead, and S. L. Salzberg. 2015. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. *Nature methods*, 12:357-60.
17. Kutner, M., C. Nachtsheim, J. Neter, and W. Li. 2004. *Applied linear statistical models*, McGraw Hill.
18. Liu, W., D. Li, J. Liu, S. Chen, L. Qu, J. Zheng, G. Xu and N. Yang. 2011. A genome-wide SNP scan reveals novel loci for egg production and quality traits in white leghorn and brown-egg dwarf layers. *PLOS ONE*, 6:E28600.
19. 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*, gks540.

20. Lu, L., C. Ji, X. Luo, B. Liu, and S. Yu. 2006. The effect of supplemental manganese in broiler diets on abdominal fat deposition and meat quality. *Animal Feed Science and Technology*, 129:49-59.
21. Lu, H., D. Huang, R. M. Ransohoff, and L. Zhou. 2011. Acute skeletal muscle injury: CCL2 expression by both monocytes and injured muscle is required for repair. *The FASEB Journal*, 25:3344-3355
22. Lu, Z. X., P. Jiang, and Y. Xing. 2012. Genetic variation of pre-mRNA alternative splicing in human populations. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 3:581-592.
23. Luiting, P., J. Schrama, W. Vander-Hel, and E. Urff. 1991. Metabolic differences between White Leghorns selected for high and low residual food consumption. *British Poultry Science*, 32:763-782.
24. Luiting, P., and E. Urff. 1991. Residual feed consumption in laying hens. 2. Genetic variation and correlations. *Poultry Science*, 70:1663-1672.
25. Modrek, B., and C. Lee. 2002. A genomic view of alternative splicing. *Nature genetics*, 30(1): 3-9.
26. Ojano-Dirain, C., M. Iqbal, D. Cawthon, S. Swonger, T. Wing, M. Cooper, and W. Bottje. 2004. Determination of mitochondrial function and site-specific defects in electron transport in duodenal mitochondria in broilers with low and high feed efficiency. *Poultry Science*, 83:1394-1403.
27. Oszolak, F., and P. M. Milos. 2011. RNA sequencing: advances, challenges and opportunities. *Nature reviews. Genetics*, 12:87.
28. Pitchford, W. 2004. Genetic improvement of feed efficiency of beef cattle: what lessons can be learnt from other species? *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 44:371-382.
29. Rekaya, R., R. Sapp, T. Wing, and S. Aggrey. 2013. Genetic evaluation for growth, body composition, feed efficiency, and leg soundness. *Poultry Science*, 92:923-929.
30. Smith, R., N. Gabler, J. Young, W. Cai, N. Boddicker, M. Anderson, E. Huff-Lonergan, J. Dekkers, and S. Lonergan. 2011. Effects of selection for decreased residual feed intake on composition and quality of fresh pork. *Journal of Animal Science*, 89:192-200.
31. Stewart, W. C., R. F. Morrison, S. L. Young, and J. M. Stephens. 1999. Regulation of signal transducers and activators of transcription (STATs) by effectors of adipogenesis: Coordinate regulation of STATs 1, 5A, and 5B with peroxisome proliferator-activated receptor- γ and C/AAAT enhancer binding protein- α . *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1452:188-196.
32. Van-Eerden, E., H. Van-Den-Brand, H. Parmentier, and M. De Jong. 2004. Phenotypic selection for residual feed intake and its effect on humoral immune responses, in growing layer hens. *Poultry science*, 83:1602-1609.
33. Vuong, C. K., D. L. Black, and S. Zheng. 2016. The neurogenetics of alternative splicing. *Nature Reviews Neuroscience*, 17:265-81.
34. Xu, Y., Y. Wang, J. Luo, W. Zhao, and X. Zhou. 2017. Deep learning of the splicing (epi) genetic code reveals a novel candidate mechanism linking histone modifications to ESC fate decision. *Nucleic acids research*.
35. Yi, G. 2015. Interrogation of Differentially Expressed Genes Governing Residual Feed Intake in Chickens Using RNA-Seq. In: *Plant and Animal Genome XXIII Conference*. Plant and Animal Genome.
36. Young, J., W. Cai, and J. Dekkers. 2011. Effect of selection for residual feed intake on feeding behavior and daily feed intake patterns in Yorkshire swine. *Journal of animal science*, 89P639-47.
37. Zhuo, Z., S. J. Lamont, W. R. Lee, and B. Abasht. 2015. RNA-Seq analysis of abdominal fat reveals differences between modern commercial broiler chickens with high and low feed efficiencies. *PLOS ONE*, 10:E0135810.



Isoform Expression Profile Analysis of Residual Feed Intake for Isfahan Native and Ross Chickens Using RNA-Seq Data

H. R. Izadnia¹- M. Tahmoorespur^{2*}- M. R. Bakhtiarizadeh³- M. R. Nassiri⁴- S. Esmailkhanien⁵

Received: 29-11-2017

Accepted: 28-02-2018

Introduction:

In the past decade, many performance traits in chickens have greatly improved to meet the growing demand for chicken meat (Rekaya et al 2013). On the other hand, due to the 70% share of feed costs in the total cost of livestock production, feed efficiency has become one of the most important genetic traits in livestock and poultry. Residual feed intake (RFI) is the difference between the actual absorption of animal feed and the expected of the animal absorption based on body weight and its level of performance. Selection to improve feed efficiency through RFI is suggested due to its phenotypic independence from body weight and body weight gain (Kutner et al 2004). There is evidence for the genetic basis of variation in productivity in all species (Pitchford 2004). Previous studies have shown that some genes may play an important role in controlling RFI through effects on the digestive system and metabolic processes (Herd & Arthur 2009). It seems that changes in the amount of residual feed intake is the result of changes in the expression of the genes associated with it, and the study of transcript changes in chickens with high RFI helps to identify the mechanisms that affect it.

Materials and Methods:

Experiments were conducted on Commercial breeds (high production efficiency) and Isfahan Native Chickens (low production efficiency). From each breed, 60 chicks were harvested and caged from day 24 to 42 days for 19 days. The chicks of both groups were raised under the same management conditions. In order to measure the residual feed intake of each bird in individual cages and daily intake (FI) of the amount of feed consumed in 19 days (from day 24 to 42) divided by number of days, and daily gain (DG) of the weight difference 24. Using these figures, the amount of residual feed consumed will be calculated from the following equation (Luiting & Urff 1991) :

$$RFI = FI - (b_0 + b_1 BWG + b_2 MBW^{0.75})$$

where FI, RFI, MBW^{0.75}, and BWG are the daily feed intake, residual feed intake, metabolic body weight, and daily body weight gain, respectively. Also, b₀, b₁ and b₂ indicate the intercept and partial regression coefficients, respectively.

Ten samples of liver tissue were then collected from each breed and immediately transferred to liquid nitrogen and transferred to the laboratory for total RNA extraction (Druzhyna et al 2008). Two pooled samples of every breed (each consisting of three extracted RNA sample) were prepared and sent to the BGI Company of China by the Illumina method of sequencing the HiSeq 2000 platform.

