



Contents

Ruminant Nutrition Effects of roasting and extruding heat processes on chemical composition, degradability fractions and intestinal digestibility of dry matter and crude protein of whole soybeans.....	411
H. Khorasani, M. Bashtani, A. Forughi, H. FarhangFar and F. Ganji	
Gas Production and <i>In vitro</i> Digestibility of Various Sources of Non-fiber Carbohydrates and Rumen Degradable Protein	423
E. esmaili doabi, I. Bayatkouhsar, F. Rezaii, Y. Mostafalou and A. M. Gharebash	
Investigation the buffering capacity of some native alkalizer and buffer compounds and their effect on fermentation and rumen digestion parameters <i>in vitro</i>.....	435
S. M. Vaghar Seyedin, M. Mojtahedi, S. E. Ghiasi and M. H. Fathi Nasri	
The effects of different fat sources during late pregnancy and early lactation on apparent digestibility, rumen parameters, and milk fatty acid pattern of Afshari ewes.....	448
M. Ghahremani, A. Taghizadeh, A. Hosseinkhani, H. Mirzaei Alamouti, G. H. Moghaddam and H. Paya	
Poultry Nutrition Determination of Chemical Composition and Metabolisable Energy Irradiated Barley Grain in Broiler Chickens and Cockerels	461
L. Bornaie, S. Salari and N. Erfanimajid	
Use of essential oils in broiler chickens: <i>In-vitro</i> antimicrobial activities and effects on growth performance, intestinal morphology and microflora.....	478
A. Khatibjoo, M. Aalaei, F. Fattahnia, M. Neamati, M. Hafezi-ahmadi and H. Farzadi	
Genetic and Breeding Evaluation of the genetic diversity of Iranian Arabian horses	487
S. Jabbari, M. R. Mashayekhi, A. Hasanpour and B. Shirmohammadi	
Study of variations, prediction of variance components and genetic parameters of survival distribution function in Kermani ewes	498
M. Kord, M. R. Mohammadabadi, A. Esmailizadeh Koshkoieh and A. Barazandeh	
Structural analysis of aspartate kinase enzyme in <i>Corynebacterium</i> species to find the best enzyme structure for high industrial production of lysine amino acid	511
M. Hashemi Attar, M. Nassiri, A. Javadmanesh and B. nayeri fasaie	
Factors Affecting Mastitis, the Frequency of Pathogens and Estimation of Genetic Parameters	525
S. Zakizadeh, B. Saremi, H. Rashid, M. Najafi and S. Savar Solla	

عنوان مقالات

تغذیه نشخوارکنندگان

اثر فرآورده‌های حرارتی تف دادن و اکستروژن کردن بر ترکیب شیمیایی، بخش‌های تجزیه پذیری و قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا به روش کبسه‌های نایلونی ۳۹۹
حامد خراسانی، مسلم باشتی، علیرضا فروغی، همایون فرهنگ فر و فاطمه گنجی

تولید گاز و قابلیت هضم آزمایشگاهی انواع کربوهیدرات‌های غیر الیافی و پروتئین قابل تجزیه شکمبه‌ای..... ۴۱۳
اسحاق اسمعیلی دوآبی، جواد بیات کوهسار، فرخنده رضایی، یوسف مصطفی لو و آشورمحمد قره‌باش

تعیین ظرفیت بافری برخی ترکیبات آلکالایز و بافری معدنی بومی و تأثیر آن‌ها بر فراسنجه‌های تخمیر و هضم شکمبه ای در شرایط برون تنی ۴۲۵
سید مرتضی رفار سیدین، محسن مجتهدی، سید احسان غیائی و محمدحسن فتحی نسری

تأثیر تغذیه منابع مختلف چربی در اواخر آبستنی و اوایل دوره شیردهی بر قابلیت هضم ظاهری، فراسنجه‌های شکمبه ای و الگوی تغییرات اسیدهای چرب شیر میش‌های افشاری ۴۳۷
مهدی قهرمانی، اکبرتقی زاده، علی حسین خانی، حمیدرضا میرزایی الموتی، غلامعلی مقدم و حمید پایا

تغذیه طیور

تعیین ترکیب شیمیایی و انرژی قابل سوخت و ساز دانه جو پرتوتایی شده با استفاده از جوجه‌های گوشتی و خروس‌های بالغ ... ۴۵۱
لطف اله برنایی، سمیه سالاری و نعیم عرفانی مجد

اثرات اسانس مرزنگوش، شاه‌اسپریم، گندواش، رازیانه و کاج بر جوجه‌های گوشتی: اثرات ضدباکتریایی *In-Vitro* و عملکرد، مورفولوژی ژنوزنوم و جمعیت میکروبی ایلنوم..... ۴۶۳
علی خطیب جو، مریم اعلائی، فرشید قنات‌نیا، مصطفی نعمتی، دکتر محمدرضا حافظی احمدی و دکتر هومن فرزادی

ژنتیک و اصلاح

بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت اسب‌های عرب ایرانی ۴۸۱
سروین جباری، محمدرضا مشایخی، علی حسن پور و بهزاد شیرمحمدلی

مطالعه تغییرات، پیش بینی مؤلفه‌های واریانس و فراسنجه‌های ژنتیکی تابع توزیع زنده‌مانی در میش‌های نژاد کرمانی ۴۸۹
محبوبه کرد، محمدرضا محمدآبادی، علی اسمعیلی زاده کشکویه و ارسلان برازنده

آنالیز ساختاری آنزیم آسپارات کیناز در کورینه باکتریوم به منظور پیشنهاد بهترین ساختار آنزیم جهت افزایش تولید صنعتی اسید آمینه لیزین ۵۰۱
مرتضی هاشمی عطار، محمدرضا نصیری، علی جوادمنش و بهارنیری فساie

عوامل موثر بر ورم پستان، فراوانی شیوع پاتوژن‌ها و برآورد پارامترهای ژنتیکی ۵۱۳
سونیا زکی زاده، بهنام صارمی، حسین رشید، مهناز نجفی و سیما ساور سغلی

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)

بر اساس مصوبه وزارت عتف از سال ۱۳۹۸، کلیه نشریات دارای درجه "علمی-پژوهشی" به نشریه "علمی" تغییر نام یافتند.

جلد ۱۱ شماره ۴ زمستان ۱۳۹۸

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: دکتر حسن نصیری مقدم

سرمدیر: 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 مرتضی چاجی	دانشیار تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
دکتر حسن نصیری مقدم	استاد تغذیه طیور	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر ابوالقاسم گلیان	استاد تغذیه طیور	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر جواد پور رضا	استاد تغذیه طیور	دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر فتح الله بلداجی	استاد تغذیه طیور	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر احمد حسن آبادی	استاد تغذیه طیور	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر بهروز دستار	استاد تغذیه طیور	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر جواد ضمیری	استاد فیزیولوژی حیوانی	دانشگاه شیراز
دکتر نصراله پیرانی	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه شهرکرد
دکتر محمدرضا نصیری	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مجتبی طهمورث پور	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر سعید زره داران	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مهدی سرگلزایی	دانشیار ژنتیک	دانشگاه گولف، 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

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

صفحه	تغذیه نشخوار کنندگان
۳۹۹	اثر فرآیندهای حرارتی تف دادن و اکستروود کردن بر ترکیب شیمیایی، بخش های تجزیه پذیری و قابلیت هضم روده ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سوبا به روش کیسه های نابلونی حامد خراسانی، مسلم باشتی، علیرضا فروغی، همایون فرهنگ فر و فاطمه گنجی
۴۱۳	تولید گاز و قابلیت هضم آزمایشگاهی انواع کربوهیدرات های غیر الیافی و پروتئین قابل تجزیه شکمبه ای اسحاق اسمعیلی دوآبی، جواد بیات کوهسار، فرخنده رضایی، یوسف مصطفی لو و آشور محمد قره باش
۴۲۵	تعیین ظرفیت بافری برخی ترکیبات آلکالایزری و بافری معدنی بومی و تأثیر آن ها بر فراسنجه های تخمیر و هضم شکمبه ای در شرایط برون تنی سید مرتضی وقار سیدین، محسن مجتهدی، سید احسان غیائی و محمد حسن فتحی نسری
۴۳۷	تأثیر تغذیه منابع مختلف چربی در اواخر آبستنی و اوایل دوره شیردهی بر قابلیت هضم ظاهری، فراسنجه های شکمبه ای و الگوی تغییرات اسیدهای چرب شیر میش های افشاری مهدی قهرمانی، اکبرتقی زاده، علی حسین خانی، حمیدرضا میرزایی الموتی، غلامعلی مقدم و حمید پایا
	تغذیه طیور
۴۵۱	تعیین ترکیب شیمیایی و انرژی قابل سوخت و ساز دانه جو پرتوتایی شده با استفاده از جوجه های گوشتی و خروس های بالغ لطف اله برنایی، سمیه سالاری و نعیم عرفانی مجد
۴۶۳	اثرات اسانس مرزنگوش، شاه اسپرم، گندواش، رازیانه و کاج بر جوجه های گوشتی: اثرات ضدباکتریایی <i>In-Vitro</i> و عملکرد، مورفولوژی ژئوژنوم و جمعیت میکروبی ایلنوم علی خطیب جو، مریم اعلائی، فرشید فتحانیا، مصطفی نعمتی، دکتر محمد رضا حافظی احمدی و دکتر هومن فرزادی
	ژنتیک و اصلاح
۴۸۱	بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت اسب های عرب ایرانی سروین جباری، محمد رضا مشایخی، علی حسن پور و بهزاد شیر محمدلی
۴۸۹	مطالعه تغییرات، پیش بینی مؤلفه های واریانس و فراسنجه های ژنتیکی تابع توزیع زندهمانی در میش های نژاد کرمانی محبوبه کرد، محمد رضا محمد آبادی، علی اسمعیلی زاده کشکوتیه و ارسلان برازنده
۵۰۱	آنالیز ساختاری آنزیم آسپارات کیناز در کورینه باکتریوم به منظور پیشنهاد بهترین ساختار آنزیم جهت افزایش تولید صنعتی اسید آمینه لیزین مرتضی هاشمی عطار، محمد رضا نصیری، علی جواد منش و بهار نیری فسایی
۵۱۳	عوامل موثر بر ورم پستان، فراوانی شیوع پاتوژن ها و برآورد پارامترهای ژنتیکی سونیا زکی زاده، بهنام صارمی، حسین رشید، مهناز نجفی و سیما ساور سفلی

دکتر سید هادی ابراهیمی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر فاطمه بحری بینا باج	دانشگاه گنبد کاووس
دکتر عطیه بهلولی قائن	دانشگاه پیام نور مشهد
دکتر علی جوادمنش	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مرتضی چاجی	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
دکتر احمد حسن آبادی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مجتبی حسین پور مشهدی	دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد
دکتر غلامرضا داشاب	دانشگاه زابل
دکتر بهروز دستار	استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر زهرا رودباری	دانشگاه جیرفت
دکتر سعید سبجانی راد	دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد
دکتر محمدهادی سخاوتی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر رضا سیدشریفی	دانشگاه محقق اردبیلی
دکتر محمدمهدی شریعتی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر رضا طهماسبی	دانشگاه شهید باهنر کرمان
دکتر امیرحسین علیزاده قمصری	موسسه تحقیقات علوم دامی کشور
دکتر حسن علی عربی	دانشگاه بوعلی سینای همدان
دکتر محمدحسن فتحی نسری	دانشگاه بیرجند
دکتر سمانه قاسمی	دانشکده فنی و کشاورزی شهریار
دکتر مرضیه قدمی کوهستانی	شرکت کیمیا آنزیم
دکتر شاهرخ قوتی رودسری	دانشگاه گیلان
دکتر امیر موسائی	دانشگاه جیرفت
دکتر علی نوبخت	دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه
دکتر رضا ولی زاده	دانشگاه فردوسی مشهد

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

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

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

نکات مهم:

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

الف) فرم صفحه مشخصات مقاله

صفحه مشخصات باید به هر دو زبان فارسی و انگلیسی حاوی عنوان کامل مقاله، نام و نام خانوادگی، مرتبه علمی و سمت نویسنده (گان)، نام گروه یا مؤسسه ای که نویسنده (گان) در آن شاغل هستند و محلی که تحقیق در آن انجام شده است، آدرس کامل نویسنده (گان) شامل آدرس پستی، شماره تلفن، دورنگار و آدرس پست الکترونیکی باید در این صفحه قید شود. توجه شود که نام و محل خدمت نویسنده (گان) باید فقط در این صفحه نوشته شود و از تکرار آن در صفحات دیگر مقاله خودداری شود.

