



عنوان مقالات

تغذیه نشخوارکنندگان

- اثر سطوح مختلف روشن کتان بر عملکرد، تجزیه پذیری، برخی از فراستجه‌های خونی و صفات کمی و کیفی گوشت در بره‌های پرواری ۱۳۳
- یداله چاشنی دل- سید مرتضی کاظمی- اسداله تیموری یانتری
- اثر منابع آلی و معدنی مکمل روی بر عملکرد و برخی فراستجه‌های خونی در بره‌های پرواری ۱۵۱
- رضا علیمحمدی- حسن علی عربی
- تأثیر افزودنی‌های بوتیرات منوگلیسرید و پروبیوتیک بر عملکرد رشد، برخی فراستجه‌های خونی و قابلیت هضم مواد مغذی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین ۱۶۵
- امیر تیماس- جمال سیف دواتی- صیاد سیف زاده- حسین عیدی بنمار - رضا سید شریفی
- کاهش نرخ آزادشدن اوره در شکمبه نشخوارکنندگان به کمک پوشش دار کردن اوره در آزمایشات درون تنی و برون تنی ۱۷۹
- میترا مزبانی- عباسعلی ناصریان- محسن دانش مسگران- رضا ولی زاده

تغذیه طیور

- تأثیر سطوح مختلف پودر فلفل قرمز جایگزین آنتی‌بیوتیک فلاووفولیپول بر عملکرد، جمعیت میکروبی و ریخت شناسی روده جوجه‌های گوشتی ۱۹۵
- سیده فریا احمدی نژاد- محسن افشارمنش- محمد سالارمعینی- هادی ابراهیم نژاد

ژنتیک و اصلاح

- بررسی هم‌خونی و تأثیر آن بر صفات رشد در گوسفند مغانی با استفاده از شجره ۲۰۷
- رضا بهرام- مریم اسرافیلی تازه کند محمدیه
- بررسی ساختار ژنتیکی و روابط فیلوژنی اسب‌های کاسپین، عرب و تالشی ۲۲۳
- رضا سید شریفی- سجاد بادیرین- نعمت هدایت ایورق- سیما ساور سفلی- جمال سیف دواتی- حسن خمیس آبادی
- پیش بینی و تایید *in silico* ریز RNA ها در بافت های مختلف گوسفند با منشا کروموزوم ۲۰ ۲۳۳
- وحیده عباسی- محمدرضا نصیری- علی جوادمنش

شناسایی جهش‌های $FecX^L$, $FecX^H$ و $FecX^B$ در ژن BMP15 در گوسفند نژادهای لک قشقایی و بهمنی در

- استان کهگیلویه و بویر احمد ۲۴۷
- مصطفی محقق دولت‌آبادی -اسما مرادعلی‌پور - فرخنده منصوری - فرنگیس فتاحی - زینب صالحی

فیزیولوژی

- تأثیر استفاده از مکمل‌های افزودنی بر متابولیت‌های خون، جمعیت میکروبی، نشخوار و انتقال غیرفعال ایمونوگلوبین‌ها در گوساله‌های هلشتاین ۲۵۹
- مسعود دیدارخواه- موسی وطن دوست

Contents

Ruminant nutrition

- Effect of different levels of linseed oil on performance, degradability, digestibility, some blood parameters, quantitative and qualitative traits of meat in fattening lambs 148
- Y. Chashnide- S. M. Kazemi - A. Teymuri Yanesari

Effects of Organic and Inorganic Sources of Zinc on Performance and Some Blood Parameters of Fattening Lambs 162

R. Alimohamady- H. Aliarabi

The effect of butyrate monoglyceride and probiotic additives on growth performance, some blood parameters and digestibility of nutrients in Holstein suckling calves 177

A. Timas- J. Seifdavati- S. Seifzadeh- H. Abdi Benemar- R. Seyed Sharifi

Determination of coated urea releasing in ruminant's rumen through *in vivo* and *in vitro* studies 193

M. Mazinani- A. A. Naserian- M. Danesh Mesgaran- R. Valizadeh

Poultry nutrition

- Effect of different levels red pepper powder Alternative With flavavophspholipol antibiotics, on performance, intestinal morphology and microbial population in broiler chicks 205
- S. f. Ahmadi nejad- M. Afsharmanesh- M. Salarmoini- H. Ebrahimnejad

Genetic and breeding

Inbreeding Investigation and its Effects on Growth Traits of Moghani Sheep Breed Using Pedigree 220

R. Behmaram- M. Esrafil Tazeh Kand Mohammadiyeh

Investigation of the genetic structure and phylogenic relationships of Caspian, Arabic and Taleshi horses 231

R. Seyedsharifi- S. Badbarin, N. Hedayat- S. Savarsofla- J. Seifdavati- H. Khamisabadi

Prediction and *In Silico* Validation of Micro-RNAs in Different Tissues Originated from Ovine Chromosome 20 244

V. Abbasi- M. R. Nasiri- A. Javadmanesh

Investigation of $FecX^L$, $FecX^{Hl}$ and $FecX^B$ Polymorphism in BMP15 Gene in Lac Qashqai and Bahmaei Sheep Breeds at Kohkiloueh and Boyerahmad Province 256

M. Muhaghegh-Dolatabady- A. Moradalipour- F. Mansori- F. Fattahy - Z. Salehi

Physiology

- The Effect of Additive Supplementation on Blood Metabolites, Microbial Population, Ruminants and Inactive Transmission of Immunoglobulins in Holstein Calf 271
- Masood Didarkhah- Moosa Vatandoost

نشریه علمی 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)

تابستان ۱۳۹۸

شماره ۲

جلد ۱۱

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: دکتر حسن نصیری مقدم

سردبیر: دکتر رضا ولی زاده

اعضای هیئت تحریریه:

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

ناشر: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

چاپ: چاپخانه دانشگاه فردوسی مشهد

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

علوم دامی ایران. صندوق پستی ۹۱۷۷۵-۱۱۶۳

نمابر: ۰۵۱-۳۸۷۸۷۴۳۰

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

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

این نشریه در پایگاه های زیر نمایه می شود:

پایگاه استنادی جهان اسلام (ISC)

پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID)

بانک اطلاعات نشریات کشور (MAGIRAN)

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



مندرجات

صفحه	تغذیه نشخوارکنندگان
۱۳۳	اثر سطوح مختلف روغن کتان بر عملکرد، تجزیه پذیری، برخی از فراسنجه‌های خونی و صفات کمی و کیفی گوشت در بره‌های پرواری
	یداله چاشنی دل - سید مرتضی کاظمی - اسداله تیموری یانسی
۱۵۱	اثر منابع آلی و معدنی مکمل روی بر عملکرد و برخی فراسنجه‌های خون در بره‌های پرواری
	رضا علیمحمدی - حسن علی عربی
۱۶۵	تأثیر افزودنی‌های بوتیرات منوگلیسرید و پروبیوتیک بر عملکرد رشد، برخی فراسنجه‌های خونی و قابلیت هضم مواد مغذی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین
	امیر تیماس - جمال سیف دواتی - صیاد سیف زاده - حسین عبدی بنمار - رضا سید شریفی
۱۷۹	کاهش نرخ آزادشدن اوره در شکمبه نشخوارکنندگان به کمک پوشش دار کردن اوره در آزمایشات درون تنی و برون تنی
	میترا مزینانی - عباسعلی ناصریان - محسن دانش مسگران - رضا ولی زاده
	تغذیه طیور
۱۹۵	تأثیر سطوح مختلف پودر فلفل قرمز جایگزین آنتی‌بیوتیک فلاووفسفولپول بر عملکرد، جمعیت میکروبی و ریخت‌شناسی روده جوجه‌های گوشتی
	سیده فریبا احمدی نژاد - محسن افشارمنش - محمد سالارمعینی - هادی ابراهیم نژاد
	ژنتیک و اصلاح نژاد دام و طیور
۲۰۷	بررسی هم‌خونی و تأثیر آن بر صفات رشد در گوسفند مغانی با استفاده از شجره
	رضا بهرام - مریم اسرافیلی تازه کند محمدیه
۲۲۳	بررسی ساختار ژنتیکی و روابط فیلوژنی اسب‌های کاسپین، عرب و تالشی
	رضا سید شریفی - سجاد بادبرین - نعمت هدایت ایوریق - سیما ساور سفلی - جمال سیف دواتی - حسن خمیس آبادی
۲۳۳	پیش‌بینی و تایید <i>in silico</i> ریز RNA ها در بافت‌های مختلف گوسفند با منشا کروموزوم ۲۰
	وحیده عباسی - محمدرضا نصیری - علی جوادمنش
۲۴۷	شناسایی جهش‌های $FecX^B$ و $FecX^H$ ، $FecX^I$ در ژن $BMP15$ در گوسفند نژادهای لک قشقایی و بهمنی در استان کهگیلویه و بویر احمد
	مصطفی محقق دولت‌آبادی - اسما مرادعلی‌پور - فرخنده منصوری - فرنگیس فتاحی - زینب صالحی
	فیزیولوژی
۲۵۹	تأثیر استفاده از مکمل‌های افزودنی بر متابولیت‌های خون، جمعیت میکروبی، نشخوار و انتقال غیرفعال ایمونوگلوبین‌ها در گوساله‌های هلشتاین
	مسعود دیدارخواه - موسی وطن دوست

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)

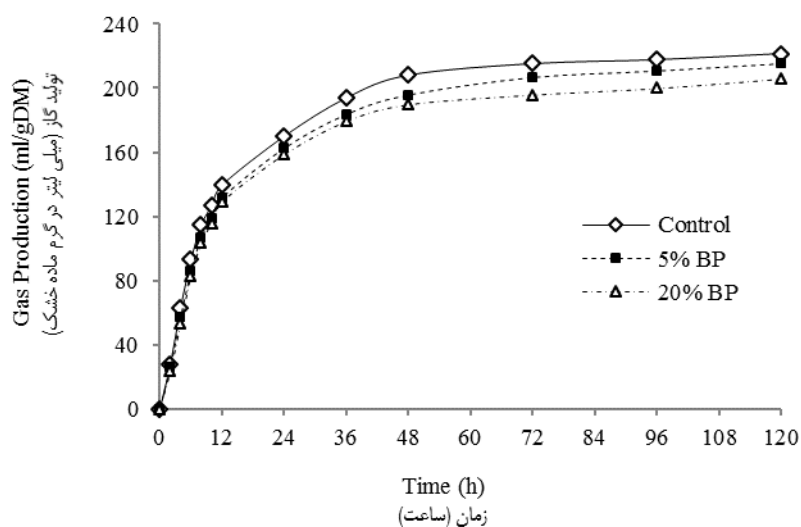
✓ **از اعداد انگلیسی در محورهای افقی و عمودی در شکل ها استفاده شود. توجه: در مورد شکل، از الگوهای سیاه و سفید استفاده**

شود و رنگ زمینه در کلیه شکلهای بایستی سفید باشد.

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

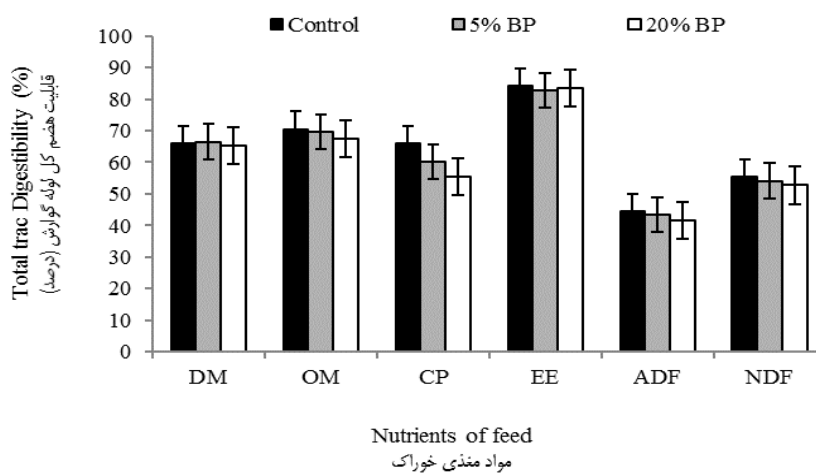
✓ **از آوردن کادر دور شکل و خطوط طولی در شکل خودداری شود.**

✓ **سعی شود با نرم افزار Excle روی شکلهای به خوبی کار شود تا بالاترین کیفیت برای شکلهای 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 سطوح مختلف روغن کتان بر عملکرد، تجزیه پذیری، برخی از فراسنجه‌های خونی و

صفات کمی و کیفی گوشت در بره‌های پرواری

یداله جاشنی دل^{۱*} - سید مرتضی کاظمی^۲ - اسداله تیموری یانسی^۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۱۱

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر مصرف سطوح مختلف روغن دانه کتان بر تجزیه پذیری، عملکرد، خصوصیات لاشه و فراسنجه‌های خونی در بره‌های پرواری انجام شد. در آزمایش اول، تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک، پروتئین خام و NDF جیره‌های آزمایشی با استفاده از روش کیسه نایلونی و با ۳ رأس گوسفند دارای فیستولای شکمبه‌ای نژاد زل تغذیه شده در حد نگهداری اندازه‌گیری شد. زمان‌های شکمبه‌گذاری در این آزمایش شامل زمان‌های صفر، ۴، ۸، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بود. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام بین تیمارها در این آزمایش مشاهده نشد. در آزمایش دوم، ۱۶ رأس بره نر (وزن 27 ± 2 کیلوگرم و سن حدود پنج ماهگی) برای بررسی اثرات سطوح مختلف روغن کتان بر عملکرد، خصوصیات لاشه و فراسنجه‌های خونی، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ جیره آزمایشی (حاوی صفر، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ درصد روغن کتان) به مدت ۹۰ روز پرورار شدند. جیره‌ها از نظر انرژی و پروتئین قابل متابولیسم مشابه بودند. جیره‌های آزمایشی اثر معنی‌داری بر خوراک مصرفی داشت، علاوه بر این بره‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۴/۵ درصد روغن کتان بیشترین تأثیر منفی را بر قابلیت هضم مواد مغذی جیره کاملاً مخلوط نشان دادند. همچنین جیره حاوی روغن کتان باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار در برخی از خصوصیات لاشه بره‌ها نسبت به تیمار شاهد شد. روغن کتان سبب افزایش سهم اسید لینولئیک، اسید لینولنیک و نسبت اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه به اسیدهای چرب اشباع چربی داخل ماهیچه‌ای در لاشه بره‌های پرواری شد. همچنین روغن کتان تأثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های خونی دام‌های پرواری داشت. نتیجه کلی حاصل از این تحقیق نشان داد که با افزایش سطح روغن کتان، میانگین تجزیه پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی، مصرف خوراک، و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی روند کاهشی داشت ولی در صفات کیفی لاشه بهبود حاصل شد.

واژه‌های کلیدی: اسید لینولئیک، خصوصیات لاشه، روغن کتان، فراسنجه‌های خونی.

مقدمه

تاریخچه استفاده از دانه‌های روغنی به قرن‌ها پیش باز می‌گردد که بشر با بهره‌گیری از آنها بخشی از نیازهای دارویی، غذایی و گرمایی خود را تأمین می‌نمود. پس از گسترش صنایع روغن‌کشی، استفاده از دانه‌ها به منظور روغن‌گیری و استفاده از پروتئین موجود در غذای انسان و حیوان مطرح شد. امروزه دانه‌های روغنی از فرآورده‌های استراتژیک کشاورزی دنیا محسوب می‌شود. نتایج حاصل از مطالعات انستیتو تغذیه ایران نشان می‌دهد که ۲۱ درصد از کل

انرژی مصرفی مردم کشورمان از طریق مصرف روغن تأمین می‌شود (۴۴).

روغن استخراج شده از کتان حاوی تقریباً ۵۰ درصد اسید لینولئیک (۱۸:۳) از خانواده اسیدهای چرب امگا ۳ می‌باشد. در بین منابع خوراکی، روغن ماهی و روغن کتان منبع غنی اسیدهای چرب امگا ۳ محسوب می‌شوند و با توجه به عدم دسترسی بعضی از مصرف‌کنندگان به ماهی، منابع دیگری برای مصرف این اسیدهای چرب می‌تواند استفاده گردد. چنانچه دام‌ها از علوفه سبز و یا روغن کتان به عنوان بخشی از جیره مصرف کنند، اسید آلفا لینولئیک بیشتری دریافت می‌کنند. (۱۰).

اسیدهای چرب ضروری (اسید لینولئیک و اسید لینولنیک) اگر چه عامل کلیدی برای رشد و تولیدمثل طبیعی دام‌ها می‌باشند اما یک موضوع مهم برای تغذیه حیوانات به شمار آورده نمی‌شدند (۶۶). به خاطر اهمیت این اسید چرب در تغذیه انسان و امکان دریافت آن که از طریق فرآورده‌های دامی میسر می‌باشد، در همین راستا طی دهه‌های اخیر توجه محققان تغذیه برای افزایش سهم این نوع اسیدهای چرب خاص در محصولات دامی جلب شده است. دانه کتان با

۱- دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، تغذیه دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

(*)-ایمیل نویسنده مسئول: ychashnidel2002@yahoo.com

DOI: 10.22067/ijasr.v11i2.63277

دارای نسبت ۷۰ به ۳۰ علوفه به کنسانتره تغذیه شدند. سه تکرار از هر نمونه (حدود ۳ گرم) در کیسه‌های نایلونی به ابعاد ۱۴×۷ سانتی متر و قطر منفذ 45 ± 5 میکرون در زمان‌های متوالی صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۸، ۲۴ و ۹۶ ساعت شکمبه‌گذاری شد. پیش از شکمبه‌گذاری، کیسه‌ها در آب ولرم خیس‌انده شده و پس از پایان زمان شکمبه‌گذاری، کیسه‌ها با جریان آرام آب سرد آن قدر شستشو داده شدند تا رنگ آب خروجی کاملاً شفاف بود. سپس به مدت ۱۲ ساعت در هوای آزاد قرار داده شد و پس از آن به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۵۵ درجه سانتی گراد خشک شد. اتلاف زمان صفر از قرار دادن ۳ کیسه از هر نمونه در آب ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و محاسبه میزان مواد ناپدید شده محاسبه شد. اندازه‌گیری درصد پروتئین خام با استفاده از روش کلدال صورت گرفت. تعیین الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و شوینده اسیدی (ADF) طبق ون سوست و همکاران انجام شد (۶۳).

میزان ناپدید شدن مواد مغذی و فراسنجه‌های تجزیه پذیری با استفاده از معادله ارسکوف و مکدونالد (۵۱) و برازش داده‌ها با استفاده از معادله تجزیه پذیری مؤثر ارسکوف و مکدونالد ($P=a+bc/c+k$)، که در آن P مقدار تجزیه‌پذیری مؤثر ماده مغذی در زمان t و a درصد بخش محلول که به سرعت ناپدید می‌شود، b درصد بخش غیر محلول ولی بالقوه قابل تجزیه و c ، نرخ ثابت تجزیه بخش b در واحد زمان (درصد بر ساعت) و k نرخ جریان خروجی از شکمبه است. فراسنجه‌های فوق با نرخ عبور فرضی ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ محاسبه شد (۵۱).

آزمایش دوم: در این مرحله اثرات جایگزینی سطوح مختلف روغن کتان بر عملکرد و کیفیت لاشه بره‌های پرواری بررسی شد. تیمارها شامل چهار جیره غذایی حاوی سطوح صفر، ۱/۵ و ۳ و ۴/۵ درصد روغن کتان بود که به ۱۶ رأس بره نر با میانگین وزن 27 ± 2 کیلوگرم و سن حدود پنج ماهگی تغذیه شد. جیره‌ها از نظر انرژی و پروتئین قابل متابولیسم مشابه بودند. دام‌ها پس از انتقال به جایگاه انفرادی و طی مدت ۱۵ روز دوره عادت پذیری به جایگاه و جیره مصرفی، به مدت ۹۰ روز آزمایش شد. جیره دام‌های آزمایشی با استفاده از نرم افزار سیستم تغذیه نشخوارکنندگان کوچک (SRNS)، تدسکی و همکاران، (۲۰۱۰) تنظیم شد. خوراک به صورت کاملاً مخلوط و دو بار در روز در حد اشتها و به فاصله ۱۲ ساعت (۸ صبح و ۲۰ عصر) در اختیار دام‌ها قرار گرفت (۳۳). هر روز صبح باقی مانده خوراک روز قبل، از آخور جمع‌آوری و توزین شد. به این ترتیب مقدار خوراک مصرفی روزانه و درصد خوراک باقی مانده هر حیوان تعیین شد. به منظور بررسی عملکرد پرواری دام‌های آزمایشی، وزن‌کشی از آن‌ها به طور ماهانه تا پایان مدت آزمایش با اعمال ۱۲ ساعت

داشتن اسید لینولنیک بالا به عنوان یک سوپسترا برای تولید اسید چرب بلند زنجیر امگا ۳ می‌باشد که پیش‌سازی برای تولید اسید ایکوزاپنتا انوئیک (EPA) و اسید دکوزاهگزا انوئیک (DHA) است که خود پیش‌ساز ایکوزانوئیدها می‌باشد (۳۶).

نتیجه یک مطالعه روی گوساله‌های پرواری نشان داد که با استفاده از مکمل روغن کتان در جیره، لاشه نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت (۶۴). همچنین در یک تحقیق روی گاوهای شیری، تغذیه دانه کتان قابلیت هضم عصاره اتری را افزایش داد ولی روی قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی جیره بی تأثیر بود (۵۲). باتوجه به تأثیر اسیدهای چرب موجود در دانه گیاهان روغنی مانند دانه‌های کتان و سویا، تحقیقات مختلف روی نشخوارکنندگانی مانند گاوهای شیری (۲۰)، بره‌های پرواری (۳۷) و دام‌های فیستولاگذاری شده (۳۴) نشان داد که مصرف این نوع دانه‌های روغنی اثرات معنی‌داری روی برخی فراسنجه‌های سرم خون دام‌های آزمایشی داشت. نتایج مطالعات نشان داد که تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای الیاف و ماده آلی در اثر استفاده از منابع اسیدهای چرب غیراشباع به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۳۸، ۷). شواهد زیادی نشان می‌دهد استفاده از دانه‌های روغنی در جیره، بر ترکیب اسیدهای چرب در لاشه حیوانات مزرعه تأثیر می‌گذارد (۵۴). در مجموع با توجه به اهمیت استفاده از اسیدهای چرب غیراشباع در جیره نشخوارکنندگان، لازم است ترکیب جیره، خصوصاً از لحاظ غلظت مواد مغذی، به نحوی باشد که استفاده از منابع حاوی این اسیدهای چرب اثر سوئی بر قابلیت هضم اجزاء خوراک نداشته باشد. همچنین در کنار بهبود کیفیت فرآورده‌های دامی به واسطه استفاده از منابع حاوی اسیدهای چرب غیراشباع، ضروری است که کمیت تولیدات دامی خصوصاً از لحاظ شاخص‌های عملکرد و تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای نیز مورد توجه قرار گیرد. بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی سطوح مختلف روغن کتان بر عملکرد، تجزیه‌پذیری، برخی از فراسنجه‌های خونی و صفات کمی و کیفی لاشه در بره‌های پرواری بود.

مواد و روش‌ها

این طرح در قالب دو آزمایش در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد.

آزمایش اول: در این مرحله تأثیر سطوح مختلف جایگزینی روغن دانه کتان بر تجزیه‌پذیری ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و الیاف خام در گوسفند مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین اثر وجود روغن کتان بر تجزیه‌پذیری ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و پروتئین خام جیره‌های آزمایشی، از ۳ راس گوسفند دارای فیستولای شکمبه‌ای با میانگین وزن مشابه استفاده شد. دام‌ها در جایگاه انفرادی نگهداری و در ساعات ۸ صبح و ۲۰ عصر با جیره

گرسنگی قبل از توزین انجام و مقدار مصرف خوراک به صورت روزانه به منظور محاسبه ضریب تبدیل غذایی اندازه‌گیری شد.

برای تعیین قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی شامل درصد ماده خشک، پروتئین خام و چربی خام هر یک از نمونه‌های خوراکی در روزهای ۸۰ الی ۸۷ آزمایش، با استفاده از روش‌های توصیه شده AOAC (۱۹۹۰) و درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی آن به روش ون سوست تعیین شدند (۳، ۶۳). در طی این ۷ روز باقی مانده مواد خوراکی و مدفوع دام‌ها به صورت روزانه جمع‌آوری شد. در ابتدای هر روز نیز از خوراک مصرفی نمونه‌گیری به عمل آمد. بعد از ۷ روز برای هر راس دام آزمایشی تعداد ۷ نمونه مدفوع، ۷ نمونه خوراک مصرفی و ۷ نمونه باقی مانده خوراک به دست آمد. نمونه‌های گرفته شده از هر دام به صورت روزانه در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد سپس نمونه‌های مدفوع، خوراک مصرفی و باقی مانده خوراک برای هر حیوان آزمایشی، با هم مخلوط و یک نمونه نهایی از هر کدام تهیه شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و آسیاب شد و برای تعیین قابلیت هضم مورد تجزیه شیمیایی قرار گرفت.

در پایان آزمایش (پایان ۹۰ روز دوره پروار)، ۳ رأس بره از هر تیمار، به طور تصادفی انتخاب شد و پس از ۱۲ ساعت محرومیت از خوراک، خون‌گیری از بره‌ها به وسیله لوله ۵ میلی لیتری حاوی ماده ضد انعقاد (اتیلن دی اتیل تتراسدیک اسید) از سیاهرگ وداچ انجام شد و بعد از اتمام کار، نمونه‌ها به سرعت به آزمایشگاه ارسال و سرم تهیه شده جهت تعیین فراسنجه‌های خونی (گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL، HDL و VLDL سرم خون) با استفاده از کیت‌های پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر مدل (RA1000) اندازه‌گیری شد.

پس از پایان ۹۰ روز دوره پرواربندی، سه رأس بره از هر تیمار، به طور تصادفی انتخاب و پس از ۱۲ ساعت پرهیز از آب و خوراک کشتار شد. پیش از کشتار، وزن قبل از کشتار، طول، عرض و محیط کپل، طول پا و عمق سینه اندازه‌گیری شد. همچنین پس از کشتار وزن سر، پوست، دست‌ها و پاها تعیین و ثبت شد. پس از خروج امعاء احشاء از لاشه، وزن لاشه گرم و نیم لاشه، وزن قلب، جگر، کلیه‌ها،

چربی اطراف قلب، چربی اطراف کلیه‌ها، چربی محوطه شکمی، طحال، ریه با نای، دستگاه گوارش پر و دستگاه گوارش خالی ثبت شد. سپس نیم لاشه به مدت ۴۸ ساعت در سردخانه (۴- درجه سانتی‌گراد) قرار داده شده و پس از خروج از سردخانه دوباره توزین و به این ترتیب وزن نیم لاشه (از مفصل ران تا محل اتصال دست به لاشه) و بخش‌های مختلف لاشه تعیین شد. پس از خروج لاشه از سردخانه، طول لاشه (از اولین دنده تا استخوان شرمگاهی و از گردن تا دم) اندازه‌گیری شد (۴۹).

به منظور اندازه‌گیری ترکیب اسیدهای چرب ماهیچه راسته، نمونه راسته از بین دنده ۱۱ و ۱۲ برداشته شد. استخراج چربی از نمونه بافت به روش اصلاح شده فولج و همکاران (۱۹۵۷) انجام شد. ۱۵ میلی‌لیتر مخلوط کلروفرم و متانول (به نسبت ۲ به ۱) به محتویات ۱ گرم گوشت همگن شده اضافه شد. سپس ۲۴ ساعت در دمای یخچال نگهداری تا چربی در کلروفرم حل شود. بعد از ۲۴ ساعت، ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به لوله‌ها اضافه و به شدت تکان داده شد، لوله‌ها در دمای اتاق نگهداری شد تا مخلوط ۳ لایه شود. لایه بالایی را تخلیه نموده و نمونه از داخل لوله آزمایش به داخل دکاناتور انتقال داده شد. سپس لایه پائینی در داخل لوله آزمایش تمیز انتقال داده شد. در این مرحله با گاز ازت محلول تبخیر شد (از هیتر برای کمک به تبخیر استفاده شد). بعد از این که محلول به ۰/۵ تا ۱ میلی‌لیتر رسید تبخیر را متوقف و محلول به یخچال منتقل تا بقیه کلروفرم آن خارج شود. در ادامه روش مشتق‌سازی نمونه چربی با روش متکالف و چمیتز (۱۹۶۱) انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش حیوانی بر اساس طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ حیوان در هر تیمار انجام شد. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱)، تجزیه آماری شد. مدل آماری این آزمایش به شرح زیر بود:

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

Y_{ij} = اثر متغیر وابسته، T_i = اثر آمین تیمار (روغن کتان)، μ = اثر میانگین کل و e_{ij} = اثر خطای آزمایشی

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده جیره‌های آزمایشی (درصد)
Table 1- Ingredients of the experimental diets (%)

اقلام مواد خوراکی Ingredients	تیمارهای آزمایشی ^۱ Experimental treatments ¹			
	تیمار ۱ T1	تیمار ۲ T2	تیمار ۳ T3	تیمار ۴ T4
دانه ذرت Corn grain	44	37.5	34.3	29
سیلا ذرت Corn silage	25	25	25	25
کاه گندم Wheat straw	5	5	5	5
سبوس گندم Wheat bran	16.5	20.5	20.5	23.5
کنجاله سویا Soybean meal	8.3	9.3	11	11.8
روغن کتان linseed oil	0	1.5	3	4.5
نمک Salt	0.4	0.4	0.4	0.4
پرمیکس معدنی و ویتامینی ^۲ Mineral & Vitamin premix ²	0.5	0.5	0.5	0.5
کربنات کلسیم CaCO ₃	0.30	0.30	0.30	0.30
ترکیبات شیمیایی Chemical composition				
ماده خشک (درصد) Dry matter (%)	65	65	65	65
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	14	14	14	14
عصاره اتری (درصد) Ether extract (%)	2.1	2.7	3.1	3.4
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) NDF (%)	28.8	28.8	28.8	28.8
انرژی قابل سوخت و ساز (مگا کالری در کیلوگرم) ME (Mcal/kg)	2.76	2.76	2.76	2.76

تیمار ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب حاوی صفر، ۱/۵، ۳ و ۴ درصد روغن کتان

آهر کیلوگرم از مکمل شامل ۵۰۰۰۰۰: واحد بین المللی ویتامین آ، ۱۰۰۰۰۰: واحد بین المللی ویتامین د و ۱/۰ گرم ویتامین ای. هر کیلوگرم از مکمل شامل ۱۸۰ گرم کلسیم، ۹۰ گرم فسفر، ۲۰ گرم منیزیم، ۶۰ گرم سدیم، ۲ گرم منگنز، ۳ گرم آهن، ۰.۳ گرم مس، ۳ گرم روی، ۱/۰ گرم کبالت، ۱/۰ گرم سلنیم، ۱/۰ گرم ید، ۳ گرم آنتی اکسیدانت

¹T1, T2, T3 & T4: diets containing 0, 1.5, 3 and 4.5 % linseed oil, respectively

²The supplements including: 500,000 IU vitamin A, 100,000 IU vitamin D, 0.1 g vitamin E, 180 g Ca, 90 g P, 20 g Mg, 60 g Na, 2 g Mn, iron, 3 grams, 0.3 grams of copper, 3 g zinc, 1.0 g of cobalt, 1/0 grams of selenium, 1.0 grams of iodine, 3 g of antioxidant. per kg.

نتایج و بحث

فراسنجه‌های تجزیه پذیری ماده خشک، دیواره سلولی و پروتئین خام جیره‌های آزمایشی

تجزیه پذیری ماده خشک

نتایج تجزیه پذیری شکمبه‌ای و همچنین تجزیه واریانس ماده خشک جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ نشان داده شده است. مطالعه داده‌های مربوط به تجزیه‌پذیری ماده خشک نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری از نظر آماری بین بخش سریع تجزیه شونده جیره‌های مختلف با جیره شاهد وجود ندارد. همچنین تفاوت بین جیره‌های آزمایشی هم معنی‌دار نیست. اختلاف بخش کند تجزیه شونده و مجموع بخش کند و تند تجزیه شونده ماده خشک جیره‌های آزمایشی نیز معنی‌دار نیست که این نتایج با نتایج دورنا و همکاران (۱۸) و گرامر و همکاران (۲۵) مطابقت دارد. همچنین تجزیه پذیری موثر در نرخ عبور ۲، ۴ و ۶ درصد در جیره‌های آزمایشی از نظر آماری معنی‌دار نبود.

تجزیه پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی

نتایج تجزیه پذیری شکمبه‌ای و همچنین تجزیه واریانس فیبر نامحلول در شوینده خنثی جیره‌های آزمایشی در جدول ۳ نشان داده شده است. میانگین ناپدید شدن فیبر نامحلول در شوینده خنثی در جیره‌های آزمایشی تحت تاثیر قرار نگرفت. میانگین بخش سریع تجزیه شونده برای جیره‌های آزمایشی به ترتیب عبارت بود از ۱۶/۴۷، ۱۶/۱۴، ۱۵/۷۳ و ۱۵/۴۱ گرم که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین جیره‌ها مشاهده نشد. همچنین اختلاف بخش کند تجزیه شونده معنی‌دار نبود، ولی مجموع بخش کند و تند تجزیه شونده ماده خشک جیره‌های آزمایشی نیز معنی‌دار بود ($P < 0.05$) و تیمار ۴ دارای کمترین مقدار تجزیه پذیری و تیمار شاهد بیشترین مقدار بود. تجزیه پذیری موثر در نرخ عبور مواد از شکمبه در سطوح ۲، ۴ و ۶ درصد نیز در جیره‌های آزمایشی بین تیمارهای شاهد و تیمار ۴ معنی‌دار بود ($P < 0.05$). ماچمولار و همکاران (۳۸) بیان کردند که مکمل‌های چربی اثر منفی بر تجزیه پذیری شکمبه‌ای دارند و باعث کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای الیاف و ماده آلی جیره شدند که این نتایج با نتایج ما مشابه بوده و از دلایل اثرات منفی چربی بخصوص در سطوح بالاتر آن بر تجزیه پذیری شکمبه‌ای الیاف احتمالاً ناشی از اثر پوششی چربی‌ها بر ذرات الیاف و نیز اثر آن بر کاهش تعداد باکتری‌های سلولیتیک شکمبه می‌باشد. هر چند در منابع دیگر تشکیل نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب را به عنوان عامل کاهش دهنده تجزیه پذیری الیاف خام در شرایط شکمبه مطرح شد (۷).

تجزیه پذیری پروتئین خام

نتایج تجزیه پذیری شکمبه‌ای و همچنین تجزیه واریانس پروتئین خام جیره‌های آزمایشی در جدول ۴ نشان داده شده است. میانگین بخش سریع تجزیه شونده برای تیمارهای آزمایشی به ترتیب عبارت بود از ۲۶/۴۷، ۲۶/۲۳، ۲۵/۹۲ و ۲۵/۵۴ گرم در کیلوگرم که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین جیره‌ها مشاهده نشد. جنکینز و فتوحی (۳۳) گزارش کردند که افزودن روغن کتان به روش کیسه‌گذاری باعث کاهش تجزیه پذیری نیتروژن نسبت به گروه شاهد در شکمبه شده و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$). این نتایج با نتایج ایکوگو و سوتون (۲۹) که اثر روغن کتان را بر تجزیه پذیری نیتروژن در گوسفند بررسی کردند مشابه بود. این نتایج بیانگر کاهش جمعیت پروتوزوآهای شکمبه است (۳۸). از دیگر اثرات منفی مکمل‌های چربی بر تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای، خروج منبع نیتروژنی از شکمبه و افزایش جریان آن به طور پیوسته به روده است و در نتیجه غلظت آمونیاک شکمبه کاهش می‌یابد (۳۸). اثر روغن‌های گیاهی روی تجزیه‌پذیری پروتئین‌ها با استفاده از روش کیسه‌های نایلونی نتایج متغیری داشته است. عدم معنی‌داری در تیمارهای آزمایشی می‌تواند، وابسته به منبع پروتئینی مورد آزمایش که دارای بخش پروتئین عبوری مناسب می‌باشد، ترکیب جیره که به عنوان جیره پروراری با درصد کنسانتره بالا و مصرف آن در حد اشتهای بوده و از سرعت عبور بیشتری برخوردار می‌باشد. اثرگذاری‌های متفاوت انواع اسیدهای چرب غیراشباع (اسید لینولنیک و لینولئیک) بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری را می‌توان تحت تاثیر میزان غیراشباع بودن آنها و اثرگذاری‌های متعاقب هر کدام از آنها بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش دانست (۴۳). افزون بر این شاید سرعت و وسعت متفاوت هیدروژنه کردن زیستی انواع اسیدهای چرب در شکمبه هم بتواند توجیه‌کننده بخشی از این اثرگذاری باشد (۴۳).

جدول ۲- میانگین تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک تیمار های آزمایشی (درصد)

Table 2- Mean of ruminal degradation of dry matter of experimental treatments (%)

فراسنجه‌های تجزیه پذیری ^۲ Degradation parameters ²	تیمارهای آزمایشی ^۱ Experimental treatments ¹				P-value	SEM
	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴		
	T1	T2	T3	T4		
درصد بخش سریع التجزیه(a)	25.38	25.30	25.08	24.86	0.112	1.389
درصد بخش کند تجزیه(b)	51.17	51.09	59.84	50.54	0.153	2.073
درصد بخش قابل تجزیه (a+b)	76.55	76.39	75.93	75.40	0.195	2.371
درصد در ساعت ثابت نرخ تجزیه پذیری (c)	0.043	0.042	0.041	0.039	0.084	0.003
درصد تجزیه پذیری موثر ماده خشک						
k=0.02	60.30	59.81	59.17	58.24	0.311	3.212
k=0.04	51.88	51.39	50.75	49.79	0.280	2.478
k=0.06	46.73	46.28	45.67	44.75	0.253	3.801

^۱ تیمار ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب حاوی صفر، ۱/۵، ۳ و ۴ درصد روغن کتان^۲ درصد بخش سریع التجزیه (a)، درصد بخش کند تجزیه (b)، درصد بخش قابل تجزیه (a+b)، درصد در ساعت ثابت نرخ تجزیه پذیری (c)، تجزیه پذیری موثر در ثابت نرخ عبور ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ درصد در ساعت^۱ T1, T2, T3 & T4: diets containing 0, 1.5, 3 and 4.5 % linseed oil, respectively^۲ Rapidly degradable (a), Slowly degradable (b), Degradable part (a+b), Degradation rate (c), Effective rumen degradability in passage rate constant of K = 0.02, 0.04 and 0.06 (%/h)

جدول ۳- میانگین فراسنجه‌های تجزیه پذیری NDF تیمارهای آزمایشی (درصد)

Table 3- Mean of degradation parameters of NDF of experimental treatments (%)

فراسنجه های تجزیه پذیری ^۲	تیمارهای آزمایشی ^۱				P-value	SEM
Degradation parameters ²	Experimental treatments ¹					
	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴		
	T1	T2	T3	T4		
درصد بخش سریع التجزیه(a)	16.47	16.14	15.73	15.41	0.080	2.183
درصد بخش کند تجزیه(b)	41.32	40.81	39.46	39.05	0.172	2.331
درصد بخش قابل تجزیه (a+b)	57.79 ^a	56.95 ^a	55.19 ^{ab}	54.46 ^b	0.045	2.671
درصد در ساعت ثابت نرخ تجزیه پذیری (c)	0.054	0.051	0.047	0.046	0.068	0.008
NDF درصد تجزیه پذیری موثر						
k=0.02	46.61 ^a	45.44 ^a	43.34 ^b	42.53 ^b	0.031	1.614
k=0.04	40.20 ^a	38.99 ^a	36.99 ^b	36.22 ^b	0.041	1.416
k=0.06	36.04 ^a	34.88 ^a	33.91 ^{ab}	32.29 ^b	0.022	1.193

^۱ تیمار ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب حاوی صفر، ۱/۵، ۳ و ۴ درصد روغن کتان^۲ درصد بخش سریع التجزیه (a)، درصد بخش کند تجزیه (b)، درصد بخش قابل تجزیه (a+b)، درصد در ساعت ثابت نرخ تجزیه پذیری (c)، تجزیه پذیری موثر در ثابت نرخ عبور ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ درصد در ساعت^۱ T1, T2, T3 & T4: diets containing 0, 1.5, 3 and 4.5 % linseed oil, respectively^۲ Rapidly degradable (a), Slowly degradable (b), Degradable part (a+b), Degradation rate (c), Effective rumen degradability in passage rate constant of K = 0.02, 0.04 and 0.06 (%/h)

جدول ۴- میانگین فراسنجه‌های تجزیه پذیری پروتئین جیره‌های حاوی تیمارهای آزمایشی (درصد)

Table 4- Mean of protein degradation parameters of experimental treatment (%)

فراسنجه های تجزیه پذیری ^۲ Degradation parameters ²	تیمارهای آزمایشی ^۱ Experimental treatments ¹				P-value	SEM
	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴		
	T1	T2	T3	T4		
درصد بخش سریع تجزیه (a)	26.47	26.23	25.92	25.54	0.091	1.134
درصد بخش کند تجزیه (b)	48.61	48.09	47.83	47.41	0.070	2.132
درصد بخش قابل تجزیه (a+b)	75.06	74.32	73.75	72.95	0.085	1.127
درصد در ساعت ثابت نرخ تجزیه پذیری (c)	0/054	0.052	0.051	0.048	0.068	0.005
درصد تجزیه پذیری موثر پروتئین خام						
k=0.02	61.87	60.95	60.14	58.95	0.013	1.326
k=0.04	54.34	53.40	52.62	51.33	0.021	1.431
k=0.06	49.45	48.55	47.81	46.55	0.025	1.702

^۱ تیمار ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب حاوی صفر، ۱/۵، ۳ و ۴ درصد روغن کتان

^۲ درصد بخش سریع‌التجزیه (a)، درصد بخش کند تجزیه (b)، درصد بخش قابل تجزیه (a+b)، درصد در ساعت ثابت نرخ تجزیه پذیری (c)، تجزیه پذیری موثر در ثابت نرخ عبور ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ درصد در ساعت.

¹ T1, T2, T3 & T4: diets containing 0, 1.5, 3 and 4.5 % linseed oil, respectively

² Rapidly degradable (a), Slowly degradable (b), Degradable part (a+b), Degradation rate (c), Effective rumen degradability in passage rate constant of K = 0.02, 0.04 and 0.06 (%/h)

پروپیونات را در شکمبه تغییر دهد و باعث کاهش مصرف خوراک شود. معمولاً افزودن چربی به جیره با جایگزینی آن به جای قسمتی از کربوهیدرات غیرساختمانی همراه است. این امر موجب کاهش کربوهیدرات قابل تخمیر برای تولید اسیدهای چرب فرار و در نتیجه کاهش نسبت پروپیونات و غلظت کل اسیدهای چرب فرار در شکمبه می‌شود (۱۳).

اثر جیره‌های آزمایشی بر برخی از ویژگی‌های لاشه

نتایج مربوط به خصوصیات و قطعات لاشه در جدول ۶ نشان داده شده است. استفاده از روغن کتان تنها بر صفات وزن لاشه پر، وزن لاشه گرم و چربی محوطه شکمی اثر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)؛ طوری که با افزایش سطح روغن، مقادیر صفات ذکر شده روند افزایشی داشت. نجفی و همکاران (۴۵) ۲ درصد روغن سویا و روغن ماهی را در جیره بزغاله‌ها استفاده کردند که نتایج آن مشابه با نتیجه پژوهش حاضر می‌باشد. پیشرفت‌های ما در بازده لاشه از طریق گنجاندن روغن کتان، ممکن است به دلیل استفاده بهتر از بازدهی انرژی متابولیسمی حاصل از منابع پیشنهاد شده توسط لاف و همکارانش (۳۷) باشد یا به دلیل بازدهی بیشتر تبدیل چربی جیره به چربی بدن در مقایسه با کربوهیدرات‌ها باشد. همچنین نتایج مطالعه انجل و همکاران (۲۲) در تغذیه گوساله‌های گوشتی با ۴ درصد روغن سویا نشان داد که منبع چربی تأثیر معنی‌داری بر بازده بر وزن ران، سردست، سینه، گردن و راسته نداشت که این یافته‌ها در توافق با نتایج نجفی و همکاران (۴۵) می‌باشد. مدداک و همکاران (۳۹) با

عملکرد پروار و ویژگی‌های لاشه

نتایج خوراک مصرفی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی

تغذیه روغن کتان تأثیر معنی‌داری روی ماده خشک مصرفی بره‌ها داشت (جدول ۵). همان‌طور که در جدول ۵ آمده اگرچه خوراک مصرفی بین تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت، یک روند رو به کاهش در تیمارهای حاوی روغن مشاهده شد. چربی جیره می‌تواند هضم شکمبه‌ای را تحت تأثیر قرار دهد، که اثرات عمده شامل؛ کاهش هضم الیاف، متان و نسبت استات به پروپیونات می‌باشد، که این اثرات به دلیل کاهش رشد و متابولیسم باکتری‌ها (به خصوص باکتری‌های سلولاییتیک) و پروتوزوآها توسط اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه می‌باشد (۱۹). در جدول ۵ میانگین حداقل مربعات افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی بره‌ها آورده شده است، همانگونه که ملاحظه می‌شود تفاوت معنی‌داری بین بره‌های تغذیه شده با جیره‌های مختلف وجود ندارد، که این نتایج با سایر مطالعات مطابقت دارد (۲۶). وارچیا و همکاران (۶۵) گزارش کردند بره‌هایی که با جیره‌های چربی زرد یا روغن سویا تغذیه شدند رشد سریعتری داشته و در مقایسه با گروه شاهد افزایش وزن بیشتری داشتند. دمیرل و همکاران (۱۵) گزارش کردند که نوع چربی جیره اثری بر مصرف خوراک در گوسفند ندارد. در مقابل چکلویسکی و همکاران (۱۳) پیشنهاد کردند که چربی، خصوصاً منابعی که دارای میزان قابل توجهی اسیدهای چرب غیراشباع هستند، می‌تواند نسبت استات به

افزودن کتان به جیره گاوهای گوشتی به مقدار ۸ درصد گزارش کردند که بر افزایش وزن روزانه و بازده خوراک تاثیر گذاشت و وزن لاشه گرم، سرد و چربی محوطه بطنی نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته بود که با نتایج این آزمایش مشابه می باشد. نتایج مطالعه آواده و همکاران (۴) روی بره های آواسی نشان داد سطوح مختلف روغن سویا اثر معنی داری روی وزن سر، پاها، شش ها و نای، قلب، طحال و

کلیه ها نداشت. همچنین در یک مطالعه استفاده از ۲ درصد روغن سویا اثر معنی داری بر قطعات لاشه بزغاله ها نداشت (۴۶) که موافق با نتایج تحقیق حاضر بود. در همین راستا مطالعه بسا و همکاران (۶) نشان داد که مکمل چربی باعث افزایش وزن لاشه گرم بره ها شد.

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر نتایج خوراک مصرفی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی^۱

Table 5- The effect of experimental treatments on feed intake, daily weight gain and feed conversion ratio¹

صفات Traits	تیمارهای آزمایشی ^۱ Experimental treatments ¹				P-value	SEM
	تیمار ۱ T1	تیمار ۲ T2	تیمار ۳ T3	تیمار ۴ T4		
خوراک مصرفی روزانه (کیلوگرم) Daily feed intake (kg)	1.62 ^a	1.60 ^a	1.55 ^b	1.53 ^b	0.050	0.513
وزن شروع دوره (کیلوگرم) Initial weight (kg)	26.50	26.59	27.30	27.51	0.262	0.050
وزن پایان پروار (کیلوگرم) End of weight (kg)	45.42	46.75	47.37	47.84	0.583	0.151
افزایش وزن روزانه (کیلوگرم) Daily gain weight (kg)	0.21	0.22	0.22	0.22	0.133	0.379
ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio	7.71	7.15	6.95	6.80	0.274	0.058

^۱ میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$)
^۲ تیمار ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب حاوی صفر، ۱/۵، ۳ و ۴ درصد روغن کتان

¹ Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$)

² T1, T2, T3 & T4: diets containing 0, 1.5, 3 and 4.5 % linseed oil, respectively

اثر جیره های آزمایشی بر قابلیت هضم ظاهری

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در بره های تغذیه شده با روغن کتان در جدول ۷ نشان داده شده است. در آزمایش حاضر روغن کتان بر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک مصرفی، پروتئین خام و NDF تاثیر معنی دار داشته است ($P < 0.05$). قابلیت هضم چربی خام در تیمار چهار (۷۷/۱۲) در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار ۲ و ۳ (۷۴/۰۲ و ۷۵/۱۰ و ۷۵/۷۲) به طور معنی داری ($P < 0.05$) افزایش یافته بود که دلیل آن وجود روغن کتان که منبع غنی از ۳- n می باشد و همچنین قابلیت هضم NDF در تیمار شاهد به طور معنی داری بالاتر از تیمار ۴ می باشد ($P < 0.05$) تغذیه بیش از حد اسیدهای چرب غیراشباع که اثرات سمی بر میکروبیوم های شکمبه دارند، می تواند منجر به کاهش هضم الیاف شود (۲۷). این تناقض ها در نتایج تا حدودی می تواند به دلیل ترکیبات جیره پایه (یعنی نوع علوفه)، استراتژی های تغذیه (یعنی محدودیت غذایی در مقابل تغذیه اختیاری حیوان) و یا نوع چربی باشد. به علاوه، بیان شده است که تفاوت در اثرات مکمل چربی بر قابلیت هضم مواد مغذی به میزان اسیدهای چرب آزاد و درجه

اشباعیت چربی ها بستگی دارد (۶۷). موافق با نتایج بر روی بره های تغذیه شده با روغن سویا و چربی زرد بود میزان مصرف، قابلیت هضم ماده خشک، مواد آلی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی تحت تاثیر قرار نگرفتند. اگر چه مقادیر مربوط به مصرف و قابلیت هضم عصاره اتری در تیمارهای حاوی چربی زرد و روغن سویا بالاتر بودند. بره های تغذیه شده با جیره های حاوی روغن سویا و چربی زرد نتایج برخی مطالعات نشان داده است که اضافه کردن چربی به جیره موجب کاهش قابلیت هضم الیاف می شود این موضوع می تواند به دلیل کاهش قابلیت هضم کربوهیدرات های ساختمانی باشد (۶۸).

ضرایب هضم دیواره سلولی (NDF) در جیره های آزمایشی نسبت به جیره شاهد کاهش داشت که نشان دهنده تأثیر منفی جیره های آزمایشی در محیط شکمبه می باشد. البته ممکن است این کاهش به دلیل کاهش در گوارش پذیری کل ماده خشک باشد. شاف و همکاران (۶۰) در مطالعات خود مشاهده کردند که با افزودن مکمل چربی، گوارش پذیری ماده خشک، ماده آلی، دیواره سلولی و

موجود در روغن‌ها اثرات منفی بر قابلیت هضم ماده خشک مصرفی، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی دارند. گونتیر و همکاران (۲۴) گزارش کردند که با افزودن دانه کتان خام به مقدار ۱۲/۵ درصد و دانه کتان اکستروود شده به مقدار ۱۲/۵ درصد در جیره گاوهای شیری قابلیت هضم ماده خشک، NDF و ADF کاهش یافت.

پروتئین کاهش یافت. همچنین جنکینز و جنی (۳۲) نیز کاهش گوارش پذیری را با افزودن ۵ درصد پیه حیوانی مشاهده کردند. دپتس و همکارانش (۱۶) هم، چنین یافته‌هایی را گزارش کردند. واپیرا و همکاران (۶۵) در طی پژوهشی که اثر مکمل‌های چربی را بر قابلیت هضم ماده خوراکی در قوچ‌ها و گاوهای گوشتی مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که اسیدهای چرب غیر اشباع

جدول ۶- اثر تیمارهای آزمایشی بر برخی از ویژگی‌های لاشه^۱

Table 6- Effects of experimental treatments on some carcass characteristics¹

صفات Traits	تیمارهای آزمایشی ^۲ Experimental treatments ²				P-value	SEM
	تیمار ۱ T1	تیمار ۲ T2	تیمار ۳ T3	تیمار ۴ T4		
وزن لاشه پر (کیلوگرم) Whole carcass weight (kg)	29.85 ^b	33.00 ^a	33.47 ^a	34.15 ^a	0.053	0.070
وزن لاشه گرم (کیلوگرم) warm carcass weight (kg)	20.87 ^b	21.70 ^{ab}	21.95 ^a	22.75 ^a	0.024	0.734
وزن لاشه سرد (کیلوگرم) Cool carcass weight (kg)	17.12	18.48	19.86	19.13	0.026	0.706
بازده لاشه (درصد) Carcass efficiency (%)	45.94	46.41	45.09	46.58	0.489	1.203
وزن کبد (کیلوگرم) Liver weight (kg)	0.75	0.72	0.77	0.73	0.401	0.061
چربی محوطه شکمی (کیلوگرم) Abdominal fat (kg)	0.19 ^c	0.21 ^{bc}	0.23 ^b	0.27 ^a	0.122	0.020
دستگاه گوارش پر (کیلوگرم) Whole gastrointestinal (kg)	7.73	7.91	7.65	7.50	0.293	0.067
دستگاه گوارش خالی (کیلوگرم) Empty gastrointestinal (kg)	2.65	2.75	2.78	3.19	0.263	0.030
وزن دست (کیلوگرم) Shoulder weight (kg)	1.56	1.66	1.72	1.73	0.384	0.013
وزن ران (کیلوگرم) Thigh weight (kg)	2.11	1.99	2.10	2.15	0.947	0.022
طول لاشه (سانتی متر) Carcass length (cm)	77.22	77.00	77.10	77.50	0.911	1.382

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$)
^۲ تیمار ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب حاوی صفر، ۱/۵، ۳ و ۴ درصد روغن کتان

¹ Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$)

² T1, T2, T3 & T4: diets containing 0, 1.5, 3 and 4.5 % linseed oil, respectively

خشک جیره گوساله‌های پرواری، هضم شکمبه‌ای ماده آلی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی را کاهش داد. نتایج یک مطالعه روی بره‌های پرواری نشان داد که قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی شامل ماده آلی و پروتئین خام به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار حاوی اسیدهای چرب غیراشباع قرار گرفت (۵) و همچنین نیگدی و

افزایش چربی جیره عموماً سبب افزایش قابلیت هضم ظاهری چربی می‌شود که علت آن می‌تواند رقیق شدن اسیدهای چرب صفرا و اسیدهای چرب باکتریایی که در روده بزرگ تولید می‌شوند و سایر چربی‌های متابولیک مدفوع باشد (۶۸). نتایج تحقیق زین و همکاران (۶۹) نشان داد که استفاده از چربی غیراشباع در سطح ۶ درصد ماده

حاصل از تجزیه چربی دانه کتان می‌تواند مواد متابولیکی لازم برای سنتز تری‌گلیسریدها و افزایش درصد چربی احشایی را تأمین نماید. با افزایش درصد دانه کتان در جیره، محل ذخیره چربی تغییر کرده و بیشتر در محوطه بطنی ذخیره می‌شود (۲۸).

همکاران (۴۸) نشان دادند نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب در سطوح صفر، ۲، ۴ یا ۶ درصد قابلیت هضم ظاهری الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی را به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد در گاوهای گوشتی افزایش داد. اسیدهای چرب و تری‌گلیسریدهای

جدول ۷- اثر تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم ظاهری (درصد)^۱Table 7- Effect of experimental treatments on apparent digestibility (%)¹

صفات Traits	تیمارهای آزمایشی ^۲ Experimental treatments ²				P-value	SEM
	تیمار ۱ T1	تیمار ۲ T2	تیمار ۳ T3	تیمار ۴ T4		
ماده خشک Dry matter	71.32 ^a	70.15 ^{ab}	69.18 ^{ab}	68.17 ^b	0.011	1.211
پروتئین خام Crude protein	70.12 ^{ab}	68.32 ^b	67.28 ^{bc}	66.17 ^b	0.032	0.560
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	69.14 ^a	69.00 ^a	68.24 ^a	66.32 ^b	0.053	1.113
چربی خام Crude fat	74.02 ^b	75.11 ^b	75.72 ^b	77.12 ^a	0.015	1.217

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$)
^۲ تیمار ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب حاوی صفر، ۱/۵، ۳ و ۴ درصد روغن کتان

¹Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$)

²T1, T2, T3 & T4: diets containing 0, 1.5, 3 and 4.5 % linseed oil, respectively

در مطالعه داگلاس و همکاران (۲۰) روی گاوهای شیری روغن سویا در مقایسه با روغن اشباع تأثیر معنی‌داری بر روی فراسنجه‌های چربی خون نداشت. پتیت (۵۵) در آزمایشی با افزودن ۱۰/۴ درصد دانه کتان در گاوهای شیری هلشتاین گزارش کردند که مقدار HDL نسبت به تیمار شاهد کاهش یافته بود که با نتایج این آزمایش متناقض می‌باشد.

کریمی و همکاران (۳۴) اثرات جیره شاهد، پودر چربی، دانه کامل پنبه و دانه کامل سویا را بر فراسنجه‌های خونی در گاو فیس‌توله دار هلشتاین مورد مطالعه قرار دادند. مقدار گلوکز به ترتیب ۷۹/۷۵، ۷۶/۷۸، ۷۵ و ۸۰/۲۵ برآورد شده و از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است، که این نتیجه با نتایج ما مشابه نبود.

این تفاوت می‌تواند به جهت نوع روغن گیاهی، نوع حیوان و جیره مورد استفاده در بره‌ها باشد. افزایش کلسترول کل پلاسما با افزودن هر دو نوع مکمل چربی، با افزایش سنتز کلسترول در سلول‌های روده باریک و کبد و افزایش جذب آن در روده باریک مرتبط می‌باشد؛ طوری که اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه که از هیدروژنه شدن فرار کرده‌اند، ابتدا به کلسترول استریفیه می‌شوند (۴۲).

فراسنجه‌های خونی

جدول ۸ تأثیر افزودن روغن کتان را بر فراسنجه‌های خونی گوسفندهای پرواری نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود تغذیه روغن کتان تأثیر معنی‌داری بر کاهش غلظت گلوکز خون داشت ($P > 0.05$). جایگزینی مکمل چربی با نشاسته در کنسانتره، باعث کاهش خوراک مصرفی و کربوهیدرات مصرفی می‌شود و احتمالاً اسید پروپیونیک و سایر متابولیت‌هایی که می‌تواند باعث افزایش ساخت گلوکز کبد و ترشح انسولین از پانکراس شود را کاهش می‌دهد (۱۲). فراسنجه‌های چربی خون (تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL و LDL) نیز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند و این نتایج با مطالعه چیلدرز و همکاران (۱۱) روی تلیسه‌ها مطابقت دارد، همچنین در مطالعه آن‌ها روغن پالم مانند روغن کتان غلظت تری‌گلیسرید خون را افزایش داد. با این حال در مطالعه آگازی و همکاران (۱) کلسترول و گلوکز خون بزهای شیری تحت تأثیر منبع چربی جیره قرار نگرفت که با نتایج این آزمایش متناقض دارد.

در مطالعه لو و همکاران (۳۷) روی بره‌های پرواری، با افزودن روغن پالم به جیره غلظت کلسترول، HDL کلسترول، تری‌گلیسرید و NEFA به طور معنی‌داری افزایش یافت. سایر مطالعات نیز نتایج مشابهی در پاسخ به افزودن چربی به جیره مشاهده کرده‌اند. همچنین

همچنین چیلارد (۱۲) با مطالعه منابع مختلف چربی گزارش کرد که در بیش از ۵۰ مطالعه انجام شده بر روی چربی، NFEA پلاسما با افزودن چربی به جیره، افزایش یافته است. همچنین در یک تحقیق، در پایان پروراندی کمترین غلظت کلسترول مربوط به بره‌های گروه شاهد و بیشترین آن مربوط به بره‌های جیره حاوی روغن پنبه‌دانه بود (۴۹).

جدول ۸- اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی (میلی گرم در دسی لیتر)^۱
Table 8- Effects of experimental treatments on blood parameters (mg/dl)¹

صفات Traits	تیمارهای آزمایشی ^۲ Experimental treatments ²				P-value	SEM
	تیمار ۱ T1	تیمار ۲ T2	تیمار ۳ T3	تیمار ۴ T4		
گلوکز Glucose	49.51 ^a	48.14 ^b	47.31 ^{bc}	45.18 ^c	0.031	1.624
تری گلیسرید Triglyceride	36.75 ^c	39.71 ^b	41.23 ^b	43.12 ^a	0.022	0.386
کلسترول Cholesterol	69.17 ^c	70.00 ^{bc}	71.42 ^b	73.12 ^a	0.010	0.273
لیپوپروتئین با دانسیته بالا HDL	22.17 ^b	22.68 ^b	23.12 ^{ab}	24.17 ^a	0.033	0.140
لیپوپروتئین با دانسیته پایین LDL	38.65 ^b	39.58 ^a	40.06 ^a	40.33 ^a	0.044	2.188
لیپوپروتئین با دانسیته خیلی پایین VLDL	7.35	7.74	8.24	8.62	0.275	0.087

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشد ($P < 0.05$)
^۲ تیمار ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب حاوی صفر، ۱/۵، ۳ و ۴ درصد روغن کتان

¹ Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$)

² T1, T2, T3 & T4: diets containing 0, 1.5, 3 and 4.5 % linseed oil, respectively

اسیده‌های چرب لاشه

در مطالعه حاضر مقدار اسید لینولئیک و اسید آلفا لینولئیک گوشت در تیمار حاوی ۴/۵ درصد روغن کتان نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت و از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$). همچنین نجفی و همکاران (۴۵) و بیسا و همکاران (۶) گزارش کردند که روغن سویا نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری سبب افزایش غلظت اسید لینولئیک و اسید لینولئیک در لاشه دام‌های آزمایشی شد که با این نتایج مطابقت دارد.

در این مطالعه نسبت اسید پالمیتیک و اسید استئاریک گوشت در بره‌های تغذیه شده با روغن کتان نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت، ولی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که با نتایج نجفی و همکاران (۴۶) با افزودن روغن سویا به جیره بزغالها و با نتایج سانتوز سیلوا و همکاران (۵۸) و بوآکی و همکاران (۹) متفاوت می باشد. واتانوسور و همکاران (۶۴) بیان کردند که استفاده از مکمل روغن کتان در جیره گاوهای گوشتی، به طور معنی‌داری غلظت اسید دکوزاهگزانوئیک را در فسفولیپید گوشت نسبت به تیمار شاهد افزایش

داد و همچنین سطح اسید لینولئیک گوشت به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت.

همچنین در این آزمایش مقدار اسید آراشیدونیک کاهش یافت ولی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. افزایش مقدار اسیده‌های چرب امگا ۳ داخل ماهیچه‌ای همراه با کاهش ذخیره اسیده‌های چرب امگا ۶ به خصوص اسید لینولئیک و اسید آراشیدونیک می‌باشد، که بازتابی از کاهش اسیده‌های چرب امگا ۶ جیره، بخصوص اسید لینولئیک است. همچنین اسید آراشیدونیک با EPA و DHA در وارد شدن به ساختار فسفولیپیدها رقابت می‌کند. از آنجایی که مقدار فسفو لیپید بافت ثابت می‌باشد، افزایش ذخیره اسیده‌های چرب بلند زنجیر امگا-۳ در بافت تنها با جایگزینی اسیده‌های چرب امگا-۶ امکان پذیر می‌باشد، همچنین اسیده‌های چرب امگا-۳ باعث کاهش تبدیل اسید لینولئیک به آراشیدونیک می‌گردند (۵۳). فرم غالب چربی روغن کتان، تری آسید گلیسرول‌ها می‌باشند که در پستانداران به خوبی هضم می‌شود (۳۲). در بسیاری از مطالعات کتان به عنوان منبع امگا ۳ در گاو گوشتی (۶۱) استفاده شده است. استفاده از دانه کتان نسبت به روغن کتان به دلیل داشتن آنتی اکسیدان‌های

نتیجه‌گیری کلی

نتیجه کلی حاصل از این تحقیق نشان داد که با افزایش سطح روغن کتان در جیره، میانگین تجزیه پذیری الیاف نامحلول در شونده خنثی، مصرف خوراک، و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی روند نزولی داشت و سبب بهبود این شاخص‌ها نشد. ولی در صفات لاشه شامل وزن لاشه و اسیدهای چرب غیراشباع به خصوص اسید لینولئیک و لینولنیک که جزء شاخص‌های سلامت می‌باشند، با افزایش سطح روغن کتان بهبود حاصل شد و این مقادیر افزایش یافت. پس می‌توان نتیجه گرفت در استفاده از روغن‌های گیاهی حاوی سطوح بالای اسیدهای چرب غیراشباع در جیره دام‌های پروراری، علاوه بر نقش مفید آن در بهبود شاخص‌های سلامت گوشت، به نقش تأثیرگذار آن روی کاهش عملکرد رشد و به خصوص شاخص‌های قابلیت هضم، تأثیر روی مکانیسم میکروارگانیسم‌های شکمبه توجه شود.

طبیعی ارجحیت دارد. استفاده از فرایندهای فیزیکی بر روی دانه‌های روغنی سبب افزایش قابلیت هضم چربی و تأثیر آن بر ترکیب اسید چرب شیر را نسبت به دانه سالم افزایش می‌دهد (۳۵). فرآوری دانه-های روغنی می‌تواند قابلیت دسترسی روغن در شکمبه را افزایش دهد، بنابراین قابلیت هضم مواد مغذی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۵۶). در یک مطالعه روی گاوهای شیری، تغذیه دانه کتان غلتک خورده در مقایسه با دانه کامل، قابلیت هضم کل دستگاه گوارش عصاره اتری را افزایش داد ولی روی قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و الیاف نامحلول در شونده خنثی جیره بی تأثیر بود (۵۲). کاهش قابلیت هضم الیاف با فرآوری‌هایی مانند آسیاب کردن مرتبط و با افزایش آزادسازی روغن از دانه در محیط شکمبه همراه است که منجر به افزایش قابلیت هضم چربی می‌شود (۱۴).

جدول ۹- اثر تیمارهای آزمایشی بر ترکیب اسیدهای چرب لاشه (درصد)^۱Table 9- Effects of experimental treatments on Fatty Acids profile of carcass¹

اسید چرب Fatty acids	تیمارهای آزمایشی ^۲ Experimental treatments ²				P-value	SEM
	تیمار ۱ T1	تیمار ۲ T2	تیمار ۳ T3	تیمار ۴ T4		
C _{14:0} (اسید میرستیک)	4.31	4.39	4.44	4.53	0.090	0.046
C _{16:0} (اسید پالمیتیک)	24.42	24.02	23.84	23.60	0.112	0.318
C _{16:1} (اسید پالمیتوئیک)	1.98	1.82	1.69	1.60	0.073	0.129
C _{18:0} (اسید استئاریک)	12.93	12.80	12.68	12.52	0.084	1.275
C _{18:1 n9} (اسید اولئیک)	31.56	31.72	32.13	32.49	0.390	1.020
C _{18:1 n7} (اسید واسنیک)	12.42	12.02	11.85	11.62	0.085	0.633
C _{18:2 n6} (اسید لینولئیک)	5.40	5.57	5.80	5.92	0.091	0.037
C _{18:1 n9 t11} (اسید واسنیک ترانس)	0.47 ^b	0.63 ^{ab}	0.72 ^a	0.86 ^a	0.057	0.024
C _{18:3 n3} (اسید لینولنیک)	0.47 ^b	0.64 ^{ab}	0.71 ^a	0.84 ^a	0.044	0.022
C _{20:4 n6} (اسید آراشیدونیک)	0.87	0.72	0.64	0.58	0.065	0.021
C _{20:5 n3} (اسید پالمیتوئیک)	0.06	0.07	0.09	0.11	0.065	0.203
C _{22:5 n3} (EPA)	0.18	0.20	0.23	0.27	0.066	0.022
C _{22:6 n3} (DHA)	0.06	0.06	0.09	0.11	0.077	0.041
SFA (اسیدچرب اشباع)	41.66	41.21	40.96	40.65	0.291	2.420
MUFA (اسیدهای چرب تک غیراشباع)	45.96	45.63	45.67	45.71	0.362	2.433
PUFA (اسیدهای چرب چندغیر اشباع)	7.51	7.88	8.29	8.65	0.093	0.344
6-n (اسیدچرب امگا ۶)	6.27	6.29	6.44	6.50	0.174	0.035
3-n (اسیدچرب امگا ۳)	0.71	0.90	1.04	1.22	0.075	0.063
S/P (نسبت اسیدهای چرب اشباع به چندغیر اشباع)	0.18	0.19	0.20	0.21	0.066	0.033
n6/n3 (نسبت اسیدچرب امگا ۶ به امگا ۳)	8.83 ^a	6.98 ^{bc}	6.19 ^{bc}	5.32 ^c	0.040	0.355

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می‌باشند (P<0.05)

^۲ تیمار ۱، ۳، ۴ و ۵ به ترتیب حاوی صفر، ۱/۵، ۳ و ۴ درصد روغن کتان

¹ Means within same row with different superscripts differ (P<0.05)

² T1, T2, T3 & T4: diets containing 0, 1.5, 3 and 4.5 % linseed oil, respectively

- 1- Agazzi, A., G. Invernizzi, A. Campagnoli, M. Ferroni, A. Fanelli, D. Cattaneo, A. Galmozzi, M. Crestani, V. Dell'Orto, and G. Savoini. 2010. Effect of different dietary fats on hepatic gene expression in transition dairy goats. *Small Ruminant Research*, 93: 31-40.
- 2- Asadi Moghaddam, R. and A. Nikkhah. 1975. The effect of castration on weight gain and carcass traits of lambs eight to twelve months. *Journal of College of Agriculture, University of Thran*. 53-66, Tehran University. Sixth year. No. 4.
- 3- AOAC International 1990. *Official Methods of Analysis of AOAC International* (18 Edition, Rev. 2), Association of Official Analytical Chemists International, Gaithersburg, MD, USA.
- 4- Awawdeh, M., B. Obeidat, A. Abdullah, and W. Hananeh. 2009. Effects of yellow grease or soybean oil on performance, nutrient digestibility and carcass characteristics of finishing Awassi lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 153: 216-227.
- 5- Bhatt, R. S., S. A. Karim, A. Sahoo, and A. K. Shinde. 2013. Growth Performance of Lambs Fed Diet Supplemented with Rice Bran Oil as Such or as Calcium Soap. *Asian-Australia Journal Animal Science*, 26: 812-819.
- 6- Bessa, R. J. B., P. Portugal, I. Mendes, and J. Santos-Silva. 2005. Effect of lipid supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs fed dehydrated lucerne or concentrate. *Livestock Production Science*, 96: 185-194.
- 7- Bettero, V. P., J. R. Gandra, H. V. N. Nunes, J. E. Freitas, R. V. Barletta, M. V. Carvalho, E. Detmann, and J. C. Pereira. 2013. Sources of omega-6 fatty acids do not alter the rumen degradation and transit of fibre from dairy cow diets. *Journal. Animal. Feed Science*, 22: 295-301.
- 8- Boadi, D., C. Benchaar, J. Chiquette, and D. Masse. 2004. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review. *Journal of Animal Science*, 84: 319-335.
- 9- Boakye, K. and G. S. Mittal. 1993. Changes in pH and water holding properties of Longissimus dorsi muscle during beef ageing. *Meat science*, 34: 335-349.
- 10- Chalupa, W., B. Vecchiarelli, D. Sklan, and D. S. Kronfeld. 1985. Response of rumen microorganisms and lactating cows to calcium salts of long chain fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 68: 110. (Abstrac).
- 11- Childs S., F. Carter, C. Lynch, J. Sreenan, P. Lonergan, A. Hennessy, and D. Kenny. 2008. Embryo yield and quality following dietary supplementation of beef heifers with n-3 poly unsaturated fatty acids (PUFA). *Theriogenology*, 70: 992- 1003.
- 12- Chilliard, Y. 1993. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and rodents: a review. *Journal of Dairy Science*, 76: 3897-3931.
- 13- Chichlowski, M. W., J. W. Schroeder, C. S. Park, W. L. Keller, and D. E. Schimek. 2005. Altering the fatty acids in milk fat by including canola seed in dairy cattle diets. *Journal. Dairy Science*, 88: 3084-3094.
- 14- Da Silva, D. C., G. T. D. Santos, A. F. Branco, J. C. Damasceno, R. Kazama, M. Matsushita, J. A. Horst, W. B. R. dos Santos, and H. V. Petit. 2007. Milk production and composition, intake, digestion, blood composition, and fatty acid profile of milk of dairy cows fed whole or ground flaxseed with or without monensin. *Journal Dairy Science*, 90: 2928_2936.
- 15- Demirel, G., A. M. Wachira, L. A. Sinclair, R. G. Wilkinson, J. D. Wood, and M. Enser. 2004. Effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids, breed and dietary vitamin E on the fatty acids of lamb muscle, liver and adipose tissue. *British Journal of Nutrition*, 91: 551-565.
- 16- Depeters, E. J., S. J. Taylor, C. M. Finley, and T. R. Famula. 1987. Dietary fat and nitrogen composition of milk from lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 70: 1192-1201.
- 17- Dong, Y., H. D. Bae, T. A. McAllister, G. W. Mathison, and K. J. Cheng. 1997. Lipid induced depression on methane production and digestibility in the artificial rumen system (Rusitec). *Canadian Journal of Animal Science*, 77: 269-278.
- 18- Doreau, M., and Y. Chilliard. 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *British Journal of Nutrition*, 78: 15-35.
- 19- Doreau, M., and Y. Chilliard. 1997. Effects of ruminal or postruminal fish oil supplementation on intake and digestion in dairy cows. *British Journal of Nutrition*, 37: 113- 124.
- 20- Douglas, G. N., J. Rehage, A. D. Beaulieu, A. O. Bahaa, and J. K. Drackley. 2007. Prepartum Nutrition Alters Fatty Acid Composition in Plasma, Adipose Tissue, and Liver Lipids of Periparturient Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 90: 2959-2941.
- 21- Emken, E., R. Adlof, H. Rakoff, W. Rohwedder, and R. Gulley. 1992. Human metabolic studies with deuterated alpha-linolenic acid. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)*, 8: 213-214.
- 22- Engle, T. E., J. W. Spears, V. Fellner, and J. Odle. 2000. Effects of soybean oil and dietary copper on ruminal and tissue lipid metabolism in finishing steers. *Journal of Animal Science*, 78: 2721-2713.