Prior to Alignment, the quality of the raw readings sequence was evaluated using the Fastqc software (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>) (Bolger et al 2014). The use of Trimmomatic software (version 0.36) (Lohse et al 2012) was used to remove the low-quality reads. The reference genome for the chicken (Galgal4) and the annotated file were obtained from the Ensembl database (<http://asia.ensembl.org/info/data/ftp/index.html>). After controlling the quality and Trimming the reads, the Hisat2 software was used (Kim et al 2015) to mapping obtain reads from the genome of the reference. Analysis of differential gene expression was performed using Cufflinks (version 2.2.1) (Trapnell et al., 2012). The ontology

1- PhD student of animal breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, and a researcher in Animal Science Research Department, Safiabad Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Dezful, Iran

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

3- Assistant Professor, Animal Science Department, University of Tehran, Iran

4- Associate Professor, Animal Science Department, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

5- Associate Professor, Animal Breeding, Research Institute of Animal Science

(*- Corresponding author email: m_tahmoorespur@yahoo.com)

examination of differential Isoform expression, including the biological processes of genes, was carried out by David's site (<https://david.ncicrf.gov>)(Dennis et al 2003) . To identify different isoform of the gene and to measure the expression of isoform, it is necessary to examine the position of microwave splicing between the exons. For this purpose, assembled transcripts mapped by Cufflinks were used to compare the expression of isoform with Cuffcompare. Cuffcompare compares the transcripts that are assembled with a reference genome and categorizes each transcript into known, new, and potential new isoform.

Results and Discussion:

The phenotypic results showed that the difference in the mean RFI values between the native ($+13.430 \pm 5.393$ g/day) and commercial (-11.212 ± 4.435 g/day) chickens was highly significant ($P < 0.001$). About 83% of the sequenced fragments were matched to the reference genome and Duplex analysis of gene expression was performed using Cuffdiff software package (v2.2.1). Differential expression analysis for more than ۴۵۰۷۰ isoform Related to 19003 genes using Cuffdiff (v2.2.1) showed that 28949 and ۱۶۱۲۱ isoform were up- and down-regulated (adjusted $P \leq 0.05$) in the native breed, respectively. 206 Isoform was identified as a change in expression between the native and commercial chickens. Moreover 21081 novel isoform were identified which have not been included in the gene annotation so far. Moreover, the functional enrichment analysis showed that the down-regulated isoform in the native chickens were mainly involved in the different response to stress.response to oxygen-containing compound.response to cytokine.response to nutrient.response to lipid.animal organ development.single-organism biosynthetic process.regulation of multi-organism process response to nutrient level and lipid biosynthetic process. The Differentially Expressed Genes and their isoform explored between the chickens of the two breeds led to the identification of some important candidate genes for further breed improvement programs, including RSAD2, IL15, EGR1, and DUSP16. These genes could be related to the higher RFI of the native.

Conclusion:

Our findings showed that a large number of related genes with metabolism (fat, amino acids, carbohydrates, and vitamins), growth, as well as oxidative stress and immunity, can make a difference in the RFI. Identification of the difference genes and their isoform between two breeds of chickens led to the identification of important candidate genes for breeding programs, including RSAD2, IL15, EGR1 and DUSP16.

Keywords : Isoform, RNA_Seq, residual feed intake, chicken



بررسی عملکرد الگوریتم هوشمند تجزیه مقدار تکین (SVD) در بازیابی ژنوتیپ‌های از دست رفته در سناریوهای مختلف از تعداد نشانگر، اندازه جمعیت و فراوانی آل نادر

فرهاد غفوری کسبی^۱ - علی گودرز تله جردی^{۲*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۰۲

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی عملکرد الگوریتم هوشمند تجزیه مقدار تکین (SVD)^۳ در بازیابی ژنوتیپ‌های از دست رفته بود. به این منظور، ژنومی متشکل از ۱ کروموزوم به طول یک مورگان که بر روی آن در سناریوهای مختلف به ترتیب ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰، ۲۵۰۰ و ۳۰۰۰ نشانگر تک نوکلئوتیدی دو آللی (SNP) با فراوانی اولیه یکسان ۰/۵ توزیع شده بود برای ۱۰۰۰ فرد شبیه‌سازی شد. در ادامه جهت ایجاد فایل اطلاعات در چهارچوب اطلاعات "تعیین ژنوتیپ با توالی‌یابی" (GBS)^۴ اطلاعات ژنوتیپی به ترتیب ۵٪، ۱۰٪، ۲۵٪، ۵۰٪، ۷۵٪ و ۹۰٪ از SNP‌های افراد از ماتریس ژنوتیپی حذف شده و مجدداً توسط روش SVD بازیابی شدند. درصد ژنوتیپ‌های به‌درستی بازیابی شده (نسبت تعداد ژنوتیپ‌های به درستی بازیابی شده به کل ژنوتیپ‌های از دست رفته) به‌عنوان شاخصی از صحت بازیابی ژنوتیپ (۲) در سناریوهای مختلف مورد استفاده قرار گرفت. صحت بازیابی ژنوتیپ‌های از دست رفته با استفاده از روش SVD قابل توجه بود به طوری که با افزایش درصد ژنوتیپ‌های از دست رفته تا ۵۰٪، SVD با صحتی در حدود ۸۰٪ ژنوتیپ‌های از دست رفته را بازیابی نمود. در سناریوهای ۷۵٪ و ۹۰٪ ژنوتیپ از دست رفته صحت بازیابی ژنوتیپ کاهش یافته و به ترتیب ۷۰٪ و ۴۸٪ بود. در شرایط برابر از تعداد نشانگر و درصد ژنوتیپ از دست رفته، با افزایش تعداد افراد حاضر در جمعیت از ۱۰۰۰ به ۲۰۰۰ فرد، توانایی بازیابی ژنوتیپ توسط روش SVD افزایش یافت. در یک درصد ثابت از ژنوتیپ‌های از دست رفته، با افزایش تعداد نشانگر صحت بازیابی ژنوتیپ افزایش یافت به نحوی که با افزایش تعداد نشانگر از ۵۰۰ به ۳۰۰۰ نشانگر، حدوداً ۱۰٪ به صحت بازیابی ژنوتیپ افزوده شد. یک رابطه معکوس بین میزان فراوانی آل نادر (MAF) و ۳ مشاهده شد به گونه‌ای که با افزایش MAF از ۰/۰۱ به ۰/۴۰ صحت بازیابی ژنوتیپ به میزان ۸ درصد کاهش یافت. به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که الگوریتم SVD با صحت بالایی می‌تواند ژنوتیپ‌های از دست رفته را بازیابی کند به ویژه زمانی که درصد ژنوتیپ‌های از دست رفته کم باشد، اندازه جمعیت بزرگ باشد و فراوانی آل نادر نیز پایین باشد.