ب) فرم تعهد نامه

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

ت) 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، ویrgول و ... به درستی استفاده شود.
- ✓ رعایت نیم فاصله در کلمات ترکیبی و جمع مانند اندازه گیری، شده اند، می شود، می توان، نکته ها و ... ضروری است.
- ✓ معادله ها در متن مقاله باید به ترتیب از ابتدا تا انتها شماره گذاری شوند.
- ✓ واحدهای مورد استفاده در متن مقاله باید بر اساس سیستم بین المللی متریک (SI) باشد.
- ✓ تعداد پاورقی ها به حداقل برسد و شماره پاورقی ها در هر صفحه از عدد یک آغاز شود.

ث) 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 واژه های 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 علامت‌های عددی در بالا و سمت راست جمله‌ها، 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 نویس‌ها 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 dietaryon 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
آسپارات 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

میانگین‌های 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.

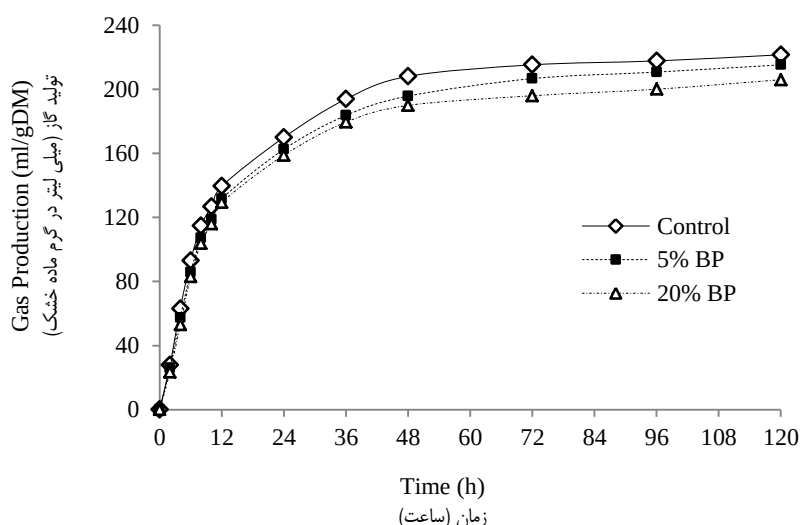
²Blood urea nitrogen

³Aspartate Aminotransferase

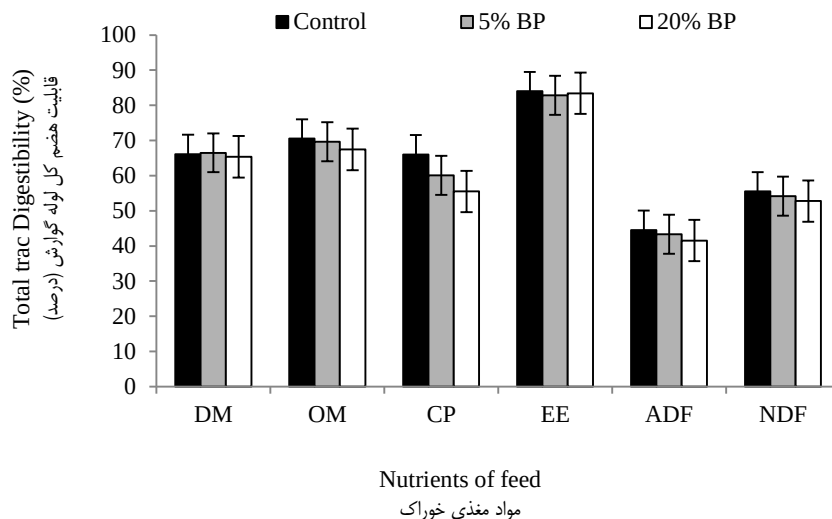
⁴Alanine Aminotransferase

⁵Low density lipoprotein

- ✓ **الگوی شکل باید دقیقاً مشابه با شکل‌های 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 ارایه 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 شکل‌ها استفاده شود. توجه: در مورد شکل، از الگوهای سیاه و سفید استفاده شود و رنگ زمینه در کلیه شکل‌ها بایستی سفید باشد.
- ✓ در نمودارهای خطی می‌توان از علائمی نظیر (♦, ◇, ▲, △, +, ●, ○, ■, □) استفاده کرد.
- ✓ از آوردن کادر دور شکل و خطوط طولی در شکل خودداری شود.
- ✓ سعی شود با نرم افزار Excle روی شکل‌ها به خوبی کار شود تا بالاترین کیفیت برای شکل‌ها بدست آید.



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف محصولات فرعی در جیره بر میزان تولید گاز در شرایط *in vitro*
Figure 1- Effects of different levels of by-products in dietary on extent of gas production *in vitro*



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف محصولات فرعی در جیره‌بر 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). خیری 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 در انتهای منبع داخل پرانتز ذکر شود).**

۹-۱- نکات مهم در مورد نوشتن منابع

- ✓ نحوه نگارش منابع اتخاذ شده از نشریه های علمی، کتاب، همایش ها و یا درگاه الکترونیکی بایستی به صورت ذیل باشد.
- ✓ نام نشریه و یا همایش علمی باید به صورت کامل نوشته شود و از نوشتن مخفف آنها جداً خودداری شود.
- ✓ 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>.

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

۱۰- چکیده انگلیسی

بر اساس رویکرد دانشگاه فردوسی مشهد مبنی بر لزوم توجه به نظام‌های رتبه‌بندی و علم‌سنجی 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 مسووط 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]

Materials and Methods Text type here. Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.

[illegible][illegible]

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



اثر فرآیندهای حرارتی تف دادن و اکستروژن کردن بر ترکیب شیمیایی، بخش‌های تجزیه پذیری و قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا به روش کیسه‌های نایلونی

حامد خراسانی¹، مسلم باشتنی^{2*}، علیرضا فروغی³، همایون فرهنگ فر⁴، فاطمه گنجی⁵

تاریخ دریافت: 1395/12/23

تاریخ پذیرش: 1397/07/28

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثر فرآیندهای حرارتی تف دادن و اکستروژن کردن بر ترکیب شیمیایی، بخش‌های تجزیه پذیری و قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا انجام شد. ترکیب شیمیایی، بخش‌های نیترोजن دار، فعالیت اوره‌آز، پروتئین قابل متابولیسم، خصوصیات تجزیه پذیری و قابلیت هضم شکمبه‌ای - روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویای خام و عمل آوری شده تعیین شد. در طی فرآیند اکستروژن کردن، دانه سویا به مدت 20-30 ثانیه در دمای 150-160 درجه سانتی‌گراد عمل آوری شد. در فرآیند تف دادن، دانه سویا به مدت 15 دقیقه در دمای 145 درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و به مدت 45 دقیقه داخل مخزن نگهدارنده جهت ذخیره سازی حرارتی باقی ماند. فراسنجه‌های تجزیه پذیری نمونه‌ها پس از انکوباسیون به مدت صفر، 2، 4، 8، 16، 24 و 48 ساعت در شکمبه 2 رأس گاو براون سوئیس دارای فیستولا اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد فرآیند تف دادن و اکستروژن کردن با کاهش میزان رطوبت سبب افزایش درصد ماده خشک دانه سویا گردید اما تغییر محسوسی بر دیگر ترکیبات شیمیایی (پروتئین خام، چربی خام، خاکستر، فیبر نامحلول در شوینده خنثی، فیبر نامحلول در شوینده اسیدی) دانه سویا نداشت. عمل آوری حرارتی سبب افزایش میزان پروتئین حقیقی دانه سویا شد و میزان نیترोजن نامحلول در شوینده خنثی دانه سویا را نیز تحت تأثیر قرار نداد. همچنین ممانعت کننده اوره از دانه سویا غیر فعال شد که در نتیجه سبب افزایش قابلیت هضم پروتئین روده‌ای گردید و در اثر عمل آوری حرارتی نیز میزان پروتئین قابل متابولیسم دانه سویا به طور معنی داری افزایش یافت. بنابراین فرآیند تف دادن و اکستروژن کردن بخش سریع تجزیه و ثابت نرخ تجزیه ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا را کاهش داد و با کاهش در میزان ناپدید شدن شکمبه‌ای و افزایش قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا تجزیه پذیری دانه سویا بهبود یافت. بنابراین فرآیندهای حرارتی تف دادن و اکستروژن کردن راهبرد مناسبی در کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای دانه سویا و تامین پروتئین عبوری مورد نیاز گاوهای شیری می‌باشد. عمل آوری حرارتی می‌تواند با حفاظت پروتئین دانه سویا از دسترسی میکروب‌ها در شکمبه، روش مؤثری در افزایش بازده استفاده از پروتئین با ارزش دانه سویا باشد.

کلمات کلیدی: اکستروژن کردن، پروتئین قابل متابولیسم، تف دادن، دانه سویا، فعالیت اوره‌آز

مقدمه¹

(NPN)، پروتئین حقیقی (TP) و پروتئین خام (CP)، سبب بهبود تخمین احتیاجات حقیقی مورد نیاز نشخوارکنندگان گردیده است (9). هدف اصلی از تغذیه پروتئین در گاوهای شیری، تأمین مقدار کافی پروتئین قابل تجزیه در شکمبه جهت نیاز میکروارگانیسم‌ها و همچنین مقدار کافی پروتئین عبوری برای عملکرد مطلوب دام می‌باشد. تنظیم جیره‌ای که از نظر نسبت پروتئین قابل تجزیه به پروتئین غیرقابل-تجزیه در شکمبه در تعادل باشد، سبب افزایش بازده استفاده از نیترोजن می‌گردد؛ به‌طوری که آمونیاک در شکمبه، تجمع نمی‌یابد و لذا دفع اوره از طریق ادرار، کاهش پیدا می‌کند. به‌منظور کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه، روش‌های مختلف عمل آوری شیمیایی (استفاده از اسیدهای آلی، اتانول و فرمالدئید) و فیزیکی

برای تخمین احتیاجات غذایی نشخوارکنندگان، باید مواد مغذی و ترکیب بخش‌های مختلف مواد خوراکی شناسایی گردند. مطالعات انجام شده در مورد نیترोजن، به‌خصوص نیترोजن غیرپروتئینی

- 1- دانش آموخته‌ی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه بیرجند
 - 2- استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند
 - 3- دانشیار مرکز آموزش عالی جهاد کشاورزی خراسان رضوی (شهید هاشمی نژاد)
 - 4- استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند
 - 5- دانش آموخته دکتری تغذیه دام دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند
- (*) - ایمیل نویسنده مسئول: (Email: mbashtani@birjand.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v11i4.63238

می‌دانند. هدف از مطالعه‌ی حاضر تعیین و مقایسه اثرات تف دادن و اکستروژن کردن بر ترکیب شیمیایی، بخش‌های نیتروژن‌دار، فعالیت اوره‌آز، پروتئین قابل متابولیسم، خصوصیات تجزیه پذیری و قابلیت هضم شکمبه‌ای - روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویای خام و عمل‌آوری شده به روش کیسه‌های نایلونی بود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش دانه سویای خام واریته ویلیامز مورد عمل‌آوری قرار گرفت. دانه سویا تف داده توسط کارخانه تهران دانه و دانه سویا اکستروژن شده توسط کارخانه صالح کاشمر آماده شد. جهت تف دادن ابتدا دانه سویا در کارخانه بوجاری شد. سپس وارد دستگاه روستر¹ شده و دمای دانه به 145 درجه سانتی‌گراد رسید. این فرآیند به مدت 15 دقیقه بطول انجامید. این دستگاه دارای نوار نقاله‌ای به طول 12 متر بود که در طی آن جریان هوای خشک به دانه سویا دمیده شد. بعد از این مرحله دانه جهت حفظ حرارت² به مدت 45 دقیقه داخل مخزن نگهدارنده باقی ماند. سپس دانه‌ها در طی عبور از نوار نقاله توسط دستگاه سردکن با جریان هوا، خشک و سرد شدند. جهت تهیه دانه اکستروژن شده دانه سویا با استفاده از یک آسیاب چکشی دارای الک با قطر 2 میلی‌متر آسیاب شد. به وسیله سیستم تغذیه ماریچی (فیدر) دانه‌ها به صورت یکنواخت وارد کاندیشنر شدند و دما و رطوبت دانه سویا به ترتیب به 70 درجه سانتی‌گراد و 15-20 درصد رسید. سپس دانه‌ها به دستگاه اکستروژن وارد شدند و با حرکت چرخشی ماریچ درون سیلندر به سمت جلو حرکت کردند. در این دستگاه دانه سویا تحت تأثیر حرارت و فشار در دمای 150-160 درجه سانتی‌گراد به مدت 20-30 ثانیه قرار گرفت و در نهایت از این دستگاه خارج شده و توسط دستگاه سرد کن با جریان هوا، خشک و سرد گردید.