- 23- Folch, J., M. Lees, and G. A. Sloane-Stanley. 1957. Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of biology Chemical*, 26: 497-509.
- 24- Gonthier, C., A. F. Mustafa, R. Berthiaume, H. V. Petit, R. Martineau, and D. R. Ouellet. 2004. Effects of Feeding Micronized and Extruded Flaxseed on Ruminal Fermentation and Nutrient Utilization by Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 87:1854-1863.
- 25- Grummer, R. R. 1988. Influence of prilled fat and calcium salt of palm oil fatty acids on ruminal fermentation and nutrient digestibility. *Journal of Dairy Science*, 71: 117.
- 26- Harfoot, C. G. 1981. Lipid metabolism in the rumen. Pages 21-55 in lipid metabolism in ruminant animals. 1st ed. W. W. Christie, ed. Pergamon Press, Oxford, United Kingdom.
- 27- Horton, G. M. J., M. J. Fennell, and B. M. Prasad. 1991. Effect of dietary Garlic (*Allium sativum*) on performance, carcass composition and blood Chemistry Changes in Broiler Chickens. *Canadian Journal of Animal Science*, 71: 939-942.
- 28- Huerta-Leidenz N. O., H. R. Cross, D. K. Lunt, L. S. Pelton, J. W. Savell, and S. B. Smith. 1991. Growth, carcass traits, and fatty acid profiles of adipose tissues from steers fed whole cottonseed. *Animal Science*, 69: 3665-3672.
- 29- Ikweegbu, O. A. and J. D. Sutton. 1982. The effect of varying the amount of linseed supplementation on rumen metabolism in sheep. *British Journal of Nutrition*, 48:365.
- 30- Jalc, D., A. Potkanski, M. Szumacher-Strabel, A. Cieslak, and M. Certik. 2005. Effect of microbial oil, evening primrose oil and borage oil on rumen fermentation in vitro. *Veterinary Medicine-Czech*, 50: 480-486.
- 31- Jenkins, T. C., R. J. Wallace, P. J. Moateand, and E. E. Mosley. 2008. Board-invited review: recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *Journal Animal Science*, 86: 397-412.
- 32- Jenkins, T. C., and B. F. Jenny. 1992. Nutrient digestion and lactation performance of dairy cows fed combinations of prilled fat and acnola oil. *Journal of Dairy Science*, 75: 796-803.
- 33- Jenkins, T. C. and N. Fotouhi. 1990. Effects of Lecithin and Corn oil on site of digestion, ruminal fermentation and microbial protein synthesis in sheep. *Journal of Animal Science*, 2: 460-466.
- 34- Karimi, M., M. Ghanjkanloo, and Gh. Nehzati. 2012. The effect of different sources of fat on rumen digestion and blood factors, in Holstein cows fistulated. Master's thesis, Department of Animal Sciences, College of Agriculture, Tehran University (In Persian).
- 35- Kennelly, J. J. 1996. The fatty acid composition of milk fat as influenced by feeding oilseeds. *Animal Feed Science and Technology*, 60: 137-152.
- 36- Kronberg, S. L., E. J. Scholljegerdes, A. N. Lepper, and E. P. Berg. 2011. The effect of flaxseed supplementation on growth, carcass characteristics, fatty acid profile, retail shelf life and sensory characteristics of beef from steers finished on grasslands of the northern Great Plains. *Journal of Animal Science*, 89: 2892-2903.
- 37- Lough, D. S., M. B. Solomon, T. S. Rumsey, T. H. Elsasser, L. L. Slyter, S. Kahl, and G. P. Lynch. 1992. Effects of dietary canola seed and soy lecithin in high-forage diets on cholesterol content and fatty acid composition of carcass tissues of growing ram lambs. *Journal of Animal Science*, 70: 1153-1158.
- 38- Machmullar, A., D. A. Ossowski, A. Wanner, and M. Kreuzer. 1998. Potential of various fatty feeds to reduce methane release from rumen fermentation in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 71: 117-130.
- 39- Maddock, T. D., M. L. Bauer, K. B. Koch, V. L. Anderson, R. J. Maddock, G. Barceló-Coblijn, E. J. Murphy, and G. P. Lardy. 2006. Effect of processing flaxseed in beef 17 feedlot diets on performance, carcass characteristics, and trained sensory panel ratings. *Journal of Animal Science*, 84:1544-1551.
- 40- Menke K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*, 28: 7-55.
- 41- Metcalf, L., and A. Schmitz. 1961. The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry*, 33: 363-364.
- 42- Miller, G. J. and R. W. Rice. 1967. Lipid metabolism in lambs as affected by fattening rations of roughage and concentrate. *Journal. Animal Science*, 26: 1153-1159.
- 43- Maia, M. R. G., L. C. Chaudhary, C. S. Bestwick, A. J. Richardson, N. McKain, T. R. Larson, I. A. Graham, and R. J. Wallace. 2010. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. *BMC Microbiology*, 10: 52-62.
- 44- Mostofi, S. 2000. The Study of oilseeds market and its products, planning and research project of the Institute of Agricultural Economics. Tehran: Ministry of Agriculture. (In Persian).
- 45- Najafi, H., S. Zeinaldini, and M. Ghanjkanloo. 2013. The effect of fat source on performance, carcass quality and composition of fatty acids into the muscle of the male goat Mahabad. Tehran University master's thesis. (In Persian).

- 46- Najafi, M., S. Zeinoaldini, M. Ganjkanlou, H. Mohammadi, D. Hopkins, and E. Ponnampalam. 2012. Performance, carcass traits, muscle fatty acid composition and meat sensory properties of male Mahabadi goat kids fed palm oil, soybean oil or fish oil. *Meat science*, 92: 848-854.
- 47- Nelson, G. J. and R. G. Ackman 1988. Absorption and transport of fat in mammals with emphasis on n-3 polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, 23: 1005-1014.
- 48- Nigdi, M. E., S. C. Loerch, F. L. Fluharty, and D. L. Palmquist. 1990. Effect of calcium soaps of long chain fatty acids on feedlot performance, carcass characteristics and ruminal metabolism of steers. *Journal Animal Science*, 68: 2555-2565.
- 49- Nikokyris, P. N., K. Kandyliis, and K. Deligiannis. 1999. Effects of varying levels of dietary free gossypol in whole cottonseed on physiological responses of growing-fattening lambs. *Science Food Agriculture*, 79: 1969-1981.
- 50- NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small ruminant. 7th edition. Nattiona. Academy Press, Washington, DC.
- 51- Ørskov, E. R., and I. M. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92: 499-503.
- 52- Oba, M., G. Thangavelu, M. Dehghan-banadaky, and D. J. Ambrose. 2009. Unprocessed whole flaxseed is as effective as dry-rolled at increasing (-linolenic acid concentration in milk of dairy cows. *Livestock. Science*, 122: 73-76.
- 53- Palmquist, D. L., A. L. Lock, K. J. Shingfield, and D. E. Bauman. 2005. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. Pages 179-217 in *Advances in Food and Nutrition Research*. Vol. 50. S.-L. Taylor, ed. Elsevier Academic Press, San Diego, CA.
- 54- Peng, Y. S., M. A. Brown, J. P. Wuand, and Z. Liu. 2010. Different oilseed supplements alter fatty acid composition of different adipose tissues of adult ewes. *Meat Science*, 85: 542-549.
- 55- Petit, H. V. 2003. Digestion, Milk Production, Milk Composition, and Blood Composition of Dairy Cows Fed Whole Flaxseed1. *Journal of Dairy Science*, 85: 1482-1490.
- 56- Petit, H. V. 2010. Feed intake, milk production and milk composition of dairy cows fed flaxseed Review, *Canad. Journal. Animal. Science*, 2: 181.5.161.
- 57- Ratnayake, W., R. G. Ackman, and H. W. Hulan. 1989. Effect of redfish meal enriched diets on the taste and n 3pufa of 42 day old broiler chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 49: 59-74.
- 58- Santos-Silva, J., I. Mendes, P. Portugal, and R. Bessa. 2004. Effect of particle size and soybean oil supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs. *Livestock Production Science*, 90: 79-88.
- 59- SAS. 2001. Statistical Analysis System User's Guide: Statistics. SAS Institute, Cary, NC.
- 60- Schauff, D. J., and J. H. Clark. 1992. Effect of feeding diets containing calcium salts of fatty acids of long-chain fatty acids to lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 2990-3002.
- 61- Scollan, N. D., N. J. Choi, A. V. Fisher, M. Enser, and J. D. Wood. 2001. Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *British Journal of Nutrition*, 85: 115-124.
- 62- Sinclair, A. L., S. L. Cooper, J. A. Huntington, R. G. Wilkinson, K. G. Hallet, M. Enser, and J. Wood. 2005. In vitro biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids protected against ruminal microbial metabolism. *Animal Feed Science and Technology*, 123-124: 579-596.
- 63- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, B. A. and Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharide in relation to animal soybean meal on nitrogen utilization by ruminants. *Journal of Animal Science*, 63: 879-886.
- 64- Vatansever, L., E. Kurt, M. Enser, G. R. Nutem, N. D. Scollan, J. D. Wood, and R. I. Richardson. 2000. Shelf life and eating quality of beef from cattle of different breeds given diets differing in n-3 polyunsaturated fatty acid composition. *Animal. Science*, 71: 471-482.
- 65- Wachira, A. M., L. A. Sinclair, R. G. Wilkinson, M. Enser, J. D. Wood, and A. V. Fisher. 2002. Effects of dietary fat source and breed on the carcass composition, n-3 polyunsaturated fatty acid and conjugated linoleic acid content of sheep meat and adipose tissue. *British Journal of Nutrition*, 88: 697-709.
- 66- Woods, V. B., and A. M. Fearon. 2009. Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: A review. *Livestock Science*, 126: 1-20.
- 67- Zinn, R. A. 1989. Influence of level and source of dietary fat on its comparative feeding value in finishing diets for steers: Metabolism. *Journal of Animal Science*, 67: 1038-1049.
- 68- Zinn, R. A., and Y. Shen. 1996. Interaction of dietary calcium and supplemental fat on digestive function and growth performance in feedlot steers. *Journal of Animal Science*, 74: 2303-2309.
- 69- Zinn, R. A., S. K. Gulati, A. Plascencia, and J. Salinas. 2000. Influence of ruminal bio hydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle. *Journal Animal Science*, 78: 1738-1746.



Effect of different levels of linseed oil on performance, degradability, digestibility, some blood parameters, quantitative and qualitative traits of meat in fattening lambs

Y. Chashnide^{1*} - S. M. Kazemi² - A. Teymuri Yanesari¹

Received: 01-03-2016

Accepted: 02-11-2017

Introduction The extracted oil from linen contains about 50% linolenic acid from the family of omega-3 fatty acids. Among edible sources, fish oil and linseed oil are a rich source of omega-3 fatty acids. Linoleic acid and linolenic acid are a key factor in the normal growth and reproduction of animal, were not considered an important issue for animal nutrition. Essential fatty acids, including linoleic acid, linolenic acid and arachidonic acid, and in recent years the demand for foods with omega-3 long-chain fatty acid conjugated linoleic acid is high because of important biological role of these fatty acids in the body. Alpha-linolenic acid is an essential fatty acid that cannot be manufactured by the human body, but are essential for the body's metabolism. Although mammals cannot make omega-3 fatty acids, but have limited functionality in the form of fatty acid. Linseed has a high linolenic acid as a substrate for the synthesis of long-chain omega-3 fatty acid that for the (EPA), which is the precursor for eicosanoids. Eicosanoid are similar compounds of hormones that play an essential role in the immune response. In addition, EPA can become (DHA), which is an essential fatty acid in cell tissue layers of the eye and brain. The objective of this study was to evaluate the effects of linseed oil on degradability, performance, carcass characteristics and some blood parameters in fattening lambs

Material and methods In first experiment, ruminal degradability of dry matter, crude protein, NDF and ADF were measured by nylon bag technique using three fistulated Zill sheep that fed at maintenance level. Incubation time consisted of 0, 4, 8, 16, 24, 36, 48, 72 and 96. The experimental animal were kept in individual cage and fed at 8 am and 20 pm with experimental diet to ratio of 70 to 30 forage to concentrate. In the second experiment, the effects of various levels of linseed oil on performance, carcass characteristics and blood parameters were studied. The performed experiment was completely randomized design (CRD) with four diets containing zero, 1.5, 3 and 4.5 percent linseed oil on 16 male lambs with initial average weight 27 ± 2 kg and 5-6 months old for 90 days. Energy and chemical composition of rations were similar. The experimental diet was balanced

1-Associate Prof, Dept. of Animal Sciences, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

2-MSc Animal Nutrition, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

(* - Corresponding Author Email: ychashnidel2002@yahoo.com)

DOI: 10.22067/ijasr.v11i2.63277

using the Small Ruminants Nutrition System (SRNS). Monthly weighing was carried out at the end of the experiment by applying 12 hours of starvation before weighing, and daily feed intake was used to calculate the feed conversion ratio. Data obtained were analyzed by statistical software SAS (version 1.9).

Results and discussion Dry matter degradability significantly affected by experimental treatments ($P < 0.05$). However, the crude protein, NDF and ADF not observed significant difference between treatments. In first experiment, ruminal degradability of dry matter, crude protein, NDF and ADF were measured by nylon bag technique using three fistulated Zell sheep that fed at maintenance level. Incubation time consisted of 0, 4, 8, 16, 24, 36, 48, 72 and 96 h. Dry matter degradability and crude protein not observed significant difference between treatments. In the second experiment, experimental diets had significant effect on feed intake also results of the current experiment showed that linseed oil in 4.5% of dry matter had most negative effects on nutrient digestibility of total mixed ration ($P < 0.05$). Diet contained linseed oil and thyme oil affected some carcass characteristics significantly compared to other treatments ($P < 0.05$). Linseed oil increased C18:3, C18:2 and P/S ratio ($P < 0.05$). Linseed oil had a significant effect on the blood parameters of treatments.

Conclusion In general, degradation of dry matter results showed that adding linseed oil, had little effect on the degradation of dry matter and protein and numerically, was reduced compared to control. With increasing the level of linseed oil in the diet, the mean of NDF degradability, feed intake, and apparent digestibility of nutrients was a downward trend and did not improve these indices. In this study, adding linseed oil improved daily gain and feed conversion ratio compared to the control. The carcass fatty acids, omega-3 fatty acids increased, which is an indicator of health. The overall result of this study showed that increasing the level of linseed oil decreased the average degradation of NDF, feed intake and digestibility of nutrients but improved the carcass quality traits.

Key words: Blood parameters, Carcass characteristics, Linolenic acid, Linseed oil



اثر منابع آلی و معدنی مکمل روی بر عملکرد و برخی فراسنجه های خون در بره های پرواری

رضا علیمحمدی^۱ - حسن علی عربی^{۲*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۰۵

چکیده

آزمایشی به منظور بررسی اثر منابع مختلف مکمل های آلی و معدنی روی بر عملکرد رشد، فراسنجه های هماتولوژی، پروفیل مواد معدنی و لیپیدی خون در بره های پرواری به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تعداد ۳۰ رأس بره نر با سن ۴-۵ ماه و میانگین وزن بدن $2/8 \pm 3/8$ ، به طور تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند. تیمارها شامل: ۱- جیره غذایی پایه بدون مکمل روی (حاوی ۱۹/۷۲ میلی گرم روی در کیلوگرم ماده خشک)؛ ۲- جیره پایه بعلاوه ۳۰ میلی گرم روی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک به شکل روی متیونین؛ ۳- جیره پایه بعلاوه ۳۰ میلی گرم روی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک به شکل پروتئینات؛ ۴- جیره پایه بعلاوه ۳۰ میلی گرم روی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک به شکل روی گلاسیسینات و ۵- جیره پایه بعلاوه ۳۰ میلی گرم روی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک به شکل روی سولفات بودند. این آزمایش ۷۰ روز به طول انجامید. میزان ماده خشک مصرفی روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک تعیین گردید. میانگین افزایش وزن روزانه و ماده خشک مصرفی برای همه گروه های تغذیه شده با مکمل روی بالاتر از گروه شاهد بود و ضریب تبدیل نیز بهبود پیدا کرد. علاوه بر این، فراسنجه های خونی در روزهای صفر، ۳۵ و ۷۰ آزمایش مورد ارزیابی قرار گرفت. غلظت روی و هموگلوبین و تعداد گلبول های قرمز و سفید خون با افزودن روی به جیره بطور معنی داری افزایش یافت، اما در بین تیمارهای دریافت کننده مکمل اختلاف معنی داری وجود نداشت. غلظت آهن پلاسما به طور معنی داری در بره های دریافت کننده سولفات روی نسبت به گروه شاهد کاهش یافت. در بین تیمارها از نظر غلظت پلاسمایی مس، کلسیم، فسفر، تری-گلیسیرید، کلسترول و لیپوپروتئین ها (شامل HDL، LDL و VLDL) اختلاف معنی داری وجود نداشت. به طور کلی می توان نتیجه گرفت که استفاده از مقدار ۳۰ میلی گرم روی در کیلوگرم ماده خشک از منابع روی متیونین، روی پروتئینات، روی گلاسیسینات و روی سولفات سبب بهبود عملکرد رشد، میزان روی پلاسما و فراسنجه های هماتولوژی در بره های پرواری تغذیه شده با جیره پایه حاوی ۱۹/۷۲ میلی گرم روی در کیلوگرم ماده خشک شد.

واژه های کلیدی: بره، روی پروتئینات، روی سولفات، روی گلاسیسینات، روی متیونین.

مقدمه

مصرف بوده که تاکنون به عنوان ترکیب کلیدی در بیش از ۳۰۰ متالوآزیم شناخته شده است (۳۰). همچنین عملکرد بهینه بسیاری از سیستم های آنزیمی از قبیل کربنیک انهیدراز، لاکتات دهیدروژناز، گلوتامات دهیدروژناز، آلکالین فسفاتاز و تیمیدین کیناز وابسته به عنصر روی می باشد و این عنصر برای متابولیسم اسیدهای نوکلئیک، پروتئین ها، لیپیدها و کربوهیدرات ها ضروری است (۲۴). مشخص شده است که توسعه جنین و رشد، استحکام غشای گلبول های قرمز، تولید و فعالیت گلبول های سفید به ویژه لنفوسیت های T، وابسته به حضور مقدار کافی عنصر روی در خوراک می باشد (۱۷ و ۴۱). انجم ملی تحقیقات (۲۶ و ۲۷) سطح حدود ۳۰ میلی گرم روی در کیلوگرم ماده خشک جیره را برای بره های در حال رشد و میش توصیه کرده است. با این حال عامل مهم تعیین کننده نیاز، وضعیت خاک و غلظت روی در گیاهان آن منطقه می باشد (۴۱). مقدار روی در خاک های سطحی ایران بطور معمول کمتر از ۰/۸ میلی گرم در کیلوگرم می باشد و گیاهانی که در این خاک ها رشد کرده و به عنوان خوراک دام مصرف

همگام با بهبود پتانسیل تولید در دام و طیور، تامین مقدار مورد نیاز مواد معدنی به منظور رسیدن به بهینه عملکردهای متابولیکی از جمله رشد، تولیدمثل و پاسخ به چالش های پاتوژنیک از اهمیت خاصی برخوردار می باشد. این امر به ویژه در سال های اخیر، کانون توجه بسیاری از محققین این حوزه، تولیدکنندگان، کارخانجات تولید خوراک دام و دامپزشکان قرار گرفته است. روی (Zn) از مهمترین عناصر کم

۱- دانش آموخته دکتری تغذیه نشخوارکنندگان، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، ایران.

۲- دانشیار تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، ایران.

(*)-ایمیل نویسنده مسئول: h_aliarabi@yahoo.com

DOI: 10.22067/ijasr.v11i2.68412

می‌شوند مواجه با کمبود این عنصر می‌باشند (۲) که این امر می‌تواند با کاهش اشتها (۴۱) و به دنبال آن کاهش دریافت سایر مواد مغذی و کاهش رشد همراه شود. در این راستا گزارشاتی مبنی بر بهبود عملکرد (خوراک مصرفی، اضافه وزن و ضریب تبدیل) بره‌های در حال رشد با مکمل نمودن مقادیر بالاتر از توصیه انجمن ملی تحقیقات (۲۰ و ۴۰ میلی گرم در کیلوگرم علاوه بر جیره پایه حاوی حدود ۲۳ میلی گرم در کیلوگرم روی) وجود دارد (۱۰ و ۲۲).

امروزه گرایش به استفاده از منابع آلی مکمل‌های معدنی افزایش یافته است که از آن جمله می‌توان به کمپلکس‌ها، کیلات‌ها و پروتئینات‌ها اشاره نمود. در این ترکیبات، ماده معدنی به یک لیگاند آلی مانند یک اسیدآمینه، پلی‌ساکارید یا اسیدآلی متصل می‌شود (۴). به نظر می‌رسد که مزیت استفاده از مکمل‌های آلی در مقایسه با مکمل‌های معدنی، زیست فراهمی بالاتر است که می‌تواند ناشی از کاهش احتمال نامحلول شدن آنها در دستگاه گوارش، کاهش بروز اثرات آنتاگونیستی با سایر مواد معدنی، پایداری بیشتر آنها در برابر pH پایین معده و جذب از مسیری علاوه بر مسیر معمول جذب مواد معدنی باشد (۳۷). با این حال نتایج بدست آمده از مقایسه زیست فراهمی منابع آلی و معدنی در مورد عنصر روی در نشخوارکنندگان متفاوت بوده (۳۵، ۳۶ و ۳۹) و به همین دلیل گزارشات متناقضی از اثر مکمل نمودن این عنصر بر شاخص‌هایی مانند عملکرد (۱۰، ۱۱ و ۴۳)، غلظت روی خون و اثر متقابل آن با سایر عناصر در پلاسما (۱۰)، ۱۱ و ۳۲) و فراسنجه‌های هماتولوژی (۱) بدست آمده است. دلیل مهم احتمالی را می‌توان به سطح روی در جیره پایه‌ی دام‌های مناطق مختلف و نوع و مقدار مکمل استفاده شده نسبت داد. ضمن اینکه تحقیقات اندکی به بررسی اثر روی بر فراسنجه‌های لیپیدی خون در نشخوارکنندگان پرداخته‌اند (۳۴). بنابراین تحقیق حاضر با هدف مقایسه اثر مکمل نمودن مقدار ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم روی از سه منبع آلی متداول این عنصر (روی متیونین، روی پروتئینات و روی گلیسینات) با منبع معدنی (سولفات روی) بر عملکرد، فراسنجه‌های هماتولوژی و پروفیل مواد معدنی خون در بره‌های نر در حال رشد به انجام رسید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در ایستگاه تحقیقات دامپروری گروه علوم دامی دانشگاه بوعلی‌سینا همدان انجام شد. بدین منظور تعداد ۳۰ رأس بره نر نژاد مهربان با سن ۴-۵ ماه و میانگین وزن بدن $2/8 \pm 30/8$ کیلوگرم به مدت ۷۰ روز در جایگاه انفرادی قرار گرفتند. جایگاه نگهداری، قبل از قرار گرفتن دام‌ها، ابتدا تمیز و سپس با شعله افکن ضدعفونی شد. جیره پایه شامل یونجه (۳۵ درصد)، دانه جو (۵۷ درصد)، سبوس گندم (۵ درصد) و سویا (۳ درصد) بود که با توجه به

جداول نیازهای غذایی انجمن ملی تحقیقات (۲۷) تنظیم و کلیه نیازهای دام به جز عنصر روی تأمین شد. به منظور افزودن روی به جیره از روی متیونین (۱۸ درصد روی)، روی پروتئینات (۱۵ درصد روی) تهیه شده از شرکت وتاک (وتاک، تهران)، روی گلیسینات (۱۸ درصد روی) تهیه شده از شرکت لالوک (لالوک، تهران) و نمک سولفات روی تهیه شده از شرکت مرک (مرک، آلمان) استفاده شد. به منظور اطمینان، غلظت روی در مکمل‌های مختلف اندازه‌گیری شد. جهت عادت پذیری به محیط و جیره جدید در یک دوره ۱۴ روزه با جیره پایه بدون مکمل روی تغذیه شدند. بره‌ها با شروع دوره اصلی توزین شده تا وزن اولیه آن‌ها بدست آید. سپس به طور تصادفی به ۵ گروه تقسیم (هر تیمار شامل ۶ بره) و بصورت انفرادی و با دسترسی آزاد به خوراک و آب تغذیه شدند. تیمارها شامل: ۱- جیره غذایی پایه بدون مکمل روی (شاهد)؛ ۲- جیره شاهد به همراه مقدار ۳۰ میلی گرم روی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک خوراک به شکل روی متیونین؛ ۳- جیره شاهد به همراه مقدار ۳۰ میلی گرم روی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک خوراک به شکل روی پروتئینات؛ ۴- جیره شاهد به همراه مقدار ۳۰ میلی گرم روی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک خوراک به شکل روی گلیسینات و ۵- جیره شاهد به همراه مقدار ۳۰ میلی گرم روی به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک خوراک به شکل روی سولفات بود. جیره غذایی به صورت آزاد و در دو نوبت (۸ صبح و ۱۷ عصر) در اختیار بره‌ها قرار گرفت. از سبوس گندم و سویا نیز به عنوان حامل مکمل‌ها استفاده گردید که با شروع دوره اصلی، قبل از نوبت غذایی صبح و به همراه بخشی از کنسانتره در اختیار بره‌ها قرار گرفت.

به منظور بررسی تغییرات وزن زنده، بره‌ها در ابتدای آزمایش و در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲، ۵۶ و ۷۰ با اعمال محدودیت ۱۲ تا ۱۴ ساعته از خوراک و آب، وزن‌کشی شدند. همچنین جهت تعیین مقدار خالص مصرف ماده خشک، خوراک داده شده (۱۰ درصد بیشتر از خوراک خالص مصرف شده در روز قبل) و پسمانده آن برای هر حیوان به صورت روزانه اندازه‌گیری شد. جهت تعیین ترکیب شیمیایی نمونه‌های خوراک (ماده خشک، پروتئین خام، خاکستر و ماده آلی) از روش‌های AOAC (۳) استفاده شد. فیبر نامحلول در شوینده اسیدی و فیبر نامحلول در شوینده خنثی نیز به روش ون‌سوست و همکاران (۱۰) تعیین شد. همچنین جهت اندازه‌گیری غلظت روی در مکمل‌های آلی و خوراک، و غلظت روی، مس و آهن در نمونه‌های خوراک از روش هضم خشک (۴۷) استفاده شد.

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی مواد خوراکی و جیره پایه

Table 1- Ingredients and nutrient composition of the basal diet

مواد مغذی Nutrients	اجزای خوراک Feedstuff				جیره پایه Basal diet
	یونجه (۳۵٪) Alfalfa hay (27%)	دانه جو (۵۷٪) Barley grain (57%)	سبوس گندم (۵٪) Wheat bran (5%)	کنجاله سویا (۳٪) Soy meal (3%)	
ماده خشک Dry Matter (%)	90.07	91.96	88.80	91.76	91.13
ماده آلی Organic Matter (%)	91.70	91.40	93.10	93.41	91.65
پروتئین خام Crude Protein (%)	14.51	11.33	15.92	41.94	13.59
انرژی قابل متابولیسم ^۱ ME ¹ (Mcal/kg)	2.10	3.00	2.50	3.00	2.66
فیبر نامحلول در شوینده خنثی NDF (%)	51.40	22.70	55.40	30.62	34.62
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ADF (%)	29.90	11.80	13.13	8.83	18.11
کلسیم Ca (%)	1.71	0.08	0.13	0.31	0.65
فسفر P (%)	0.25	0.33	0.75	0.60	0.33
روی Zn (Mg/kg DM)	18.06	16.30	52.12	50.09	19.72
مس Cu (Mg/kg DM)	9.50	6.10	12.28	17.22	7.93
آهن Fe (Mg/kg DM)	372.60	94.55	140.62	181.60	196.80

^۱ انرژی قابل متابولیسم با استفاده از جدول نیازهای غذایی انجمن تحقیقات ملی (۲۰۰۷) محاسبه گردید

¹Metabolizable Energy was calculated based on NRC (2007).

منظور اندازه گیری فراسنجه های هماتولوژی (تعداد گلبول های سفید، تعداد گلبول های قرمز، هماتوکریت و غلظت هموگلوبین)، مقدار ۲ میلی لیتر از خون گرفته شده در روزهای صفر، ۳۵ و ۷۰ آزمایش در لوله مخصوص حاوی هپارین ریخته و بلافاصله به آزمایشگاه تشخیص پزشکی ارسال و با دستگاه سلول شمار اتوماتیک (Sysmex مدل KX – 21 N) آنالیز شد. غلظت روی، آهن و مس پلاسما بعد از هضم طبق روش ریمباچ و همکاران (۲۹)، توسط دستگاه جذب اتمی (مدل Variant spectrAA220) تعیین شد. غلظت سرمی کلسیم، فسفر، تری گلیسرید، HDL، LDL، VLDL و کلسترول توسط کیت های ساخت شرکت پارس آزمون مطابق با دستورالعمل سازنده کیت و با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Varincary 100) اندازه گیری شد. تجزیه داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS (۳۳) با استفاده از

به منظور بررسی فراسنجه های خونی، در روزهای صفر، ۳۵ و ۷۰ قبل از نوبت غذایی صبح و با اعمال محدودیت غذایی ۱۲ تا ۱۴ ساعته از طریق ورید وادج از تمام بره ها خونگیری بعمل آمد. نمونه های خون مربوط به هر دام در هر روز در ۲ لوله آزمایش مجزا جمع آوری شدند. یک لوله حاوی هپارین برای استخراج پلاسما و یک لوله بدون ماده ضد انعقاد برای استخراج سرم بود. نمونه های خون جمع آوری شده، به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده (۳۰۰۰ rpm) و پلاسما یا سرم آن ها جدا گردید. نمونه ها تا زمان اندازه گیری فاکتورهای خونی در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. از نمونه های پلاسما به منظور اندازه گیری غلظت عناصر روی، مس و آهن استفاده گردید. این در حالی است که غلظت فراسنجه های لیپیدی، کلسیم و فسفر در نمونه های سرم، اندازه گیری شد. به

رویه GLM صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن با سطح احتمال خطای آلفا برابر با ۰/۰۵ انجام شد. برای صفاتی مثل وزن اولیه، وزن پایانی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل از مدل آماری زیر استفاده شد. ضمن اینکه وزن ابتدایی بره‌ها در شروع آزمایش در آنالیز وزن نهایی و افزایش وزن روزانه به عنوان کوواریت در نظر گرفته شد، اما با توجه به عدم معنی‌داری در مدل استفاده نشد.

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

Y_{ij} : مقدار هر مشاهده؛ μ : اثر ثابت میانگین کل؛ T_i : اثر ثابت تیمار؛ Bx_{ij} : ضریب ثابت؛ e_{ij} : اثر تصادفی خطای آزمایشی.

صفات مربوط به فراسنجه‌های هماتولوژی، غلظت عناصر روی، آهن، مس، کلسیم و فسفر، و فراسنجه‌های لیپیدی در چارچوب طرح کاملاً تصادفی به صورت تکرار در زمان طبق مدل ذیل تجزیه آماری شد که در آن فاکتور اصلی تیمار و فاکتور فرعی زمان بود.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + Ea_{ik} + Eb_{ijk}$$

Y_{ijk} : مشاهده مربوط به تیمار i و زمان اندازه‌گیری j در تکرار k ؛ μ : اثر ثابت میانگین کل؛ A_i : اثر ثابت تیمار i ؛ B_j : اثر ثابت زمان اندازه‌گیری (روز صفر، ۳۵ و ۷۰)؛ AB_{ij} : اثر ثابت برهم‌کنش تیمار i و زمان اندازه‌گیری j ؛ Ea_{ik} : اشتباه اصلی (شامل دام در داخل تیمار)؛ Eb_{ijk} : اشتباه فرعی (اثرات باقیمانده مدل).

نتایج و بحث

نتایج مربوط به عملکرد بره‌ها در تیمارهای مختلف در جدول ۲ ارائه شده است. با وجود عدم تفاوت آماری معنی‌دار بین گروه‌ها در وزن ابتدایی، افزایش وزن روزانه و مصرف ماده خشک در هر چهار گروه از بره‌های دریافت‌کننده مکمل روی نسبت به گروه شاهد بیشتر بود ($P < 0/05$). ضریب تبدیل نیز در تمامی گروه‌های مکمل شده با روی بهبود پیدا کرد ($P < 0/05$). این در حالی است که علیرغم بیشتر بودن وزن نهایی در همه تیمارهای مکمل شده با روی، تنها وزن نهایی در گروه‌های دریافت‌کننده روی متیونین و روی پروتئینات نسبت به گروه شاهد روند معنی‌داری داشت ($P < 0/10$). از لحاظ صفات عملکردی ذکر شده، تفاوت معنی‌داری بین بره‌های دریافت‌کننده انواع مکمل مشاهده نشد.

در تحقیق حاضر بره‌های مصرف‌کننده جیره پایه (حاوی مقدار ۱۹/۷۲ میلی‌گرم در کیلوگرم روی) اضافه وزن روزانه کمتری نسبت به گروه‌های تغذیه شده با مکمل روی داشتند و به نظر می‌رسد مقدار روی موجود در جیره پایه به منظور رشد بهینه کافی نبوده است. گزارش شده است که بره‌های مصرف‌کننده مقدار ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی از منبع روی متیونین (علاوه بر جیره پایه حاوی ۳۳ میلی‌گرم در کیلوگرم روی) افزایش وزن روزانه بیشتری نسبت به بره‌های مکمل شده با سولفات روی و گروه شاهد داشتند که دلیل این

امر به افزایش قابلیت دسترسی روی از منابع آلی نسبت به معدنی نسبت داده شد (۱۱). همچنین علی‌عربی و همکاران (۱) با افزودن مکمل روی به میزان ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به جیره پایه حاوی ۲۲/۴۷ میلی‌گرم روی در کیلوگرم ماده خشک، بهبود در افزایش وزن روزانه و بازده تبدیل خوراک را گزارش نمودند که همسو با نتایج حاضر است. بر اساس جداول انجمن ملی تحقیقات (۲۶ و ۲۷) نیاز توصیه شده به عنصر روی در بره‌های با وزن ۳۰ تا ۵۰ کیلوگرم برای افزایش وزن روزانه حدود ۲۵۰ گرم در روز، بین مقادیر ۲۸ تا ۴۹ میلی‌گرم در روز (میانگین ۳۸/۵) می‌باشد. این در حالی است که بره‌های گروه شاهد بطور میانگین در حدود ۲۸ میلی‌گرم روی در هر روز دریافت کرده‌اند که از مقدار توصیه شده کمتر بوده و احتمالاً بر عملکرد رشد حیوان تاثیر منفی داشته است. از طرفی مکمل نمودن روی به میزان ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک، مصرف روزانه این عنصر را به حدود ۷۵ میلی‌گرم در روز افزایش داده که بالاتر از توصیه NRC بوده و از این طریق بر عملکرد موثر واقع شده است. این امر به این معنا نیست که بره‌های در حال رشد برای عنصر روی، نیاز بالاتری نسبت به توصیه NRC دارند، بلکه نشان می‌دهد که مقدار ۲۸ میلی‌گرم روی در روز، نیاز بره‌های حاضر را تامین نکرده است. همچنین تأییدی بر این تئوری است که میزان نیاز بهینه هر دام به عناصر ریز مغذی مانند مواد معدنی حتی برای هر دام در هر شرایطی ممکن است متفاوت باشد (۱۹). همچنین نشان می‌دهد که جداول استاندارد غذایی در مورد مواد ریز مغذی سطح بهینه را نشان نداده، بلکه حداقل مقادیر مورد نیاز را توصیه می‌کنند. از طرفی، با دریافت روزانه مقدار ۷۵ میلی‌گرم روی در کیلوگرم، تفاوتی بین روی متیونین، روی پروتئینات، روی گلايسين و سولفات روی وجود نداشت که در تطابق با نتایج رایت و اسپیرز (۴۵) در گوساله‌های دریافت‌کننده مقدار ۲۰ میلی‌گرم روی از منابع سولفات روی و روی پروتئینات (علاوه بر جیره پایه حاوی ۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم روی) می‌باشد.

با توجه به اینکه بره‌های تغذیه شده با جیره پایه، روی را کمتر از نیاز دریافت کرده‌اند (۲۷) و اثر کمبود این عنصر بر اشتها (۴۱)، کاهش مصرف خوراک مشاهده شده در این گروه قابل توجیه می‌باشد. بیشتر گزارشات در دسترس به عدم تاثیر افزودن مکمل روی به جیره بر مصرف خوراک در دام‌های مختلف اشاره داشته است (۱۵، ۲۱، ۲۳ و ۴۳). با استفاده از مکمل روی به صورت روی پروتئینات و سولفات روی در تحقیق علی‌عربی و همکاران (۱) در بره‌های پرواری و ماندال و همکاران (۲۳) در گوساله‌های نر، که به ترتیب جیره پایه تحقیق آنها حاوی ۲۲/۴۷ و ۳۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم روی بود، تفاوتی در مصرف خوراک مشاهده نشد که این امر را می‌توان به بالاتر بودن مقدار این عنصر در جیره پایه دام‌های مورد آزمایش این محققین نسبت به تحقیق حاضر (۱۹/۷۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) نسبت داد. با

این حال در تایید نتایج حاضر، گارج و همکاران (۱۱) و ملاکی و همکاران (۲۲)، بهبود در مصرف اختیاری خوراک برهه‌ها را به ترتیب با استفاده از روی متیونین و روی پروتئینات نسبت به گروه شاهد و گروه مکمل شده با سولفات روی گزارش نمودند.

در تحقیق حاضر بهبود در ضریب تبدیل خوراک برهه‌های دریافت کننده ۳۰ میلی گرم روی به صورت مکمل‌های آلی و معدنی نسبت به گروه شاهد و عدم تفاوت معنی‌دار بین انواع مکمل‌های استفاده شده در تطابق با نتایج فدایی‌فر و همکاران (۱۰) می‌باشد. اگرچه پیش از

این گارج و همکاران (۱۱) گزارش نمودند که تنها استفاده از روی متیونین در جیره برهه‌ها در مقایسه با گروه مصرف کننده سولفات روی و گروه شاهد با بهبود در ضریب تبدیل خوراک همراه بوده است. در مقابل، اسپیرز و همکاران (۴۰) و ماندال و همکاران (۲۳) در گوساله‌های در حال رشد به ترتیب با استفاده از ۲۵ و ۳۵ میلی گرم در کیلوگرم روی، تفاوتی را در ضریب تبدیل خوراک گزارش نکردند.

جدول ۲- اثر افزودن روی بر عملکرد برهه‌ها در تیمارهای مختلف^۱

Table 2- Effect of zinc supplementation on performance of lambs in different treatments¹

فراسنجه ها Parameters	تیمارها ^۲ Treatments ²					SEM ³	P-value
	Ctrl	ZnM	ZnP	ZnG	ZnS		
وزن اولیه Initial Body Weight (kg)	30.23	31.22	30.83	30.80	31.05	0.737	0.893
وزن نهایی Final Body Weight (kg)	42.90 ^b	46.27 ^a	45.97 ^a	45.18 ^{ab}	45.70 ^{ab}	0.972	0.083
افزایش وزن روزانه Average Daily Gain (gr)	181 ^b	216 ^a	215 ^a	205 ^a	209 ^a	5.344	0.001
ماده خشک مصرفی روزانه Average Daily Feed Intake (gr)	1440 ^b	1520 ^a	1532 ^a	1499 ^a	1517 ^a	17.356	0.008
ضریب تبدیل Feed Conversion Ratio	8.01 ^a	7.08 ^b	7.10 ^a	7.31 ^a	7.26 ^a	0.173	0.004

^۱حروف متفاوت در هر ردیف از هر بخش نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد.

^۲Ctrl: شاهد؛ ZnM: روی متیونین؛ ZnP: روی پروتئینات؛ ZnG: روی گالینین؛ ZnS: روی سولفات.

^۱Means with different superscript letters in rows are significantly different ($p < 0.05$).

²Ctrl: Control; ZnM: Zinc methionine; ZnP: Zinc proteinate; ZnG: Zinc Glycinate; ZnS: Zinc sulfate.

³SEM: Standard error of the mean.

افزودن مکمل روی به میزان ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک سبب افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) غلظت روی پلاسما در گروه‌های دریافت کننده مکمل روی نسبت به گروه شاهد شد (جدول ۳). اما در بین تیمارهای دریافت کننده مکمل روی اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات فدایی-فر و همکاران (۱۰)، مبنی بر افزایش غلظت روی پلاسما با افزودن مکمل آلی و معدنی این عنصر (روی پروتئینات و سولفات روی) از طریق خوراک در مقادیر ۲۰ و ۴۰ میلی گرم در کیلوگرم به جیره پایه حاوی مقدار حدود ۲۲/۵۰ میلی گرم روی در کیلوگرم ماده خشک، مطابقت دارد. غلظت روی پلاسما در نشخوارکنندگان در دامنه ۰/۸ تا ۱/۴ میلی گرم در لیتر قرار دارد (۴۱)، که داده‌های حاصل از آزمایش حاضر نیز در این دامنه می‌باشد. ظرفیت ذخیره روی در بدن ضعیف

بوده (۲۵) و نیاز است که این عنصر به طور مداوم از طریق جیره تأمین شود. در تحقیق حاضر نیز غلظت روی در گروه شاهد نزدیک به مقدار حداقل بوده و به نظر می‌رسد که افزایش مشاهده شده در غلظت روی پلاسما در گروه‌های دریافت کننده مکمل نسبت به گروه شاهد، نشان دهنده ناکافی بودن مقدار روی جیره پایه مصرف شده توسط دامها بوده و مصرف مکمل حاوی روی در این مسیر مؤثر واقع شده است. در مقابل، ماندال و همکاران (۲۳) گزارش دادند که تفاوت معنی‌داری در غلظت روی سرم گوساله‌هایی که ۳۵ میلی گرم در کیلوگرم روی به صورت روی پروپیونات با جیره‌ی حاوی ۳۲/۵ میلی گرم در کیلوگرم روی دریافت کردند، وجود نداشت. این اختلاف می‌تواند بدلیل بالاتر بودن روی جیره‌ی پایه در پژوهش این محققین نسبت به تحقیق حاضر، وضعیت قبلی روی در بدن دامها، نوع مکمل

استفاده شده و اثر سیستم هموستازی بدن در جلوگیری از افزایش جذب روی خورده شده باشد (۱). در بین تیمارهای دریافت کننده روی، تفاوتی از نظر اثر نوع مکمل (آلی و معدنی) بر غلظت روی در پلاسمای خون برهه‌ها وجود نداشت که همسو با نتایج گزارش شده توسط محققینی از قبیل ماندال و همکاران (۳۳) به صورت روی پروتئینات در گوساله و سالما و همکاران (۳۲) به صورت روی متیونین در بزهای شیرری بود. از طرفی گارج و همکاران (۱۱) طی یک دوره ۱۵۰ روزه با مکمل نمودن جیره پایه (حاوی ۳۴ میلی‌گرم در

کیلوگرم روی) با مقدار ۲۰ میلی‌گرم روی به صورت روی متیونین و سولفات روی، افزایش غلظت روی پلاسمای خون برهه‌ها را با استفاده از روی متیونین نسبت به سولفات روی گزارش نموده و دلیل آن را به بالاتر بودن زیست فراهمی منابع آلی نسبت به منابع معدنی نسبت دادند. بالاتر بودن سطح روی مصرف شده و مدت زمان بیشتر آن تحقیق نسبت به تحقیق حاضر را می‌توان به عنوان دلیل احتمالی این تفاوت در نظر گرفت.

جدول ۳- اثر افزودن روی بر پروفیل مواد معدنی خون برهه‌ها در تیمارهای مختلف^۱

Table 3- Effect of zinc supplementation on blood mineral profile of lambs in different treatments¹

فراسنجه‌ها Parameters	تیمارها ^۲ Treatments ²					SEM ³	تیمارها Treatments		
	Ctrl	ZnM	ZnP	ZnG	ZnS		Treatment	Time	Treatment × Time
روی پلاسما Zn (mg/L)	0.91 ^b	1.31 ^a	1.26 ^a	1.28 ^a	1.30 ^a	0.074	0.003	0.014	0.065
مس پلاسما Cu (mg/L)	1.02	1.04	1.03	1.03	1.05	0.044	0.991	0.708	0.992
آهن پلاسما Fe (mg/L)	1.91 ^a	1.87 ^{ab}	1.85 ^{ab}	1.87 ^{ab}	1.78 ^b	0.036	0.048	0.171	0.968
کلسیم سرم Ca (mg/dL)	8.72	9.36	9.29	9.13	9.33	0.228	0.289	0.271	0.858
فسفر سرم P (mg/dL)	7.98	7.99	7.75	7.89	7.95	0.129	0.662	0.271	0.964

^۱حروف متفاوت در هر ردیف از هر بخش نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد.

^۲Ctrl: شاهد؛ ZnM: روی متیونین؛ ZnP: روی پروتئینات؛ ZnG: روی گلايسین؛ ZnS: روی سولفات.

^۱Means with different superscript letters in rows are significantly different ($p < 0.05$).

^۲Ctrl: Control; ZnM: Zinc methionine; ZnP: Zinc proteinate; ZnG: Zinc Glycinate; ZnS: Zinc sulfate.

^۳SEM: Standard error of the mean.

به میزان ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از منبع روی پروتئینات و سولفات روی مشاهده نکردند. با این حال آتیا و همکاران (۵) دریافتند که غلظت مس سرم در گوساله‌های گاومیش که مقدار ۲۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی به صورت اکسید روی دریافت کردند، کاهش پیدا کرد که می‌تواند بدلیل بالاتر بودن مقدار روی دریافت شده و اثر آنتاگونیستی روی با مس باشد. زیرا به نظر می‌رسد که سطوح بالای روی در جیره غذایی سبب تحریک سنتز متالوتیونین شده و این پروتئین در سلول‌های انتروسیت روده به علت میل ترکیبی شدید به روی و مس مانع جذب هم روی و هم مس می‌شود که البته میل ترکیب با مس بیشتر است (۲۰).

غلظت آهن پلاسمای خون برهه‌های مورد آزمایش تحت تاثیر تیمارها قرار گرفت (جدول ۳). کمترین غلظت آهن خون (۱/۷۸)

بر اساس جدول ۳، افزودن روی در مقدار حاضر (۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) چه از منابع آلی و چه از منبع معدنی اثری بر غلظت مس پلاسما نداشت. غلظت مس پلاسمای خون گوسفند در دامنه ۰/۸ تا ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر قرار دارد (۲۷) که در تحقیق حاضر نیز در این محدوده است و با توجه به غلظت مس در جیره پایه (۷/۹۳ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) که در دامنه توصیه شده توسط انجمن ملی تحقیقات (۲۶) قرار دارد (۷ تا ۱۱ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)، قابل توجیه می‌باشد. در تایید نتایج ما، در تحقیق ماندال و همکاران (۳۳) تفاوت معنی‌داری در غلظت مس پلاسمای گوساله‌هایی که ۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم روی به صورت سولفات روی و روی پروپیونات مصرف کردند وجود نداشت. فدایی‌فر و همکاران (۱۰) نیز تفاوت معنی‌داری را در برهه‌های دریافت کننده روی

میلی گرم در لیتر) در گروه دریافت کننده روی بصورت سولفات بود که اختلاف معنی داری با گروه شاهد (۱/۹۱ میلی گرم در لیتر) داشت ($P<0.05$). این در حالی است که غلظت پلاسمایی این عنصر برای گروه های مصرف کننده روی متیونین، روی پروتئینات و روی گلایسینات به ترتیب ۱/۸۷، ۱/۸۵ و ۱/۸۷ بود. پایین تر بودن مقادیر آهن در گروه های دریافت کننده مکمل نسبت به شاهد را می توان به اثر رقابتی روی و عناصر دو ظرفیتی از جمله آهن (Fe^{2+}) به هنگام جذب نسبت داد (۱۳). از طرفی بالاتر بودن غلظت آهن در گروه های دریافت کننده مکمل آلی نسبت به گروه دریافت کننده مکمل معدنی را می توان ناشی از متابولیسم متفاوت مکمل های آلی و معدنی و به ویژه تداخل کمتر روی از منبع آلی در جذب سایر عناصر از جمله آهن دانست. گارج و همکاران (۱۱) گزارش نمودند که با افزودن ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم روی به صورت سولفات روی یا روی متیونین به جیره پایه حاوی ۳۴ میلی گرم در کیلوگرم روی در بره های در حال رشد، غلظت آهن سرم به طور معنی داری کاهش پیدا کرد، که می تواند تأییدی بر نتایج مطالعه حاضر باشد. لازم به ذکر است در تحقیق گارج و همکاران (۱۱) استفاده از مکمل آلی به شکل روی متیونین نیز با کاهش غلظت آهن سرم خون همراه بود و همسو با اثر روی متیونین در تحقیق حاضر نیست، اما این تفاوت را می توان به غلظت بالاتر روی در جیره پایه آنها (۳۴ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) نسبت به این تحقیق (۱۹/۷۲ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) نسبت داد. همچنین ویرینگ و همکاران (۴۴) نشان دادند که استفاده از مکمل روی در تغذیه کودکان به مدت طولانی سبب کاهش غلظت آهن در خون آنها می شود. با این وجود فدایی فر و

همکاران (۱۰)، جیا و همکاران (۱۵) و ماندال و همکاران (۲۳) با مصرف مکمل روی معدنی و آلی در سطوح خوراکی به ترتیب در بره، بز و گوساله های پرواری تأثیری بر غلظت آهن پلاسما گزارش نکردند.

اختلاف آماری معنی داری از نظر غلظت کلسیم و فسفر سرم در بین تیمارها مشاهده نشد. غلظت کلسیم سرمدر نشخوارکنندگان در دامنه ۹۰ تا ۱۲۰ میلی گرم در لیتر و غلظت فسفر در دامنه ۶۱ تا ۹۲ میلی گرم در لیتر قرار دارد (۴۱) که با داده های به دست آمده مطابقت دارد. همسو با نتایج حاضر، گارج و همکاران (۱۱) و فدایی فر و همکاران (۱۰) نیز در تحقیقات خود به ترتیب در گوساله ها و بره های پرواری، تفاوت معنی داری در غلظت کلسیم و فسفر سرم خون با افزودن روی به صورت سولفات روی، روی متیونین و روی پروتئینات مشاهده نکردند. هرچند، داقاش و موسی (۷) کاهش معنی دار غلظت کلسیم سرم گاو میش های دریافت کننده مقادیر بالاتر از مقادیر روی در تحقیق حاضر (۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خوراک) را گزارش نمودند.

افزودن روی به میزان ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم از هر دو منبع آلی و معدنی به جیره بره های آزمایش حاضر، افزایش در فراسنجه های هماتولوژی شامل تعداد گلبول های قرمز ($P<0.01$)، تعداد گلبول های سفید ($P<0.01$)، غلظت هموگلوبین ($P<0.01$) و درصد هماتوکریت ($P<0.05$) را به همراه داشت (جدول ۴). اما تفاوت آماری معنی داری بین نوع منبع در این فراسنجه ها مشاهده نشد.

جدول ۴- اثر افزودن روی بر فراسنجه های هماتولوژی بره ها در تیمارهای مختلف^۱

Table 4- Effect of zinc supplementation on hematological parameters of lambs in different treatments¹

فراسنجه ها Parameters	تیمارها ^۲ Treatments ²					SEM ³	تیمارها Treatments		
	Ctrl	ZnM	ZnP	ZnG	ZnS		Treatment	Time	Treatment × Time
تعداد گلبول های قرمز RBC (10 ¹² /L)	9.16 ^b	9.66 ^a	9.37 ^a	9.54 ^a	9.48 ^a	0.088	0.004	0.588	0.273
غلظت هموگلوبین Hb (gr/dL)	10.60 ^b	11.06 ^a	11.01 ^a	11.04 ^a	10.95 ^a	0.107	0.031	0.103	0.375
تعداد گلبول های سفید WBC (10 ⁹ /L)	7.68 ^b	8.42 ^a	8.46 ^a	8.56 ^a	8.61 ^a	0.235	0.006	0.994	0.915
هماتوکریت HCT (%)	38.53	40.41	40.04	40.09	40.97	0.787	0.290	0.684	0.583

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

^۲Ctrl: شاهد؛ ZnM: روی متیونین؛ ZnP: روی پروتئینات؛ ZnG: روی گلایسین؛ ZnS: روی سولفات.

^۱Means with different superscript letters in rows are significantly different ($p<0.05$).

^۲Ctrl: Control; ZnM: Zinc methionine; ZnP: Zinc proteinate; ZnG: Zinc Glycinate; ZnS: Zinc sulfate.

^۳SEM: Standard error of the mean.

گلبول‌های سفید و لنفوسیت‌ها را در نتیجه افزودن روی به جیره بره‌های پرواری، گزارش نمودند. بنابراین به نظر می‌رسد مقدار روی موجود در جیره پایه مورد استفاده در این تحقیق برای تولید و حفظ سلول‌های خونی و هموگلوبین ناکافی بوده و افزودن ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی از منبع آلی یا معدنی موجب بهبود وضعیت این فراسنجه‌ها شده است.

اگرچه پژوهش‌های متعددی در انسان و برخی حیوانات به بررسی اثر مفید عنصر روی در بهبود متابولیسم چربی شامل کاهش کلسترول، LDL و تری‌گلیسیرید و افزایش غلظت HDL در خون پرداخته‌اند، اما تحقیقات چندانی در مورد نشخوارکنندگان در دسترس نیست. با توجه به جدول ۵، افزودن مکمل‌های آلی و معدنی روی به جیره بره‌های پرواری تاثیر معنی‌داری بر غلظت تری‌گلیسیرید، کلسترول، HDL، LDL و VLDL سرم نداشت. همسو با نتایج حاضر، سبحانی‌راد و همکاران (۳۴) گزارش نمودند که مکمل‌سازی جیره پایه (حاوی ۳۳ میلی‌گرم در کیلوگرم روی) در بره‌های بلوچی با مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی، تاثیر معنی‌داری بر غلظت کلسترول و تری‌گلیسیرید سرم نداشت. نتیجه مشابهی نیز در جوجه‌های گوشتی با استفاده از مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی، به شکل اکسید روی گزارش شده است (۱۵). اگرچه ال‌هندی و همکاران (۸) مشاهده کردند که القای کمبود روی در موش‌های آزمایشگاهی با افزایش غلظت کلسترول و تری‌گلیسیرید سرم خون همراه شد. همچنین وو و سان (۴۶) بیان نمودند که کمبود روی در موش سبب کاهش مصرف خوراک و کاهش جذب لیپیدها شده و به دنبال آن غلظت کلسترول، تری‌گلیسیرید و لیپوپروتئین‌های خون را کاهش می‌دهد. بر این اساس می‌توان گفت که مقدار روی در جیره پایه به اندازه‌ای کم نبوده که بتواند تاثیری بر فراسنجه‌های چربی القا کند.

نتیجه‌گیری کلی

بطور کلی نتایج تحقیق حاضر بهبود در وضعیت روی، شاخص‌های رشد، خوراک مصرفی و هماتولوژی را در بره‌های پرواری مکمل شده با مقدار ۳۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم ماده خشک، نشان داد. اما تفاوتی در فراسنجه‌های لیپیدی مشاهده نشد. همچنین از نظر نوع منبع، تفاوت معنی‌داری بین منابع آلی (روی متیونین، روی پروتئینات و روی گلیسینات) و منبع معدنی (سولفات روی)، وجود نداشت. با این وجود غلظت آهن پلاسما در بره‌های مصرف کننده سولفات روی نسبت به گروه شاهد با کاهش همراه بود.

بر اساس منابع در دسترس (۱۴ و ۲۸)، محدوده نرمال تعداد گلبول‌های قرمز خون گوسفند از ۹ تا ۱۵ ($\times 10^{12}$) در هر لیتر خون)، تعداد گلبول‌های سفید ۴ تا ۱۲ ($\times 10^9$) در هر لیتر خون)، غلظت هموگلوبین ۹ تا ۱۵ (گرم در دسی‌لیتر) و درصد هماتوکریت ۲۷ تا ۴۵ (درصد) می‌باشد که داده‌های بدست آمده در تحقیق حاضر نیز در این دامنه قرار دارند. مشخص شده است که عنصر روی با تاثیر بر سنتز و فعالیت آنزیم لولولینیک اسید دهیدراز که یکی از آنزیم‌های مؤثر در مسیر تولید هموگلوبین است، در سنتز این مولکول نقش دارد (۱۲). همچنین کمبود عنصر روی، باعث حساسیت غشاء به آسیب اکسیداتیو و به دنبال آن شکنندگی گلبول‌های قرمز خون می‌شود (۹ و ۱۸). اگر چه مشخص شده است که در حیوانات مواجه با کمبود آهن جذب روده‌ای و توزیع بافتی روی افزایش می‌یابد (۱۲) اما با توجه به اینکه غلظت آهن در جیره پایه تحقیق حاضر در سطح نیاز توصیه شده قرار دارد (۲۴ و ۲۵)، می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد و تیمارهای دریافت کننده روی از نظر تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین، ناشی از کمبود دریافت روی در گروه شاهد می‌باشد. همسو با نتایج حاضر، روییک و همکاران (۳۱) با انجام تحقیقی در خوک‌های پرواری با استفاده از مقدار ۸۴/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم روی به صورت سولفات روی، بیان نمودند که غلظت هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و درصد هماتوکریت به طور معنی‌داری افزایش یافت. با این وجود در تحقیق علی‌عربی و همکاران (۱) در بره‌های پرواری، با استفاده از سولفات روی و روی پروتئینات به مقدار ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی به همراه جیره پایه حاوی مقدار ۲۲/۴۷ میلی‌گرم در کیلوگرم روی، چنین اثر معنی‌داری مشاهده نشد. اختلاف مشاهده شده را می‌توان به کمتر بودن غلظت جیره پایه در تحقیق حاضر نسبت داد. اثر نوع مکمل بر تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین خون معنی‌دار نبود. چاوان و همکاران (۶) نیز در بزغاله‌های در حال رشد (با سن ۳-۴ ماه) و دریافت کننده مقدار ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی به صورت سولفات روی و متیونین روی، تفاوتی در میزان هموگلوبین در گروه شاهد با سولفات روی مشاهده نکردند. اگرچه افزایش غلظت گلبول‌های سفید خون به بالاتر از سطح نرمال، می‌تواند نشانگر وجود تنش زیستی در بدن باشد (۱۴ و ۲۸) اما با توجه به اینکه مقدار گلبول‌های سفید خون در همه تیمارها در محدوده نرمال قرار دارد (۲۸)، می‌توان اینگونه بیان نمود که مکمل نمودن روی به جیره پایه سبب افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون نسبت به گروه شاهد شده که احتمالاً به نقش این عنصر در نرخ تقسیم سلولی گلبول‌های سفید (۳۰) و وظیفه آنتی اکسیدانی روی در محافظت از آنها و به ویژه لنفوسیت‌ها مرتبط باشد (۳۸). در همین راستا علی‌عربی و همکاران (۱) نیز افزایش تعداد

جدول ۵- اثر افزودن روی بر فراسنجه های لیپیدی سرم خون بره ها در تیمارهای مختلف^۱
Table 5- Effect of zinc supplementation on serum lipid parameters of lambs in different treatments¹

تیمارها Treatments فراسنجه ها Parameters	تیمارها ^۲ Treatments ²					SEM ³	تیمارها Treatments		
	Ctrl	ZnM	ZnP	ZnG	ZnS		Treatment	Time	Treatment × Time
تریگلیسرید TG (mg/dl)	25.61	25.26	24.49	25.19	26.14	0.529	0.291	0.117	0.173
کلسترول CHOL (mg/dl)	53.30	53.99	53.59	53.32	54.64	0.686	0.621	0.217	0.906
لیپوپروتئین های با چگالی زیاد HDL (mg/dl)	36.25	36.69	37.74	35.67	37.85	0.750	0.208	0.553	0.678
لیپوپروتئین های با چگالی کم LDL (mg/dl)	11.92	12.25	10.94	12.62	11.56	0.532	0.245	0.273	0.667
لیپوپروتئین های با چگالی خیلی کم VLDL (mg/dl)	5.12	5.05	4.90	5.04	5.23	0.105	0.291	0.117	0.173

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

^۲Ctrl: شاهد؛ ZnM: روی متیونین؛ ZnP: روی پروتئینات؛ ZnG: روی گلايسین؛ ZnS: روی سولفات.

^۱Means with different superscript letters in rows are significantly different ($p < 0.05$).

^۲Ctrl: Control; ZnM: Zinc methionine; ZnP: Zinc proteinate; ZnG: Zinc Glycinate; ZnS: Zinc sulfate.

^۳SEM: Standard error of the mean.

منابع

- 1- Aliarabi, H., A. Fadayifar, M. M. Tabatabaei, P. Zamani, A. A. Bahari, A. Farahavar, and A. H. Dezfoulan. 2015. Effect of Zinc Source on Hematological, Metabolic Parameters and Mineral Balance in Lambs. *Biological Trace Element Research*, 168 (1): 82-90.
- 2- Alloway, B. J. 2004. Zinc in soils and crop nutrition. IZA Publications, International Zinc Association, Brussels, 1-116.
- 3- AOAC. 2012. Official Method of Analysis. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- 4- Association of American Feed Control Officials (AAFCO). 2010. Official Publication of the Association of American Feed Control Officials Incorporated. St. Louis. MO.
- 5- Attia, A. N., S. A. Awadalla, E. Y. Esmail and M. M. Hady. 1987. Role of some microelements in nutrition of water buffalo and its relation to production. 2. Effect of zinc supplementation. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 18: 91-100.
- 6- Chavan, S. J., V. Dildeep, K. S. Bhamare, C. Ravishankar, V. Babitha, and C. Sunanda. 2016. The effect of organic and inorganic zinc supplementation on blood haemoglobin and serum cortisol concentration in malabari goat kids. *International Journal of Science and Nature*, 7 (3): 611-613.
- 7- Daghash, H. A., and S. M. Mousa. 1999. Zinc sulfate supplementation to ruminant rations and its effects on digestibility in lamb; growth, rectal temperature and some blood constituents in buffalo calves under heat stress. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 40: 128-146.
- 8- El-Hendy, H. A., M. I. Yousef, and N. I. Abo El-Naga. 2001. Effect of dietary zinc deficiency on hematological and biochemical parameters and concentrations of zinc, copper, and iron in growing rats. *Toxicology*, 167 (2): 163-170.

- 9- Eze, J. I., L. C. Ayogu, F. O. Abonyi, and U. U. Eze. 2015. The beneficial effect of dietary zinc supplementation on anaemia and immunosuppression in *Trypanosoma brucei* infected rats. *Experimental Parasitology*, 154: 87-92.
- 10- Fadayifar, A., H. Aliarabi, M. M. Tabatabaei, P. Zamani, A. A. Bahari, M. Malecki, and A. H. Dezfoulian. 2012. Improvement in lamb performance on barley based diet supplemented with zinc. *Livestock Science*, 144: 285-289.
- 11- Garg, A. K., and R. S. Vishal-Mudgal. 2008. Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization and mineral profile in lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 144: 82-96.
- 12- Garnica, A. D. 1981. Trace metals and hemoglobin metabolism. *Annals of Clinical and Laboratory Science*. 11: 220-8.
- 13- Gropper, S. S., J. L. Smith, and J. L. Groff. 2009. *Advanced nutrition and human metabolism*. Cengage Learning, 5th edition, Wadsworth, Belmont, CA, 417-428.
- 14- Jain, N. C. 1986. *Schalm's veterinary hematology*. 4th ed. Philadelphia: Lea and Febinger, 178: 208-225.
- 15- Jia, W., Z. h. Xiaoping, Z. h. Wei, C. h. Jianbo, G. Cuihua, and J. Zhihai. 2009. Effects of Source of Supplemental Zinc on Performance, Nutrient Digestibility and Plasma Mineral Profile in Cashmere Goats. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 22 (12): 1648-1653.
- 16- Karamuz, H., H. Agdam-Shariyar, A. Gorbani, N. Maheri-Sis, and J. G. Ghaleh-kandi. 2010. Effect of zinc oxide supplementation on some serume biochemical values in male broilers. *Global Veterinaria*, 4 (2): 108-111.
- 17- King, L. E., and P. J. Fraker. 1991. Flow cytometric analysis of the phenotypic distribution of splenic lymphocytes in zinc-deficient adult mice. *Journal of Nutrition*, 121 (9): 1433-1438.
- 18- Kraus, A., H. P. Roth, and M. Kirchgessner. 1997. Supplementation with vitamin C, vitamin E or beta-carotene influences osmotic fragility and oxidative damage of erythrocytes of zinc-deficient rats. *Journal of Nutrition*, 127 (7): 1290-1296.
- 19- Krul, L., B. H. A. Kremer, N. B. L. Luijckx, and W. R. Leeman. 2017. Quantifiable risk-benefit assessment of micronutrients: From theory to practice. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57 (17): 3729-3746.
- 20- Lopez-Alonso, M., F. Prieto, M. Miranda, C. Castillo, J. Hernandez, and J. L. Benedito. 2005. The role of metallothionein and zinc in hepatic copper accumulation in cattle. *The Veterinary Journal*, 169: 262-267.
- 21- Malcolm-Callis, K. J., G. C. Duff, S. A. Gunter, E. B. Kegley, and D. A. Vermeire. 2000. Effects of supplemental zinc concentration and source on performance, carcass characteristics, and serum values in finishing beef steers. *Journal of Animal Science*, 78: 2801-2808.
- 22- Mallaki, M., M. A. Norouzian, and A. A. Khadem. 2015. Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization, and plasma zinc status in lambs. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 39: 75-80.
- 23- Mandal, G. P., R. S. Dass, D. P. Isore, A. K. Garg, and G. C. Ram. 2007. Effect of zinc supplementation from two sources on growth, nutrient utilization and immune response in male crossbred cattle (*Bos indicus*×*Bos taurus*) bulls. *Animal Feed Science Technology*, 138: 1-12.
- 24- McDowell, L. R. 2003. *Minerals in animal and human nutrition*. 2nd ed. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 557-601.
- 25- Miller, W. J. 1970. Zinc nutrition of cattle: A review. *Journal of Dairy Science*. 53: 1123-1135.
- 26- NRC. 1985. *Nutrient Requirements of Sheep* (5th ed). National Academy of Sciences, Washington, DC.
- 27- NRC. 2007. *Nutrient requirements of small ruminants*. National Academy press, Washington, DC.
- 28- Radostits, O. M, C. C. Gay, K. W. Hinchcliff, and P. D. Constable. 2007. *Veterinary medicine textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10 ed., W. B. Saunders. 453-2050.
- 29- Rimbach, G., A. Walter, E. Most, and J. Pallauf. 1998. Effect of microbial phytase on zinc bioavailability and cadmium and lead accumulation in growing rats. *Food and Chemical Toxicology*. 36: 7-12.
- 30- Rink, L., and H. Kirchner. 2000. Zinc altered immune function and cytokine production. *Journal of Nutrition*, 130 (5): 1407-1411.
- 31- Rupic, V., L. Ivandija, S. Luterotti, M. Dominis-Kramaric, and R. Bozac. 1998. Plasma proteins and haematological parameter in fattening pigs fed different source of dietary zinc. *Acta Veterinaria Hungarica*, 46: 111-126.
- 32- Salama, A. A. K., G. Cajat, E. Albanell, X. Such, and R. Casals. 2003. Effects of dietary supplements of zinc-methionine on milk production, udder health and zinc metabolism in dairy goats. *Journal of Dairy Research*, 70: 9-17.
- 33- SAS Institute. 2004. *User's Guide. Version 9.1: Statistics*. SAS Institute, Cary, NC.

- 34- Sobhanirad, S., M. H. Mashhadi, and R. B. Kashani. 2014. Effects of source and level of zinc on haematological and biochemical parameters in Baluchi lambs. *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences*, 4 (7): 389-393.
- 35- Spears, J. W. 1989. Zinc methionine for ruminants: Relative bioavailability of zinc in lambs and effects on growth and performance of growing heifers. *Journal of Animal Science*, 67: 835-843.
- 36- Spears, J. W. 1996. Organic trace minerals in ruminant nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, 58: 151-163.
- 37- Spears, J. W. 2003. Trace mineral bioavailability in ruminants. *Journal of Nutrition*, 133: 1506-1509.
- 38- Spears, J. W., and W. P. Weiss. 2008. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176: 70-76.
- 39- Spears, J. W., P. Schlegel, M. C. Seal, and K. E. Lloyd. 2004. Bioavailability of zinc from zinc sulfate and different organic zinc sources and their effects on ruminal volatile fatty acid proportions. *Livestock Production Science*, 90: 211-217.
- 40- Spears, J. W., R. Harvey., and T. Brown. 1991. Effects of zinc methionine and zinc oxide on performance, blood characteristics, and antibody titer response to viral vaccination in stressed feeder calves. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 199: 1731.
- 41- Suttle N. F. 2010. *Mineral Nutrition of Livestock*. 4th ed. CABI Publishing, New York.
- 42- Vansoest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3587.
- 43- Wang, R. L., J. G. Liang, L. Lu, L. Y. Zhang, S. F. Li, and X. G. Luo. 2013. Effect of zinc source on performance, zinc status, immune response and rumen fermentation of lactating cows. *Biological Trace Element Research*, 152(1): 16-24.
- 44- Wieringa, F. T., J. Berger, M. A. Dijkhuizen, A. Hidayat, N. X. Ninh, B. Utomo, E. Wasantwisut, and P. Winichagoon. 2007. Combined iron and zinc supplementation in infants improved iron and zinc status, but interactions reduced efficacy in a multicountry trial in southeast Asia. *Journal of Nutrition*, 137 (2): 466-471.
- 45- Wright, C., and J. W. Spears. 2004. Effect of zinc source and dietary level on zinc metabolism in Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 87 (4): 1085-1091.
- 46- Wu, Y., and Z. Sun. 2004. Effects of zinc and selenium on the disorders of blood glucose and lipid metabolism and its molecular mechanism in diabetic rats. *Wei Sheng Yan Jiu*, 33: 70-73.
- 47- Zhang, W., R. Wang, D. O. Kleemann, D. Lu, X. Zhu, C. Zhang, and Z. Jia. 2008. Effects of dietary copper on nutrient digestibility, growth performance and plasma copper status in cashmere goats. *Small Ruminant Research*. 74: 188-193.



Effects of Organic and Inorganic Sources of Zinc on Performance and Some Blood Parameters of Fattening Lambs

R. Alimohamady¹ H. Aliarabi^{2*}

Received: 04-11-2017

Accepted: 26-05-2018

Introduction The role of trace minerals in animal production is an area of strong interest for producers, feed manufactures, veterinarians and scientists. Zn (Zn) is one of the most important elements that has been recognized as an essential catalytic factor for more than 300 enzymes. Zinc also has an essential role in metabolism of nucleic acids, proteins, lipids, and carbohydrates. The National Research Council (1985 and 2007) recommended about 30 mg/kg zinc for ewes and growing lambs. However, the soil status and zinc concentration in native plants are also affected. In many regions of Iran, the Zn content of soil and plants is commonly low (less than 0.8 mg/kg). As a result, health and performance of animals reared on mainly homegrown roughage and grains may be affected as a consequence of nutritional deficiency. Recently, the use of organic sources of mineral supplements (complexes, chelates and proteinates) has increased. However, the results of organic and inorganic sources in ruminants are contradictory. Furthermore, few studies have investigated the effect of zinc on lipid parameters in ruminants. Therefore, the aim of the present study was to compare the effect of supplementation of 30 mg/kg Zn from the three organic sources and conventional inorganic source on performance, hematological parameters and mineral profile of Mehraban growing lambs.

Materials and Methods Thirty male lambs with 4-5 months of age and 30.8 ± 2.8 kg average in weight randomly allotted to 5 groups. Treatments were: 1) Basal diet without zinc supplement (containing 19.72 mg/kg DM zinc); 2) Basal diet+30 mg/kg DM zinc as zinc methionine; 3) Basal diet +30 mg/kg DM zinc as zinc proteinate; 4) Basal diet +30 mg/kg DM zinc as zinc glycinate, and 5) Basal diet +30 mg/kg DM zinc as zinc sulfate. This trial lasted for 70 days. The dry matter intake, daily gain and feed conversion ratio were determined. Blood samples were taken on days 0, 35 and 70 before the morning meal. Chemical composition of experimental samples including (crude protein, neutral detergent fiber, acid detergent fiber, and dry matter) and blood parameters including (hematological, mineral and lipid profiles) were measured according to standard methods. This experiment was analyzed in a completely randomized design.

Results and Discussion Average daily gain and dry matter intake for all groups fed the supplement were significantly higher than control group and feed conversion ratio also improved ($P < 0.01$). Lambs fed basal diet with no Zn supplement received lower Zn (19.72 mg Zn/kg) than their requirements and considering the effect of Zn on gene expression, protein synthesis, enzyme activity and immunity, it was expected to be decreased in performance of control group. Plasma concentrations of zinc and hemoglobin, red blood cells and white blood cells count significantly increased with zinc supplementation ($P < 0.01$). The reason might be due to higher fragility of erythrocytes and the blockage of protein synthesis in control group. However, there were no significant differences between the supplemented treatments for these parameters ($P > 0.05$). Due to inhibitory effect of inorganic zinc on iron absorption, plasma iron concentration in lambs receiving zinc sulfate significantly decreased compared to the control group ($P < 0.05$). There was no difference among treatments ($P > 0.05$) for plasma copper, calcium and phosphorus, triglyceride, cholesterol and lipoproteins (HDL, LDL and VLDL).

1- Ph.D graduated of ruminant nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina university, Hamedan, Iran,

2- Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina university, Hamedan, Iran.

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

Conclusion It may be concluded that 30 mg/kg DM zinc supplementation as zinc methionine, zinc proteinate, zinc glycinate and zinc sulfate improved growth performance, plasma zinc level and hematological parameters of fattening lambs fed basal diet containing 19.72 mg/kg DM zinc. There were no differences among treatments supplemented with organic sources of zinc. However, plasma iron concentration decreased significantly in lambs supplemented with zinc sulfate.

Keywords: Lamb, Zinc glycinate, Zinc methionine, Zinc proteinate, Zinc sulfate.