واژه‌های کلیدی: الگوریتم SVD، بازیابی ژنوتیپ، SNP

مقدمه

اگرچه استفاده از اطلاعات ژنتیک مولکولی برای اهداف اصلاح نژادی سال‌ها پیش توسط نیمن-سورنسون و روبرتسون (۱۳) ارائه شده بود، اما علی‌رغم وجود دانش لازم به دلیل عدم دسترسی به اطلاعات ژنتیکی برای سالیان متمادی انجام این امر میسر نبود. در سال‌های ابتدایی قرن حاضر، پیشرفت‌های فراوان در توالی‌یابی ژنوم

حیوانات اهلی که امکان شناسایی هزاران نشانگر DNA به شکل چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP)^۵ را فراهم نمود زمینه را برای ارائه ایده انتخاب ژنومی فراهم کرد (۱۴). میوسن و همکاران (۱۴) در مقاله معروف خود چگونگی استفاده از ابزار ریاضی و به خصوص تئوری بیز را در پیش‌بینی اثر نشانگرها جهت برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی تشریح نمودند. بعد از آن محققین دیگر نیز چگونگی استفاده از این روش در برنامه‌های مختلف اصلاح نژادی را نشان دادند (۴، ۸، ۱۶، ۲۰، ۲۳ و ۲۴). در انتخاب ژنومی فرایند انتخاب از طریق تعیین ژنوتیپ افراد برای تعداد زیادی نشانگر SNP صورت می‌گیرد که بر حسب گونه تعداد SNP‌ها متفاوت است. برای مثال در حال حاضر از تراشه‌های متراکم SNP که در برگیرنده اطلاعات ژنوتیپی ۵۴۰۰۰ SNP (۵۴k) است به صورت تجاری برای تعیین ژنوتیپ گاوهای

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

۲- استادیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

(*) - نویسنده مسئول:

Email: A.goudarz@basu.ac.ir

DOI: 10.22067/ijasr.v10i4.66389

3- Singular Value Decomposition

4- Genotype by Sequencing

5- Single Nucleotide Polymorphism

مواد و روش‌ها

با استفاده از بسته نرم‌افزاری *hypred* (۲۳) ژنومی متشکل از ۱ کروموزوم به طول یک مورگان که بر روی آن در سناریوهای مختلف به ترتیب ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰، ۲۵۰۰ و ۳۰۰۰ SNP با فراوانی اولیه یکسان ۰/۵ در قالب توزیع نرمال توزیع شده بود شبیه‌سازی شد. به هر جایگاه SNP با ژنوتیپ AA کد ۲، با ژنوتیپ Aa کد ۱ و با ژنوتیپ aa کد صفر اختصاص داده شد.

جمعیت پایه به تعداد ۱۰۰ فرد (۵۰ نر و ۵۰ ماده) شبیه‌سازی شده و اجازه داده شد تا برای ۵۰ نسل به طور تصادفی در آن آمیزش صورت بگیرد. در این حالت به طور تصادفی از هاپلوتایپ‌های پدری و مادری نمونه‌گیری شده و از آنها برای تولید نتایج استفاده گردید. از هر دو والد فقط دو فرزند ایجاد خواهد شد که در نتیجه اندازه جمعیت در طی ۵۰ نسل در تعداد ۱۰۰ فرد ثابت باقی خواهد ماند. به عبارت دیگر در طی این نسل‌ها اندازه موثر جمعیت (N_e) ۱۰۰ خواهد بود. در نسل ۵۱ اندازه جمعیت به ۱۰۰۰ و در سناریوی دیگر به ۲۰۰۰ فرد افزایش داده شد که دارای اطلاعات ژنوتیپی بوده و ماتریس ژنوتیپی بر اساس ژنوتیپ این افراد تشکیل شد. در ادامه به ترتیب ۵، ۲۰، ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درصد از اطلاعات ژنوتیپ‌ها در افراد حذف شدند. برای بررسی تأثیر تعداد افراد، دو سناریو شامل ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ فرد که دارای اطلاعات ژنوتیپی برای ۱۰۰۰ نشانگر بودند بررسی شد. برای بررسی حداقل فراوانی آللی^۳ (MAF)، سطوح مختلف MAF شامل ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱۰، ۰/۲۰، ۰/۳۰ و ۰/۴۰ در نظر گرفته شد. پارامترهای استفاده شده برای شبیه‌سازی ماتریس ژنوتیپی در جدول ۲ نشان داده شده است. با استفاده از روش هوشمند SVD (۲۵)، ابتدا ماتریس حاوی اطلاعات ژنوتیپی تجزیه شده و ویژه مقادیرهای آن به دست می‌آید و سپس از طریق آنها ژنوتیپ‌های از دست رفته بازایی می‌شوند. ماتریس ژنوتیپی (M) به صورت زیر را در نظر بگیرید:

$$M = U \sum V^T$$

که در آن U ابعادی برابر با $m \times k$ داشته و حاوی ویژه بردارها است، V هم ماتریس حاوی ویژه مقادیرها با ابعاد $n \times k$ است. بازایی ژنوتیپ در طی مراحل زیر صورت می‌گیرد. (۱) ابتدا اطلاعات از دست رفته به وسیله روش^۴ MNI که روشی حد واسط است بازایی می‌شوند. روش MNI که یک روش بازایی نسبتاً ضعیف است یک بازایی اولیه از ژنوتیپ از دست رفته نشانگر z (z/امین SNP) را به دست می‌دهد که به عنوان یک پیش برآورد برای SVD قلمداد

شیری استفاده می‌شود اگرچه تراشه‌های ۷۵۰۰۰۰ SNP (۷۵۰k) نیز در دسترس است اما به دلیل هزینه بالای تعیین ژنوتیپ با این تراشه‌ها، استفاده از آنها به پروژه‌های تحقیقاتی محدود است (۲۲).

در هنگام تعیین ژنوتیپ، معمولاً به طور میانگین اطلاعات ژنوتیپی ۵٪ از SNPها از دست می‌رود. لذا قبل از انجام ارزیابی ژنومی این اطلاعات از دست رفته باید به نحوی بازایی شوند چرا که برخی از این SNPها ممکن است بزرگ اثر باشند و فقدان اطلاعات مربوط به آنها منجر به کاهش صحت ارزیابی ژنومی شود (۱۱). راه حلی که برای این مساله مورد استفاده قرار می‌گیرد بازایی ژنوتیپ^۱ (۱۲) نامیده می‌شود که مرحله‌ای ضروری و پیش نیاز ارزیابی ژنومی است. گاهی اوقات نیز بنا به دلایل اقتصادی حیوانات با تراشه‌های SNP با تراکم پایین مثلاً ۳k یا ۷k تعیین ژنوتیپ می‌شوند و جهت بهره‌برداری از اطلاعات موجود در تراشه‌های با تراکم بالاتر از SNPها مثلاً تراشه‌های ۵۴k، تراشه ۳k یا ۷k به تراشه ۵۴k بازایی می‌شود (۲).