تجزیه تقریبی دانه‌های خام، تف داده و اکستروژن شده سویا از جمله ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر به روش AOAC (5) و در محل آزمایشگاه تغذیه دام دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند تعیین شد. الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (AOAC, 2012) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی به روش ون سوست (28) و با کمک دستگاه آنکوم اندازه‌گیری شد. بخش‌های نیتروژن‌دار با توجه به مطالعه دانش مسگران و حیدریان (9) و بر اساس روش لیسترا و همکاران (16) اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت اوره‌آز دانه سویا خام و عمل‌آوری شده بر اساس روش ISO-3896 (15) تعیین شد. فعالیت اوره‌آز نیز عبارتست از مقدار نیتروژن آمونیاکی که در هر دقیقه تحت شرایط مشخص شده آزاد می‌گردد و بر حسب

(روش‌های مشتمل بر حرارت نظیر تف‌دادن، نواری کردن، جت اسپلادینگ و غیره) مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (19). متداولترین روش عمل‌آوری فیزیکی استفاده از حرارت است (19). حرارت سبب واسرشتی پروتئین‌ها و بروز واکنش قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی (میلارد) بین گروه آلدئیدی قندها و گروه آمین اسید آمینه پروتئین شده و کمپلکس آمینو- قند را تشکیل می‌دهد که در مقابل تجزیه میکروبی در شکمبه مقاوم بوده ولی اسیدهای آمینه موجود در این کمپلکس در روده باریک قابل هضم و جذب می‌باشند (26). بخشی از احتیاجات پروتئینی گاوهای شیری توسط پروتئین میکروبی تولید شده در شکمبه تأمین می‌شود. از آنجائیکه پروتئین میکروبی تولید شده نمی‌تواند نیاز پروتئینی گاوهای شیری با تولید بالا را تأمین نماید، استفاده از منابع پروتئینی حاوی مقادیر بالای پروتئین غیر قابل تجزیه ضروری است که اغلب این منابع گرانتقیمت هستند. با استفاده از فرآورده‌های مختلف حرارتی روی منابع معمول و متعارف پروتئینی از جمله سویا می‌توان میزان پروتئین غیر قابل تجزیه آن‌ها را افزایش داد. دانه سویا با پروتئین خام تقریباً 42 درصد و مقادیر قابل ملاحظه‌ای اسیدهای آمینه محدودکننده لیزلین و متیونین به عنوان یک منبع با ارزش پروتئینی در تغذیه گاوهای شیری محسوب می‌گردد. اما تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای زیاد دانه سویا سبب کاهش دسترسی به مواد مغذی موجود در آن و عملکرد تولیدی دام شده است. تف دادن و اکستروژن کردن راهبرد مناسبی در کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای دانه سویا و تأمین پروتئین عبوری مورد نیاز گاوهای شیری می‌باشد (12 و 20). در مطالعه فتحی نسری (12) تف دادن و تف دادن به همراه ذخیره‌سازی حرارتی سبب کاهش معنی‌دار میزان نیتروژن غیر پروتئینی و نیتروژن محلول در بافر دانه سویا شد. میزان نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی و نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی تحت تأثیر عمل‌آوری حرارتی کاهش یافت که یکی از دلایل آن کاهش مقدار پسته سویا گزارش شد. فرآیند حرارتی تف دادن در دمای 145 درجه سانتی‌گراد سبب کاهش میزان نیتروژن محلول در بافر فسفات - بورات دانه سویا شد و میزان نیتروژن غیر پروتئینی نیز در دانه سویا تف داده کمتر از دانه سویا خام بود. در آزمایش اکبریان و همکاران (4) میزان نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی دانه سویای خام تحت تأثیر فرآیند حرارتی تف دادن افزایش یافت. برنارد (7) گزارش کرد تف دادن کنجاله سویا سبب افزایش نیتروژن غیرمحلول در شوینده اسیدی (ADIN) شده و افزایش درجه حرارت از 102 به 185 درجه سانتی‌گراد سبب افزایش ADIN از 5/6 به 59/5 درصد شده است. در مطالعه این محققین افزایش ADIN در درجه حرارت 115 و 130 درجه سانتی‌گراد غیرمعنی‌دار ولی در 145 درجه سانتی‌گراد تا سه برابر افزایش پیدا کرده است. در بسیاری از آزمایشات افزایش ADIN را نتیجه شکل‌گیری محصولات میلارد

1- Roaster

2- Steeping

مورد مطالعه ابتدا با آسیاب دارای الک با قطر منافذ 2 میلی‌متر خرد شدند. مقدار 5 گرم نمونه (دانه سویا خام، تف داده و اکستروژن شده) داخل کیسه‌های پلی استری با ابعاد 10×15 سانتی‌متر و با قطر منافذ 45 میکرون ریخته شد (4 کیسه به ازای هر نمونه؛ 2×2 کیسه در هر گاو) و کیسه‌ها به مدت 2، 4، 8، 16، 24 و 48 ساعت در شکمبه انکوباسیون شدند. برای زمان صفر، کیسه‌ها تنها با آب سرد شسته شدند، به طوری که آب زلال از آن‌ها خارج گردید. کیسه‌های حاوی نمونه پس از خروج از شکمبه با آب شستشو داده شدند، سپس کیسه‌ها با استفاده از آون تحت خلا در دمای 60 درجه سانتی‌گراد و به مدت 48 ساعت خشک گردید. میزان ناپدیدشدن ماده خشک با توجه به اختلاف مقدار ماده خشک نمونه‌ها قبل و بعد از انکوباسیون محاسبه شد. همچنین میزان تجزیه پذیری پروتئین خام نمونه‌ها با توجه به میزان ماده خشک باقیمانده و تعیین میزان پروتئین خام قبل و بعد از انکوباسیون نمونه‌ها توسط دستگاه کجلدال، محاسبه گردید. جهت تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای و پس از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام با استفاده از روش *in situ* و دستگاه شبیه ساز هضم (*in vitro*)، مقدار 5 گرم نمونه (دانه سویا خام، تف داده و اکستروژن شده) داخل کیسه‌های پلی استری با ابعاد 10×15 سانتی‌متر و با قطر منافذ 45 میکرون ریخته شد (4 کیسه به ازای هر نمونه) و کیسه‌ها به مدت 12 ساعت در شکمبه انکوباسیون شدند. پس از خروج کیسه‌ها از شکمبه با آب سرد شسته شدند تا آب زلال از آن‌ها خارج شد. سپس کیسه‌ها به مدت 48 ساعت در آون تحت خلا در دمای 60 درجه سانتی‌گراد خشک شدند. قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک برای هر نمونه از اختلاف وزن نمونه‌ها قبل و بعد از انکوباسیون محاسبه شد. قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام نمونه‌ها نیز با توجه به میزان ماده خشک باقیمانده و تعیین میزان پروتئین خام قبل و بعد از انکوباسیون نمونه‌ها توسط دستگاه کجلدال، محاسبه گردید. از باقیمانده نمونه‌ها جهت تعیین قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام استفاده شد. قابلیت هضم روده‌ای با کمک دستگاه شبیه ساز هضم¹، تعیین شد (14).

پروتئین قابل متابولیسم (MP) نمونه‌ها با استفاده از ضرایب تجزیه پذیری پروتئین خام (a و b) و بدست آمده از روش *in situ* و میزان ADIN، بر اساس معادلات AFRC (1) محاسبه شد. جهت تعیین فراسنجه‌های مختلف تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام نمونه‌ها، از معادله پیشنهادی ارسکوف و مکدونالد (21) استفاده شد و تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS (24) و از طریق Proc NLIN انجام شد.

$$P = a + b(1 - e^{-ct})$$

رابطه 1

در این رابطه P پتانسیل تجزیه پذیری، a بخش سریع تجزیه، b

میلی گرم نیتروژن در هر گرم فرآورده بیان شد. اندازه‌گیری اوره‌آز یک روش استاندارد کنترل کیفی در دانه سویا است و مقدار اوره‌آز باتوجه به تغییرات pH در خلال آزمایش برآورده گردید. دامنه قابل قبول برای آزمون اوره‌آز $0/2 - 0/5$ میلی گرم بر گرم است. بدین منظور نمونه آسیاب شده ($0/2$ گرم) با محلول بافر اوره (10 میلی لیتر) مخلوط گردید (میزان نمونه‌هایی با فعالیت اوره‌آز خیلی بالا را به $0/05$ گرم کاهش داده شد) و سپس مخلوط به مدت 30 دقیقه در دمای 30 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس 10 میلی لیتر از محلول اسید کلریدریک به آن اضافه شد و فوراً تا دمای 20 درجه سانتی‌گراد سرد شد و تمام محتویات لوله آزمایش به طور کامل به بالن سنجش منتقل گردید. لوله آزمایش را دوبار و هر بار با 5 میلی لیتر آب شسته شده و به محتویات بالن سنجش اضافه گردید. سرانجام با محلول هیدروکسید سدیم حجم سنجی استاندارد تا pH 4/7 سنجش شد. این عمل با دستگاه پتانسیومتر صورت گرفت. حجم سود مصرفی به عنوان (V_1) یادداشت شد. همچنین جهت آزمون تهی (بدون نمونه) 10 میلی لیتر محلول بافر اوره و 10 میلی لیتر محلول اسید کلریدریک در لوله آزمایش ریخته شد و به سرعت مقدار $0/2$ گرم نمونه به آن اضافه گردید. سایر مراحل مشابه آزمون نمونه بوده و نهایتاً حجم سود مصرفی در این آزمایش به عنوان (V_0) یادداشت شد. فعالیت اوره‌آز (U) بر حسب میلی گرم نیتروژن آزاد شده در هر دقیقه از هر گرم نمونه از فرمول زیر محاسبه شد.

$$U = 14 \times C (V_0 - V_1) / 30 \times m$$

اجزای این معادله عبارتند از:

V_0 = حجم محلول هیدروکسید سدیم $0/1$ مول در لیتر بکار رفته

در آزمون تهی بر حسب میلی لیتر

V_1 = حجم محلول هیدروکسید سدیم $0/1$ مول در لیتر بکار رفته

در نمونه بر حسب میلی لیتر

C = غلظت دقیق محلول هیدروکسید سدیم بکار رفته بر حسب

مول در لیتر

m = وزن نمونه به گرم

عدد 30 = مدت زمان تاثیر اوره‌آز نمونه روی اوره برای آزاد کردن

آمونیاک بر حسب دقیقه

به منظور تعیین خصوصیات تجزیه پذیری نمونه‌ها از دو رأس گاو براون سوئیس دارای فیستولای شکمبه‌ای استفاده شد. گاوها با جیره حاوی 70 درصد علوفه و 30 درصد کنسانتره (شامل 35 درصد دانه جو، 18 درصد دانه ذرت، 10 درصد کنجاله سویا، 15 درصد کنجاله کلزا، 11/5 درصد سبوس گندم، 7 درصد ملاس، 1 درصد مکمل معدنی - ویتامینی، 2 درصد پودر صدف و $0/5$ درصد نمک (برحسب ماده خشک) بود. در سطح نگهداری و بصورت جیره کاملاً مخلوط تغذیه شدند. خوراک روزانه در دو نوبت صبح و عصر در اختیار حیوانات قرار گرفت. به منظور تعیین روند تجزیه پذیری، مواد خوراکی

بخش کند تجزیه، c ثابت نرخ تجزیه پذیری، t زمان انکوباسیون در شکمبه (ساعت) می باشد. تجزیه پذیری مؤثر (ED) ماده خشک و پروتئین خام نمونه ها با استفاده از رابطه 2 و با در نظر گرفتن نرخ عبور (k) 0/04، 0/06 و 0/08 در ساعت محاسبه شد.

$$\text{رابطه 2} \quad ED = a + \{ (cb) / (c + k) \}$$

تجزیه آماری داده های مربوط به ترکیبات شیمیایی، بخش های نیتروژن دار، میزان فعالیت اوره آز، پروتئین متابولیسمی، فراسنجه های مختلف تجزیه پذیری و قابلیت هضم شکمبه ای و پس از شکمبه ای دانه سویا خام، تف داده و اکستروود شده در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از بسته نرم افزاری SAS (24) و از طریق Proc GLM انجام شد. همچنین میانگین ها با آزمون توکی مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

پارامترهای کنترل کیفیت دانه سویا

الف) ترکیب شیمیایی دانه سویای خام و عمل آوری شده

ترکیب شیمیایی دانه سویا خام، تف داده و اکستروود شده در جدول 1 نشان داده شده است. میزان رطوبت در دانه های فرآوری شده کاهش یافت، که از لحاظ ذخیره سازی دانه سویا حائز اهمیت است. پروتئین و چربی خام دانه سویا تف داده و اکستروود شده اندکی

بیشتر از دانه سویا خام بود. اما به نظر می رسد فرآیندهای حرارتی اثری بر مقدار چربی و پروتئین خام دانه سویا نداشته است. در دانه های فرآوری شده میزان فیبر نامحلول در شوینده خنثی و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی کاهش یافت، که ممکن است به دلیل جدا شدن مقداری از پوسته در هنگام عمل آوری دانه سویا صورت گرفته باشد (12). ترکیب شیمیایی دانه سویای خام و تف داده نیز توسط انجمن ملی تحقیقات NRC (19)، مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج NRC (19) نشان داد میزان پروتئین خام دانه سویای حرارت داده بیشتر از دانه سویای خام بود (به ترتیب 43 و 39/19 درصد). میزان فیبر نامحلول در شوینده خنثی و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی بر خلاف این مطالعه در NRC (19) توسط حرارت افزایش داشت (به ترتیب از 19/5 به 22/1 و از 13/1 به 14/7). میزان چربی دانه سویا نیز در مقایسه با دانه سویا تف داده یکسان بود. کربوهیدرات غیر الیافی در دانه عمل آوری شده مطابق با نتایج این مطالعه کمتر از دانه سویا خام بود. در مطالعه نواک و همکاران (20) میزان پروتئین و چربی خام دانه سویا بر خلاف نتایج حاصله از این آزمایش توسط فرآیند اکستروود کردن کاهش یافت. اما میزان فیبر نامحلول در شوینده خنثی و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی دانه سویا اکستروود شده نسبت به دانه سویا خام کمتر بود.

جدول 1- ترکیبات شیمیایی دانه سویای خام و عمل آوری شده با حرارت (بر حسب درصد ماده خشک)¹

Table 1- Chemical composition of raw and heat-treated soybean seed (% DM)¹

اجزاء جیره Components of diet	دانه سویا Soybean grain			سطح معنی داری P-value	اشتباه معیار میانگین SEM
	خام Raw	تف داده Roasted	اکستروود شده Extruded		
ماده خشک DM	92.89 ^a	97 ^b	94.3 ^{ab}	P<0.05	0.68
پروتئین خام CP	39.5	41.67	41.69	P≥0.05	0.93
چربی خام CF	21.6	23.5	21.65	P≥0.05	0.76
خاکستر Ash	5.42	5.21	5.37	P≥0.05	0.35
فیبر نامحلول در شوینده خنثی NDF	21.5	19.3	20.6	P≥0.05	0.76
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ADF	9.4	7.8	8.2	P≥0.05	0.58
کربوهیدرات غیر الیافی ² NFC ²	11.98	10.32	10.69	P≥0.05	0.62

¹درج حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی دار (P < 0/05) است.

²کربوهیدرات غیر الیافی از طریق تفاضل درصد پروتئین خام، چربی خام، خاکستر و فیبر نامحلول در شوینده خنثی از 100 محاسبه شد.

¹Different letters in each row indicates significant difference (P<0.05).

²Non-fibrous carbohydrates was calculated by subtracting the percentage of crude protein, crude fat, ash and neutral detergent fiber of 100.

فرآیند تف دادن شد. در مطالعه گانش و گریو (13) مطابق نتایج آزمایش حاضر میزان نیتروژن غیر پروتئینی و نیتروژن محلول در بافر دانه سویا تحت تأثیر عمل آوری حرارتی کاهش یافت. بیشترین تأثیر فرآیند تف دادن بر پروتئین حقیقی محلول بود که میزان آن با افزایش درجه حرارت، کاهش یافت. میزان نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی در دمای 125 و 150 درجه سانتی‌گراد کاهش یافت، اما در دمای 165 درجه سانتی‌گراد به دلیل ایجاد فرآیند میلارد افزایش یافت. میزان نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی بر خلاف نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی در تمام دماهای اعمال شده کاهش یافت. در مطالعه فتحی (12) نیز تف دادن و تف دادن به همراه ذخیره سازی حرارتی سبب کاهش معنی‌دار میزان نیتروژن غیر پروتئینی و نیتروژن محلول در بافر دانه سویا شد. همچنین مطابق نتایج این آزمایش میزان نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی و نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی تحت تأثیر عمل آوری حرارتی کاهش یافت، که یکی از دلایل آن کاهش مقدار پوسته دانه سویا گزارش شد (12). از آنجاکه هدف اصلی از تغذیه پروتئین در گاوهای شیری تأمین مقدار کافی پروتئین قابل تجزیه در شکمبه جهت نیاز میکروارگانیزم‌ها و همچنین تأمین مقدار کافی پروتئین عبوری در جهت عملکرد مطلوب دام می‌باشد لذا با در نظر گرفتن بخش‌های نیتروژن دار می‌توان از دانه سویا در تأمین مناسب و دقیق‌تر پروتئین مورد نیاز گاوهای شیری استفاده نمود. همچنین عمل آوری حرارتی تف دادن و اکستروژن کردن می‌تواند سبب افزایش بازدهی منابع پروتئینی نظیر دانه سویا گردد.

ب) بخش‌های نیتروژن دار دانه سویای خام و عمل‌آوری شده

میزان بخش‌های نیتروژن دار دانه سویا خام، تف داده و اکستروژن شده در جدول 2 نشان داده شده است. میزان نیتروژن غیر پروتئینی و نیتروژن محلول در بافر دانه سویا تحت تأثیر عمل آوری حرارتی تف دادن و اکستروژن کردن کاهش یافت. همچنین میزان نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی دانه سویا کاهش یافت که ممکن است به دلیل جدا شدن مقداری از پوسته در هنگام عمل آوری دانه سویا صورت گرفته باشد یا تحت تأثیر عمل آوری حرارتی تف دادن و اکستروژن کردن کاهش یافته است (12). تف دادن و اکستروژن کردن نیز میزان نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی دانه سویا را تحت تأثیر قرار نداد. در بسیاری از آزمایشات حرارت باعث افزایش میزان پروتئین نامحلول در شوینده خنثی شد (8 و 25)، اما تأثیر فراوری بر میزان پروتئین نامحلول در شوینده اسیدی بسیار متفاوت است. در بعضی از مقالات افزایش میزان پروتئین نامحلول در شوینده اسیدی با حرارت (8)، عدم تغییر (25) یا حتی کاهش (11 و 18) نسبت به دانه خام و کنجاله سویا بیان شده است. میزان پروتئین حقیقی دانه سویا با توجه به کاهش نیتروژن غیر پروتئینی، توسط فرآیند تف دادن و اکستروژن کردن افزایش یافت. میزان نیتروژن غیر پروتئینی دانه سویا توسط فرآیند اکستروژن کردن اندکی بیشتر نسبت به فرآیند تف دادن کاهش یافت، اما تفاوت معنی داری وجود نداشت. فرآیند اکستروژن کردن سبب کاهش معنی‌داری در نیتروژن محلول در بافر دانه سویا در مقایسه با

جدول 2- بخش‌های نیتروژن دار دانه سویای خام و عمل آوری شده با حرارت (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)

Table 2- Nitrogen fractions of raw and heat-treated soybean seed (g/kg DM)

بخش‌های نیتروژن دار Nitrogen fractions	دانه سویا Soy bean			سطح معنی داری P-value	اشتباه معیار میانگین SEM
	خام	تف داده	اکستروژن شده		
	Raw	Roasted	Extruded		
CP	395	416.7	416.9	$P \geq 0.05$	0.93
NPN	164 ^a	120 ^b	117 ^b	$P < 0.05$	5.28
TP	231 ^b	296.7 ^a	299.9 ^a	$P < 0.05$	2.04
BSP	340 ^a	218 ^b	201 ^c	$P < 0.05$	3.05
NDIN	166	162	165	$P < 0.05$	2.18
ADIN	139.5 ^a	109 ^b	113 ^b	$P < 0.05$	5.23

¹درج حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) است.

CP= پروتئین خام، NPN= نیتروژن غیر پروتئینی، TP= پروتئین حقیقی، BSP= نیتروژن محلول در بافر، NDIN= نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی
ADIN= نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی

¹Different letters in each row indicates significant difference ($P < 0.05$).

پی برد. دامنه قابل قبول برای آزمون اوره از 0/5–0/2 میلی گرم بر گرم است و مقادیر بالاتر از 0/5 به معنای وجود مقدار بیشتر اوره و در نتیجه بازدارنده تریپسین است.

ج) میزان فعالیت اوره‌آز دانه سویای خام و عمل‌آوری شده

میزان فعالیت اوره‌آز دانه سویا خام، تف داده و اکستروژن شده در جدول 3 نشان داده شده است. با تعیین میزان فعالیت اوره‌آز می‌توان به تأثیر فرایندهای حرارتی بر بازدارنده تریپسین موجود در دانه سویا

جدول 3- میزان فعالیت اوره‌آز دانه سویای خام و عمل‌آوری شده با حرارت (میلی گرم بر گرم ماده خشک)**Table 3- Amount of urease activity raw and heat-treated soybean seed (mg /g DM)**

ماده ضد مغذی Anti-nutrient	دانه سویا Soy bean			سطح معنی داری P-value	اشتباه معیار میانگین SEM
	خام	تف داده	اکستروده شده		
	Raw	Roasted	Extruded		
فعالیت اوره‌آز Urease activity	6.76 ^a	0.19 ^b	0.14 ^b	P<0.05	0.33

¹دُرَج حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار (P < 0/05) است.