تاثیر افزودنی‌های بوتیرات منوگلیسرید و پروبیوتیک بر عملکرد رشد، برخی فراسنجه‌های خونی و قابلیت هضم مواد مغذی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

امیر تیماس^۱ - جمال سیف دواتی^{۲*} - صیاد سیف زاده^۳ - حسین عبدی بنمار^۴ - رضا سید شریفی^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۰۹

چکیده

در این مطالعه، اثر پروبیوتیک و بوتیرات منوگلیسرید بر عملکرد، برخی از فراسنجه‌های خونی و قابلیت هضم مواد مغذی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین بررسی شد. ۲۴ راس گوساله هلشتاین نر با میانگین سنی ۶ روزه و میانگین وزنی 36 ± 2 کیلوگرم با ۴ تیمار و ۶ تکرار به روش فاکتوریل (2×2) و در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) جیره پایه (استارتر و شیر کامل) (۲) جیره پایه + روزانه ۲ گرم پروبیوتیک مخلوط با شیر (۳) جیره پایه + روزانه ۵ گرم بوتیرات منوگلیسرید مخلوط با استارتر (۴) جیره پایه + ۲ گرم پروبیوتیک مخلوط در شیر + ۵ گرم بوتیرات منوگلیسرید مخلوط با استارتر بودند. افزودن پروبیوتیک به تنهایی و یا با بوتیرات منوگلیسرید، تأثیری بر وزن نهایی بدن گوساله‌ها نداشته، ولی افزودن بوتیرات منوگلیسرید به تنهایی به جیره، منجر به افزایش وزن نهایی گوساله‌ها شد ($P < 0.05$). مصرف خوراک روزانه تحت تأثیر پروبیوتیک و یا بوتیرات قرار نگرفت. با این حال افزودن پروبیوتیک به شیر سبب افزایش معنی دار آن شد ($P < 0.05$). میزان قابلیت هضم جیره گوساله‌ها با افزودن پروبیوتیک و بوتیرات افزایش نیافت ($P > 0.05$). افزودن همزمان پروبیوتیک و بوتیرات منوگلیسرید تأثیر معنی داری بر غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین کل و آلبومین خون نداشت ($P > 0.05$). لیکن غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات پلاسمای خون با بوتیرات منوگلیسرید بیشتر شد ($P < 0.05$). نتایج این مطالعه نشان داد که افزودنی‌های پروبیوتیک و بوتیرات منوگلیسرید اثر مثبتی بر عملکرد رشد، قابلیت هضم و فراسنجه‌های خونی نداشت. پس افزودن مونوگلیسرید بوتیرات به جیره غذایی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین اثر مطلوبی بر عملکرد و توسعه شکمبه آن‌ها دارد.

واژه‌های کلیدی: بوتیرات مونوگلیسرید، پروبیوتیک، فراسنجه‌های خونی، گوساله هلشتاین.

مقدمه

زود از شیرگیری و کاهش هزینه‌های پرورش از مهمترین اهداف مدیریت پرورش گوساله‌ها به حساب می‌آید. یکی از راه‌های دستیابی به این اهداف، استفاده از آنتی بیوتیک‌ها به عنوان محرک رشد میباشد. آنتی بیوتیک‌ها سبب افزایش عملکرد رشد، بهره‌وری و در نتیجه آن سود حاصل از پرورش میگردد. اما در سال‌های اخیر استفاده از آنتی بیوتیک‌ها به دلیل مقاومت آنتی بیوتیکی در بسیاری از کشورها ممنوع

شده است (۵ و ۱۰). از جایگزین‌های مناسب برای آنتی بیوتیک‌ها میتوان پروبیوتیک‌ها، پری بیوتیک‌ها، اسانس‌های گیاهی و اسیدهای آلی را نام برد. پروبیوتیک یک مکمل غذایی میکروبی زنده بوده که باعث بهبود تعادل میکروبی روده می‌شود (۱۷ و ۱۵). پروبیوتیک به‌خاطر دارا بودن میکروارگانیسم‌های مفید منجر به افزایش جمعیت باکتری‌های مفید و ممانعت از رشد و تکثیر باکتری‌های بیماری‌زا می‌شود (۵۰ و ۵۱). پروبیوتیک‌ها قادر به تولید موادی هستند که سموم تولیدی باکتری‌ها را مهار و با اتصال به برخی از نقاط میکروارگانیسم‌ها از تشکیل کلونی در روده جلوگیری می‌کنند (۱۸). مکمل‌های پروبیوتیکی سبب بهبود رشد دام، افزایش خوراک مصرفی، بهبود هضم و جذب مواد مغذی و وضعیت سلامتی میشوند (۱۱). گزارش شده است که افزودن پروبیوتیک به جیره گوساله‌ها، سبب بهبود مصرف خوراک و قابلیت هضم خوراک می‌شود (۹، ۱۳ و ۲۵). ریدل و همکاران (۴۹) بیان کردند که افزایش تولید فاکتورهای رشد (اسیدهای آلی، ویتامین‌های گروه ب و اسیدهای آمینه)، ایجاد شرایط

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد تغذیه نشخوارکنندگان دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۳- دانشجوی دکتری تغذیه دام دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۴- دانشیاران گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(*)- نویسنده مسئول: jseifdavati@uma.ac.ir

DOI: 10.22067/ijasr.v11i2.71419

بی‌هوازی و افزایش رشد باکتری‌های سلولتیک و مصرف کننده لاکتات، از جمله ساز و کارهای اثر پروبیوتیک‌ها در افزایش قابلیت هضم است. اسید بوتیریک یکی از اسیدهای چرب بوده که در پیش معده‌ی نشخوارکنندگان، روده‌ی بزرگ تک معده‌ای‌ها و به مقدار ناچیزی در شیر پستانداران وجود دارد (۴۵ و ۴۶). مکمل بوتیرات سبب بهبود قابلیت هضم (۱۶)، بازده مواد غذایی، عملکرد رشد (۲۳) و دستگاه گوارش (۲۹) و بالاخره سیستم ایمنی (با افزایش توان ضد میکروبی و افزایش عوامل بازدارندگی) در حیوانات می‌شود (۳۵). علاوه بر این، استفاده از مکمل‌های بوتیراتی در شیر و یا جیره آغازین اثر مفیدی بر رشد گوساله، رشد و توسعه پایله‌های شکمبه و توسعه شکمبه دارد. (۲۰ و ۵۵). اوستمن و همکاران (۴۵) گزارش کردند که اسید بوتیریک می‌تواند غلظت گلوکز و انسولین خون را به دلیل کاهش نرخ هضم نشاسته، پایین می‌آورد. تغذیه بوتیرات در مخلوط با شیر و استارتر قبل از شیرگیری گوساله‌ها سبب توسعه شکمبه، وزن بدن، وضعیت سلامت و عملکرد رشد شد (۲۰). مکمل بوتیرات منوگلیسرید به عنوان یک نوع جدید از افزودنی‌های رشد غیر آنتی بیوتیک، با اثرات متعدد نظیر جذب قوی، تنظیم کننده فیزیولوژیکی دستگاه گوارش، اسیدی شدن و تنظیم کننده تعادل الکترولیتی می‌باشد. با توجه به این که پروبیوتیک تغذیه شده با شیر اثر سلامتی و بهبود در هضم و جذب روده ای داشته (۵۳ و ۵۵) و همین طور طبق یافته‌های علمی مکمل بوتیرات به صورت مخلوط در خوراک استارتر گوساله‌ها می‌تواند اثرات شکمبه‌ای و سلامت رشد پرزهای شکمبه‌ای و عملکرد رشد حیوان داشته باشد (۵۵ و ۵۶) تاثیر هم کوشی و همزمان مصرف این دو افزودنی بر عملکرد رشد، برخی فراسنجه‌های خونی و قابلیت هضم مواد مغذی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تاکنون بررسی نشده بود بدین جهت آزمایش حاضر به منظور بررسی تاثیر افزودنی‌های بوتیرات منوگلیسرید و پروبیوتیک بر عملکرد رشد، برخی فراسنجه‌های خونی و قابلیت هضم مواد مغذی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین طراحی و انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در مجتمع دامپروری شرکت کشت و صنعت مغان واقع در استان اردبیل، شهرستان پارس آباد انجام شد. بدین منظور از ۲۴ رأس گوساله نر هلشتاین تازه متولد شده با میانگین سنی ۶ روز و میانگین وزنی 2 ± 36 کیلوگرم با ۴ تیمار و ۶ تکرار به روش فاکتوریل (۲×۲) و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایشی

شامل: (۱) جیره پایه (استارتر و شیر کامل) (۲) جیره پایه + روزانه ۲ گرم پروبیوتیک مخلوط با شیر (۳) جیره پایه + روزانه ۵ گرم منوگلیسریدهای بوتیرات مخلوط با استارتر (۴) جیره پایه + ۲ گرم پروبیوتیک مخلوط در شیر + ۵ گرم منوگلیسرید بوتیرات مخلوط با استارتر بودند. جیره پایه استارتر بر اساس احتیاجات گوساله‌های نر انجمن ملی تحقیقات سال ۲۰۰۰ و با استفاده از نرم افزار آن فرموله گردید (۴۴). در این پژوهش از پروبیوتیک باکتریایی با نام پروتکسین (Protexin, UK) تهیه شده از شرکت تک ژن زیست محتوی لاکتوباسیلوس پلانتریوم، لاکتوباسیلوس دلبروکی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، بیفیدوباکتریوم، بیفیدوم، انتروکوکس فاسیوم و استرپتوکوکس سالیواریوس و همچنین مکمل بوتیرات منوگلیسرید تهیه شده از شرکت سنا دام پارس تهران استفاده شد. در ساختار بوتیرات منوگلیسرید ماده موثر فعال یک زنجیره کوتاه از اسیدهای چرب فرار به نام اسید بوتیریک است.

این مکمل (بوتیرات منوگلیسرید) یک محصول تجاری است که علت باند شدن بوتیرات به صورت منوگلیسرید این است که شکل منوگلیسرید اسیدهای چرب قابلیت جذب بیشتری در روده دارد. همچنین بر اساس سازوکارهای هضم و جذب چربی‌ها در شکمبه منوگلیسریدها ابتدا تجزیه شده و تولید گلیسرول و اسید چرب آزاد مربوطه می‌کند (۴۴) که در ادامه بوتیرات آزاد شده می‌تواند جذب شده و اثرات سلامتی خود را اعمال نماید. گوساله‌ها در ۲۴ ساعت اولیه پس از تولد، از مادران خود جدا شدند. گوساله‌ها پس از ضدعفونی ناف با محلول تئترید، توزین شده و به باکس‌های انفرادی ضدعفونی شده انتقال داده شدند. بلافاصله پس از تولد با ۴ لیتر آغوز در دو نوبت و در ۸ ساعت اولیه‌ی تولد تغذیه شدند و خوراندن آغوز برای ۲ روز دیگر به میزان ۵ لیتر هر روز در سه نوبت به فاصله ۶ ساعت بر مبنای ۱۰ درصد وزن بدن ادامه یافت. شیردهی گوساله‌ها روزانه در دو نوبت (ساعت ۸ صبح و ساعت ۱۸) انجام می‌گرفت. میزان شیر تغذیه شده به گوساله‌ها طبق برنامه شیردهی در مجتمع دامپروری شرکت کشت و صنعت مغان، در دو هفته اول ۴ لیتر، از هفته سوم تا هفتم ۶ لیتر، از هفته هفتم تا هشتم ۴ لیتر و از هفته هشتم تا نهم ۲ لیتر بود. در طول دوره آزمایشی، جیره‌های غذایی پس از توزین روزانه در دو نوبت (صبح و بعد از ظهر) در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت.

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

اقلام خوراکی Feed ingredients	درصد %
دانه ذرت Corn, grained	42.5
دانه جو Barley, grained	12.0
سیوس گندم Wheat bran	5.0
کنجاله سویا Soybean meal	37.6
نمک Salt	0.4
پودر صدف Oyster shell	1.1
مکمل مواد معدنی ^۱ Mineral supplement ¹	0.5
مکمل ویتامینه ^۲ Vitamin Supplement ²	0.4
جوش شیرین Bicarbonate of soda	0.5
ترکیب شیمیایی (%) Chemical composition (%)	درصد %
ماده خشک Dry matter	89.7
پروتئین خام Crude Protein	18.7
عصاره اتری (چربی خام) Ether extract (Crude fat)	2.3
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	16.3
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	7.3
خاکستر خام Ash	6.3
کلسیم Calcium	0.54
فسفر Phosphorus	0.22

^۱ ترکیب مکمل معدنی: کلسیم ۱۹۵ گرم؛ فسفر ۹۰ گرم؛ منیزیم ۹۰ گرم؛ سدیم ۵۵ گرم؛ روی ۳ گرم؛ آهن ۰/۳ گرم؛ منگنز ۲ گرم؛ مس ۰/۲۸ گرم؛ کبالت ۰/۱ گرم؛ سلنیوم ۱ میلی گرم؛ آنتی اکسیدانت ۰/۴ گرم.

^۲ ترکیب مکمل ویتامینه: ویتامین آ، ۵۰۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم؛ ویتامین ای، ۰/۱ گرم در کیلوگرم؛ ویتامین د۳، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم.

¹Mineral supplement composition: 195 g calcium, phosphorus 90g; magnesium 90 g; sodium 55g, zinc 3g; 0.3g iron, manganese 2 g copper 0.28g, cobalt 0.1g, selenium 1 mg; 0.4 g of antioxidants.

²Vitamins supplement composition: Vitamin A, 500000 IU per kg, vitamin E, 0.1g per kg, vitamin D3 100000 IU per kg.

جمع آوری و ثبت شد. همچنین برای بررسی تغییرات وزن گوساله‌ها هر ماه یکبار با اعمال محرومیت قبلی (۱۴-۱۲ ساعت) از آب و خوراک، وزن کشی شدند. مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیب

در اولین وعده غذایی مقدار ۵ گرم مکمل بوتیرات به صورت سرک در استارتر گوساله‌ها اضافه شد. جهت تعیین مقدار خوراک مصرفی، قبل از ریختن خوراک وعده صبح، باقیمانده خوراک روز قبل

نتایج و بحث

اثر استفاده از پروبیوتیک و بوتیرات بر مصرف خوراک در جدول ۲ نشان داده شده است. خوراک مصرفی کل دوره تحت تاثیر عامل پروبیوتیک و مکمل بوتیرات و اثر متقابل پروبیوتیک و مکمل بوتیرات قرار نگرفت ($P>0/05$). مطابق با نتایج این پژوهش، سلطانی و همکاران (۵۶) گزارش کردند که مصرف خوراک تحت تاثیر استفاده از سدیم بوتیرات قرار نگرفت. مانزانیلا و همکاران (۳۴) بیان کردند که افزودن ۳ گرم مکمل بوتیرات سدیم بر جیره‌ی خوک‌ها، تاثیری بر مصرف خوراک آن‌ها نداشت. همچنین گویلوئو و همکاران (۲۳) با بررسی اثر مکمل بوتیرات سدیم بر مصرف خوراک گوساله‌ها، گزارش کردند که افزودن این مکمل به استارت‌ر گوساله‌ها، تاثیری بر مصرف خوراک آن‌ها ندارد. با این حال گورکا و همکاران (۲۰) گزارش کردند که استفاده از مکمل بوتیرات سدیم به جیره گوساله‌های شیرخوار نژاد هلشتاین و آمیخته هلشتاین و لیموزین سبب به افزایش ۳۰ درصدی مصرف خوراک شد. همچنین سیف زاده و همکاران (۵۳) گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک پروتکسین در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین سبب افزایش مصرف خوراک می‌شود، در حالی که مصرف خوراک گوساله‌ها تحت تاثیر افزودن پروبیوتیک در شیر یا جیره آغازین قرار نگرفت (۴۹). طبق یافته‌های محققین استفاده از پروبیوتیک در گوساله، تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک نداشته است (۳۳ و ۳۷). در کل می‌توان گفت پاسخ‌های مختلف مصرف خوراک در گوساله‌های شیری تغذیه شده با پروبیوتیک ممکن است مربوط به نوع پروبیوتیک، مقدار خوراک مصرفی حیوانات، روش تغذیه پروبیوتیک (در شیر یا در استارت‌ر) و همچنین شرایط پرورش گوساله‌ها باشد.

وزن نهایی گوساله‌ها در گروه دریافت کننده پروبیوتیک و همچنین گروه مصرف کننده پروبیوتیک به همراه بوتیرات با گروه کنترل یا بدون دریافت این دو مکمل مشابه بود، در حالی که وزن نهایی گوساله‌های تغذیه شده با ۵ گرم مونوگلیسرید بوتیرات در مقایسه با دیگر تیمارها افزایش معنی‌داری نشان داد ($P<0/05$).

با توجه به جدول ۲ میانگین افزایش وزن روزانه در ماه اول، دوم و کل دوره در گروه گوساله‌هایی که پروبیوتیک و همچنین گروه گوساله‌هایی که پروبیوتیک به همراه بوتیرات مونوگلیسرید دریافت کرده بودند، یکسان بود. در حالی که مکمل بوتیرات، میانگین افزایش وزن روزانه گوساله‌ها را در ماه اول و کل دوره پرورشی افزایش داده بود ($P<0/05$). استفاده از مکمل بوتیرات سبب افزایش معنی‌دار وزن نهایی گوساله‌های شیرخوار نژاد هلشتاین و آمیخته هلشتاین و لیموزین شد (۱۲ و ۲۳). برخی مطالعه‌ها نشان داده که افزودن مکمل بوتیرات به جایگزین شیر، شیر و جیره آغازین (استارت‌ر) گوساله‌های شیرخوار وزن نهایی بدن آن‌ها را در مقایسه با گروه شاهد افزایش

شیمیایی جیره آغازین در جدول ۱ آورده شده است. جهت تعیین تجزیه شیمیایی کنسانتره آغازین گوساله‌ها برای ماده خشک توسط دستگاه آن و با روش ۹۳۰-۱۵ از پروتکل (۳)، برای پروتئین خام توسط دستگاه کلدال و با روش ۹۸۸-۰۵ از پروتکل (۳) و برای چربی با دستگاه سوکسیله و با روش ۹۲۰-۳۹ از پروتکل (۳) و برای خاکستر خام با دستگاه کوره الکتریکی و با روش ۹۲۳-۰۳ از پروتکل (۳) صورت گرفت و همچنین برای کلسیم و فسفر با استفاده از روش طیف سنجی جذب اتمی انجام گرفت.

همچنین الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) با روش ون سوست و همکاران (۵۹) اندازه‌گیری شدند. در طول آزمایش صفات عملکردی نظیر افزایش وزن روزانه، خوراک مصرفی روزانه و ضریب تبدیل غذایی تعیین شدند. بدین منظور گوساله‌ها در روزهای ۳۰ و ۶۵ به صورت انفرادی توزین شدند. به منظور اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری در آخر دوره، به مدت ۵ روز متوالی عمل جمع‌آوری مدفوع انجام گردید. نمونه‌های جمع‌آوری شده در آن ۶۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. جهت تهیه یک نمونه مدفوع هر گوساله، ۵ نمونه مدفوع خشک شده به مقادیر مساوی با یکدیگر مخلوط شده و با استفاده از هاون خرد و بعد از خرد کردن از الک با مش (قطر منافذ) یک میلی‌متری گذرانده شد و جهت آنالیز نگهداری شدند. جهت تعیین قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌ها از روش ون کولن و یانگ (۵۸) با نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید استفاده گردید. در طی روزهای ۳۰ و ۶۵ دوره آزمایشی، قبل از وعده غذایی صبح از سیاهرگ و داج خونگیری انجام شد. نمونه‌های خون پس از انتقال به آزمایشگاه، با دستگاه سانتریفوژ (به مدل ۵۷۰۲ از شرکت Eppendorf ساخت کشور آلمان) مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده (با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه یا ۱۳۷۲g) و پلاسما جدا شد و نمونه سرم تا زمان اندازه‌گیری، در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری گردید. اندازه‌گیری گلوکز، اوره، کلسترول، تری گلیسرید، آلبومین و پروتئین کل سرم خون با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، ایران) و دستگاه اتوآنالایزر Auto-Chemistry Analyzer مدل CS-400 ساخت ترکیه انجام شد. داده‌ها با استفاده از رویه Mixed و نرم افزار SAS (۵۰) تجزیه و تحلیل شدند. مدل معادله در پژوهش حاضر بر اساس رابطه (۱) زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ij} \quad (1) \text{ رابطه}$$

که در آن اثر A_i = فاکتور اول (پروبیوتیک در سطح ۲ گرم)، B_j = اثر فاکتور دوم (بوتیرات مونوگلیسرید در سطح ۵ گرم) و $(AB)_{ij}$ = اثر متقابل بین فاکتورهای اول و دوم و e_{ij} = اثر خطای آزمایش بود.

گرفت که تأثیر نداشتن پروبیوتیک بر عملکرد رشد گوساله‌ها، ممکن است به دلیل عدم تأثیر پروبیوتیک بر قابلیت هضم مواد مغذی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین باشد.

ضریب تبدیل غذایی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین در ماه اول، دوم و کل دوره پرورشی با مکمل دهی بوتیرات و پروبیوتیک به همراه بوتیرات بهتر نشد ($P>0.05$)، در حالی که مصرف پروبیوتیک، ضریب تبدیل غذایی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین را فقط در ماه اول بهتر کرد و کاهش معنی داری داد ($P<0.05$). در مطالعات بیرانوند و همکاران (۴) و لی رانگل و همکاران (۳۰) با افزودن مکمل بوتیرات در خوراک آغازین، کاهش معنی داری در ضریب تبدیل غذایی گوساله‌ها مشاهده نشد. در همین راستا کاوینی و همکاران (۸) گزارش شد بازده مصرف خوراک در هیچیک از بازه‌های زمانی شیر خوارگی و پروری بره، با مکمل دهی بوتیرات افزایش نیافت.

در تحقیقی افزودن پروبیوتیک به جیره‌های آزمایشی گوساله‌های شیرخوار بازده غذایی خوراک افزایش نداشت (۲۶). ریدل و همکاران (۴۹) و همچنین سیف زاده و همکاران (۵۳) نیز گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک باکتریایی در خوراک آغازین گوساله‌ها ضریب تبدیل خوراک را نسبت به گروه شاهد نه تنها بهتر نکرد بلکه تغییری هم نداد، در حالی که در مطالعه‌های دیگری، اضافه کردن پروبیوتیک به جیره (شیر و آغوز) گوساله‌ها سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی شد (۳۷ و ۳۹). با این حال در تحقیق حاضر فقط در ماه اول تأثیر پروبیوتیک بر ضریب تبدیل غذایی مثبت بوده است. بنا بر این همان طور که اشاره شد پروبیوتیک‌ها باعث افزایش هضم‌پذیری و جذب مواد مغذی خوراک در گوساله‌ها می‌شوند. مصرف خوراک کمتر از یک سو و افزایش وزن بیشتر از سوی دیگر در گروه‌های پروبیوتیک، ضریب تبدیل غذایی بهتر آن‌ها را امکان‌پذیر می‌کند.

قابلیت هضم مواد مغذی

اثر استفاده از پروبیوتیک و بوتیرات بر قابلیت هضم گوساله‌های هلشتاین در جدول ۳ ارائه شده است. افزودن پروبیوتیک و بوتیرات هرکدام به تنهایی و یا به صورت ترکیبی تأثیری بر قابلیت هضم مواد مغذی جیره (ماده خشک، ماده آلی، NDF، ADF، خاکستر خام) نداشت ($P<0.05$). مطالعات متناقضی در خصوص اثر افزودن مکمل سدیم بوتیرات بر قابلیت هضمی وجود دارد به طوری که گولوتو و همکاران (۲۲) دریافتند که تغذیه گوساله‌ها با جایگزین شیر غنی شده با سدیم بوتیرات سبب بهبود عملکرد پانکراس و قابلیت هضم مواد مغذی می‌شود. لیکن مغایر با آن، لگال و همکاران (۲۹) نشان دادند که با افزودن سدیم بوتیرات به جیره‌ی خوک‌ها در طی دوره شیرخوارگی، قابلیت هضم مواد مغذی را تغییری نداد. با این حال گزارش شده که افزودن پروبیوتیک به جیره گوساله‌های شیرخوار، از

داده بود (۲۰ و ۴۲)، در حالی که کاتو و همکاران (۲۸) نشان دادند که افزایش وزن نهایی در گروه‌های دریافت کننده مکمل بوتیرات با شاهد مشابه بود. پژوهشگران نشان دادند مکمل نمودن سدیم بوتیرات و افزایش سطح آن در جیره غذایی بره‌های شیرخوار طی دوره‌ی قبل از شیرگیری موجب افزایش وزن روزانه بیشتری در مقایسه با گروه شاهد شده بود (۸ و ۵۶). این محققین دلیل این افزایش وزن بره‌های شیر خوار را رشد و توسعه پاپیلاهای شکمبه و توسعه شکمبه دانستند. تفاوت در نتایج یافته‌های حاضر با سایر محققین به ترکیب جیره، نوع و سطح مکمل بوتیرات مورد استفاده بستگی دارد (۲۰). به طوری که در پژوهش گورکا نوع بوتیرات کپسوله شده و حداکثر سطح آن در جیره استارتر ۰/۶ درصد بود (۲۰). گولوتو و همکاران (۲۳) پیشنهاد کردند که در صورت استفاده از مکمل بوتیرات در اوایل زندگی گوساله‌های شیر خوار، عملکرد آنها بهتر خواهد شد. در گزارشی نشان دادند مکمل بوتیرات می‌تواند سبب بهبود توسعه پاپیلای شکمبه، عملکرد تولیدی و وضعیت سلامت در گوساله شود (۲۳). همچنین گودلد و همکاران (۱۹) گزارش کردند که بهبود افزایش وزن روزانه گوساله‌های شیرخوار می‌تواند به دلیل افزایش قابلیت هضم جیره توسط آنزیم‌های پانکراس در نتیجه مکمل کردن شیر آن‌ها با بوتیرات سدیم باشد.

پژوهشگران دریافتند که اضافه کردن پروبیوتیک باکتریایی با نام تجاری پروتکسین (محتوی سویه‌های مختلفی از لاکتوباسیلوس و باکتری‌های بیفیدوباکتریوم، بیفیدوم، انتروکوکس فاسیوم و استرپتوکوکس سالیواریوس) به شیر گوساله‌های شیرخوار اختلاف معنی داری در افزایش وزن روزانه و وزن نهایی در مقایسه با گروه شاهد نشان ندادند (۲۴ و ۵۳)، در حالی که جاتکاسکاس و همکاران (۲۷) گزارش کردند استفاده از پروبیوتیک پروتکسین سبب افزایش وزن روزانه در گوساله‌های شیرخوار می‌گردد.

آبه و همکاران (۱) بیان نمودند که استفاده از پروبیوتیک باکتریایی افزایش وزن گوساله‌ها را تا ۲۵ روزگی بدنبال دارد، در به طوری که ال‌سیدی (۲) این افزایش را تا ۳۵ روزگی گزارش کرد. تیمرمان و همکاران (۵۷) گزارش کردند اثر مصرف پروبیوتیک‌ها بر افزایش وزن روزانه دائمی نبوده بلکه با سازش گوساله‌ها به عوامل تنش‌زا از جمله انتقال، شرایط جدید، تغییر جیره و آلودگی‌ها، اثر آن‌ها کاهش می‌یابد. سازوکارهای مختلفی در مورد نحوه اثر پروبیوتیک‌ها بر وزن بدن عنوان شده است که می‌توان به رقابت با باکتری‌های مضر برای بدست آوردن مواد مغذی، تولید ترکیبات ضد باکتریایی (مانند اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن، باکتریوسین) در لومن روده، اشغال جایگاه‌های خاصی از مخاط روده و تحریک سیستم ایمنی طبیعی (غیر اختصاصی) گوساله‌ها اشاره کرد (۷، ۱۷). با توجه به داده‌های مربوط به قابلیت هضم مواد مغذی در مطالعه حاضر می‌توان

طریق توسعه‌ی دستگاه گوارش می‌تواند باعث بهبود قابلیت هضم مواد مغذی شود (۵۷).

جدول ۲- اثر افزودن پروبیوتیک و بوتیرات بر عملکرد رشد گوساله‌های شیر خوار هلشتاین^۱
Table 2-Effects of probiotic and butyrate on growth performance of Holstein calves¹

اقلام Items	جیره های آزمایشی ^۲ Experimental diets ²				SEM ⁴	اثرات اصلی و متقابل (سطح معنی‌داری) ^۳ Main and interaction effects (P-value) ³		
	تیمار ۱ T1	تیمار ۲ T2	تیمار ۳ T3	تیمار ۴ T4		Pro	But	Pro×But
وزن بدن (کیلوگرم) Body Weight (kg)								
تولد Birth	35.80	34.03	35.80	35.20	0.64	0.18	0.36	0.36
نهایی Final	79.90 ^c	81.20 ^b	85.30 ^a	85.30 ^a	1.71	0.71	0.01	0.71
مصرف خوراک (گرم در روز) Feed Intake (g/day)								
ماه اول First month	665.80	597.20	680.40	676.40	27.80	0.21	0.27	0.11
ماه دوم Second month	1443.60	1494.60	1498.40	1451.40	23.77	0.80	0.94	0.06
کل دوره Total period	1062.20	1047.90	1079.90	1063.90	18.56	0.46	0.38	0.96
افزایش وزن روزانه (کیلوگرم در روز) Daily gain (kg/day)								
ماه اول First month	0.58 ^c	0.61 ^b	0.65 ^a	0.68 ^a	0.04	0.33	0.04	0.55
ماه دوم Second month	0.89	0.92	0.95	0.94	0.07	0.78	0.57	0.84
کل دوره Total period	0.69 ^c	0.73 ^b	0.76 ^a	0.77 ^a	0.03	0.35	0.04	0.51
ضریب تبدیل غذایی FCR								
ماه اول First month	1.17 ^c	0.92 ^a	0.96 ^b	0.95 ^b	0.06	0.04	0.17	0.06
ماه دوم Second month	1.65	1.64	1.70	1.55	0.15	0.59	0.59	0.66
کل دوره Total period	1.57	1.45	1.43	1.40	0.06	0.22	0.13	0.44

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند ($P < 0.05$).

^۲ T1: جیره آزمایشی پایه بدون استفاده از پروبیوتیک و بوتیرات (سطح صفر گرم پروبیوتیک و سطح صفر گرم بوتیرات منوگلیسرید) اثر اصلی، T2: جیره آزمایشی پایه با استفاده از ۲ گرم پروبیوتیک و صفر گرم بوتیرات (سطح ۲ گرم پروبیوتیک و سطح صفر گرم بوتیرات منوگلیسرید) اثر اصلی، T3: جیره آزمایشی پایه با استفاده از صفر گرم پروبیوتیک و ۵ گرم بوتیرات (سطح صفر پروبیوتیک و سطح ۵ گرم بوتیرات منوگلیسرید) اثر اصلی و T4: جیره آزمایشی پایه با استفاده از ۲ گرم پروبیوتیک و ۵ گرم بوتیرات (سطح ۲ گرم پروبیوتیک و سطح ۵ گرم بوتیرات منوگلیسرید) اثرات متقابل است.

^۳ Pro برابر پروبیوتیک، But برابر بوتیرات، FCR برابر ضریب تبدیل غذایی می باشد.

^۴ SEM برابر میانگین خطای استاندارد می باشد.

¹Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

²T1: the basal diet without probiotic and butyrate (probiotic level 0 g and level 0 g of butyrate monoglyceride) or the main factor, T2: the basal diet using 2 g probiotic and zero gram butyrate (2 g probiotic level and 0 g of butyrate monoglyceride) as the main factor, T3: the basal diet using probiotic zero grams and 5 grams butyrate (probiotic level zero and 5 grams of monoglyceride butyrate) as the main factor, T4: the basal diet using 2 g of probiotic and 5 g of butyrate (2 g of probiotic and 5 g of butyrate of monoglyceride) as interaction effects.

³Pro: proboscis, But: Butyrate, FCR: the conversion factor of feed.

⁴SEM: the mean standard error.

مشاهده کردند که میزان کلسترول خون در گروه تغذیه شده با پروبیوتیک تحت تأثیر قرار نگرفت.

در پژوهش حاضر عدم تغییر غلظت گلوکز خون و مشابهت گروه دریافت کننده فقط بوتیرات با گروه شاهد با یکسانی ماده خشک مصرفی و ثبات آن در بین آن‌ها هم خوانی داشته و موید آن است زیرا عدم کاهش ماده خشک مصرفی می‌تواند موجب ثبات و عدم کاهش گلوکز پلاسمای خون شود (۱۴). همچنین در کبد استات و بوتیرات به استیل کوآ تبدیل شده و از طریق سیکل کرس تولید انرژی می‌نماید. علاوه بر این بوتیرات بوسیله سلول‌های اپیتلیوم شکمبه جذب شده و تبدیل به بتا هیدروکسی بوتیرات می‌شود. گوساله‌ها توانایی مصرف کردن بتا هیدروکسی بوتیرات را به عنوان پایه انرژی دارند (۱۴ و ۴۸). موهان و همکاران (۳۸) گزارش کردند که کلسترول و تری‌گلیسرید سرم در جیره‌های حاوی پروبیوتیک از نظر عددی کاهش می‌یابد.

چادھاری و همکاران (۹) گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک به جیره گوساله‌های شیرخوار اثری بر غلظت آلبومین خون نداشت. مطابق با نتایج این پژوهش، مهرداد و همکاران (۳۶) گزارش کردند که سطح آلبومین خون (به غیر از ۳۰ روزگی) تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. مسلمی پور و همکاران (۳۹) گزارش کردند که غلظت پروتئین کل پلاسمای خون گوساله‌ها با افزودن پروبیوتیک و همین‌طور سین‌بیوتیک^۳ (مخلوط پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها) به آغوز و شیر تغییر نیافت. نعمتی و همکاران (۴۳) گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره گوساله‌های شیرخوار سبب افزایش غلظت پروتئین کل پلاسمای خون شده است. ریدل و همکاران (۴۹) نیز مشاهده کردند که افزودن پروبیوتیک بر غلظت پروتئین کل پلاسما تأثیر معنی‌داری نداشت. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات خون تحت تأثیر افزودن پروبیوتیک قرار نگرفته است ($P > 0.05$)، درحالی‌که افزودن مکمل بوتیرات، منجر به افزایش غلظت بتا هیدروکسی بوتیریک شد ($P < 0.05$). همچنین تمایلی در جهت معنی‌دار شدن اثر متقابل بین مکمل پروبیوتیک و مکمل بوتیرات منوگلیسرید مشاهده گردید ($P = 0.08$). میزان بتا هیدروکسی بوتیرات، نشان دهنده توسعه شکمبه و آغاز متابولیسم محصولات نهایی تخمیر توسط اپیتلیوم شکمبه است (۶). با رشد شکمبه و دستگاه گوارش غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات نیز افزایش می‌یابد (۴۸).

مانزانیلا و همکاران (۳۴) با افزودن مکمل بوتیرات به جیره خوک‌ها با دوره شیرخوارگی کوتاه نشان دادند که قابلیت هضم مواد مغذی بدون تأثیر بر افزایش وزن می‌تواند بهبود یابد. نعمتی و همکاران (۴۳) مشاهده نمودند که افزودن پروبیوتیک تأثیری بر قابلیت هضم مواد مغذی گوساله‌ها ندارد. همچنین لهولنیا و همکاران (۳۱) گزارش کردند که مکمل نمودن جیره گوساله‌ها با پروبیوتیک، اثری بر قابلیت هضم مواد مغذی آن‌ها ندارد. همچنین در تحقیقی افزودن پروبیوتیک به جیره استارتر و شیر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی را بهبود نداد (۲۶). سیف‌زاده و همکاران (۵۳) نشان دادند که پروبیوتیک پروتکسین^۲ قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین را در مقایسه با گروه شاهد تغییری نداد. برای درک بهتر اثرات جیره مصرفی حیوان تعیین قابلیت هضمی ماده مغذی می‌تواند همزمان با سنجش رشد و فراسنجه‌های ضریب تبدیل غذایی مطابقت و ارزیابی شود (۲۱). در این پژوهش عدم معنی‌داری برخی فراسنجه‌های رشد نظیر افزایش وزن روزانه و وزن نهایی بدن و ضریب تبدیل غذایی با مصرف جیره‌های حاوی پروبیوتیک موید تشابه قابلیت هضمی جیره‌ها بوده است.

فراسنجه‌های خونی

با توجه به اطلاعات جدول ۴، غلظت فراسنجه‌های خونی (کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین کل و آلبومین) با افزودن پروبیوتیک، بوتیرات و یا مصرف همزمان پروبیوتیک و بوتیرات منوگلیسرید جیره گوساله‌های شیرخوار تغییری نیافت ($P > 0.05$). لیکن فراسنجه گلوکز با مصرف شدن توأم پروبیوتیک و بوتیرات منوگلیسرید در جیره گوساله‌های شیرخوار افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). کاتو و همکاران (۲۸) گزارش کردند که افزودن مکمل بوتیرات به جیره گوساله‌ها، منجر به کاهش غلظت گلوکز خون می‌شود. در مطالعاتی، اثر متقابل مصرف علوفه و مکمل سدیم بوتیرات بر غلظت گلوکز معنی‌دار نبود (۴۴). مهرداد و همکاران (۳۶) مشاهده کردند غلظت گلوکز خون با افزودن پروبیوتیک پروتکسین افزایش می‌یابد، در حالی‌که حسین‌آبادی و همکاران (۲۶) گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک به جیره گوساله‌های شیرخوار، سبب کاهش گلوکز خون می‌شود. ایشان کاهش گلوکز را ناشی از افزایش میزان تخمیر در شکمبه و تبدیل عمده گلوکز در شکمبه به اسیدهای چرب فرار و کاهش جذب روده‌ای گلوکز دانستند که سبب کاهش گلوکز خون شده است (۲۶). همچنین لسمیستر و همکاران (۳۲)

۳-Synbiotics: سین‌بیوتیک‌ها مخلوط پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها بوده که به صورت مکمل‌های غذایی با ترکیبی از پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها با اثر همکوشی در متابولیسم موجود زنده تأثیر می‌گذارند.

جدول ۳- اثر استفاده از پروبیوتیک و بوتیرات بر قابلیت هضم گوساله‌های شیر خوار هلشتاین^۱
 Table 3- Effects of probiotic and butyrate on digestibility of Holstein calves¹

اقلام Items	جیره‌های آزمایشی ^۲ Experimental diets ²				SEM ⁴	اثرات اصلی و متقابل (سطح معنی داری) ^۳ Main and interaction effects (P-value) ³		
	تیمار ۱ T1	تیمار ۲ T2	تیمار ۳ T3	تیمار ۴ T4		Pro	But	Pro×But
ماده خشک (درصد) Dry matter (%)	64.58	64.63	62.92	64.90	1.24	0.49	0.66	0.39
ماده آلی (درصد) Organic matter (%)	67.42	67.04	65.92	67.72	1.21	0.57	0.74	0.38
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) Neutral detergent fiber (%)	40.80	39.98	36.76	39.52	2.03	0.64	0.28	0.39
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد) Acid detergent fiber (%)	30.56	29.90	23.48	30.20	3.49	0.39	0.35	0.31
خاکستر خام (درصد) Ash (%)	32.04	32.98	28.50	32.50	2.68	0.37	0.46	0.58

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند ($P < 0.05$).

^۲ T1: جیره آزمایشی پایه بدون استفاده از پروبیوتیک و بوتیرات (سطح صفر گرم پروبیوتیک و سطح صفر گرم بوتیرات مونوگلیسرید) اثر اصلی، T2: جیره آزمایشی پایه با استفاده از ۲ گرم پروبیوتیک و صفر گرم بوتیرات (سطح ۲ گرم پروبیوتیک و سطح صفر گرم بوتیرات مونوگلیسرید) اثر اصلی، T3: جیره آزمایشی پایه با استفاده از صفر گرم پروبیوتیک و ۵ گرم بوتیرات (سطح صفر پروبیوتیک و سطح ۵ گرم بوتیرات مونوگلیسرید) اثر اصلی و T4: جیره آزمایشی پایه با استفاده از ۲ گرم پروبیوتیک و ۵ گرم بوتیرات (سطح ۲ گرم پروبیوتیک و سطح ۵ گرم بوتیرات مونوگلیسرید) اثرات متقابل است.

^۳ Pro: برابر پروبیوتیک، But: برابر بوتیرات، FCR: برابر ضریب تبدیل غذایی می باشد.

^۴ SEM: برابر میانگین خطای استاندارد می باشد.

¹ Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

² T1: the basal diet without probiotic and butyrate (probiotic level 0 g and level 0 g of butyrate monoglyceride) or the main factor, T2: the basal diet using 2 g probiotic and zero gram butyrate (2 g probiotic level and 0 g of butyrate monoglyceride) as the main factor, T3: the basal diet using probiotic zero grams and 5 grams butyrate (probiotic level zero and 5 grams of monoglyceride butyrate) as the main factor, T4: the basal diet using 2 g of probiotic and 5 g of butyrate (2 g of probiotic and 5 g of butyrate of monoglyceride) as interaction effects.

³ Pro: proboscis, But: Butyrate, FCR: the conversion factor of feed.

⁴ SEM: the mean standard error.

گوساله‌ها از گلوکز برای منبع انرژی استفاده می کنند و با توجه به توسعه شکمبه و نقش بتا هیدروکسی بوتیرات در عملکرد شکمبه گوساله‌ها با تغذیه جدید منطبق شد، در غیر اینصورت میزان رشد کاهش پیدا می کند (۱۴ و ۴۸). افزودن پروبیوتیک، تأثیری بر غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات پلاسمای خون گوساله‌ها نداشت (۳۲). همچنین سیف‌زاده و همکاران (۵۳) مشاهده کردند افزودن پروبیوتیک پروتکسین به شیر گوساله‌های شیرخوار غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات را در خون تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. در آزمایش حاضر عدم مغایرت غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات پلاسمای خون گوساله‌ها با نتایج سیف زاده و همکاران (۵۳) می تواند مربوط به یکسانی غلظت پروبیوتیک و نوع پروبیوتیک مشابه (پروتکسین) و یکی بودن محل و نحوه نگهداری گوساله‌ها بین این مطالعه و مطالعه حاضر باشد.

بر خلاف مطالعه قبلی، فریرا و بیتار (۱۴) گزارش کردند مصرف سدیم بوتیرات، اثری بر غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات خون گوساله‌ها ندارد. مکمل بوتیرات مورد استفاده در این پژوهش به شکل مونوگلیسرید بوتیرات بوده و در طی هضم چربی‌ها در شکمبه، ابتدا گلیسرول از ترکیب گلیسریدها جدا می‌شود و سپس اسیدهای جدا شده که در این مورد اسید بوتیریک است، در معرض هضم و جذب قرار می‌گیرند (۱۴). اسید بوتیریک یکی از اسیدهای چرب فرار قابل جذب و متابولیسم از دیواره شکمبه بوده که محصول نهایی متابولیسم آن در سلول‌های اپیتلیال دیواره شکمبه، بتا هیدروکسی بوتیرات می-باشد. همچنین مطالعه دیگری که توسط کوئیکلی و همکاران (۴۸) مقدار بتا هیدروکسی بوتیرات را نمادی از پیشرفت شکمبه می داند و ارتباط معنی داری را بین بتا هیدروکسی بوتیرات خون و توسعه شکمبه می داند در ضمن تأکید می کند که تا قبل از توسعه شکمبه

جدول ۴- اثر افزودنی‌های پروبیوتیک و بوتیرات بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیر خوار هلشتاین^۱
Table 4- Effects of probiotic and butyrate on blood parameters of Holstein calves¹

اقلام Items	جیره‌های آزمایشی ^۲ Experimental diets ²				SEM ^۴	اثرات اصلی و متقابل (سطح معنی داری) ^۳ Main and interaction effects (P-value) ³		
	تیمار ۱ T1	تیمار ۲ T2	تیمار ۳ T3	تیمار ۴ T4		Pro	But	Pro × But
گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر) Glucose (mg/dL)	84.81 ^b	82.23 ^c	85.89 ^a	86.26 ^a	2.78	0.62	0.30	0.02
کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر) Cholesterol (mg/dL)	87.40	76.60	78.60	90.80	5.96	0.49	0.31	0.23
تری گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر) Triglycerides (mg/dL)	37.84	35.02	36.42	39.65	5.71	0.97	0.61	0.78
آلبومین (گرم بر دسی لیتر) Albumin (g/dL)	3.18	3.34	3.44	3.42	0.14	0.63	0.24	0.53
پروتئین کل (گرم بر دسی لیتر) Total protein (g/dL)	6.12	6.14	6.42	6.26	0.23	0.77	0.37	0.70
بتا هیدروکسی بوتیریک اسید (میلیمول در لیتر) BHBA (mmol/L)	0.14 ^c	0.22 ^b	0.25 ^a	0.23 ^a	0.03	0.30	0.02	0.09

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند ($P < 0.05$).

^۲ T1: جیره آزمایشی پایه بدون استفاده از پروبیوتیک و بوتیرات (سطح صفر گرم پروبیوتیک و سطح صفر گرم بوتیرات منوگلیسرید) اثر اصلی، T2: جیره آزمایشی پایه با استفاده از ۲ گرم پروبیوتیک و صفر گرم بوتیرات (سطح ۲ گرم پروبیوتیک و صفر گرم بوتیرات منوگلیسرید) اثر اصلی، T3: جیره آزمایشی پایه با استفاده از صفر گرم پروبیوتیک و ۵ گرم بوتیرات (سطح صفر پروبیوتیک و سطح ۵ گرم بوتیرات منوگلیسرید) اثر اصلی و T4: جیره آزمایشی پایه با استفاده از ۲ گرم پروبیوتیک و ۵ گرم بوتیرات (سطح ۲ گرم پروبیوتیک و سطح ۵ گرم بوتیرات منوگلیسرید) اثرات متقابل است.

^۳ Pro: برابر پروبیوتیک، But: برابر بوتیرات، FCR: برابر ضریب تبدیل غذایی می باشد.

^۴ SEM: برابر میانگین خطای استاندارد می باشد.

¹ Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

² T1: the basal diet without probiotic and butyrate (probiotic level 0 g and level 0 g of butyrate monoglyceride) or the main factor, T2: the basal diet using 2 g probiotic and zero gram butyrate (2 g probiotic level and 0 g of butyrate monoglyceride) as the main factor, T3: the basal diet using probiotic zero grams and 5 grams butyrate (probiotic level zero and 5 grams of monoglyceride butyrate) as the main factor, T4: the basal diet using 2 g of probiotic and 5 g of butyrate (2 g of probiotic and 5 g of butyrate of monoglyceride) as interaction effects.

³ Pro: proboscis, But: Butyrate, FCR: the conversion factor of feed.

⁴ SEM: the mean standard error.

نتیجه‌گیری

منوگلیسرید تأثیر معنی‌داری بر غلظت، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین کل و آلبومین خون نداشت. لیکن غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات پلاسماي خون تحت تأثیر مکمل بوتیرات قرار گرفت. در مجموع مکمل‌سازی جیره غذایی گوساله‌های شیرخوار با بوتیرات منوگلیسرید می‌تواند بر عملکرد و توسعه شکمبه گوساله‌های شیرخوار هلشتاین اثرات مطلوبی داشته باشد.

استفاده از پروبیوتیک و یا افزودن همزمان پروبیوتیک و بوتیرات منوگلیسرید، تأثیری بر مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه، وزن نهایی بدن گوساله‌ها و ضریب تبدیل غذایی نداشت. ولی افزودن بوتیرات منوگلیسرید منجر به افزایش وزن روزانه و وزن نهایی گوساله‌ها شد. همچنین قابلیت هضم گوساله‌ها تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. افزودن همزمان پروبیوتیک و بوتیرات

منابع

- 1- Abe, F., N. Ishibashi, and S. Shimamura. 1995. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. Journal of Dairy Science, 78(12): 2838-2846.
- 2- Al-Saiady, M. Y. 2010. Effect of probiotic bacteria on immunoglobulin G concentration and other blood components of newborn calves. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9(3): 604-609.
- 3- AOAC. 2000. Official methods of analysis of AOAC. International 17th edition; Gaithersburg, M, D., USA Association of Analytical Communities

- 4- Beiranvand, H., G. R. Ghorbani., M. Khorvash., A. Nabipour., M. Dehghan-Banadaky., A. Homayouni, and S. Kargar. 2014. Interactions of alfalfa hay and sodium propionate on dairy calf performance and rumen development. *Journal of Dairy Science*, 97(4):2270–2280.
- 5- Benchaar, C., J. L. Duynisveld, and E. Charmley. 2006. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 86(1): 91-96.
- 6- Bergman, E. N. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews*, 70(2): 567–590.
- 7- Blum, S., S. Alvarez., D. Haller., P. Perez, and E. J. Schiffrin .1999. Intestinal microflora and the interaction with immunocompetent cells. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 67(1):199–205.
- 8- Cavini, S., S. Iraira., A. Siurana., A. Foskolos., A. Ferret, and S. Calsamiglia. 2015. Effect of sodium butyrate administered in the concentrate on rumen development and productive performance of lambs in intensive production system during the suckling and the fattening periods. *Small Ruminant Research*, 123(1): 212–217.
- 9- Chaudhary, L., A. Sahoo., N. Agrawal., D. Kamra, and N. Pathak. 2008. Effect of direct fed microbial on nutrient utilization, rumen fermentation, immune and growth response in crossbred cattle calves. *Indian Journal of Animal Science*, 78(1): 515-521.
- 10- Chaves, A. V., K. K. Duganc., L. L. Stanford., J. M. Gibson., T. A. Bystrom., F. McAllister., H. Van, and C. Benchaar. 2011. A dose-response of cinnamaldehyde supplementation on intake, ruminal fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Livestock Science*, 141(2-3): 220-213.
- 11- Cole, C., F. Fullei, and M. Newport. 1987. The effect of diluted yogurt on the gut microbiology and growth of piglets. *Food Microbiology*, 4(1): 83-85.
- 12- Cummings, J. H., J. L. Rombeau, and T. Sakata. 1995. *Physiological and Clinical Aspects of Short Chain Fatty Acid Metabolism*. Cambridge University, pp. 289-305, Press: Cambridge
- 13- Donovan, D., S. Franklin., S. Chase, and A. Hippen. 2002. Growth and health of Holstein calves fed replacer supplemented with antibiotics or enter guard. *Journal of Dairy Science*, 85: 947-950
- 14- Ferreira, L. S, and C. M. M. Bittar. 2010. Performance and plasma metabolites of dairy calves fed starter containing sodium butyrate, calcium propionate or sodium monensin. *Animal*, 5(2): 239–245.
- 15- Francisco, C., C. Chamberlain., D. Waldner., R. Wettman, and L. Spicer. 2002. Propionibacteria fed to dairy cows: Effect on energy balance, plasma metabolites and hormones and reproduction. *Journal of Dairy Science*, 85(7): 1738-1751.
- 16- Franco, L. D., M. Fondevila., M. B. Lobera, and C. Castrillo. 2005. Effect of combinations of organic acids in weaned pig diets on microbial species of digestive tract contents and their response on digestibility. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 89(3-6): 88–93.
- 17- Fuller, R. 1977. The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. *British Poultry Science*, 18(1): 85-94.
- 18- Galvao, K. N., E. A. Santos., J. Coscioni., M. Villasenor., W. M. Sisco, and A. C. Berge. 2005. Effect of feeding live yeast products to calves with failure of passive transfer on performance and patterns of antibiotic resistance in fecal *Escherichia coli*. *Reproduction Nutrition Development*, 79(4): 228-240.
- 19- Goodlad, R. A. 1981. Some effects of diet on the mitotic index and the cell cycle of the ruminal epithelium of sheep. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, 66(4): 487-499.
- 20- Gorka, P., Z. M. Kowalski., P. Pietrzak., A. Kotunia., W. Jagusiak., J. J. Holst., P. Guilloteau, and R. Zabielski. 2011. Effect of method of delivery of sodium butyrate on rumen development in newborn calves. *Journal of Dairy Science*, 94(11): 5578-5588.
- 21- Guilloteau, P., G. Savary., Y. Jaguelin-Peyrault., V. Rome., L. LeNormand, and R. Zabielski. 2010. Dietary sodium butyrate supplementation increases digestibility and pancreatic secretion in young milk-fed calves. *Journal of Dairy Science*, 93(12): 5842–5850.
- 22- Guilloteau, P., R. Zabielski., J. C. David., J. W. Blum., J. A. Morisset., M. Biernat., J. Woliński., D. Laubitz, and Y. Hamon. 2009. Sodium-butyrate as a growth promoter in milk replacer formula for young calves. *Journal of Dairy Science*, 92(3): 1038 1049.26.
- 23- Guilloteau, P., V. Rome., L. Le Normand., G. Savary, and R. Zabielski. 2004. Is Na-butyrate a growth factor in the preruminant calf? Preliminary results. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 13(Suppl.1): 393–396.
- 24- Higginbotham, G. E, and D. L. Bath. 1993. Evaluation of Lactobacillus fermentation cultures in calf feeding systems. *Journal of Dairy Science*, 76(2):615-620.

- 25- Hossain, S. A., S. Parnerkar., N. Haque., R. Gupta., D. Kumar, and A. Tyagi. 2012 . Influence of dietary supplementation of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on nutrient utilization ruminal and biochemical profiles of Kankrej calves. *International Journal of Applied Animal Research*, 1(1):30-38
- 26- Hosseinabadi, M., M. Dehghan Bandaky, and A. Zali. 2013. The effect of feeding of bacterial probiotic in milk or starter on growth performance, health, blood and rumen parameters of suckling calves. *Research Animal Production*, 4(1): 8-14.
- 27- Jatkauskas, J, and V. Vrotniakienė. 2010. Effects of probiotic dietary supplementation on diarrhea patterns, faecal microbiota and performance of early weaned calves. *Veterinarija Medicina*, 55(10): 494-503.
- 28- Kato, S. I., K. Sato, H. Chida, S. G. Roh, S. Ohwada, S. Sato, P. Guilloteau, and K. Katoh. 2011. Effects of Na-butyrate supplementation in milk formula on plasma concentrations of GH and insulin, and on rumen papilla development in calves. *Journal of Endocrinology*, 211(3): 241–248.
- 29- Le Gall, M., M. Gallois., B. Seve., I. Louveau., J. J. Holst., I. P. Oswald., J. P. Lalle's, and P. Guilloteau. 2009. Comparative effect of orally administered sodium butyrate before or after weaning on growth and several indices of gastrointestinal biology of piglets. *British Journal Nutrition*, 102(9): 1285–1296.
- 30- Lee-Rangel, H. A., G. D. Mendoza, and S. S. Gonzalez. 2012. Effect of calcium propionate and sorghum level on lamb performance. *Animal Feed Science and Technology*, 177(3-4):237–241.
- 31- Lehloenya, K., C. Krehbiel., K. Mertz., T. Rehberger, and L. Spicer. 2008. Effect of propionibacteria and yeast culture fed to steer on nutrient intake and site and extent of digestion. *Journal of Dairy Science*, 91(2): 653-662.
- 32- Lesmeister, K. E., A. J. Heinrichs, and M. T. Gabier. 2004. Effects of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture and probiotic on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 87(6):1832-1839.
- 33- Magalhaes, V. J. A., F. Susca., F. S. Lima., A. F. Branco., I. Yoon, and J. E. P Santos. 2008. Effect of feeding probiotic on performance, health, and immunocompetence of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 91(4): 1497–1509.
- 34- Manzanilla, E. G., M. Nofrarias., M. Anguita., M. Castillo., J. F. Perez., S. M. Martin-Orue., C. Kamel, and J. Gasa. 2006. Effects of butyrate, avilamycin, and a plant extract combination on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *Journal of Animal Science*, 84(10): 2743–2745
- 35- Mazzoni, M., M. Le Gall., S. De Filippi., L. Minieri., P. Trevisi., J. Wolinski., G. Lalatta- Costerbosa., J. P. Lalles., P. Guilloteau, and P. Bosi. 2008. Supplemental sodium butyrate stimulates different gastric cells in weaned pigs. *The Journal of Nutrition*, 138(8): 1426–1431.
- 36- Mehrdad, N., Y. Chashnai Del., A. Teimouri Yansari, and M. Khorvash. 2016. Effect of two types of probiotics on the performance, blood and rumen parameters of Holstein male calves, *Journal of Research in Ruminants*, 5(1): 24-31. (In Persian).
- 37- Mohamadi Roodposhti, P, and N. Dabiri. 2012. Effects of probiotic and prebiotic on average daily gain, ecal shedding of *Escherichia Coli* and immune system status in newborn female calves. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(9): 1255-1261.
- 38- Mohan, B., R. Kadirvel., M. Bhaskaran, and A. Natarajan. 1995. Effect of Organic Acid supplementation on serum/yolk cholesterol and on egg shell thickness in layers. *British Poultry Science*, 36(5): 799-803.
- 39- Moslemipour, F., F. Moslemipour, and Y. M. Leo. 2012. The effect of using probiotics and synbiotics in colostrum and milk on the incontinence rate of immunoglobulins and the indicator of bovine function and health. *Journal of Research in Ruminants*, 1(4): 25-29. (In Persian).
- 40- Mroz, Z. 2005. Organic acids as potential alternative to antibiotic growth promoters for pigs. *Advances in Pork Production*, 16(1): 169–182.
- 41- Nazari, M., K. Karkoodi, and A. Alizadeh. 2012. Performance and physiological responses of milk-fed calves to coated calcium butyrate supplementation. *South African Journal of Animal Science*, 42(3): 296–303.
- 42- Nemati, A., S. Tabatabaie., A. Davar Frouzandeky Shahraki, and Sh. EghbalSaeed. 2010. Comparison effect of *Saccharomyces cerevisiae* yeast and Protexin probiotic in starter on blood parameter, Immunity blood, behavior and fecal score in the suckling calves. *The 4th congress on Animal Science Karaj Iran*, 2141-2144.
- 43- Norouzzian, M. A., R. Valizadeh, and P. Vahmani. 2011. Rumen development and growth of Balouchi lambs offered alfalfa hay pre- and post-weaning. *Tropical Animal Health and Production*, 43(6): 1169-1174.
- 44- NRC. 2000. *Nutrient Requirement of Beef Cattle*. 7th Edition. National Academy Press. Washington DC.
- 45- Östman, E. M., M. Nilsson., H. G. M. Liljeberg Elmstahl., G. Molin, and I. M. E. Björck. 2002. On the effect of lactic acid on blood glucose and insulin responses to cereal products: Mechanistic studies in healthy subjects and in vitro. *Journal of Cereal Science*, 36(3): 339-346.

- 46- Partanen, K. H, and Z. Mroz. 1999. Organic acids for performance enhancement in pig diets. *Nutrition Research Reviews*, 12(1): 117–145.
- 47- Pouillart, P. R. 1998. Role of butyric acid and its derivatives in the treatment of colorectal cancer and hemoglobinopathies. *Life Science*, 63(20):1739–1760.
- 48- Quigley, J. D. 1996. Influence of weaning method on growth, intake, and selected blood metabolites in Jersey calves. *Journal of Dairy Science*, 79(12):2255–2260.
- 49- Riddell, J. B., A. Gallegos., D. Harmon, and K. McLeod. 2010. Addition of a *Bacillus* based probiotic to the diet of pre ruminant calves: influence on growth, health, and blood parameters. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 8(1): 78-85.
- 50- Saarela, M., G. Mogensen., R. Fonden., J. Mattoadt, and R. Sandholm. 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, 84(3): 197-215.
- 51- Saavedra, J. M. 2001. Clinical application of probiotic agents. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(6): 1147- 11510.
- 52- SAS / STAT User's Guide. Version 9.1 Edition. 2003. SAS Inst. Cary, NC.
- 53- Seifzadeh, S., F. Mirzaei Aghjehgheshlagh., H. Abdibenemar., J. Seifdavati, and B. Navidshad. 2017. The effects of a medical plant mix and probiotic on performance and health status of suckling Holstein calves. *Italian Journal of Animal Science*, 16(1):44-51.
- 54- Sengwan, N. S., A. Farooqi., A. Shabih, and R. Sangwan. 2001. Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regular*, 34(1): 3-21.
- 55- Slusarczyk, K., J. A. Strzetelski, and I. Furgal-Dierzuk. 2010. The effect of sodium butyrate on calf growth and serum level of b-hydroxybutyric acid. *Animal Feed Science and Technology*, 19(3): 348–357.
- 56- Soltani, M., M. Kazemi bin Chenari., A. H. Khult Abadi Farahani, and O. Afsarian. 2016. The effect of sodium butyrate on the initial diets of all concentrates or containing fodder in infant lambs. *Nutrition Faculty of Ruminants, Faculty of Agriculture, Animal Science Department, Arak University. (The Thesis)*.
- 57- Timmerman, H. M., L. Mudler., H. Evrets, and D. C. Vanespan. 2005. Health and growth of veal calves fed milk replacer with or without Probiotics. *Journal of Dairy Science*, 88(6):2154-65.
- 58- Van Keulen, J, and B. A. Young. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44(1): 282–287.
- 59- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10): 3583- 3597.



The effect of butyrate monoglyceride and probiotic additives on growth performance, some blood parameters and digestibility of nutrients in Holstein suckling calves

A. Timas¹- J. Seifdavati^{2*}- S. Seifzadeh³- H. Abdi Benemar⁴- R. Seyed Sharifi⁴

Received: 04-03-2018

Accepted: 30-05-2018

Introduction Probiotic supplements improve livestock growth, increase in intake of feed, improve digestion and absorption of nutrients and health conditions. Feeding butyrate in combination with milk and starter prior to weaning of calves may enhance rumen development, body weight, health status and growth performance. The butyrate supplement used in this study is monoglyceride butyrate and during digestion of ruminal fat, first glycerol is separated from the glyceride composition, and then the isolated bacteria are exposed to digestion and absorption of butyric acid. Butyric acid is one of the absorbed volatile fatty acids and metabolism of the rumen wall, the final product of which is metabolized by the rumen stem cell epithelial cells, a beta-hydroxy butyrate compound. The aim of this study was to evaluate effect of butyrate monoglyceride and probiotic additives on growth performance, some blood parameters and digestibility of nutrients in Holstein suckling calves.

Materials and Methods For this experiment, 24 newborn Holstein calves with an average age of 6 days, and about 36±2 kg weight, with 4 treatments and 6 replications were performed in a completely randomized factorial design (2×2). The treatments included: 1) base rations (starter and whole milk) 2) base ration + daily 2 grams of probiotic (Protexin) mixed with milk 3) base rations + daily ration 5 grams of butyrate monoglyceride mixed with starter 4) base ration + 2 grams of probiotic mixed in milk + 5 grams of monoglyceride butyrate mixed with starter. During the experiment, functional traits such as daily gain, daily intake and feed conversion were determined. Calves were weighed individually on days 30 and 65. In order to measure apparent digestibility at the end of the course, the feces were collected for 5 consecutive days. The collected samples were dried in an oven at 65 ° C for 48 hours. During the 30th and 65th days of the experiment, blood samples were taken from the vein before the morning meal. Blood samples were transferred to the laboratory for centrifugation (at 3500 rpm) for 15 minutes. The serum samples were stored at -20 ° C until measured. Blood glucose, urea, cholesterol, triglyceride, albumin, total protein and beta-hydroxy butyric acid were measured using laboratory kits (Pars Test, Iran) and using the CS-400 auto-analyzer. Data were analyzed using MIXED and SAS software.

Results and Discussion The results showed that final weight was not affected by probiotic and probiotic and butyrate monoglyceride interacting ($P>0.05$). But it was affected by the butyrate monoglyceride ($P<0.05$). Daily feed intake was not affected by experimental treatments ($P>0.05$). Daily weight gain was not affected by probiotic and probiotic and butyrate monoglyceride interactions ($P>0.05$). But it was affected by the butyrate monoglyceride ($P<0.05$). Feed conversion ratio was not affected by treatments during the whole period ($P>0.05$). But in the first month it was affected by the probiotic ($P<0.05$). The results of this study showed that the concentration of beta-hydroxy butyric blood was not affected by the probiotic factor ($P<0.05$), while the butyrate supplementation factor was effective in increasing the concentration of beta-hydroxy-butyric ($P<0.05$). Also, there was a tendency for the probiotic and monoglyceride butyrate interactions to be meaningful ($P<0.055$). The level of beta-hydroxybutyric acid indicates rumen development and the beginning of the metabolism of the final products of fermentation by rumen epithelium. The results showed that digestion of calves was not affected by experimental diets ($P>0.05$). The interaction factor of probiotic and butyrate monoglyceride had a significant effect on blood glucose concentration ($P<0.05$). Also, beta-hydroxy butyric acid is affected by butyrate supplementation ($P<0.05$). However, experimental treatments of butyrate and probiotic (Protexin) had no effect on cholesterol, triglyceride, albumin, and total protein ($P>0.05$).

1-Graduate Student of Animal Nutrition of University of Mohaghegh Ardebili, Ardebil, Iran,

2-Associate Professor of Animal Science Department of University of Mohaghegh Ardebili, Ardebil, Iran,

3-Ph.D Student of Animal Nutrition of University of Mohaghegh Ardebili, Ardebil, Iran,

4- Associate professor of Animal Science Department of University of Mohaghegh Ardebili, Ardebil, Iran.

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

Conclusion The probiotic (Protexin) and the interaction factor of probiotic and butyrate monoglyceride did not affect daily intake, daily gain, final body weight of calves and feed conversion ratio, while the addition of butyrate monoglyceride in the diet affected the weight gain and calving weight of the calves daily. Nutrient utilization and digestibility of dairy calves was not affected by experimental diets. Beta-hydroxy-butyric acid was also affected by butyrate supplementation. However, experimental treatments of butyrate and probiotic (Protexin) had no effect on cholesterol, triglyceride, albumin, and total protein. In general, supplementation of the diet of infected calves with butyrate monoglycerides can have beneficial effects on the performance and development of rumen in infant calves. In general, it can be concluded that butyrate monoglyceride as supplementation of the diet (milk replacer or starter diet) may enhance rumen development in Holstein suckling calves.

Keywords: Blood parameters, Butyrate, Holstein calves, Probiotic.



کاهش نرخ آزادشدن اوره در شکمبه نشخوارکنندگان به کمک پوشش دار کردن اوره در آزمایشات درون تنی و برون تنی

میترا مزینانی^۱ - عباسعلی ناصریان^{۲*} - محسن دانش مسگران^۲ - رضا ولی زاده^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۲۰

چکیده

به منظور کاهش نرخ آزادشدن اوره در شکمبه با روش پوشش دار کردن و قابلیت استفاده از آن در جیره نشخوارکنندگان، دو آزمایش برون تنی و یک آزمایش درون تنی انجام شد. در آزمایش اول برای بررسی نرخ آزاد شدن نیتروژن از اوره پوشش دار در مقایسه با اوره معمولی و ترکیب اپتی ژن تجاری (اوره کند آزاد شونده) در ۶ سامانه آبی مختلف و در ۸ نقطه زمانی انکوبه شدند و باقیمانده نیتروژن آن‌ها در بخش جامد مورد آزمایش و مقایسه قرار گرفت. در آزمایش دوم میزان تولید گاز ۳ نمونه خوراکی (آرد جو، آرد جو+ ملاس و جیره خوراکی فرموله شده برای گاو شیری) که به هر کدام معادل ۳٪ از چهار منبع نیتروژنی (اوره معمولی، اوره پوشش دار، اپتی ژن و کلزا) افزوده شده بود در شرایط برون تنی اندازه گیری شد. در آزمایش سوم تاثیر تیمارها بر قابلیت هضم جیره، عملکرد و فراسنجه‌های خونی بز سائن بررسی شد. در این آزمایش، ۱۶ رأس بز شیری به چهار تیمار نیتروژنی در غالب طرح کاملاً تصادفی یکطرفه اختصاص داده شدند. اختلاف بین میزان نیتروژن باقیمانده تیمارها در تمام زمان‌ها بجز ۱۰ دقیقه، معنی دار بود. تولید گاز تجمعی (۹۶ ساعت) در اثر تیمارهای مختلف نیتروژنی متفاوت بود. مصرف کل خوراک در تیمار اوره پوشش دار و اپتی ژن بیشتر از شاهد بود. اختلاف قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و خاکستر بین تیمارهای مختلف معنی داری نبود. تولید شیر در تیمار اپتی ژن بیشتر از سایر تیمارها و سپس اوره پوشش دار و شاهد بالاترین تولید شیر را داشتند. ترکیبات شیر نیز تحت تاثیر جیره قرار نگرفت. اثر تیمارها روی متابولیت‌های کلسترول و اوره خون معنی دار بود. اوره و تری گلیسرید خون در تیمار اپتی ژن بیشتر از سایر تیمارها بود. با توجه به اینکه نرخ رهایش اوره پوشش دار متناسب با نیاز آمونیاکی میکروارگانیسم‌ها است، می‌توان از این منبع NPN بعنوان جایگزین بخشی از پروتئین خوراک برای کاهش قیمت جیره و افزایش بهره‌وری از قابلیت میکروارگانیسم‌های شکمبه استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اپتی ژن، اوره، اوره کند آزاد شونده، تجزیه پذیری شکمبه ای اوره.

مقدمه

مکانیزاسیون مورد نیاز موجب کمبود بارز منابع خوراک دام شده است. به همین دلیل هزینه تغذیه دام‌ها در ایران از میانگین جهانی به طور معنی داری بیشتر است (۱۰). از این رو تغذیه صحیح و متعادل دام‌ها جایگاه ویژه‌ای در سود دهی واحدهای گاو داری در ایران دارد. یکی از راه‌های کاهش قیمت تمام شده جیره استفاده از پسماندها و منابعی است که برای انسان قابل استفاده نمی‌باشند. بطور مثال می‌توان از منابع نیتروژن غیر پروتئینی NPN^۲ به جای منابع پروتئین حقیقی و گران قیمت استفاده کرد و هزینه‌های تامین پروتئین و جیره مورد نیاز گاوهای شیری را در حد معنی داری کاهش داد. به حداکثر رساندن تولید پروتئین میکروبی در تغذیه گاو اهمیت بسزایی دارد. نیتروژن مصرف شده توسط نشخوارکنندگان را می‌توان

متناسب با افزایش جمعیت و سطح درآمد، به خصوص در کشورهای در حال توسعه در ۵۰ سال آینده، تولید جهانی گوشت و شیر باید دو برابر شود (۱۰). شرایط اقلیمی خاص ایران و محدودیت منابع آبی و نزولات آسمانی، عدم استفاده مطلوب از امکانات موجود و

۱- دانشجوی دوره دکتری تغذیه نشخوارکنندگان، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

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

(*) ایمیل نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/ijasr.v11i2.63032

اندازه‌گیری شده و به ۷ لوله آزمایش ۵۰ میلی لیتری افزوده شد، مقدار ۳۰ میلی لیتر مایع شکمبه بافری شده نیز به هر لوله اضافه شد و همه لوله‌ها در دمای ۳۹ درجه انکوبه شدند. در زمان‌های ۰، ۳۰ دقیقه و ۱، ۲، ۴، ۶ ساعت لوله‌ها از دستگاه خارج شد و سانتریفیوژ شدند (RPM ۷۰۰۰) و بخش جامد باقیمانده از نظر مقدار پروتئین به روش کج‌دال اندازه‌گیری شد. این آزمایش با شرایط و نقطه‌های زمانی مشابه در ۵ سامانه مایع دیگر نیز انجام شد (آب مقطر، اسید ضعیف، محلول بافر ضعیف، مایع شکمبه فری سل (سانتریفیوژ با ۷۰۰۰ دور در دقیقه)، مایع شکمبه فری سل بافری شده). داده‌های جمع‌آوری شده در قالب طرح بلوک تصادفی با استفاده از نرم افزار آماری SAS (۲۰۰۳) و رویه mixed model تحلیل شدند.

آزمایش دوم

برای تعیین تولید گاز از چهار منبع نیتروژن شامل اوره، اوره پوشش دار، اپتیژن و کلزا بعنوان شاهد استفاده شد. نمونه‌های خوراکی شامل ۱) آرد جو + ۳٪ معادل نیتروژن از هر منبع نیتروژنی، ۲) آرد جو + ملاس به عنوان افزودنی + ۳٪ معادل نیتروژن از هر منبع نیتروژنی و ۳) جیره خوراکی فرموله شده برای گاو شیری + ۳٪ معادل نیتروژن از هر منبع نیتروژنی بودند. پانصد میلی گرم از هر چهار نمونه با سه تکرار اندازه‌گیری و در ظروف ایزوله ۱۲۰ میلی لیتری وارد شد (۲۹). مایع شکمبه از سه گاو مجهز به فیستول دائمی گرفته شد و در فلاسک به آزمایشگاه منتقل شد و با پارچه متقال چهار لایه صاف شد. بزاق مصنوعی به روش منک و استینگاس (۲۹) آماده شد و به میزان ۳۰ میلی لیتر به هر ظرف حاوی نمونه های تیمار افزوده شد. پس از بستن درب ظروف، نمونه ها در حمام بن ماری انکوبه شدند. برای حذف تنوع ناشی از ترکیب و فعالیت مایع شکمبه جمع آوری شده از ۲ نمونه شاهد که تنها دارای مایع شکمبه بافری شده بود استفاده شد. گاز تولید شده در هر شیشه با استفاده از فشار سنج به صورت دستی در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت اندازه‌گیری شد. پس از تصحیح گاز تولید شده با استفاده از نمونه‌های شاهد، اعداد به دست آمده در مدل نمایی ارسکوف و مک دونالد (۳۰) قرار داده شدند. داده‌های فراسنجه‌های تولید گاز با استفاده از رویه GLM از نرم افزار SAS (۲۰۰۳) و مدل طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

آزمایش سوم

در آزمایش برون تنی، از ۱۶ رأس بز شیری سان با میانگین وزن ۳۸/۸۵ کیلوگرم، روز شیردهی ۷۳ و تولید شیر ۱۹۷۹ گرم استفاده شد. بزها بطور تصادفی به چهار تیمار تقسیم گردیدند و در قفس‌های انفرادی (۱/۵ × ۲ متر) نگهداری شدند. این طرح در قالب طرح کاملاً تصادفی یک طرفه انجام شد و ۴ جیره آزمایشی شامل جیره شاهد، جیره حاوی اوره (دارای ۰/۵ درصد اوره)، اپتیژن (دارای ۰/۵۵ درصد

به اشکال متفاوتی نظیر نیتروژن غیر پروتئینی (اوره و نمک‌های آمونیوم)، اسیدهای آمینه، پپتیدها و پروتئین حقیقی دسته‌بندی کرد. ترکیبات نیتروژن دار غیر پروتئینی و پروتئین در شکمبه تجزیه شده و به آمونیاک تبدیل می‌گردند. آمونیاک تولیدی در شکمبه مورد استفاده میکروب‌های شکمبه قرار گرفته و به پروتئین میکروبی تبدیل می‌شود (۱۶).