اخیراً به منظور توسعه انتخاب ژنومی و کاهش هزینه‌های مربوط به تعیین ژنوتیپ، استفاده از اطلاعات تعیین ژنوتیپ با توالی‌یابی و یا در اصطلاح اطلاعات GBS (۶) که یکی از پروتکل‌های خانواده نسل بعدی توالی‌یابی^۲ (NGS) است مورد توجه قرار گرفته است. هزینه تعیین ژنوتیپ با استفاده از این روش به مراتب کمتر از روش‌های رایج است. استفاده از اطلاعات GBS در ارزیابی ژنومی هنوز در مراحل اولیه قرار داشته اما انتظار این است که به زودی شاهد استفاده هرچه بیشتر این اطلاعات در ارزیابی ژنومی باشیم (۵ و ۹). یکی از معایب استفاده از اطلاعات GBS این است که همه SNPها تعیین ژنوتیپ نمی‌شوند و بنابراین اطلاعات ژنوتیپی بخشی از SNPها در آنها وجود ندارد. در این روش، SNPهای فاقد اطلاعات ژنوتیپی در حیوانات مختلف مشابه نبوده و حالت تصادفی دارند (جدول ۱) و لذا با استفاده از روش‌های رایج بازایی ژنوتیپ (۳ و ۱۶) قابل بازایی نیستند. برخی روش‌های هوشمند که عمدتاً جزء روش‌های ناپارامتری می‌باشند برای بازایی ژنوتیپ‌های از دست رفته در داده‌های GBS قابل استفاده هستند. در این تحقیق عملکرد یکی از این روش‌ها که در اختصار تجزیه مقدار تکین (SVD) (۲۵) نامیده می‌شود در بازایی ژنوتیپ‌های از دست رفته مورد بررسی قرار خواهد گرفت. روش SVD جزو روش‌های توانمند در بازایی داده‌های گم شده است به‌ویژه در زمانی که با فایل‌های اطلاعات دارای خطاهای ژنوتیپی مواجه هستیم، استفاده از این روش پیشنهاد می‌شود (۲۵).

می‌شود. در این مرحله ماتریس M به صورت ابتدایی کامل می‌شود. (۲) ویژه مقدارهای ماتریس ژنوتیپی (M) برآورد شده و در ماتریس U ذخیره می‌شوند. (۳) برای هر نشانگر z ، ضرایب رگرسیونی از هر

ستون ماتریس U از طریق یک رگرسیون خطی چند متغیره به‌دست می‌آید (یک ضریب از هر ستون).

فرد Animal	نشانگر Marker									
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
1		0		1	2	1	0	2		0
2	2		1	0		0	0	1		1
3	1	0		2	2	0		1	0	
4		2	1		0	1	2	0	1	2
5	0		2	0		2			1	1
6	2	2	0		1		0	0	2	
7	2		1	0	2	1		2	1	0
8	1	2	0	2		1	0	0	2	

جدول ۱- شکل شماتیک از اطلاعات GBS در تعدادی از افراد ($0=A_1A_1$, $1=A_1A_2$, $2=A_2A_2$)

Table 1- Illustration example of GBS data in some individuals ($0=A_1A_1$, $1=A_1A_2$, $2=A_2A_2$)

جدول ۲- پارامترهای مورد استفاده در شبیه‌سازی ماتریس ژنوتیپی

Table 2- Parameters used for simulation of genotypic matrix

اندازه ژنوم	1M
Genome size	
تعداد کروموزوم	1
Number of chromosome	
تعداد SNP به‌ازای هر کروموزوم	500, 1000, 1500, 2500, 3000
Number of SNP per chromosome	
تعداد افراد	1000, 2000
Number of individuals	
تعداد مؤثر جمعیت	100
Effective population size (Ne)	
فراوانی آلل نادر	0.01, 0.05, 0.10, 0.20, 0.30
Minor allele frequency (MAF)	

RSS در تکرارهای پی در پی است و T آستانه‌ای است که توسط کاربر تعیین می‌شود و تکرار تا زمانی ادامه می‌یابد تا حاصل کسر فوق از T کوچکتر شود. برای بازیابی ژنوتیپ‌ها به روش SVD از بسته نرم‌افزاری bcV (۱۷) استفاده شد. سایر تجزیه و تحلیل‌های انجام شده نیز با استفاده از توابع موجود در نرم افزار R انجام شد. به طور مشابه با تحقیقات دیگر (۷، ۱۶ و ۲۷) درصد ژنوتیپ‌های به‌درستی پیش‌بینی شده به صورت زیر به‌عنوان شاخص صحت پیش-بینی ژنوتیپ (r) مورد استفاده قرار گرفت.

$r = 100 \times \text{تعداد کل ژنوتیپ از دست رفته} / \text{تعداد ژنوتیپ به درستی بازیابی شده}$

$$y = \hat{U} + \varepsilon$$

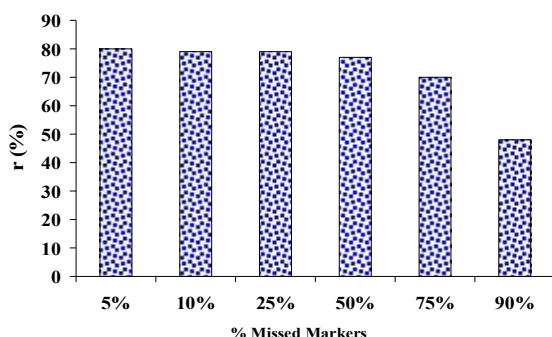
که در آن y یک بردار ستونی برای نشانگر z است، U ماتریسی با ابعاد $m \times k$ و حاوی k ویژه مقدار است، b برداری حاوی ضرایب رگرسیونی و ε میزان خطای مدل را نشان می‌دهد. فقط افرادی که فاقد ژنوتیپ از دست رفته برای نشانگر z هستند برای تخمین b استفاده می‌شوند. (۴) U و ضرایب رگرسیونی برآورد شده (b) جهت پیش‌بینی ژنوتیپ‌های از دست رفته نشانگر z مورد استفاده قرار می‌گیرد. (۵) با استفاده از ماتریس کامل شده مراحل ۲ تا ۴ تکرار می‌شوند تا زمانی که رابطه زیر برقرار شود:

$$\frac{[RSS_0 - RSS_1]}{RSS_1} < T$$

در رابطه فوق RSS مجموعه مربعات باقی‌مانده بین مقادیر از دست نرفته و تخمین SVD آنها است. RSS_0 و RSS_1 مقادیر