¹Different letters in each row indicates significant difference (P<0.05).

تریپسین از 50/80 به 4/70 و فعالیت اوره‌آز نیز از 1/99 به 0/03 شد. همچنین تف دادن دانه سویا در دمای 120 درجه سانتی‌گراد سبب کاهش میزان بازدارنده تریپسین از 56/30 به 6/30 و فعالیت اوره‌آز نیز از 2/01 به 0/03 شد. اکستروده کردن دانه سویا در دمای 145 - 135 درجه سانتی‌گراد سبب کاهش فعالیت اوره‌آز دانه سویا و بهترین عملکرد حیوانات مورد آزمایش شد (10). در آزمایش صورت گرفته توسط پوروشوتهام و همکاران (22) نشان دادند، بازدارنده‌های تریپسین و اوره‌آز در سویای اکستروده شده در دمای 140 درجه سانتی‌گراد به ترتیب از 50 و 2، به کمتر از 2 و 0/046 کاهش یافت. نتایج این مطالعه نیز نشان داد که اکستروده کردن دانه سویا در بین دمای 140 - 120 درجه سانتی‌گراد سبب غیر فعال شدن بازدارنده تریپسین و فعالیت اوره‌آز می‌شود.

میزان فعالیت اوره‌آز دانه سویا تحت تأثیر عمل‌آوری حرارتی تف دادن و اکستروده کردن به طور چشمگیری کاهش یافت. ولی تفاوت معنی‌داری بین فعالیت اوره‌آز دانه سویا تف داده و اکستروده شده مشاهده نشد. نتایج حاضر نشان می‌دهد مواد ضد مغذی اوره‌آز و بازدارنده تریپسین دانه سویا توسط فرآیند تف دادن و اکستروده کردن غیر فعال شدند که می‌تواند سبب افزایش قابلیت هضم پروتئین روده‌ای و دسترسی اسیدهای آمینه در روده گردد (2). آلدیچ و همکاران (2) گزارش کردند که تخمیر شکمبه‌ای نمی‌تواند سبب حذف اثرات منفی فعالیت بازدارنده تریپسین بر قابلیت هضم اسیدهای آمینه دانه کامل سویا در روده باریک شود بلکه فرآیندهای حرارتی در این زمینه مؤثرند. در مطالعه رویز و همکاران (23) اکستروده کردن دانه سویا در دمای 140 درجه سانتی‌گراد سبب کاهش میزان بازدارنده

جدول 4- فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک دانه سویا خام و عمل‌آوری شده با حرارت (درصد)**Table 4- Degradability parameters of dry matter raw and heat-treated soybean seed (%)**

ماده خوراکی Nutrient	فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری Degradability parameters			تجزیه‌پذیری مؤثر (درصد) در سرعت عبور Effective degradability (%/KP)		
	a	b	c	0.04	0.06	0.08
دانه سویا خام Raw soybean seed	35.05 ^a	63.25 ^c	6.09 ^a	73.03 ^a	66.73 ^a	62.23 ^a
تف داده Roasted	26.01 ^b	74.73 ^b	4.21 ^b	64.33 ^b	56.83 ^b	51.79 ^b
اکستروده شده Extruded	14.93 ^c	85.82 ^a	4.74 ^b	61.48 ^c	52.81 ^c	46.87 ^c
سطح معنی داری P-value	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05
اشتباه معیار SEM	0.63	1.12	0.28	0.62	0.68	0.71

¹دُرَج حروف غیر مشابه در هر ردیف برای هر فراسنجه اندازه‌گیری شده بیانگر تفاوت معنی‌دار (P < 0/05) است.

¹Different letters in each row indicates significant difference (P<0.05).

خام، تف داده و اکستروده شده در جدول 4 نشان داده شده است. تفاوت معنی‌دار (P < 0/05) بین میانگین فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک دانه سویا تحت تأثیر فرآیند تف دادن و اکستروده کردن مشاهده شد. بخش سریع تجزیه

فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک دانه سویای خام و عمل‌آوری شده

بخش‌های مختلف تجزیه‌پذیری ماده خشک دانه‌های سویای

بخش سریع تجزیه ماده خشک شد. همچنین تجزیه پذیری مؤثر و ثابت نرخ تجزیه ماده خشک دانه سویا توسط فرآیند اکستروژن کردن کاهش یافت.

فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری پروتئین خام دانه سویای خام و عمل‌آوری شده

بخش‌های مختلف تجزیه‌پذیری پروتئین خام دانه سویای خام، تف داده و اکستروژن شده در جدول 5 نشان داده شده است. در مورد بخش‌های مختلف تجزیه‌پذیری پروتئین خام دانه‌های سویای خام، تف داده و اکستروژن شده نیز یک روند مشابه با تجزیه‌پذیری ماده خشک این دانه‌ها مشاهده شد. تف دادن و اکستروژن کردن سبب کاهش 38/4 و 68/4 درصدی بخش سریع تجزیه و افزایش 17/3 و 26/1 درصدی در بخش کند تجزیه و ثابت نرخ تجزیه پروتئین خام دانه سویا از 7/61 به 3/79 و 4/01 کاهش یافت. فرآیند تف دادن و اکستروژن به ترتیب سبب 29/4 و 36/4 درصد کاهش در تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام دانه سویا در سرعت عبور 8 درصد در ساعت شدند. اکبریان و همکاران (4) مشاهده کردند عمل‌آوری حرارتی تف دادن در دمای 145 درجه سانتی‌گراد بخش سریع تجزیه پروتئین خام دانه سویا را کاهش می‌دهد. تف دادن نیز سبب کاهش تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام دانه سویا شد. ثابت نرخ تجزیه ماده پروتئین خام دانه سویا در شکمبه نیز 27/3 درصد کاهش پیدا کرد. بخش کند تجزیه دانه عمل‌آوری شده در مقایسه با دانه سویای خام افزایش یافت.

ماده خشک دانه سویای خام توسط فرآیند تف دادن و اکستروژن کردن کاهش یافت (به ترتیب 27/6 و 57/4 درصد). تف دادن و اکستروژن کردن نیز سبب افزایش بخش کند تجزیه دانه‌های سویای خام از 63/25 به 74/73 و از 63/25 به 85/82 درصد شد. همچنین ثابت نرخ تجزیه ماده خشک دانه‌های سویا در شکمبه نیز از 6/09 به 4/21 و از 6/09 به 4/74 درصد تحت تأثیر فرآیند تف دادن و اکستروژن کردن کاهش یافت. فرآیند تف دادن و اکستروژن کردن به ترتیب سبب 19/9 و 24/6 درصد کاهش در تجزیه پذیری مؤثر ماده خشک دانه سویا در سرعت عبور 8 درصد در ساعت شدند.

نتایج حاضر در این آزمایش مطابق با مطالعه اکبریان و همکاران (4) بود. به طوری که تف دادن در دمای 145 درجه سانتی‌گراد سبب کاهش تجزیه پذیری مؤثر ماده خشک و بخش سریع تجزیه دانه سویا شد. ثابت نرخ تجزیه ماده خشک دانه سویا در شکمبه نیز از 8/15 به 4/96 درصد کاهش پیدا کرد. همچنین بخش کند تجزیه دانه عمل‌آوری شده در مقایسه با دانه سویای خام افزایش داشت. بر خلاف این آزمایش در مطالعه فتحی (12) تف دادن در دمای 130 درجه سانتی‌گراد به صورت ذخیره‌سازی و بدون ذخیره‌سازی حرارتی بخش سریع تجزیه ماده خشک دانه سویای خام را تحت تأثیر قرار نداد. همچنین بخش کند تجزیه‌ی ماده خشک سویای خام و تف داده نیز تفاوت چندانی با یکدیگر نداشتند. اما فرآیند تف دادن سبب کاهش معنی‌دار تجزیه پذیری مؤثر و ثابت نرخ تجزیه ماده خشک دانه سویای خام شد. روند تجزیه پذیری دانه سویا در مطالعه نواک و همکاران (20) نیز مشابه نتایج حاضر در این آزمایش بود. اکستروژن کردن در دمای 145، 155 و 165 درجه سانتی‌گراد سبب کاهش

جدول 5- فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری پروتئین خام دانه سویای خام و عمل‌آوری شده با حرارت (درصد)
Table 5- Crude protein degradability parameters of raw and heat-treated soybean seed (%)

ماده خوراکی Nutrient	فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری Degradability parameters			تجزیه‌پذیری مؤثر (درصد) در سرعت عبور Effective degradability (%KP)		
	a	b	c	0.04	0.06	0.08
دانه سویای خام Raw soybean seed	29.6 ^a	66.85 ^c	7.61 ^a	73.39 ^a	66.95 ^a	62.17 ^a
تف داده Roasted	18.21 ^b	80.89 ^b	3.79 ^b	57.08 ^b	49.12 ^b	43.87 ^b
اکستروژن شده Extruded	9.34 ^c	90.49 ^a	4.01 ^b	54.58 ^c	45.54 ^c	39.51 ^c
سطح معنی‌داری P-value	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05
اشتباه معیار SEM	0.52	2.31	0.26	0.57	0.59	0.6

¹درج حروف غیر مشابه در هر ستون برای هر فراسنجه اندازه‌گیری شده بیانگر تفاوت معنی‌دار (P < 0/05) است.

¹Different letters in each row indicates significant difference (P<0.05).

تجزیه‌پذیری ماده خشک، تف دادن به صورت ذخیره‌سازی و بدون

بر خلاف این آزمایش در مطالعه فتحی (12) مشابه روند

قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویای خام و عمل‌آوری شده

میزان قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویای خام و عمل‌آوری شده در جدول 6 نشان داده شده است. فرآیند تف دادن سبب کاهش 21/9 و 29/8 درصد در میزان ناپدید شدن شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا شد. همچنین میزان ناپدید شدن شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا تحت تأثیر فرآیند اکستروژن کردن 24/9 و 35/9 درصد کاهش یافت. میزان ناپدید شدن شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه اکستروژن شده نسبت به دانه تف داده کاهش اندکی را نشان داد. نواک و همکاران (20) مشاهده کردند فرآیند حرارتی اکستروژن کردن در دمای 145، 155 و 165 درجه سانتی‌گراد باعث کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای می‌گردد. بالاترین دما (165 درجه) ممکن است سبب دناتوره شدن پروتئین یا تشکیل کمپلکس پروتئین-کربوهیدرات گردد و بطور مؤثری تجزیه مواد را در شکمبه کاهش دهد. استرن (27) نشان داد که فرآوری حرارتی سویا به روش اکستروژن کردن در دمای 149 درجه سانتی‌گراد تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه را در مقایسه با سویای خام، کاهش می‌دهد. در حالی که اکستروژن کردن در دمای پایین‌تر (132 درجه) جهت کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین مفید نبود. در مطالعه فتحی (12) مطابق نتایج حاضر میزان ناپدید شدن شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا تحت تأثیر عمل‌آوری تف دادن و تف دادن به همراه ذخیره‌سازی حرارتی کاهش یافت. همچنین کاهش ناپدید شدن شکمبه‌ای پروتئین خام روند مشابهی با کاهش ناپدید شدن شکمبه‌ای کل اسیدهای آمینه دانه سویا تحت تأثیر فرآیندهای حرارتی داشت.

قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویای خام و عمل‌آوری شده

میزان قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویای خام، تف داده و اکستروژن شده (بر حسب درصد ماده خشک) در جدول 6 نشان داده شده است. تحت تأثیر عمل‌آوری حرارتی تف دادن و اکستروژن کردن میزان قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا تحت تأثیر فرآیند تف دادن 56/6 و 57/5 درصد و تحت تأثیر فرآیند اکستروژن کردن 71/5 و 73/1 درصد افزایش یافت. فرآیند اکستروژن کردن در مقایسه با فرآیند تف دادن سبب افزایش بیشتری در میزان قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا شد.