فعالیت میکروبی شکمبه می‌تواند بیش از ۵۰٪ از احتیاجات پروتئینی حیوان نشخوارکننده را تامین کند (۸). بهره‌وری پایین استفاده از اوره در جیره به سرعت بالای هیدرولیز آن به آمونیاک در شکمبه نسبت داده می‌شود (۱۵ و ۱۸). سرعت تجزیه بیشتر ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی به آمونیاک اغلب سریعتر از سرعت استفاده آمونیاک توسط میکروب‌های شکمبه است و سبب تجمع آمونیاک در شکمبه شده در نتیجه آمونیاک مازاد از دیواره شکمبه به صورت یون آمونیوم وارد خون می‌شود (۹). بهمین دلیل تلاش‌های زیادی در این زمینه صورت گرفته و نهایتاً اشکالی از اوره تولید شد که در شکمبه تجزیه کندتری دارند، و منجر به افزایش اختلاط تولید آمونیاک با جمعیت میکروبی نشده و دفع اوره از ادرار را کاهش می‌دهند. یکی از این روش‌ها انکپسولاسیون است که اخیراً در تغذیه دام و تولید برخی مواد خوراکی خاص نظیر مکمل‌های معدنی و ویتامینی مورد استفاده واقع شده است. انکپسولاسیون تکنولوژی قرار دادن مواد جامد، مایع، گاز در کپسول‌های کوچک است. کپسول‌هایی که می‌توانند محتویات خود را به صورت کنترل شده و تحت شرایط خاصی آزاد کنند. این تکنولوژی با حفاظت مواد در برابر اکسیداسیون در طول مدت تولید و نگهداری از ایجاد واکنش‌های نامطلوب جلوگیری کرده و مانع از دست رفتن ارزش تغذیه‌ای آنها می‌شود (۳۳). تحقیقات بسیاری در زمینه محصولات تجاری اوره آهسته رهش از جمله اوره با پوشش پلیمری (۱۵)، اوره-کلسیم (۹) و اوره با پوشش چربی (۲۶) انجام گرفته است. در این پژوهش با توجه به موارد ذکر شده برای رفع مشکل آزاد سازی سریع اوره و خطر مسمومیت آمونیاکی ناشی از آن، از روش پوشش‌دار کردن اوره استفاده شد تا ضمن کاهش نرخ آزاد سازی اوره امکان استفاده مطلوب‌تر از آن برای دام فراهم شود.

مواد و روش‌ها

آزمایش اول

برای تولید اوره کند رهش مورد نظر بعنوان یک منبع نیتروژنی در شکمبه، ابتدا با روش ویژه‌های اوره کند رهش ساخته و ثبت اختراع شد (شماره ثبت بین المللی A01K5/00- مخترع: میترا مزینانی). برای بررسی کارایی محصول تولیدی و اندازه‌گیری نرخ آزادسازی آمونیاک در مقایسه با اوره معمولی و اپتیژن (اوره کند آزاد شونده ساخت شرکت Altech آمریکا)، ۲۰ میلی گرم از معادل نیتروژنی هر تیمار

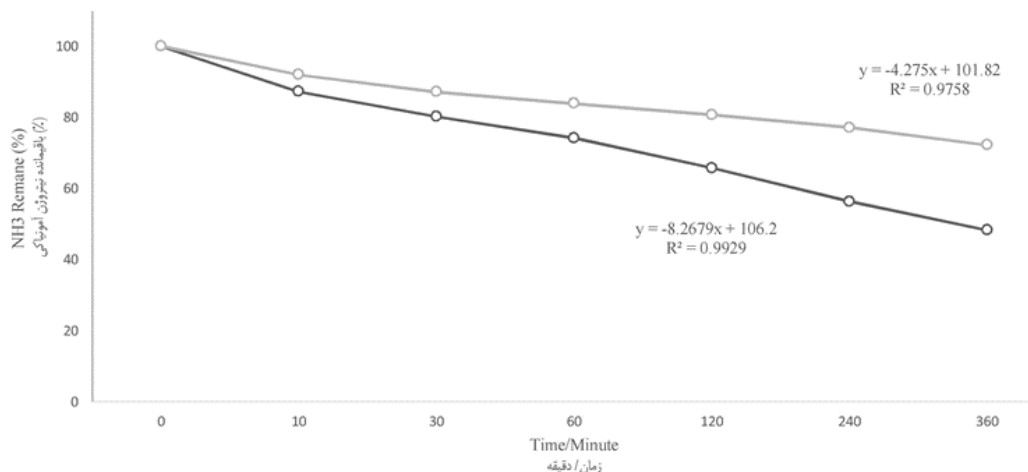
وسیله سرنگ به میکروتیوب انتقال داده شده و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. فراسنجه‌های خونی با استفاده از اتوآنالایزر (Biosystems A 15; 08030 Barcelona, Spain) اندازه‌گیری شد. میزان پروتئین میکروبی بر اساس مقدار مشتقات بازهای پورینی دفع شده از ادرار طبق روش چن و همکاران (۸) انجام شد. غلظت آلانتوئین با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (CE, England, 1021 Cecil)، اسید اوریک و کراتینین با دستگاه اتوآنالایزر تعیین شد. نتایج حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی یک طرفه با استفاده از رویه GLM برنامه (۲۰۰۳) SAS تجزیه و تحلیل آماری شد. برای مقایسه میانگین‌ها از روش حداقل مربعات استفاده شد.

نتایج و بحث

میزان باقیمانده نیتروژن در اوره پوشش‌دار پس ۳۶۰ دقیقه قرار گرفتن در سامانه مایع ۴۸/۲۶ درصد نسبت به نیتروژن اولیه و در اپتی‌ژن ۷۲/۱۹ درصد تخمین زده شد. میزان نیتروژن باقیمانده در تمام زمان‌ها بجز ۱۰ دقیقه اختلاف معنی‌داری داشت و میزان آزاد سازی اوره پوشش‌دار بیشتر از اپتی‌ژن بود (شکل ۱).

اپتی‌ژن، اوره پوشش‌دار (دارای ۰/۷ درصد اوره پوشش‌دار) بود. تمام جیره‌ها از نظر درصد پروتئین و سایر کمیت‌های مواد مغذی معادل‌سازی شدند و بر اساس احتیاجات غذایی بزهای شیر SRNS (۳۶) متعادل گردیدند (جدول ۱).

آزمایش در یک دوره ۲۱ روزه شامل ۱۴ روز دوره عادت‌پذیری و ۷ روز دوره جمع‌آوری انجام شد. در روز اول شروع دوره آزمایشی، قبل از خوراک دهی صبح و آخرین روز آزمایش حیوانات توزین شدند. در طول دوره آزمایش مقدار خوراک مصرفی بطور روزانه اندازه‌گیری شد. در هفته نمونه‌گیری از خوراک هر بز نمونه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در طی ۵ روز از مدفوع نمونه‌گیری شد (۳۷). بزها روزی دوبار در ساعت ۷ صبح و ۳ بعد از ظهر شیردوشی شدند. ثبت و کنترل تولید شیر در کل دوره آزمایش به طور روزانه انجام شد. در روزهای ۵ و ۶ هفته جمع‌آوری، نمونه‌گیری از شیر جهت تعیین ترکیب آن انجام شد. در روز ۲۱ آزمایش، ۲ ساعت پس از مصرف خوراک، با سرنگ حاوی هیپارین از سیاهرگ وداچ گردن حیوان ۱۰ میلی‌لیتر خون گرفته شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس نمونه‌ها در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد تا پلاسمای آن جدا شود. پلاسمای هر نمونه به



شکل ۱- درصد نیتروژن باقیمانده در اپتی‌ژن و اوره پوشش دار با حذف اثر نوع سامانه

Figure 1- The percentage of nitrogen remaining in optigen and Coated urea following liquid phase effect removal

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره های آزمایشی (درصد ماده خشک)

Table 1- Diet composition and chemical analysis of different dietary treatments (% DM)

متغیر Item	تیمار ^۱ Treatment ¹			
	شاهد Control	اوره Urea	اپتی ژن Optigen	اوره پوشش دار Coated urea
ترکیب جیره (% ماده خشک) Diet composition (% DM)				
یونجه Alfalfa	40	40	40	40
کاه گندم Wheat straw	5	5	5	5
ذرت Corn	27.5	27.5	27.5	27.5
کنجاله کلزا Canola meal	17.5	11	10.95	10.8
سوس گندم Wheat grain	8	14	14	14
کلسیم کربنات Calcium carbonate	0.6	0.6	0.6	0.6
نمک Salt	0.5	0.5	0.5	0.5
اوره Urea	0	0.5	0	0
اوره پوشش دار Coated urea	0	0	0	0.7
اپتی ژن Optigen	0	0	0.55	0
مکمل معدنی - ویتامینی Min-Vit Mix ²	0.9	0.9	0.9	0.9
تجزیه شیمیایی Chemical analysis (% DM)				
ماده خشک Dry matter	90.40	90.32	90.31	90.33
ماده آلی Organic matter	80.20	80.46	80.43	80.62
پروتئین خام Crude protein	15.54	15.20	15.05	14.78
فیبر محلول در شوینده خنثی Neutral detergent fibre	37.00	39.90	39.88	39.85
فیبر محلول در شوینده اسیدی Acid detergent fibre	21.40	21.00	21.00	20.95
خاکستر Ash	10.20	9.86	9.88	9.71

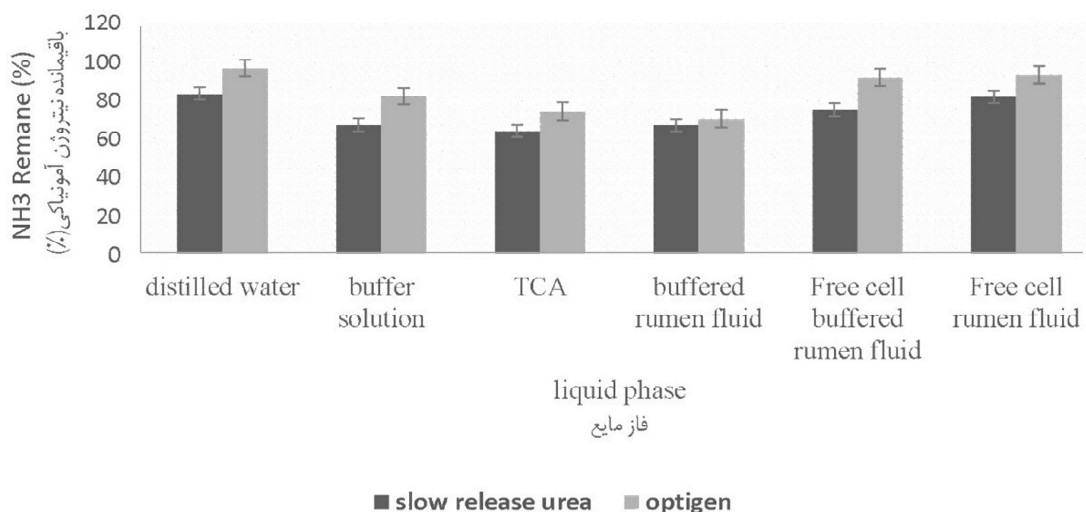
^۱ تیمارها شامل: (۱) شاهد؛ (۲) اوره (۰.۵٪ اوره)؛ (۳) اپتی ژن (۰.۵۵٪ اپتی ژن)؛ (۴) اوره پوشش دار (۰.۷٪ اوره پوشش دار)

^۱ Treatments consist: 1) control (canola meal)., 2) urea (0.5% urea)., 3) optigen (0.55% optigen)., 4) Coated urea (0.7% Coated urea)

^۲ Each kg contained: Vit A, 500000IU; Vit D3, 100000 IU; Vit E, 100mg; Ca, 190000mg; P, 90000mg; Na, 50000mg; Mg, 19000mg; Fe, 3000mg; Cu, 300mg; Mn, 2000mg; Zn, 3000mg; Co, 100mg; I 100mg; Se, 1mg; Antioxidant (B.H.T) 3000mg.

آزادسازی نیتروژن اوره، اپتی ژن و سویا را مقایسه کردند و دریافتند که اوره در کمتر از ۲ ساعت کاملاً ناپدید شد ولی اپتی ژن تا زمان ۵ ساعت ۶۰٪ از نیتروژن خود را آزاد کرد. مصرف نیتروژن را در شکمبه می‌توان با اندازه‌گیری غلظت نیتروژن آمونیاکی تخمین زد (۲۱). زین و همکاران (۴۱) در آزمایشی مشاهده کردند که تا ۱ ساعت پس از شروع انکوباسیون غلظت نیتروژن آمونیاکی در تمام جیره‌ها افزایش و سپس به آهستگی کاهش یافت. در آزمایش دیگری پروکوپ و کلافستین (۳۲) دریافتند اوره کند رها شونده (اوره-فرمالدهید) می‌تواند موجب کاهش نیتروژن آمونیاکی شکمبه به میزان ۲۵/۳٪ نسبت به اوره معمولی شود. در آزمایش مشابه دیگری که توسط گالو (۱۳) انجام شد میزان آزادسازی نیتروژن اوره با پوشش پلیمری ۸۳٪ اوره معمولی بود که در آب مقطر انکوبه شده بود که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

در شکل ۲ نتایج آزادسازی نیتروژن در سامانه‌های مختلف نشان داده شده است. تفاوت در میزان باقیمانده نیتروژن تحت اثر سامانه‌های مختلف نشان می‌دهد اوره پوشش‌دار نسبت به اپتی ژن در محیط اسیدی و نسبت به میکروارگانیزم‌های شکمبه واکنش بیشتری نشان داد و آزادسازی افزایش یافت. لورنزو و دی کوستونزو (۲۶) در آزمایشی میزان آزادسازی نیتروژن در خوراکی شامل ۹۵ درصد سیلوی ذرت و ۵٪ از منابع پروتئینی (اوره، بیوره، سویا، و سه محصول تجاری اوره کپسوله شده) را در مایع شکمبه بافری شده ۶ ساعت کشت دادند. بر اساس نتایج آنها اوره دارای بیشترین میزان آزادسازی بود ($P < 0.01$) و در تمام زمان‌ها با تصحیح اثرات متقابل زمان در تیمار بیشترین میزان آزادسازی را داشت ($P < 0.01$). بیوره نیز کمترین میزان آزادسازی نیتروژن را داشت ($P < 0.05$)؛ آن نیز بدلیل کمبود آنزیم بیورتاز در حیواناتی است که دوره عادت‌پذیری با مصرف بیورت را طی نکرده‌اند. هریسون و کارنوزس (۱۷) در یک آزمایش *in situ*



شکل ۲- میزان باقیمانده نیتروژن اپتی ژن و اوره پوشش دار با حذف اثر زمان

Figure 2- Amount of nitrogen remaining in optigen and Coated urea following removing time effect

فرض بر این است که گاز تولیدی تحت تأثیر هیچ عامل دیگری جز ترکیبات شیمیایی و خصوصیات فیزیکی خوراک قرار نمی‌گیرد. تولید گاز حاصل از پروتئین در مقایسه با کربوهیدرات‌ها نسبتاً اندک است. همچنین سهم چربی نیز در تولید گاز قابل صرف نظر می‌باشد.

آزمایش تولید گاز: هر کدام از منابع حاوی نیتروژن بطور جداگانه در ۳ جیره که در جدول ۲ به همراه آنالیز نشان داده شده است کشت گذاشته شد و نتایج میزان تولید گاز و قابلیت هضم ماده آلی و ارزش تغذیه ای آن اندازه گیری شد.

منک و استینگاس (۲۹) گزارش نمودند وقتی که از روش تولید گاز برای تعیین خصوصیات هضمی مواد خوراکی استفاده می‌شود

جدول ۲- ترکیب شیمیایی نمونه‌های خوراکی مورد استفاده در اندازه‌گیری تولید گاز

Table 2- Chemical composition of the experimental diets for gas production determination

جیره های آزمایشی Experimental diets	مواد مغذی Nutrients					
	DM ¹	CP ²	NDF ³	ADF ⁴	EE ⁵	Ash
آرد جو+۳٪ معادل نیتروژن از هر منبع نیتروژنی Barley flour + 3% each N-Sources	92.27	21.2	20.10	7	2.1	2.8
آرد جو+ ۱۰٪ ملاس+۳٪ معادل نیتروژن از هر منبع نیتروژنی Barley flour + molasses + 3% each N-Sources	86.96	21	18.30	6.3	2	6.3
جیره خوراکی فرموله شده برای گاو شیری+ ۳٪ معادل نیتروژن از هر منبع نیتروژنی A ration formulated to dairy cow + 3% each N-Sources	90.32	15.20	39.90	21	3.4	9.86

¹ ماده خشک؛ ² پروتئین خام؛ ³ فیبر نامحلول در شوینده خنثی؛ ⁴ فیبر نامحلول در شوینده اسیدی؛ ⁵ عصاره اتری¹ Dry matter; ² Crude protein; ³ Neutral detergent fiber; ⁴ Acid detergent fiber; ⁵ Ether extract.

نتایج آزمایشات *In vivo*

مصرف کل خوراک و هریک از زیربخش‌های آن در جدول شماره ۴ آورده شده است. بین مصرف خوراک در تیمارهای شاهد و اوره اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. اما این اختلاف بین سایر تیمارها معنی‌دار نبود. مصرف کل خوراک در تیمار اوره پوشش‌دار و اپتی‌ژن بیشتر از شاهد بود، اما این اختلاف معنی‌دار نبود ($P>0.05$). مصرف کل پروتئین، NDF، ADF و خاکستر تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت و اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P>0.05$). چردانگ و همکاران (۹) دریافتند که اوره و اوره کند تجزیه شونده (اوره-سولفات کلسیم و اوره کلرید کلسیم) بر مصرف ماده خشک تاثیر ندارد. همچنین پینوس و همکاران (۳۱) مشاهده کردند که اوره کند تجزیه شونده تاثیری بر مصرف ماده خشک ندارد. گالو و همکاران (۱۳) مشاهده کردند در هنگام استفاده از اوره با پوشش پلیمری مصرف خوراک کاهش نیافت. زین و همکاران (۴۱) از دو محصول تجاری اوره کندرها شونده FGU^۳ و PCU^۴ در مقایسه با کنجاله سویا استفاده کردند و دریافتند مصرف خوراک در تیمار PCU ۱۲/۸٪ بیشتر از تیمار FGU و نزدیک به تیمار کنجاله سویا بود ($P<0.02$). در مطالعات کاسپر و شینگوت (۵) نیز کاهش ماده خشک مصرفی در تیمار اوره مشاهده شد. که ممکن است دلیل آن مزه تلخ اوره نسبت به اوره‌های پوشش‌دار باشد (۲۰). تمام آزمایشات انجام گرفته با نتایج آزمایش فوق مطابقت دارد و با توجه به اینکه مقدار اوره و سایر منابع اوره استفاده شده معادل ۰/۵٪ اوره جیره بود بین خوراک مصرفی تیمارها بجز اختلاف بین شاهد و اوره اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اما کاهش مصرف خوراک تیمار شاهد نسبت به سه تیمار دیگر را می‌توان به بیشتر بودن

میزان گاز تولید شده در مخلوط کاه و اوره پوشش‌دار اختلاف معنی‌داری با گاز تولید شده در سایر تیمارهای اوره دارد ($P<0.01$). در جیره جو اگرچه بیشترین تولید گاز در اوره پوشش‌دار و سپس به ترتیب، اپتی‌ژن، اوره و شاهد بود اما بین تیمارهای مختلف از نظر تولید گاز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0.05$) در جیره جو-ملاس تولید گاز در تیمار اوره نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود ($P<0.05$). در جیره کامل کمترین تولید گاز در اپتی‌ژن بود اما این اختلاف معنی‌دار نبود ($P>0.05$). بر اساس نتایج جدول ۳ تولید گاز تجمعی (۹۶ ساعت) تحت تاثیر جیره‌ها و تیمارهای اوره متفاوت بود، از بین جیره‌های مختلف بیشترین تولید گاز مربوط به جیره کامل بود. همچنین اپتی‌ژن (۹۰/۸۲) و سپس اوره پوشش‌دار (۹۰/۸۱) بیشترین تولید کننده گاز در جیره کامل و تیمار شاهد (۶۹/۰۴) و سپس اوره (۶۹/۴۳) کمترین تولید گاز را داشتند. قابلیت هضم پذیری بالاتر در آزمایشات *in vitro* منعکس کننده توده میکروبی بیشتری است (۲). که در آزمایش ما نیز قابلیت تائید است چرا که اپتی‌ژن و اوره پوشش دار نسبت به اوره به آهستگی نیتروژن خود را آزاد می‌کنند و در نتیجه میکروارگانیسم‌ها می‌توانند به شکل کارآمدتری از نیتروژن استفاده کنند. البته در مورد جیره جو-ملاس تولید گاز در اوره نسبت به سایر منابع اوره بیشتر بود که اینگونه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که دلیل سریع الهضم بودن کربوهیدرات مللاس، و بدلیل همزمانی آزاد شدن منبع انرژی و پروتئین، راندمان میکروارگانیسم‌ها در استفاده از اوره افزایش می‌یابد. که نتیجه در آزمایشات چانجولا و همکاران (۷) نیز بیان شده است که غلظت آمونیاک شکمبه وقتی کربوهیدرات غیرساختمانی در جیره افزایش یابد، کاهش می‌یابد. از زمانی که از تکنیک تولید گاز برای اندازه‌گیری قابلیت هضم مواد خوراکی (۲۹) و یا علوفه (۲۵) مورد استفاده قرار گرفته است، تولید گاز بیشتر نشان‌دهنده هضم پذیری بالای سوپسترا است.

³ -feed grade urea⁴ -Polyortan coated urea

مقدار کنجاله کلزا نسبت داد که عموماً برای دام‌ها خوشخوراک و مطلوب نیست.

جدول ۳- مقدار تولید گاز در سه نمونه خوراکی حاوی منابع ازتی مختلف^۱

Table 3- Gas production in dietary samples containing different nitrogen sources¹

متغیر Item	نمونه Sample	منابع نیتروژنی Nitrogen sources				SEM	P-value
		شاهد Control	اوره پوشش دار Coated urea	ایتی ژن Optigen	اوره Urea		
تولید گاز (۹۶ ساعت) (میلی لیتر/ گرم ماده خشک سبستر) Gas production (96 h) [ml/0.5 g DM substrate]	کاه Straw	69.04 ^b	76.62 ^a	72.63 ^b	69.43 ^b	1.41	<0.0056
تولید گاز (۹۶ ساعت) (میلی لیتر/ گرم ماده خشک سبستر) Gas production (96 h) [ml/0.5 g DM substrate]	آرد جو Barely flour	72.04	75.41	74.27	72.84	2.67	NS
تولید گاز (۹۶ ساعت) (میلی لیتر/ گرم ماده خشک سبستر) Gas production (96 h) [ml/0.5 g DM substrate]	آرد جو+ مالدس Barley flour + molasses	74.17 ^b	76.93 ^b	75.97 ^b	80.48 ^a	0.86	<0.02
تولید گاز (۹۶ ساعت) (میلی لیتر/ گرم ماده خشک سبستر) Gas production (96 h) [ml/0.5 g DM substrate]	جیره فرموله شده برای گاو شیری Ration formulated to dairy cow	91.81	91.19	90.82	91.04	1.39	NS
اسیدهای زنجیر کوتاه (میلی مول) Small chain fatty acids (mmol)	کاه Straw	0.271 ^b	0.30 ^a	0.28 ^b	0.27 ^b	0.006	<0.0056
اسیدهای زنجیر کوتاه (میلی مول) Small chain fatty acids (mmol)	آرد جو Barely flour	0.28	0.29	0.29	0.28	0.01	NS
اسیدهای زنجیر کوتاه (میلی مول) Small chain fatty acids (mmol)	آرد جو+ مالدس Barley flour + molasses	0.29 ^b	0.30 ^b	0.29 ^b	0.31 ^a	0.001	<0.02
اسیدهای زنجیر کوتاه (میلی مول) Small chain fatty acids (mmol)	جیره فرموله شده برای گاو شیری Ration formulated to dairy cow	0.36	0.36	0.36	0.36	0.006	NS
انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم) Metabolizable energy (MJ/kg)	کاه Straw	12.00 ^c	13.26 ^a	12.63 ^b	12.13 ^{cd}	0.22	<0.0045
انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم) Metabolizable energy (MJ/kg)	آرد جو Barely flour	12.49	13.09	12.91	12.69	0.42	NS
انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم) Metabolizable energy (MJ/kg)	آرد جو+ مالدس Barley flour + molasses	12.83 ^b	13.46 ^b	13.10 ^b	13.91 ^a	0.05	<0.02
انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم) Metabolizable energy (MJ/kg)	جیره فرموله شده برای گاو شیری Ration formulated to dairy cow	15.68	15.58	15.52	15.64	0.22	NS
قابلیت هضم ماده آلی (درصد) Organic matter digestibility (%)	کاه Straw	77.85 ^c	85.88 ^a	81.93 ^b	78.75 ^{cd}	1.40	<0.0043
قابلیت هضم ماده آلی (درصد) Organic matter digestibility (%)	آرد جو Barely flour	81.18	85.04	83.92	82.50	2.65	NS
قابلیت هضم ماده آلی (درصد) Organic matter digestibility (%)	آرد جو+ مالدس Barley flour + molasses	83.28 ^b	87.26 ^b	84.98 ^b	90.11 ^a	0.34	<0.02
قابلیت هضم ماده آلی (درصد) Organic matter digestibility (%)	جیره فرموله شده برای گاو شیری Ration formulated to dairy cow	101.09	100.45	100.08	100.79	1.38	NS
قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک (درصد) Organic matter digestibility in DM (%)	کاه Straw	71.93 ^c	79.61 ^a	75.94 ^b	73.00 ^{cd}	1.29	<0.0037
قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک (درصد) Organic matter digestibility in DM (%)	آرد جو Barely flour	78.83	82.66	81.57	80.19	2.57	NS
قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک (درصد) Organic matter digestibility in DM (%)	آرد جو+ مالدس Barley flour + molasses	80.20 ^b	81.76 ^b	79.63 ^b	84.44 ^a	0.32	<0.02
قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک (درصد) Organic matter digestibility in DM (%)	جیره فرموله شده برای گاو شیری Ration formulated to dairy cow	90.78	90.55	90.22	90.86	1.24	NS

جدول ۴- مصرف خوراک توسط بزهای مورد آزمایش (گرم به ازای هر رأس بز در روز)^۱Table 4- Dry matter intake by the experimental goats (g/head/day)¹

متغیر Item	تیمار Treatment				SEM	P-value
	شاهد Control	اوره پوشش دار coated urea	اپتی ژن Optigen	اوره Urea		
(گرم به ازای هر رأس در روز) کل ماده خشک مصرفی Total consumed DM (g/head/day)	1958.01 ^a	2047.84 ^{ab}	2157.77 ^{ab}	2105.52 ^b	228.00	0.072
(گرم به ازای هر رأس در روز) پروتئین Protein (g/head/day)	304.27	308.19	333.70	325.71	4689.27	NS ²
(گرم به ازای هر رأس در روز) فیبر نامحلول در شوینده خنثی NDF (g/head/day)	724.5	816.5	899.7	854.9	32874.41	NS
(گرم به ازای هر رأس در روز) فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ADF (g/head/day)	419.01	430.03	473.01	449.99	9207.15	NS
(گرم به ازای هر رأس در روز) خاکستر Ash (g/head/day)	199.72	202.32	219.16	211.28	2005.15	NS

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<0.05$).^۱ Means within same row with different superscripts differ ($P<0.05$).^۲ NS: not significant

سایر تیمارها قابلیت هضم پروتئین اختلاف معنی‌دار بود ($P<0.01$).
بیشترین قابلیت هضم پروتئین مربوط به اپتی‌ژن بود. قابلیت هضم
NDF و ADF در تیمار اوره پوشش‌دار شده بیش از سایر تیمارها
بود.

در جدول شماره ۵ قابلیت هضم مواد مغذی تیمارهای آزمایشی
آورده شده است. اختلاف قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و
خاکستر بین تیمارهای مختلف معنی‌داری نبود. قابلیت هضم پروتئین
در تیمار اوره پوشش دار و اپتی ژن اختلاف معنی‌داری نداشت اما بین

جدول ۵- قابلیت هضم مواد مغذی در تیمارهای آزمایشی (درصد ماده خشک)^۱Table 5 - The nutrients digestibility in different experimental treatments (% DM)¹

متغیر Item	تیمار Treatment				SEM	P-value
	شاهد Control	اوره Urea	اپتی ژن Optigen	اوره پوشش دار Coated urea		
ماده خشک DM	70.32	70.40	70.31	70.35	0.03	NS ²
ماده آلی OM	69.95	69.75	70.11	70.38	5.03	NS
پروتئین CP	72.69 ^a	71.70 ^a	77.12 ^b	74.08 ^b	0.96	<0.0001
ماده نامحلول در شوینده خنثی NDF	60.82 ^b	58.83 ^a	63.16 ^c	63.75 ^c	0.61	<0.0001
ماده نامحلول در شوینده اسیدی ADF	54.15 ^c	46.84 ^a	51.03 ^b	51.23 ^b	1.14	<0.0001

^۱ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<0.05$).^۱ Means within same row with different superscripts differ ($P<0.05$).^۲ NS: not significant

اختلاف بین سایر تیمارها معنی‌دار نشد ($P>0.05$). تولید شیر در تیمار اپتی‌ژن بیشتر از سایر تیمارها و سپس اوره پوشش دار و شاهد بالاترین تولید شیر را داشتند. ترکیبات شیر نیز تحت تاثیر جیره قرار نگرفت. اگرچه درصد چربی تیمار اپتی‌ژن و اوره پوشش دار کمتر از دو تیمار دیگر بود و پروتئین تیمار اپتی‌ژن از سایر تیمارها کمتر بود اما این اختلافات معنی‌دار نبود ($P>0.05$). زین و همکاران (۴۱) نیز هیچ اثری از تغییر چربی شیر، پروتئین در اثر منابع اوره کند آزادشونده مشاهده نکردند که با نتایج آزمایش ما همخوانی دارد ($P>0.05$). ون هورن و همکاران (۳۸) در آزمایشی بر روی گاوهای شیری هلشتاین مشاهده کردند وقتی مصرف روزانه اوره بطور میانگین ۱۳۶ گرم بود تولید شیر ۱/۷٪ کاهش می‌یابد. بنظر می‌رسد در این بخش وجود اختلاف بالا بین تولید شیر تیمارهای مختلف را بتوان با تفاوت در میزان مصرف ماده خشک خوراک مرتبط دانست.

در آزمایشی که توسط زین و همکاران انجام شد (۴۱) تیمار PCU و FGU قابلیت هضم DM، NDF، OM و ADF بطور معنی‌داری مشابه بود که با نتایج آزمایش فوق مطابقت دارد، اما بطور معنی‌داری کمتر از تیمار سویا بود ($P<0.05$). کامرون و همکاران (۳) در آزمایشی دریافتند مصرف خوراک، هضم شکمبه‌ای خوراک و عبور DM، NDF، OM و ADF از شکمبه به دوازدهه تحت تاثیر افزودن اوره به جیره‌ها قرار نگرفت. اما قابلیت هضم کل ماده‌خشک با مصرف اوره افزایش یافت ($P<0.04$). به هر حال تاثیر اوره و منابع NPN روی قابلیت هضم بستگی به غلظت آن و ساختار فیزیکی شیمیایی و همچنین طی شدن دوره عادت‌پذیری دارد. افزایش قابلیت هضم در تیمارهای اوره پوشش‌دار و اپتی‌ژن احتمالاً بدلیل تامین مواد مغذی کافی برای میکروارگانیسم‌های شکمبه باشد.

در جدول ۶ نتایج مربوط به تولید شیر آورده شده است. با توجه به وجود اختلاف اولیه بین تولید شیر بزه‌ها، کوواریانس تولید شیر نسبت به تولید شیر اولیه (پیش از مصرف تیمارها) تصحیح شد. بین تیمار اوره با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت، اما این

جدول ۶- اثر تیمارهای آزمایشی بر تولید و ترکیب شیر^۱

Table 6- The effect of experimental treatments on goat milk production and composition¹

متغیر Item	تیمار Treatment				SEM	P-value
	کنترل Control	اوره Urea	اپتی ژن Optigen	اوره پوشش‌دار Coated urea		
تولید شیر Milk production (g/ day)	2100.89 ^a	1857.13 ^b	2335.40 ^a	2317.80 ^a	17.28	0.0123
چربی Fat (%)	4.20	4.41	3.68	3.66	0.54	NS ²
لاکتوز Lactose (%)	4.71	4.63	4.45	4.61	0.36	NS
پروتئین Protein (%)	3.14	3.09	2.96	3.07	0.24	NS

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

^۲ Means within same row with different superscripts differ ($P<0.05$).

² NS: not significant

(۲۴) میزان بازدهی تولید نیتروژن میکروبی به ترتیب برای جیره‌های شاهد بدون مکمل گوگرد و اوره و جیره‌های حاوی مکمل گوگرد و اوره برابر ۱۱/۱ و ۲۰/۲ گرم بود که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. یو و همکاران (۴۲) مشاهده کردند منابع مختلف پروتئین تاثیر متفاوتی بر سنتز پروتئین میکروبی دارد. نتایج آزمایش حاضر با نتایج یافته‌های چردانگ (۹) مطابقت دارد که نشان داد تغذیه اوره ساده

بر اساس جدول شماره ۷ تولید نیتروژن میکروبی در تیمار اوره پوشش دار بیشتر از سایر تیمارها بود. این تفاوت در دیگر شاخص‌های سنتز نیتروژن میکروبی هم مشاهده شد، نتایج نشان می‌دهد تیمارهای دارای NPN سنتز پروتئین میکروبی را افزایش می‌دهد، اگرچه این اختلافات معنی‌دار نبود ($P>0.05$). دفع نیتروژن میکروبی همبستگی مثبتی با نیتروژن میکروبی موجود در شکمبه دارد و نشان دهنده سنتز نیتروژن میکروبی است (۷). مطابق گزارشات کندلیس

نسبت به اوره فراوری شده سبب کاهش سنتز پروتئین میکروبی در گاوهای هلشتاین شد.

همزمانی آزاد سازی نیتروژن و تامین انرژی برای بهبود راندمان سنتز پروتئین میکروبی ضروری است. با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۷ اینگونه استنباط می شود که در تیمار اوره بدلیل آزادسازی

سریع اوره به محض ورود به محیط شکمبه، سنتز پروتئین میکروبی از سای تیمارها کمتر است، همچنین با توجه به نرخ آزادسازی بسیار کند اپتیژن که در آزمایشات *in vitro* مشاهده شد، سنتز پروتئین میکروبی در این تیمار در مقایسه با تیمار شاهد و اوره پوشش دار بهینه نخواهد بود.

جدول ۷- اثر تیمارهای آزمایشی بر سنتز نیتروژن میکروبی^۱

Table 7- The effect of experimental treatments on microbial nitrogen synthesis¹

متغیر Item	تیمار Treatment				SEM	P-value
	شاهد Control	اوره Urea	اپتیژن Optigen	اوره پوشش دار Coated urea		
(گرم/روز) تولید نیتروژن میکروبی Microbial nitrogen synthesis (g/day)	20.95	17.99	18.93	22.49	3.56	NS ²
(میلی مول / روز) پورین میکروبی جذب شده PD absorbtion (mmol/day)	28.81	24.74	26.04	30.94	4.90	NS
(میلی مول / روز) پورین میکروبی دفع شده PD excretion (mmol/day)	26.20	22.79	23.88	27.99	4.11	NS
(میلی مول / روز) آلانتوئین دفع شده Allantoin excretion (mmol/day)	22.27	19.37	20.29	23.79	3.50	NS
اسیداوریک دفع شده Uric acid excretion (mmol/day)	3.93	3.42	3.58	4.20	0.62	NS
(میلی مول / روز) ماده آلی قابل هضم تخمیر شده در شکمبه DOMR ¹ (mmol/day)	0.65	0.56	0.59	0.70	0.11	NS

^۱ میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشد ($P < 0.05$).

¹ Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

² NS: not significant

در جدول ۸ نتایج فراسنجه های خونی بزهای تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی آورده شده است. در فراسنجه های مربوط به پروتئین اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد. اثر تیمارها روی متابولیت های کلسترول و اوره معنی دار بود ($P < 0.05$). کلسترول خون بزهای تیمار اوره پوشش دار بطور معنی داری از تیمار اوره بیشتر بود. اوره خون اپتیژن نیز با اختلاف معنی داری کمتر از تیمار اوره بود ($P < 0.05$). تری گلیسرید اپتیژن از سایر تیمارها بیشتر بود اما این اختلاف معنی دار نبود. کاسپر و شینگوت (۵) گزارش دادند مکمل کردن اوره نسبت به کتچاله سویا بدلیل افزایش هیدرولیز آمونیاک در شکمبه موجب افزایش اوره در سرم خون می شود. در آزمایشی که توسط تایلور و همکاران (۳۵) انجام گرفت نتایج نشان داد با افزایش اوره یا اوره کند آزاد شونده در جیره، اوره سرم افزایش می یابد. برخی محققان (۹ و ۳۵) گزارش دادند اوره کند آزاد شونده در مقایسه با اوره معمولی غلظت اوره خون را کاهش می دهد که با نتایج آزمایش فوق همخوانی دارد. هانگیت و همکاران (۲۱) بیان کردند اختلاف

معنی داری بین اوره معمولی و اوره- کلسیم در اوره خون گاوهایی که با این دو تیمار تغذیه شده بودند وجود نداشت. در مقایسه اثر تیمارها بر روی آنزیم های خونی ALT تیمار شاهد و اپتیژن اختلاف معنی داری داشتند ($P < 0.05$). با توجه به اینکه در اکثر پژوهش های مشابه تنها روی فاکتور اوره خون بحث شده است قیاسی برای تحلیل سایر فاکتورهای خونی وجود ندارد. اما در رابطه با اوره در این آزمایش تیمار اپتیژن کمترین مقدار را در خون و تیمار اوره بالاترین اوره خون را داشت. با توجه به اینکه اوره در شکمبه به آمونیاک تبدیل می شود و آمونیاک مازاد از راه دیواره شکمبه جذب شده، به کبد می رود و در آنجا طی چرخه هایی مجدداً به شکمبه بر می گردد یا جذب خون می شود می توان اینطور نتیجه گرفت که بالا بودن اوره خون منعکس کننده افزایش بیش از حد آمونیاک در شکمبه در اثر تیمار اوره است. از طرف دیگر همانطور که در بخش سنتز پروتئین میکروبی اشاره اشد نتایج فراسنجه های خونی در مورد فاکتور اوره خون نیز نشان می دهد آزادسازی اوره اپتیژن نسبت به سایر تیمارها کندتر است و در نتیجه

میزان نیتروژن مورد نیاز شکمبه را تامین نمی‌کند و با توجه به مدت زمانی که هر ماده در شکمبه باقی می‌ماند به احتمال زیاد بخش اعظمی از اپتی ژن بدون اینکه شانس آزاد سازی نیتروژن را بیابد، از شکمبه خارج می‌شود.

جدول ۸- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر روی فراسنجه‌های خونی بزهای مورد آزمایش^۱
Table 8- The effect of treatments on blood metabolites of the experimental goats¹

متغیر Item	تیمار Treatment				SEM	P-value
	شاهد Control	اوره Urea	اپتی ژن Optigen	اوره پوشش دار Coated urea		
(گرم/لیتر) کل پروتئین Total protein (g/L)	87.79	83.07	87.54	85.84	3.72	NS ²
(گرم/لیتر) آلبومین Albumin (g/L)	37.66	36.97	35.49	39.49	2.00	NS
(گرم/لیتر) کلسترول Cholesterol (mg/dL)	50.68 ^{ab}	44.65 ^b	55.95 ^{ab}	57.75 ^a	9.51	0.04
(میلی گرم/دسی لیتر) تری گلیسرید TG (mg/dL)	29.37	31.32	32.30	25.62	4.71	NS
(میلی گرم/دسی لیتر) اوره Urea (mg/dL)	29.23 ^{ab}	29.47 ^a	25.60 ^b	27.40 ^{ab}	1.87	0.02
(واحد بین المللی/ لیتر) آلانین ترانسفراز ALT (U/L)	21.15 ^b	24.55 ^{ab}	22.59 ^a	23.48 ^{ab}	0.93	0.03
(واحد بین المللی/ لیتر) آسپاراتات ترانسفراز AST (U/L)	92.68	96.76	95.39	104.92	6.74	NS

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

^۲ Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

^۲ NS: not significant

استفاده از اوره پوشش‌دار تاثیر منفی بر مصرف خوراک، قابلیت هضم مواد مغذی نداشت ولی غلظت پروتئین خون و سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه را افزایش داد. استفاده از اوره پوشش‌دار نسبت به اوره معمولی احتمالا سبب کاهش اتلاف نیتروژن و افزایش بازده سنتز پروتئین میکروبی و افزایش تولید شیر می‌گردد. با توجه به اینکه نتیجه نهایی و مورد نظر در این آزمایش تولید و حفظ سلامت دام بود می‌توان گفت استفاده از منابع NPN جایگزین پروتئین تاثیر منفی بر تولید شیر و سلامت دام ندارد و به سهولت می‌توان از این منابع در راستای کاهش قیمت جیره و قیمت تمام شده شیر استفاده کرد.

نتیجه گیری

در انتخاب منابع حاوی ازت و مشخصا اوره سرعت تجزیه را بعنوان یکی از شاخص‌های تعیین کننده باید مد نظر قرار داد. بر اساس نتایج این آزمایش ترکیب اپتی‌ژن وارداتی بطور میانگین آزادسازی کندتری در تمام سامانه‌های مایع مشابه شکمبه نشان داد که می‌توان نتیجه گرفت با توجه به زمانی که هر ماده خوراکی در دستگاه گوارش باقی می‌ماند بخش زیادی از اپتی‌ژن بدون اینکه مورد استفاده قرار بگیرد دفع می‌شود. نرخ رهاسازی نیتروژن در اوره پوشش‌دار تهیه شده در این آزمایش نسبت به اپتی‌ژن بهینه تر بود.

منابع

- 1- Bartley, E. E., and C. W. Deyoe. 1975. Starea as a protein replacer for ruminants. A review of 10 years of research. Journal of Feedstuffs, 47: 42-51.
- 2- Blummel M., H. P. S Makkar, and K. Becker. 1997. *In vitro* gas production: a technique revisited. Journal of Animal Nutrition, 77: 24-34.

- 3- Cameron, M. R., T. H. Klusmeyer, G. L. Lynch, J. H. Clark, and D. R. Nelson. 1991. Effects of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows. *Journal of Dairy Science*, 74: 1321.
- 4- Caneque, V., S. Velasco., and J. L., Sancha. 1998. Nutritional value and use of ligno-cellulosic feed treated with urea in the ruminant diet. *Options Mediterraneennes*. 17–31.
- 5- Casper, D. P., and D. J. Schingoethe. 1986. Evaluation of urea and dried whey in diets of cows during early lactation. *Journal of Dairy Science*, 69: 13-46.
- 6- Chahil, S. M., Lohan, O. P. and Rathee, C. S. 1986. *In vitro* evaluation of urea-lignocellulose complex. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 56: 280–282.
- 7- Chanjula. P., M. Wanapat, C. Wachirapakorn, and P. Rowlinson. 2004. Effect of synchronizing starch sources and protein (NPN) in the rumen on feed intake, rumen microbial fermentation, nutrient utilization and performance of lactating dairy cows. *Asian- Australia Journal of Animal Science*, 17: 1400–1410.
- 8- Chen, X. B., Y. K. Chen, M. F. Franklin, E. R. Orskov, and W. J. Shand. 1992. The effect of feed intake and body weight on purine derivative excretion and microbial protein supply in sheep. *Journal of Animal Science*, 70: 1534-1542.
- 9- Cherdthong, A., and M. Wanapat. 2010. Development of urea products as rumen slow-release feed on ruminant production: a review. *Australia Journal Basic Applly Science*, 4: 2232–2241.
- 10- Dijkstra, J. 2011. Effects of nutritional strategies on simulated nitrogen excretion and methane emission in dairy cattle Modelling nutrient digestion and utilisation in farm animals. In: Faverdin and N. Friggens Wageningen Academic Publishers. 394-402.
- 11- Forero, O., F.N. Owens, K.S. Lusby. 1980. Evaluation of slow-release urea for winter supplementation of lactating range cows. *Journal of Animal Science*, 50: 532-538.
- 12- Forman, L., J. Tuma, and M. Dedek. 1982. A feeding stuff constituent made of whey and containing lactosylurea. XXI International Dairy Congress. Mir Publishers Moscow. USSR. 638–639.
- 13- Galo, E., S. M. Emanuele, C.J. Sniffen, J.H. White, and J. R. Knapp. 2003. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 86: 2154–2162.
- 14- Getachew, G., M. Blümmel, H. P. S. Makkar, and K. Becker. 1998. In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Journal of Animal feed Science Technology*, 72: 261-281.
- 15- Golombeski, G. L., K. F. Kalscheur, A. R. Hippen., and D. J. Schingoethe. 2006. Slow-release urea and highly fermentable sugars in diets fed to lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89: 4395-4403.
- 16- Griswold, K. E., G. A. Apgar, J. Bouton, and J. L. Firkins. 2003. Effects of urea infusion and ruminal degradable protein concentration on microbial growth, digestibility and fermentation in continuous culture. *Journal of Animal Science*, 81: 329-336.
- 17- Harrison, G. A., and T. p. Karnezos. 2005. Can we improve the efficiency of nitrogen utilization in the lactating dairy cows? Recent Advances in Animal Nutrition in Australia. School of Rural and Agriculture, University of New England, 15: 146-154.
- 18- Highstreet, A., P. H. Robinson, J. Robison, and J. G. Garrett. 2010. Response of Holstein cows to replacing urea with with a slowly rumen released urea in a diet high in soluble crude protein. *Livestock Science*, 129: 179-185.

- 19- Hristov, A. N., M. Ivan, and T. A. McAllister. 2000. In vitro effects of common fatty acids on fermentation and protozoal numbers and activity in rumen fluid from cattle fed a barley-based diet. *Journal of Animal Science*, 78: 27-35.
- 20- Huber, J. T. 1976. Use of non-protein nitrogen by lactating cows. *Journal of Feedstuffs*, 48: 6-13.
- 21- Hungate, R. E. 1950. The anaerobic mesophilic cellulolytic bacteria. *Bacteriol Revolution*, 14: 1-49.
- 22- Huntington, G. B., D. L. Harmon, N. B. Kristensen, K. C. Hanson, J. W. Spears. 2006. Effects of a slow-release urea source on absorption of ammonia and endogenous production of urea by cattle. *Animal Feed Science Technology*, 130: 225-241.
- 23- Huston, J. E., M. Shelton, and L. H. Breuer. 1974. Effect of rate of release of urea on its utilization by sheep. *Journal of Animal Science*, 39: 618-628.
- 24- Kandyliis, K., and A. C. Bray. 1986. Effects of variation of dietary sulfur on movement of sulfur. *Journal of Dairy Science*, 70: 40-49.
- 25- Karabulut, A., O. Canbolat, H. Kalkan, F. Gurbuzol, E. Sucu, I. Filya. 2007. Comparison of *in vitro* gas production, metabolizable energy, organic matter digestibility and microbial protein production of some legume hays. *Asian-Australia Journal Animal Science*, 20: 517-522.
- 26- Lorenzo, N., and A. Costanzo. 2007. *In vitro* release of ammonia nitrogen from various nitrogen sources in batch culture. Technical Research Report.
- 27- Malik, N. S., P. N. Langar, and A. K. Chopra. 1978. Uromol as a source of dietary nitrogen for ruminants: metabolic and rumen fermentation studies on buffalo calves. *Journal of Agricultur Science*, 91: 309-316.
- 28- Mathison, G. W., S. R. Soofi. and M. Worsley. 1994. The potential of isobutyraldehyde monourea (propanal, 2-methyl- monourea) as a nonprotein nitrogen source for ruminant animals. *Journal of Animal Science*, 74: 665-674.
- 29- Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*, 28: 7-55.
- 30- Ørskov, E. R., and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultur Science*, 92: 499-503.
- 31- Pinos-Rodríguez, J. M., L. Y. Peña, S. S. González-Muñoz, R. Bárcena, and A. Salem. 2010. Effects of a slow-release coated urea product on growth performance and ruminal fermentation in beef steers. *Italian Journal of Animal Science*, 9: 16-19.
- 32- Prokop, M. J., and T. J. Klopfenstein. 1977. Slow ammonia release urea. *Nebraska Beef Cattle Report Nebraska*. 77-218.
- 33- Shahidi, F., and X. Q. Han. 1993. Encapsulation of food ingredients. *Critical Review in Food Science and Nutrition*.
- 34- Sommer, A., J. Szakacs, and L. Chrastinova. 1985. Effect of treated urea on the digestion of nutrients and the dynamics of releasing ammonia in the rumen of fattening cattle. *Journal of Agricultur Science*, 31: 718-726.
- 35- Taylor-Edwards, C. C. 2009. Influence of slow-release urea on nitrogen balance and portal-drained visceral nutrient flux in beef steers. *Journal of Animal Science*, 87: 209-221.
- 36- Tedeschi, L. O., A. Cannas, and D. G. Fox. 2010. A nutrition mathematical model to account for dietary supply and requirements of energy and nutrients for domesticated small ruminants: The development and evaluation of the Small Ruminant Nutrition System. *Small Ruminant Research*, 89: 174-184.

- 37- Valkeners, D., A. Thewis, S. Amant, and Y. Beckers. 2006. Effect of various levels of imbalance between energy and nitrogen release in the rumen on microbial protein synthesis and nitrogen metabolism in growing double-muscled Belgian Blue bulls fed a corn silage-based diet. *Journal of Animal Science*, 84: 877-885.
- 38- Van Horn, H. H., C. F. Foreman, and J. E. Rodriguez. 1967. Effect of high-urea supplementation on feed intake and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy science*, 50: 70-89.
- 39- Virk, A. S., H. Steingass, and K. H. Menke. 1989. Studies on in vitro degradation and in vivo digestion of a slow ammonia releasing urea product. *Journal of Animal Nutrition*, 39: 167-176.
- 40- Waite, R., and A. G. Wilson. 1968. Biuret and urea in concentrates for milking cows. *Journal of Dairy Research*, 35: 203-212.
- 41- Xin, H. S., D. M. Schaefer, Q. P. Liu, D. E. Axe, and Q. X. Meng. 2010. Effects of polyurethane coated urea supplement on in vitro ruminal fermentation, ammonia release dairy cows fed a steam-flaked corn-based diet. *Asian-Australia Journal Animal Science*, 23: 491-500.
- 42- Yu, P., L. Boon-ek, B. J. Leury, and A. R. Egan. 2001. Effect of dietary protein variation in terms of net truly digested intestinal protein (DVE) and rumen degraded protein balance (OEB) on the concentrations and excretion of urinary creatinine, purine derivatives, and microbial N supply in sheep: Comparison with the prediction from the DVE/OEB model. *Animal Feed Science Technology*, 93: 71-91.



Determination of coated urea releasing in ruminant's rumen through *in vivo* and *in vitro* studies

M. Mazinani¹- A. A. Naserian^{2*}- M. Danesh Mesgaran²- R. Valizadeh²

Received: 03-03-2017

Accepted: 10-06-2018

Introduction Urea is a small organic compound that is very rich in N (44.96% N) and is used to supply degradable intake protein (DIP) for ruminants. Urea is broken down to ammonia in the rumen under the action of urease bacteria. Using urea over other sources of DIP is cheaper according to per N basis than any other feedstuffs. However, urea is used rather inefficiently by ruminants compared with other sources that contain true protein, and this is due to the fact that the rate of urea degradation in the rumen is more rapid than the rate of utilization of the resulting ammonia by rumen bacteria. One strategy for improving the utilization of urea by ruminants is reducing the degradation rate of urea. A number of slow release urea products were developed for this purpose. Coated urea is a urea product design to reduce the rate of ruminal degradation of urea. The objective of this research was to investigate the effects of coated urea on N metabolism and determine this Effect in ruminant feed.

Materials and Methods to characterize the ruminal behavior of coated urea three experimental studies were designed. Two *in vitro* studies were designed to determine NH₃-N release and gas production difference in treatments. NH₃-N release of each Optigen and coated urea was tested in six liquid phase included: distilled water, TCA (Ph = 6.2), buffer solution, buffered rumen fluid, Free cell rumen fluid (centrifugation at 7000 rpm), Free cell buffered rumen fluid. Each of the two N-sources was isonitrogenous (equivalent 20mg urea) and added to a 100-ml glass syringe. Then 30 ml of solution (consisting distilled water, TCA, buffer solution, buffered rumen fluid, free cell rumen fluid or free cell buffered rumen fluid) was pipetted into each syringe followed by incubated in a water bath at 39°C. Three syringes for each treatment diet were incubated for 0, 30 min and 2, 4 and 6 h time points. The syringes were taken out and Residual solid parts were taken for determination of NH₃-N release using the Kjeldahl N methods (AOAC, 2005). The gas production of each N-Sources (four N-Sources in triplicate) was tested in 4 different feed mixtures (straw + 3% N-Sources, barley flour + 3% N-Sources, barley flour + molasses as additives + 3% N-Sources, a dairy ration formulated to + 3% N-Sources). The *in vivo* experiment was conducted using sixteen dairy Sannen goats with an average body weight of 38.85 kg, 73 days of lactation and 1979g milk production. The experimental design was a completely randomized design. The experiment consisted of 21-day periods each consisting of 14 days adaptation and 7 days of sampling. The experimental rations were: 1) control (canola), 2) urea (urea % 0.5), 3) Optigen (Optigen %0.55), 4) coated urea (% 0.7 coated urea).

Results and Discussion Based on these results, urea is often degraded rapidly in the rumen by the action of urease and the resulting ammonia supply may exceed the capacity of rumen bacteria to assimilate it into amino acids. This rapid release of ammonia may result in inefficient N utilization in the rumen. Therefore, coated urea improves ammonia assimilation in the rumen. The cumulative gas production (96 hours) influenced by diet and N-source treatments, which was higher in formulated TMR diets for the dairy cow and least gas production in wheat straw. The result indicated that Optigen (90.82) and then coated urea (90.81) were the highest gas producer in the formulated TMR diets for the dairy cow and the canola meal (69.04) and urea (69.43) had the least gas production in wheat straw ($P < 0.05$). The results showed that treatments had no significant effect on milk compositions, rumen fermentation and synthesis of microbial protein ($P > 0.05$). The impact on the most blood metabolites except BUN, Cholesterol and ALT were also no significant ($P > 0.05$). As a result, no significant differences observed between coated urea with control (canola) treatments.

Conclusion it was concluded that little difference was observed in gas production results between coated urea and Optigen treatments with control (canola). Therefore, to reducing feed costs and increasing the efficiency of the rumen microorganism, we can use NPN sources as a replacement for part of dietary protein.

Keywords: Coated urea, Non-protein nitrogen, Optigen, urea.

1 -Ph D student of animal nutrition, Ferdowsi university of Mashhad, Mashhad, Iran,

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

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



تأثیر سطوح مختلف پودر فلفل قرمز جایگزین آنتی بیوتیک فلاو فسفولیپول بر عملکرد، جمعیت

میکروبی و ریخت‌شناسی روده جوجه‌های گوشتی

سیده فریا احمدی نژاد^۱ - محسن افشار منش^{۲*} - محمد سالار معینی^۲ - هادی ابراهیم نژاد^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۱۰

چکیده

به منظور بررسی تأثیر استفاده از پودر فلفل قرمز در مقایسه با آنتی بیوتیک فلاو فسفولیپول بر شاخص‌های عملکرد، جمعیت میکروبی و ریخت‌شناسی روده جوجه‌های گوشتی، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار و ۱۰ جوجه یک روزه (نر سویه راس ۳۰۸) در هر تکرار به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایشی در دو دوره ۲۱-۰ و ۴۲-۲۲ روزگی و تنظیم شد و شامل، ۱) جیره شاهد بدون افزودنی (پایه)، ۲) جیره حاوی ۰/۰۴ درصد فلاو فسفولیپول، ۳ و ۴) به ترتیب حاوی جیره‌هایی ۰/۱ و ۰/۳ درصد پودر فلفل قرمز بودند. شاخص‌های مورد اندازه‌گیری شامل عملکرد، جمعیت میکروبی و ریخت‌شناسی روده بودند. نتایج نشان داد که افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک و ضریب تبدیل تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P < 0.05$). جمعیت لاکتوباسیل‌های روده (ایلئوم فوقانی) در تیمارهای پودر فلفل قرمز (۰/۱ و ۰/۳ درصد) در مقایسه با تیمار آنتی بیوتیک و شاهد افزایش پیدا کرد ($P < 0.05$). تعداد کلی فرم‌ها نیز در تیمار حاوی ۰/۱ درصد پودر فلفل قرمز نسبت به تیمار شاهد کاهش پیدا کرد ($P < 0.05$). تغذیه با پودر فلفل قرمز باعث افزایش طول پرز (ایلئوم فوقانی) در مقایسه با گروه شاهد گردید، عرض پرز در جوجه‌های تغذیه شده با ۰/۱ درصد فلفل قرمز در مقایسه با گروه شاهد و آنتی بیوتیک افزایش یافت ($P < 0.05$). به طور کلی پودر فلفل قرمز باعث کاهش باکتری‌های کلی‌فرم و افزایش جمعیت لاکتوباسیل‌ها شد و روی عملکرد تأثیر معنی داری نداشت. لذا استفاده از آن به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک فلاو فسفولیپول توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنتی بیوتیک، جمعیت میکروبی، فلفل قرمز، ریخت‌شناسی روده.

مقدمه

با افزایش جمعیت جهان و کمبود مواد خوراکی نیاز به افزایش سرعت رشد در طیور پرورشی آشکار می‌گردد. در سال‌های اخیر، پیشرفت‌هایی که در زمینه ژنتیک، مواد غذایی، پرورش و بازاریابی در صنعت طیور حاصل شده، موجب به کارگیری روش‌ها و دستگاه‌های مدرن برای دستیابی به بالاترین تولید با کمترین هزینه در این صنعت شده است. لیکن استفاده از روش‌های مدرن در زمینه‌های پرورش در تنظیم جیره‌های غذایی باعث ایجاد تنش و افزایش بیماری‌ها در طیور گردیده است. لذا امروزه برای دستیابی به تولید بالا با کمترین هزینه از افزودنی‌های خوراکی در صنعت طیور استفاده می‌شود (۱۰). استفاده

از محرک‌های رشد آنتی بیوتیکی برای افزایش بازده دام‌ها به مدت بیش از ۵۰ سال اجرا شده است. افزایش شیوع بیماری‌های باکتریایی در دهه اخیر و افزایش مقاومت باکتریایی در برابر مصرف آنتی بیوتیک‌های مرسوم، نیاز به استفاده از روشی که مکمل و یا حتی جایگزین آنتی بیوتیک‌ها باشند را ضروری‌تر می‌نماید. حدود ۲۰ سال قبل استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در تغذیه طیور ممنوع شده است (۴۸). محرک‌های رشد و افزودنی‌های خوراکی، مجموعه‌هایی از ترکیبات شیمیایی، بیولوژیکی یا طبیعی هستند که به خوراک اضافه شده و با فرض بهبود رشد و بهبود کارایی خوراک و به دست آوردن بالاترین و اقتصادی‌ترین تولید استفاده می‌گردند (۳۹). از مهم‌ترین افزودنی‌هایی که به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک‌ها معرفی شده‌اند، می‌توان به پری بیوتیک‌ها، اسیدهای آلی، آنزیم‌ها، گیاه دارویی فلفل قرمز و عصاره آن اشاره کرد تأثیرات مفید این مواد روی سلامتی و پاسخ ایمنی طیور در تحقیقات زیادی ثابت شده است (۴۳ و ۴۸). گیاهان دارویی، گیاهانی هستند که در برگ و میوه آن‌ها مواد خاصی به نام مواد موثره یا مواد فعال ساخته و ذخیره می‌شوند، که این مواد تأثیر فیزیولوژیکی بر بدن پرندگان بر جای می‌گذارند.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه تغذیه دام دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

۳- استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

(*) - نویسنده مسئول:

(mafshar@uk.ac.ir)

DOI:10.22067/ijasr.v11i2.63838

خوراک جوجه‌های تغذیه شده با سطح ۱ درصد پودر فلفل قرمز در دوره‌های آغازین و رشد تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی واقع نشد (۲۷). استفاده از پودر فلفل قرمز ۰/۱ درصد بر ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی تاثیری نداشت (۱۴). در آزمایشی که روی اثر عصاره فلفل قرمز بر عملکرد جوجه‌های گوشتی انجام گرفت مشخص شد که افزایش عصاره فلفل قرمز سبب خوش خوراک و افزایش وزن بدن می‌شود (۴۸). تغذیه جوجه‌ها با جیره حاوی عصاره‌های گیاهان شامل ۳۰۰ ppm کارواکرول، تیمول، کاپسایسین و سینمالدید در سن ۱۷ روزگی اضافه وزن روزانه را ۱/۸ درصد بهبود بخشید (۲۰). همچنین استفاده از سه ترکیب پونه کوهی، دارچین و فلفل قرمز (مخلوط) موجب افزایش عملکرد تولید در مقایسه با گروه شاهد، باعث کاهش تلفات، افزایش وزن و تأثیر مثبتی بر کیفیت لاشه و افزایش مقاومت در مقابل بیماری نیوکاسل را داشته است (۲۶). در این تحقیق تاثیر پودر فلفل قرمز بر عملکرد، جمعیت میکروبی و ریخت‌شناسی روده جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در بهمن ماه ۹۴ در سالن تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان به اجرا درآمد. در این تحقیق تعداد ۱۶۰ قطعه جوجه گوشتی نر (سویه راس ۳۰۸) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار، از سن ۱ تا ۴۲ روزگی مورد آزمایش قرار گرفتند. در هر واحد آزمایشی (به ابعاد ۱۲۰×۱۰۰ سانتی-متر و ارتفاع ۱۲۰ سانتی-متر) ۱۰ قطعه جوجه در شرایط محیطی یکسان روی بستر به صورت آزاد پرورش داده شدند. جیره آزمایشی (تیمارها) شامل موارد زیر بودند. (۱) جیره شاهد بدون افزودنی (پایه)، (۲) جیره حاوی ۰/۴ درصد فلاووفسفوئیل، (۳) جیره حاوی ۰/۱ درصد پودر فلفل قرمز، (۴) جیره حاوی ۰/۳ درصد پودر فلفل قرمز بودند. جیره‌های آزمایشی در دو دوره آغازین (۲۱-۰) و رشد (۴۲-۲۲) تنظیم شدند و سطح مواد مغذی جیره‌ها بر اساس توصیه سویه راس ۳۰۸ تنظیم شد (جدول ۱). در طول دوره آزمایش جوجه‌ها به صورت آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند. نوردهی سالن به صورت ۲۴ ساعته انجام گردید. گیاه فلفل قرمز به صورت تازه خریداری و در سایه و دور از نور خورشید خشک و سپس پودر شد. وزن بدن و مصرف خوراک به صورت هفتگی و تلفات به طور روزانه ثبت و برای محاسبه شاخص‌های عملکردی، اضافه وزن بدن، مصرف خوراک، ضریب تبدیل استفاده شدند. برای مطالعه ساختار پرزهای بافت ایلئوم فوقانی، یک پرنده از هر تکرار نمونه‌هایی از بافت هدف (به طول ۴ سانتی-متر از ایلئوم فوقانی) تهیه و بعد از تخلیه محتویات و شستشو در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری گردید، و بعد از ۲۴ ساعت، برای تهیه اسلایدهای بافتی با ضخامت کم از روش واکس پارافین استفاده شد. این روش

گیاهان دارویی به دلیل وجود ترکیبات زیست فعال ثانویه، بر تولید و بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی و در نهایت بر رشد پرنده و قابلیت هضم خوراک تأثیر می‌گذارند (۴۵). ترکیبات زیست فعالی دارای خاصیت درمانی گیاهان دارویی، بیشتر شامل اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی بوده که توسط مصرف کننده، به عنوان ترکیبات طبیعی و بی خطر شناخته می‌شوند (۳۸). در طی سال‌ها گیاهان دارویی جایگاه ویژه‌ای در درمان، حیوانات و پرندگان پیدا کرده‌اند (۳۹). به علاوه اینکه مصرف عصاره گیاه فلفل قرمز به عنوان آنتی میکروب‌های طبیعی به طور گسترده افزایش یافته است. این عصاره‌ها در کنترل برخی میکروارگانیسم‌های مضر از قبیل کلستریدیوم پرفرنزنس (عامل نکروتیک آنترائیتیس) در جوجه‌های گوشتی مؤثر هستند (۴۳). فلفل قرمز گیاهی یک ساله با نام علمی *Capsaicin* از خانواده *Solanaceae* است. میزان تولید سالیانه فلفل قرمز در کشور سالانه به حدود ۱۰۰۰ تن می‌رسد. مواد مؤثره این گیاه شامل: کاپسایسین و کاپسایتین است. برخی از ترکیبات ضد میکروبی استخراج شده این گیاه شامل: ترپنر، بتاپینن، آلفاپینن، لینالول و ترپینئول می‌باشند (۲۳). گزارش شده که استفاده از سه ترکیب پونه کوهی، دارچین و فلفل قرمز به میزان ۰/۱ درصد موجب افزایش وزن بدن در مقایسه با گروه شاهد گردید، همچنین سبب کاهش تلفات، افزایش وزن و تأثیر مثبتی بر کیفیت لاشه و افزایش مقاومت در مقابل بیماری نیوکاسل را داشته است (۶). در آزمایش دیگری افزودن دو مخلوط تجاری گیاهان دارویی (شامل: پونه کوهی، دارچین و فلفل و دیگری شامل: مریم گلی، آویشن و رزماری) به میزان ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم، به جیره جوجه‌های گوشتی، ضریب تبدیل غذایی را در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار حاوی آنتی بیوتیک (آویلامایسین) بهبود بخشید (۲۲). در آزمایشی که روی مکانیسم اثر کاپسایسین، در کاهش وزن بدن موش‌ها انجام شد نشان داده شد که فعالیت گلیسرول ۳- فسفات دی هیدروژناز (GPHD^۲) و ملات دی هیدروژناز (MDH^۳) به طور معنی‌داری به وسیله کاپسایسین کاهش می‌یابد و منجر به کاهش فعالیت گلیکولیتیک و کاهش کلی سنتز چربی و در نتیجه کاهش وزن بدن می‌شود (۳۱). در تحقیق دیگری که با سطوح ۱/۵ و ۳ درصد فلفل قرمز همراه با چربی بالا در جوجه‌های گوشتی انجام گرفت مشخص شد افزایش وزن دوره پایانی (۴۲-۲۱ روزگی) در جوجه‌های تغذیه شده با ۱/۵ درصد فلفل قرمز به صورت معنی‌داری پایین‌تر از گروه شاهد و سه درصد فلفل قرمز بود که دلایل مختلفی از جمله کاهش مصرف خوراک ناشی از افزایش فعالیت سیستم عصبی سمپاتیک و همچنین تأثیر سیستم سمپاتیک بر فعالیت سوخت و ساز چربی بر این پدیده بیان شده است (۸). ضریب تبدیل

شامل آبیگری بافت، شفاف سازی و آغشتگی آن با پارافین مذاب جهت برش گیری را کسب می کند (۱۱).
است که به سرعت با سرد شدن پارافین، جامد شده و سختی مناسب

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره پایه مورد استفاده در دو دوره آغازین و رشد درجوجه های گوشتی

Table 1- Ingredients and chemical composition of the basal diet used in two periods in broiler chicks

اجزای جیره (درصد) Ingredients (%)	جیره آغازین (۰-۲۱ روزگی) Starter diet (0-21 d)	جیره رشد (۲۲-۴۲ روزگی) Grower diet (22-42 d)
ذرت Corn	57.85	64.07
کنجاله سویا Soya bean meal	33.87	28.43
روغن سویا Soya oil	3.80	3.34
کربنات کلسیم Carbonate calcium	1.05	1.25
دی کلسیم فسفات Di calcium phosphate	2.35	1.90
نمک طعام Salt	0.40	0.40
DL- متیونین DL- methionine	0.18	0.11
مکمل ویتامینی ^۱ Vitamin Premix ¹	0.25	0.25
مکمل معدنی ^۲ mineral Premix ²	0.25	0.25
ترکیب شیمیایی (درصد) Chemical composition (%)		
انرژی قابل سوخت و ساز (کیلو کالری در کیلو گرم) Metabolisable energy (Kcal/kg)	3025	3150
پروتئین خام (درصد) Crude protein	22.50	18.00
لیزین (درصد) Lysine	1.27	0.98
متیونین + سیستین (درصد) Methionine + cysteine	0.92	0.80
کلسیم (درصد) Calcium	0.95	0.82
فسفر (درصد) phosphorus	0.45	0.36

^۱ هر کیلوگرم جیره حاوی ۴۴۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۷۲۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D، ۱۴۴۰۰ میلی گرم ویتامین E، ۲۰۰۰ میلی گرم ویتامین K، ۶۴۰ میلی گرم کوپالامین، ۶۱۲ میلی گرم تیامین، ۳۰۰۰ میلی گرم ریبوفلاوین، ۴۸۹۶ میلی گرم پانتوتینیک اسید، ۱۲۱۶۰ میلی گرم نیاسین، ۶۱۲ میلی گرم پیریدوکسین، ۲۰۰۰ میلی گرم بیوتین و ۲۶۰ میلی گرم کولین کلراید، ۶۴۰ گرم منگنز، ۸/۳۳ گرم روی، ۱۰۰ گرم آهن، ۸ گرم مس، ۶۴۰ میلی گرم ید، ۱۹۰ میلی گرم کبالت و ۸ گرم سلنیوم بود.

^۲ هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی ۶۴/۵ گرم منگنز، ۳۳/۸ گرم روی، ۱۰۰ گرم آهن، ۸ گرم مس، ۶۴۰ میلی گرم ید، ۱۹۰ میلی گرم کبالت و ۸ گرم سلنیوم بود.

¹ Supplied per kg diet: Vitamin A, 4400000 IU; vitamin D3, 72000 IU; vitamin E, 14400 mg; vitamin K, 2000 mg; cobalamin, 640 mg; vitamin B1 (thiamine), 612 mg; vitamin B2 (riboflavin), 3000 mg; pantothenic acid, 4896 mg; niacin, 12160 mg; vitamin B6 (pyridoxine), 612 mg; biotin, 2000 mg; choline chloride, 260 mg; Mn, 64.5 g; Zn, 33.8 g; Fe, 100 g; Cu, 8 g; I, 640 mg; Co, 190 mg; Se, 8 g.

8 g copper, 640 mg iodine, 190mg ²Per kg mineral supplement containing 64.5g manganese, 33.8 g zinc, 100 g iron, cobalt and was 8 g selenium.

گردید (۲۸). همچنین در تحقیقی دیگر نشان داده شده که افزودن آنتی-بیوتیک به جیره جوجه‌های گوشتی موجب بهبود افزایش وزن در مقایسه با گروه شاهد شد که آن‌ها علت افزایش وزن بیشتر را بهبود در قابلیت هضم پروتئین، چربی و فیبر خام و انرژی قابل سوخت و ساز با افزودن آنتی-بیوتیک به جیره گزارش کردند (۱۴) و (۴۶).

افزودن کاپسایسین ۰/۲ درصد تاثیری بر مصرف خوراک ایجاد نمی‌کند (۱۳). همچنین گزارش شده که هیچ تفاوتی در مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با عصاره پونه، سینامون و فلفل با پنج گرم از گیاهان خانواده نعنائیان یافت نشد (۲۰). گیاهان دارویی به‌عنوان بخشی از مواد فعال، خیلی بدبو و یا ممکن است طعم تند و زننده‌ای داشته باشند و در جیره ممکن است سبب امتناع حیوان از خوردن و کاهش مصرف خوراک شود (۱۲، ۲۳ و ۳۰).

در جوجه‌های گوشتی تاثیر ۵ و ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم کپسایسین بررسی شد مشخص شد کپسایسین بر ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی تاثیری ندارد (۴۲). افزودن دو مخلوط گیاهان دارویی (شامل: پونه کوهی، دارچین و فلفل و دیگری شامل: مریم گلی، آویشن و رزماری) به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، به جیره جوجه‌های گوشتی نر سویه راس، ضریب تبدیل غذایی را در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار حاوی آنتی‌بیوتیک (آویلامایسین) بهبود بخشید (۴).

افزودن دو مخلوط تجاری گیاهان دارویی (شامل: پونه کوهی، دارچین و فلفل و دیگری شامل: مریم گلی، آویشن و رزماری) به-میزان ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، به جیره جوجه‌های گوشتی نر سویه راس ۳۰۸، ضریب تبدیل غذایی را در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار حاوی آنتی‌بیوتیک (آویلامایسین) بهبود بخشید (۴).

در زمان استفاده از آنتی‌بیوتیک در جیره بهبود ضریب تبدیل مشاهده شد که این بهبود ضریب تبدیل در زمان استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها این گونه تفسیر شده که آنتی‌بیوتیک‌ها با محدود کردن رشد شماری از باکتری‌ها و تولید سموم و محصولات فرعی آن‌ها در روده، رقابت در مواد مغذی را با میزبان کاهش داده و میزان جذب از مواد غذایی را با کاهش ضخامت لایه اپیتلیوم روده افزایش می‌دهند (۶، ۱۹ و ۳۴). گزارش کردند که تغذیه جوجه‌های گوشتی با آنتی‌بیوتیک موجب بهبود ضریب تبدیل نسبت به گروه شاهد گردید (۲۹).