نتایج و بحث

نشان داد که صحت پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی با استفاده از اطلاعات حاوی ژنوتیپ‌های بازبازی شده در دامنه ۰/۴۵ (بازبازی نمودن تراشه ۵k به تراشه ۵۴k) تا ۰/۹۹ (بازبازی نمودن تراشه ۷k به تراشه ۵۴k) صحت پیش‌بینی حاصل از تراشه ۵۴k قرار دارد (۲۸). در شکل ۲، تأثیر اندازه جمعیت بر صحت بازبازی ژنوتیپ نشان داده شده است. سناریو مطالعه شده همان سناریوی شکل ۱ می‌باشد با این تفاوت که تعداد افراد حاضر در جمعیت به ۲۰۰۰ فرد افزایش پیدا کرده است و در نتیجه اطلاعات ژنوتیپی برای هر جایگاه دو برابر شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود خصوصاً در سناریوهای ۷۵٪ و ۹۰٪ ژنوتیپ از دست رفته صحت بازبازی در مقایسه با شکل ۱ افزایش یافته است. پی و همکاران (۱۶) در یک مطالعه شبیه‌سازی و با استفاده از روش‌های بازبازی ژنوتیپ مبتنی بر خوشه‌بندی هاپلوتایپی، زنجیره مخفی مارکوف و مدل مخفی مارکوف گزارش کردند که در سناریوهای مختلف از تراکم نشانگری، با افزایش اندازه جمعیت از ۵۰ به ۴۵۰ صحت بازبازی ژنوتیپ به میزان ۵ درصد افزایش یافت. روشیارا و شولتز (۱۸) و روشیارا و همکاران (۱۹) با استفاده از شبیه‌سازی و همچنین اطلاعات مربوط به تراشه‌های SNP انسان تأثیر اندازه جمعیت بر صحت بازبازی ژنوتیپ را بررسی کرده و گزارش نمودند که در عمده روش‌های بازبازی ژنوتیپ، با افزایش اندازه جمعیت از ۴۰ به ۲۵۰۰ نفر صحت بازبازی ژنوتیپ افزایش می‌یابد. حیدری تبار و همکاران (۱۰) نیز افزایش در تعداد افراد را به‌عنوان یک راهکار مؤثر برای افزایش صحت بازبازی ژنوتیپ پیشنهاد دادند خصوصاً زمانی که افراد جمعیت با تراشه‌های SNP تراکم پایین تعیین ژنوتیپ شده باشند. با افزایش اندازه جمعیت تعداد افراد دارای ژنوتیپ معلوم برای جایگاه مورد نظر افزایش می‌یابد و در نتیجه آن احتمال اینکه ژنوتیپ از دست رفته به‌درستی بازبازی شود افزایش خواهد یافت چرا که عدم قطعیت تصمیم نهایی در مورد ژنوتیپ صحیح برای جایگاه کاهش می‌یابد.

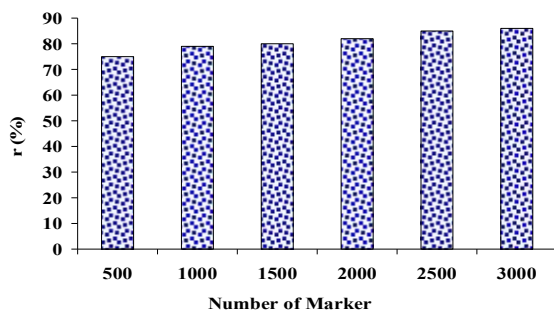


شکل ۱- صحت بازبازی ژنوتیپ (r) در درصد‌های مختلف از ژنوتیپ‌های از دست رفته (جمعیت شامل ۱۰۰۰ فرد، ۱۰۰۰ نشانگر)

Figure 1- Accuracy of genotype imputation (r) in different scenarios of masked genotypes (population consists 1000 individuals each genotyped for 1000 markers)

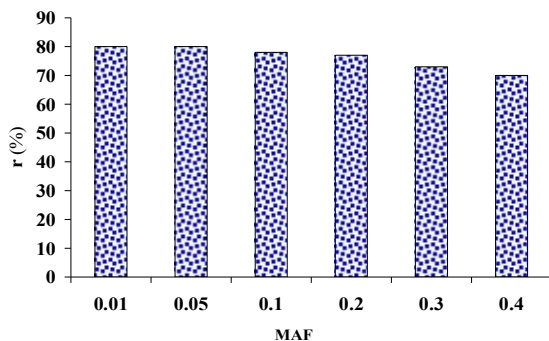
همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود صحت بازبازی ژنوتیپ‌های از دست رفته (r) با استفاده از روش SVD قابل توجه است. در سناریو ۵٪ ژنوتیپ از دست رفته، صحت بازبازی ژنوتیپ ۸۰٪ است و با افزایش درصد ژنوتیپ‌های از دست رفته تا ۵۰٪، صحت بازبازی کماکان در حدود ۸۰٪ حفظ می‌شود. با افزایش درصد ژنوتیپ‌های از دست رفته به ۷۵٪ و بعد از آن تا ۹۰٪، صحت بازبازی ژنوتیپ به ترتیب به ۷۰٪ و ۴۸٪ کاهش می‌یابد. این نتیجه منطقی است چرا که با افزایش درصد ژنوتیپ‌های از دست رفته منابع اطلاعاتی قابل بهره‌برداری توسط الگوریتم کاهش خواهد یافت. برای مثال در حالت ۹۰٪ ژنوتیپ از دست رفته، از مجموع $1000 \times SNP$ فقط اطلاعات ژنوتیپی $100 \times SNP$ باقی خواهد ماند در صورتی که در سناریوی ۵۰٪ ژنوتیپ از دست رفته، کماکان اطلاعات ژنوتیپی ۵۰۰ SNP وجود داشته که قابل استفاده توسط الگوریتم است. بری و کنی (۱) در گاوهای هلشتاین و و ورژکن و همکاران (۲۶) در جوجه‌های گوشتی با استفاده از یک الگوریتم بازبازی ژنوتیپ مبتنی بر مدل مخفی مارکوف^۱ نشان دادند که هرچه تعداد SNP ی که باید ژنوتیپ‌شان بازبازی شود کمتر باشد، صحت بازبازی ژنوتیپ نیز افزایش می‌یابد چرا که درصد SNP هایی که به درستی بازبازی می‌شوند افزایش می‌یابد و به عبارتی خطای بازبازی ژنوتیپ کاهش می‌یابد. هیکی و همکاران (۱۱) درصد‌های مختلف شامل ۵، ۵۰، ۷۵، ۸۷، ۹۴، ۹۸ و ۹۹ درصد از اطلاعات ژنوتیپی یک تراشه ۵۴k را حذف و سپس با استفاده از مدل مخفی مارکوف بازبازی نمودند و گزارش کردند که با افزایش حذف اطلاعات ژنوتیپی و بازبازی آن، میزان r از حدود ۱ (بازبازی ۵٪ از ژنوتیپ‌ها) به ۰/۲۰ (بازبازی ۹۹٪ از ژنوتیپ‌ها) کاهش یافت. کاهش در صحت بازبازی ژنوتیپ‌های از دست رفته به نوبه خود منجر به کاهش صحت پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی خواهد شد. هیکی و همکاران (۱۱)، پی و همکاران (۱۶) و ولمن و همکاران (۲۸) گزارش نمودند که با افزایش درصد ژنوتیپ‌های بازبازی شده، صحت پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی حاصل از تراشه‌های حاوی ژنوتیپ‌های بازبازی شده کاهش می‌یابد که می‌تواند به عنوان یکی از مشکلات بازبازی ژنوتیپ مطرح باشد اگرچه میزان کاهش در صحت ارزیابی ژنومی در زمانی که درصد ژنوتیپ‌های بازبازی شده کم باشد بسیار اندک و در حد یک درصد است. در این مطالعات، پنل‌های SNP با تراکم پایین (حداکثر ۷k و عمدتاً ۳k) به تراشه ۵۴k بازبازی شده و سپس ارزش‌های اصلاحی ژنومی در دو حالت استفاده از تراشه‌های حاوی اطلاعات بازبازی شده و تراشه‌های ۵۴k کامل پیش‌بینی شده و صحت پیش‌بینی‌ها با هم مقایسه شده‌اند. نتایج