ذخیره‌سازی حرارتی بخش سریع تجزیه و بخش کند تجزیه پروتئین خام دانه سویا را تحت تأثیر قرار نداد. اما فرآیند تف دادن سبب کاهش معنی‌دار تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام و ثابت نرخ تجزیه دانه سویای خام شد. در مطالعه نواک و همکاران (20) روند تجزیه‌پذیری پروتئین خام دانه سویا نیز مشابه نتایج حاضر در این آزمایش بود. اکستروژن کردن در تمام دماهای اعمال شده سبب کاهش بخش سریع تجزیه و ثابت نرخ تجزیه پروتئین خام شد. همچنین تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام دانه سویا توسط فرآیند اکستروژن کردن کاهش یافت.

فرآیند اکستروژن کردن سبب کاهش بیشتری در بخش سریع تجزیه ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا نسبت به تف دادن شد ($P < 0/05$). همچنین بخش کند تجزیه ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا توسط فرآیند اکستروژن کردن در مقایسه با فرآیند تف دادن، بیشتر تحت تأثیر قرار گرفت ($P < 0/05$). تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا نیز تحت تأثیر فرآیند اکستروژن کردن نسبت به تف دادن کاهش بیشتری نشان داد ($P < 0/05$). اما فرآیند تف دادن سبب کاهش بیشتری نسبت به اکستروژن کردن در مورد ثابت نرخ تجزیه ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا شد، اما تفاوت معنی‌داری بین دو فرآیند در این مورد وجود نداشت. با توجه به نتایج بدست آمده از این آزمایش، فرآیند اکستروژن کردن تأثیر مؤثرتری بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری دانه سویای خام نسبت به فرآیند تف دادن داشته است. نتایج نشان داد تف دادن و اکستروژن کردن سبب کاهش معنی‌دار بخش سریع تجزیه (که عمدتاً از نیتروژن غیر پروتئینی تشکیل شده است) و افزایش بخش کند تجزیه دانه سویا شده است. حرارت دادن سبب ایجاد پل‌های عرضی در داخل زنجیره‌های پلی پپتیدی و بین زنجیره‌ها با کربوهیدرات‌ها شده و به این ترتیب تجزیه پذیری پروتئین را کاهش می‌دهد (17). که می‌تواند بیانگر کاهش در بخش سریع تجزیه و افزایش در بخش کند تجزیه دانه سویا عمل‌آوری شده باشد. بعلاوه با توجه به کاهش ثابت نرخ تجزیه می‌توان نتیجه گرفت عمل‌آوری حرارتی سبب افزایش نسبت اجزاء با ثابت نرخ تجزیه پذیری کندتر شده است. همچنین در دانه‌های عمل‌آوری شده تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و پروتئین خام با توجه به کاهش ثابت نرخ تجزیه و رابطه مستقیم با ثابت نرخ تجزیه‌پذیری، کاهش یافت. نتایج نشان داد فرآیندهای حرارتی تف دادن و اکستروژن کردن راهبرد مناسبی در کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای دانه سویا و تأمین پروتئین عبوری مورد نیاز گاوهای شیری می‌باشد. تف دادن و اکستروژن کردن نیز می‌تواند با حفاظت پروتئین دانه سویا از دسترسی میکروب‌ها در شکمبه، روش مؤثری در افزایش بازده استفاده از پروتئین با ارزش دانه سویا باشد.

جدول 6- قابلیت هضم شکمبه‌ای، پس از شکمبه‌ای و کل دستگاه گوارشی ماده خشک و پروتئین خام دانه سویای خام و عمل‌آوری شده با حرارت (درصد ماده خشک)
Table 6- Ruminal Digestibility, Post-Ruminal digestibility and total tract dry matter and crude protein of raw and heat-treated soybean seed (% DM).

Soybean seed (% DM).					
ماده مغذی Nutrient	دانه سویا Soybean seed			سطح معنی‌داری P-value	اشتباه معیار میانگین SEM
	خام Raw	تف داده Roasted	اکستروژن شده Extruded		
قابلیت هضم شکمبه‌ای Ruminal digestibility					
ماده خشک DM	64.18 ^a	50.11 ^b	48.21 ^b	P<0.05	1.07
پروتئین خام CP	66.12 ^a	46.37 ^b	42.35 ^b	P<0.05	0.98
قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای Post-Ruminal digestibility					
ماده خشک DM	35.1 ^c	54.97 ^b	60.23 ^a	P<0.05	0.97
پروتئین خام CP	42.06 ^c	66.27 ^b	72.83 ^a	P<0.05	0.99
قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش Total tract					
ماده خشک DM	76.85 ^b	77.35 ^b	79.4 ^a	P<0.05	0.61
پروتئین خام CP	80.36 ^b	81.91 ^b	84.33 ^a	P<0.05	0.82

¹درج حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار (P<0/05) است.

¹Different letters in each row indicates significant difference (P<0.05).

تریپسین دانه سویا شد و یکی از دلایل افزایش قابلیت هضم روده‌ای اسیدهای آمینه بود. نتایج مطالعه اکبریان (3) نشان داد که بین ناپدید شدن بعد شکمبه‌ای ماده خشک دانه سویای عمل‌آوری نشده و تف داده شده تفاوت معنی‌داری (P<0/05) وجود دارد. ناپدید شدن بعد شکمبه‌ای ماده خشک دانه سویای عمل‌آوری نشده 73/07 درصد و برای تف داده شده 81/99 درصد بود. همچنین میزان ناپدید شدن بعد شکمبه‌ای پروتئین خام دانه سویای عمل‌آوری نشده 86/28 درصد و برای تف داده شده 88/49 درصد بود.

قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش

عمل‌آوری حرارتی تف دادن و اکستروژن کردن سبب افزایش قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا در کل دستگاه گوارش شد (جدول 6). میزان قابلیت هضم دانه سویا در کل دستگاه گوارش تحت تأثیر فرآیند تف دادن بطور اندکی افزایش یافت، اما اکستروژن کردن بطور معنی‌داری سبب افزایش قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش شد. نتایج نشان می‌دهد تف دادن و اکستروژن کردن با کاهش در میزان ناپدید شدن شکمبه‌ای و افزایش قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای مواد مغذی دانه سویا سبب بهبود روند تجزیه‌پذیری دانه

نتایج این آزمایش نشان می‌دهد افزایش در قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا ممکن است بدلیل کاهش در میزان فعالیت اوره‌آز و بازدارنده تریپسین دانه سویا توسط عمل‌آوری حرارتی تف دادن و اکستروژن کردن باشد. در مطالعه فتحی (12) نیز نتایج نشان داد فرآیندهای تف دادن و تف دادن به همراه ذخیره‌سازی حرارتی سبب افزایش در میزان قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا شد. فرآیند اکستروژن کردن دانه سویا در دمای 195 درجه سانتی‌گراد نیز سبب کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه از 90 به 58 درصد و افزایش قابلیت دسترسی پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه از 78 به 91 درصد می‌گردد (6). آلدريج و همکاران (2) گزارش کردند عمل‌آوری حرارتی تف دادن و اکستروژن کردن سبب بهبود در میزان قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای پروتئین خام و اسیدهای آمینه دانه سویا شد. همچنین فعالیت بازدارنده تریپسین را قبل و بعد از انکوباسیون شکمبه‌ای مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد تخمیر شکمبه‌ای نمی‌تواند سبب حذف اثرات منفی فعالیت بازدارنده تریپسین بر قابلیت هضم اسیدهای آمینه دانه سویا در روده باریک شود. فرآیندهای تف دادن و اکستروژن کردن سبب کاهش در میزان فعالیت بازدارنده

پس شکمبه‌ای جبران شده است.

پروتئین قابل متابولیسم

پارامترهای پروتئین دانه سویا خام، تف داده و اکستروده شده در سیستم پروتئین متابولیسمی در جدول 7 نشان داده شده است. سیستم پروتئین قابل متابولیسم تغییرات کمی و کیفی پروتئین در دستگاه گوارش را مورد توجه قرار داده و نهایتاً مقدار اسیدهای آمینه قابل جذب از روده باریک را تخمین زده (3) و با استفاده از داده‌های تجزیه پذیری به روش کیسه‌های نایلونی مقدار پروتئین جیره قابل تجزیه در شکمبه را تخمین و محاسبه می‌کند. نتایج نشان داد پروتئین قابل تجزیه سریع دانه سویا تحت تأثیر فرآیندهای حرارتی تف دادن و اکسترو کردن به ترتیب 35 و 66/7 درصد کاهش یافت و با توجه به کاهش در میزان بخش سریع تجزیه دانه سویا تحت تأثیر قرار گرفت. فرآیند تف دادن پروتئین قابل تجزیه آهسته دانه سویا را تحت تأثیر قرار نداد، اما اکسترو کردن سبب افزایش معنی‌دار این بخش شد. عمل‌آوری تف دادن و اکسترو کردن پروتئین قابل تجزیه مؤثر در شکمبه دانه سویا را کاهش داد، اما میزان این بخش در دانه سویا تف داده و اکسترو شده یکسان بود. میزان پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه و پروتئین غیر قابل تجزیه قابل هضم دانه سویا تحت تأثیر تف دادن و اکسترو کردن افزایش یافت، اما بین دانه سویا تف داده و اکسترو شده تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

سویا شد، به طوری که مکان هضم مواد مغذی را از شکمبه به روده باریک انتقال داده و سبب افزایش میزان مواد مغذی قابل هضم در روده شد. افزایش قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش نشان می‌دهد کاهش هضم شکمبه‌ای دانه سویا تحت تأثیر فرآیندهای تف دادن و اکسترو کردن توسط افزایش قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای جبران شده است.

در مطالعه فتی (12) نتایج نشان داد قابلیت هضم دانه سویا در کل دستگاه گوارش تحت تأثیر فرآیند تف دادن قرار نگرفت و یکسان بود. اما فرآیند تف دادن به همراه ذخیره‌سازی حرارتی سبب افزایش معنی‌داری در میزان قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش شد. آن‌ها لزوم انجام این مرحله از فرآیند حرارتی پس از تف دادن را توصیه کردند. در مطالعه اکبری (3) مطابق نتایج حاضر بین ناپدید شدن ماده خشک و پروتئین خام در کل دستگاه گوارش برای دانه سویای عمل‌آوری نشده و تف داده شده تفاوت معنی‌دار ($P < 0/05$) وجود نداشت. ناپدید شدن ماده خشک دانه سویای عمل‌آوری نشده در کل دستگاه گوارش 96/59 درصد و برای دانه سویای تف داده شده 95/76 درصد بود. همچنین ناپدید شدن پروتئین خام دانه سویای عمل‌آوری نشده، تف داده شده در کل دستگاه گوارش به ترتیب 99/17 و 99/29 درصد بدست آمد. در این مطالعه نیز نتایج نشان داد که عمل‌آوری دانه سویا مکان هضم ماده خشک را از شکمبه به روده منتقل کرده و کاهش ناپدید شدن در شکمبه با افزایش ناپدید شدن

جدول 7- پارامترهای پروتئین دانه سویای خام و عمل‌آوری شده با حرارت در سیستم پروتئین قابل متابولیسم (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)
Table 7- The protein parameters of raw and heat-treated soybean seed in metabolizable protein system (g/kgDM)

پارامترهای پروتئین Parameters of Protein	دانه سویا Soybean seed			سطح معنی‌داری P-value	اشتباه معیار میانگین SEM
	خام Raw	تف داده Roasted	اکسترو شده Extruded		
QDP	116.90 ^a	75.9 ^b	38.9 ^c	$P < 0.05$	2.15
SDP	209.1 ^b	218.42 ^b	251.7 ^a	$P < 0.05$	2.94
ERDP	302.6 ^a	281.3 ^b	282.8 ^b	$P < 0.05$	2.96
UDP	68.9 ^b	120.1 ^a	126.2 ^a	$P < 0.05$	3.12
DUP	61.2 ^b	107.4 ^a	112.9 ^a	$P < 0.05$	2.8
MP	254.1 ^c	286.8 ^b	293.2 ^a	$P < 0.05$	0.96

1. درج حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار ($P < 0/05$) است.