برای تعیین جمعیت میکروبی روده در سن ۴۲ روزگی یک پرنده (که به میانگین وزن هر پن نزدیک بود) از هر تکرار انتخاب و بلافاصله پس از کشتار پرندگان، نمونه‌های روده (ایلئوم فوقانی) در شرایط آسپتیک در کیسه‌های پلاستیکی استریل جمع‌آوری و در کنار یخ به آزمایشگاه آورده شد. شمارش باکتری‌های مولد اسید لاکتیک و کلی‌فرم‌های توتال نمونه‌های تازه و مرطوب محتویات ایلئوم فوقانی پس از رقت سازی ده-دهی (Fold-10) توسط نرمال سایلین و با استفاده از روش کشت آمیخته ضمن بهره‌گیری از محیط کشت‌های MRS agar و Mac Conkey agar در شرایط هوازی و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انجام گرفت. مدت زمان گرمخانه‌گذاری برای باکتری‌های مولد اسید لاکتیک و کلی‌فرم‌های توتال به ترتیب برابر با ۷۲ و ۲۴ ساعت بود (۱۸). اطلاعات به‌دست آمده از آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS و رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

شاخص‌های عملکرد

نتایج مربوط به تاثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های ۲۱-۰، ۴۲-۲۲ روزگی و ۴۲-۰ روزگی در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان داد که افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. افزودن پودر فلفل قرمز تاثیر قابل توجهی بر وزن بدن جوجه‌های گوشتی نداشت، مصرف بیش از یک درصد عصاره فلفل قرمز تاثیری بر افزایش وزن نداشت که احتمالاً ناشی از افزایش دریافت مواد موثره فلفل قرمز در جوجه‌های گوشتی باشد (۲۷). نتایج حاضر نیز موید همین مساله است. کپسایسین سبب تحریک متابولیسم چربی از بافت ذخیره‌ای می‌گردد و همچنین دو آنزیم کبدی G6PD و لیپوپروتئین لیپاز را فعال می‌کند در نتیجه روی افزایش وزن تاثیری ندارد (۸). مغایر با نتایج حاضر گزارش شده که ترکیبات فعال فلفل قرمز موجب افزایش ترشح تریپسین، لیپاز و آمیلاز و تسریع در هضم و کوتاه شدن زمان عبور مواد گوارشی در طول دستگاه گوارش می‌شوند و از طرفی از طریق بهبود قابلیت هضم، تعادل اکوسیستم میکروبی و تحریک ترشح آنزیم‌های هضمی درون زادی افزایش وزن طیور را بهبود می‌دهند (۲۰ و ۲۶). تغذیه جوجه‌های گوشتی با آنتی-بیوتیک (ویرجینامایسین) موجب افزایش وزن نسبت به گروه شاهد

جدول ۲- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در سنین مختلف
Table 2-Effect of experimental treatments on performance of broiler chicks in different ages

Trial periods	تیمارهای آزمایشی ^۱				SEM	P- value
	تیمار ۱ T1	تیمار ۲ T2	تیمار ۳ T3	تیمار ۴ T4		
افزایش وزن روزانه (گرم/پرنده/روز) Daily weight gain (g/b/d)						
۰ تا ۲۱ روزگی (0 to 21 d)	29.04	26.88	27.62	27.01	1.148	0.729
۲۱ تا ۴۲ روزگی (22 to 42 d)	83.51	78.08	79.10	77.18	1.877	0.136
۰ تا ۴۲ روزگی (0 to 42 d)	56.58	52.07	51.91	51.15	1.948	0.240
مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/b/d)						
۰ تا ۲۱ روزگی (0 to 21 d)	41.85	45.05	43.40	44.35	1.744	0.783
۲۱ تا ۴۲ روزگی (22 to 42 d)	141.50	130.24	129.46	131.79	5.287	0.381
۰ تا ۴۲ روزگی (0 to 42 d)	92.53	85.07	82.37	84.78	3.811	0.305
ضریب تبدیل (گرم/گرم) Feed conversion rate						
۰ تا ۲۱ روزگی (0 to 21 d)	1.580	1.675	1.582	1.646	0.031	0.128
۲۱ تا ۴۲ روزگی (22 to 42 d)	1.645	1.670	1.635	1.707	0.056	0.808
۰ تا ۴۲ روزگی (0 to 42 d)	1.635	1.635	1.582	1.662	0.042	0.577

^۱ تیمار: جیره پایه بدون افزودنی (شاهد)، تیمار ۲: جیره حاوی ۰/۰۴ درصد فلاو فسفولیپول، تیمار ۳: جیره حاوی ۰/۱ پودر فلفل قرمز، تیمار ۴: جیره حاوی ۰/۳ درصد پودر فلفل قرمز.
T1= control diet (without additive); T2=basal diet containing 0.04% Flavophospholipol; T3= basal diet contains 0.1% capsaicin powder; T4= basal diet contains 0.3% capsaicin powder

جمعیت میکروبی روده

نتایج مربوط به تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ آورده شده است. بر اساس این نتایج، تغذیه با ۰/۱ درصد پودر فلفل قرمز جمعیت لاکتوباسیل‌ها را در مقایسه با گروه شاهد و آنتی بیوتیک افزایش داد ($P<0.05$). همچنین میزان کلی فرم‌ها در تیمار تغذیه شده با ۰/۱ درصد فلفل قرمز و آنتی بیوتیک در مقایسه با شاهد کاهش یافت ($P<0.05$). پودر فلفل قرمز به دلیل داشتن کاپسایسین سبب کاهش pH جیره و در نتیجه افزایش باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک و کاهش باکتری‌های کلی فرم می شود (۴۴). نتایج حاضر نیز موید همین مساله است. مطالعات نشان داده گیاهان دارویی که مواد موثره همچون کاپسایسین دارند در مقابل طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زای خوراک فعالیت دارند (۴، ۲۶،

۳۲) و به‌طور انتخابی می‌توانند فعالیت ضد میکروبی قوی در مقابل عوامل بیماری‌زای روده داشته باشند در حالی که اثر مضر روی باکتری‌های مفید نظیر بیوفیلدوباکترها و لاکتوباسیل‌ها نداشته باشند (۴). مخلوطی از کاپسایسین، سینمالدئید و کاراکرول تعداد/یکولای و کلستریدیوم پرفرنجیس را در روده کور کاهش داد (۲۰). مواد موثره گیاهی، شمارش/شیریشاکلی و کلستریدیوم پرفرنجیس را در روده جوجه‌های گوشتی کاهش دادند (۱۶). همچنین مخلوطی از اسانس‌های گیاهی می‌تواند کلتی کلستریدیوم پرفرنجیس را در روده و مدفوع جوجه‌های گوشتی کاهش دهد (۳۶). لاکتوباسیل‌ها با تولید اسید لاکتیک به عنوان یک ضد میکروب که غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی را از بین می برد (۲)، و با کاهش pH روده رشد باکتری‌های بیماری‌زا را مهار می‌کند (۴۹). ترکیبات فنولیک گیاهان دارویی باعث ایجاد اختلال در غشای سیتوپلاسمی سلول، اختلال در

ATP و در نهایت مرگ سلول می‌گردد (۲۵). پودر فلفل قرمز فعالیت ضد باکتریایی دارد فعالیت ضد باکتریایی گیاهان دارویی با غلظت و ترکیب مواد موثره موجود در آن‌ها رابطه مستقیم دارد این ترکیبات از طریق کاهش ضخامت اپیتلیوم روده، تعدیل جمعیت میکروبی و کاهش میکرو ارگانسیم‌های بیماری‌زا عملکرد طپور را بهبود می‌بخشند.

جابه‌جایی پروتون، جریان انتقال الکترون و انعقاد محتوای سلول می‌شوند (۴، ۲۶ و ۳۲)، و از طرفی ترکیبات فنولیک به خاطر داشتن اثرات ضد میکروبی معروف هستند. آن‌ها باکتری‌های دیواره سلول را مورد هدف قرار داده و بنابراین بر روی ساختار دیواره سلولی تأثیر می‌گذارند همچنین آن‌ها با غشای سیتوپلاسمی از طریق تغییر در قابلیت نفوذ کاتیون‌هایی مانند هیدروژن و پتاسیم تداخل دارند، از دست رفتن گرادیان یونی منجر به اختلال فعالیت‌های ضروری در سلول شده و امکان تراوش محتویات سلول را فراهم می‌کند و منجر به عدم تعادل آب، به هم خوردن پتانسیل غشا و ممانعت از سنتز

جدول ۳- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی روده در جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی^۱

میانگین لگاریتمی تعداد کلی باکتری‌ها در هر گرم نمونه مرطوب Mean log10 cfu colony/ g sample	تیمارهای آزمایشی ^۲ Experimental treatments ²				SEM	P- value
	T1	T2	T3	T4		
لاکتوباسیل‌ها Lactobacillus	6.36 ^b	6.34 ^b	7.01 ^a	6.82 ^{ab}	0.171	0.038
کلی‌فرم‌ها Coliform	5.23 ^a	4.45 ^b	4.39 ^b	4.76 ^{ab}	0.192	0.037

^۱ میانگین‌های هر ردیف که دارای حروف مشترک نمی‌باشند دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

^۲ T1= جیره پایه بدون افزودنی (شاهد)، T2= جیره شاهد حاوی ۰/۴ درصد فلاووفسفولیپول، T3= جیره شاهد حاوی ۰/۱ پودر فلفل قرمز، T4= جیره شاهد حاوی ۰/۳ درصد پودر فلفل قرمز

^۱ Means in the same row with no common superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

^۲ T1= control diet (without additive); T2=basal diet containing 0.04% Flavophospholipol; T3= basal diet contains 0.1% capsaicin powder; T4= basal diet contains 0.3% capsaicin powder

ترکیب‌های سمی و آسیب کمتر به سلول‌های اپیتلیال روده می‌شود (۱۸). تغییرات ریخت‌شناسی بافت‌های دستگاه گوارش می‌تواند ناشی از اثرات در تفاوت محتوای میکروبی روده از جمله متابولیت‌های آن‌ها باشد (۵). گزارش کردند جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با مکمل آنتی-بیوتیک، طول پرز و عمق کریپت کمتری در مقایسه با سایر تیمارها داشتند (۳۵)، اما در گزارش دیگری مشاهده شد که با افزودن آنتی-بیوتیک محرک رشد به جیره جوجه‌های گوشتی، در پایان آزمایش به-همراه بهبود در عملکرد رشد، ارتفاع و عرض پرزها در مقایسه با شاهد افزایش و عمق کریپت کاهش می‌یابد (۳۰). گزارش شده روده باریک در مقابل تغییرات جیره غذایی، تغییراتی در سطح جذبی خود نشان می‌دهد (۶). از طرفی طول پرز از جمله عوامل موثر در اندازه موکوس و جذب مواد مغذی از آن به حساب می‌آید (۴۲). همچنین گزارش شده که مواد مغذی و افزایش فعالیت میکروبی در لوله گوارش ممکن است بر ترشح و ریخت‌شناسی روده کوچک تأثیر بگذارند می‌تواند بیانگر تأثیر محرک‌های رشد در میزان سطح جذب روده و در نتیجه عملکرد رشد جوجه‌ها باشد. با تغییر بار میکروبی دستگاه گوارش و متابولیت-های تولیدی آن‌ها ریخت‌شناسی بافت دستگاه گوارش تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۵۱) در آزمایش گارسیا و همکاران (۲۰) استفاده از مخلوط عصاره‌های گیاهی باعث افزایش طول پرزها در ناحیه ژنوم در

ریخت‌شناسی پرزهای روده

نتایج مربوط به تیمارهای آزمایشی بر ریخت‌شناسی پرزهای روده جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ آورده شده است. بر اساس این نتایج، تغذیه با پودر فلفل قرمز باعث افزایش طول پرز در مقایسه با گروه شاهد گردید ($P < 0.05$). عرض پرز در جوجه‌های تغذیه شده با ۰/۱ درصد فلفل قرمز در مقایسه با گروه شاهد و آنتی‌بیوتیک افزایش یافت ($P < 0.05$). عمق کریپت تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. در مورد گیاهان دارویی، گزارش‌های مختلفی از افزایش، عدم تغییر و همچنین کاهش در طول و عمق پرزهای روده جوجه‌های گوشتی در زمان استفاده از گیاهان دارویی، وجود دارد (۴) افزودن پودر فلفل قرمز ۰/۱ درصد به جیره جوجه‌های گوشتی تا ۶۹ روزگی، طول پرز و عمق کریپت را افزایش معنا داری داد (۳۸). محرک‌های رشد مانند گیاهان دارویی با ساز و کارهایی همانند افزایش میکروفلور سودمند روده لاکتوباسیل‌ها و افزایش تولید اسیدهای چرب و کاهش pH روده از میزان باکتری‌های بیماری‌زا کاسته و به حفظ سلامتی و رشد بافت روده کمک می‌کنند (۳۰). با استفاده از گیاهان دارویی در جیره جوجه‌های گوشتی ارتفاع ویلی‌ها افزایش می‌یابد. بنابراین به نظر می‌رسد علت آن کاهش تعداد باکتری‌های مضر موجود در دیواره روده باشد که سبب کاهش تولید

مقایسه با گروه شاهد گردید. همچنین در آزمایشی استفاده از گیاهان دارویی در جیره جوجه‌های گوشتی باعث افزایش طول پرز و عمق کریپت شد (۳۷) تغییرات ریخت‌شناسی روده می‌تواند بیانگر تاثیر محرک‌های رشد در تغییر میزان سطح جذب روده و در نتیجه تغییر در عملکرد رشد جوجه‌ها باشد (۳۹).

جدول ۴- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ریخت‌شناسی روده در جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی^۱
Table 4-Effect of experimental treatment on the intestinal morphology in broiler chicks in age 42 day¹

مورفولوژی روده Intestinal morphology	تیمارهای آزمایشی ^۲ Experimental treatments ²				SEM	P- value
	T1	T2	T3	T4		
طول پرزها villus of Length	1362.58 ^b	1321.50 ^c	1398.83 ^a	1388.250 ^a	4.164	0.0001
عرض پرز Width of villus	152.49 ^b	159.58 ^b	177.49 ^a	164.99 ^{ab}	4.254	0.008
عمق کریپت Depth of crypt	97.91	109.16	113.74	111.24	4.105	0.078

^۱ میانگین‌های هر ردیف که دارای حروف مشترک نمی‌باشند دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

^۲ T₁= جیره پایه بدون افزودنی (شاهد)، T₂= جیره شاهد حاوی ۰/۰۴ درصد فلاووسفولپول، T₃= جیره شاهد حاوی ۰/۱ پودر فلفل قرمز، T₄= جیره شاهد حاوی ۰/۳ درصد پودر فلفل قرمز

¹ Means in the same row with no common superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

² T₁= control diet (without additive); T₂=basal diet containing 0.04% Flavophospholipol; T₃= basal diet contains 0.1% capsaicin powder; T₄= basal diet contains 0.3% capsaicin powder

نتیجه گیری کلی

گوشتی شد، هر چند تأثیری معنی‌داری بر عملکرد نداشت. بنابراین فلفل قرمز با کاهش باکتری‌های کلی‌فرم و افزایش پرزهای روده به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک فلاووسفولپول می‌تواند مطرح باشد.

در تحقیق حاضر استفاده از پودر فلفل قرمز باعث افزایش باکتری‌های مفید (لاکتوباسیل‌ها) و کاهش باکتری‌های مضر (کلی‌فرم‌ها) شد. همچنین باعث افزایش طول و عرض پرزهای روده جوجه‌های

منابع

- 1- Akinleye, S. B., E. A. Lyayi, and K. D. Afolabi. 2008. The performance, Haematology and carcass traits of broilers as affected by diets supplemented with or without biomin a natural growth promoter. *Journal of Agricultural Science*, 4: 467-470
- 2- Alakomi, H. L., E. Skytta., M. Saarela., T. Mattila-Sandholm., K. Latva-Kala and I. M. Helander. 2000. Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 2001-2005.
- 3- Amad, I. Effect of probiotics on broilers performance. 2006. *International Journal Of Poultry Science*, 5(6): 593-597.
- 4- Amad, A. A., K. Männer, K. R. Wendler, K. Neumann, and J. Zentek. 2011. Effects of a phytogenic feed additive on growth performance and ileal nutrient digestibility in broiler chickens. *Journal of Poultry Science*, 90(12): 2811-2816.
- 5- Amerah, A. M., G. Mathis, and C. L. Hofacre. 2012. Effect of xylanase and a blend of essential oils on performance and Salmonella colonization of broiler chickens challenged with Salmonella Heidelberg. *Journal of Poultry Science*, 91(4): 943-947.
- 6- Ashayerizadeh ,O., B. Dastar, M. Shams Shargh, E. Rahamatnejad, and A. Ashayerizadeh. 2009. Influence of prebiotic and two herbal additives on interior organs and Hematological indices of broilers. *Journal of Animal Science*, 8(9): 1851-5.

- 7- Awaad, M. H. H., M. Elmenawey, and K. A. Ahmed. 2014. Effect of a specific combination of carvacrol, cinnamaldehyde, and on the growth performance, carcass quality and gut integrity of broiler chickens. *Veterinary World*, 7(5): 121-119
- 8- Bahmaie Nezhad, M., G. Vaezi, and H. Abbaspour. 2013. The effects of inhalation Pepper spray on anxiety-like behavior in male rat after inhalation for 30, 60, 90, and 120 seconds. *Journal of Animal Science*, 37(1): 23-29.
- 9- Bedford, M. R. 2000. Exogenous enzymes in monogastric nutrition their current value and future benefits. *Animal Feed Science and Technology*, 86(1): 1-13.
- 10- Bray, J. L. 2008. The Impacts on Broiler Performance and Yieldby Removing Antibiotic Growth Promoters and an Evaluation of Potential Alternatives (Doctoral Dissertation, Texas A and M University).
- 11- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223- 253.
- 12- Corduk, M., S. Sarica, and G. F. Yarim. 2013. Effects of oregano or red pepper essential oil supplementation to diets for broiler chicks with delayed feeding after hatching. 1. Performance and microbial population. *The Journal of Applied Poultry Research*, 22(4): 738-749.
- 13- Cross D., K. Mcdevitt Hillman, and T. Acamovic. 2007. The effect of herbs and their associated essential oils on p erformance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of Age. *British Poultry Science*, 48(4): 496-506.
- 14- Demir, E., S. Sarica, M. A. Ozcan, and M. Suicmez. 2005. The use of natural feed additives as alternatives to an antibiotic growth promoter in broiler diets. *British poultry Science*, 69(3): 110-116.
- 15- Eldeeb, M., M .Metwally, and A. Galal. 2006. The Impact Of Botanical Extract, Capsicum (Capsicum Frutescence L), Oil Supplementation And Their Interactions On The Productive Performance Of Broiler Chicks. *European Poultry Conference. The World's Poultry Science Association Verona*, 12(3): 243-248.
- 16- Engberg, R. M., M. S. Hedemann, T. D. Leser, and B. B. Jensen. 2000. Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. *Poultry Science*, 79(9): 1311-1319.
- 17- Eyssen, H., and P. D. Somer. 1963. Effect of antibiotics on growth and nutrient absorption of chicks. *Poultry Science*, 42(6): 1373-1379.
- 18- Gao, F., Y. Jiang, G. H. Zhou, Z. K. Han. 2007. The effects of xylenes supplementation on growth, digestion, circulating hormone and metabolite levels, immunity and gut microflora in cockerels fed on wheat-based diets. *British Poultry Science*, 48(7): 480-487
- 19- Garcia, V., P. Catala-Gregori, F. Hernandaz, M. D. Megias, and J. Madrid. 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestin mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Applied Poultry Research*, 16: 555-562.
- 20- Garcia, V., P. Catala-Gregori, F. Hernandaz, M. D. Megias, and J. Madrid. 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestin mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Applied Poultry Research*, 16: 555-562.
- 21- Hernandez, F., J. Madrid, V. Garcia, J. Orengo, and M. D. Megias. 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poultry Science*, 83(2): 169-174.
- 22- Hernandez, F., V. Garcia. J. Madrid, J. Orengo, P. Catalá, and M. D. Megias. 2006. Effect of formic acid on performance, digestibility, intestinal histomorphology and plasma metabolite levels of broiler chickens. *British Poultry Science*, 47(1): 50-56.
- 23- Jamroz, D., and C. Kamel. 2002. Plant extracts enhance broiler performance. *Antimicrobial agents and plant extracts on immunity, health and performance, in non-ruminant nutrition*, 80(1): 41-46.
- 24- Jamroz, D., T. Wiertelcki, M. Houszka, and C. Kamel. 2006. Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. *Journal of AnimalPhysiology and Animal Nutrition*, 90(5-6): 255-268.

- 25- Jeong, I. J., K. H. Dong, and J. W. Choi. 2010. Proteomic analysis for antiobesity potential of capsaicin on White adipose tissue in Rats fed with a high fat diet. *Journal of Proteome Research*, 9(6): 2977-2987.
- 26- Kim, H. M., and S. H. Cho. 1999. Lavender oil inhibits immediate-type allergic reaction in mice and rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 51(2): 221-226.
- 27- Lee, K. W., H. Everts, H. Kappert, J. Frehner, M. R. Losa, and A. C. Beynen. 2003. Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *British Poultry Science*, 44(3): 450-457.
- 28- Lee, K. W., H. Everts, H. J. Kappert, H. Wouterse, M. Frehner, and A. C. Beynen. 2004. Cinnamaldehyde, but not thymol, counteracts the carboxymethyl cellulose-induced growth depression in female broiler chickens. *Journal of Poultry Science*, 3(9): 608-612.
- 29- Li, Y. L. 1991. Culture Medium Manual (Changchun, china, Jilin Science and Technology Press).
- 30- Mailes, R. D., G. C. Butcher, P. R. Henry, and R. C. Littell. 2006. Effect of antibiotic growth performance on broiler performance intestinal growth parameters and quantitative morphology. *Poultry Science*, 85 (3): 476-485.
- 31- Marković, R., D. Šefer, M. Krstić, and B. Petrujkić. 2009. Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. *Arch Med Vetrinary*, 41: 163-169.
- 32- Mathlouthi, N., J. P. Lalles, P. Lepercq, C. Juste, and M. Larbier. 2002. Xylanase and β -glucanase supplementation improve conjugated bile acid fraction in intestinal contents and increase villus size of small intestine wall in broiler chickens fed a rye-based diet. *Journal of Animal Science*, 80 (11): 2773-2779.
- 33- Matthias, A., L. Banbury, Km. Bone, Dn. Leach, and R. Lehmann. 2008. Echinacea Alkylamides Modulate Induced Immune Responses In T-Cells. *Fitoterapia*, 79 (1): 53-8.
- 34- Mcmanus, J. 1948. Histological And Histochemical Uses Of Periodic Acid. *Stain Technology*, 23(3): 99-108.
- 35- Mehdipour, Z., M. Afsharmanesh, and M. Sami. 2013. Effects of dietary synbiotic and cinnamon (*Cinnamomum verum*) supplementation on growth performance and meat quality in Japanese quail. *Journal of Livestock Science*, 154 (1): 152-157.
- 36- Miles, R. D., G. D. Butcher, P. R. Henry, and R. C. Littell. 2006. Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. *Journal of Poultry Science*, 85(3): 476-485.
- 37- Mitsch, P., K. Zitterl-Eglseer, B. Köhler, C. Gabler, R. Losa, and I. Zimpf. 2004. The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestines of broiler chickens. *Journal of Poultry Science*, 83(4): 669-675.
- 38- Niewold, T. A. 2007. The non-antibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action. A hypothesis. *Journal of Poultry Science*, 86: 605-606.
- 39- Oliveira, M. C., E. A. Rodrigues, R. H. Marques, R. A. Gravena, G. C. Guandolini, and V. M. B. Moraes. 2008. Performance and morphology of intestinal mucosa of broilers fed mannanoligosaccharides and enzymes. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 60(2): 442-448.
- 40- Perlic, L., N. Milosevic, D. Zikic, S. Bjedov, D. Cvetkovic, S. Markov, M. Momnl, and T. Steiner. 2010. Effects of probiotic and phytogetic products on performance, gut morphology and cecal microflora of broiler chickens. *Journal of Archive Animal Breeding*, 53(3): 350-359.
- 41- Pittenger, M. F., A. M. Mackay, S. C. Beck, R. k. Jaiswal, R. Douglas, J. D. Mosca, M. A. Moorman, D. W. Simonetti, S. Craig, D. R. Marshak. 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Journal of Research Library Core Science*. 284 (5411): 143-147.
- 42- Platel, K., and K. Srinivasan. 2000. Influence of dietary spices and their active principles on pancreatic digestive enzymes in albino rats. *Journal of Food Science*, 44(1): 42-46.

- 43- Pluske, J. R., D. J. Hampson, and I. H. Williams. 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Journal of Livestock Production Science*, 51(1): 215-236.
- 44- Rowghani, E., M. Arab, and A. Akbarian. 2007. Effects of a probiotic and other feed additives on performance and immune response of broiler chicks. *Journal of Poultry Science*, 6(4): 261-265.
- 45- Sakata T., T. Kojima, M. Fujieda, M. Miyakozawa, M. Takahashi, and K. Ushida. 1999. Probiotic preparations dose-dependently increase net production rates of organic acids and decrease that of ammonia by pig cecal bacteria in batch culture. *Journal of Digestive Diseases And Sciences*, 44(7): 1485-93.
- 46- Si, W., J. Gong, R. Tsao, T. Zhou, H. Yu, C. Poppe, and Z. Du. 2006. Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 100 (2): 296-305.
- 47- Silva, M. A., B. D. S Pessotti, S. F. Zanini, G. L. Colnago, L. D. C. Nunes, M. R. A. Rodrigues, and L. Ferreira. 2010. Brazilian red pepper oil use on the performance and intestinal morphometry of broilers. *Ciência Rural*, 40 (10): 2151-2156.
- 48- Singh, M., R. K. Srivastava, S. S. Chauhan, and K. S. Singh. 2000. Responses of virginiamycin and bacitracin methylene disalicylate on the weight gains and nutrient utilization of broiler chicken. *Journal of Poultry Science*, 35(3): 272-275.
- 49- Skřivanová, E., and M. Marounek. 2007. Influence Of pH On antimicrobial activity of organic acids against rabbit enteropathogenic strain of *Escherichia Coli*. *Folia Microbiologica*, 52(1): 70-2.
- 50- Song, W. Y., S. S. Chun, K. H. Ku, and J. H. Choi. 2010. Effect of Red Pepper seeds powder on lipid composition in rats fed high-fat, high-cholesterol diets. *Journal of Preventive Nutrition and Food Science*, 15(3): 184-8.
- 51- Spring, P., C. Wenk, K. A. Dawson, and E. K. Newman. 2000. The effects of dietary manna oligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella- challenged broiler chicks. *Journal of Poultry Science*, 79: 205-211.
- 52- Waibel, P. E., J. C. Halvorson, S. L. Noll, S. L. Hoffbeck, and H. Daniels. 1991. Influence of virginiamycin on growth and efficiency of large white turkeys. *Journal of Poultry Science*, 70(4), 837-847.
- 53- Windisch, W., K. Schedle, C. Plitzner, and A. Kroismayr. 2008. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*, 86(14_Suppl): E140-E8.
- 54- Zhu, X. Y., T. Zhong, Y. Pandya, and R. D. Joerger. 2002. 16S rRNA-based analysis of microbiota from the cecum of broiler chickens. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 68(1): 124-137.



Effect of different levels red pepper powder Alternative With flavavophspholipol antibiotics, on performance, intestinal morphology and microbial population in broiler chicks

S. f. Ahmadi nejad¹- M. Afsharmanesh^{2*}- M. Salar moiini²- H. Ebrahimnejad³

Received: 18-04-2017

Accepted: 30-04-2018

Introduction In recent years, the advances made in the field of genetics, food, breeding, and marketing in the poultry industry have led to the use of modern methods and devices to achieve the highest production with the lowest cost in the industry. So today, food additives are used in the poultry industry to achieve high production with the lowest cost. Medicinal plants contain substances called active ingredient or active ingredients are made and stored and have physiological effects are on the body of a living creature leave. Medicinal plants due to certain compounds can affect the production and improving digestive and finally affect the bird feed digestibility. This plant contains active ingredients: Capsaicin and is capsanthin. Some antimicrobial compounds extracted from plants including: Terpiner, Betapinen, alfapinen, Linalolandterpineol.

Materials and method In this study 160 day-old male (Ross 308) broiler chicks in a completely randomized design with 4 treatments and 4 replicates per treatment, were used from age 1 to 42 days. In each experimental unit 10 chicks were reared in the same environmental conditions. Experimental diets (treatments) were as consisted of 1) basal diet without additives (control), 2) control diet containing 0.04 percent Flavophospholipol, 3) control diet containing 0.1% of red pepper powder, 4) control diet containing 0.3% of red pepper powder, diets were fed in two periods. Body weight and feed intake were measured weekly and daily mortality was recorded and then these data were used to calculate the performance parameters of body weight gain, feed intake, feed conversion ratio. To study the structure of the ileum villus tissue sample of the target tissue as much as 4 cm from the beginning of the ileum supply and after unloading the contents and washing was kept in 10% formalin paraffin wax technique for producing histological slides were thin.

Results and discussion The results showed that weight gain, feed intake and feed conversion were not affected by treatments. The addition of red pepper powder did not have a significant effect on the body weight of broiler chicks, consuming more than one percent of the red pepper extract had no effect on weight gain, possibly due to an increase in the intake of red pepper fruit in broiler chickens. Capsaicin stimulates fat metabolism from stored tissue and also activates both liver enzymes G₆PD and lipoprotein lipase and thus does not affect weight gain. Adding capsaicin 0.2% does not affect feed intake. It has also been reported that no difference was found in the consumption of broiler chickens fed with Pune, Cinnamon and Pepper extract with five grams of Lamiaceae plants. Medicinal plants, as part of active substances, are very mischievous or may have a nasty taste, and in the diet may cause the animal to refuse eating and reduce feed intake. Adding capsaicin 0.2% does not affect feed intake (13). It has also been reported that no difference was found in the consumption of broiler chickens fed with Pune, Cinnamon and Pepper extract with five grams of Lamiaceae plants.

1- Msc student of Animal Science, Shahid Bahonar University of Kerman, kerman, Iran.

2- Associat professor, Departement of Animal Science, Shahid bahonar university of kerman, kerman, iran.

3- Assistant professor, Departement of food hygiene and public healgh, faculty of veterinary medicine, Shahid Bahonar university of kerman, kerman, iran.

(* - Corresponding Author Email: mafshar@uk.ac.ir)

Based on these results, feeding with 0.1% red pepper powder increased the lactobacillus population as compared to the control and antibiotic group ($P < 0.05$). Also, the total amount of the formulas in the treatment fed with 0.1% red pepper and antibiotic was decreased in comparison with the control ($P < 0.05$). Red pepper powder, due to capsaicin, reduces the pH of the diet and thus increases the bacteria producing lactic acid and reduces the total bacterial form. A mixture of capsaicin, cinnamaldehyde and caracole reduced the number of pericardial cholera and pericardial cholestridium in the intestinal tract. Vegetative herbicides reduced the number of asherikhakli e coli and Clostridium perfringens in the intestines of broiler chicks. Also, a mixture of herbal essential oils can reduce colonies of clostridium performs in the intestine and feces of broiler chicks. Lactobacilli is produced by the production of lactic acid as an antimicrobial that eliminates the external membrane of gram-negative bacteria, and, by decreasing the intestinal pH, inhibits the growth of pathogenic bacteria. Antibacterial activity of medicinal plants is directly related to the concentration and composition of the active ingredients. These compounds reduce the thickness of the intestinal epithelium, modify the microbial population and reduce the pathogenic microorganisms of the poultry function Improve

The results of this study showed that feeding with red pepper powder increased the length of upper ileum compared to the control group ($P < 0.05$). Upper ileum increased in chicken fed 0.1% red pepper in comparison with the control and antibiotic groups ($P < 0.05$). Crypt depth was not affected by experimental treatments. In the case of herbs, there are various reports of increasing, no change, as well as a decrease in the length and depth of the intestines of broilers during the use of medicinal plants.

Conclusion In the present study, the use of red pepper powder increased the useful bacteria (lactobacilli) and reduced the harmful ones (total polymorphisms). It also increased the length and width of the intestines of broiler chickens, although it did not have a significant effect on yield. Therefore, red pepper can be thought of as a suitable alternative to flavophospholipol antibiotics by reducing the overall bacterial form and increasing the intestinal parenchyma.

Key words: antibiotics, intestinal morphology, microbial population, red pepper.



بررسی هم‌خونی و تأثیر آن بر صفات رشد در گوسفند مغانی با استفاده از شجره

رضا بهرام^{۱*} - مریم اسرافیلی تازه کند محمدیه^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۱/۲۱

چکیده

برای بررسی هم‌خونی و تأثیر آن بر صفات رشد از اطلاعات شجره ۳۹۴۰۸ رأس گوسفند مغانی که طی سال‌های ۱۳۶۵ تا ۱۳۹۴ در ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند مغانی جمع‌آوری شده بود، استفاده گردید. برای آماده‌سازی، ویرایش داده‌ها، برآورد ضریب هم‌خونی و میزان تابعیت صفات از هم‌خونی به ترتیب از نرم افزارهای Excel، Fox Pro و CFC، Wombat استفاده شد. میانگین نسل معادل کامل به عنوان معیاری از کامل بودن شجره ۱/۶۰ بدست آمد. نتایج نشان داد که ۱۶/۶۹ درصد از کل حیوانات، هم‌خون بودند. میانگین ضریب هم‌خونی در کل جمعیت و حیوانات هم‌خون به ترتیب ۰/۵۸ و ۳/۴۷ درصد محاسبه گردید. در مدت سال‌های مورد مطالعه، مقدار هم‌خونی ۰/۴۷ درصد در سال افزایش یافت. بالاترین میزان هم‌خونی در گله ۴۴/۶۷ درصد بود. افت ناشی از هم‌خونی به ازای افزایش یک درصد هم‌خونی برای صفات وزن تولد، شیرگیری، شش ماهگی، نه ماهگی و یک‌سالگی به ترتیب ۵/۹۴، ۱۹/۰۳، ۲۰/۲۳، ۳۵/۲۶ و ۳۸/۷۴ گرم برآورد شدند، که به غیر از صفات وزن شش ماهگی و یک‌سالگی در بقیه صفات مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری نداشت. نتایج این پژوهش نشان داد که اگر چه در این گله طی سال‌های مورد مطالعه بین حیوانات خویشاوند آمیزش‌هایی صورت گرفته بود، لیکن مقدار ضرایب هم‌خونی حیوانات هم‌خون با توجه به تعداد این دام‌ها نشان داد که در این جمعیت آمیزش‌ها هدف‌دار و تا حد زیادی کنترل شده بود.

واژه‌های کلیدی: آمیزش، صفات رشد، گوسفند مغانی، نسل معادل کامل، هم‌خونی.

مقدمه

جهت تولید گوشت شناخته شده است (۳۷). مرکز اصلی نگهداری و پرورش این نژاد دشت مغان می‌باشد، اما در نواحی مانند مشگین شهر، سراب، اردبیل و حتی استان‌های دیگر وجود دارد. سیستم پرورش این گوسفندان عمدتاً به صورت غیرمتمرکز و از طریق کوچ بین بیلاق و قشلاق مراتع در مناطق کوهستانی و دشت انجام می‌شود (۱۳). هم‌خونی که منشأ آن آمیزش بین حیوانات خویشاوند می‌باشد با ایجاد جفت ژن‌های مشابه در هر جایگاه ژنی تنوع ژنتیکی را کاهش داده و آثار زیان‌آوری بر بیشتر صفات تولیدی و تولیدمثلی دارد (۳۰). معمولاً میزان هم‌خونی در جمعیت‌های حیوانی بیش از هر چیز تحت تأثیر الگوی آمیزشی قرار دارد و هر چه شانس ایجاد آمیزش‌های نزدیک در جمعیت بیشتر باشد، احتمال بالا رفتن میزان هم‌خونی در آن جمعیت بیشتر است (۱۹).

در پرورش حیوانات مزرعه‌ای به صورت گله‌های بسته و کوچک و در ایستگاه‌های تحقیقاتی، احتمال بروز هم‌خونی و مشکلات ناشی از آن نسبت به گله‌های تجاری بیشتر می‌باشد (۳۵). با وجود این که هم‌خونی می‌تواند ابزار مناسبی برای بهبود ژنتیکی جمعیت‌های گوسفند و بز از طریق افزایش فراوانی ژن‌های مطلوب باشد، اما در صورت عدم کنترل می‌تواند منجر به زیان اقتصادی شود (۵).

نژادهای بومی نشخوارکنندگان کوچک در کشورهای در حال توسعه به طور عمده توسط چوپان‌های محلی و تحت سیستم‌های تولیدی کم‌نهاد نگهداری می‌شوند و بهبود وضع اقتصادی صاحبان گله بستگی به ارتقاء راندمان تولید در این سیستم‌ها دارد (۲۶). بنابراین، اقدامات هماهنگ شیوه‌های مدیریتی و برنامه‌های بهبود ژنتیکی در این نژادها از اهمیت بسزایی برخوردار است (۲۰). این نکته به ویژه در پرورش گوسفند که حیوانات در یک گله به طور خالص و بدون مخلوط کردن جمعیت‌ها با یکدیگر نگهداری می‌شوند و تعداد کمی قوچ در هر جمعیت استفاده می‌شود، مشهود است (۳۱).

گوسفند مغانی با تعداد حدود ۲/۵ میلیون رأس یکی از مهم‌ترین نژادهای گوشتی در میان گوسفندان دنبه‌دار می‌باشد که از نظر اندازه بزرگ بدن، مقاومت در برابر تغییرات آب و هوایی، ظرفیت تولید بره‌های سنگین وزن، سرعت رشد بالا، توانایی سه بار زایش در دو سال، ضریب بهره‌دهی بیشتر، تلفات کمتر بره و توان ژنتیکی مناسب

۱) استادیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(*) نویسنده مسئول: behmaram.reza@yahoo.com

DOI: 10.22067/ijasr.v11i2.69585

دوره‌های مختلف تولید یک حیوان و خطا) مورد استفاده قرار گرفت. مشخصات شجره‌ای داده‌های پژوهش حاضر که با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel و Visual FoxPro 9.0 ویرایش داده‌ها با توجه به کم بودن تعداد بره‌های سه قلو، رکورد این بره‌ها و رکوردهای دیگری که اطلاعات آن‌ها دقیق یا کامل نبود از فایل داده‌ها حذف شدند.

جدول ۱- اطلاعات مربوط به شجره گوسفندان مغانی
Table 1- Pedigree information of Moghani sheep breed

تعداد	شرح
Number	Description
39408	تعداد حیوانات کل جمعیت
No. of animals in whole population	
19034	تعداد حیوانات با والدین معلوم
No. of animals with both know parents	
13399	ماده
Dams	
1481	نر
Sires	
24528	حیوانات بدون نتاج
No. of animals with no progeny	
14880	حیوانات دارای نتاج
No. of animals with progeny	
6578	تعداد حیوانات هم‌خون
No. of inbred animals	
3492	تعداد افراد جمعیت پایه
No. of Base population	

از کل حیوانات شجره ۹۰/۰۵ درصد ماده و ۹/۹۵ درصد نر بودند. همچنین ۱۰/۴۹ درصد از حیوانات دارای پدر و مادر نامعلوم و ۱۲/۳۰ درصد دارای مادر نامعلوم و ۲۸/۹۱ درصد دارای پدر نامعلوم بودند. تعداد ۳۴۹۲ رأس (۸/۸۶ درصد) حیوان به دلیل نامعلوم بودن والدین آن‌ها که عمدتاً تشکیل دهنده گله اولیه بودند به عنوان جمعیت پایه در نظر گرفته شد.

با استفاده از نرم افزار CFC 1.0 (۳۶) ضرایب هم‌خونی هر حیوان و میانگین ضریب هم‌خونی در کل گله و جمعیت هم‌خون برآورد گردید و گروه‌بندی ضرایب هم‌خونی با استفاده از این نرم افزار انجام شد.

برای تجزیه و تحلیل اثر هم‌خونی بر صفات مورد نظر از نرم افزار Wombat 1.0 (۲۲) و روش حداکثر درستمایی محدود شده

علت افت ناشی از هم‌خونی را می‌توان به افزایش احتمال جفت شدن ژن‌های نامطلوب مغلوب نسبت داد. با افزایش ضریب هم‌خونی در گله میانگین صفات اقتصادی با وراثت‌پذیری متوسط و کم به شدت کاهش می‌یابد (۲۵). استفاده از تعداد کم افراد برتر ممکن است تنوع ژنتیکی را کاهش دهد. از آنجایی که صفات رشد از اهداف اصلاحی مهم در بیشتر ایستگاه‌های پرورش و اصلاح نژاد گوسفند هستند، برخی از پژوهشگران روند هم‌خونی بعضی از صفات رشد گله‌های موجود در این ایستگاه‌ها را بررسی کرده‌اند (۳ و ۴۲).

برای حفظ ساختار ژنتیکی هر جمعیت و جلوگیری از آثار زیان‌بار هم‌خونی، لازم است اطلاعات حاصل از شجره حیوانات، نوع آمیزش‌ها و خصوصیات ژنتیکی جمعیت جمع‌آوری و تجزیه و تحلیل گردد (۱۴) و در صورت نیاز، جهت جلوگیری از افت عملکرد ناشی از هم‌خونی به ارائه مناسب پرداخت. این واقعیت مورد توجه بسیاری از محققین در سرتاسر جهان بوده و تلاش آن‌ها بر آن است تا میزان آثار منفی هم‌خونی بر عملکرد حیوانات را تعیین نموده و راه حلی برای غلبه بر آن پیدا کنند (۱۸).

بنابراین، با مطالعه جمعیت گوسفندان در گله‌ها و بررسی روند هم‌خونی در آن‌ها می‌توان تا حدودی به وضعیت ژنتیکی دام‌ها پی برد با توجه به اینکه صفات رشد جزء صفات مهم اقتصادی در پرورش گوسفند به حساب می‌آید و بیشترین در آمد حاصل از پرورش گوسفند مربوط به تولید گوشت می‌باشد، این پژوهش جهت آنالیز شجره، برآورد ضریب هم‌خونی و بررسی تأثیر آن روی صفات رشد گوسفندان مغانی انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای محاسبه‌ی ضریب هم‌خونی و بررسی اثرات آن بر صفات رشد گوسفندان مغانی، از اطلاعات شجره و صفات رشد (وزن‌های تولد، شیرگیری، شش ماهگی، نه ماهگی و یک‌سالگی) موجود در ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند مغانی استفاده شد. این ایستگاه در ۳۰ کیلومتری جنوب شرقی شهرستان پارس آباد استان اردبیل واقع شده است. در این ایستگاه بره‌های نر و ماده در سن ۱۸ ماهگی آمادگی جفت‌گیری پیدا می‌کنند. قوچ‌ها یک‌سال استفاده شده اما میش‌ها بسته به شرایط سلامت و عملکرد تولیدمثلی می‌توانند تا ۶ سال مورد استفاده قرار گیرند. بره‌های نر و ماده از سن ۶ ماهگی به بعد در گله‌های جداگانه نگهداری می‌شوند.

در این پژوهش از تعداد ۶۸۵۹ رکورد وزن تولد، ۴۱۴۵ رکورد وزن شیرگیری، ۲۰۲۸ رکورد وزن شش ماهگی، ۱۳۱۹ رکورد وزن نه ماهگی و ۱۲۳۲ رکورد وزن یک‌سالگی که طی ۳۰ سال (۱۳۶۵ تا ۱۳۹۴) جمع‌آوری شده بود، استفاده شد. اطلاعات شجره پس از ویرایش اولیه (شامل تصحیح و حذف رکوردهای تکراری مربوط به

(REML) با استفاده از مدل‌های حیوانی زیر با در نظر گرفتن ضریب هم‌خونی در مدل به عنوان متغیر کمکی استفاده شد:

$Y = Xb + Z_a a + e$		مدل ۱
$Y = Xb + Z_a a + Z_c c + e$		مدل ۲
$Y = Xb + Z_a a + Z_m m + e$	$Cov(a, m) = 0$	مدل ۳
$Y = Xb + Z_a a + Z_m m + e$	$Cov(a, m) = A\sigma_{am}$	مدل ۴
$Y = Xb + Z_a a + Z_m m + Z_c c + e$	$Cov(a, m) = 0$	مدل ۵
$Y = Xb + Z_a a + Z_m m + Z_c c + e$	$Cov(a, m) = A\sigma_{am}$	مدل ۶
$Y = Xb + Z_a a + Z_l l + e$		مدل ۷
$Y = Xb + Z_a a + Z_m m + Z_l l + e$		مدل ۸
$Y = Xb + Z_a a + Z_m m + Z_l l + e$	$Cov(a, m) = 0$	مدل ۹
$Y = Xb + Z_a a + Z_m m + Z_l l + e$	$Cov(a, m) = A\sigma_{am}$	مدل ۱۰
$Y = Xb + Z_a a + Z_m m + Z_c c + Z_l l + e$	$Cov(a, m) = 0$	مدل ۱۱
$Y = Xb + Z_a a + Z_m m + Z_c c + Z_l l + e$	$Cov(a, m) = A\sigma_{am}$	مدل ۱۲

کامل بودن شجره با تعیین درصد حیوانات دارای پدر و مادر معلوم و همچنین تعداد نسل‌های معادل کامل مورد بررسی قرار گرفت. از ساده‌ترین روش‌های بررسی سطح کامل بودن شجره، تعیین درصد حیوانات دارای پدر و مادر معلوم می‌باشد که کیفیت شجره را از نظر عمل ثبت مشخصات در گله نشان می‌دهد (۲). برای هر حیوان موجود در شجره معیار تعداد نسل‌های معادل کامل (CGE)^۲ از طریق فرمول زیر برآورد گردید:

$$CGE_i = \sum \left(\frac{1}{2}\right)^n$$

که در آن n، تعداد نسل‌هایی است که حیوان را از هر والد معلومش جدا می‌کند (۳۴). سپس تعداد نسل‌های معادل کامل گوسفندان متولد شده در هر سال محاسبه گردید. برای بررسی اثر هم‌خونی بر صفات رشد داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.2 تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین صفات رشد در گروه‌های هم‌خون با آزمون دانکن و رویه‌ی GLM (۷) انجام شد.

نتایج و بحث

در این پژوهش ۴۸/۳۰ درصد حیوانات مورد بررسی دارای پدر و مادر معلوم بودند که نسبت به مقادیر ۵۶ و ۸۸ درصد گزارش شده در نژادهای کرمانی و بلوچی (۲ و ۴۱) کمتر بود که نشان دهنده ناقص‌تر بودن شجره جمعیت مورد مطالعه نسبت به نژادهای گزارش شده بود. آماره‌های توصیفی صفات مورد بررسی در جدول ۲ نشان داده شده است. تعداد رکوردهای صفات رشد مورد مطالعه با افزایش سن سیر نزولی داشت که می‌تواند به علت حذف برخی از بره‌ها یا عدم

در این مدل‌ها Y بردار مشاهدات مربوط به صفات رشد، b بردار اثرات عوامل ثابت (شامل سال تولد، جنس، تیپ تولد، سن مادر)، a بردار اثرات ژنتیک افزایشی مستقیم، m بردار اثرات ژنتیکی افزایشی مادری، c بردار اثرات محیطی دائمی مادری، l بردار اثرات محیطی مشترک و e بردار اثرات باقی مانده است. A ماتریس روابط خویشاوندی، Z_a, Z_c, Z_m, Z_l ماتریس‌های طرح هستند که ارتباط اثرات عوامل ثابت، ژنتیکی افزایشی مستقیم، محیطی دائمی مادری، ژنتیک افزایشی مادری و محیط مشترک را با بردار مشاهدات برقرار می‌کنند. همچنین σ_{am} ، کوواریانس بین اثرات ژنتیکی افزایشی مستقیم و اثرات ژنتیکی افزایشی مادری را نشان می‌دهد. مناسب‌ترین مدل از رابطه آکائیک به صورت زیر تعیین شد:

$$AIC_i = -2 \log L_i + 2P_i$$

در این رابطه: AIC_i معیار آکائیک، $\log L_i$ لگاریتم حداکثر درست نمائی و P_i تعداد پارامترهای موجود در مدل است. مدلی که کمترین معیار آکائیک را داشت به عنوان مناسب‌ترین مدل در نظر گرفته شد.

فاصله نسلی (G.I)^۱ به صورت میانگین سن والدین در زمان تولد بره، برای افرادی که تولیدمثل کردند و برای کل افراد محاسبه شد (۲۸). این پارامترها در چهار مسیر پدر-پسر (L_{mm})، پدر-دختر (L_{mf})، مادر-پسر (L_{fm}) و مادر-دختر (L_{ff}) محاسبه و میانگین فاصله نسل کل به صورت میانگین این چهار نسل تعیین شد:

$$G.I = \frac{L_{mm} + L_{mf} + L_{fm} + L_{ff}}{4}$$

ثبت رکوردها در سنین بالاتر باشد. ۸۳/۳۱ درصد از جمعیت، ضریب هم‌خونی صفر داشتند. ۱۳/۵۰ درصد از کل جمعیت که معادل ۸۰/۸۹ درصد جمعیت هم‌خون می‌باشد، دارای ضریب هم‌خونی کوچک‌تر از ۵ درصد بودند. در جمعیت مورد مطالعه تنها ۳/۱۹ درصد از کل جمعیت که معادل ۱۹/۱۱ درصد جمعیت هم‌خون بود، ضریب هم‌خونی بیشتر از ۵ درصد داشتند.

جدول ۲- آماره‌های توصیفی صفات رشد گوسفندان مغانی

Table 2- Descriptive statistics of growth traits in Moghani sheep breed

صفت	وزن تولد	وزن شیرگیری	وزن شش ماهگی	وزن نه ماهگی	وزن یک‌سالگی
Trait	Birth weight	Weaning weight	6 months weight	9 months weight	yearling weight
تعداد رکورد	6859	4145	2028	1319	1232
No. of records					
میانگین (کیلوگرم)	4.42	21.00	33.12	39.82	65.01
Mean (kg)					
انحراف معیار (کیلوگرم)	0.79	4.99	5.61	4.30	13.55
S.D (kg)					
ضریب تغییرات (%)	18	24	17	11	21
C.V (%)					
حداقل (کیلوگرم)	1.57	8	24	28	30.53
Min (kg)					
حداکثر (کیلوگرم)	5.67	35	52	53.50	110
Max (kg)					
F=0	1022	3555	1958	1258	1212
0<F≤5	4739	487	44	45	6
F>5	1098	103	26	16	14

۱۲، ۱۶، ۲۶، ۲۷، ۳۹ و ۴۰). به طور کلی با استفاده از افراد جوان‌تر به عنوان والدین نسل آینده می‌توان فاصله نسلی را در جمعیت کاهش داد. در صورت طولانی شدن فاصله نسلی در جمعیت، میزان پیشرفت ژنتیکی صفات در واحد زمان کاهش می‌یابد. از مقایسه فاصله نسلی در گوسفند مغانی با گزارش‌های موجود در پژوهش‌های مختلف مشخص شد که فاصله نسلی این نژاد در محدوده این گزارش‌ها قرار داشت.

جدول ۳ میانگین صفات در گروه‌های مختلف هم‌خونی را نشان می‌دهد. در همه صفات افراد غیرهم‌خون میانگین بیشتری نسبت به افراد هم‌خون داشتند که با نتایج گزارش شده در گوسفند مهربان مطابقت داشت (۴۴). همچنین با نتایج گزارش شده در گوسفندان بلوچی و قره گل تفاوت داشت (۳ و ۱۵) که احتمال دارد در علت آن تعداد رکوردهای متفاوت در پژوهش‌های مورد نظر باشد. برای همه صفات جز وزن تولد، تفاوت بین گروه‌های مختلف هم‌خون معنی‌دار بود ($p < 0.05$)، که با نتایج گزارش شده در نژادهای قره گل، مهربان و بلوچی (۳، ۱۵ و ۴۴) متفاوت بود که ممکن بود به دلیل تفاوت‌های بین نژادی باشد.

فاصله نسلی در چهار مسیر پدر-پسر، پدر-دختر، مادر-پسر و مادر-دختر به ترتیب 0.053 ± 0.015 ، 0.093 ± 0.026 ، 0.036 ± 0.015 و 0.036 ± 0.015 سال بدست آمد. میانگین فاصله نسلی مادر-فرزند (۳/۵۱±۰/۰۰۷ سال) نسبت به میانگین فاصله نسلی پدر-فرزند (۳/۲۱±۰/۰۶۴ سال) بیشتر بود که با نتایج گزارش شده در نژادهای مغانی و سنگسری (۲۷ و ۴۰) مطابقت داشت. سن دام‌ها و مدت استفاده از دام‌های نر و ماده برای تولیدمثل و یا به عبارت دیگر سن جایگزینی آن‌ها از عوامل تعیین کننده فاصله نسلی می‌باشند. کوتاه‌تر بودن فاصله نسلی در مسیر پدر-فرزند می‌تواند مربوط به تفاوت در سن جایگزینی نرها و ماده‌ها باشد. به عبارت دیگر احتمال دارد که جایگزینی زودتر افراد نر در گله مورد مطالعه، یکی از دلایل فاصله نسلی کوتاه‌تر در مسیر پدر-فرزند باشد.

میانگین فاصله نسلی 0.069 ± 0.036 سال برآورد شد که نسبت به مقادیر ۲/۱۵ و ۳/۳۳ سال گزارش شده در نژادهای مهربان و بلوچی (۴۱ و ۴۳) بیشتر بود که ممکن است ناشی از تفاوت‌های بین نژادی و تعداد سال‌های مورد مطالعه باشد. همچنین نسبت به مقادیر ۳/۳۹، ۳/۵۵، ۳/۱۶، ۳/۹۵، ۴/۱، ۴/۴۸ و ۴/۵ سال گزارش شده در نژادهای ایران بلک، افشاری، ماکویی، سنگسری، مغانی و کرمانی کمتر بود (۲)،

جدول ۳- میانگین صفات رشد در گروه‌های مختلف هم‌خون^۱

 Table 3- Mean growth traits in different inbreeding class of animals¹

گروه‌های هم‌خون Inbreeding groups	وزن تولد (کیلوگرم) Birth weight (kg)	وزن شیرگیری (کیلوگرم) Weaning weight (kg)	وزن شش ماهگی (کیلوگرم) 6 months weight (kg)	وزن نه ماهگی (کیلوگرم) 9 months weight (kg)	وزن یک‌سالگی (کیلوگرم) yearling weight (kg)
F=0	4.21 ± 0.015 ^a	22.01 ± 0.024 ^a	33.91 ± 0.082 ^a	40.08 ± 0.033 ^a	65.54 ± 0.027 ^a
0<F<5	4.11 ± 0.011 ^a	20.83 ± 0.038 ^b	32.39 ± 0.031 ^c	39.86 ± 0.047 ^b	64.25 ± 0.013 ^c
F>5	4.12 ± 0.044 ^a	20.94 ± 0.014 ^b	33.06 ± 0.054 ^b	39.52 ± 0.046 ^c	65.24 ± 0.054 ^b

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

¹Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

که با نتایج گزارش شده در نژادهای مهربان و بلوچی (۱۵ و ۴۴) متفاوت بود. در جنس نر میانگین صفات در گروه‌های هم‌خون معنی‌دار بود که با نتایج گزارش شده در پژوهش‌های مشابه مطابقت داشت (۱۵ و ۴۴). نتایج حاصل نشان داد که اثر هم‌خونی بر صفات رشد متناسب با سن و جنس حیوان تغییر می‌کند. بنابراین، میزان کاهش عملکرد در هر یک از دو جنس در هر مقطع زمانی (به جز وزن یک-سالگی در ماده‌ها) متفاوت خواهد بود.

در همه صفات مورد بررسی میانگین صفات جنس نر بیشتر از ماده بود که با نتایج گزارش شده مطابقت داشت (۱۵ و ۴۴). علت معنی‌دار شدن اثر جنس بر صفات مورد مطالعه، می‌تواند ناشی از تفاوت‌های فیزیولوژیکی دو جنس، اثر هورمون‌های جنسی و وجود تفاوت‌های ژنتیکی بین دام‌های نر و ماده باشد که سبب رشد سریع‌تر حیوانات نر می‌شود. جدول ۴ میانگین صفات در گروه‌های هم‌خون را بر اساس جنس نشان می‌دهد. تفاوت میانگین صفات در گروه‌های هم‌خون در جنس ماده به جز وزن یک‌سالگی معنی‌دار بود (p<0.05)،

 جدول ۴- میانگین صفات رشد در گروه‌های هم‌خون بر اساس جنس^۱

 Table 4- Mean growth traits in different inbreeding class of animals by the six¹

جنس Sex	گروه‌های هم‌خون Inbreeding groups	وزن تولد (کیلوگرم) Birth weight (kg)	وزن شیرگیری (کیلوگرم) Weaning weight (kg)	وزن شش ماهگی (کیلوگرم) 6 months weight (kg)	وزن نه ماهگی (کیلوگرم) 9 months weight (kg)	وزن یک‌سالگی (کیلوگرم) yearling weight (kg)
ماده Female	F=0	4.20 ± 0.068 ^a	21.67 ± 0.079 ^a	33.61 ± 0.063 ^a	39.69 ± 0.071 ^b	65.07 ± 0.041 ^a
	0<F<5	4.09 ± 0.083 ^{ab}	21.05 ± 0.028 ^b	32.94 ± 0.047 ^b	39.95 ± 0.009 ^a	64.94 ± 0.039 ^a
	F>5	4.13 ± 0.034 ^b	21.06 ± 0.031 ^b	32.81 ± 0.013 ^b	39.82 ± 0.062 ^{ab}	65.00 ± 0.055 ^a
	F=0	4.35 ± 0.057 ^a	22.28 ± 0.064 ^a	33.92 ± 0.059 ^b	40.54 ± 0.086 ^b	65.12 ± 0.035 ^a
نر Male	0<F<5	4.30 ± 0.043 ^a	21.42 ± 0.048 ^b	30.51 ± 0.037 ^c	40.92 ± 0.061 ^a	64.88 ± 0.004 ^b
	F>5	3.77 ± 0.008 ^b	20.08 ± 0.036 ^c	34.93 ± 0.025 ^a	38.00 ± 0.008 ^c	65.04 ± 0.037 ^{ab}

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

¹Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

قابلیت‌های مادری در، قبل و بعد از تولد باعث کاهش میانگین صفات رشد برای بره‌های دو قلو شده بود.

هم‌خونی اثر معنی‌داری در میانگین صفات بره‌های تک قلو و دو قلو به جز صفت شش ماهگی داشت (p<0.05) که با نتایج گزارش شده در نژادهای مهربان و بلوچی (۱۵ و ۴۴) مغایر بود. تفاوت بین نتایج پژوهش حاضر و سایر گزارشات می‌تواند به دلیل اختلاف در اندازه جمعیت و میزان هم‌خونی متفاوت در گله‌های مختلف باشد.

جدول ۵ میانگین صفات در گروه‌های هم‌خون را بر اساس تیپ تولد نشان می‌دهد، در همه صفات میانگین تیپ تولد تک قلو بیشتر از تیپ دو قلو بود که با نتایج گزارش شده در نژاد بلوچی مطابقت داشت (۱۵). همچنین با نتایج گزارش شده در گوسفند مهربان متفاوت بود (۴۴). بیشتر بودن میانگین صفات رشد مورد مطالعه در بره‌های تک قلو نسبت به دو قلو را می‌توان مربوط به بهره‌گیری بیشتر بره‌های تک قلو نسبت به دو قلو از قابلیت‌های مادری مانند میزان انرژی، مواد غذایی، فضای رحمی و شیر تولیدی دانست. بنابراین تقسیم امکانات و

جدول ۵- میانگین صفات در گروه‌های هم‌خون بر اساس تیپ تولد^۱Table 5- Mean growth traits in different inbreeding class of animals by birth type¹

تیپ تولد Birth type	گروه‌های هم-خون Inbreeding groups	وزن تولد (کیلوگرم) Birth weight (kg)	وزن شیرگیری (کیلوگرم) Weaning weight (kg)	وزن شش ماهگی (کیلوگرم) 6 months weight (kg)	وزن نه ماهگی (کیلوگرم) 9 months weight (kg)	وزن یک‌سالگی (کیلوگرم) yearling weight (kg)
	F=0	4.30 ± 0.036 ^a	21.64 ± 0.052 ^a	33.18 ± 0.035 ^a	40.11 ± 0.096 ^a	65.54 ± 0.008 ^a
تک قلو	0<F<5	4.00 ± 0.017 ^b	21.02 ± 0.007 ^b	33.04 ± 0.067 ^a	39.73 ± 0.074 ^b	64.56 ± 0.042 ^c
Single	F>5	4.12 ± 0.074 ^{ab}	21.12 ± 0.049 ^b	33.14 ± 0.015 ^a	39.62 ± 0.034 ^b	64.93 ± 0.080 ^b
	F=0	4.29 ± 0.053 ^a	21.53 ± 0.021 ^a	33.13 ± 0.021 ^a	39.99 ± 0.004 ^a	65.09 ± 0.087 ^a
دو قلو	0<F<5	4.14 ± 0.033 ^{ab}	21.25 ± 0.083 ^b	33.12 ± 0.003 ^a	39.62 ± 0.056 ^b	64.87 ± 0.051 ^b
Twine	F>5	3.99 ± 0.018 ^b	20.99 ± 0.068 ^c	33.11 ± 0.017 ^a	39.85 ± 0.064 ^{ab}	64.96 ± 0.085 ^{ab}

^۱ میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).¹Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

برآورد شده کمتر از میزان واقعی آن باشد که این موضوع می‌تواند با روش محاسبه بر اساس شجره در ارتباط باشد (۴۳).

تفاوت در میانگین هم‌خونی را می‌توان به اندازه جمعیت و تعداد نسل‌های معادل نسبت داد، طوری که هر چه تعداد نسل‌های معادل کامل بیشتر باشد، احتمال یافتن جد مشترک بیشتر و برآورد میزان هم‌خونی دقیق‌تر می‌شود. با توجه به بیشترین مقدار هم‌خونی (۴۴/۶۷ درصد) می‌توان نتیجه گرفت که در جمعیت مورد مطالعه، آمیزش‌های بسیار نزدیک وجود داشته است ولی تعداد آن‌ها با توجه به مقدار پایین میانگین ضریب هم‌خونی کل جمعیت، کم بود.

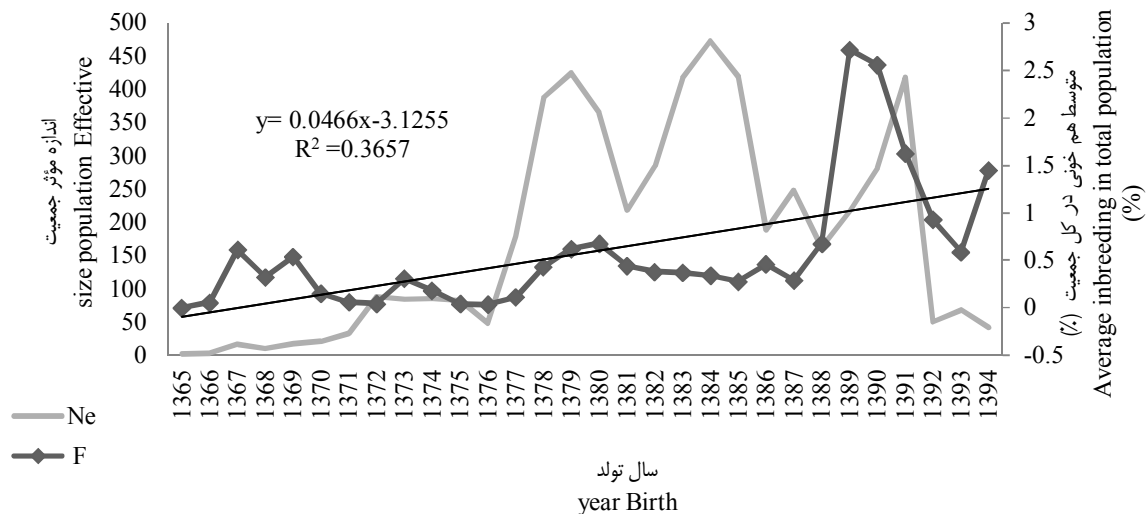
اندازه مؤثر جمعیت نشان دهنده حداقل تعداد اجداد لازم برای تشریح تنوع ژنتیکی جمعیت کنونی بوده که سهم زیادی در ایجاد این جمعیت دارد. هم‌خونی ارتباط مستقیمی با اندازه مؤثر جمعیت و تنوع ژنتیکی جمعیت دارد، به طوری که افزایش هم‌خونی در یک جمعیت می‌تواند نشان دهنده کاهش اندازه مؤثر جمعیت و در نتیجه کاهش تنوع ژنتیکی باشد (۳۸). میانگین اندازه مؤثر جمعیت مورد مطالعه ۱۷۷/۷۳ رأس برآورد شد که نسبت به مقادیر گزارش شده ۵۰، ۷۱، ۹۵، ۱۲۲، ۱۳۴ و ۱۶۶ رأس در نژادهای افشاری، زندی، سنگسری، فین شپ و بلوچی (۱۱، ۱۲، ۱۵، ۲۱، ۴۰ و ۴۱) بیشتر و نسبت به مقادیر گزارش شده ۲۱۶، ۲۷۶ و ۲۸۴ رأس در نژادهای ماکویی، مغانی و کرمانی (۲، ۲۷ و ۳۹) کمتر بود، که ممکن است دلیل این تفاوت‌ها ناشی از مشارکت نابرابر حیوانات مولد در تشکیل خزانه ژنی جمعیت مورد مطالعه باشد.

با کاهش اندازه مؤثر جمعیت میزان هم‌خونی افزایش می‌یابد. شکل ۱ روند تغییر هم‌خونی کل جمعیت و اندازه مؤثر جمعیت طی سال‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد، که با نتایج گزارش شده در نژادهای سانتا و بلوچی مطابقت داشت (۱۵ و ۳۲).

میانگین ضریب هم‌خونی کل جمعیت ۰/۵۸ درصد برآورد گردید. از تعداد ۳۹۴۰۸ رأس حیوان موجود در شجره، تنها ۶۵۷۸ رأس (۱۶/۶۹ درصد) هم‌خون بودند. با توجه به این که ۸۳/۳۱ درصد حیوانات غیرهم‌خون بودند، می‌توان نتیجه گرفت که تعداد آمیزش‌های خویشاوندی بسیار نزدیک در کل جمعیت تقریباً زیاد نبوده است یا این که به شدت از آمیزش‌های خویشاوندی نزدیک جلوگیری شده است.

میانگین ضریب هم‌خونی در این پژوهش، در دامنه نتایج گزارش شده برای این نژاد در پژوهش‌های دیگر بود. به طور مثال میانگین ضریب هم‌خونی نژاد مغانی (۶، ۱۴ و ۲۷) به ترتیب ۰/۵۱، ۰/۵ و ۰/۴ درصد گزارش شده بود. متوسط ضریب هم‌خونی این مطالعه نسبت به مقادیر گزارش شده ۰/۶۶، ۰/۵۲، ۱/۶۰، ۱/۹۵ و ۳/۱۷ درصد (۱، ۱۰، ۱۵، ۳۸ و ۳۹) در نژاد بلوچی کمتر بود که می‌توان مهم‌ترین علت آن را به تفاوت در ساختار جمعیت مورد مطالعه، اندازه جمعیت، سامانه‌های رکوردگیری و مدیریتی و دلایل دیگری مانند تعداد رکوردها مربوط دانست.

میانگین ضریب هم‌خونی بدست آمده در این گله نسبت به مقادیر گزارش شده ۰/۲۵، ۰/۲۸ و ۰/۳۳ درصد در نژادهای ماکویی، سنگسری و بومی لرستان بیشتر بود (۱، ۱۶ و ۲۴) که احتمال دارد ناشی از بیشتر بودن شاخص کامل بودن شجره و انجام آمیزش خویشاوندی در این گله باشد. همچنین نسبت به مقادیر گزارش شده ۰/۶۹، ۰/۹، ۰/۹۴، ۱/۲۲، ۱/۵۹، ۲/۳۳، ۴/۵۹ و ۷/۷۸ درصد در نژادهای زندی، لری بختیاری، قره گل، سانتا و ایران بلک کمتر بود (۱، ۵، ۲۳، ۲۹، ۳۲، ۳۴ و ۴۳) که می‌تواند به دلیل ناقص بودن شجره مورد استفاده (به علت وجود جمعیت پایه) و نامعلوم بودن تعدادی از اجداد مشترک و نوسانات مدیریتی، ممکن است میزان هم‌خونی



شکل ۱- روند تغییرات هم‌خونی کل جمعیت و اندازه مؤثر جمعیت به تفکیک سال
Figure 1- Trend of inbreeding in total population and effective population size by birth year

گذارد لذا ممکن است، در یک سال تعداد حیوانات غیرهم‌خون بیشتر شود که در این صورت میزان هم‌خونی کاهش می‌یابد و اگر در یک سال تعداد حیوانات هم‌خون افزایش و تعداد حیوانات غیرهم‌خون کاهش یابد، ممکن است میزان هم‌خونی افزایش یابد (۴۳).

میزان افزایش هم‌خونی ۰/۰۴۷ درصد در سال محاسبه شد که معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). میزان روند هم‌خونی بدست آمده در این پژوهش نسبت به مقادیر گزارش شده ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۲۷، ۰/۰۲۸ و ۰/۰۳۵ درصد در سال در نژادهای ماکویی، زندی، مغانی، سنگسری و بلوچی (۱، ۱۴ و ۲۴) بیشتر بود که احتمال دارد به دلیل استفاده از اطلاعات سال‌های بیشتر در این جمعیت باشد.

روند هم‌خونی برآورد شده در این مطالعه نسبت به مقادیر گزارش شده ۰/۰۹۸، ۰/۱۱۷، ۰/۱۵، ۰/۲۰ و ۰/۲۱ درصد در سال در نژادهای لری بختیاری، بلوچی، ایران بلک و بومی لرستان (۱۰، ۲۹، ۳۳، ۳۸ و ۴۳) کمتر بود که، مربوط به تفاوت نژادها از نظر سطح تکامل شجره، سیستم آمیزی و میزان کنترل جفت‌گیری‌ها باشد.

میانگین ضریب هم‌خونی جمعیت هم‌خون ۳/۴۷ درصد محاسبه شد که نسبت به مقادیر گزارش شده ۱/۷، ۱/۷۴، ۲/۰۶۲، ۲/۲۴ و ۲/۴ درصد در نژادهای زندی، مغانی، بومی لرستان، مهربان و لری بختیاری بیشتر بود (۱۴، ۲۳، ۳۳، ۳۳ و ۴۴) که ممکن است به علت آمیزش حیوانات هم‌خون و افزایش آمیزش‌های نزدیک در گله باشد. همچنین تعداد کمی از حیوانات در این گله هم‌خونی بالایی داشتند که نشان دهنده عدم شناخت خویشاوندان نزدیک در انجام آمیزش‌ها در جمعیت می‌باشد. از طرفی دیگر، این موضوع می‌تواند نشانگر

در بررسی روند هم‌خونی در کل جمعیت چندین مرحله قابل توجه است. مرحله اول بین سال‌های ۱۳۶۷ تا ۱۳۶۹ بود که طی این سال‌ها شجره نوسانات افزایشی و کاهش نشان داد که می‌تواند به دلیل عدم ثبت دقیق رکوردها، نامعلوم بودن اجداد مشترک در حیوانات شجره طی این سال‌ها باشد. مرحله دوم بین سال‌های ۱۳۷۲ تا ۱۳۷۳ بود که روندی افزایشی داشت که نشان دهنده بالا بودن تلاقی‌های خویشاوندان طی این سال‌ها می‌باشد. مرحله سوم بین سال‌های ۱۳۷۸ تا ۱۳۸۲ بود که روندی افزایشی و کاهش داشت که دلیل این نوسانات را می‌توان مربوط به نسبت قوچ مولد به میش مولد، درصد جابه‌جایی قوچ‌ها در گله، سطح تکامل شجره والدین استفاده شده، تغییر تعداد گوسفندان مرکز و اعمال مدیریت متفاوت طی این سال‌ها دانست.

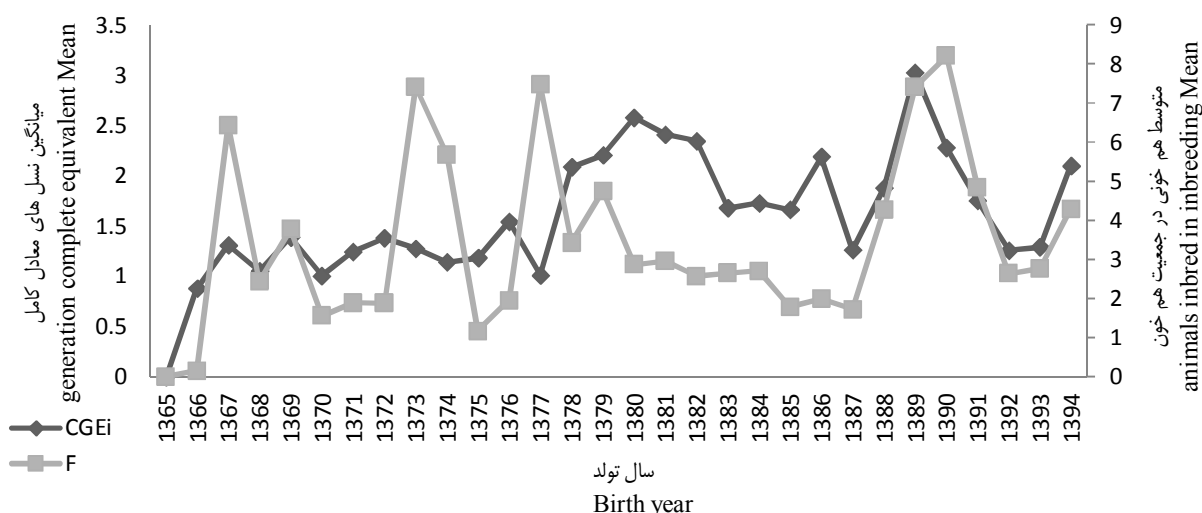
مرحله چهارم بین سال‌های ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۰ بود که روندی افزایشی داشت و مشخص کننده این موضوع می‌باشد که حیوانات متولد شده حاصل آمیزش‌های نزدیک دارای رابطه خویشاوندی می‌باشند. اگر چه در این دوره تعداد حیوانات نسبتاً افزایش یافته ولی افزایش چشمگیری در تعداد حیوانات هم‌خون وجود نداشت و این باعث کاهش میانگین هم‌خونی در سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۳ شده است. مرحله پنجم بین سال ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۴ بود که روند افزایش داشت که به دلیل کاهش تعداد کل حیوانات غیرهم‌خون و افزایش تعداد حیوانات هم‌خون بود.

روند هم‌خونی در طول سال‌های مورد بررسی مثبت و صعودی بود. در بررسی روند هم‌خونی در کل جمعیت باید توجه داشت که تعداد حیوانات غیرهم‌خون در هر سال بر میزان هم‌خونی تأثیر می‌

کم بودن تعداد افراد همخون باشد. کیفیت برآورد مقدار همخونی به دو عامل اصلی عمق و تکمیل بودن شجره و شدت انتخاب بستگی دارد. اغلب شدت انتخاب با استفاده از فناوری‌های تولیدمثلی متمرکز بر دام‌های برتر و روش‌های پیشرفته ارزیابی ژنتیکی افزایش می‌یابد. سطح بالای همخونی مشاهده شده برای برخی جمعیت‌ها ممکن است ناشی از تعداد کم حیوانات جمعیت پایه باشد (۴).