صحت بازیابی ژنوتیپ را در پی خواهد داشت. با افزایش MAF درصد ژنوتیپ هتروزیگوت برای جایگاه‌های مختلف افزایش می‌یابد. در حالت اخیر معمولاً در اکثر روش‌های بازیابی ژنوتیپ صحت بازیابی به دلیل کاهش عدم قطعیت تصمیم نهایی در مورد نوع ژنوتیپ برای جایگاه‌ها کاهش می‌یابد (۱۱). با کاهش تعداد نشانگرها از ۱۰۰۰ به ۵۰۰ عدد تأثیر افزایش MAF بر صحت بازیابی ژنوتیپ افزایش می‌یابد خصوصاً در سطوح بالاتر از MAF. این مسأله در شکل ۵ نشان داده شده است. ژانگ و همکاران (۳۰) گزارش نمودند که وقتی سطح MAF پایین باشد یک راه برای افزایش صحت بازیابی ژنوتیپ افزایش اندازه جمعیت و در نتیجه افزایش اندازه ماتریس ژنوتیپی است.



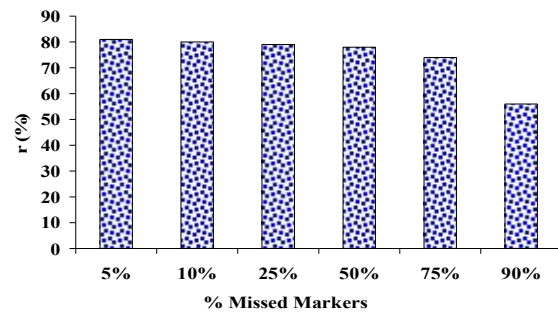
شکل ۳- تأثیر تعداد نشانگر بر صحت بازیابی ژنوتیپ (r)

Figure 3- The effect of number of markers on accuracy of genotype imputation (r)



شکل ۴- تأثیر سطوح مختلف MAF بر صحت بازیابی ژنوتیپ (r) (جمعیت شامل ۱۰۰۰ فرد، ۱۰۰۰ نشانگر)

Figure 4- The effect of different levels of MAF on accuracy of genotype imputation (r) (population consisted of 1000 individuals genotyped for 1000 markers)



شکل ۲- تأثیر افزایش تعداد افراد از ۱۰۰۰ به ۲۰۰۰ فرد بر صحت بازیابی ژنوتیپ (r) در درصدهای مختلف از ژنوتیپ‌های از دست رفته

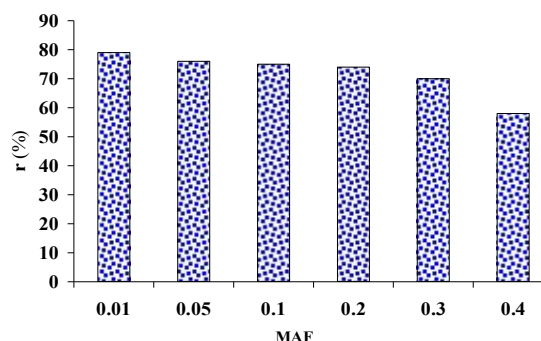
Figure 2- The effect of increase in number of individual from 1000 to 2000 on accuracy of genotype imputation (r) in different levels of masked genotypes

در شکل ۳، تأثیر تعداد نشانگر بر صحت بازیابی ژنوتیپ‌های از دست رفته در جمعیتی شامل ۱۰۰۰ فرد نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود با افزایش تعداد نشانگر صحت بازیابی ژنوتیپ افزایش می‌یابد. البته میزان افزایش صحت بازیابی ژنوتیپ به صورت خطی نیست و به عبارت دیگر با دو برابر شدن تعداد نشانگر صحت بازیابی دو برابر نمی‌شود چرا که اطلاعات مفید جهت بهره برداری توسط الگوریتم دو برابر نخواهد شد. با افزایش تعداد نشانگر از ۵۰۰ به ۳۰۰۰ نشانگر، حدوداً ۱۰٪ به صحت بازیابی ژنوتیپ افزوده شده است. نتیجه اخیر با یافته‌های هیکی و همکاران (۱۱) در تطابق است. همچنین شروتین و همکاران (۱۹) در گونه گاو نشان دادند که افزایش تعداد نشانگر منجر به افزایش صحت بازیابی ژنوتیپ خواهد شد. درضمن این محققین نشان دادند که تأثیر تعداد نشانگر بسیار بیشتر از اندازه کروموزوم بر صحت بازیابی ژنوتیپ تأثیر می‌گذارد. با توجه به اینکه نسبت حذف ژنوتیپ‌ها در همه سناریوها ثابت و به میزان ۵۰٪ بود، با افزایش تعداد نشانگر، نسبت نشانگرهای با ژنوتیپ معلوم افزایش می‌یابد و به عبارت دیگر منابع اطلاعات ژنوتیپی مورد استفاده توسط الگوریتم افزایش خواهد یافت و در نتیجه توانایی مدل جهت بازیابی ژنوتیپ‌های از دست رفته افزایش می‌یابد.

شکل ۴ نیز تأثیر سطوح مختلف MAF بر صحت بازیابی ژنوتیپ را نشان می‌دهد (نسبت حذف ژنوتیپ‌ها در همه سطوح MAF ثابت و به میزان ۵۰٪ بود). یک رابطه معکوس بین میزان MAF و r مشاهده شد به گونه‌ای که با افزایش MAF از ۰/۰۱ به ۰/۴۰ صحت بازیابی ژنوتیپ به میزان ۸ درصد کاهش می‌یابد. نتیجه اخیر نشان می‌دهد که نشانگرهای با MAF پایین با صحت بالاتری بازیابی می‌شوند. هیکی و همکاران (۱۰) و پی و همکاران (۱۶) نیز نتایج مشابهی را گزارش نمودند. لین و همکاران (۲۰۱۰) و ونگ و همکاران (۲۰۱۲) سطوح مختلف MAF را بر صحت بازیابی ژنوتیپ بررسی کرده و گزارش کردند که افزایش MAF به بیشتر از ۵٪ کاهش

نتیجه گیری کلی

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که الگوریتم SVD با صحت بالایی می تواند ژنوتیپ های از دست رفته را بازیابی کند. زمانی که درصد ژنوتیپ های از دست رفته کمتر باشد توانایی این الگوریتم قابل توجه است. با افزایش درصد ژنوتیپ های از دست رفته، توانایی الگوریتم در بازیابی ژنوتیپ های از دست رفته کاهش می یابد که علت آن کاهش در منابع قابل بهره برداری توسط الگوریتم است. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که تحت شرایط ثابت بودن درصد ژنوتیپ های از دست رفته، افزایش در اندازه ماتریس ژنوتیپی از طریق افزایش در تعداد نشانگر تعیین ژنوتیپ شده و یا افزایش در تعداد افراد دارای اطلاعات ژنوتیپی، صحت بازیابی ژنوتیپ افزایش می یابد. با افزایش MAF صحت بازیابی ژنوتیپ کاهش یافت که میزان کاهش در شرایط تعداد کمتر نشانگر بیشتر بود. استفاده از این روش جهت بازیابی ژنوتیپ های از دست رفته در داده های واقعی حاصل از منابع مختلف می تواند موضوع تحقیقات دیگری باشد.