QDP= پروتئین قابل تجزیه سریع، SDP= پروتئین قابل تجزیه آهسته، ERDP= پروتئین قابل تجزیه مؤثر در شکمبه، UDP= پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه

DUP= پروتئین غیر قابل تجزیه قابل هضم، MP= پروتئین قابل متابولیسم

¹Different letters in each row indicates significant difference ($P < 0.05$).

QDP: Quickly Degradable Protein, SDP: Slowly Degradable Protein, ERDP: Effective Rumen Degradable Protein, UDP: Undegradable Dietary Protein, DUP: Digestible Undegradable Protein, MP: Metabolize Protein.

دانه سویا اکسترو شده، کمترین میزان پروتئین قابل تجزیه سریع و بیشترین میزان پروتئین قابل تجزیه آهسته و پروتئین متابولیسمی را دارا بود. نتایج نشان می‌دهد میزان پروتئین قابل متابولیسم دانه سویا تحت تأثیر میزان تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه می‌باشد، که با توجه به بهبود در روند تجزیه پذیری و افزایش در قابلیت هضم بعد از

نسبت DUP به UDP از صفر تا 0/9 با توجه به نوع خوراک و پیش‌فرآوری آن متغیر است (1). نسبت DUP به UDP دانه سویای خام، تف داده و اکسترو شده به ترتیب 88/8، 89/42 و 89/45 بود. با توجه به معادلات بدست آمده میزان پروتئین قابل متابولیسم دانه سویا تف داده و اکسترو شده به ترتیب 12/8 و 13/3 درصد افزایش یافت.

یافته و سبب افزایش میزان ماده خشک و پروتئین خام قابل هضم در روده شده است. نتایج این آزمایش نشان داد فرآیندهای حرارتی تف دادن و اکستروود کردن راهبرد مناسبی در کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای دانه سویا و تأمین پروتئین عبوری مورد نیاز گاوهای شیری می‌باشد. ضمن اینکه دمای مورد استفاده جهت عمل‌آوری حرارتی مهم بوده و نتایج نشان داده است حرارت بیش از حد مطلوب (بالای 165 درجه طبق اکثر آزمایشات) ممکن است پروتئین سویا را در برابر فعالیت میکروبی در شکمبه محافظت کند، ولی پروتئین غیرقابل هضم در روده ایجاد گردد (20). در این مطالعه دمای مورد استفاده جهت اکستروود کردن در محدوده 150-160 درجه سانتی‌گراد بود و باعث عدم انحلال بیشتر در پروتئین دانه سویا نگردید.

شکمبه‌ای دانه سویا توسط فرآیندهای حرارتی تف دادن و اکستروود کردن، پروتئین متابولیسمی افزایش یافته است.

نتیجه‌گیری کلی

فرآیند تف دادن و اکستروود کردن سبب بهبود روند تجزیه‌پذیری دانه سویا شد، به طوری که بخش سریع تجزیه و ثابت نرخ تجزیه ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا به طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین فرآیندهای حرارتی سبب افزایش بخش کند تجزیه و کاهش در تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا شد. کاهش میزان ناپدید شدن شکمبه‌ای دانه سویا توسط عمل‌آوری حرارتی، با افزایش در قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای جبران گردید که نشان می‌دهد مکان هضم پروتئین از شکمبه به روده باریک انتقال

منابع

- 1- Agricultural Food Research Council. 1993. Energy and Protein requirements of ruminants. CAB International, Walling Road, UK.
- 2- Aldrich, C. G., N. R. Merchen., C. M. Parsons., H. S. Hussein., S. Ingram, and J. R. Clodfelter. 1997. Assessment of postruminal amino acid digestibility of roasted and extruded whole soybeans with the precision-fed rooster assay. Journal of Animal Science, 75: 3046-3051.
- 3- Akbariyan, A. 2009. Functional and physiological responses of lactating Holstein cows to processed soybeans with Physical methods. Master Thesis. Isfahan University of Technology. (In Persian).
- 4- Akbariyan, A., M. Khorvash., G. h. Ghorbani., M. Dehghan., P. Shourang., A. Ghasemi, and M. Jafari. 2010. Degradability of soybean seeds processed with physical methods with nylon bag and polyacrylamide gel electrophoresis. 4th Animal Science Congress, College of Agriculture and Natural Resources, Karaj. (In Persian).
- 5- AOAC International, 2012. Official Method of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- 6- Benchaar, C, and R. Moncoulon. 1993. Effet de l'extrusion à 195°C sur la disparition des acides aminés du lupin dans le rumen et l'intestin in situ chez la vache. Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences, 42:128-129.
- 7- Bernard J K, 1990. Effect of raw or roasted whole soybeans on digestibility of dietary nutrients and milk production of lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 73:3231.
- 8- Borucki Castro, S. I., L. E. Phillip., H. Lapierre., P.W. Jardon, and R. Berthiaume. 2007. Ruminal degradability and intestinal digestibility of protein and amino acids in treated soybean meal products. Journal of Dairy Science, 90: 810-822.
- 9- Danesh Mesgaran, M, and N. Heydariyan. 2000. Determination Nitrogen fractions of Food ingredients used in ruminants in Khorasan province. Journal of Agricultural Science and Technology, 14: 79-89. (In Persian).
- 10- Dragan, V. P, and E. S. Coetzee. 2009. Protocol for using protein solubility as an indicator of full-fat soybean heat treatment. Biblid, 40: 71-77.
- 11- Faldet, M. A., V.L. Voss., G. A. Broderick, and L.D. Satter. 1991. Chemical, in vitro. and in situ evaluation of heat-treated soybean proteins. Journal of Dairy Science, 74:2548-2554.
- 12- Fathi Nasri, M. H. 2005. Impact of the use of raw and heated soybeans on digestive factors, milk production and composition Holstein cows. PhD thesis. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian).
- 13- Ganesh, D, and D. G. Grieve. 1990. Effect of roasting raw soybeans at three temperatures on in situ dry matter and nitrogen disappearance in dairy cows. Journal of Dairy Science, 73: 3222-3230.
- 14- Gargallo, S., S. Calsamiglia, and A. Ferret. 2006. Technical note: A modified three-step *in vitro* procedure to determine intestinal digestion of proteins. Journal of Animal Science, 84:2163-2167.
- 15- International Standard-5506-1988. Soya bean products - determination of urease activity
- 16- Licitra, G., T. Hernandez, and P. J. Van Soest. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. Journal of Animal Feed Science and Technology, 57:347-358.
- 17- Mielke, C. D, and D. J. Schingoethe. 1981. Heat-treated soybeans for lactating cows. Journal of Dairy Science, 64:1579-1585.
- 18- Moshtaghi Nia, S. A, and Ingalls, J. R. 1992. Effect of heating on canola meal protein degradation in the rumen and digestion in the lower gastrointestinal tract of steers. Can. Journal of Animal Science, 72:83-88.

- 19- National Research Council, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle 7th ed. National Academy of Sciences, Washington, DC. USA.
- 20- Nowak, W., S. Michalak, and S. Wylegala. 2005. In situ evaluation of ruminal degradability and intestinal digestibility of extruded soybeans. Czech. Journal of Animal Science, 50: 281–287.
- 21- Orskov, E. R, and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agricultural Science, 92:499-503.
- 22- Purushotham, B., P. M. Radhakrishna, and B.S. Sherigara. 2007. Effects of steam conditioning and extrusion temperature on some anti-nutritional factors of soybean for pet food (glycine max) applications. American Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2 (1): 1-5.
- 23- Ruiz, N., F. Belalcazar, and G.J. Diaz. 2004. Quality control parameters for commercial full-fat soybeans processed by two different methods and fed to broilers. Journal of Applied Poultry Research, 13: 443-450.
- 24- SAS Institute Inc. 1996. Statistical Analysis System (SAS) User's Guide, SAS Institute, Cary, NC, USA.
- 25- Samadi, and P. Yu. 2011. Dry and moist heating-induced changes in protein molecular structure, protein subfraction, and nutrient profiles in soybeans. Journal of Dairy Science, 94:6092-6102.
- 26- Satter, L. D., T. R. Dihiman, and J. T. Hsu. 1994. Use of heat processed soybeans in dairy cattle. In Proc. 1994 Cornell Nutrition Conf. for Feed Manufacture. pp 19. Rochester, NY.
- 27- Stern, M. D., K. A. Santos, and L. D. Satter. 1985. Protein degradation in rumen and amino acid absorption in small intestine of lactating dairy cattle fed heat-treated whole soybeans. Journal of Dairy Science, 68: 45–56.
- 28- Van Soest P. J., J. B. Robertsons, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583-3597.



Effects of roasting and extruding heat processes on chemical composition, degradability fractions and intestinal digestibility of dry matter and crude protein of whole soybeans

H. Khorasani¹, M. Bashtani^{*2}, A. Forughi³, H. FarhangFar⁴ and F. Ganji⁵

Received: 13-03-2017

Accepted: 20-10-2018

Introduction: This research was undertaken to evaluate the effects of roasting and extruding heat processes on chemical composition, nitrogenous fractions, urease activity, metabolic protein, properties of degradability, and the ruminal- intestinal digestibility of dry matter and crude protein of raw and processed soybeans.

Materials and method: This study was carried out at the Research Farm, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran. During the extrusion process, soybeans were affected for 20-30 seconds at 150-160°C in the extruder by heat and pressure and finally were dried and cooled. In the process of roasting, the soybean for 15 minutes at temperature of 145°C was heated and for 45 minutes holding tank for heat storage remained. Seeds were dried and cooled by air flow, dry and cold. Approximate analysis of samples including dry matter, crude protein, crude fat and ash was determined by AOAC. The urease activity of raw and processed soybean was determined based on ISO-3896. Degradability parameters of the samples were measured after incubation for 0, 2, 4, 8, 16, 24 and 48 hours in the rumen of two fistulated Brown Swiss cows. Also, ruminal and post ruminal digestibility were determined with the incubation of samples for 12 hours in the rumen by Daisy system. The DM and CP degradation data were fitted by exponential equation: $P=a+b(1-e^{-ct})$. Effective degradability (ED) were calculated using of equation $ED = a + \{(cb)/(c + k)\}$ and taking into consideration passing rate (k) 0.04, 0.06 and 0.08 per hour.

Results and Discussion: The findings of the present research revealed that roasting and extruding heat processes lead to increase of dry matter through decreasing water content and that it had no significant effect on other chemical composition. The findings showed that the process of roasting and extruding caused the amount of actual protein of the soybean to increase and was not effective on the amount of insoluble nitrogen in neutral detergent of the soybean. The non-protein nitrogen and nitrogen dissolved in the buffer soybean under the influence of roasting and extruding decreased. The amount of acid detergent insoluble nitrogen soybean decreased which might be due to the removal of some of the shells in the processing soybean has taken place or influence of roasting and extruding decreased. The urease inhibitor of the soybean became inactive by the process of roasting and extruding.

1- MS.c Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran.

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

3- Associate Prof, Department of Animal Science, Agricultural Education Center of Khorasan Razavi, Iran.

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

5- PhD Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran.