فقدان استفاده از برنامه‌های آمیزشی طراحی شده برای جلوگیری از میزان بالای همخونی در گوسفند مغانی باشد.

متوسط ضریب همخونی جمعیت همخون برآورد شده در این بررسی، نسبت به مقادیر گزارش شده ۳/۶۱، ۳/۷۷، ۴/۶۱، ۴/۸۶ و ۹/۳۳ درصد در نژادهای زندی، بلوچی، ماکویی و ایران بلک (۱، ۱۶ و ۲۹) کمتر بود که احتمال می‌رود به دلیل تفاوت‌های نژادی، عدم ثبت دقیق رکوردها، نامعلوم بودن اجداد مشترک شجره گله مورد بررسی و



شکل ۲- روند تغییرات همخونی جمعیت همخون و تعداد نسل‌های معادل کامل به تفکیک سال
Figure 2- Trend of inbreeding in inbred animals and mean equivalent complete generations by birth year

کنونی اشاره کرد، طوری که در سال‌های انتهایی ۸۷/۹۵ درصد حیوانات دارای والدین معلوم بودند، ولی در سال‌هایی ابتدایی، بیشتر حیوانات دارای یک یا دو والد نامعلوم بودند.

میانگین نسل معادل کامل در این پژوهش ۱/۶۰ بدست آمد که نسبت به مقادیر ۲/۲۲، ۲/۴۹، ۳/۱۵، ۵/۴۷ و ۷/۱ گزارش شده در نژادهای کرمانی، بلوچی، زندی و ایران بلک (۱۱، ۱۵، ۲۶، ۳۹ و ۴۱) کمتر بود. مقدار پایین نسل معادل کامل در این پژوهش نشان دهنده-ی ناقص بودن شجره و عمق کم شجره مورد بررسی بود که به دلیل کوچک بودن اندازه مؤثر جمعیت کاهش تنوع ژنتیکی قابل انتظار بود (۱۷).

مدل مناسب برای برآورد اثر همخونی بر صفات مورد مطالعه و نتایج مربوط به آزمون معیار آکائیک (AIC) برای تعیین مناسب‌ترین مدل بدون در نظر گرفتن همخونی در مدل و با در نظر گرفتن هم-خونی در جداول ۶ و ۷ نشان داده شده است. مدلی که کمترین معیار آکائیک را داشت به عنوان مناسب‌ترین مدل انتخاب شد. این معیار نشان می‌دهد که استفاده از یک مدل آماری به چه میزان باعث از

شکل ۲ روند تغییرات همخونی در جمعیت همخون و تعداد نسل-های معادل کامل را نشان می‌دهد. میزان تکامل شجره تأثیر مستقیمی در برآورد ضریب همخونی جمعیت دارد، زیرا با افزایش سطح تکامل شجره احتمال یافتن جد مشترک برای افراد نسل حاضر بیشتر می‌شود (۸). روند تغییرات CGE در این سال‌ها با روند تغییرات همخونی مطابقت زیادی داشت. در طی سال‌های مورد مطالعه نوسانات همخونی کمتر شد و سطح تکامل شجره حیواناتی که در این سال‌ها به عنوان والدین استفاده شدند افزایش مجدد یافت. این موضوع می‌تواند از دلایل احتمالی تطابق روند تغییرات CGE با روند نوسانات همخونی به میزان زیاد باشد. روند تغییرات همخونی در جمعیت همخون و تعداد نسل‌های معادل کامل پژوهش حاضر، با روند گزارش شده در پژوهشی (۲۷) متفاوت بود، که می‌تواند به علت تفاوت در تعداد رکوردها و سال‌های مورد بررسی باشد.

با مطالعه جمعیت مورد بررسی از نسل کنونی به طرف نسل‌های ابتدایی، روند کاهشی در تعداد حیوانات مشاهده گردید. از دلایل این شیب کاهشی می‌توان به تعداد حیوانات با والدین معلوم بیشتر در نسل

دست رفتن اطلاعات می‌شود. به عبارت دیگر، این معیار تعادلی میان دقت مدل و پیچیدگی آن برقرار می‌کند (۹).

جدول ۶- معیار آکانیک برای صفات بدون در نظر گرفتن هم‌خونی در مدل

Table 6- AIC values for traits without considering the inbreeding in model

مدل Model	وزن تولد Birth weight	وزن شیرگیری Weaning weight	وزن شش ماهگی 6 months weight	وزن نه ماهگی 9 months weight	وزن یک‌سالگی yearling weight
1	72559.241	-62055.256	-12599.366	-9741.256	-5040.781
2	72565.751	-62049.613	-12600.312	-9739.004	-5039.185
3	72499.123	-62050.781	-12600.987	-9738.751	-5048.856
4	72558.785	-62050.885	-12601.154	-9740.152	-5050.785
5	72550.265	-62053.451	-12608.112	-9743.254	-5050.998
6	72551.312	-62053.875	-12611.345	-9750.015	-5051.452
7	72551.012	-62054.654	-12624.456	-9750.998	-5076.722
8	72552.562	-62055.754	-12630.182	-9760.410	-5079.562
9	72478.155	-62057.325	-12624.895	-9752.452	-5089.623
10	72500.025	-62058.954	-12654.452	-9765.574	-5087.456
11	72501.514	-62059.635	-12659.018	-9766.014	-5098.785
12	72498.652	-62060.879	-12660.580	-9769.874	-5078.256

جدول ۷- معیار آکانیک برای صفات با در نظر گرفتن هم‌خونی در مدل (مناسب‌ترین مدل پررنگ نوشته شده است)

Table 7- AIC values for traits considering the inbreeding in model (best model is bold)

مدل Model	وزن تولد Birth weight	وزن شیرگیری Weaning weight	وزن شش ماهگی 6 months weight	وزن نه ماهگی 9 months weight	وزن یک‌سالگی yearling weight
1	72399.620	-62163.322	-12604.726	-9843.185	-5224.961
2	72399.919	-62161.316	-12602.704	-9841.180	-5222.955
3	72139.931	-62163.317	-12604.734	-9841.003	-5229.818
4	72460.743	-62168.203	-12611.960	-9839.142	-5223.145
5	72147.162	-62170.820	-12643.382	-9838.961	-5225.541
6	72138.930	-62174.185	-12647.135	-9838.992	-5301.743
7	72137.930	-62180.313	-12649.014	-9842.553	-5303.640
8	72423.061	-62184.417	-12651.003	-9843.541	-5307.842
9	72458.743	-62181.085	-12687.514	-9848.069	-5310.582
10	72425.061	-62166.852	-12691.391	-9847.132	-5311.013
11	72310.003	-62167.132	-12690.503	-9847.034	-5311.117
12	72308.002	-62169.145	-12691.130	-9848.017	-5311.987

مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری نداشت ($p>0.05$). تأثیر غیرمعنی‌دار هم‌خونی بر صفات وزن تولد، شیرگیری و نه ماهگی می‌تواند ناشی از سطح پایین هم‌خونی در گله و کمتر بودن میزان غالبیت در مکان‌های ژنی کنترل‌کننده این صفات باشد (۲۴).

جدول ۸ میزان تابعیت صفات از هم‌خونی را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، به ازای افزایش یک درصد هم‌خونی در گله صفات وزن تولد، شیرگیری، شش ماهگی، نه ماهگی و یک-سالگی به ترتیب ۵/۹۴، ۱۹/۰۳، ۲۰/۲۳، ۳۵/۲۶ و ۳۸/۷۴ گرم کاهش یافت که به جز صفات وزن شش ماهگی و یک‌سالگی در بقیه صفات

گزارش شده (۱۵ و ۲۴) در نژادهای مغانی، سنگسری و بلوچی بیشتر بود احتمال دارد ناشی از تفاوت تعداد رکوردها و اندازه مؤثر جمعیت باشد.

همچنین برای صفت وزن ۹ ماهگی میزان افت ناشی از هم‌خونی بدست آمده، در مقایسه با مقادیر گزارش شده ۴/۵، ۴/۰۹، ۱۰، ۱۹ و ۲۰/۹۲ گرم در نژادهای مهربان، بومی لرستان، بلوچی، مغانی و سنگسری (۶، ۱۵، ۲۴، ۳۳ و ۴۴) بیشتر و نسبت به مقادیر گزارش شده ۱۵۰، ۱۶۸ و ۱۹۳/۱ گرم در نژادهای درومر، قره گل و لری بختیاری (۳، ۳۳ و ۴۲) کمتر بود. تفاوت نتایج بدست آمده در این پژوهش با نتایج گزارش شده توسط پژوهشگران مختلف می‌تواند به علت تفاوت در نژاد، مقدار هم‌خونی و روند هم‌خونی در گله‌های تحت مطالعه، اندازه مؤثر جمعیت و تعداد نسل‌های معادل کامل باشد.

علاوه بر این، میزان افت ناشی از هم‌خونی صفت وزن یک‌سالگی نسبت به مقادیر گزارش شده ۴۲، ۹۸/۶۵، ۱۳۱، ۱۷۸ و ۲۳۴ گرم در نژادهای مغانی، مهربان، بلوچی، درومر و لری بختیاری (۶، ۱۵، ۲۳، ۴۲ و ۴۴) کمتر بود که می‌تواند ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی یا اختلافات در میزان هم‌خونی و اختلافات بین حیوانات (سن، جنس و تیپ تولد) در جمعیت‌های مورد بررسی باشد. همچنین نسبت به مقادیر ۱۷ و ۲۹/۴۶ گرم گزارش شده (۳ و ۲۴) بیشتر بود که ممکن است علت افت ناشی از هم‌خونی بیشتر مربوط به بالا بودن میزان هموزیگوسیتی و کاهش نقش اثرات ژن‌های غیرافزایشی در میانگین صفات، کاهش درجه شایستگی و افزایش احتمال جفت شدن ژن‌های نامطلوب مغلوب با افزایش هم‌خونی باشد.

با توجه به میزان تأثیر کم افت ناشی از هم‌خونی بر صفات رشد مورد مطالعه که موضوعی مطلوب محسوب می‌شود، پیشنهاد می‌گردد که با وجود پایین بودن نرخ کنونی آمیزش خویشاوندی در این جمعیت، این روند در سال‌های بعدی نیز تداوم یابد.

نتیجه‌گیری

با توجه به تأثیر معنی‌دار هم‌خونی بر برخی از صفات رشد مورد مطالعه و به منظور جلوگیری از افزایش اثرات نامطلوب هم‌خونی، توصیه می‌شود نظارت بر پارامترهای مرتبط با تنوع ژنتیکی این جمعیت به طور مداوم انجام شود تا از کاهش تنوع ژنتیکی ناشی از افزایش هم‌خونی جلوگیری شود. همچنین لازم است، جهت جلوگیری از افزایش هم‌خونی در این نژاد یک برنامه دقیق کنترلی برای تلاقی حیوانات در نظر گرفته شود تا آمیزش بین افراد خویشاوند به صورت کنترل شده انجام شود.

جدول ۸- ضریب تابعیت صفات به ازای یک درصد افزایش هم‌خونی

Table 8- Regression coefficient traits for a 1 % increase in inbreeding

صفات Traits	میانگین (کیلوگرم) Mean (kg)	ضریب تابعیت (گرم) Regression coefficient (gr)
وزن تولد Birth weight	4.42	-5.94
وزن شیرگیری Weaning weight	21.00	-19.03
وزن شش ماهگی 6 months weight	33.12	-20.23
وزن نه ماهگی 9 months weight	39.82	-35.26
وزن یک‌سالگی yearling weight	65.01	-38.74

میزان افت ناشی از هم‌خونی بدست آمده برای صفت وزن تولد نسبت به مقادیر گزارش شده ۰/۵ گرم در نژاد لری بختیاری، ۴ گرم در نژادهای مغانی، بومی لرستان و درومر، ۱/۴۶ گرم در نژاد سنگسری و ۵ گرم در نژاد قره گل (۳، ۱۴، ۲۴، ۳۳، ۴۲ و ۴۳) بیشتر و نسبت به مقادیر گزارش شده ۶/۳۴ و ۱۷ گرم در نژاد مهربان و مغانی (۶ و ۴۴) کمتر بود که دلیل این تفاوت‌ها ممکن است ناشی از تفاوت اثر هم‌خونی بر صفت مورد بررسی به دلیل تنوع ژنتیکی در جمعیت پایه، مکان پرورش دام‌ها و مدیریت گله باشد.

برای صفت وزن شیرگیری میزان افت ناشی از هم‌خونی برآورد شده در مقایسه با مقادیر گزارش شده ۷/۷۳ و ۱۴/۶۸ گرم در نژادهای سنگسری و مهربان (۲۴ و ۴۴) بیشتر بود که می‌تواند به دلیل تفاوت تعداد رکوردها و اندازه مؤثر جمعیت و دلایل دیگری مانند تفاوت هم‌خونی در گله‌های مورد مطالعه باشد. همچنین مقدار افت ناشی از هم‌خونی صفت وزن شیرگیری نسبت به مقادیر گزارش شده ۲۰/۳، ۳۸، ۳۹، ۶۸ و ۱۰۹/۸ گرم (۳، ۱۴، ۲۳، ۴۲ و ۴۳) در نژادهای بومی لرستان، درومر، قره گل، مغانی و لری بختیاری کمتر بود که می‌تواند به علت تفاوت در میزان هم‌خونی، تفاوت‌های بین نژادی و روند متفاوت هم‌خونی در جمعیت‌های مورد بررسی باشد.

میزان افت ناشی از هم‌خونی برای صفت وزن شش ماهگی محاسبه شده در این پژوهش نسبت به مقادیر، ۲۶، ۴۸، ۱۱۷، ۱۳۹، ۲۴۷ و ۲۸۳/۶ گرم گزارش شده در نژادهای مغانی، مهربان، قره گل، درومر، بومی لرستان و لری بختیاری (۳، ۶، ۳۳، ۴۳ و ۴۴) کمتر بود که احتمال دارد ناشی از تفاوت‌های مدیریتی و محیطی در جمعیت‌های مورد مطالعه باشد. همچنین نسبت به مقادیر ۱۴/۸۷ و ۱۸ گرم

- 1- Almasi, M., A. Rashidi, M. Razmkabir, and M. M. Gholambabaeian. 2015. Estimation of inbreeding coefficient and its effects on livestock survival in different sheep populations. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 7(3): 340-346. (In Persian).
- 2- Bahreini Behzadi, M. R., and Keshavarzpour, M. 2015. A study on genetic structure of Kermani sheep by using pedigree analysis in the Shahrabak sheep breeding station. *Journal of Livestock Research*, 3: 1-10. (In Persian).
- 3- Bahri Binabaj, F., H. Faraji Arough, M. Rokuei, M. Jafari, and M. R. Sheikhlou. 2015. Estimation of inbreeding depression on growth correlated traits in Karakul lambs. *Journal of Ruminant Research*, 2(4): 137-156. (In Persian).
- 4- Barczak, E., A. Wolc, J. Wojtowski, P. Slosarz, and T. Szwaczkowski. 2009. Inbreeding and inbreeding depression on body weight in sheep. *Journal of Animal and Feed Science*, 18: 42-50.
- 5- Ceyhan, A., A. Kaygisiz, and T. Sezenler. 2011. Effect of inbreeding on pre-weaning growth traits and survival rate on Sakiz sheep. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 21: 1-4.
- 6- Dorostkar, M., H. Faraji Arough, J. Shodja, S.A. Rafat, M. Rukouei, and H. Esfandyari. 2012. Inbreeding and inbreeding depression in Iranian Moghani sheep breed. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14: 549-556.
- 7- Duncan, D. B. 1955. Multiple ranges and multiple F-test. *Biometrics* 11: 1-42.
- 8- Falconer, D. S., and T. F. C Mackay. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*. 4th Longman Harlow UK. England.
- 9- Farhangfar, H., H. Naeemipour, and B. Zinvand. 2007. Application of random regression model to estimate genetic parameters for average daily gains in Lori-Bakhtiari sheep breed of Iran. *Pakistan Journal of Biology Science*, 10: 2407-2412.
- 10- Farhangfar, H., and G. Mottaghinia. 2013. A Study on the Effect of Inbreeding Depression on Growth Traits in Baluchi Sheep. *Research on Animal Production*, 4(7): 92-105. (In Persian).
- 11- Ghafouri Kesbi, F. 2010. Analysis of genetic diversity in a close population of Zandi sheep using genealogical information. *Journal of Genetic*, 89: 479-483.
- 12- Ghafouri Kesbi, F. 2012. Using pedigree information to study genetic diversity and re-evaluating a selection program in an experimental flock of Afshari sheep. *Archives Animal Breeding*, 4: 375-384.
- 13- Ghavi Hossein Zadeh, N. 2015. Genetic analysis of average daily gain and Kleiber ratios in Moghani sheep. *Research on Animal Production*, 6(11): 108-119. (In Persian).
- 14- Gholambabaeian, M., A. Rashidi, M. Razmkabir, and E. Mirza Mohammadi. 2012. Estimation of inbreeding coefficient and its effect on pre-weaning traits in Moghani sheep. 5th Congress on Animal science Isfahan University of Technology. (In Persian).
- 15- Gholizadeh, M., and F. Ghafouri Kesbi. 2016. Inbreeding depression in growth traits of Baluchi sheep. *Small Ruminant Research*, 144: 184-190.
- 16- Jafari, S. 2014. Inbreeding and its effects on body weight, Kleiber ratio, body measurements, Greasy fleece weight and reproductive traits of Makoei sheep breed. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 4(2): 305-315.
- 17- Joezy Shekalogorabi, S., A. Maghsoudi, A. Taheri Yeganeh, and B. Rajabi Marand. 2016. Pedigree analysis of Cashmere goat breed of South Khorasan. *Italian Journal of Animal Science*, 15(4): 590-594.
- 18- Khaldari, M. 2006. *Principles of sheep and goat breeding*. Tehran Jahad Daneshgahi Publications. 503 pages. (In Persian).
- 19- Khojastehkey, M., A. A. Aslaminejad, A. A. Abbasi, and K. Nobari. 2015. Investigation the effect of a threshold trait levels on the accuracy of breeding value estimations and genetic, phenotypic and inbreeding trend in a breeding Flock. *Research on Animal Production*, 7(14): 173-179. (In Persian).

- 20- Kosgey, I. S., and A. M. Okeyo. 2007. Genetic improvement of small ruminants in low-input, smallholder production systems: technical and infra-structural issues. *Small Ruminant Research*, 70: 76-88.
- 21- Li, M. H., I. Stranden, and Kantanen, J. 2009. Genetic diversity and pedigree analysis of the Finnish sheep breed. *Journal of Animal Science*, 87: 1598-1605
- 22- Meyer, K. 2007. Wombat- A tool for mixed model analyses in quantitative genetics by REML.
- 23- Mirza Mohammadi, E., and A. Rashidi. 2012. Estimation of genetic parameters and evaluation of inbreeding effects on birth weight and mortality in Zandi sheep. The 5th Congress on Animal Science, 561-565.
- 24- Mirzaee Ilaly, M., S. Hassani, M. Ahani Azari, R. Abdollahpour, and S. Naghavian. 2017. Estimation of inbreeding and its effects on growth traits in Sangsari sheep. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 9(1): 135-145. (In Persian).
- 25- Mohammadi, K., A. Rashidi, M. S. Mokhtari, and M. T. Beigi Nassiri. 2011. The estimation of (co)variance components for growth traits and Kleiber ratios in Zandi sheep. *Small Ruminant Research*, 99: 116-121.
- 26- Mokhtari, M. S., M. Moradi Shahrababak, A. K. Esmailizadeh, R. Abdollahi Arpanahi, and J. P. Gutierrez. 2014. Pedigree analysis of Iran Black sheep and inbreeding effects on growth and reproduction traits. *Small Ruminant Research*, 116: 14-20.
- 27- Mokhtari, M. S., S. R. Miraei Ashtiani, M. Jafaroghli, and J. P. Gutiérrez. 2015. Studying genetic diversity in Moghani sheep using pedigree analysis. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17: 1151-1160.
- 28- Mokhtari, M. S., M. Moghbeli Damaneh, and J. P. Gutierrez. 2017. Genetic variability and population structure of Raeini Cashmere goats determined by pedigree analysis. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 5(1): 43-50.
- 29- Mottaghinia, G., H. Farhangfar, and M. Janati. 2009. A study of inbreeding trend and its effect on wool weight of Baluchi sheep in Abbas Abad breeding center of Mashhad. *Animal Science Researches*, 22(2): 129-121.
- 30- Naghavian, S., S. Hasani, M. Ahani Azari, A. R. Khanahmadi, D. A. Saghi, and N. B. Mamizadeh. 2014. Genetic diversity in Shirvan Kordi sheep using microsatellite markers and compared to estimation of inbreeding coefficient using pedigree. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 24(1): 93-105. (In Persian).
- 31- Norberg, E. and A. C. Sørensen. 2007. Inbreeding trend and inbreeding depression in the Danish populations of Texel, Shropshire, and Oxford Down. *Journal of Animal Science*, 85: 299-257.
- 32- Pedrosa, V. B., J. R. M. L. Santana, P. S. Oliverira, J. P. Eler, and J. B. S. Ferraz. 2010. Population structure and inbreeding effects on growth traits of Santa Inês sheep in Brazil. *Small Ruminant Research*, 93: 135-139.
- 33- Rashedi Dehsahraei, A., J. Fayazi, and M. Vatankhah. 2013. Investigating inbreeding trend and its impact on growth traits of Lori-Bakhtiari Sheep. *Journal of Ruminant Research*, 1(3): 65-78. (In Persian).
- 34- Rashidi, A., M. S. Mokhtari, and J. P. Gutierrez. 2015. Pedigree analysis and inbreeding effects on early growth traits and greasy fleece weight in Markhoz goat. *Small Ruminant Research*, 124: 1-83.
- 35- Rzewuska, K., J. Klewicz, and E. Martyniuk. 2005. A closed flock of Booroola sheep. *Journal of Animal Reproduction Science*, 23: 237-247.
- 36- Sargolzaei, M., H. Iwaisaki, and J. Jacques Colleau. 2006. A software package for pedigree analysis and monitoring genetic diversity.
- 37- Savar Sofla, S., M. A. Abbasi, A. Nejati Javari, R. Vaez Tarshizi, and M. Chamani. 2011. Estimation of parameters and genetic and phenotypic trends of reproductive traits in Moghani sheep. *Journal of Animal Science and Research*, 6: 75-86. (In Persian).
- 38- Sheikhlou, M. R., M. Tahmourstpor, and A. A. Slamy Nejad. 2012. Investigate of inbreeding of Baluchi sheep at Abbas Abad breeding center in Mashhad. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 3(4): 453-458. (In Persian).

- 39- Sheikhlou, M. R., M. Tahmoorespur, and A. A. Aslami Nejad. 2013. Study of genetic variability of breeding flock of Makooyi sheep using pedigree analysis. 1th National Conference on Livestock and Poultry Production in Northern Iran, Sari, Iran. 1116-1120. (In Persian).
- 40- Sheikhlou, M. R., M. Ahmadi, and M. Shahhoseini. 2017. Pedigree analysis of the closed nucleus of Iranian Sangsari sheep. *Journal of Research in Agriculture and Animal Science*, 4(10): 1-7.
- 41- Tahmoorespur, M., and M. R. Sheikhlou. 2011. Pedigree analysis of the closed nucleus of Iranian Baluchi sheep. *Small Ruminant Research*, 99: 1-6.
- 42- Van Wyk, J. B., M. D. Fair, and S. W. P. Cloete. 2009. Case Study: The effect of inbreeding on the production and reproduction traits in the Elsenburg Donner sheep stud. *Livestock Science*, 120: 218-224.
- 43- Yeganehpor, Z., H. A. Roshan Fekr, J. Fayazi, M. H. Biran Vand, and M. Gader Zadeh. 2015. Study the structure of the tree and drop effects of inbreeding on growth traits the native sheep province. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 7(2): 199-207. (In Persian).
- 44- Yavarifard, R., N. Ghavi Hossein Zadeh, and A. A. Shadparvar. 2014. Population genetic structure analysis and effect of inbreeding on body weights at different ages in Iranian Mehraban sheep. *Journal of Animal Science and Technology*, 56(1): 31-40.



Inbreeding Investigation and its Effects on Growth Traits of Moghani Sheep Breed Using Pedigree

R. Behmaram^{1*} - M. Esrafil Tazeh Kand Mohammadiyeh²

Received: 21-12-2017

Accepted: 10-04-2018

Introduction Moghani sheep breed with 2.5 million numbers is one the most important meat breeds among fatty tail sheep. The main center for keeping this breed is Moghan plain, but there is in the regions like Meshkin Shahr, Sarab, Ardabil and the other provinces. Inbreeding also impairs growth, production, health, reproduction and survival of inbred animals. A complete pedigree is also necessary for an accurate evaluation of inbreeding and other important population parameters. This research was done for pedigree analysis, estimation of inbreeding coefficient and investigation of its effect on growth traits by regarding to importance of growth traits in economic benefit of sheep farming.

Materials and Methods Information of pedigree and growth traits (birth weight, weaning weight, 6 months weight, 9 months weight and 1 yearling weight) of available animals at breeding station of Moghani sheep were used for calculating of inbreeding and survey of its effects on growth traits of Moghani sheep. In this study, 16058 records of birth weight, 2145 weaning weight records, 2028 6 months weight records, 1319 records of 9 months weight and 1232 1 yearling weight records that were collected in 30 years (between 1987 to 2016) were used. For data preparation and editing and estimation of inbreeding coefficient Excel, Fox Pro and CFC soft wares were used respectively. For inbreeding effect analysis on related traits Wombat software and Restricted maximum likelihood method by using 12 animal models and considering of inbreeding in model as a covariate was used. The most appropriate model according to Akaike Criterion was selected. The statistical analysis of data was done by using of Duncan means test and GLM procedure of SAS 9.2 software.

Results and Discussion In this research 48.30 % of animals have known sire and dam. The number of records of studied growth traits with age increasing had downward trend that may cause to elimination of some lambs or not registering of data in higher ages. For all of the traits, most of the animals had zero inbreeding coefficient, so that 83.31 % of population had zero inbreeding coefficient. 13.50 % of all population that is equivalent with 80.89 % of inbred population had inbreeding coefficient less than 5 %. In studied population, only 3.19 % of all population that is equivalent by 19.11 % of inbred population had inbreeding coefficient more than 5 %. Generation interval in four pathway including sire-son, sire-daughter, dam-son and dam-daughter was calculated 3.15 ± 0.053 , 3.26 ± 0.093 , 3.46 ± 0.015 and 3.57 ± 0.036 years respectively. Average generation interval of dam-progeny (3.51 ± 0.007 years) rather than sire-progeny (3.21 ± 0.064 years) was more. The shorter generation interval in sire-progeny pathway may be related to difference in replacement age of males and females. In other words, sooner replacement of males in studied herd might be one of reasons for shorter generation interval in sire-progeny pathway. The

1,2- Assistant Professor and Former MSc. student, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

(*-Corresponding Author Email: behmaram.reza@yahoo.ca)

average generation interval was estimated 3.36 ± 0.069 years. In all of traits, the non inbreds had more average compare with inbreds. In this study, male lambs in all traits had more average compare with female lambs that showed effects of sex on growth traits of Moghani lambs. The traits average of single lambs was more than twin lambs that may be related to more utilization of these lambs of maternal abilities. The results showed that 16.69 % of all population were inbred. The average of total population inbreeding coefficient was estimated 0.58 % that was in reported results range for this breed in other researches. The average inbreeding coefficient in inbred population and the highest inbreeding amount in herd was 3.47 and 44.67 % respectively. By evaluation of studied population form current generation to primary generation, decreasing trend in animals' number was observed that may be related to a greater number of animals with known parents in current generation. The effective number of population was estimated 177.37. With reducing of effective number in population, the amount of inbreeding will increase. The increasing amount of inbreeding was 0.047 % in each year that was not significant. The inbreeding trend in studied years was positive and ascending with low swings. Average equivalent complete generations as a scale of pedigree completeness estimated 1.60. The low amount of equivalent complete generations can be related to incomplete and low depth of pedigree. The low effective number of population resulted in decreasing of genetic variation. Inbreeding depression for 1 % inbreeding for birth weight, weaning weight, 6 months weight, 9 months weight and 1 yearling weight were estimated 5.94, 19.03, 20.23, 35.26 and 38.74 gram that except 6 months weight and 1 yearling weight had not significant effect on the other traits. Having not a significant effect of inbreeding on birth weight, weaning weight and 9 months weight may cause to low level of inbreeding in herd and the low existence of dominance at controller genets of these traits. Regarding to the little effect of inbreeding depression on studied traits that is an optimal subject, it can be suggested by being low rate of inbreeding in this population, this trend persist in future years.

Conclusion By regarding the significant effect of inbreeding on some growth traits and for prevention of undesirable effects of inbreeding, it can be recommended an ongoing supervision be done on related parameters to genetic variation at this population to Reduce the genetic diversity caused by increased inbreeding.

Keywords: Equivalent complete generation, Growth traits, Inbreeding, Mating, Moghani sheep.



بررسی ساختار ژنتیکی و روابط فیلوژنی اسب‌های کاسپین، عرب و تالشی

رضا سید شریفی^{۱*} - سجاد بادبرین^۲ - نعمت هدایت ایوریق^۱ - سیما ساور سفلی^۳ - جمال سیف دواتی^۱ - حسن خمیس آبادی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۱/۲۹

چکیده

نژادهای بومی به دلیل دارای بودن ویژگی‌های منحصر به فرد، جزء ذخایر ژنتیکی کشور محسوب شده و شناخت بیشتر ساختار ژنتیکی آنها به حفظ و حراست آنها و تدوین برنامه‌های اصلاح نژادی کمک خواهد کرد. در این پژوهش تنوع ژنتیکی ۱۳۶ رأس اسب از سه نژاد ایرانی (کاسپین، عرب و تالشی) با استفاده از ۱۲ نشانگر ریزماهوره توصیه شده توسط انجمن بین المللی ژنتیک حیوانی، مورد بررسی قرار گرفت. تمام نشانگرهای استفاده شده چند شکل بودند و نشانگرهای ASB17 با ۱۲ آلل و HMS6 با ۶ آلل به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد آلل را تولید کردند. بیشترین کمترین میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار به ترتیب در نشانگرهای VHL20 (۰/۷۸) و ASB23 (۰/۶۲) محاسبه شد. میانگین شاخص شانون برای همه جایگاه‌ها برابر با ۱/۷۲ به دست آمد. در نمودار فیلوژنی رسم شده با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA (۱۴)، اسب‌های کاسپین و تالشی در یک شاخه و اسب‌های عرب در شاخه جداگانه قرار گرفت. آنالیز واریانس مولکولی نشان داد که تنوع ژنتیکی زیادی در درون نژادهای بررسی شده وجود دارد و با توجه به جمعیت کم اسب‌های تالشی و کاسپین، پیشنهاد می‌شود برنامه‌های اصلاح نژادی جهت بهبود کارایی و جلوگیری از انقراض آنها تا رسیدن به سطح امن طراحی و اجرا گردد.

واژه‌های کلیدی: اسب‌های تالشی، تنوع ژنتیکی، روابط فیلوژنی، کاسپین و عرب، نشانگرهای ریزماهوره.

مقدمه

و بیشتر جهت حمل و نقل و کار استفاده می‌شوند. اسب‌های عرب جمعیت زیادی از اسب‌های کشور را شامل می‌شوند و در سراسر کشور پراکنده هستند در حالی که محل پراکنش اسب‌های کاسپین و تالشی در حاشیه‌های دریای خزر است و جمعیت کمی دارند و در معرض خطر انقراض هستند. با ماشینی شدن زندگی و استفاده از وسایل موتوری جهت حمل و نقل و کار، جمعیت اسب‌ها به شدت در حال کاهش است و حتی بعضی از نژادها منقرض شده‌اند (۵). شناخت بیشتر از ساختار ژنتیکی نژادهای بومی نقش مهمی در حفاظت و مدیریت ژنتیکی آنها در آینده خواهد داشت (۲۰).

نشانگرهای ریزماهوره کاربرد زیادی در بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها و نژادهای مختلف داشته و به عنوان یک ابزار تکمیلی به همراه سایر نشانگرهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در بررسی روابط فیلوژنتیک مورد استفاده قرار گرفته است (۴، ۸، ۹ و ۲۰). پژوهش‌های پیشین نشان داده است که نشانگرهای ریزماهوره برای بررسی تنوع ژنتیکی نژادهای اسب نیز کارایی بالایی داشته و اطلاعات خوبی برای حفاظت از نژادهای در خطر انقراض فراهم می‌کند. با توجه به اینکه پژوهش‌های متعددی در سراسر دنیا در زمینه تعیین تنوع ژنتیکی

امروزه نژادهای اسب زیادی بر اساس صفات مورفولوژیکی، منشاء جغرافیایی و کارایی آنها طبقه بندی شده‌اند. تنوع آب و هوایی و قدمت تاریخی کشور سبب به وجود آمدن نژادهای منحصر به فرد شده است. اسب‌های کاسپین، تالشی و عرب سه نژاد منحصر به فرد اسب کشور هستند که خصوصیات مشترکی دارند. اسب‌های عرب و کاسپین از قدیمی ترین و زیباترین اسب‌های دنیا هستند که اصالت و هوش بالایی دارند (۲ و ۱۶). اسب‌های تالشی مستحکم و قوی بوده

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

۲- استادیار، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران،
۳- استادیار، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

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

DOI: 10.22067/ijasr.v11i2.69408

استخراج DNA از فولیکول آنها به آزمایشگاه ارسال شد. استخراج DNA از ریشه مو و با استفاده از روش نمکی انجام گرفت. پس از تعیین غلظت و یکسان سازی غلظت DNAهای استخراج شده، کلیه افراد مورد مطالعه برای ۱۲ نشانگر ریزماهوره توصیه شده توسط انجمن ژنتیک حیوانی (ISAG) تعیین ژنوتیپ شدند (جدول ۱). ترکیب و غلظت واکنش زنجیره‌ای پلی مرز (PCR) شامل ۲/۵ میلی مول $MgCl_2$ ، ۰/۲ میکرومول از هر پرایمر، ۰/۲ میلی مول dNTPs، ۰/۷ واحد Taq پلی مرز در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر بود. واکنش تکثیر در دستگاه ترموسایکلر بیومترا ساخت کشور آلمان و با برنامه دمایی واسرشته سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، مرحله چرخه‌ای به تعداد ۳۰ چرخه و شامل واسرشته سازی به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، اتصال آغازگرها به مدت ۴۰ ثانیه در دمای ۵۸ درجه سلسیوس، تکثیر DNA به مدت ۵۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس و بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس انجام گرفت. محصولات حاصل از واکنش PCR با استفاده از الکتروفورز ژل اکریل امید تفکیک و با استفاده از روش نیترا نقره نمایان شد. اندازه آل‌ها در مقایسه با شاخص اندازه PUC 8 تعیین و سپس وارد نرم افزار اکسل شد.

تعداد آل مشاهده شده (na) و موثر (ne)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He)، شاخص شانون (I)، ضریب درون آمیزی (F_{IS})، فاصله و شباهت ژنتیکی، تعادل هاردی واینبرگ و همچنین درخت فیلوژنی میان نژادهای مورد بررسی با استفاده از نرم افزار POPGENE 1.31 محاسبه گردید (۱۹). معمول‌ترین معیار محاسبه تنوع ژنتیکی در یک جمعیت مقادیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار است که برآوردی از میزان تنوع ژنتیکی برای نشانگرهای مورد بررسی در درون آن جمعیت را فراهم می کند و با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

$$Nei = 2n/2n-1(1-\sum P_{ii}^2) \quad (\text{رابطه ۱})$$

در این رابطه P_{ii} فراوانی آل‌های هموزیگوت نشانگر ریزماهوره مورد نظر می باشد. تنوع ژنتیکی بین و درون نژادها با استفاده از روش آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) و به کمک نرم افزار GENALEX 2.0 محاسبه شد (۱۵). برای محاسبه فاصله یا شباهت ژنتیکی بین تمام افراد موجود در تحقیق از ضریب تشابه جاکارد استفاده شد و گروه بندی آنها به روش UPGMA و با استفاده از نرم افزار NTSYS 2.02 انجام گردید (۱۴).

نژادها و توده‌های مختلف اسب انجام شده است (۱۱، ۱۲ و ۱۳). ابرل و همکاران (۱) تنوع ژنتیکی شش نژاد اسب آلمانی را با گروهی از اسب های سواری و وحشی با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره مقایسه کردند. در این پژوهش مشخص گردید که با وجود اندازه های جمعیت متفاوت، میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در میان نژادهای سنگین بسیار کم بود، اما به طور قابل توجهی پایین تر از نژادهای هانوروین و ایسلندی بود. گوپتا و همکاران (۶) با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره به بررسی تنوع ژنتیکی شش نژاد اسب هندی و مقایسه آن با تنوع ژنتیکی نژاد تاروپرد پرداختند. در این تحقیق هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در تمام نژادهای هندی بیشتر از نژاد تاروپرد محاسبه شد. همچنین جمالی و همکاران (۷) تنوع ژنتیکی شش نژاد اسب بومی تونس را با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره بررسی نمودند. در این تحقیق مشخص شد که تمایز ژنتیکی واضحی بین نژادهای بررسی شده وجود دارد و مقدار قابل توجهی از تنوع ژنتیکی در میان جمعیت است. اما در ایران تحقیقات کمی در این زمینه صورت گرفته است. در تحقیقات صورت گرفته در ایران تاکید شده است که نشانگرهای ریزماهوره به دلیل نشان دادن هتروزیگوسیتی بالا نشانگرهای خوبی جهت تعیین تنوع ژنتیکی اسبهای بومی کشور هستند. همچنین تنوع درون نژادی اسبهای کرد، ترکمن و کاسپین ایران به نسبت بالا محاسبه شده است (۲، ۳، ۱۷ و ۱۸). با توجه به اینکه تحقیقات محدود و یا با تعداد کمی نشانگر ریزماهوره روی اسبهای بومی کشور انجام شده است، پژوهش حاضر با هدف بررسی ساختار ژنتیکی سه نژاد اسب بومی ایران و ترسیم درخت فیلوژنی مربوطه با استفاده از ۱۲ نشانگر ریزماهوره توصیه شده توسط انجمن بین المللی ژنتیک حیوانی (ISAG) انجام گرفت.

مواد و روش

در این پژوهش از تعداد ۱۳۶ اسب از نژادهای تالشی (۲۵ نمونه)، کاسپین (۴۹ نمونه) و عرب (۶۲ نمونه) به صورت تصادفی و حتی الامکان غیرخویشاوند نمونه الباف (مو) تهیه شد. در مورد اسبهای تالشی از اسبهای تولید کنندگان محلی شمال استان گیلان، در مورد نژاد کاسپین از باشگاههای سوارکاری استانهای تهران و گیلان و در مورد نژاد عرب از باشگاههای سوارکاری استانهای تهران، خوزستان و البرز نمونه گیری صورت گرفت. تشخیص نژاد اسبها بر اساس کتابهای تبارنامه چاپ شده توسط فدراسیون سوارکاری و ویژگیهای فتوتیپی آنها صورت گرفت. نمونههای مو از یال اسبها گرفته شد و دقت شد که پیاز مو هم همراه با نمونهها باشد و سپس جهت

جدول ۱- نام نشانگر مورد استفاده، توالی، دمای اتصال، کروموزوم و محدوده اندازه آلی

Table 1- The name of the marker used, the sequence, the binding temperature, the chromosome, and the allele size range

نام نشانگر Marker name	کروموزوم Chromosome	محدوده آلی Alle range	شماره ثبت در NCBI Registration number in NCBI	دمای اتصال Connection temperature	توالی آغازگرهای رفت و برگشت Sequence of back and forth primers
AHT4	24	164-144	Y07733	58	F: AACCGCCTGAGCAAGGAAGT R: CCCAGAGAGTTTACCCT
AHT5	8	144-126	Y07732	58	F: ACGGACACATCCCTGCCTGC R: GCAGGCTAAGGAGGCTCAGC
ASB17	15	129-87	X93531	58	F: ACCATTCAGGATCTCCACCG R: GAGGGCGGTACCTTTGTACC
ASB2	2	250-216	X93516	54	F: CACTAAGTGTCTGTTTCAGAAAGG R: CACAAGTGTCTCTGATAGG
ASB23	3	211-175	Y93537	58	F: GAGGGCAGCAGGTTGGGAAGG R: ACATCCTGGTCAAATCACAGTCC
HMS3	9	170-148	X74632	58	F: CATCCTCACTTTTCACTTTGTT R: AACTCTTTGTACATAACAAGA
HMS6	4	169-151	X74635	58	F: AGCTGCCAGTATTCAACCATTG R: CCATCTTGTGAAGTGTAACCTCA
HMS7	1	185-165	X74636	58	F: TTGTTGAAACATACCTTGACTGT R: GGAAACTCATGTTGATACCATC
HTG10	21	115-95	AF169294	54	F: TTTTATTCTGATCTGTCACATTT R: AATTCCTCCGCCCCACCCCGGCA
HTG4	9	139-127	AF169165	55	F: TATCTCAGTCTTGATTGCAGGAC R: CTCCCTCCCTCCCTCTGTTCTC
LEX33	4	217-203	AF075635	58	F: TTTAATCAAAGGATTCAGTTG R: GGGACACTTTCTTTACTTTC
VHL20	30	105-87	X75970	60	F: AGTCCTCTTACTTGAAGACTAG R: ACTCAGGGAGAATCTTCCTCAG

نتایج و بحث

آل مشاهده شده به موثر نزدیک‌تر باشد نشان دهنده اثر مناسب‌تر آل‌ها در نشان دادن چندشکلی و تخمین تنوع ژنتیکی است. در تحقیقات پیشین میانگین تعداد آل مشاهده شده و مورد انتظار در اسب‌های کاسپین ۴/۱۲ و ۳/۱۸ به ترتیب محاسبه شده است (۲). با توجه به اینکه تعداد آل مشاهده شده و مورد انتظار به شدت تحت تاثیر تعداد افراد بررسی شده می باشد، بنابراین اختلاف این مقادیر می‌تواند به دلیل استفاده از تعداد نشانگرهای کمتر (۸ نشانگر) و یا اندازه جمعیت کوچکتر (۳۰ رأس) در مقایسه با پژوهش حاضر باشد. در پژوهش‌های دیگر که روی سایر نژادهای اسب صورت گرفته است میانگین تعداد آل‌های موثر متفاوتی گزارش شده است به طوری که در نژادهای بومی هند ۵/۷۵ (۶)، در نژادهای تونس ۳/۷۹ (۷) و در نژاد عرب ۳/۲۸ (۸) محاسبه شده است. مقایسه تعداد آل

تمام نشانگرهای مورد استفاده در این پژوهش، چند شکل بودند. بیشترین و کمترین تعداد آل مشاهده شده به ترتیب در جایگاه ASB17 با ۱۲ آل و HMS6 با ۶ آل مشاهده شد. همچنین بیشترین و کمترین تعداد آل موثر به ترتیب در جایگاه VHL20 (۶/۱۵) و HTG4 (۳/۴۰) محاسبه شد (جدول ۲). کمتر بودن تعداد آل‌های موثر از مشاهده شده نشان می‌دهد که تعداد زیادی از آل‌های آن جایگاه فراوانی کم و تعداد کمی آل دیگر فراوانی بیشتری دارند. میانگین تعداد آل مشاهده شده و موثر در تمام جایگاه‌ها به ترتیب برابر با ۸/۹۲ و ۴/۵۴ بود. با توجه به اختلاف نسبتاً زیاد این دو شاخص معلوم می‌شود که نشانگرهای استفاده شده کارایی نسبتاً خوبی برای محاسبه تنوع ژنتیکی داشته‌اند زیرا هرچه میانگین تعداد

های موثر حاصل از پژوهش حاضر با مطالعات قبلی تقریباً تطابق داشت.

بررسی تعادل هاردی واینبرگ به کمک آزمون مربع کای نشان داد که بجز نشانگرهای ASB2 و HMS3 در نژاد تالشی، نشانگرهای ASB17 و HTG4 در نژاد کاسپین و نشانگر ASB17 در نژاد عرب، همه نشانگرها انحراف معنی‌داری از تعادل هاردی واینبرگ داشتند ($P < 0.05$). بیشترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده مربوط به نشانگر AHT5 (۰/۸۱) و کمترین هتروزیگوت مشاهده شده مربوط به نشانگرهای ASB17 و HTG4 (۰/۶۸) بود. از آنجا که نشانگرهای با چند شکلی بالا اطلاعات بیشتری برای بررسی تنوع ژنتیکی فراهم می‌کنند، بنابراین نشانگر AHT5 در این پژوهش بیشترین میزان اطلاعات را فراهم کرده است. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار برای تمام نشانگرهای مورد استفاده در این تحقیق به نسبت بالا و به ترتیب برابر با ۰/۷۵ و ۰/۷۸ برآورد گردید (جدول ۲). نزدیکی این مقادیر به عدد ۱ نشان دهنده مناسب بودن نشانگرهای استفاده شده برای بررسی تنوع ژنتیکی اسب‌های بومی کشور هستند. در تحقیقات پیشین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در اسب‌های کاسپین به ترتیب برابر با ۰/۹۴۳ و ۰/۶۷۶ محاسبه شده است (۲). اختلاف مقادیر محاسبه شده در مقایسه با پژوهش حاضر

می‌تواند به دلیل اندازه کم جمعیت نمونه برداری شده باشد. همچنین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده در اسب‌های ترکمن صحرا، ترکمن جرجلان و کرد به ترتیب ۰/۳۱۶، ۰/۳۶۶ و ۰/۷۵۰ و میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار در اسب‌های ترکمن صحرا، ترکمن جرجلان و کرد نیز به ترتیب ۰/۳۱۶، ۰/۶۸۵ و ۰/۷۸۰ محاسبه شده است (۳ و ۱۸). در تحقیقات صورت گرفته روی اسب‌های دیگر کشورها نیز میزان هتروزیگوسیتی عموماً بالاتر از ۵۰ درصد محاسبه شده است (۴، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۱). بنابراین نشانگرهای ریزماهواره به دلیل هتروزیگوسیتی بالا، نشانگرهای کارآمدی جهت بررسی تنوع ژنتیکی نژادهای مختلف اسب هستند.

شاخص شانون نیز همانند هتروزیگوسیتی مشاهده شده، میزان تنوع ژنتیکی را نشان می‌دهد و به دلیل اینکه حداکثر مقدار آن برابر با $\ln(n)$ می‌باشد، برای بیان تنوع ژنتیکی جایگاه‌های با چند شکلی زیاد مفید است. بیشترین و کمترین مقدار شاخص شانون برابر با ۱/۹۶ و ۱/۴۶ به ترتیب مربوط به نشانگرهای VHL20 و HTG4 محاسبه شد. با توجه به اینکه نشانگر VHL20 بیشترین و نشانگر HTG4 کمترین تعداد آلل موثر را نشان دادند، بنابراین مقادیر محاسبه شده فوق برای شاخص شانون قابل توجیه است.

جدول ۲- نام نشانگر، تعداد آلل‌های مشاهده شده و موثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار و شاخص شانون

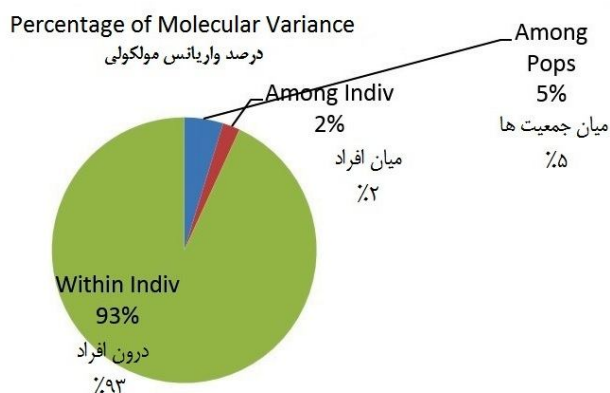
Table 2- The name of the marker, the number of observed and effective alleles, the observed and expected heterozygosity and the Shannon index

نام نشانگر	تعداد آلل مشاهده شده	تعداد آلل موثر	شاخص شانون	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	هتروزیگوسیتی مورد انتظار
Marker name	The number of alleles observed	Number of effective alleles	Shannon Indicator	Heterozygosity observed	Expected heterozygosity ¹
AHT4	10	5.15	1.83	0.79	0.81
AHT5	8	4.19	1.60	0.81	0.76
ASB17	12	3.67	1.73	0.68	0.73
ASB2	10	4.43	1.78	0.77	0.77
ASB23	10	5.02	1.81	0.72	0.80
HMS3	8	4.31	1.63	0.77	0.77
HMS6	6	4.56	1.61	0.76	0.78
HMS7	8	4.48	1.72	0.71	0.78
HTG10	10	4.86	1.83	0.74	0.79
HTG4	7	3.40	1.46	0.68	0.71
LEX33	8	4.31	1.65	0.79	0.77
VHL20	10	6.15	1.96	0.77	0.84
میانگین	8.92	4.54	1.72	0.75	0.78
Average					
انحراف استاندارد	1.68	0.71	0.13	0.04	0.03
Standard deviation					

¹ Nei's (14) unbiased expected heterozygosity

تحقیقات پیشین نیز میزان تنوع درون جمعیتی زیادی برای نژادهای کاسپین و عرب گزارش شده است (۲، ۸، ۹ و ۱۶). وجود تنوع ژنتیکی درون جمعیتی زیاد نشان دهنده ناهمگنی بیشتر در درون جمعیت مذکور بوده و امکان طراحی و اجرای برنامه‌های اصلاح نژادی بیشتری برای متخصصین اصلاح نژاد فراهم می‌آورد.

آنالیز واریانس مولکولی به عنوان یکی از شاخص‌های تقسیم تنوع ژنتیکی به مقادیر بین و داخل نژادها به کار می‌رود. با استفاده از این روش، تنوع ژنتیکی درون افراد ۹۳ درصد، تنوع ژنتیکی بین نژادی ۵ درصد و تنوع ژنتیکی بین افراد ۲ درصد محاسبه شد. این موضوع نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی محاسبه شده بیشتر در میان افراد درون نژادها بوده و بین نژادها تفاوت کمی وجود داشته است (شکل ۱). در



شکل ۱- نمودار تجزیه واریانس مولکولی بر روی تمام افراد مورد مطالعه بر اساس معیار Fs
Figure1- Molecular analysis of variance analysis on all subjects studied based on Fs criterion

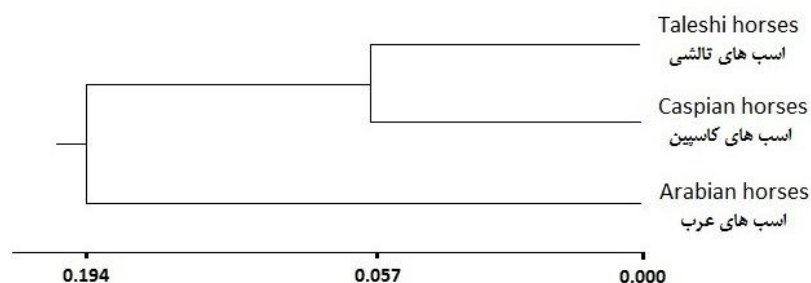
و خصوصیات مورفولوژیکی نژادهای مورد بررسی داشت. اسب‌های کاسپین و تالشی که شباهت ظاهری بیشتری به هم دارند و مناطق پراکنش آنها نزدیک به هم است، در یک شاخه قرار گرفتند و نژاد عرب هم در یک شاخه جداگانه قرار گرفت (شکل ۲). مارلتا و همکاران (۱۳) نیز با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره و تجزیه خوشه‌ای، اسب‌های ایتالیایی و اسپانیایی را به درستی در دو گروه متمایز ترسیم کردند. آنها پیشنهاد کردند که احتمالاً در گذشته مهاجرت کمی بین این دو گروه نژادی صورت گرفته است.

در پژوهش حاضر جریان ژنی بالایی در بین نژادهای مورد بررسی محاسبه شد. جریان ژنی موجب انتقال آلل‌ها از یک جمعیت به جمعیتی دیگر می‌شود و نقشی کلیدی در تغییر فراوانی آلل‌ها دارد. با توجه به اینکه جریان ژنی بالا به نظر می‌رسد اختلاط زیادی در بین این نژادها در زمان‌های قدیم صورت گرفته باشد. میزان فاصله ژنتیکی بین دو نژاد تالشی و کاسپین برابر با ۰/۰۵۷ و بین دو نژاد کاسپین و عرب نیز برابر با ۰/۸۲۴ برآورد شد (جدول ۳). بنابراین امکان دارد نژادهای بررسی شده منشأ نژادی یکسانی داشته باشند. دندروگرام رسم شده بر اساس روش فاصله ژنتیکی ناریب نئی و روش UPGMA (۱۴) همپوشانی خوبی با نواحی جغرافیایی پراکنش

جدول ۳- فاصله و شباهت ژنتیکی ناریب نئی بین نژادهای بررسی شده (۱۴)

Table 3- Distant and unbiased genetic similarity between examined species (14)

نژاد Breed	تالشی Taleshi	کاسپین Caspian	عرب Arab
تالشی Taleshi	****	0.945	0.877
کاسپین Caspian	0.057	****	0.824
عرب Arab	0.132	0.194	****

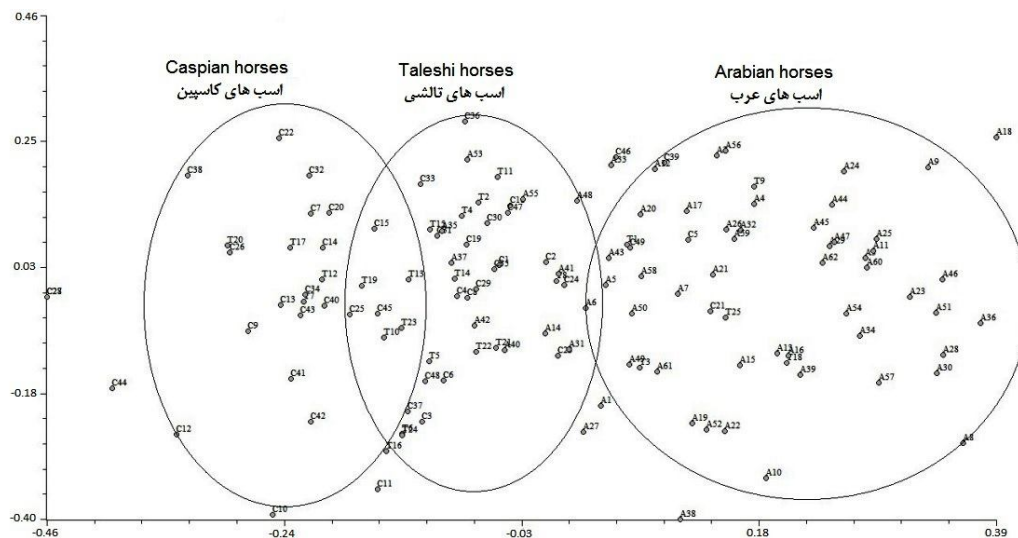


شکل ۲- دندروگرام رسم شده بر اساس فاصله ژنتیکی ناریب نئی و روش UPGMA (۱۴)

Figure 2- Draw a dendrogram based on the irregular genetic distance and the UPGMA method (14)

صورتی که کارایی و قابلیت ویژه‌ای در این نژادها تعریف نشود، با خطر انقراض روبرو خواهند شد. جایگزینی نژادهای بومی با نژادهای دیگر به منظور افزایش سودآوری منجر به کاهش تنوع ژنتیکی در میان جمعیت‌های مختلف دامی کشور و بخصوص اسب گردیده است. کاهش تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بومی موجب از دست رفتن بسیاری از ژن‌های مفید، خصوصاً ژن‌های سازگار با محیط‌های مختلف و مقاوم به بیماری‌های منطقه‌ای خواهد شد. در کشورهای توسعه یافته معمولاً یک سازمان یا انجمنی به منظور جلوگیری از انقراض و تخریب ذخایر ژنتیکی وجود دارد و نژادها به خوبی مورد بررسی قرار می‌گیرند. اما در ایران چنین تشکیلاتی منسجمی وجود ندارد و خطر از دست رفتن ذخایر ژنتیکی اسب‌های بومی بسیار بیشتر است.

تجزیه بر اساس مولفه‌های اصلی (PCA) با استفاده از نرم افزار NTSYS 2.02 انجام گرفت (۱۴) و با دو مولفه اول که بیشترین درصد تنوع را توجیه می‌کردند، نمودار دو بعدی محل قرار گرفتن تمام افراد روی آن ترسیم شد. بر اساس نتایج به دست آمده کل افراد مورد بررسی گروه بندی کاملاً مجزایی نشان ندادند ولی تا حدودی اسب‌های عرب گروه بندی مجزایی از اسب‌های کاسپین و تالشی نشان دادند (شکل ۳). بیشترین میزان اختلاط مربوط به اسب‌های تالشی بود به طوری که بعضی از افراد این نژاد در دسته اسب‌های عرب و بعضی هم در مجاورت اسب‌های کاسپین گروه بندی شدند. در اسب فقط تعداد کمی نژاد برای مسابقات توسعه یافته اند. تعداد زیادی از نژادها در این رقابت مورد استفاده قرار نمی‌گیرند. در



شکل ۳- نمودار دو بعدی پراکنش افراد مورد بررسی به کمک دو مولفه اصلی

Figure 3- Two-dimensional diagram of the distribution of the subjects with the help of two main components

کم اسب‌های تالشی و کاسپین، هنوز هم تنوع ژنتیکی در حد بالایی قرار دارد، بنابراین می‌توان امیدوار بود با اتخاذ تدابیر اصولی مانع از انقراض آنها در طولانی مدت شد. از این رو پیشنهاد می‌شود که کتاب تبارنامه نژادی مربوط به تمام اسب‌های بومی کشور بر اساس قوانین بین المللی نوشته شود تا بتوان بر اساس اطلاعات آن نسبت به خالص سازی و بهبود ژنتیکی آنها برنامه ریزی نمود.

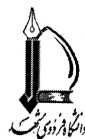
نتیجه گیری

از بین رفتن تنوع ژنتیکی می‌تواند موجب بروز ناهنجاری‌های ژنتیکی، نقص‌های ژنتیکی، مشکلات تولید مثلی، کاهش طول عمر و انقراض یک نژاد شود. نژادهایی که جمعیت کمتری دارند بیشتر در خطر تغییرات ژنتیکی و انقراض قرار دارند. بدون تردید توجه به تنوع ژنتیکی نژادهای با اندازه جمعیت کوچک مانند تالشی و کاسپین بسیار قابل اهمیت است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با توجه به تعداد

منابع

- 1- Aberle, K. S., H. Hamann, C. Drogemuller, and O. Distl. 2004. Genetic diversity in German draught horse breeds compared with a group of primitive, riding and wild horses by means of microsatellite DNA markers. *Animal Genetics*, 35: 270-277.
- 2- Amirinia, C., H. R. Seyed Abadi, M. H. Banabazi, and M. A. Kamali. 2007. Bottleneck study and genetic structure of Iranian Caspian horse population-using microsatellite. *Pakistan Journal of Biological Science*, 10 (9): 1540-1543.
- 3- Behroozinia, S., S. Z. Mirhoseini, F. Afraz, A. Sohrabi, A. Mohammadi, S. Shahbazi, and S. B. Dalirsefat. 2011. Genetic description of two Iranian Turkmen horse populations of Turkmen Sahra and Turkmen Jergalan regions using microsatellite markers. *Iranian Journal of Animal Science*, 3 (1): 63-66. (In Persian).
- 4- Bigi, D., and G. Perrotta. 2012. Genetic structure and differentiation of the Italian catria horse. *Journal of Heredity*, 103: 134-139.
- 5- FAO. 2000. World Watch List for Domestic Animal Diversity. Third edition. Rome. Italy.
- 6- Gupta, A. K., M. Chauhan, A. Bhardwaj, N. Gupta, S. C. Gupta, Y. Pal, S. N. Tandon, and R. K. Vijh. 2014. Comparative genetic diversity analysis among six Indian breeds and English Thoroughbred horses. *Livestock Science*, 163: 1-11.
- 7- Jemmali, B., M. M. Haddad, N. Barhoumi, S. Tounsi, F. Lasfer, A. Trabelsi, B. Ben Aoun, I. Gritli, S. Ezzar, A. Ben Younes, M. H. Ezzaouia, B. Rekik, and H. O. Ahmed. 2017. Genetic diversity in Tunisian horse breeds. *Archives Animal Breeding*, 60: 153-160.

- 8- Khanshour, A., E. Conant, R. Juras, and E. G. Cothran. 2013. Microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of Arabian horse populations. *Journal of Heredity*, 104: 386-398.
- 9- Khanshour, A., R. Juras, R. Blackburn, and E. G. Cothran. 2014. The Legend of the Canadian Horse: Genetic Diversity and Breed Origin. *Journal of Heredity*, 106 (1): 37-44.
- 10- Laliotis, G. P., and M. Avdi. 2017. Genetic diversity assessment of an indigenous horse population of Greece. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 33 (1): 81-90.
- 11- Mackowski, M., S. Mucha, G. Cholewinski, and J. Cieslak. 2015. Genetic diversity in Hucul and Polish primitive horse breeds. *Archives Animal Breeding*, 58: 23-31.
- 12- Mahrous, K. F., M. Hassanane, M. A. Mordy, H. I. Shafey, and H. Nagwa. 2011. Genetic variations in horse using microsatellite markers. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 9: 103-109.
- 13- Marletta, D., I. Yupanqui, S. Bordonaro, D. Garcia, A. M. Guastella, A. Criscione, J. Canon, and S. Dunner. 2006. Analysis of genetic diversity and the determination of relationships among western Mediterranean horse breeds using microsatellite markers *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 123: 315-325.
- 14- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetic*, 89: 583-590.
- 15- Peakall, R., and P. E. Smouse. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. *Bioinformatics*, 28: 2537-2539.
- 16- Rukavina, D., D. Hasanbasic, A. Durmic-Pasic, B. Kalamujic, and A. Zahirovic. 2016. Genetic diversity of Arabian horse from stud borike (Bosnia and Herzegovina) using microsatellite markers. *Journal of Veterinary Sciences*, 2 (1): 21-25.
- 17- Samozad, M., M. Nasir, M. Aslaminejad, A. Tahmoorespour, M. Doosti, M. Ghyadi, and S. H. Ghovati. 2011. Investigation of genetic variation in Turkman horses of Iran using 4 microsatellite sites. *Iranian Journal of Animal Science*, 4 (4): 345-351. (In Persian).
- 18- Vahdani-Manaf, M. A., M. Mashayekhi, A. Hassanpour, and M. R. Ayobi. 2017. Study of genetic diversity in the Iranian Kurdish horse population. *Animal Science Research*, 27 (1): 95-102. (In Persian).
- 19- Yeh, F. C., R. Yang, and T. Boyle. 1999. POPGENE version 1.31, Microsoft windows based free ware for population genetic analysis, University of Alberta. Edmonton. Canada.
- 20- Zhang, Y. P., X. X. Wang, O. A. Ryder, H. P. Li, H. M. Zhang, Y. Yong, and P. Y. Wang. 2002. Genetic diversity and conservation of endangered animal species. *Pure and Applied Chemistry*, 74: 575-584.



Investigation of the genetic structure and phylogenetic relationships of Caspian, Arabic and Taleshi horses

R. Seyedsharifi^{1*} - S. Badbarin² - N. Hedayat¹ - S. Savarsofla³ - J. Seifdavati¹ - H. Khamisabadi²

Received: 17-12-2017

Accepted: 18-04-2018

Introduction Due to having historical value and climatic diverse, Iran has unique horse breeds. Unfortunately, due to the lack of attention and control of the import of foreign breeds into this rich genetic source, huge damage has been created. Therefore, many horse breeds in the country got crossbred and their racial purity reduced. Knowing the genetic structure of native breeds will play an important role in their safeguarding and ensuring of their survival. Indigenous breeds, due to their unique characteristics, are considered as part of the genetic resources of the country, and their genetic structure will help them to protect and develop eugenic programs.

Materials and Methods This study was conducted on 136 horses including Taleshi (25 samples), Caspian (49 samples) and Arabic (62 samples) breeds from their breeding areas. Taleshi horse samples was captured from local stock in the Guilan province, Caspian samples was captured from horse riding clubs around Tehran and Guilan provinces, and Arabian samples was captured from horse riding clubs around the provinces of Tehran, Khuzestan and Alborz. They were unrelated and selected randomly. The race recognition of horses was based on books published by the Federation of Equestrian and their phenotypic characteristics. After determining of the concentration and uniformity of the concentration of extracted DNA, all individuals under study were conducted for 12 microsatellite markers recommended by the Animal Genetic Association (ISAG) to determine the genotype in order to estimate the parameters such as heterozygosity, inbreeding, Hardy and Weinberg equilibrium, and so on and find an appropriate strategy to maintain these valuable breeds. The number of observed alleles (na), and effective (ne), observed heterozygosity (Ho) and the Expectation case (He), Shannon index (I), inbreeding coefficient (ISF), genetic distance, genetic similarity, Hardy-Weinberg equilibrium, and phylogeny tree between races were calculated using POPGENE 1.31 software.

Results and Discussion All of the used markers were multi-shaped and the ASB17 markers with 12 alleles and HMS6 produced the highest and lowest number of alleles with 6 alleles, respectively. The highest and lowest expected heterozygosity were calculated in VHL20 (0.78) and ASB23 (0.62) markers, and the average Shannon index for all sites was 1.72. Hardy Weinberg balance analysis by Chi square test showed that except ASB2 and HMS3 markers in Taleshi breed, ASB17 and HTG4 markers in the Caspian breed and ASB17 markers in the Arabic breed, all markers had a

1- Associate professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

2- Assistant professor, Animal Science Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Kermanshah, Iran

3- Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

(*Corresponding Author Email: reza_seyedsharifi@yahoo.com)

significant deviation from Hardy and Weinberg equilibrium ($P < 0.05$). The highest observed heterozygosity was related to AHT5 marker (0.81) and the lowest observed heterozygote was related to ASB17 and HTG4 markers (0.68). The Shannon index, like the observed heterozygosity, shows the amount of genetic diversity, and because the maximum value is equal to $\ln(n)$, it is useful to express the genetic diversity of multi-formed sites. The highest and lowest values of Shannon index were 1.96 and 1.46, respectively, for VHL20 and HTG4 markers. Given the fact that the VHL20 marker showed the highest and the HTG4 marker showed the least effective allele, so the calculated values for the Shannon index are justified. Phylogeny diagram showed that Caspian and Taleshi horses were placed in one branch and Arab horses in separate branch.

Conclusion Breeds with fewer populations are more at risk for genetic changes and extinction. Reducing of the genetic diversity of indigenous populations will result in the loss of many useful genes, especially those that are compatible with different environments and resistant to regional diseases. Undoubtedly, it is very important to pay attention to the genetic diversity of small-sized population of breeds such as Taleshi and Caspian. The results of this study showed that due to the low number of Caspian and Taleshi horses, genetic diversity is still at a high level, so it would be hoped that by adopting the principled measures, we would prevent their extinction in the long duration.

Keywords: Genetic diversity, Microsatellite markers, phylogeny tree, Taleshi, Caspian and Arabian horse.



پیش بینی و تایید *in silico* ریز RNA ها در بافت های مختلف گوسفند با منشا کروموزوم ۲۰

وحیده عباسی^۱ - محمدرضا نصیری^۲ - علی جوادمنش^{۳*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۳۱

چکیده

در سال های اخیر با روشن شدن اهمیت ریز RNA ها در فرآیندهای حیاتی بدن موجودات زنده، شناسایی ژن های ریز RNA اهمیت زیادی پیدا کرده است از سویی دیگر روش های بیوانفورماتیکی نیز گسترش یافته و سبب شده تا روند شناسایی ریز RNA ها با سرعت بیشتر و هزینه کمتری پیش برود. تحقیقات در سال های اخیر بر روی گونه های زیادی از جمله انسان و موش و همچنین حیوانات اهلی از قبیل گاو و بز و مرغ باعث شده تا در این گونه ها ریز RNA های زیادی گزارش شود با این حال در گونه ی گوسفند هنوز اطلاعات نسبتاً کمی وجود دارد. در این مطالعه پس از پیش بینی ریز RNA های کروموزوم ۲۰ گوسفند، جهت تایید با اورتولوگ ها در سایر گونه ها مقایسه و در نهایت برای بررسی بیان از داده های ترنسکرپتوم گوسفند استفاده شد همچنین در این تحقیق برای ارزیابی روش مورد استفاده از داده های شاهد مثبت استفاده شد. با استفاده از این روش در کل ۴۰۰ ریز RNA و از این تعداد ۸۱ ریز RNA جدید در کروموزوم ۲۰ گوسفند پیش بینی شدند. بررسی ترنسکرپتوم نشان داد که از این تعداد ۳۳ ریز RNA فقط در بافت عضله، ۱۰ ریز RNA فقط در بافت کبد، ۳۵ ریز RNA در هر دو بافت کبد و ماهیچه و ۳ ریز RNA نیز در مخلوط بافت های قلب، کلیه، مغز، تخمدان، پوست، چربی سفید و ریه بیان شدند. مقایسه با پایگاه داده miRbase مشخص کرد که تعداد ۶۴ ریز RNA از ریز RNA های پیدا شده برای اولین بار گزارش شدند. حساسیت و دقت انتخاب این روش برابر ۶۷ و ۹۵ درصد ارزیابی شد و از این رو می توان گفت این روش می تواند به عنوان مکمل روش های پیش بینی ریز RNA اطلاعات ارزشمندی را فراهم کند. از این روش می توان برای پیش بینی ریز RNA ها در سایر کروموزوم های گوسفند و یا در سایر پستانداران استفاده نمود.

واژه های کلیدی: بیوانفورماتیک، روش از آغاز، ریز RNA ها، گوسفند

مقدمه

به این ها ریز RNA های بین ژنی گفته می شود (۳). بسیاری از ریز RNA ها در میان جانوران خویشاوند (مانند انسان و موش) دارای یک توالی هستند این ریز RNA های اورتولوگ حفاظت شده هستند (۳). ثابت شده است که گروهی از ریز RNA ها برای شکل گیری اندام های خاص مانند مغز (۱۱) و قلب (۲۱) و برای تمایز خون سازی (۵) ضروری هستند.

دو روش اصلی برای شناسایی ریز RNA ها وجود دارد شامل روش های آزمایشگاهی و روش های محاسباتی (بیوانفورماتیکی). مرسوم ترین روش آزمایشگاهی روش توالی یابی کتابخانه cDNA از روی ریز RNA های کوچک است این روش یک روش موثر است اما دارای محدودیت هایی است از جمله رایج ترین آن ها، عدم شناسایی ریز RNA هایی است که در دوران خاصی از زندگی موجود زنده و یا در یک بافت خاص بیان می شوند و برخی از ریز RNA هایی که ممکن است به سختی کلون شوند و همچنین این روش یک روش هزینه بر است (۴). روش های محاسباتی پیش بینی ریز RNA ها دو نوع است: روش اول یا روش مقایسه ای که محدود به ریز RNA های حفاظت شده ای است که قبلاً در گونه های نزدیک کشف شده است (۸).

ریز RNA ها (miRNA) متعلق به طبقه ای از RNA های کوچک تکامل یافته هستند (۱۹-۲۵ نوکلئوتید) که به پروتئین تبدیل نمی شوند در گیاهان و حیوانات به عنوان تنظیم کننده بیان ژن در سطح پس از رونویسی شناخته شده اند. این ژن ها پس از رونویسی به ریز RNA های اولیه (pri-miRNA) تبدیل و پس از پردازش به ریز RNA های پیش ساز (Pre-miRNA) تبدیل می شود و سپس وارد سیتوپلاسم می شود و در آنجا به ریز RNA بالغ تبدیل می شود (۱). تعداد بسیار اندکی از ریز RNA ها در داخل اگزون ژن های کد کننده پروتئین قرار می گیرند این ژن ها یا درون اینترون های ژن های کد کننده پروتئین قرار گرفته اند (۱۲) و یا خارج از ژن ها قرار دارند که

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش آموخته دوره کارشناس ارشد، استاد و استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
(*)- ایمیل نویسنده مسئول: javadmanesh@um.ac.ir
DOI: 10.22067/ijasr.v11i2.74619

پیش بینی اولیه ریز RNA

روش استفاده شده در این تحقیق روش از آغاز است اما همراه با تغییراتی در جهت تکمیل و افزایش دقت به شرح زیر اعمال شده است. در این مطالعه از نرم افزارهای پیش بینی کننده ی EMBOSS (http://emboss.bioinformatics.nl/cgi-Sequence-Structure_Motif_bin/emboss/einverted) و Base: Pre-miRNA Prediction برای پیش بینی ریز RNAهای موجود در کروموزوم ۲۰ گوسفند استفاده شد.

گزینش ریز RNAهای پیش بینی شده

تمام pre-miRNAهایی که بین نرم افزارهای پیش بینی کننده مشترک بودند وارد نرم افزار آنالین mfold شدند و با توجه به خصوصیات ریز RNAهای پیش ساز، گزینش شدند. توالی پیش بینی شده و فیلتر شده با نرم افزار mfold، در بین ریز RNAهای ثبت شده در miRBase با در نظر گرفتن حداقل E-value برابر ۱۰، بلاست شد. توالی های مشابه با توالی ریز RNAهای شناخته شده (با عدم تطابق کمتر از ۴ نوکلئوتید)، به عنوان ریز RNA حفظ شده معرفی شد (۱۶).

ریز RNAهایی که در بخش اگزون ژن کد کننده ی پروتئین هستند کنار گذاشته شدند. برای این منظور ریز RNAهای پیشنهادی مرحله ی قبل، با توالی کد کننده پروتئین در گوسفند بلاست شد (در قسمت BLASTx وب سایت NCBI)، ریز RNAهای پیشنهادی که در توالی کد کننده پروتئین نبودند به عنوان ریز RNA معرفی شدند.

تأیید بیان به روش in silico

برای اطمینان از بیان شدن ریز RNAهای پیش بینی شده، همه ریز RNAهای گزینش شده با استفاده از داده های بیان SRA (Sequence Read Archive) بافت عضله (Accession: PRJNA223213)، بافت کبد (Accession: GSM1366318) و همچنین در مخلوط داده های بیان بافت های قلب، کلیه، مغز، کبد، تخمدان، پوست، چربی سفید و ریه گوسفند (GSE56643) (Accession:) بلاست شد.