شکل ۵- تأثیر سطوح مختلف MAF بر صحت بازیابی ژنوتیپ (r) با استفاده از اطلاعات ۵۰۰ نشانگر (جمعیت شامل ۱۰۰۰ فرد)

Figure 5- The effect of different levels of MAF on accuracy of genotype imputation (r) using 500 markers (population consists 1000 individuals)

منابع

- Berry, D. P., and J. F. Kearney. 2011. Imputation of genotypes from low- to high-density genotyping platforms and implications for genomic selection. *Animal*, 5: 1162-1169.
- Calus, M. P. L., A. C. Bouwman, J. M. Hickey, R. F., Veerkamp, and H. A. Mulder. 2014. Evaluation of measures of correctness of genotype imputation in the context of genomic prediction: a review of livestock applications. *Animal*, 21:1-11.
- Cleveland, M. A., and J. M. Hickey. 2013. Practical implementation of cost-effective genomic selection in commercial pig breeding using imputation. *Journal of Animal Science*, 91: 3583-3592.
- Daetwyler, H. D., M. P. L. Calus, R. Pong-Wong, G. de los Campos, and J. M. Hickey. 2013. Genomic prediction in animals and plants: simulation of data, validation, reporting, and benchmarking. *Genetics*, 193: 347-365.
- Donato, M., S. O. Peters Mitchell, S. E. T. Hussain, and I. G. Imumorin. 2013. Genotyping-by-Sequencing (GBS): A novel, efficient and cost-effective genotyping method for cattle using next generation sequencing. *PLOS ONE*, 8: e62137.
- Elshire, R. J., J. C. Glaubit, Q. Sun, J. A. Poland, and K. Kawamoto. 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLOS ONE*, 6:e19379.
- Erbe, M., B. J. Hayes, L. K. Matukumalli, S. Goswami, P. J. Bowman, C. M. Reich, B. A. Mason, and M. E. Goddard. 2012. Improving accuracy of genomic predictions within and between dairy cattle breeds with imputed high-density single nucleotide polymorphism panels. *Journal of Dairy Science*, 95:4114-4129.
- Goddard, M. E. 2009. Genomic selection: prediction of accuracy and maximization of long term response. *Genetica*, 136: 245-252.
- Gorjanc, G., M. A. Cleveland, R. D. Huston, and J. M. Hickey. 2015. Potential of genotyping-by-sequencing for genomic selection in livestock populations. *Genetics Selection Evolution*, 47:12.
- Heidaritabar, M., M. P. L. Calus, A. Vereijken, A. Martien, M. Groenen, and J. W. M. Bastiaansen. 2015. Accuracy of imputation using the most common sires as reference population in layer chickens. *BMC Genet.* 16: 101.
- Hickey, J. M., J. Crossa, R. Babu, and G. de los Campos. 2012. Factors affecting the accuracy of genotype imputation in populations from several maize breeding programs. *Crop Science*, 52:654-663.
- Li, Y., C. Willer, S. Sanna, and G. Abecasis. 2009. Genotype Imputation. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 10: 387-406.
- Lin, P., S. M. Hartz, Z. Zhang, S. F. Saccone, and J. Wang. 2010. A new statistic to evaluate imputation reliability. *PLOS ONE*, 5, e9697.

14. 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.
15. Neimann-Sorensen, A., and A. Robertson. 1961. The association between blood groups and several production characters in three Danish cattle breeds. *Acta Agriculture Scandinavia*, 11: 163-196.
16. Pei, Y. F., J. Li, L. Zhang, C. J. Papasian, and H. W. Deng. 2008. Analyses and comparison of accuracy of different genotype imputation methods. *PLOS ONE*, 3:e3551.
17. Perry, P. O. 2009. bcv: Cross-Validation for the SVD. R package version 1.0. Available at: <http://CRAN.R-project.org/package=bcv>.
18. Roshyara, N. R., K. Horn, H. Kirsten, P. Ahner, and M. Scholz. 2015. Impact of genetic similarity on imputation accuracy. *BMC Genetics*, 16:90.
19. Schaeffer, L. R. 2006. Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 123: 218-223.
20. Schrooten, C., R. Dasonneville, V. Ducrocq, R. F. Brøndum, M. S. Lund, and J. Chen. 2014. Error rate for imputation from the Illumina BovineSNP50 chip to the Illumina Bovine HD chip. *Genetics Selection Evolution*, 46(1):10.
21. Su, G., R. F. Brøndum, P. Ma, B. Guldbrandtsen, G. P. Aamand, and M. S. Lund. 2012. Comparison of genomic predictions using medium-density (~54,000) and high-density (~777,000) single nucleotide polymorphism marker panels in Nordic Holstein and Red Dairy Cattle populations. *Journal of Dairy Science*, 95: 4657-4665.
22. Technow, F. 2013. hypred: Simulation of genomic data in applied genetics. Available at: <http://cran.r-project.org/web/packages/hypred/index.html>.
23. Toosi, A., R. L. Fernando, and J. C. Dekkers. 2009. Genomic selection in admixed and crossbred populations. *Journal of Animal Science*, 88: 32-46.
24. Troyanskaya, O., M. Cantor, G. Sherlock, P. Brown, T. Hastie, R. Tibshirani, D. Botstein, and R. B. Altman. 2001. Missing value estimation methods for DNA microarrays. *Bioinformatics*, 17:520-525.
25. Vereijken, A. L. J., G. A. A. Albers, and J. Visscher. 2010. Imputation of SNP genotypes in chicken using a reference panel with phased haplotypes. 9th World Conference of Genetics Applied on Livestock Production, Leipzig, Germany. Available at: <http://www.wcgalp.org/system/files/proceedings/2010/imputation-snp-genotypes-chicken-using-reference-panel-phased-haplotypes.pdf>
26. Weigel, K. A., G. de los Campos, A. I. Vazquez, G. J. M. Rosa, and D. Gianola. 2010. Accuracy of direct genomic values derived from imputed single nucleotide polymorphism genotypes in Jersey cattle. *Journal of Dairy Science*, 93: 5423-5435.
27. Wellmann, R., S. Preuß, E. Tholen, J. Heinkel, K. Wimmers, and J. Bennewitz. 2013. Genomic selection using low density marker panels with application to a sire line in pigs. *Genetics Selection Evolution*, 45: 28.
28. Weng, Z., Z. Zhang, X. Ding, W. Fu, P. Ma, C. Wang, and Q. Zhang. 2012. Application of imputation methods to genomic selection in Chinese Holstein cattle. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 3:6.
29. Zhang, Z., Q. Zhang, and X. D. Ding. 2011. Advances in genomic selection in domestic animals. *Chinese Science Bulletin*, 56: 2655-2663.