محاسبه ی دقت پیش بینی

برای محاسبه دقت این روش، کلیه مراحل ذکر شده در بالا روی داده های مثبت (ناحیه ای از کروموزوم ۱۸ گوسفند حاوی ۵۴ ریز RNA ثبت شده) اعمال شد و سپس حساسیت و دقت انتخاب با استفاده از دو فرمول زیر محاسبه شد (۱۸):

$$Sensitivity = 100 * \frac{TP}{TP + FN} \quad Selectivity = 100 * \frac{TP}{TP + FP}$$

در فرمول بالا، TP تعداد ریز RNA پیش ساز است که به درستی پیش بینی شده اند (مثبت درست)، FN منفی کاذب (به معنی عدم

روش دوم پیش بینی محاسباتی ریز RNA روش از آغاز^۲ است که بر اساس ویژگی های ساختار دوم RNA، ثبات ترمودینامیکی ساختار ساقه-حلقه و خصوصیات میکرو RNA پیش ساز است. برای بهبود این روش نرم افزارهای زیادی ساخته شده است از جمله MiRFinder (۹)، BosFinder (۱۳) و MiRPara (۲۰). این روش از لحاظ هزینه خیلی پایین تر از روش آزمایشگاهی است و می تواند miRNA کل ژنوم را پیش بینی کند که در هر بافت یا سلولی و همچنین در هر دوره ای از زندگی موجود زنده بیان می شوند. همچنین محدود به ریز RNAهای حفظ شده نیست. اما در این روش احتمال خطای مثبت کاذب به معنی معرفی اشتباه قطعه ای از ژنوم به عنوان ریز RNA پیش ساز بالاست (۱۸). برای اطمینان از صحت پیش بینی و کنار گذاشتن داده های مثبت کاذب دو رویکرد وجود دارد ۱ بررسی بیان miRNAها ۲ انتخاب ویژگی ساختار مناسب (۷).

تاکنون هزاران ریز RNA در بیش از صد گونه ی مختلف شناخته و با روش های آزمایشگاهی تأیید شده اما در گوسفند به این موضوع کمتر پرداخته شده است و اطلاعات محدود تری در مورد ریز RNAهای گوسفند نسبت به سایر گونه های حیوانات اهلی وجود دارد. در این تحقیق روش تکمیل شده ی بیوانفورماتیکی طراحی شد و استفاده از این به دلیل مقایسه ریز RNAهای پیش بینی شده و بررسی بیان in silico تا حد زیادی خطاهای روش های متداول شناسایی را کاهش می دهد. در این تحقیق از کروموزوم شماره ۲۰ گوسفند به علت اندازه ی نسبتاً کوچک و نیز حضور یک کلاستر نسبتاً بزرگ از ریز RNAهای تأیید شده استفاده گردید.

مواد و روشها

اخذ توالی های مرجع

توالی کروموزوم ۲۰ از سایت NCBI اخذ شد (Oar_v4.0 Chr NC_019477.2:1 - 51,049,468). سپس برای اطمینان از صحیح بودن روش کار و همچنین کاربردی بودن نرم افزارهای به کار گرفته شده، توالی بین نوکلئوتید ۶۴۴۶۵۷۶۰ تا ۶۴۴۶۶۰۸۸۰ از کروموزوم ۱۸ گوسفند، به عنوان شاهد مثبت انتخاب و از NCBI (Accession number: NW_004080181.1) اخذ شد. در این ناحیه از کروموزوم ۱۸، تعداد ۵۴ ریز RNA ثبت شده در پایگاه miRBase قرار دارد. در مرحله بعد ریز RNAهای پیش ساز مربوط به گونه ی گوسفند از miRBase دریافت شد و با استفاده از نرم افزار mfold ساختار دوم آن رسم و برای شناخت خصوصیات ریز RNAهای پیش ساز، مورد بررسی قرار گرفت (۱۴).

شناسایی کرده است miR-219 و miR-2284 بوده است که در مطالعه‌ی حاضر نیز وجود دارند.

تأیید بیان به روش *in silico*

نتیجه بلاست کردن ریز RNA های پیشنهادی در داده‌های SRA نشان داد که تعداد ۸۱ ریز RNA در داده‌های بیان بافت‌های مختلف گوسفند وجود دارند که از این تعداد، ۱۷ تا ریز RNA حفظ شده و ۶۴ تا ریز RNA جدید بودند. در بافت ماهیچه ۲۵ ریز RNA جدید و ۸ ریز RNA حفظ شده از جمله miR-206، miR-133b، miR-22، miR-30 و miR-376 بیان شده‌اند (جدول ۲).

۳۰ ریز RNA جدید و ۵ ریز RNA حفظ شده نیز هم در بافت عضله و هم در کبد بیان شده‌اند. در مخلوط بافت‌های قلب، کلیه، مغز، تخمدان، پوست، چربی سفید و ریه نیز ۳ ریز RNA جدید به نام‌های oar-miR-9773، oar-miR-9777 و oar-miR-9848 بیان شده است (جدول ۲).

ژن‌های ریز RNA ها پیش‌بینی شده ممکن است در قسمت‌های مختلف ژنوم وجود داشته باشد، برخی واقعی هستند و بیان می‌شوند و برخی دیگر بیان نمی‌شوند اما فقط ریز RNA هایی که بیان شوند (در واقع رونویسی از آنها اتفاق بیافتد) کاربردی هستند و می‌توان در مراحل بعدی عمل آنها را در آزمایشگاه تأیید کرد. در این تحقیق با تأیید بیان به روش *in silico* در وقت و هزینه در مراحل بعدی صرفه‌جویی می‌شود.

شناسایی برخی miRNA های موجود در ژنوم و FP مثبت کاذب (به معنی معرفی اشتباه قطعه‌ای از ژنوم به عنوان ریز RNA پیش-ساز) را نشان می‌دهد. حساسیت^۳ یعنی درصدی از ریز RNA پیش-ساز موجود را می‌توان با این روش شناسایی کرد و دقت انتخاب^۴ یعنی درصدی از ریز RNA پیش‌ساز پیش‌بینی شده که واقعا ریز RNA هستند (۱۸).

نتایج

در تحقیقات انجام شده مهم‌ترین ویژگی‌های معرفی شده برای ریز RNA های پیش‌ساز شامل: دارا بودن ساختار سنجاق سری با اندازه‌ای مشخص بدون حباب بزرگ، انرژی آزاد کمتر از -20 kcal/mol ، ثبات ترمودینامیکی آن، درصد نوکلئوتیدهای C G و درصد هر کدام از بازها نسبت به کل توالی است (۱۳، ۱۵ و ۲۰). ریز RNA های پیش‌ساز در گونه‌ی گوسفند دارای ساختار سنجاق-سری با شکل مناسب، بدون حباب بزرگ و ویژگی‌های موجود در جدول ۱ بودند.

پیش بینی اولیه و گزینش ریز RNA ها

پس از پیش‌بینی توسط نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده و بررسی ویژگی‌های ریز RNA پیش‌ساز به وسیله‌ی 400 mfold ساختار ساقه حلقه به عنوان ریز RNA پیش‌ساز پیشنهاد شد.

در تحقیقات انجام شده به روش از آغاز مانند سور و همکاران (۱۵) و صادقی و همکاران (۱۳) و همچنین لی و همکاران (۱۰) فقط از یک نرم‌افزار استفاده شده است در صورتی که در این تحقیق از مجموعه‌ای از نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده استفاده شد که عامل موثری در کاهش خطای مثبت کاذب است و همچنین در این تحقیق برای اطمینان از وجود خصوصیات pre-miRNA در توالی‌های پیشنهادی توسط نرم‌افزارهای پیش‌بینی کننده، تمام توالی‌ها توسط $mfold$ بررسی شدند و این مرحله در کاهش خطای مثبت کاذب موثر بود.

با بلاست کردن (BLASTx) این ۴۰۰ ریز RNA ها با RNA های کد کننده پروتئین گوسفند، مشخص شد که هیچ کدام از آنها در توالی کدکننده‌ی پروتئین نبودند. با بلاست کردن این ۴۰۰ ریز RNA در miRBase مشخص شد که از این بین، ۵۰ ریز RNA حفاظت شده و ۳۵۰ عدد ریز RNA جدید بودند. در تحقیقی که توسط بروزای (۲) انجام شده توالی EST گونه‌ی گوسفند را مورد آنالیز قرار داده است تا ریز RNA های حفظ شده را شناسایی کند در نتیجه ۱۷۲ ریز RNA شناخته شده است از جمله ریز RNA هایی که

³ - Sensitivity

⁴ - Selectivity

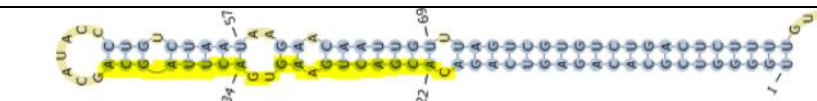
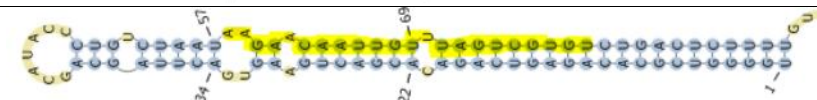
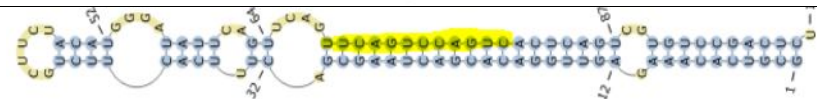
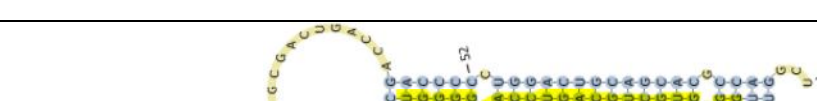
جدول ۱- ویژگی ریزRNAهای پیش ساز که از ریزRNAهای پیش ساز گوسفندی استخراج شده است

Table 1- Pre-miRNAs features that extracted from ovine registered pre-miRNAs

ویژگی ریزRNAهای پیش ساز Pre-miRNAs features	دامنه مورد قبول در گوسفند Acceptable range in ovine	دامنه معمول در گوسفند Common range in ovine
انرژی آزاد Free energy (kcal/mol)	Less than -20	-40 – -30
طول ریزRNAهای پیش ساز Length of Pre-miRNAs (Nt)	65 – 130	65-90
تعداد بازها در هر ساقه Nucleotides in stem (Nt)	23 – 37	23 – 37
تعداد بازهای حلقه Nucleotide in terminal loop Nt	5 – 30	20
درصد باز A+U A+U%	30 – 70	40 - 60

جدول ۲- ریزRNAهای حفاظت شده و جدید بیان شده در بافت های مختلف گوسفند

Table 2- Conserved and new miRNAs that were expressed in different ovine tissues

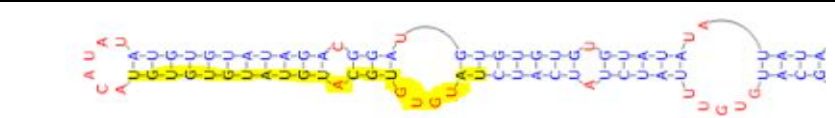
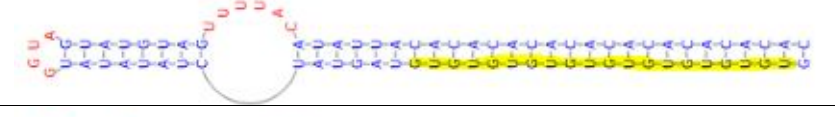
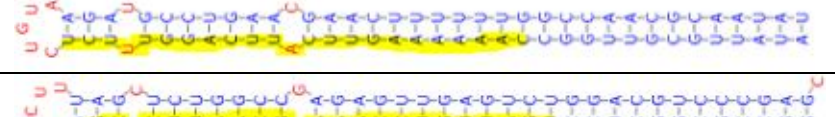
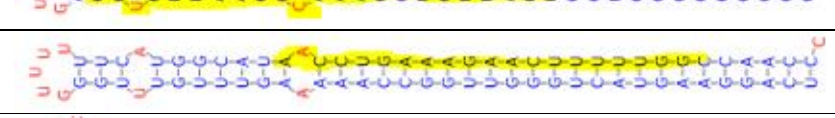
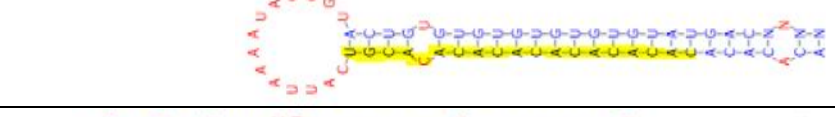
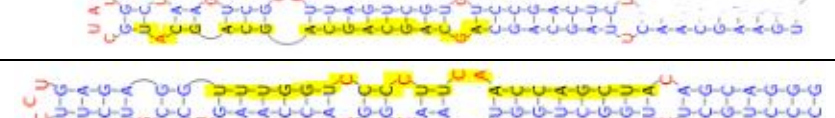
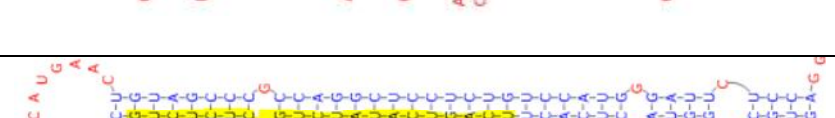
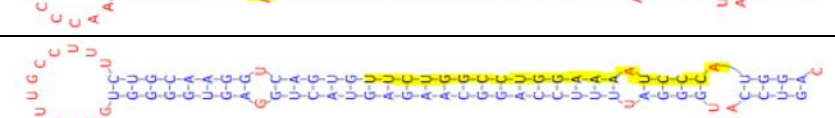
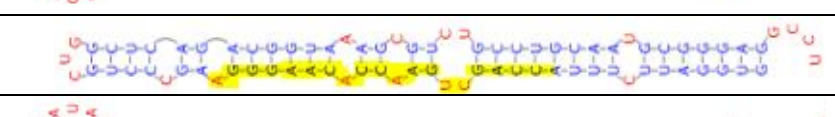
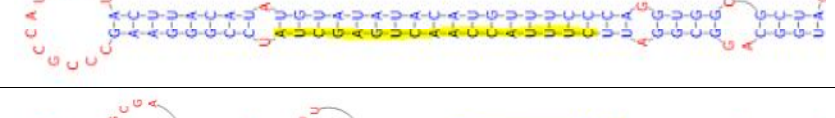
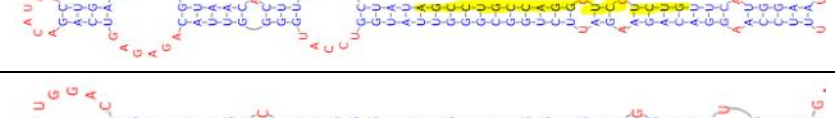
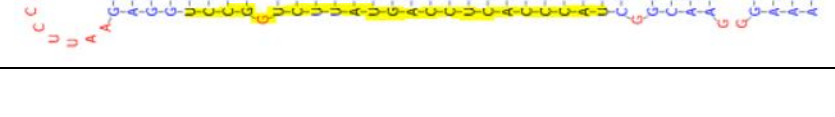
نام ریز RNA MiRNA name	محل توالی روی کروموزوم ۲۰ Coordinates on chromosome # 20	بافت Tissue	ساختار ساقه و حلقه توالی ریز RNA پیش ساز و بالغ (رنگ زرد) Stem and loop structure of miRNA precursor and mature (yellow highlight)
Oar-miR-9770-3'	- ۹۵۰۹۱۲۷ ۹۵۰۹۲۲۵	کبد Liver	
Oar-miR-9770-5'	- ۹۵۰۹۱۲۷ ۹۵۰۹۲۲۵	عضله Muscle	
Oar-miR-9771	- ۹۸۱۸۶۴۷ ۹۸۱۸۷۴۶	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9772	- ۷۰۴۵۲۴۵ ۷۰۴۵۳۱۸	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9773	- ۱۱۹۰۰۲۰۰ ۱۱۹۰۰۲۹۴	مخلوط بافتها Mixture of tissues	
Oar-miR-9774	- ۱۳۹۱۷۷۱۴ ۱۳۹۱۷۸۰۷	کبد و عضله Liver & muscle	

Oar-miR-9775	- ۱۵۸۶۱۳۸۴ ۱۵۸۶۱۴۶۹	کبد Liver	
Oar-miR-9776	- ۱۶۰۰۸۰۷۹ ۱۶۰۰۸۱۷۴	کبد Liver	
Oar-miR-9777	- ۱۶۳۳۳۱۸۶ ۱۶۳۳۳۲۸۳	مخلوط بافتها Mixture of tissues	
Oar-miR-9778	- ۲۰۶۸۵۶۹۲ ۲۰۶۸۵۷۹۰	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9779	- ۲۱۶۶۷۱۶۸ ۲۱۶۶۷۲۶۵	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9780	- ۲۱۸۴۲۷۲۷ ۲۱۸۴۲۸۲۶	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9781	- ۲۱۸۶۴۶۴۶ ۲۱۸۶۴۴۴	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9782	- ۲۱۹۶۹۵۸۳ ۲۱۹۶۹۶۷۹	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9783	- ۲۵۲۳۶۲۲۵ ۲۵۲۳۶۵۲۳	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9784	- ۲۷۴۷۵۶۱۹ ۲۷۴۷۵۷۱۷	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9785	- ۲۷۹۹۰۵۵۵ ۲۷۹۹۰۶۵۰	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9786	- ۳۲۶۸۶۴۹۰ ۳۲۶۸۶۵۸۷	کبد و عضله Liver & muscle	

Oar-miR-9787	- ۳۴۰۲۳۲۰۱ ۳۴۰۲۳۲۹۸	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9788	- ۳۴۰۹۳۷۲۴ ۳۴۰۹۳۸۲۱	کبد Liver	
Oar-miR-9789	- ۳۴۰۲۳۲۱۵ ۳۴۰۲۳۳۱۰	کبد Liver	
Oar-miR-9790	- ۳۵۷۹۶۸۹۱ ۳۵۷۹۶۹۸۹	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9791-5'	- ۳۷۴۸۹۱۲۶ ۳۷۴۸۹۲۱۶	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9791-3'	- ۳۷۴۸۹۱۳۱ ۳۷۴۸۹۲۲۹	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9793	- ۳۷۷۶۳۰۷۲ ۳۷۷۶۳۱۵۹	کبد Liver	
Oar-miR-9794	- ۳۸۷۲۸۱۱۸ ۳۸۷۲۸۲۰۶	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9795	- ۳۹۱۸۵۳۸۷ ۳۹۱۸۵۴۸۶	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9796	- ۳۹۸۸۵۸۷۱ ۳۹۸۸۵۹۶۰	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9797-5' Oar-miR-9797-3'	- ۴۱۹۰۴۶۶۷ ۴۱۹۰۴۷۶۲	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9798	- ۴۳۳۴۵۳۶۳ ۴۳۳۴۵۴۶۱	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9799	- ۴۳۷۷۴۹۹۸ ۴۳۷۷۵۰۹۶	کبد و عضله Liver & muscle	

Oar-miR-9800	- ۴۴۰۳۱۰۱۳ ۴۴۰۳۱۰۹۸	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9801-5' Oar-miR-9801-3'	- ۴۴۱۲۶۷۵۶ ۴۴۱۲۶۸۵۴	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9802	- ۴۴۱۷۵۰۱۲ ۴۴۱۷۵۰۹۹	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9803	- ۴۵۰۴۳۳۸۲ ۴۵۰۴۳۴۷۷	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9804	- ۴۸۹۵۳۳۴۰ ۴۸۹۵۳۴۲۲	مخلوط بافتها Mixture of tissues	
Oar-miR-9805	- ۴۹۱۴۷۳۴۴ ۴۹۱۴۷۴۳۱	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9806	- ۵۰۷۸۶۷۲۴ ۵۰۷۸۶۸۱۳	کبد و عضله Liver & muscle	
Oar-miR-9807	- ۱۲۵۸۸۱۸۱ ۱۲۵۸۸۲۷۲	عضله Muscle	
Oar-miR-9808	- ۱۴۸۹۲۲۸۵ ۱۴۸۹۲۳۷۸	عضله Muscle	
Oar-miR-9809	- ۱۵۰۴۱۳۸۹ ۱۵۰۴۱۴۸۸	عضله Muscle	
Oar-miR-9810	- ۲۰۶۸۵۷۰۹ ۲۰۶۸۵۸۰۳	عضله Muscle	
Oar-miR-9811	- ۲۱۷۵۸۵۰۹ ۲۱۷۵۸۶۰۷	عضله Muscle	
Oar-miR-9812	- ۱۹۹۶۰۳۱۳ ۱۹۹۶۰۳۹۱	عضله Muscle	
Oar-miR-9813	- ۲۵۳۶۸۳۷۰ ۲۵۳۶۸۴۷۰	عضله Muscle	

Oar-miR-9814	- ۲۶۵۰۴۸۵۷ ۲۶۵۰۴۹۲۸	عضله Muscle	
Oar-miR-9815	- ۳۰۰۸۲۴۵۴ ۳۰۰۸۲۵۴۷	عضله Muscle	
Oar-miR-9816	- ۳۰۱۵۰۲۱۳ ۳۰۱۵۰۳۱۰	عضله Muscle	
Oar-miR-9817	- ۳۱۹۲۵۵۳۰ ۳۱۹۲۵۶۲۸	عضله Muscle	
Oar-miR-9818	- ۳۶۱۸۷۸۷۱ ۳۶۱۸۷۹۶۱	عضله Muscle	
Oar-miR-9819	- ۳۷۴۰۲۶۷۱ ۳۷۴۰۲۷۵۹	عضله Muscle	
Oar-miR-9820	- ۳۸۰۶۵۸۶۶ ۳۸۰۶۵۹۴۸	عضله Muscle	
Oar-miR-9821	- ۳۸۲۷۸۷۱۵ ۳۸۲۷۸۸۰۸	عضله Muscle	
Oar-miR-9822	- ۳۸۶۳۶۲۸۳ ۳۸۶۳۶۳۶۵	عضله Muscle	
Oar-miR-9823	- ۴۱۲۹۹۶۴۰ ۴۱۲۹۹۷۲۲	عضله Muscle	
Oar-miR-9824	- ۴۴۷۰۰۱۵۷ ۴۴۷۰۰۲۳۶	عضله Muscle	
Oar-miR-9825	- ۴۵۹۶۶۷۲۰ ۴۵۹۶۶۸۰۲	عضله Muscle	
Oar-miR-9826	- ۴۶۱۲۰۳۹۱ ۴۶۱۲۰۴۸۷	عضله Muscle	
Oar-miR-9827	- ۴۷۳۲۸۸۹۲ ۴۷۳۲۸۹۷۷	عضله Muscle	
Oar-miR-83	- ۸۲۵۸۶۰ ۸۲۵۹۶۰	کبد و ماهیچه Liver & muscle	

Oar - miR- 1187	- ۴۱۱۵۵۷۰ ۴۱۱۵۶۶۹	ماهیچه Muscle	
Oar - miR-466i	- ۲۱۶۰۳۵۶۲ ۲۱۶۰۳۶۴۱	ماهیچه Muscle	
Oar - miR- 2285r	- ۷۰۲۵۳۸۴ ۷۰۲۵۴۶۰	ماهیچه Muscle	
Oar - miR-219	- ۷۴۹۶۷۷۳ ۷۴۹۶۸۵۷	کبد Liver	
Oar - miR- 2285e	- ۱۴۱۵۵۳۱۴ ۱۴۱۵۵۴۰۲	ماهیچه Muscle	
Oar-- miR- 2284d	- ۱۴۱۵۵۳۱۴ ۱۴۱۵۵۴۰۲	کبد و ماهیچه Liver & muscle	
Oar-miR- 8485	- ۲۵۸۱۳۲۴۸ ۲۵۸۱۳۳۰۹	کبد و ماهیچه Liver & muscle	
Oar-miR- 1322	- ۲۳۶۱۰۱۴۰ ۲۳۶۱۰۲۰۸	کبد Liver	
Oar-miR- 133b	- ۲۴۳۵۷۹۱۵ ۲۴۳۵۷۹۹۱	کبد و ماهیچه Liver & muscle	
Oar-miR- 6562-3p	- ۲۵۲۴۳۳۴۷ ۲۵۲۴۳۴۶۶	ماهیچه Muscle	
Oar-miR- 193	- ۲۹۰۲۰۰۱۶ ۲۹۰۲۰۱۰۵	ماهیچه Muscle	
Oar-miR- 4724-3p	- ۳۰۱۵۰۲۳۱ ۳۰۱۵۰۳۱۱	ماهیچه Muscle	
Oar-miR- 1692	- ۴۶۶۸۵۱۰۵ ۴۶۶۸۵۲۱۵	کبد Liver	
Oar-miR- 596	- ۳۴۳۴۳۳۳۹ ۳۴۳۴۳۴۶۲	کبد Liver	
Oar-miR- 2218a-3p	- ۴۰۳۷۱۱۹۶ ۴۰۳۷۱۳۰۰	کبد و ماهیچه Liver & muscle	

Oar-miR-2954-5p	- ۴۲۹۳۴۶۴۰ ۴۲۹۳۴۷۲۴	ماهیچه Muscle	
-----------------	------------------------	------------------	--

حساسیت و دقت انتخاب، این دو فاکتور به ترتیب برابر ۶۷٪ و ۹۰٪ خواهند بود.

در مطالعه‌ای که توسط تمپل و تاهی (۱۸) انجام شده است چند نرم‌افزار را مورد آزمون قرار داده‌اند نتیجه‌ی تحقیق برای ارزیابی دقت پیش‌بینی نرم‌افزارهای CID-miRNA (۱۹)، miRPara (۱۸)، VMir (۶) و miRNAFold (۱۸) به شرح جدول ۳ گزارش دادند:

جدول ۳- حساسیت و دقت انتخاب در نرم‌افزارهای مختلف پیش‌بینی کننده‌ی ریز RNA
Table 3- Sensitivity and selectivity in different miRNA prediction software's

نرم‌افزار Software	دقت انتخاب (%) Selectivity	حساسیت (%) Sensitivity
CID-miRNA	11.72	97
MiRPara	9.7	97
VMir	1.32	28
MiRNAFold	18.77	98

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق روشی طراحی شده است که به طور موثر خطاهای موجود در روش‌های بیوانفورماتیکی را کاهش می‌دهد و این کاهش در خطا به علت استفاده از چندین نرم‌افزار در این تحقیق به جای یک نرم‌افزار و در کنار آنالیزهای نرم‌افزارها، بررسی مجدد تمام ریزRNAهای پیش‌بینی شده از لحاظ وجود خصوصیات ریزRNAهای پیش‌ساز و از طرفی تأیید نتایج بدست آمده به روش in silico و با استفاده از داده‌های SRA باعث شد تا ریزRNAهای پیش‌بینی شده قابل اطمینان‌تر باشند. با اعمال این روش در کروموزوم ۲۰ گونه‌ی گوسفند، در مجموع ۴۰۰ ریز RNA پیش‌بینی شد که ۸۱ عدد جدید بودند. ارزیابی این روش نشان داد این روش ممکن است برخی از ریزRNAهای موجود را شناسایی نکند اما ریزRNAهایی که پیش‌بینی می‌کند دارای دقت بسیار بالایی خواهند بود.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه فردوسی مشهد با شماره گرنت ۳/۳۹۵۸۴ انجام گرفت. ضمناً از توصیه‌های جناب آقای دکتر بلال صادقی جهت انجام برخی از مراحل قدرانی می‌شود.

محاسبه‌ی دقت پیش‌بینی

پس از اعمال روش مورد استفاده در این تحقیق روی داده‌های شاهد مثبت ۴۰ ریز RNA پیش‌بینی شد که از این بین ۳۶ ریز RNA درست شناسایی شده بود (TP)، ۴ ریز RNA اشتباه بود (FP) و ۱۸ ریز RNA را نتوانسته شناسایی کند (FN). با قرار دادن در دو فرمول

در مطالعه لی و همکاران (۱۰) نیز حساسیت و دقت انتخاب را به ترتیب ۸۵ درصد و ۵۰ درصد گزارش داده‌اند.

با مقایسه روش به کار گرفته شده در مطالعه‌ی حاضر و روش‌های نام‌برده می‌توان نتیجه گرفت که حساسیت این روش نسبت به روش‌های دیگر تا حدودی پایین‌تر است این بدین معنی است که در طول کروموزوم ۲۰ گوسفند احتمالاً ریزRNAهایی وجود دارد که این روش آنها را شناسایی نکرده‌است. اما این روش دارای دقت انتخاب بسیار بالایی است که به معنی کم بودن نتایج مثبت کاذب در این روش نسبت به سایر روش‌ها است.

از آنجا که شناسایی و تأیید ریزRNAها به روش آزمایشگاهی وقت‌گیر و هزینه‌بر است، توصیه می‌شود که برای بهبود شناسایی miRNA، ابتدا پیش‌بینی انجام شود پس از آن جهت تأیید از روش آزمایشگاهی استفاده می‌شود (۱۶) بنابراین در صورت بالا بودن FP، مرحله‌ی تأیید آزمایشگاهی به سختی انجام می‌شود و مدت زمان و هزینه‌ی زیادی باید صرف شود. این روش دقت انتخاب بالا و FP پایین دارد که سبب می‌شود شرایط بهتری برای شناسایی miRNA فراهم شود.

- 1- Abba, M., N. Patil, and H. Allgayer. 2014. MicroRNAs in the Regulation of MMPs and Metastasis. *Cancers*, 6: 625-645.
- 2- Barozai, M. Y. Kh. 2012. The novel 172 sheep (*Ovis aries*) microRNAs and their targets. *Molecular Biology Reproduction*, 39:6259–6266.
- 3- Bartel, D. P. 2004. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116: 281-297.
- 4- Berezikov, E., E. Cuppen, and R. H. Plasterk. 2006. Approaches to microRNA discovery. *Nature Genetics*, 38 (Suppl: S2) 7.
- 5- Chen, C. Z., L. Li, H. F. Lodish, and D. P. Bartel. 2004. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science*, 303: 83–86.
- 6- Grundhoff, A., C. S. Sullivan, and D. Ganem. 2006. A combined computational and microarray-based approach identifies novel microRNAs encoded by human gamma-herpesviruses. *RNA*, 12: 733–750.
- 7- Hansen, T., T. V. Morten, K. Jorgen, and K. D. Christian. 2014. miRdentify: high stringency miRNA predictor identifies several novel animal miRNAs. *Nucleic Acids Research*, 42(16): e124.
- 8- Hertel, J., and P. F. Stadler. 2006. Hairpins in a Haystack: Recognizing microRNA Precursors in Comparative Genomics Data. 22(14): e197-202.
- 9- Huang, T. H., B. Fan, M. F. Rothschild, Z. L. Hu, K. Li, K., Zhao, and H. Sh. 2007. MiRFinder: an improved approach and software implementation for genome wide fast microRNA precursor scans. *BMC Bioinformatics*, 8: 341.
- 10- Li, S. C., Pan, C. Y., Lin, and W. Ch. 2006. Bioinformatic discovery of microRNA precursors from human ESTs and introns. *BMC Genomics*, 7:164.
- 11- Miska, E. A., E. Alvarez Saavedra, M. Townsend, A. Yoshii, N. Sestan, P. Rakic, M. Constantine Paton, and H. R. Horvitz. 2004. Microarray analysis of microRNA expression in the developing mammalian brain. *Genome Biol*, 5: R68.
- 12- Rodriguez, A., S. Griffiths Jones, J. L. Ashurst, and A. Bradley. 2004. Identification of mammalian micro RNA host genes and transcription units. *Genome Research*, 14: 1902-1910.
- 13- Sadeghi, B., H. Ahmadi, S. Azimzadeh Jamalkandi, M. R. Nassiri, and A. Masoudi Nejad. 2014. BosFinder: a novel pre microRNA gene prediction algorithm in *Bos taurus*. *Animal Genetics*, 45(4): 479-84.
- 14- SantaLucia, J. Jr. 1998. A unified view of polymer, dumbbell, and oligonucleotide DNA nearest-neighbor thermodynamics. *Proceedings of National Academy of Science USA*, 95: 1460-1465.
- 15- Sewer, A., N. Paul, P. Landgraf, A. Aravin, S. Pfeffer, M. J. Brownstein, Th. Tuschl, E. Nimwegen, and M. Zavolan. 2005. Identification of clustered microRNAs using an *ab initio* prediction method. *BMC Bioinformatics*, 6: 267.
- 16- Sheng, X., X. Song, Y. Yu, L. Niu, Sh. Li, H. Li, C. Wei, T. Liu, L. Zhang, and L. Du. 2011. Characterization of microRNAs from sheep (*Ovis aries*) using computational and experimental analyses. *Molecular Biology of Reproduction*, 38(5): 3161–3171.
- 17- Stark, A., P. Kheradpour, L. Parts, J. Brennecke, E. Hodges, G. J. Hannon, and M. Kellis. (2007). Systematic discovery and characterization of fly microRNAs using 12 *Drosophila* genomes. *Genome Research*, 17: 1865–1879.
- 18- Tempel, S., and F. Tahi. 2012. A fast *ab initio* method for predicting miRNA precursors in genomes. *Nucleic Acids Research*, 40(11): e80.
- 19- Tyagi, S., C. Vaz, V. Gupta, R. Bhatia, S. Maheshwari, A. Srinivasan, and A. Bhattacharya. 2008. CID-miRNA: a web server for prediction of novel miRNA precursors in human genome. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 372: 831–834.
- 20- Wu, Y., B. Wei, H. Liu, and T. Li, and S. Rayner. 2011. MiRPara: a SVM based software tool for prediction of most probable microRNA coding regions in genome scale sequences. *BMC Bioinformatics*, 12: 107.
- 21- Zhao, Y., J. F. Ransom, A. Li, V. Vedantham, M. Drehele, A. N. Muth, T. Tsuchihashi, MT. McManus, R. J. Schwartz, and D. Srivastava. 2007. Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miRNA 1–2. *Cell*, 129: 303–317.



Prediction and *In Silico* Validation of Micro-RNAs in Different Tissues Originated from Ovine Chromosome 20

V. Abbasi¹- M. R. Nasiri²- A. Javadmanesh^{3*}

Received: 05-08-2018

Accepted: 22-09-2018

Introduction MicroRNAs (miRNAs) are small noncoding RNA molecules that are found in plants, animals and some viruses and play important role in regulation of transcription (3). Recently, importance of miRNA roles in biology of living organisms has been discovered, thus miRNAs identification became more important (1). Experimental detection of miRNAs can be obtained using different miRNA profiling methods, such as quantitative real-time PCR, microarray, and high-throughput RNA sequencing technologies. Since the identification and verification of miRNA by laboratory methods is time-consuming and costly (4), for improving miRNA identification and lowering costs, it is more reasonable that miRNA loci predicted by reliable bioinformatic approaches then experimental methods used for confirmation. This may decrease false positive results. Recently, several hundreds of miRNAs reported in variety of species including human and mouse, as well as domestic animals such as cattle, pig, chicken and goat, however there are relatively less information about sheep miRNAs. In this study, we developed a method for prediction and *in silico* validation of miRNAs located on ovine chromosome twenty.

Materials and Methods In this study, an *ab initio* approach was used. The sequence of ovine chromosome 20 was used as input for EMBOSS and Sequence-Structure Motif Base: Pre-miRNA Prediction Webservers applications, then all predicted stem and loop structures were entered into mfold software. Pre-miRNA features for them were calculated and sequences that had these features were selected. Since the probability of miRNA presence in the coding region is very low, miRNAs that were predicted in the coding regions were removed. To confirm the prediction of miRNAs, selected sequences were homology searched within all registered miRNAs in miRBase. In order to evaluate the *in silico* expression of miRNAs, predicted miRNAs were BLASTed against expression data from Sequence Read Archive (SRA) of ovine muscle tissue (Accession: PRJNA223213), liver tissue (Accession: GSM1366318) and mixture of tissues including heart, kidney, brain, liver, ovary, lung, skin, and adipose (Accession: GSE56643). In order to evaluate the accuracy of this method, a positive control region including a cluster of validated miRNAs from ovine chromosome 18 were analyzed by the same method and sensitivity and selectivity of this method were calculated based on this region from chromosome 18.

Results and Discussion After prediction by softwares and investigation of pre-miRNAs features by mfold, 400 stem and loop structures that had pre-miRNA features were chosen. Fifty miRNAs from those miRNAs contained conserved mature miRNAs sequence and 350 of them were recognized as novel miRNAs based on registered miRNAs in the miRBase. None of the novel miRNAs were located in the coding regions. *In silico* validation of these novel miRNAs in SRA data was indicated that 81 miRNAs are expressed in different ovine tissues including 33 in muscle and 10 in liver. Results on the positive control data showed that 40 miRNAs were predicted which majority of them (36 miRNAs) were already validated by experiments. This indicates a high reliability for this method. With putting in sensitivity and selectivity formulas, both of two factors were calculated and it was observed that the sensitivity and selectivity values for our method were 67% and 90%, respectively. Fewer studies accomplished in detection of ovine miRNAs in compare to other farm animals. In previous studies to identify miRNAs in ovine species, mostly laboratory-based or comparative methods were used. This was the first study that used SRA database to check miRNA expression in RNAseq data in order to decrease the discovery of false positive results. Comparing this method with others including CID-miRNA (19), miRPara (20), Vmir (6) and miRNAfold (18) methods, we may conclude that this method's sensitivity is less than CID-miRNA, miRPara, miRNAfold and srnaLoop. Although selectivity for this method is higher than all above

1, 2 and 3- MSc Graduated, Professor and Assistant Professor of Animal Science department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

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

methods because the false positive in this method is less than other method. This method showed high selectivity and low FP that due to improved prediction method for identify miRNAs.

Conclusion In the current study, predicted ovine miRNAs were validated by an *in silico* method using SRA database that resulted in a higher reliability than other *ab initio* approaches. Although this method is not very fast and fully automated. With running this method on ovine chromosome 20, 81 novel miRNA were predicted which were expressed in different tissues of sheep. This method could be applied on other ovine chromosomes as well as other mammalian species, although future validation by experimental approaches is required.

Keywords: *Ab initio*, Bioinformatics, miRNA, Sheep.



شناسایی جهش‌های $FecX^H$ ، $FecX^I$ و $FecX^B$ در ژن $BMP15$ در گوسفند نژادهای لک قشقایی و بهمنی در استان کهگیلویه و بویر احمد

مصطفی محقق دولت‌آبادی^{۱*} - اسما مرادعلی‌پور^۲ - فرخنده منصوری^۲ - فرنگیس فتاحی^۲ - زینب صالحی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۰۸

چکیده

نرخ باروری یکی از صفات مهم اقتصادی در گوسفند است، که تحت تأثیر ژنتیک و محیط می‌باشد. ژن $BMP15$ یکی از ژن‌های موثر بر این صفت می‌باشد و جهش‌های مختلف در این ژن باعث تغییر راندمان صفات تولیدمثلی و رشد در گوسفند می‌شود. چنانکه باروری بالا در گوسفندان به علت جهش در جایگاه $BMP15$ با منشا اووسیتی (ژن فاکتور رشد) شناخته شده است. در این مطالعه از روش PCR-RFLP برای شناسایی چند شکلی جایگاه‌های ژنی $FecX^H$ ، $FecX^I$ و $FecX^B$ استفاده شد. بدین منظور از تعداد ۹۲ رأس میش نژاد لک قشقایی و بهمنی به طور تصادفی خون‌گیری صورت گرفت و استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA انجام شد. قطعات مورد نظر با استفاده از آغازگرهای اختصاصی (قطعه ۲۰۴ bp از $FecX^I$ ، قطعه ۲۳۵ bp از $FecX^H$ و قطعه ۱۵۳ bp از ژن $FecX^B$)، و توسط واکنش زنجیره پلی‌مراز (PCR) تکثیر گردید. پس از مجاورت محصولات PCR با آنزیم‌های اختصاصی ($DdeI$ ، $SpeI$ ، $XbaI$)، مشاهده گردید که همه قطعات $FecX^H$ و $FecX^I$ فاقد جایگاه برش برای آنزیم هضم‌کننده بوده و تنها یک الگوی بانندی در آن‌ها مشاهده شد. این مطالعه تنها وجود آلل‌های تیپ وحشی را تأیید کرد. تمامی نمونه‌ها دارای ژنوتیپ هموزیگوت بودند و جهش اینوردل و هانا (جهشی که در حالت هتروزیگوت باعث افزایش میزان تخمک‌گذاری می‌شود) در آن‌ها یافت نشد. براساس نتایج این مطالعه، ژن $BMP15$ نمی‌تواند تأثیری بر میزان چندقلوزایی در گوسفندان مورد مطالعه داشته باشد، بنابراین باید به دنبال جهش‌ها یا ژن‌های دیگری بود.

واژه‌های کلیدی: باروری، چندشکلی، ژن $BMP15$ ، گوسفند.

مقدمه

روز به روز از نژادهای پر بازده خارجی استفاده می‌کنند از این رو تنوع ژنتیکی در دام‌های بومی با مشکل مواجه شده است. از طرفی به کارگیری روش‌های سنتی اصلاح نژاد نظیر انتخاب و آمیزش (بر اساس داده‌های فنوتیپی) به منظور افزایش تعداد بچه در هر زایش، به دلیل پایین بودن وراثت‌پذیری این صفت، دارای روندی کند و پر هزینه است. بنابراین، تلاش برای کشف ژن‌های موثر بر چندقلوزایی و موتاسیون‌های مؤثر بر نرخ تخمک‌گذاری و به تبع آن بچه زائیده شده در هر زایش، در میان متخصصین اصلاح نژاد در چند دهه اخیر به طور قابل توجهی افزایش یافته است (۲۱).

براساس مطالعات ژنتیکی انجام گرفته جهش‌های تک نوکلئوتیدی دارای اثرات مهمی روی چندقلوزایی و تخمک‌گذاری هستند. ژن‌های حامل این جهش‌ها را ژن‌های باروری یا Fec می‌نامند. یکی از این ژن‌ها $BMP15$ می‌باشد که روی کروموزوم X قرار دارد و به $FecX$ معروف است (۳۰). جهش $FecX$ اولین بار در گوسفندان بلکلار ایرلند که میزان تخمک‌گذاری بالایی داشتند، مشاهده شد (۲۰). ژن‌های BMP ، بر تنظیم بیان و ترشح

گوسفند نژادهای لک قشقایی و بهمنی از نژادهای بومی استان کهگیلویه و بویراحمد می‌باشند که به عنوان سرمایه ملی کشور به حساب می‌آیند. این گوسفندان به دلیل داشتن مقاومت زیاد در مقابل کمبود علوفه، عادت داشتن به راهپیمایی زیاد در مسیرهای کوهستانی، چرا در مراتع فقیر و تخریب یافته، مقاومت در برابر بیماری‌ها مخصوصاً بروسلوز و نیز مقاومت به تغییرات آب و هوایی، نژاد مناسب عشایر این استان می‌باشند اما میزان باروری در این گوسفندها نسبتاً پایین است. دامداران نیز با مشاهده زادآوری پایین،

۱. دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران.

۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه

یاسوج، یاسوج، ایران.

*)-ایمیل نویسنده مسئول:

mmuhaghegh@yu.ac.ir

DOI: 10.22067/ijasr.v11i2.70188

کارانه به ترتیب در جایگاه‌های ۳۱، ۵۳ و ۹۹ می‌گردند. اما جهش‌های $FecX^B$ و $FecX^G$ باعث ایجاد یک کدون توقف در جایگاه‌های ۲۳۹ و ۲۹۱ ژن $BMP15$ می‌شوند که ظاهراً به شکل فعال و بالغ محصول بیولوژیکی آسیب می‌رسانند (۲۸).

بررسی خصوصیات تولیدمثلی خصوصاً ژن‌های مؤثر بر تولیدمثل در سال‌های اخیر در کشورمان به منظور تعیین خصوصیات ژنتیکی رواج زیادی یافته است و تاکنون چند شکلی اگزون ۲ ژن $BMP15$ در نژادهای سنجابی (۴۰)، دالاق (۲۳) و سنگسری (۳۶) مورد بررسی قرار گرفته است و در نژاد سنجابی چند شکلی در اگزون ۲ این ژن با دوقلو زایی و صفات وزنی مرتبط بوده است. بنابراین با توجه به تأثیر افزایش چندقلو زایی بر میزان گوشت تولیدی، این مطالعه به شناسایی جهش‌های مؤثر بر چندقلو زایی و تخمک‌گذاری ($FecX^H$ ، $FecX^I$ و $FecX^B$) در ژن $BMP15$ از گوسفندان نژاد لک قشقایی و بهمنی استان کهگیلویه و بویراحمد پرداخته است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۹۲ رأس از میش‌های نژاد لک قشقایی (۲۴ رأس تک قلوزا و ۲۴ رأس دوقلوزا)، و بهمنی (۲۲ رأس تک قلوزا و ۲۲ رأس دوقلوزا)، از دو گله به ترتیب در گچساران و کهگیلویه جمع‌آوری، سپس از سیاهرگ وداجی آن‌ها خون‌گیری انجام شد. از لوله‌های آزمایش استریل حاوی ماده ضد انعقاد EDTA برای خون‌گیری استفاده شد. نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه مرکزی دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج منتقل گردید و در فریزر دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس ماده ژنتیکی هر نمونه با استفاده از کیت استخراج DNA (AccuPrep® genomic DNA extraction kit) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد و تا زمان استفاده در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. کمیت و کیفیت DNA استخراجی نیز با استفاده از اسپکتروفتومتر و ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین گردید. رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید با غلظت ۱۰ μg/mL انجام شد. به منظور بررسی جهش و تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسیم‌ها، قطعاتی از ژن $BMP15$ به کمک تکنیک PCR و توسط آغازگرهای اختصاصی $FecX^I$ (۹)، $FecX^H$ (۲۲) و $FecX^B$ (۲۰) که مشخصات آن‌ها در جدول ۱ آمده است، تکثیر شدند. برای شناسایی پلی مورفیسیم‌های موجود در این ژن‌ها از روش PCR-RFLP استفاده شد.

هورمون‌های مؤثر بر رشد فولیکولی و نرخ تخمک‌اندازی مؤثر هستند و توسط تخمک تولید می‌شوند. این ژن‌ها در توسعه جنین، هموستازی، تعمیر و اصلاح الگوهای بافتی مختلف، تمایز سلولی و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول نقش دارند (۳۰). ژن $BMP15$ ، تکثیر و تمایز سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌های در حال رشد را از طریق افزایش تقسیم میتوز، مهار بیان گیرنده‌های FSH و تحریک بیان کیت لیگاند (Kit Ligand) تنظیم می‌کند. بنابراین این ژن نقش محوری در باروری دام‌ها دارد (۹). ژن $BMP15$ اولین ژنی بود که ارتباط آن با افزایش نرخ تخمک‌اندازی در گوسفندان اینوردل (چند شکلی $FecX^I$) و هانا (چند شکلی $FecX^H$) گزارش شد (۱۴). بلافاصله پس از آن پلی مورفیسیم بورولا ($FecX^B$) در ژن $BMP15$ در گوسفندان بورولا مرینو شناسایی شد (۸). ژن‌های $BMP15$ (دسته پروتئین‌های مورفوژنتیک استخوانی)، $BMPR-IB$ (گیرنده نوع B پروتئین مورفوژنتیک استخوانی) و $GDF9$ (فاکتور تمایز کننده رشد) از مهم‌ترین ژن‌های مؤثر بر چندقلو زایی و تخمک‌گذاری هستند که در نژادهای مختلف گوسفند، مورد مطالعه گسترده قرار گرفته‌اند (۲۰). ژن $GDF9$ در گوسفندان کمبریج و بلکلیر مسئول افزایش نرخ تخمک‌اندازی در هتروزایگوت‌ها و ناباروری در هموزایگوت‌ها، بسیار مشابه به پلی مورفیسیم‌های ژن $BMP15$ می‌باشد. وجود همزمان جهش در ژن‌های $BMP15$ و $GDF9$ برای هر دو جایگاه باعث تأثیر افزایشی آن‌ها بر یکدیگر و منجر به چندقلو زایی زیادتر نسبت به حالت جهش منفرد در یک ژن شده است (۲۰). این ژن‌ها با میزان اثر متفاوت بر روی نرخ تخمک‌اندازی و چندقلو زایی، دریچه جدیدی را برای پرورش‌دهنده گان گوسفند جهت افزایش درصد بهره‌زایی فراهم کرده است. ژن $BMP15$ یکی از اعضای سوپر خانواده TGFβ می‌باشد و دارای دو اگزون است که توسط یک اینترون به طول ۵/۴ کیلو باز از همدیگر جدا می‌شوند. محصول رونویسی کامل آن‌ها یک توالی ۱۱۷۹ نوکلئوتیدی بوده که کدکننده یک پیش پپتید به طول ۳۹۳ اسید آمینه است در حالی که پپتید کامل آن ۱۲۵ اسید آمینه طول دارد (۱۵). تاکنون ۸ پلی مورفیسیم تک نوکلئوتیدی ($FecX^R$ ، $FecX^B$ ، $FecX^I$ ، $FecX^G$)، $FecX^H$ ، $FecX^O$ ، $FecX^L$ ، $FecX^{Gr}$ در این ژن گزارش شده (۴)، (۲۰) که بعضی از آن‌ها با صفات باروری در گوسفندان نژادهای مختلف در ارتباط است. در این میان جهش‌های $FecX^I$ و $FecX^H$ بر افزایش نرخ تخمک‌اندازی تأثیر بسزایی داشته‌اند (۸). جهش‌های $FecX^L$ ، $FecX^B$ و $FecX^I$ باعث جایگزینی اسید آمینه غیر محافظه

جدول ۱- ویژگی‌های آغازگرها برای سه ناحیه از ژن $BMP15$

Table 1- Primer properties of $FecX^I$, $FecX^H$ and $FecX^B$ of $BMP15$ gene

ژن	نوع آغازگر	توالی آغازگر	طول قطعه (جفت باز)	منبع
Gene-allele	Type	Primer sequences	Fragment length (bp)	Reference
$FecX^I$	Sense	GGCAGTATTGCATCGGAAGTTCC	204	Davis et al., 2002
	Antisense	CATGATTGGGAGAATTGAGACC		
$FecX^H$	Sense	TATTTCAATGACACTCAGAG	235	Hua et al., 2008
	Antisense	GAGCAATGATCCAGTGATCCCA		
$FecX^B$	Sense	GCCTTCTGTGTCCCTTATAAGTATG	153	Hanrahan et al., 2004
	Antisense	TTCCCTTA TTCTTGGGAAACCTGAGCTAGC		

۴۰ ثانیه) در دستگاه ترموسایکلر Xp Cycler (ساخت کشور چین) انجام گردید. این واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر با محتویات ۲/۵ میکرولیتر بافر 10X، ۱/۵ میلی‌مول $MgCl_2$ ، ۰/۵ میکرومول از هر پرایمر، ۲۰۰ میکرومول dNTP، ۱ واحد آنزیم Taq پلی‌مراز، ۱۰۰ نانوگرم DNA استخراج شده، انجام شد. پس از پایان PCR، محصولات بدست آمده با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد بررسی شدند و قطعات ۱۵۳ جفت بازی برای ژن $FecX^B$ مشاهده گردید. سپس محصولات بدست آمده برای شناسایی جهش‌های $FecX^B$ با آنزیم-های اختصاصی (*DdeI* (Fermentas) به مدت یک شب تیمار گردیدند. بدین منظور مقدار ۶ میکرولیتر محصول PCR، ۲ میکرولیتر بافر 10X، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم *DdeI* (غلظت 10 u/μL) با استفاده از آب مقطر دیونیزه به حجم ۲۰ میکرولیتر رسانیده شد. واکنش به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد. در صورتی که جهش مورد نظر وجود داشته باشد باند ۱۵۳ جفت بازی بدون تغییر باقی می‌ماند، اما در صورتی که جهش وجود نداشته باشد، باند ۱۵۳ جفت بازی به وسیله آنزیم به دو باند ۱۲۲ و ۳۱ جفت بازی شکسته می‌شود (۲۰ و ۲۲). پس از پایان هضم، محصولات بدست آمده بر روی ژل پلی اکریلامید ۱۰ درصد ران شده و ژنوتیپ‌ها به روش رنگ آمیزی نیترا نقره تعیین شدند.

نتایج و بحث

مشاهده یک باند ۲۰۴ جفت بازی برای جهش آغازگر $FecX^I$ ، یک باند ۲۳۵ جفت بازی برای جهش آغازگر $FecX^H$ و باند ۱۵۳ جفت بازی برای $FecX^B$ ، نشان دهنده تکثیر درست قطعات انتخاب شده ژن $BMP15$ و صحت انجام PCR بود. عدم وجود کشیدگی و شفاف بودن باندها، نشان دهنده عدم وجود آلودگی‌های پروتئینی بود و مشاهده تنها یک باند، نشان از آغازگرهای اختصاصی است که تنها دارای یک قطعه هدف روی DNA الگو بود.

پس از هضم آنزیمی قطعات ۲۰۴ و ۲۳۵ به ترتیب با آنزیم‌های محدودگر *XbaI* و *SpeI*، هیچ کدام از جایگاه‌ها برش داده نشد و هیچ

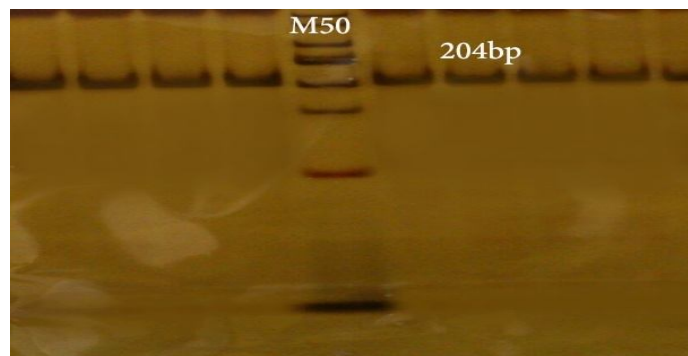
واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز به کمک کیت لیوفیلیزه بایونیر (شرکت تکاپوزیست) انجام گرفت. برنامه حرارتی برای تکثیر قطعه $FecX^I$ شامل دمای واسرشت شدن اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۴۵ چرخه شامل سه مرحله: دمای واسرشت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، دمای اتصال آغازگرها ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، و تکثیر قطعه مورد نظر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و یک چرخه تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه اعمال شد (۲۱). سپس ۱۰ میکرولیتر از هر محصول PCR با ۵ واحد از آنزیم محدودالایر *XbaI* در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای ۱۲ ساعت تحت عمل هضم قرار گرفت. در حالت ژنوتیپ جهش یافته، قطعه ۲۰۴ بازی تکثیر شده از محصول PCR توسط آنزیم *XbaI* به دو قطعه ۸۱ و ۱۲۳ بازی برش داده می‌شود. در میس‌های ژنوتیپ وحشی آنزیم قادر به شناسایی و برش جایگاه مذکور نیست.

برنامه حرارتی برای تکثیر قطعه $FecX^H$ شامل دمای واسرشت شدن اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و در ادامه ۳۵ سیکل به ترتیب دمای واسرشت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها ۵۱-۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، تکثیر قطعه مورد نظر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و یک چرخه دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد. جهت هضم آنزیمی، ۱۰ میکرولیتر از هر محصول PCR در معرض ۵ واحد از آنزیم محدودالایر *SpeI*، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای ۱۲ ساعت قرار گرفت. این آنزیم قادر به شناسایی و برش جایگاه A/CTAGT می‌باشد به طوری که در این قطعه، آنزیم روی الل وحشی اثر نداشته ولی آلل جهش یافته را به دو قطعه ۶۸ و ۱۶۷ جفت بازی برش می‌دهد. بنابراین ژنوتیپ جهش یافته دارای دو باند ۶۸ و ۱۶۷ جفت بازی و ژنوتیپ وحشی دارای یک باند ۲۳۵ جفت بازی است.

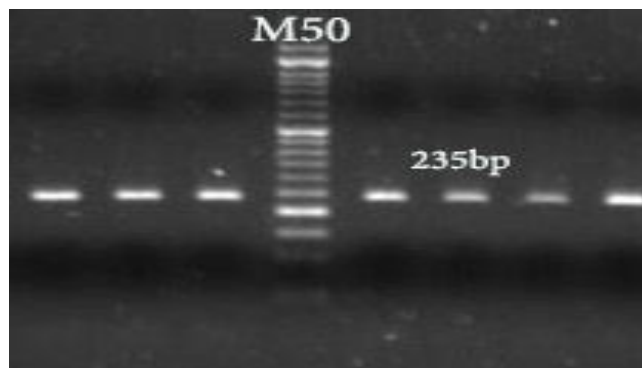
واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای تکثیر قطعه $FecX^B$ با ۳۵ چرخه (۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و ۳۰ ثانیه برای واسرشت اولیه و ثانویه و دمای مناسب برای اتصال، ۶۴ درجه سانتی‌گراد به مدت

به طوری که پس از تیمار محصولات PCR با آنزیم *DdeI* همه قطعات ۱۵۳ جفت بازی برش خوردند و باندهای ۱۲۲ و ۳۱ جفت بازی برای ژن *FecX^B* مشاهده گردید (شکل ۳).

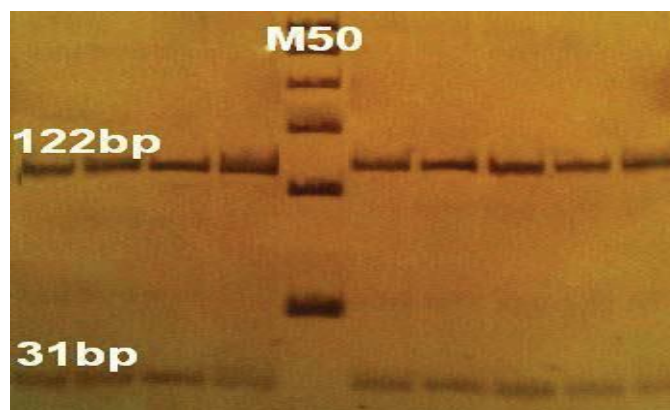
تفاوتی بین حیوانات مختلف مشاهده نشد و تمامی گوسفندان دارای آللهای وحشی بودند (شکل ۱ و ۲). همچنین الگوی باندهای مشاهده شده در الکتروفورز پس از هضم آنزیمی، وجود جهش *FecX^B* را در نژادهای لک قشقایی و بهمنی استان کهگیلویه و بویراحمد نشان نداد.



شکل ۱- الکتروفورز محصولات حاصل از هضم ژن *BMP15* توسط آنزیم *XbaI* با مارکر ۵۰ bp
Figure 1- Electrophoresis of digestion products of *BMP15* gene by *XbaI* enzyme using 50bp size marker



شکل ۲- الکتروفورز محصولات حاصل از هضم ژن *BMP15* توسط آنزیم *SpeI* با مارکر ۵۰ bp
Figure 2- Electrophoresis of digestion products of *BMP15* gene by *SpeI* enzyme using 50bp size marker



شکل ۳- الکتروفورز محصولات حاصل از هضم ژن $BMP15$ توسط آنزیم $DdeI$ با مارکر ۵۰ bp
Figure 3- Electrophoresis of digestion products of $BMP15$ gene by $DdeI$ enzyme using 50bp size marker

پلی مورفیسم $FecX^B$ از ژن $BMP15$ در گوسفندان نژاد دالاق پرداختند که نتایج حاصل از این بررسی نیز حاکی از عدم وجود جهش در نمونه‌های مورد بررسی بود، و تمامی این مطالعات با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت دارد. لین و همکاران (۲۵)، جهش $FecX^B$ را در بزهای سه قلوزا و نرهای نژاد سفید گیژو مشاهده کردند.

نتایج بدست آمده در این مطالعه در مورد پلی مورفیسم $FecX^1$ با نتایج تحقیقات انجام شده در گوسفندان نژاد لری بختیاری (۳)، نژاد شال (۲۱)، نژاد هان چین (۲۶)، هیو یانگ و مریو چینی (۴۳)، ۲۱ نژاد گوسفند از ۱۳ کشور از جمله نژادهای شرقی رومانوف، فین و فریزین (۱۰)، گوسفندان مصری (۱)، گوسفند گارول هندوستان (۳۷)، گوسفند شمال آفریقا (۴۲)، ساکیز یونانی (۲۹)، گوسفندان بومی ترکیه (۱۹)، بربرین تونس (۵)، سه نژاد از گوسفندان شیلی (۳۵) و گوسفند نژاد ساکیز (۱۱) که همگی دارای ژنوتیپ تیپ وحشی می‌باشند، مطابقت دارد. همچنین این نتایج با نتیجه حاصل از نژاد چندقلوزای رامنی اینوردل مغایرت داشت. محققان میزان فراوانی ژن در گوسفند نژاد رامنی اینوردل را حدود ۰/۲۱ بدست آوردند (۳۳). در واقع ژن $BMP15$ با تغییر در پروتئین‌های ساخته شده باعث افزایش حساسیت سلول‌های گرانولوزا به FSH گردیده و در نتیجه باعث افزایش رشد فولیکول‌ها و ایجاد تخمک‌گذاری در فولیکول‌های کوچکتر حاملین هتروزیگوت می‌گردد (۴۴ و ۴۵). اما در حاملین هموزیگوت، تخمدان‌ها کوچک، دوکی شکل و غیر فعال بوده، رشد فولیکول‌ها در زمان جنینی متوقف گردیده و در مرحله اولیه باقی مانده‌اند. این فولیکول‌ها در دام‌های بالغ نیز فاقد تخمک می‌باشند. همچنین در این افراد میزان FSH و LH نسبتاً بالاست اما میزان استرادیول و اینهیبین قابل شناسایی نیست (۱۵). بنابراین حاملین هتروزیگوت این جهش‌ها بارور و دارای یک یا دو تخمک‌گذاری بیشتر از حالت عادی

بنا بر نتایج این پژوهش، کل جمعیت مورد مطالعه هموزیگوت (ژنوتیپ وحشی) بودند. این گوسفندان با محیط سازگاری کامل یافته و میزان تنوع جایگاه‌های مورد مطالعه صفر است.

مطالعه ژن‌های $GDF9$ و $BMP15$ در گوسفندان ایرانی نشان‌دهنده عدم وجود جهش‌های بزرگ اثر می‌باشد که در حالت هموزیگوت منجر به عقیمی می‌گردد (۱۳، ۱۶ و ۳۲) با این حال جهش‌های کوچک اثر در این ژن‌ها در گوسفندان ایرانی وجود دارد (۱۲، ۴۶ و ۴۷). پولی و همکاران (۳۷) به بررسی چند شکلی $FecX^B$ پرداختند که نتایج حاصل از این بررسی، پلی مورفیسم در این جایگاه را در نمونه‌هایی از گوسفندان گارول هندی نشان داد. شاه محمدی (۳۹) به شناسایی پلی مورفیسم در قطعه ۱۵۳ جفت بازی از اگزون ۲ ژن $BMP15$ در نمونه‌هایی از گوسفندان نژاد زل پرداخت که نتایج حاصل، حاکی از عدم وجود جهش در این جایگاه بود. گزارش گنجعلی (۱۷) نیز حاکی از عدم وجود جهش برای $FecX^B$ در نمونه‌هایی از این نژاد بود. علی‌نقی‌زاده و همکاران (۲) به بررسی پلی مورفیسم $FecX^B$ در بز سرخ جبال بارز پرداختند که نتایج حاصل، پلی مورفیسم در این جایگاه را نشان نداد و عدم وجود جهش برای $FecX^B$ در نمونه‌هایی از این نژاد با نتایج حاصل از بررسی حاضر مطابقت دارد. در مطالعه هوا و همکاران (۲۲) که روی شش نژاد چینی بوئر (Boer)، هایمن (Haimen)، هونقای (Huanghuai)، نوبی (Nubi)، متیو (Matou)، و جینینگ خاکستری (Jining Grey)، انجام گردید، جهش $FecX^B$ مشاهده نشد. همچنین نتایج مشابهی در مطالعه پولی و همکاران (۳۸) که روی نژاد چندقلوزای بنگال سیاه هندی انجام گردید، بدست آمد. طی مطالعه‌ای که روی ۱۰۹ بز بومی ایرانی انجام گردید، جهش $FecX^B$ در بزهای این نژاد مشاهده نشد (۴۱). خان احمدی و همکاران (۲۳) با استفاده از تکنیک PCR-RFLP به بررسی

هستند در حالی که حاملین هموزیگوت نابارور و دارای تخمدان‌های کوچک هستند (۴، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۱).

در مطالعه حاضر بررسی نتایج حاصل از هضم آنزیمی، الگوی باندی یکسانی (۲۳۵ bp) را نشان داد که حاکی از عدم وقوع جهش در جایگاه *FecX^H* در میش‌های نژاد لک قشقایی و بهمنی می‌باشد. نتایج این مطالعه با مطالعات انجام شده روی گوسفندان نژاد هان و هو در چین (۶ و ۷)، گوسفند گارول (۳۷) و گوسفند شمال آفریقا (۴۲) مطابقت دارد و تمامی گوسفندان دارای ژنوتیپ تیپ وحشی می‌باشند ولی با نتایج حاصل از نژاد رامنی هانا مغایرت داشت (۳۳). جهش هانا نیز در حالت هتروزیگوت باعث افزایش میزان تخمک‌گذاری می‌شود و در حالت هموزیگوت جهش یافته باعث عقیم شدن میش می‌شود. افزایش باروری در گوسفندان هتروزیگوت راسا آرانگوسای اسپانیایی به دلیل فقدان توالی ۱۷bp از ژن *BMP15* می‌باشد، این محققین نشان دادند که گوسفندان هموزیگوت فاقد آلل جهش یافته، نابارور هستند (۲۷).

از آنجایی که پروتئین کدشده توسط ژن *BMP15* در رشد فولیکول تخمدانی دخالت می‌کند، تغییر در جایگاه‌های مهم این پروتئین می‌تواند بر میزان باروری میش‌ها نقش بسزایی داشته باشد. جهش C/T در جایگاه +۶۷ ژن *BMP15* در میش‌های دارای پلی مورفیسم *FecX^H* منجر به تغییر اسید آمینه گلوتامین در جایگاه ۲۳ به یک کدون خاتمه می‌شود. همچنین جهش T/A در جایگاه +۹۲ این ژن در میش‌های دارای جهش *FecX^L* منجر به جایگزینی اسید آمینه آسپارژین به جای اسید آمینه والین در جایگاه ۳۱ این پروتئین می‌شود (۱۴).

مطالعات انجام گرفته روی نژادهای مختلف گوسفند ایرانی نشان می‌دهند که تاکنون برخی از جهش‌های مؤثر بر چندقلوزایی، شناسایی نشده است. احتمالاً یا این جهش‌ها در آن نژادها وجود داشته و بعداً از بین رفته است یا جهش‌های ناشناخته دیگری عامل چندقلوزایی می‌باشند و هنوز شناسایی نشده‌اند و یا اصلاً این جهش‌ها از نژادهای منبع به آن‌ها وارد نشده است. به طور کلی محیط پرورشی می‌تواند بر عملکرد ژن‌های مؤثر بر باروری تأثیر گذار باشد و شاید بتوان اینگونه تفسیر نمود که طبیعت ایران برای ماندگاری و تداوم نسل گوسفندان واجد ژن جهش یافته مزبور مناسب نبوده است و این جهش‌ها صلاحیت ماندگاری نداشته‌اند. در مطالعه‌ای که روی جهش *FecB*

انجام گردید به این نتیجه رسیدند که منشاء این جهش، گوسفندان نژاد گارول هندی بوده است که در قرن ۱۸ میلادی تعدادی از این گوسفندان با کشتی به استرالیا منتقل و پس از تلاقی این نژاد با گوسفندان مرینو، جهش *FecB* به آن‌ها منتقل گردیده است (۸ و ۱۰). نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهند که تنها جهش‌های شناخته شده ژن *BMP15*، از عوامل ژنتیکی مؤثر بر چندقلوزایی نمی‌باشند بلکه جهش‌های شناخته شده و یا ناشناخته دیگر می‌توانند از عوامل مؤثر بر چندقلوزایی باشند که لازم است در جمعیت‌های مختلف مورد بررسی قرار گیرند (۱۸، ۴۴). از جمله مطالعاتی که اخیراً رواج پیدا کرده است تلاقی حاملین ژن‌های بزرگ اثر با دیگر نژادها می‌باشد. از جمله این تلاقی‌ها می‌توان به تلاقی گوسفندان گارول حامل ژن بزرگ اثر *FecB* با گوسفندان مالپورا، دکانی و بنر اشاره نمود که باعث انتقال ژن بزرگ اثر *FecB* به این نژادها و بهبودی وضعیت تولیدمثلی آن‌ها گردیده است (۲۴ و ۳۴). بنابراین با استفاده از این روش می‌توان با تلاقی نژادهای ایرانی با نژادهای حامل ژن‌های بزرگ اثر اقدام به اصلاح ژنتیکی دام‌های ارزشمند ایرانی نمود.

نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه به منظور شناسایی حیوانات دارای باروری بالا، چند شکلی‌های *FecX^L*، *FecX^H* و *FecX^B* که نقش موثری در باروری دارند در جمعیت گوسفندان نژاد لک قشقایی و بهمنی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاکی از عدم وجود جهش‌های ذکر شده در گوسفندان تک‌قلوزا و دوقلوزای نژادهای مورد مطالعه بود. از آنجا که در این پژوهش تنها یک ژنوتیپ (آلل نوع وحشی) برای جایگاه‌های مورد مطالعه شناسایی شده است، می‌توان چنین تفسیر نمود که مکانیسم مولکولی مؤثر بر صفت چندقلوزایی در این دو نژاد تحت تأثیر پلی مورفیسم‌های این ژن قرار ندارد. همانطور که گفته شد صفت چندقلوزایی جزء صفات پلی ژن می‌باشد که تاکنون جهش‌های مؤثر بر این صفات در ژن‌های عمده *BMP15*، *BMPR-IB* و *GDF9* شناسایی شده است، بنابراین باید به دنبال مناطق دیگری از ژنوم این گوسفندان بود که تاکنون شناسایی نشده‌اند. پیشنهاد می‌گردد که در مطالعات مختلف، تعداد بیشتری از گوسفندان مورد بررسی قرار گیرند.

منابع

- 1- Abulyazid, I., H. M. Sharada, M. S. Abdalla, H. M. Saleh, and W. F. Hassanin. 2011. $FecX1$ gene as a monitor for the production of twins in the Egyptian sheep. *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences*, 1(4): 217-219.
- 2- Alinaghizadeh, H., M. R. MohammadAbadi, and S. Zakizadeh. 2010. Exon 2 of $BMP15$ gene polymorphism in Jabal Barez Red Goat. *Iranian Journal of Agricultural Biotechnology*, 2(1): 69-80. (In Persian).
- 3- Amiri, A., G. H. Rahimi Miyanji, and M. Vatankhah. 2008. Absence of allelic polymorphisms in Broula ($FecB$) and $FecX1$ gene in Lori-Bakhtiari breed sheep. *Journal of Genetics-Novin*, 3(4): 57-63. (In Persian).
- 4- Bodin, L., E. Di Pasquale, S. Fabre, M. Bontoux, P. Monget, L. Persani, and P. Mulsant. 2007. A novel mutation in the $BMP15$ gene causing defective protein secretion is associated with both increased ovulation rate and sterility in Lacunae sheep. *Endocrinology*, 148: 393-400.
- 5- Borni, J., B. Sonia, and D. M. Naouer. 2011. Study for identification $FecXI$ and $FecXH$ mutations in Tunisian Barbarine sheep. *Research Opinions in Animal & Veterinary Sciences*, 1(2): 112-115.
- 6- Chu, M. X., Z. H. Liu, C. L. Jiao, Y. Q. He, L. Fang, S. C. Ye, G. H. Chen, and J. Y. Wang. 2006. Mutations in $BMPIR-1B$ and $BMP15$ genes are associated with litter size in small tailed Han sheep (*Ovis aries*). *Animal Science*, 85: 598-603.
- 7- Chu, M., R. Cheng, G. Chen, L. Fang, and S. Ye. 2004. Study on bone morphogenetic protein 15 as a candidate gene for prolificacy of small tail Han sheep and Hu sheep. *Journal of Anhui Agricultural University*, 32(3): 278-282.
- 8- Davis, G. H. 2005. Major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genetics Selection Evolution*, 37: 11–23.
- 9- Davis, G. H., S. M. Galloway, I. K. Ross, S. M. Gregan, J. Ward, B. V. Nimbkar, P. M. Ghalsasi, C. Nimbkar, G. D. Gray, Subandriyo, I. Inounu, B. Tiesnamurti, E. Martyniuk, E. Eythorsdottir, P. Mulsant, F. Lecerf, J. P. Hanrahan, G. E. Bradford, and T. Wilson. 2002. DNA tests in prolific sheep from eight countries provide new evidence on origin of the Booroola ($FecB$) mutation. *Biology of Reproduction*, 66: 1869-1874.
- 10- Davis, G.H., L. Balakrishnan, I. K. Ross, T. Wilson, S. M. Galloway, B. M. Lumsden, J. P. Hanrahan, M. Mullen, X. Z. Moa, G. L. Wang, S. Z. Zhao, Y. Q. zeng, j. J. Robinson, A. P. Mavrogenis, C. Papachristoforou, c. Peter, R. Baumung, P. Cardyn, I. Boujenanel, n. E. Cockett, E. Eythoroddottir, J. J. Arranz, and D. R. Notter. 2006. Investigation of the Booroola ($FecB$) and Inverdale ($FecX^1$) mutations in 21 prolific breeds and strains of sheep sampled in 13 countries. *Animal Reproduction Science*, 92: 87–96.
- 11- Dinçel, D., S. Ardiçli, B. Soyudal, M. Er., F. Alpay, H. Şamli, and F. Balci. 2015. Analysis of $FecB$, $BMP15$ and $CAST$ gene mutations in Sakiz sheep. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21(4): 483-488.
- 12- Eghbalsaid, S., H. Amini, S. Shahmoradi, and M. Farahi. 2014. Simultaneous presence of G1 and G4 mutations in growth differentiation factor 9 gene of Iranian sheep. *Iranian Journal of Applied Animal Research*, 4: 781-785. (In Persian).
- 13- Eghbalsaid, S., K. Ghaedi, S. Shahmoradi, A. Pirestani, H. Amini, T. Saiedi, L. Nicol, and A. McNeilly. 2012. Presence of SNPs in $GDF9$ mRNA of Iranian Afshari sheep. *Iranian International Journal of Fertility and Sterility*, 5: 225–230 (In Persian).
- 14- Galloway, S. M., K. P. McNatty, L. M. Cambridge, M. P. E. Laitinen, J. L. Juengel, T. S. Jokiranta, R. J. McLaren, K. Luro, K.G. Dodds, G. W. Montgomery, A. E. Beattie G. H. Davis, and O. Ritvos. 2000. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene ($BMP15$) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nature Genetics*, 25: 279–283.
- 15- Galloway, S. M., S. M. Gregan, T. Wilson., K. P. McNatty, J. L. Jungel, O. Ritvos, and G. H. Daivis. 2002. $BMP15$ mutations and ovarian function. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 191: 15-18.

- 16- Ghaffari, M., A. Nejati-Javaremi, and G. Rahimi-Mianji. 2009. Lack of polymorphism in the oocyte derived growth factor (GDF9) gene in the Shal breed of sheep. *South African Journal of Animal Science*, 39: 355-360.
- 17- GhangAhi. H., Gh. L. Mohamade, H. Ghale dare, and M. R. Afzal Zadeh. 2015. The study of mutations FECX^B and FECX^G in Kamvry goats in Khuzestan province. *Iranian Journal of Genetics in the Third Millennium*, 2: 3528-3535. (In Persian).
- 18- Guan, F., S. R. Liu, G. Q. Shi, and L. G. Yang. 2007. Polymorphism of FecB gene in nine sheep breeds or strains and its effects on litter size, lamb growth and development. *Animal Reproduction Science*, 99: 44-52.
- 19- Gursel, F. E., I. Akis, H. Durak, A. Mengi, and K. Oztalak. 2011. Determination of BMP15, BMPR-1B and GDF-9 gene mutations of the indigenous sheep breeds in Turkey. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 17(5): 725-729.
- 20- Hanrahan, J. P., S. M. Gregan, P. Mulsant, M. Mullen, G. H. Davis, R. Powell, and S. M. Galloway. 2004. Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*). *Biology of Reproduction*, 70: 900-909.
- 21- Hedayat Iveregh, N., R. Meraeiashtiani, and A. Nejati Javaremi. 2011. Investigate the presence of polymorphisms in genes FecX^L and FecX^H associated with twin formation in Shal sheep. *Journal of Genetic Novin*, 6(4): 29-34. (In Persian).
- 22- Hua, G. H., S. L. Chen, J. T. Ai, and L. Yang. 2008. None of polymorphism of ovine fecundity major genes FecB and FecX was tested in goat. *Animal Reproduction Science*, 108: 279-286.
- 23- Khanahmadi, A., S. H. Gharehveysi, R. Khataminejad, and J. Arab. 2014. Polymorphic variants of G1 and B4 from GDF9 of Dalagh sheep. *Iranian Journal of Research on Animal Production*, 10: 148-155. (In Persian).
- 24- Kumar, S., A. K. Mishra, A. P. Kolte, S. K. Dash, and S. A. Karim. 2008. Screening for Booroola (FecB) and Galway (FecXG) mutations in Indian sheep. *Small Ruminant Research*, 80 (1-3): 57-61.
- 25- Lin, J., Z. Du, C. Qin, J. f. Wang, and X. Ran. 2007. Polymorphism of BMP15 gene in Guizhou white goats. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 39(12): 21-24.
- 26- Lio, S. F., Y. L. Jiang, and L. X. Du. 2003. Study of BMPR-IB and BMP15 as candidate genes for fecundity in little tailed Han sheep. *Acta Genetica Sinica*, 8: 755-760.
- 27- Luis, V., P. Ricardo, M. T. Tejedor, L. Adolfo, and S. Isidro. 2009. A 17 bp deletion in the Bone Morphogenetic Protein 15 (BMP15) gene is associated to increased prolificacy in the Rasa Aragonesa sheep breed. *Animal Reproduction Science*, 110: 139-146.
- 28- Martinez-Royo, A., J. J. Jurado, J. P. Smulders, J. I. Martí, J. L. Alabart, A. Roche, E. Fantova, L. Bodin, P. Mulsant, M. Serrano, J. Folch, and J. H. Calvo. 2008. A deletion in the bone morphogenetic protein 15 gene causes sterility and increased prolificacy in Rasa Aragonesa sheep. *Animal Genetics*, 39 (3): 294-297.
- 29- Michaidilis, G., M. Avdi, and V. Pappa. 2008. Reproductive performance and investigation of BMPR-IB and BMP15 gene mutations in Greek Chios and Florina sheep breeds. *Arch Zootech*, 11(1): 24-31.
- 30- Moghadaszadeh, M., M. R. Mohammadabadi, and A. K. Esmailzadeh. 2015. Association of Exon 2 of BMP15 Gene with the litter Size in the Raini Cashmere goat. *Iranian Journal of Genetics in the Third Millennium*, 13: 4062-4067. (In Persian).
- 31- Monteagudo, L. V., R. Ponz, M. T. Tejedor, A. Lavina, and I. Sierra. 2009. A 17 bp deletion in the bone morphogenetic protein 15 gene is associated to increased prolificacy in the Rasa Aragonesa sheep breed. *Animal Reproduction Science*, 110: 139-146.
- 32- Moradband, F., G. Rahimi, and M. Gholizadeh. 2011. Association of polymorphisms in fecundity genes of GDF9, BMP15 and BMP15-1B with litter size in Iranian Baluchi sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 9: 1179-1183.

- 33- Gemmell, N. J. and J. Slate. 2006. Heterozygote advantage for fecundity. *PLoS One*, 1(1):125.
- 34- Pardeshi, V. C., M. N. Sainani, J. F. Maddox, P. M. Ghalsasi, C. Nimbkar, and V. S. Gupta. 2005. Assessing the role of *FecB* mutation in productivity of Indian sheep. *Current Science*, 89 (5): 887–890.
- 35- Paz, E., J. Quinones, S. Bravo, H. H. Montaldo, and N. Sepulveda. 2015. Genotyping of *BMPR1B*, *BMP15* and *GDF9* genes in Chilean sheep breeds and association with prolificacy. *Animal Genetics*, 46: 98-99.
- 36- Pirkhezranian, Z., A. Mohammad Hashemi, M. Tahmorthpour, and N. Pirani. 2015. Polymorphism in second exon of *BMP 15* gene in Sangsari sheep of Iran. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 6 (4): 381-387. (In Persian).
- 37- Polley, S., S. De, B. Brahma, A. Mukherjee, P. Vinesh, S. Batabyal, J. S. Arora, S. Pan, A. K. Samanta, T. K. Datta, and S. L. Goswami. 2010. Polymorphism of *BMPR1B*, *BMP15* and *GDF9* fecundity genes in prolific Garole sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 42(5): 985-993.
- 38- Polley, S., S. De, S. Batabyal, R. Kaushik, P. Yadav, and J.S. Arora. 2009. Polymorphism of fecundity genes (*BMPR1B*, *BMP15* and *GDF9*) in the Indian prolific Black Bengal goat. *Small Ruminant Research*, 85: 122–129.
- 39- Shahmohammadi, L. 2010. Identify polymorphisms *GDF9*, *BMP15* and *FecB* genes effective twinning by PCR-RFLP and PCR-SSCP techniques in Zel sheep. M.Sc Thesis, University of Gorgan. (In Persian).
- 40- Solimani, B., M. G. Rahimi, and B. Chaharaein. 2011. The segregation of exon 2 *BMP15* gene on twinning and traits of weight in Sanjabi sheep. *Iranian Journal of Biology*, 24(4): 487-493. (In Persian).
- 41- Tajangookkeh, H. D., A. R. Shahneh, M. J. Zamiri, M. Daliri, H. Kohram, and A. Nejati-Javaremi. 2009. Study of *BMP15* gene polymorphism in Iranian goats. *African Journal of Biotechnology*, 8(13): 2929-2932.
- 42- Vacca, G. M., A. Dhaouadi, M. Rekik, V. Carcangiu, M. Pazzola, and M. L. Dettori. 2010. Prolificacy genotypes at *BMPR 1B*, *BMP15* and *GDF9* genes in North African sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 88(1): 67-71.
- 43- Wang, Q. G., F. G. Zhong, H. Li, X. H. Wang, S. R. Liu, X. J. Chen, and S. Q. Gan. 2005. Detection of major gene on litter size in sheep. *Yi. Chuan xue bao*, 27(1):8.
- 44- Wang, Q. G., F. G. Zhong, H. Li, X. H. Wang, S. R. Liu, and X. J. Chen. 2003. The polymorphism of *BMPR-1B* gene associated with litter size in sheep. *Grass-feeding Livestock*, 2: 20-23.
- 45- Wang, Y., L. Yuanxiao, Zh. Nana, W. Zhanbin, and B. Junyan. 2011. Polymorphism of Exon 2 of *BMP15* Gene and Its Relationship with litter size of Two Chinese goats. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 24(7): 905-911.
- 46- Zamani, P., R. Abdoli, A. Deljou, and H. Rezvan. 2015a. Polymorphism and bioinformatics analysis of growth differentiation factor 9 gene in Lori sheep. *Annals of Animal Science*, 15(2):337-348.
- 47- Zamani, P., S. Nadri, R. Saffaripour, A. Ahmadi, F. Dashti, and R. Abdoli. 2015b. A new mutation in exon 2 of the bone morphogenetic protein 15 gene is associated with increase in prolificacy of Mehraban and Lori sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 47(5): 855-860.



Investigation of *FecX^L*, *FecX^H* and *FecX^B* Polymorphism in BMP15 Gene in Lac Qashqai and Bahmaei Sheep Breeds at Kohkiloueh and Boyerahmad Province

M. Muhaghegh-Dolatabady^{1*}- A. Moradalipour²- F. Mansori²- F. Fattahy² - Z. Sallehi²

Received: 14-01-2018

Accepted: 29-12-2018

Introduction Litter size is an important economic trait in sheep breeding which is influenced by genetics and environment factors. Application of phenotypic data in traditional breeding programs is a time consuming process. Thus, marker assisted selection (MAS) play an important role for genetic improvement of reproduction efficiency. Since, there has been great interest in the identification of major genes that influence fecundity traits in sheep. Three of these fecundities identified genes are bone morphogenetic protein receptor type IB (*BMPRIIB*) or Activin Like Kinase 6, known as *FecB* located on chromosome 6; growth differentiation factor (*GDF9*), known as *FecG* located on chromosome 5 and bone morphogenetic protein 15 (*BMP15*), known as *FecX* located on the X chromosome. The *BMP15* is expressed in oocytes where encodes for a mature peptide of 125 amino acids that stimulate the proliferation rate of the granulosa cells and thus it seems to be essential in folliculogenesis. Some mutations in *BMP15* gene are reported to increase fertility rate. Six different point mutations i.e. *FecX^L* and *FecX^H* in the Inverdale and Hanna breeds, respectively, *FecX^L* in the Lacaune, *FecX^G* and *FecX^B* in the Cam-bridge and Beclare breeds, respectively and the *FecX^R* in Raza Aragoneza breed have been identified in *BMP15* gene. In this study, the *FecX^B*, *FecX^H* and *FecX^L* mutations at the *BMP15* gene were investigated by PCR-RFLP in Lac Ghashghaei and Bahmaei sheep breeds. The *FecX^B* (G to T nucleotide change) was detected using *DdeI*; the wild-type strand was cleaved. *FecX^H* (C to T nucleotide change) was detected using *SpeI*, the mutation-type strand was cleaved and *FecX^L* (T to A nucleotide change) was detected using *XbaI*; the mutation-type strand was cleaved.

Materials and Methods Blood samples were taken from 92 ewes according to data on litter size at the last lambing (Lac Ghashghaei: 24 single and 24 double lambing, Bahmaei: 22 single and 22 double lambing). The animals of the Lac Ghashghaei and Bahmaei breeds originate from two farms in Gachsaran and Dehdasht, respectively. Then, genomic DNA was isolated from whole blood using the DNA Extraction Kit according to the manufacturer's instructions. Required parts of *BMP15* gene were amplified using specific primers (fragment of 204 bp from *FecX^L*, fragment of 235 bp of *FecX^H* and fragment of 153 bp of *FecX^B*) through Polymerase Chain Reaction (PCR). The PCR products of amplified fragments were digested by *XbaI*, *SpeI* and *DdeI* restriction enzymes and visualized by agarose gel electrophoresis, separately.

Results and Discussion Sheep breeding is the major activity in the Kohkiloueh and Boyerahmad province of Iran and is very important in the rural economy of this region. Although litter size is an important trait that affects the profitability of sheep production, but the litter size of almost all sheep breeds of this province is low. In this study, PCR-RFLP method was used to identify three mutations (*FecX^L*, *FecX^H* and *FecX^B*) of *BMP15* gene in Lac Ghashghaei and Bahmaei ewes. As expected, the size of PCR production for *FecX^L*,

1- Associate Prof of Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.

2- MSc graduated of Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.

(*- Corresponding Author Email: mmuhaghegh@yu.ac.ir)

$FecX^H$ and $FecX^B$ loci were 204, 235 and 153 bp, respectively. After digestion of amplified fragments with specific restriction enzyme, the three earlier mentioned mutation sites were not detected in Lac Ghashghaei and Bahmaei sheep and only the wild-type genotype (++) was observed in both breeds for each mutation of *BMP15* gene. In more detail, restriction digestion of amplified fragments for $FecX^B$ locus resulted DNA fragments with 31 and 122 bp. The wild type of this locus has one restriction site and this means that $FecX^B$ mutation was not detected in two breeds of this study and animal are homozygous for wild type allele of this locus. The resulted PCR products were digested with *SpeI* and *DdeI* restriction enzymes for $FecX^H$, $FecX^I$ loci revealed DNA fragments with 235 and 204 bp, respectively. The mutant allele of $FecX^H$, $FecX^I$ loci has one restriction site and enzyme digestion will be resulted in 2 DNA fragments while the wild type allele with no restriction site, resulted in one DNA fragments with the size. It means all 92 Lac Ghashghaei and Bahmaei ewes sampled were homozygous wild allele (++) for $FecX^H$, $FecX^I$ loci.

Conclusion The obtained results of this study indicated that there was an absence of three *BMP15* mutations ($FecX^B$, $FecX^H$ and $FecX^I$) among the Lac Qashqai and Bahmaei sheep breeds sampled in the Kohkiloueh and Boyerahmad province, it seems genetic factor responsible for litter size is not related to reported mutated alleles of *BMP15* gene and therefore other prolificacy related genes should be investigated in these breeds using a larger sample size.

Keywords: *BMP15* Gene, Fecundity, Polymorphism, Sheep.



تاثیر استفاده از مکمل های افزودنی بر متابولیت های خون، جمعیت میکروبی، نشخوار و انتقال غیر فعال ایمونوگلوبین ها در گوساله های هلشتاین

مسعود دیدارخواه^{۱*} - موسی وطن دوست^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۰۶

چکیده

در این پژوهش تاثیر افزودن مکمل های افزودنی به شیر بر شاخص های عملکردی، متابولیت های خون، جمعیت میکروبی و انتقال غیرفعال ایمونوگلوبین ها به گوساله مورد بررسی قرار گرفت. شانزده راس گوساله ماده هلشتاین تازه متولد شده با میانگین وزن ۴۱/۵ در چهار گروه تیماری در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۶۰ روز استفاده شد. تیمارها شامل: ۱- گروه شاهد (شیر فاقد افزودنی) ۲- گروه پروبیوتیک (شیر + دو گرم پروبیوتیک) ۳- گروه پری بیوتیک (شیر + چهار گرم پری بیوتیک) ۴- گروه سین بیوتیک (شیر + دو گرم پروبیوتیک چهار گرم پری بیوتیک) بود. گوساله های تغذیه شده با جیره دارای مکمل پروبیوتیک (گروه ۲) کمترین مصرف خوراک و بهترین ضریب تبدیل غذایی را در کل دوره نسبت به سایر تیمارها داشتند. غلظت کلسترول کل، غلظت پروتئین کل پلاسما و آلبومین پلاسما تحت تاثیر مکمل های پروبیوتیکی و پری بیوتیکی در جیره ها قرار نگرفت و هیچ گونه اختلاف معنی داری بین جیره ها مشاهده نشد. مصرف مکمل پروبیوتیک باعث کاهش معنی داری ($P < 0.05$) غلظت تری گلیسیریدها در پلاسمای خون، گوساله های تغذیه شده با مکمل های افزودنی شد. بیشترین غلظت تری گلیسیرید مربوط به گروه شاهد بود که اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) با سایر گروه ها داشت. کمترین غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات مربوط به گروه شاهد بود که اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) با سایر گروه ها داشت. در گوساله های مصرف کننده پروبیوتیک مقدار جمعیت کل باکتریها به میزان اندک بعد از خوراک دهی افزایش یافت ولی هیچ گونه اختلاف معنی داری در سنین مختلف در بین گروه های دریافت کننده مکمل مشاهده نشد. بیشترین مقدار ایمونوگلوبولین G مربوط به گروهی بود که پروبیوتیک مصرف کرده بودند و با گروه های شاهد و گروه سین بیوتیک اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) داشت ولی از گروه پری بیوتیک بیشتر بود و این روند در همه سنین ۳، ۷ و ۳۰ روزگی ادامه داشت. در مجموع، نتایج حاکی از آن است که افزودن مکمل های پروبیوتیکی در جیره باعث بهبود عملکرد گوساله های شیری هلشتاین می شود.

واژه های کلیدی: ایمونوگلوبین ها، جمعیت میکروبی، گوساله، مکمل افزودنی، نشخوار کنندگان.

مقدمه

استفاده از افزودنی های غذایی در تغذیه گوساله به عنوان یک راه حل هر چه بهتر در بکارگیری هر چه بهتر خوراک توسط گوساله محسوب می شود. آنتی بیوتیک ها از جمله افزودنی های غذایی هستند که به منظور جلوگیری از رشد عوامل بیماریزای روده ای و بهبود عملکرد در تغذیه گوساله بکار رفته اند. در صورتی که آنتی بیوتیک ها برای مدت زیادی در جیره غذایی گوساله استفاده شوند، عوامل بیماریزای موجود در دستگاه گوارش نسبت به آنها مقاوم می شوند. عیب دیگر استفاده از آنتی بیوتیک ها، امکان باقیماندن این مواد در محصولات دامی مانند گوشت است که با مصرف آنها به انسان منتقل می شوند و این امر باعث می شود که عوامل بیماریزای بدن انسان به آنتی بیوتیک ها مقاوم گردند، به طوری که در مواقع بروز بیماری یا عفونت در افراد، مصرف آنتی بیوتیک ها موثر واقع نگردد (۳۳ و ۵۵). به هر حال، استفاده از آنتی بیوتیک ها در حیوانات مشکلات جدی از جمله افزایش مقاومت باکتریایی و ناهنجاری های گوارشی را به-

پرورش گوساله ای سالم تضمین کننده تولید و سودآوری گله گاو شیری می باشد. مدیریت گوساله ها در سه ماه اول بسیار مهم است. حساسیت گوساله به عوامل نامساعد محیطی و تغذیه ای بسیار بالا بوده و در برخی واحدها با تلفات گسترده ای همراه می باشد. به همین دلیل نحوه رشد و مدیریت گوساله ها از بارزترین فعالیت های مورد توجه پرورش دهندگان و متخصصان بخش است. طبیعتاً پرورش مطلوب گوساله نیازمند تغذیه مناسب رعایت اصول بهداشتی و رعایت مدیریت صحیح است (۱، ۹، ۲۲، ۲۳، ۲۹ و ۵۵).

۱- استادیار آموزشکده کشاورزی سرایان، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

۲- استادیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

(*)- ایمیل نویسنده مسئول: masooddidarkhah@birjand.ac.ir
DOI: 10.22067/ijasr.v11i2.71644

با توجه به مطالب بحث شده هدف از انجام این پژوهش تعیین اثرات استفاده از مکملهای پروبیوتیکی و پریبیوتیکی در شیر بر عملکرد، مصرف خوراک، افزایش وزن، میزان جذب ایمونوگلوبولینها و متابولیت‌های خونی گوساله‌های هلستاین بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۶۰ روز روی ۱۶ راس گوساله ماده نژاد هلستاین با میانگین وزن $41/5 \pm 2$ کیلوگرم و سن ۱ تا ۳ روزگی در شرکت سهامی زراعی نیل شهر در ۱۷۰ کیلومتری شهرستان مشهد انجام شد. گوساله‌ها پس از تغذیه با آغوز به میزان ۱۰ درصد وزن بدنشان و از سن سه روزگی به بعد در چهار تیمار چهارتایی تقسیم شدند. تیمارها شامل: ۱- گروه شاهد (شیر فاقد افزودنی) ۲- گروه پروبیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک) ۳- گروه پریبیوتیک (شیر + ۴ گرم پریبیوتیک) ۴- گروه سین بیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک و ۴ گرم پریبیوتیک) بود. برنامه تغذیه ای و ترکیب خوراک آغازین (جدول ۱) با نرم افزار NRC 2001 تنظیم شد و از سن ۱۰ روزگی بصورت آزاد و به همراه آب در اختیار گوساله قرار گرفت. پروبیوتیک مورد استفاده محصول شرکت دانش بنیان زیست درمان ماهان با نام تجاری Bio-Rumia و حاوی هفت سویه باکتریایی و دو سویه قارچی با 2×10^9 cfu/g بود (سویه MUCL/BCCM/۳۹۸۸۵). پریبیوتیک مورد استفاده محصول ای مکس ساخت شرکت وایکور آمریکا حاوی مخمر ساکارومایسس سروسیسه و محیط کشت سوکروز- ملاس و عصاره ذرت بود، و بصورت مخلوط با شیر به گوساله‌ها خورانیده شد.

نمونه برداری و ثبت داده ها

گوساله ها در سنین ۳، ۳۰ و ۶۳ روزگی پس از تغذیه شیر در وعده صبح وزن کنی شدند و وزن خوراک مصرفی از ۱۰ روزگی به بعد و تا پایان دوره بصورت روزانه برای هر گوساله اندازه گیری و ثبت گردید. متغیرهای رشد شامل: افزایش وزن بدن، متوسط افزایش وزن روزانه اندازه گیری شد. ضریب تبدیل خوراک مصرفی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید. ضریب تبدیل خوراک مصرفی = کیلوگرم اضافه وزن کل دوره/کیلوگرم خوراک مصرفی کل دوره.

در روز ۱۴، ۳۰ و ۶۳ روزگی برای کشت میکروبی از مدفوع همه گوساله‌ها نمونه گرفته شد. پس از تحریک رکتوم با انگشت سبابه، یک گرم از نمونه تازه مدفوع به وسیله ترازویی با دقت ۰/۱ گرم وزن شده و در داخل لوله‌های استریل حاوی بافر فسفات با pH ۷/۲ $\pm$ ریخته شد به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط و یکنواخت گردید. برای تعیین تعداد باکتریها از شمارش کلنی استفاده شد. شمارش و تعداد باکتریها با ضرب کردن تعداد کلنی‌ها در ضریب رقت محاسبه

وجود آورده است. (۶، ۲۰، ۱۳، ۲۱، ۲۴ و ۵۷). از پری بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها به عنوان افزودنی هایی که جایگزین مناسبی برای آنتی بیوتیک‌ها باشند می توان نام برد. (۴۵، ۴۸ و ۵۰). امروزه، محققین به دنبال یافتن راهکارهای طبیعی برای افزایش فعالیت شکمبه از طریق بهبود باکتریهای مفید شکمبه هستند (۱۱، ۶ و ۱۲).

پروبیوتیک‌ها با ایجاد یک کلونی موقت جایگزین فلور طبیعی تخلیه شده می‌شوند تا فلور طبیعی مجدداً بتواند به توازن برسد. در واقع پروبیوتیک‌ها باعث بهبود تعادل میکروبی روده می‌شوند. پروبیوتیک های رایج شامل گونه های مختلف باکتریهای بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس و همچنین مخمر می‌باشند. پروبیوتیک ها به تحریک رشد باکتریهای مفید روده و یا به کاهش بیماریزایی میکروب های مضر کمک می کنند و مکانیسم عمل آن‌ها متکی به جایگزینی و زنده ماندن آن ها در دستگاه گوارش است. پروبیوتیک‌ها مکملهای غذایی میکروبی زنده هستند که به طور مفیدی بر میزان از طریق بهبود بالانس میکروبی روده‌شان اثر می‌گذارد (۱۵، ۲۶، ۱۶، ۲۷ و ۴۶).

برخی از این باکتریهای مفید که از فلور طبیعی گوارش میزبان جداسازی و سپس تکثیر شده‌اند، نیاز به سطوح خاصی از الیاف قابل تخمیر به عنوان سوسترا دارند تا در شرایط رقابتی دستگاه گوارش بتوانند محیط اکولوژیک مناسبی برای خود اشغال کنند (۲۴، ۴۸ و ۵۰). پری بیوتیک‌ها؛ کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم هستند که رشد را تحریک می‌کنند و روی باکتریهای مفید فلور میکروبی اثر مطلوب دارند. پری بیوتیک‌ها، ترکیباتی هستند که رشد و تکثیر میکروبیهای مفید را در دستگاه گوارش تحریک می‌کنند (۱۴، ۵۲ و ۵۵).

پری بیوتیک‌ها شامل انواع مختلفی از قبیل فروکتو اولیگوساکاریدها، گلوکواولیگوساکاریدها و مانان اولیگوساکاریدها می‌باشند (۳۳). مانان اولیگوساکاریدها از بخش دیواره بیرونی مخمر ساکارومایسس سروسیزه جدا شده‌اند و با اتصال به دیواره سلول باکتری (باکتری های نامطلوب) از آسیب باکتری ها به سلول های اپیتلیوم روده جلوگیری می کنند و یا با تحریک کردن تولید پادتن توان ایمنی را افزایش می‌دهند. پری بیوتیک ها با تحریک گزینشی رشد و فعالیت یک یا چند باکتری در روده بزرگ، در نهایت به بهبود سلامت میزبان می‌انجامند. معمولاً باعث افزایش رشد و فعالیت باکتری لاکتیک اسید و بیفیدوباکتریا می شوند (۴۳، ۲۷، ۴۷ و ۵۵).

سین بیوتیک به ترکیبی از پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها گفته می‌شود که با اثر کنش‌افزایی باعث باعث کاهش جمعیت میکروبیهای بیماریزای دستگاه گوارش میشوند (۷، ۲۷ و ۴۹). این ترکیبات میتوانند باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی و سلامتی حیوان نیز شوند (۷، ۳۶ و ۳۸).

نشخوار کردن و غذا خوردن به عنوان مدت زمان جویدن در نظر گرفته شد و به همین منظور فعالیت نشخوار کردن و غذا خوردن هر پنج دقیقه به مدت ۲۴ ساعت ثبت شد. طول مدت زمان نشخوار و غذا خوردن از حاصل ضرب تعداد هر مشاهده در فواصل پنج دقیقه به دست آمد (۱۹ و ۵۱).

تجزیه و تحلیل آماری

یافته‌های بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار در هر تیمار بود و به شرح مدل زیر تجزیه شدند.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$
 که در آن Y_{ij} = مقدار هر مشاهده، μ = اثر میانگین جامعه، T_i = اثر تیمارهای مختلف و ε_{ij} = مقدار خطای باقیمانده بود. تجزیه تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار (نسخه ۱/۹) (۵۴) و رویه Mixed انجام گرفت و مقایسات میانگین در سطح ($P < 0.05$) توسط آزمون توکی صورت گرفت.

شد (۷). برای تعیین شمار کل باکتریها از رنگ‌آمیزی گرم بر اساس روش تشریح شده توسط بارون و فینگلد (۷) استفاده شد. برای تعیین غلظت کلسترول، گلوکز، تری گلیسرید، پروتئین کل و آلبومین با استفاده از لوله‌های تحت خلا دارای EDTA از سیاهرگ گردنی و داج در هفته پایانی، ساعت نه صبح (دو ساعت بعد از خوراک دهی صبح) خونگیری و نمونه‌های خون بلافاصله برای ۱۵ دقیقه و با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و پلاسماهای نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. نمونه‌های پلاسما پس از ذوب در دمای اتاق، برای تعیین مقدار سرمی کلسترول، گلوکز، آلبومین، تری گلیسرید و پروتئین کل پلاسماهای کیت‌های آزمایشگاهی بیوسامانه و دستگاه اتوآنالایزر (مدل A15، فرانسه) با دو تکرار اندازه‌گیری شد. غلظت IgG به روش ایمونوتوربیدیمتری و با استفاده از کیت COBAS INTEGRA در طول موج ۸۰۰-۴۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۳۴).

در هفته پایانی آزمایش، کل فعالیت جویدن به مدت ۲۴ ساعت به روش مشاهده مستقیم اندازه‌گیری شد (۲۸ و ۵۱). طول مدت زمان

جدول ۱- اجزای مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره آغازین گوساله‌های هلشتاین

Table 1- The Ingredients and chemical composition of the initial diet of Holstein calves

اجزای جیره آغازین (درصد در جیره) Components Initial diet	مقدار (درصد) Amount (percent)
Barley grain دانه جو	30
Corn grain دانه ذرت	25
Soybean meal کنجاله سویا	15
Cotton seed meal کنجاله پنبه دانه	12
Rapeseed meal کنجاله کلزا	8
Wheat bran سیوس گندم	8
Calcium carbonate کربنات کلسیم	0.5
Salt نمک	0.5
Inorganic vitamin supplement ¹ مکمل ویتامینی معدنی	1
ترکیبات مواد مغذی محاسبه شده Chemical composition	
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	23.81
ماده خشک (درصد) Dry matter (%)	93.00
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Insoluble fiber in neutral detergent	26.5
خاکستر Ash	7.1

¹ 195 g ca, 20 g Mg, 280 mg cu, 2 g Mn, 3 g zn, 100 mg co, 100 mg I, 3 g fe, 90 g p, 55g Na, 1 mg Se, 500,000 IU Vitamin A, 100,000 IU Cholecalciferol, 100 mg vitamin E.

نتایج و بحث

شاخص های عملکردی

طبق نتایج جدول ۲، شاخص های عملکردی (میانگین ماده خشک مصرفی، ضریب تبدیل خوراک مصرفی، میانگین وزن نهایی و میانگین افزایش وزن ۳۰ روزگی) تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. بطوری که بیشترین میانگین افزایش وزن مربوط به گروهی بود که پروبیوتیک مصرف کرده بودند و با سایر گروه ها اختلاف معنی داری داشت ($P < 0.05$) و کمترین افزایش وزن مربوط به گروهی بود که پری بیوتیک مصرف کرده بودند.

نتایج میانگین وزن در سنین مختلف (۳۰ روزگی و ۶۳ روزگی) تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و بیشترین میانگین وزن در سن ۳۰ روزگی مربوط به گوساله هایی بود که پروبیوتیک مصرف کرده بودند و کمترین آن مربوط به جیره سین بیوتیک بود. بیشترین میانگین وزن در سن ۶۳ روزگی مربوط به گوساله هایی بود که پروبیوتیک مصرف کرده بودند و اختلاف معنی داری با سایر گروه ها داشت ($P < 0.05$). کمترین میانگین وزن در سن ۶۳ روزگی مربوط به جیره سین بیوتیک بود.

نتایج مربوط به ماده خشک مصرفی نشان داد که مصرف مکمل های افزودنی تاثیر معنی داری بر گوساله های مصرف کننده مکمل داشت. بیشترین میانگین ماده خشک مصرفی مربوط به گروه شاهد بود که بدون ماده افزودنی بودند و اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) با گروهی که پروبیوتیک مصرف کرده بودند، داشت و کمترین میانگین ماده خشک مصرفی مربوط به جیره پروبیوتیک بود و با سایر گروه ها اختلاف معنی داری داشت ($P < 0.05$). بیشترین ضریب تبدیل خوراک مصرفی مربوط به گروه شاهد بود و اختلاف معنی داری با گروهی که پروبیوتیک مصرف کرده بودند، داشت ($P < 0.05$). کمترین ضریب تبدیل خوراک مصرفی مربوط به جیره پروبیوتیک بود و با سایر گروه ها اختلاف معنی داری داشت ($P < 0.05$).

پروبیوتیک اثر معنی داری بر میانگین وزن در سنین مختلف داشت. پروبیوتیک ها در دستگاه گوارش باعث کاهش رشد باکترهای مضر شده و جذب بهتر مواد مغذی را فراهم می کنند و زمینه خروج مواد مغذی هضم نشده در شکمبه را کاهش داده و منجر به افزایش وزن بیشتر می شوند.

این نتایج با نتایج کونگ و همکاران (۳۶) موافق بود. ولی با نتایج حسین آبادی و همکاران (۳۲) همخوانی نداشت. در مطالعه گروهی از محققین بدنال تجویز مکمل مخمر ساکرومایسس سرویسیه در

گوساله های گروه آزمایش نسبت به گوساله های گروه کنترل افزایش وزن معنی داری مشاهده نکردند (۴۸ و ۵۰).

ضریب تبدیل خوراک مصرفی بهتر در گروه های حاوی پروبیوتیک، می تواند دلیل استفاده بهتر این گروه ها از ترکیبات مغذی خوراک آغازین باشد که باعث کاهش نیاز به مصرف خوراک شده است.

همانطور که اشاره شد پروبیوتیک ها باعث افزایش هضم پذیری و جذب مواد مغذی خوراک در گوساله ها می شوند. مصرف خوراک کمتر از یک سو و افزایش وزن بیشتر از سوی دیگر در گروه های پروبیوتیک، ضریب تبدیل خوراک مصرفی بهتر آنها را امکان پذیر می سازد (۵۶).

دکا (۱۴)، افزایش معنی دار ماده خشک مصرفی و بهبود میانگین افزایش وزن روزانه در بزهای نژاد جاموناپاری بر اثر مصرف پروبیوتیک را گزارش کرد که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. کرهیل و همکاران (۳۷)، افزایش ۲/۵ تا ۵ درصدی وزن وزانه و ۲ درصدی در بازده خوراک را در گاوهای پروراری در اثر مصرف پروبیوتیک گزارش کردند.

برخی از محققین گزارش کردند که ماده خشک مصرفی گوساله های تغذیه شده با پروبیوتیک باکتریایی در شیر و استارتر در مقایسه با گروه شاهد تحت تاثیر قرار نگرفت (۴۰ و ۵۱).

متابولیت های خونی

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که غلظت گلوکز پلاسما در این آزمایش با افزایش مقدار پروبیوتیک در جیره ها افزایش پیدا کرد، بطوری که باعث کاهش معنی داری ($P < 0.05$) در گروه شاهد در مقایسه با سایر جیره ها به غیر از گروه پری بیوتیک شد. این افزایش در غلظت گلوکز در جیره های مکمل شده احتمالاً می تواند به دلیل افزایش عددی در غلظت پروپیونات مایع شکمبه و پلاسما باشد. زیرا که پروپیونات پیش ساز اصلی گلوکز در مسیر گلوکونئوز است (۲)، که مکانیسم آن به این صورت است که مخمر قادر است سبب تغییرات در جمعیت میکروبی شکمبه شود، به طوری که پروتئین میکروبی افزایش و مقدار اوره خون، به دلیل هم بستگی بالایی که با سطح آمونیاک مایع شکمبه دارد، کاهش می یابد. هنگامی که نشاسته به وسیله میکروارگانیسم های شکمبه تخمیر می شود، محصول نهایی اسید پروپیرینیک می باشد. در کبد این اسید عمدتاً به گلوکز تبدیل می شود.

جدول ۲- اثر جیره‌های آزمایشی بر عملکرد و میانگین وزن در سنین مختلف (۳ روزگی، ۳۰ روزگی و ۶۳ روزگی) گوساله‌های هلشتاین^۱

Table 2- Effect of experimental diets on average weight of different age (3 days, 30 days and 63 days) of Holstein calves²

فراسنجه ها Factors	جیره‌های آزمایشی ^۲ Experimental rations ²				SEM	P-Value
	گروه شاهد Control group	گروه پروبیوتیک Probiotic group	گروه پری بیوتیک Prebiotic group	گروه سین بیوتیک Synbiotic group		
میانگین وزن ۳ روزگی (کیلوگرم) Average weight of 3 days (kg)	41.50	42.50	41.50	40.01	8.410	0.9281
میانگین وزن ۳۰ روزگی (کیلوگرم) Average weight of 30 days (kg)	50.75 ^{ab}	55.5 ^{0a}	49.5 ^{1b}	46.51 ^b	4.971	0.0410
میانگین وزن نهایی (۶۳ روزگی) (کیلوگرم) Average final weight (63 days)	61.75 ^b	72.25 ^a	61.25 ^b	61.05 ^b	6.021	0.0001
میانگین افزایش وزن کل (کیلوگرم) Average total weight gain(kg)	18.75 ^b	29.51 ^a	17.50 ^b	19.10 ^b	4.562	0.0026
میانگین ماده خشک مصرفی (کیلوگرم) Average dry matter (kg)	21.05 ^a	18.02 ^b	19.03 ^{ab}	20.25 ^{ab}	1.729	0.0326
ضریب تبدیل خوراک مصرفی Feed conversion ratio	1.092 ^a	1.152 ^a	0.615 ^b	1.155 ^a	0.0359	0.0040

^۱ اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ($P < 0.05$).

^۲ جیره‌های آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد (شیر فاقد افزودنی) ۲- گروه پروبیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک) ۳- گروه پری بیوتیک (شیر + ۴ گرم پری بیوتیک) ۴- گروه سین بیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک و ۴ گرم پری بیوتیک).

¹Means within same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

²Experimental diets including: 1- control group (no additive milk) 2- probiotic group (milk + 2 gr probiotic) 3- prebiotic group (milk + 4 gr peribiotic) 4- synbiotic group (milk + 2 gr Probiotic and 4 gr of peribiotic).

پروبیوتیکی و پری بیوتیکی در جیره ها قرار نگرفت و هیچ گونه اختلاف معنی داری بین جیره‌ها مشاهده نشد. تجزیه آماری داده‌های مربوط به اثر تیمارها بر غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات پلاسماي خون دامها نشان داد که مصرف مکمل پروبیوتیک باعث افزایش معنی داری ($P < 0.05$) غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات در پلاسماي خون گوساله‌های تغذیه شده با مکملهای افزودنی شد. کمترین غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات مربوط به گروه شاهد بود که اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) با سایر گروه‌ها داشت.

نسبت و مارتین (۴۴) پیشنهاد کردند که مخمر ممکن است با تأمین بعضی از ویتامین ها و مواد معدنی (سبب تحریک رشد باکتری ها گردد. رضایی (۱۳۸۲) گزارش کرد که به دلیل مصرف بسیار کم مخمر در آزمایش ها، احتمال اینکه مخمر از راه تأمین ویتامین‌های (تیامین) سبب تحریک رشد جمعیت های مخلوط شکمبه گردد جای شک وجود دارد. گیراد (۲۵) نشان داد که عصاره مخمر نمی تواند اثراتی را که مخمر زنده روی رشد باکتری ها و تخمیر شکمبه دارد، از خود نشان دهد. در تحقیقی الحسن و همکاران (۱۷) نشان دادند

سوبستراهای اصلی برای سنتز گلوکز، اسیدهای آلی حاصل از تخمیر، اسکلت کربنی اسیدهای آمینه دی آمینه شده و گلیسرول حاصل از شکستن تری گلیسریدها می باشند. بنابراین با افزایش فعالیت این باکتری‌ها در اثر مصرف مخمر در جیره، یکی از سوبستراهای اصلی برای سنتز گلوکز که همان پروپیونات است، افزایش یافته و به تبع می توان انتظار داشت که میزان گلوکز خون نیز افزایش یابد (۲).

تجزیه آماری داده‌های مربوط به اثر تیمارها بر غلظت تری گلیسریدهای پلاسماي خون گوساله‌ها نشان داد که مصرف مکمل پروبیوتیک باعث کاهش معنی داری ($P < 0.05$) غلظت تری گلیسرید ها در پلاسماي خون گوساله‌های تغذیه شده با مکملهای افزودنی شد. بیشترین غلظت تری گلیسرید مربوط به گروه شاهد بود که اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) با سایر گروه‌ها داشت.

بر خلاف گلوکز و تری گلیسرید، غلظت کلسترول کل، غلظت پروتئین کل پلاسما و آلبومین پلاسما تحت تاثیر مکمل‌های

میزان آمونیاک، اسیدهای چرب فرار و پروتئین میکروبی کار دشوار است.

مخمر اثر معنی‌داری بر جمعیت باکتری‌ها شکمبه ندارد. با توجه به گزارش‌های متضادی که در مورد اثر مخمر بر جمعیت باکتریایی و تخمیرات وجود دارد، قضاوت در مورد فراسنجه‌های خونی بدون انجام آزمایشاتی در خصوص تعیین جمعیت باکتری‌های شکمبه،

جدول ۳- اثر جیره‌های آزمایشی بر متابولیت‌های پلاسما گوساله‌های هلشتاین^۱
Table 3 - Effect of experimental diets on plasma metabolites of Holstein calves¹

فراسنجه‌ها Factors	جیره‌های آزمایشی ^۲ Experimental rations ²				SEM	P-Value
	گروه شاهد Control group	گروه پروبیوتیک Probiotic group	گروه پری بیوتیک Prebiotic group	گروه سین بیوتیک Synbiotic group		
کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر) Cholesterol (mg dl ⁻¹)	98.182	86.130	96.950	94.725	4.690	0.1025
تری‌گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر) Triglyceride (mg dl ⁻¹)	6.982 ^a	6.130 ^b	6.250 ^b	6.125 ^b	1.033	0.0001
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر) Glucose (mg dl ⁻¹)	64.68 ^b	80.13 ^a	62.45 ^b	75.22 ^a	1.690	0.0001
کل پروتئین پلاسما (گرم در دسی لیتر) Total plasma protein (g dl ⁻¹)	7.435	7.110	7.575	7.421	0.076	0.1091
آلبومین (گرم در دسی لیتر) Albumin (g dl ⁻¹)	5.647	5.355	5.462	5.442	0.177	0.796
بتا هیدروکسی بوتیرات (میلی گرم در دسی لیتر) BHBA (mmol dl ⁻¹)	0.422 ^a	0.362 ^b	0.372 ^b	0.352 ^b	0.012	0.0001

^۱ اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ($P < 0.05$).

^۲ جیره‌های آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد (شیر فاقد افزودنی) ۲- گروه پروبیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک) ۳- گروه پری بیوتیک (شیر + ۴ گرم پری بیوتیک) ۴- گروه سین بیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک و ۴ گرم پری بیوتیک).

¹Means within same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

²Experimental diets including: 1- control group (no additive milk) 2- probiotic group (milk + 2 gr probiotic) 3- prebiotic group (milk + 4 gr peribiotic) 4- synbiotic group (milk + 2 gr Probiotic and 4 gr of peribiotic).

تجزیه پروتئین در شکمبه باشد که مطابق با نتایج کرهیل و همکاران (۳۷) و ابدالا و همکاران (۴) بود. ژانگ و همکاران (۵۹) افزایش غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات را به موازات افزایش سن نیز مشاهده کرده و آن را به افزایش دریافت خوراک خشک نسبت دادند.

فعالیت نشخوار

نتایج آماری داده‌های حاصل از این آزمایش نشان داد که میانگین مدت زمان جویدن، نشخوارکردن و خوردن بین جیره‌های مختلف آزمایش اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۴). بیشترین مدت افزایش فعالیت نشخوار باعث افزایش بیشتر بزاق شده و در نهایت باعث افزایش pH مایع شکمبه می‌گردد. مکمل‌های پروبیوتیکی و پری بیوتیکی با تنظیم جمعیت میکروبی شکمبه و تنظیم محیط شکمبه باعث افزایش فعالیت نشخوار گردیده و در نهایت باعث بهبود عملکرد تخمیرات شکمبه می‌گردد. البته خصوصیات فیزیکی جیره‌های گوساله‌ها تحت تاثیر نسبت علوفه به کنسانتره، نوع علوفه و

جمعیت میکروبی موجود در روده میزان کلسترول خون را تحت تاثیر قرار می‌دهد، میکروبهایی موجود با مصرف کلسترول از جذب آن توسط بافت‌های روده جلوگیری می‌کنند. پروبیوتیک‌ها مانع جذب اسیدهای صفراوی از انتهای روده و طی شدن مسیر روده‌ای-کبدی اسیدهای صفراوی می‌شوند و از این طریق سبب تبدیل اسیدهای صفراوی اولیه (اسید کولیک و کتو داکسی کولیک) به اسیدهای صفراوی ثانویه (دزاکسی کولیک و اسیدلیتوکولیک) می‌شوند. این اسیدها با مواد غیرقابل جذب، ترکیب نامحلولی ایجاد می‌کنند که جذب نشده و از طریق مدفوع خارج می‌شوند. بازجذب و حضور اسیدها و نمک‌های صفراوی در کبد از جمله مهم‌ترین عوامل محرک تولید و ترشح صفرا به عنوان مهم‌ترین عامل هضم چربی‌ها است (۳۰). افزایش عددی و معنی‌دار در غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات پلاسمای خون دام‌های تغذیه شده با مکمل‌های افزودنی می‌تواند نشانه جذب بیشتر اسیدهای چرب فرار (بوتیرات) از شکمبه و نیز افزایش تخمیر و

جویدن، نشخوار کردن و خوردن بین به گروهی بود که پروبیوتیک مصرف کرده بودند. گاوهایی که پروبیوتیک به تنهایی مصرف کرده بودند بیشترین طول مدت زمان خوردن را به لحاظ عددی داشتند و با سایر گروه‌ها فقط از لحاظ عددی بیشتر بود. در مورد نشخوار کردن و طول مدت زمان خوردن هم همین روند وجود داشت. پروبیوتیک و پری‌بیوتیک در جدول ۵ نشان داده شده است.

کنسانتره، درصد منابع فیبر غیر علفی ای خرد شده، اندازه ذرات و نوع فرآیند مواد خوراکی تشکیل دهنده جیره قرار می‌گیرد (۴۱). بالچ مدت زمان جویدن به ازای هر کیلوگرم ماده خشک را به عنوان معیار بیولوژیکی خصوصیات فیزیکی علفه پیشنهاد کرد (۳۹).

جمعیت کل باکتریها

نتایج مربوط به جمعیت کل باکتریها در سنین مختلف بعد از خوراک دهی حاصل از جیره های مکمل شده با مقادیر متفاوت زمان

جدول ۴- اثر جیره های آزمایشی بر فعالیت نشخوار در گوساله های هلشتاین^۱
Table 4- Effect of experimental diets on ruminal activity in Holstein Calves¹

فراسنجه ها Factors	جیره‌های آزمایشی ^۲ Experimental rations ²				SEM	P-Value
	گروه شاهد Control group	گروه پروبیوتیک Probiotic group	گروه پری بیوتیک Prebiotic group	گروه سین بیوتیک Synbiotic group		
مدت زمان خوردن (دقیقه در ۲۴ ساعت) Eating time (Minutes in 24 hours)	324.875	340.485	344.420	330.328	8.143	0.1251
مدت زمان نشخوار کردن (دقیقه در ۲۴ ساعت) The duration of the rumination (Minutes in 24 hours)	365.150	385.685	375.200	374.225	7.645	0.1091
مدت زمان کل جویدن (دقیقه در ۲۴ ساعت) Total chewing time (Minutes in 24 hours)	690.025	726.143	719.620	704.553	12.711	0.1491
مدت زمان خوردن (دقیقه به ازای یک کیلوگرم ماده خشک مصرفی) Eating time (Minutes per kg of dry matter)	30.725	29.940	31.400	28.425	7.107	0.1291
مدت زمان نشخوار کردن (دقیقه به ازای یک کیلوگرم ماده خشک مصرفی) The duration of the rumination (Minutes per kilogram of dry matter)	40.375	44.940	41.650	41.675	5.820	0.2091
مدت زمان کل جویدن (دقیقه به ازای یک کیلوگرم ماده خشک مصرفی) Total chewing time (Minutes per kg of dry matter)	71.100	74.880	73.050	70.100	1.181	0.2091

^۱ اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ($P < 0.05$).

^۲ جیره‌های آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد (شیر فاقد افزودنی) ۲- گروه پروبیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک) ۳- گروه پری بیوتیک (شیر + ۴ گرم پری بیوتیک) ۴- گروه سین بیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک و ۴ گرم پری بیوتیک).

¹ Means within same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

² Experimental diets including: 1- control group (no additive milk) 2- probiotic group (milk + 2 gr probiotic) 3- prebiotic group (milk + 4 gr peribiotic) 4- synbiotic group (milk + 2 gr Probiotic and 4 gr of peribiotic).

جدول ۵- اثر جیره‌های آزمایشی بر جمعیت کل باکتریها بعد از خوراک دهی در گوساله‌های هلشتاین^۱

Table 5- Effect of experimental diets on the total population of bacteria after feeding in Holstein calves¹

فراسنجه ها Factors	جیره‌های آزمایشی ^۲ Experimental rations ²				SEM	P-Value
	گروه شاهد Control group	گروه پروبیوتیک Probiotic group	گروه پری بیوتیک Prebiotic group	گروه سین بیوتیک Synbiotic group		
جمعیت کل باکتریها (ضریب لگاریتم، واحد تشکیل دهنده کلنی) Total population of bacteria (multiplied by Log of 10 units of colony formation)						
میانگین Average	8.32	8.57	8.50	8.44	0.34	0.4121
۱۴ روزگی 14 days	7.98	8.22	8.35	8.29	0.39	0.3121
۳۰ روزگی 30 days	8.46	8.55	8.52	8.48	0.35	0.0621
۶۳ روزگی 63 days	8.52	8.71	8.65	8.55	0.41	0.0721

^۱ اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ($P < 0.05$).

^۲ جیره‌های آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد (شیر فاقد افزودنی) ۲- گروه پروبیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک) ۳- گروه پری بیوتیک (شیر + ۴ گرم پری بیوتیک) ۴- گروه سین بیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک و ۴ گرم پری بیوتیک).

¹Means within same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

²Experimental diets including: 1- control group (no additive milk) 2- probiotic group (milk + 2 gr probiotic) 3- prebiotic group (milk + 4 gr peribiotic) 4- synbiotic group (milk + 2 gr Probiotic and 4 gr of peribiotic).

تامین غلظت مناسبی از انرژی و پروتئین و مشابه بودن مواد مغذی در تمام جیره های آزمایشی اختلاف معنی داری در بین صفات فوق‌الذکر مشاهده نگردید.

غلظت IgG در سنین مختلف

نتایج مربوط به IgG در سنین مختلف بعد از خوراک دهی حاصل ازجیره های مکمل شده با مقادیر متفاوت پروبیوتیک و پری بیوتیک درجدول ۶ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که افزودن مکمل پروبیوتیکی به شیر در سنین مختلف تاثیر معنی داری بر غلظت IgG خون داشت ($P < 0.05$). بطوری که بیشترین میزان IgG مربوط به گروهی بود که پروبیوتیک مصرف کرده بودند و با گروه‌های شاهد و گروه سین بیوتیک اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) داشت ولی فقط از لحاظ عددی از گروه پری بیوتیک بیشتر بود و این روند در همه سنین ۳، ۷ و ۳۰ روزگی ادامه داشت.

الصیدی (۴) گزارش کرد که گوساله‌های دریافت کننده پروبیوتیک، ایمونوگلوبولین بیشتری درخون داشتند. بریکفیلد و همکاران (۱۰) گزارش دادند که افزودن پروبیوتیک به آغوز و پروتئین تام خون نشد.

این نتایج، با نتایج تحقیقات الصیدی و همکاران (۴) و آلبردا و همکاران (۳) مشابه بود ولی با یافته‌های ریدل و همکاران (۵۱) مطابقت نداشت.

بطوریکه مشاهده می‌شود، با مصرف پروبیوتیک مقدار جمعیت کل باکتریها بصورت عددی و ناچیز بعد از خوراک دهی افزایش یافت ولی هیچ گونه اختلاف معنی داری در سنین مختلف در بین گروه‌های دریافت کننده مکمل مشاهده نشد. مکملهای پروبیوتیکی جذب آمونیاک، توسط باکتری های سلولولایزیک را افزایش داده و شرایط رشد مناسبتری برای این گونه‌ی باکتریایی درشکمه فراهم می کند و باعث تحریک رشد باکتریایها می شود. افزودن مخمر می تواند منجر به افزایش جمیت باکتریایی شکمه گردد که درنهایت باکتریها به عنوان منبع انرژی و پروتئین مورد مصرف پروتوزوا قرار می گیرند. از این طریق مخمر می تواند باعث تعادل نیتروژن در شکمه نیز شود. مخمرمی تواند باعث وتثبیت pH شکمه شده و از این طریق می تواند باعث افزایش میزان خوراک، مصرفی وافزایش تعداد و فعالیت پروتوزوای شکمه شود (۶).

در تأیید این استدلال، گزارش شده است که در بررسی‌هایی که در آن عوامل محیطی کاملاً کنترل شده بوده و عوامل تنش‌زا و بیماریزا به حد کافی وجود نداشته است، اثر مفید مکملهای پروبیوتیکی در جلوگیری ازبیماری دیده نشده است (۶). همچنین عدم اختلاف در شمار باکتریهای کشت شده نیز تأیید کننده عدم بروز اختلال شدید در جمعیت باکتریایی روده است که در این آزمایش به دلیل معتدل بودن شرایط تغذیه‌ای گوساله‌های مورد آزمایش و نیز

چسبیدن پروبیوتیک‌ها به دیواره روده عامل اصلی در ایجاد ایمنی در گوساله است. در این صورت پروبیوتیک‌ها می‌توانند به باکتریهای مفید کمک کنند در ترشحات بدن حیوان، زنده باشند و باعث افزایش جمعیت پروبیوتیک‌ها شوند (۵۳)، بنابراین افزایش جذب ایمونوگلوبولین‌ها با استفاده از پروبیوتیک در تحقیق حاضر را میتوان به بهبود سلامت روده نسبت داد (۵۳).

مطالعات پیشین نشان داده که وجود عوامل بیماریزا در آغاز در جذب غیرفعال ایمونوگلوبولین‌ها از روده گوساله تداخل ایجاد می‌کنند. جیمز و همکاران (۳۵) نشان دادند که استفاده از آغاز پاستوریزه باعث افزایش جذب ایمونوگلوبولین‌ها در گوساله می‌شود. عدم تاثیرگذاری تیمار سینیوتیک میتواند ناشی از کاهش خوشخوراکی شیر و کاهش مصرف آنها باشد، زیرا مقدار پروبیوتیک و پری‌بیوتیک افزوده شده در این گروه به مراتب بیشتر از پروبیوتیک بوده است.

جدول ۶- اثر جیره‌های آزمایشی بر غلظت ایمونوگلوبولین‌ها در سنین مختلف بعد از خوراک دهی در گوساله‌های هلشتاین^۱

Table 6- Effect of experimental diets on the concentration of immunoglobulins at different ages after feeding in Holstein calves ¹						
Factors	جیره‌های آزمایشی ^۲				SEM	P-Value
	Experimental rations ²					
	گروه شاهد Control group	گروه پروبیوتیک Probiotic group	گروه پری بیوتیک Prebiotic group	گروه سین بیوتیک Synbiotic group		
غلظت IgG در سنین مختلف (گرم در لیتر) Concentration of IgG at different ages (g / l)						
۳ روزگی 3 days	10.68 ^b	16.13 ^a	14.35 ^a	11.22 ^b	1.459	0.1801
۷ روزگی 7 days	9.23 ^b	15.32 ^a	13.23 ^a	9.892 ^b	1.392	0.1001
۳۰ روزگی 30 days	10.68 ^b	15.23 ^a	11.45 ^b	10.22 ^b	1.298	0.1201

^۱ اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ($P < 0.05$).

^۲ جیره‌های آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد (شیر فاقد افزودنی) ۲- گروه پروبیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک) ۳- گروه پری بیوتیک (شیر + ۴ گرم پری بیوتیک) ۴- گروه سین بیوتیک (شیر + ۲ گرم پروبیوتیک و ۴ گرم پری بیوتیک).

¹Means within same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

²Experimental diets including: 1- control group (no additive milk) 2- probiotic group (milk + 2 gr probiotic) 3- prebiotic group (milk + 4 gr peribiotic) 4- synbiotic group (milk + 2 gr Probiotic and 4 gr of peribiotic).

باعث بهبود شاخص‌های عملکردی گوساله مانند ضریب تبدیل غذایی شود. افزودن پری بیوتیک به همراه پروبیوتیک به صورت سین بیوتیک تاثیر مثبتی بر شاخص‌های عملکردی نداشت که باعث افزایش هزینه می‌شود. پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آینده، اثر پریبیوتیک به تنهائیدر سطوح مختلف نیز بررسی گردد.

نتیجه گیری کلی

در مجموع، نتایج نشان داد که استفاده از پروبیوتیک می‌تواند باعث افزایش فعالیت نشخوار و در نتیجه باعث کاهش مصرف خوراک شود. همچنین، پروبیوتیک می‌تواند باعث افزایش معنی‌داری در جذب ایمونوگلوبولین‌ها در گوساله‌ها شود. استفاده از پروبیوتیک می‌تواند

منابع

- 1- Abe, F., N. Ishibashi, and S. Shimamura. 1995. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. Journal of Dairy Science, 78: 2838-2846.
- 2- Afshar Mazandaran, N. V., and A. Rajab. 2002. Probiotics and their application in feeding livestock and poultry. Nourbakhsh Publication. (In Persian).

- 3- Alberda, C., L. Gromlish, J. Meddings, C. Field, and L. McCargar. 2007. Effects of probiotic therapy in critically ill patients: A randomized double-blind, placebocontrolled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85: 816-823.
- 4- Aldana, C., S. Cabra, A. Carlos, F. Carvajal, and F. Rodriguez. 2009. Effect of probiotic compound in rumen development, diarrhea incidence and weight gain in young Holstein calves. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 33 pp.
- 5- Al-Saidy, M. Y. 2010. Effect of bacteria on immunoglobulin G concentration and other blood components of newborn calves. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9: 604-609.
- 6- Azimzadeh, A., A. Asadi al-Mutati, A. Akbar Khadem, and J. Mohammad Moradi. 2015. Effects of feeding a synbiotic additive on the growth and health performance of Holstein calves. *Animal production research*. Sixth year Number, 12:113-105. (In Persian).
- 7- Baron, E. J., and S. M. Finegold. 1990. *Diagnostic Microbiology*. 8th ed. the CV. Mosby Company. Toronto, Canada.
- 8- Bayat Koharsar, J., A. Tahmasebi, A. Nasserian and M.R. Rezaei. 2014. Effect of using probiotic produced in laboratory on the performance of infant calves. 6th Iranian Congress of Animal Sciences. Tabriz University, (In Persian).
- 9- Bomba, A., R. Nemcova, D. Mudronova, and P. Guba. 2002. The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. *Trends in Food Science, Tech*. 13: 121-126.
- 10- Brakefield, K., S. Godden, J. Fetrow, P. Rapnicki, C. Jones, R. Bey, and D. Haines. 2010. Effect of feeding Bovamine® probiotic on passive transfer of immunoglobulin G in newborn calves. *Proceeding of Minnesota Dairy Health Conference*, University of Minnesota, USA, Pp: 103-104.
- 11- Chimwano, A. M., E. R. Orskov, and C. S. Stewart. 1976. Effect of dietary proportions of roughage and concentrate on rate of dried grass disappearance in the rumen of sheep. *Proceedings of the Nutrition Society*, 35(2): 101A-102A.
- 12- Cruywagen, C. W., I. Jordaan, and L. Venter. 1996. Effect of *Lactobacillus acidophilus* supplementation of milk replacer on preweaning performance of calves. *Journal of Dairy Science*, 79: 483486.
- 13- Darreh Zarashkipour, M., Kh. Parsaei Mehr, F. Hossein Zadeh, and P. Farhomand. 2013. The effect of different levels of prebiotic supplementation (E-max) on digestibility and some biochemical parameters of serum of West Azarbaijan native pups. *Veterinary Clinic Pathology*. Volume 7, Number 4, Thousands. 2. Page 321-314, (In Persian).
- 14- Deka, R. S. 2009. Effect of probiotic Biobloom as growth promoter in kids. *Indian Veterinary*, 86(11): 1192-1193.
- 15- Dvorak, R. A., K. A. Jacques, and K. E. Newman. 1998. Mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide and Carbadox for pigs 0-21 dayspost-weaning. *Journal of Animal Science*, 76(Suppl. 2): 64.
- 16- El-Hassan, S. M., C. J. New bold, and I. E. Edwards. 1996. Effect of yeast culture on rumen fermentation, microbial protein flow the rumen and live weight gain in bulls given high concentrate diets. *Animal Production Science*, 62:43-48.
- 17- Elizondo-Salazar, J.A. and A.J. Heinrichs. 2009. Feeding heat-treated colostrum to neonatal dairy Heifers; effect on growth characteristics and blood parameters. *Journal of Dairy Science*. 92: 3265-3273.
- 18- Enjalbert, F., J.E. Garrett, R. Moncoulon, C. Bajourthe and P. Chicoteau. 1999. Effects of yeast culture (*saccharomyces cerevisiae*) on ruminal digestion in non-lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 183: 140-151.
- 19- Fowler, J., R. Kakani, A. Haq, J. Byrd, and C. Bailey. 2015. Growth promoting effects of prebiotic yeast cell wall products in starter broilers under an immune stress and clostridium perfringens challenge. *The Journal of Applied Poultry Research*, 24: 66-72.
- 20- Frizzo, L.S., M. V. Zbruna, L. P. Sotoa and M. L. Signorinib. 2011. Effects of probiotics on growth performance in young calves: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Animal Feed Science and Technology* 169, 147-156.
- 21- Fujiwara, K., M. Yamazaki, H. Abe, K. Nakashima, Y. Yakabe, M. Otsuka, Y. Ohbayashi, Y. Kato, K. Namai, A. Toyoda, Y. Miyaguchi, and Y. Nakamura. 2009: Effect of *Bacillus subtilis* var. natto fermented soybean on growth performance, microbial activity in the caeca and cytokine gene expression of domestic meat type chickens. *The Journal of Poultry Science*, 46: 116-122.
- 22- Fuller, R. 1977. The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. *British Poultry Science*, 18: 85-94.
- 23- Fuller, R. 1992. *Probiotics: the scientific basis* chapman and Hall. London. pp:1-20Galip N, 2006. Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* live Yeast culture supplementation on ruminal digestion and protozoa count in rams fed with diets with or high ratio forage / concentrate. *Faculty of veterinarymedicine*. 16059 bursa /Turkey, 157(12): 609-613.

- 24- Galvao, K. N., J. E. Santos, A. Coscioni, M. Villasenor, W. M. Sischo, and A. C. Berge. 2005. Effect of feeding live yeast products to calves with failure of passive transfer on performance and patterns of antibiotic resistance in fecal *Echerchia coli*. *Reproduction Nutrition Development*, 45: 427-440.
- 25- Gibson, G. R. 2004. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). *Clinical Nutrition Supplements*, 1(2): 25-31.
- 26- Gibson, G. R. and M. B. Roberfroid. 1995. Dietary modulation of the human colonicmicrobia: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125: 1401-1412.
- 27- Girard, I.D. 1995. Stimulation of ruminal bacteria by difference fractions derived from culture of *Saccharomyces cerevisiae* strain 1026. *J. Anim. Sci.* 73: (Suppl.1): 264 (Abstr).
- 28- Heinrichs, A.J., C. M. Jones and B. S. Heinrichs. 2003. Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 86:4064.
- 29- Heydari Khormizy, S., R. Dehghan, M. Benadiki, K. Researcher, and A. Zali. 2007. Study of the effect of probiotic and fungal probiotics on production performance of Holstein cattle in early lactation. Master's thesis, University of Tehran, (In Persian).
- 30- Hood, S., and E. Zoitola.1988. Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cells. *Journal of Food Science*, 53(5): 1514-1520.
- 31- Hossain, S. A., S. Parnerkar, N. Haque, R. S. Gupta, D. Kumar, and A. K. Tyagi. 2012. Influence of dietary supplementation of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on nutrient utilization ruminal and biochemical profiles of Kankrej calves. *Int. Journal of Applied Animal Research*, 1(1): 30-38.
- 32- Hossein Abadi, M., M. Dehghan Banadaki, and A. Zali. 2013. Effect of adding probiotic bacteria in milk or initial feed on growth performance, health condition, blood and stomatal parameters of Holstein calves. *Animal production research*. forth year. Number, 8: 69-57 (In Persian).
- 33- Houdijk, J. G. M., M. W. Bosch, S. Tamminga, M. W. A. Verstegen, and E. B. Berenpas. 1999. Apparent ileal and total-tract nutrient digestion by pigs as affected by dietary non-digestible oligosaccharides. *Journal of Animal Science*, 77: 148-158.
- 34- James, R. E., C. E. Polan, and K. A. Cummins. 1981. Influence of administered indigenous microorganisms on uptake of [*Iodine-125*] {gamma}-globulin in vivo by intestinal segments of neonatal calves. *Journal Dairy Science*, 64: 52-61.
- 35- Jin, M., H. Shao, Z. Jiang, F. Jin, T. Chen, and J. Wang. 2012. A eliable immunoturbidimetry method for immunoglobulin G in bovine colostrum. *Food and Agricultur Immunology*, 23: 133-144.
- 36- Kaske, M., and W. Von-Engelhrdt. 1990. The Effects of size and density on mean retention time of particles in the gastrointestinal tract of sheep. *Britesh. Journal Nutrition*, 63:457.
- 37- Kogan, G., and A. Kocher. 2007. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. *Livest Science*, 109-165.
- 38- Krehbiel, C. R., S. R. Rust, G. Zhang and S. E. Gilliland. 2003. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performanceresponse and mode of action. *Journal of Animal Science*, 81: E120-E132.
- 39- Kritas, S. K., and R. B. Morrison. 2005. Evaluation of probiotics as a substitute for antibiotics in a large pig nursery. *The Veterinary Record*, 156: 447-448.
- 40- Mainardi, S. R., B. A. Hengst, S. G. Nebzydoski, L. M. Nemec, and T. F. Gressly. 2012. Effects of obomasal oligofroctose on blood and feces of Holstein steers. *Department of Animal and Food science*, 45: 155-161.
- 41- Mertens, D. R. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 80: 1463-1481.
- 42- Mohamadi, P., and N. Dabiri. 2012. Effects of probiotic and prebiotic on average daily gain, fecal shedding of *Escherichia Coli*, and immune system status in newborn female calves. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25: 1255-1261.
- 43- Morrison, S. J., S. Dawson and A. F. Carson. 2010. The effects of mannan oligosaccharide and *Streptococcus faecium* addition to milk replacer on calf health and performance. *Livestock Science*, 131: 292-296.
- 44- Nakanishi, Y., C. W. Arave, and P. H. Stewart. 1993. Effect of feeding *Lactobacillus acidophilus* yogurt on performance and behavior of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 76(Suppl.1): 244 pp.
- 45- Nisbet, D. J., and S. A. Martin. 1991. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *Journal of Animal Sciences*, 69:4628-4633
- 46- Novak, K. N., E. Davis, C. A. Wehnes, D. R. Shields, J. A. Coalson, A. H. Smith, and T. G. Rehberger. 2012. Effect of supplementation with an electrolyte containing a *Bacillus*-based direct-fed microbial on immune development in dairy calves. *Research in Veterinary Science*, 92: 427-434.
- 47- Pieper, R., P. Janczyk, V. Urubschurov, U. Korn, B. Pieper and W. B. Souffrant. 2009. Effect of a single oral administration of *Lactobacillus plantarum* DSMZ 8862/8866 before and at the time point of weaning on intestinal microbial communities in piglets. *International Journal of Food Microbiology*, 130: 227-232.
- 48- Piras, C., and S. Bovolenta. 1995. The use of brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) for weaning calves. *Zootecnica e Nutrizione Animale*, 21: 57-61.

- 49- Piva, G., S. Belladonna, G. Fusconi, and F. Sicoaldi. 1993. Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood composition and milk manufacturing properties. *Journal of Dairy Science*, 76:2717-2722.
- 50- Rameshwar S., L. C. Chaudhary, D. N. Kamra, and N. N. Pathak. 1998. Effect of dietary supplementation with yeast cell suspension (*Saccharomyces cerevisiae*) on nutrient utilisation and growth response in crossbred calves. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 11: 268-271.
- 51- Riddell, J. B., A. J. Gallegos, D. L. Harmon, and K. R. Mcleod. 2010. Addition of a *Bacillus* based probiotic to the diet of pre ruminant calves: influence on growth, health and blood parameters. *Intern. Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 8: 78-85.
- 52- Sami, N., S. Salminen, G. Bylund, and A. Ouwehand. 2001. Characterization of properties of human- and Dairy-derived probiotic for prevention of infectious disease in fish. *Appl. Environ. Microbiol*, 67: 2430-2435.
- 53- Santoso, B., B. Mwenya, C. Sar, Y. Gamo, T. Kobayashi, and R. Morikawa. 2004. Effects of supplementing galacto-oligosaccharids, *Yucca schidigra* or nisin on rumen metanogenesis, nitrogen and energy metabolism in sheep. *Livestock Production Science*, 91: 209-217.
- 54- SAS, Institute. 2003. *SAS User's Guide*. Version 9.1 ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- 55- Savage, D. C. 1987. Microorganisms associated with epithelial surfaces and the stability of the indigenous gastrointestinal microflora. *Die Nahrung*. 5-6:383-390.
- 56- Taylor, D. J. 2001. Effects of antimicrobials and their alternative. *British Journal of Poultry Science*, 42: 67.
- 57- Timmerman, H. M., L. Mulder, H. Everts, D. C. van Espen, E. van der Wal, G. Klaassen, S. M. G. Rouwers, R. F. Hartemink, M. Rombouts, and A. C. Beynen. 2005. Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics *Journal of Dairy Science*, 88: 2154-2165.
- 58- Vakili-Saleh, F., F. Moslemipur, Y. Mostafaloo., and R. Ghorbani. 2012. Study of effects of heating and antibiotic addition to colostrum on passive transfer of immunoglobulins, growth and health parameters in calves. M.Sc. thesis, University of Gonbad Kavos. (In Persian)
- 59- Zhang, R., M. Zhou, Y. Tu, N. F. Zhang, K. D. Deng, T. Ma, and Q. Y. Diao. 2015. Effect of oral administration of probiotics on growth performance, apparent nutrient digestibility and stress-related indicators in Holstein calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 100: 33–38.



The Effect of Additive Supplementation on Blood Metabolites, Microbial Population, Ruminants and Inactive Transmission of Immunoglobulins in Holstein Calf

Masood Didarkhah^{1*} - Moosa Vatandoost²

Received: 13-03-2018
Accepted: 28-07-2018

Introduction In ruminant animals, the microbial population of the digestive tract can be controlled by several factors such as growth promoters, probiotics, periobacters, enzymes, essential oils, oligosaccharides and plant additives. Before weaning, dairy calves are susceptible to many pathogens and nutritional problems. For several years antibiotics have been used to overcome these problems also to obtain economic benefits in terms of improved calves performance and reduced medication costs. However, the use of antibiotics in animal husbandry is in question because of antibiotic resistance of microorganisms. Research shows an association between the use of sub-therapeutic dose of antibiotics and antibiotic-resistance organisms. Probiotics are live microbial feed supplements which beneficially affect the host animal by improving its microbial balance. Most of probiotic studies that were reported in the literatures used single or two strains probiotics rather than multi strains bacteria. Prebiotics are non-digestible carbohydrates which are not metabolized in the small intestine and fermented in large intestine. reported that dietary chitosan oligosaccharides supplementation was effective in increasing the ileal digestibilities of nutrients and feed efficiency in broilers. Also reported that broilers fed diet supplemented with oligochitosan prebiotic had higher serum IgG, IgM and IgA concentration compared with broiler fed control diet. Dietary supplementation with Chinese herbal ultra-fine 3 powder as a prebiotic enhances cellular and humoral immunity in early weaned piglets. In this study, the effect of adding supplements to milk on functional parameters, blood metabolites, microbial population and inactivation of immunoglobulins to calves were investigated.

Materials and methods Sixteen newly-born Holstein male calves were used in four completely randomized treatments for 60 days. Treatments included: 1- control group (no additive milk) 2- probiotic group (milk + 2 gr probiotic) 3- prebiotic group (milk + 4 gr perbiotic) 4- synbiotic group (milk + 2 gr probiotic and 4 gr perbiotic). Calves were weighed at 3, 30 and 63 days of age after feeding the milk at the morning meal, and the feed intake was measured and recorded daily from day 10 to the end of the period for each calf. On the 14, 30 and 63 days samples of all calves were taken from the feces for microbial culture. Blood samples were taken at nine o'clock in the morning (two hours after the morning meal) on weekdays. To measure the concentration of metabolites, plasma samples were melting at room temperature to determine the serum levels of serum cholesterol, glucose, albumin, triglyceride and total protein plasma from a biosorbent kit and an autoanalyzer (model A15, France) with two replications measured. IgG concentrations were measured by immunoturbidimetry method using the COBAS INTEGRA kit at a wavelength of 800-400 nm on the fourth day of the course, the total activity was measured for 24 hours by direct observation (28 and 51). The duration of rumination and eating was considered as the duration of maturation, and the activity of rumination and eating every five minutes was recorded for 24 hours.

1- Assistant Professor, Faculty of Agriculture Sarayan, University of Birjand, Birjand, Iran,

2- Department of Agriculture, Payame Noor University, PO BOX 19395-3697, Tehran, Iran.

(* Corresponding Author E-mail: masooddidarkhah@birjand.ac.ir)

The duration of rumination and eating from the product of the number of each observation was obtained at intervals of five minutes.

Results and discussion In calves fed with a diet containing probiotic supplement The lowest feed intake and the best feed conversion ratio were observed in all periods compared to other treatments. Glucose and Triglyceride, total cholesterol concentration, total plasma protein and plasma aliquin concentrations were not affected by probiotic and peri-biotic supplements in diets and no significant differences were found between diets. Probiotic supplementation significantly reduced the concentration of triglycerides in the blood plasma of calves fed with supplement supplements ($P < 0.05$). The highest concentration of triglyceride was in the control group, with a significant difference ($P < 0.05$) with other groups. The lowest concentration of beta-hydroxybutyrate was in the control group, with a significant difference ($P < 0.05$) with other groups. In the calf Fed with probiotic The total amount of bacteria increased slightly after feeding, but there was no significant difference between different age groups in the complementary recipient groups. The highest IgG levels were in the group that consumed probiotics and there was a significant difference between the control group and the synbiotic group ($P < 0.05$), but it was only numerically higher than the prebiotic group and this trend All ages 3, 7 and 30 continued.

Conclusion In general, the results showed that supplementation with probiotic additive could improve the livestock's economic indices.

Key words: Additive supplement, Calves, Immunoglobulins, Microbial population, Ruminants.

« Scientific Journal»
Iranian Journal of Animal Science Research

Vol. 11

No. 2

Summer 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>