Studying the Performance of Intelligent Singular Value Decomposition Algorithm (SVD) in Imputation of Missing Genotypes in Different Scenarios of Number of Marker, Population Size and Minor Allele Frequency

F. Ghafouri-Kesbi¹ - A. Goudarztalejerdi^{2*}

Received: 27-07-2017

Accepted: 24-10-2017

Introduction By implementing genomic selection, high accurate estimates of breeding values in newborn individuals could be obtained in the absence of phenotypic records. In genomic selection, selection decisions are based on genomic breeding values predicted from high-density SNP pannels. Dramatic advances in sequencing technologies are providing highly dimensional molecular marker information at low cost. Next generation sequencing protocols such as genotype by sequencing (GBS) technology have been suggested as an efficient and cost-effective genotyping method for genomic selection in cattle. It capable of providing acceptable marker density for genomic selection or genome-wide association studies at roughly one third of the cost of currently available genotyping technologies. However, polymorphic loci scored by GBS can contain a large proportion of missing data across samples because random fragments of the genome are sequenced at low depth, leading some loci to have zero coverage in some individuals. Most analyses require a complete dataset; therefore, marker imputation is a necessary step before GBS data can be used for most purposes such as genomic selection. Order of markers is unknown in GBS data. Therefore, an imputation method which does not require previous information about the order of the markers is needed for imputing GBS data. Nonparametric models from the machine-learning repository have been proposed as an alternative to deal with such situations. These models do not follow a particular parametric design. Several different machine-learning approaches are currently used for genotype imputation and it is important to assess the performance of diverse methodologies and identify the methods that can provide the greatest predictive accuracy in a given population. Singular value decomposition imputation (SVD) is capable to impute missed markers in GBS data. The aim of this study was assessing the performance of intelligent SVD algorithm for imputation of missing genotypes.

Materials and Methods A genome consisted of one Morgan chromosome was simulated using the hypred package on which in different scenarios, respectively, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 and 3000 SNPs with equal initial frequency of 0.5 were arrayed for 1000 individuals. Coding for each genotype with A1 and A2 alleles were 2 for A1A1, 0 for A2A2 and 1 for A1A2 or A2A1, respectively. Then, in the framework of genotyping by sequencing data (GBS), genotype information of 5%, 10%, 25%, 50%, 75% and 90% of SNPs were masked and then imputed with SVD algorithm. Imputation accuracy (r) was assessed by the percentage of genotypes imputed correctly (number of genotypes correctly imputed/total number of masked genotypes). The effect of number of genotyped individuals (1000 and 2000 individuals), number of genotyped SNPs (500, 1000, 1500, 2000, 2500 and 3000 SNP) and levels of minor allele frequency (MAF) (0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 and 0.4) on imputation accuracy were also studied.

Results and Discussion The SVD imputation accuracy was noticeable. So by increasing the percentage of masked markers up to 50%, SVD was imputed missing genotypes with accuracy equal to 80%. In the scenarios of 70% and 90% of missing genotypes, the accuracy of imputation decreased and was 70% and 48%, respectively. In parallel to increase in the size of the population from 1000 to 2000 individuals, the imputation performance of SVD was increased, especially in the scenarios of 75% and 90% of masked genotypes. In parallel to increase in the number of markers, the imputation accuracy (r) increased in such a way that with increasing the number of markers from 500 to 3000 SNP, the accuracy of imputation increased by almost 10%. An inverse relationship was observed between MAF and r in a way that by increasing MAF from 0.01 to 0.40, the accuracy of imputation decreased by 8%. In other words, markers with lower MAF were imputed with higher accuracy.

Conclusion SVD performed well regarding genotype imputation for GBS platforms in a way that missing data can be imputed with reasonable accuracy even if the level of missing data are high; up to 50% and even greater accuracies may result if number of individuals in the population is high and level of MAF of genotyped SNPs is low. Therefore, SVD can be recommended for genotype imputation in genome assisted evaluation.

Keywords: Genotype imputation, SNP, SVD algorithm

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

2- Department of Pathobiology, School of Paraveterinary Science, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran

(*- Corresponding author email: A.goudarz@basu.ac.ir)

Contents

Ruminant nutrition

Effects of Weaning Age on Production and Economic Performance of Baluchi Ewe and Lamb	446
--	------------

M. Jafari- R. Valizadeh- A. A. Naserian

Investigation the Effect of Different Drying Methods of <i>Q. persica</i> Oak Leaves and PEG Supplementation on Concentration of Phenolic Component, Protozoa Population, and Methane Production	461
---	------------

Z. Gholami- F. fattahnia- H. Jahani-Azizabadi- G. Taasoli

Mehraban Sheep Response to Monensin Applied and Physical Form of Barley Grain- Emphasis on Protein Metabolism	475
--	------------

Sh. Najafi- M. M. Tabatabaei- Kh. Zaboli- A. A. Saki- A. Ahmadi

Determination of Antioxidant Properties, Nutritional Value and Rumen-Intestinal Digestion of <i>Pistacia Atlantica</i> Leaf with Nylon Bags Method	487
---	------------

F. Ganji- M. Bashtani- H. Farhangfar- S. E. Ghiasi

Poultry nutrition

Effects of Physical Modification of Nanostructure Aluminosilicate on Growth Performance, Carcass Traits and Blood Parameters of Broiler Chicken Challenged with Aflatoxin B1.	499
--	------------

H. Keyhani-Yazdi- S. J. Hosseini-Vashan- N. Afzali- M. Mojtahedi- A. Allahresani

Effect of <i>Urtica dioica</i> on Serum Parameters and Genes Expression of Nitric Oxide Synthase and Endothelin-1 in Broiler Chickens Involved in Pulmonary Hypertension	511
---	------------

B. Ahmadipour- F. Khajali

Effect of Enzyme Supplementation on AMEn, Dry Matter and Crude Protein Digestibility of Hull-Less Barley in Broiler Chickens	522
---	------------

H. Tiemouri- H. Zarghi- A. Golian

The Effect of Dietary Supplemental Methionine Source and Betaine Replacement on the Growth Performance and Carcass Characteristics of Normal and Heat-Stressed Broiler Chickens	539
--	------------

F. Sahebi Ala- A. Hassanabadi- A. Golian

Genetic and breeding

Isoform Expression Profile Analysis of Residual Feed Intake for Isfahan Native and Ross Chickens Using <i>RNA-Seq</i> Data	551
---	------------

H. R. Izadnia- M. Tahmoorespur- M. R. Bakhtiarizadeh- M. R. Nassiri- S. Esmailkhanien

Studying the Performance of Intelligent Singular Value Decomposition Algorithm (SVD) in Imputation of Missing Genotypes in Different Scenarios of Number of Marker, Population Size and Minor Allele Frequency	560
---	------------

F. Ghafouri-Kesbi- A. Goudarztalejrdi

«Research and Scientific Journal»
Iranian Journal of Animal Science Research

Vol. 10

No. 4

Winter 2019

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>