Corresponding Author Email: mbashtani@birjand.ac.ir

DOI:10.22067/ijasr.v11i4.63238

Consequently, it caused intestinal protein digestibility to increase and affected by thermal process, the amount of metabolic protein of the soybean increased significantly, too. The process of roasting and extruding reduced the rapid part degradation of dry matter of the soybean (6.27 and 4.57 percent, respectively). Also, process of roasting and extruding caused the slow part of degradation to increase (of 63.75 to 74.73 and 63.25 to 85.82 percent, respectively). In addition, the rate constants degradation of dry matter of the soybean in rumen decreased (of 6.66 to 4.21 and 6.09 to 4.74 percent) under the influence of roasting and extruding. The process of roasting and extruding reduced the rapid part degradation of crude protein (38.4 and 68.4 percent, respectively) and the slow part of degradation to increase (17.3 and 26.1 percent, respectively), the rate constants degradation of crude protein of the soybean decreased (ranged from 7.61 to 3.79). Also, thermal processes reduced effective degradability of dry matter and crude protein of the soybean. Roasting and extruded with the reduction of the amount of ruminal disappearance and the increase of the post ruminal digestibility of dry matter and crude protein of soybean cased the degradability process of the soybean to be improved so that it transferred the place of the digestion of protein from the rumen to the small intestines and cased the amount of digestible of dry matter and crude protein in the intestine to increases. The increase of digestibility in the total digestive system shows that the reduction of ruminal digestion of soybean affected by the processes of roasting and extruding has been compensated by the increase of post ruminal digestibility.

Conclusion: The experiment results indicated that thermal processes of roasting and extrusion were an appropriate strategy for reduction the ruminal degradability of the soybean and the supply of passing protein needed by high milk producing dairy cows.

Keywords: Degradability, Extruding, Roasting, Metabolizable protein, Whole soybeans



تولید گاز و قابلیت هضم آزمایشگاهی انواع کربوهیدرات های غیر الیافی و پروتئین قابل تجزیه شکمبه ای

اسحاق اسمعیلی دواپی¹، جواد بیات کوهسار²، فرخنده رضایی^{3*}، یوسف مصطفی لو²، آشور محمد قره‌باش²

تاریخ دریافت: 1396/10/11

تاریخ پذیرش: 1397/06/03

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تاثیر منابع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی (نشاسته، ساکارز، پکتین و دکستروز) و پروتئین با قابلیت تجزیه‌پذیری متفاوت بر تولید گاز و فراسنجه‌های تخمیری در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. کنجاله سویای عمل‌آوری شده با دمای 160 درجه سانتی‌گراد به مدت 60 دقیقه و کنجاله سویای بدون عمل‌آوری به ترتیب به عنوان سطوح پایین و بالا پروتئین تجزیه‌پذیر شکمبه‌ای انتخاب شدند. دو آزمایش تولید گاز و کشت بسته در قالب طرح فاکتوریل (2x4) با چهار نوع کربوهیدرات غیرالیافی (نشاسته، ساکارز، پکتین و دکستروز) و دو سطح پروتئین تجزیه‌پذیر انجام شد. نتایج نشان داد که در سطح پروتئین تجزیه‌پذیر پایین، ساکارز بالاترین مقادیر پتانسیل تولید گاز، نرخ تولید گاز، انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص و غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر را در مقایسه با سایر منابع قندی داشت. بالاترین و پایین‌ترین غلظت نیترژن آمونیاکی در بین تیمارهای آزمایشی به ترتیب مربوط به تیمارهای نشاسته همراه با پروتئین تجزیه‌پذیر بالا و پروتئین تجزیه‌پذیر پایین بود. در بین تیمارهای دارای منبع پروتئینی با قابلیت تجزیه‌پذیری پایین، تیمار پکتین بالاترین مقدار تولید توده میکروبی و در بین تیمارهای دارای منبع پروتئینی با قابلیت تجزیه‌پذیری بالا، تیمار نشاسته بالاترین مقدار تولید توده میکروبی و عامل تفکیک را داشت. نتایج این مطالعه نشان داد هنگامی که سطح پروتئین تجزیه‌پذیر خوراک پایین است ساکارز عملکرد بهتری از نظر پارامترهای تخمیری دارد، در حالیکه هنگام استفاده از پروتئین تجزیه‌پذیر بالا تفاوت معنی‌داری بین کربوهیدرات‌های مختلف مشاهده نشد. به نظر می‌رسد این اثرات متقابل باید در تنظیم جیره‌ها مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین تجزیه‌پذیر، تولید گاز، قابلیت هضم، کربوهیدرات غیرالیافی.

مقدمه

پیدا می‌شوند و کربوهیدرات‌های غیرالیافی در داخل سلول‌های گیاهی وجود دارند و معمولاً قابل هضم‌تر از کربوهیدرات‌های ساختمانی هستند. قندها، نشاسته، اسیدهای آلی و سایر کربوهیدرات‌های ذخیره‌ای نظیر فروکتان‌ها بخش کربوهیدرات‌های غیرالیافی را تشکیل می‌دهند و منابع اصلی انرژی برای گاوهای شیری پرتولید هستند (21). علاوه بر قندها (مونو و الیگوساکاریدها)، نشاسته، فروکتان‌ها و اسیدهای آلی، پکتین و هر نوع کربوهیدرات محلول در شوینده خنثی جزو کربوهیدرات‌های غیرالیافی محسوب می‌شوند (21).

اگرچه حداکثر مقدار کربوهیدرات‌های غیرالیافی یا کربوهیدرات‌های ساختمانی که می‌تواند به جیره گاوهای شیری اضافه شود، به‌خوبی تعریف نشده است (21)، با این وجود کربوهیدرات‌های غیرالیافی 30 تا 45 درصد جیره را بر اساس ماده خشک تشکیل می‌دهند (11). گنجاندن کربوهیدرات‌های غیرالیافی معمول‌ترین راهکار برای افزایش تراکم انرژی در جیره گاوهای شیری پر تولید است (15).

کربوهیدرات‌های جیره 70 تا 80 درصد کل انرژی مورد نیاز را برای نگهداری و تولید تأمین می‌کنند. وظیفه اصلی کربوهیدرات‌ها تأمین انرژی برای میکروب‌های شکمبه و حیوان میزبان است. کربوهیدرات‌ها به‌طور کلی به دو دسته ساختمانی و غیرساختمانی یا غیرالیافی⁴ طبقه‌بندی می‌شوند. کربوهیدرات‌های ساختمانی شامل سلولز، همی‌سلولز و لیگنین هستند که در دیواره‌های سلول گیاهی

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس

2- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس

3- استادیار بخش کشاورزی دانشگاه پیام نور

(*)- ایمیل نویسنده مسئول: Email: frezaii@pnu.ac.ir

DOI:10.22067/ijasr.v11i4.69793

4-Non-fiber carbohydrate (NFC)

مواد و روش‌ها

در ابتدا برای تعیین میزان پروتئین تجزیه‌پذیر شکمبه‌ای و شاخص‌های تجزیه‌پذیری، کنجاله سویای فرآوری نشده و فرآوری شده با روش‌های مختلف (حرارت خشک، اتوکلاو و ماکروبو) و زمان‌های مختلف از روش‌های *in situ* و تولید گاز استفاده شد (24). بر اساس نتایج این آزمایش دو تیمار سویای فرآوری نشده و حرارت خشک در دمای 160 درجه سانتی‌گراد به مدت 60 دقیقه به عنوان دو سطح پروتئین تجزیه‌پذیر شکمبه‌ای بالا و پایین انتخاب شدند.

در آزمایش اول فراسنجه‌های تولید گاز برای دو سطح پروتئین تجزیه‌پذیر بالا و پایین و چهار نوع کربوهیدرات غیرالیافی (نشاسته، ساکارز، پکتین و گلوکز) با استفاده از تکنیک تولید گاز (19) انجام شد. در آزمایش دوم قابلیت هضم تیمارهای آزمایش اول در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از روش کشت بسته (28) اندازه‌گیری شد.

تهیه نمونه: مواد خوراکی استفاده شده در آزمایش شامل علوفه خشک یونجه (30 درصد)، سیلاژ ذرت (10 درصد)، دانه جو (25 درصد)، سبوس (9 درصد)، کنجاله سویا (15 درصد)، مکمل ویتامینی و معدنی (0/5 درصد)، کربوهیدرات غیرالیافی (گلوکز، ساکارز، پکتین و نشاسته، 10 درصد) و نمک (0/5 درصد) بود که از شرکت ارتان دانه گنبد تهیه شد (جدول 1).

تعیین ترکیب شیمیایی: ترکیب شیمیایی نمونه‌های مورد مطالعه شامل ماده خشک، خاکستر خام، چربی خام و پروتئین خام مطابق روش استاندارد تعیین شد (2). الیاف نامحلول در شوینده خنثی² با روش ون سوست و همکاران (29) تعیین شدند.

آزمون تولید گاز: روش تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی مطابق با روش ارائه شده توسط منک و استینگاس (18) انجام گرفت. 200 میلی‌گرم از هر نمونه به همراه 30 میلی‌لیتر مایع شکمبه مخلوط شده با بزاق مصنوعی به نسبت 1 به 2 در داخل ویال‌های 100 میلی‌لیتری ریخته شده و سپس در حمام آب 39 درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شدند. مایع شکمبه از سه گوسفند نر فیستوله‌گذاری شده نژاد دالاق گرفته شد. مایع شکمبه صاف شده و داخل فلاسک 39 درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوازی سریعاً به آزمایشگاه انتقال یافت. در زمان‌های صفر، 2، 4، 6، 8، 12، 24، 36، 48، 72، 96 ساعت انکوباسیون میزان فشار گاز با فشارسنج ثبت شد. برآورد فراسنجه‌های تولید گاز با استفاده از نرم افزار SAS (26) انجام شد. بدین منظور از رابطه غیرخطی ارسکف و مکدونالد (23) استفاده شد.

$$P=b(1-e^{-ct})$$

P=حجم تولید گاز در زمان t به صورت تجمعی

c=ثابت نرخ تولید گاز

معمولاً کربوهیدرات‌های غیرالیافی به صورت کلی در خوراک یا جیره در نظر گرفته می‌شود، اما نوع کربوهیدراتی که در این بخش وجود دارد بسیار متنوع است. برای مثال، کربوهیدرات‌های غیرالیافی موجود در دانه ذرت بیشتر از نشاسته (65 تا 70 درصد ماده خشک) و در تفاله مرکبات بیشتر از قند و پکتین (به ترتیب 12 تا 40 درصد و 25 تا 44 درصد ماده خشک) و در ملاس بیشتر از قندهای مونسو و دی‌ساکارید تشکیل شده‌اند (9). ترکیب کربوهیدرات‌های غیرالیافی جیره می‌تواند مواد مغذی قابل متابولیسم حیوان را تغییر دهد؛ چون انواع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی از نظر ویژگی‌های هضم و تخمیر با هم متفاوتند (11). همچنین تخمیر منابع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی اثرات متفاوتی بر ویژگی‌های هضم و ترکیب اسیدهای آلی تولید شده دارد (27 و 31). شاید به دلیل همین تفاوت در ویژگی‌های هضم و محصولات حاصل از آن باشد که افزودن کربوهیدرات‌های غیرالیافی به جیره می‌تواند مصرف خوراک، تولید و ترکیب شیر را تغییر دهد. مطالعات نشان داده‌اند که جایگزین کردن بخشی از نشاسته جیره با پکتین باعث افزایش مصرف خوراک (8) و کاهش تولید شیر (6) می‌شود. جایگزین کردن قندها به جای نشاسته نیز سبب کاهش چربی شیر شده است (25). برخلاف این مشاهدات برخی آزمایشات نشان داده‌اند که جایگزینی بخشی از ذرت جیره با ساکارز تأثیر معنی‌داری بر عملکرد شیردهی و مصرف خوراک ندارد (23). در برخی مطالعات ساکارز سبب افزایش سنتز میکروبی (7 و 13) و در برخی سبب کاهش آن (10 و 25) شده است. افزایش سنتز پروتئین میکروبی در اثر افزودن ساکارز ممکن است با سرعت تخمیر این ماده مرتبط باشد، چون سرعت تخمیر مواد با سرعت رشد میکروبی رابطه مستقیم دارد (20)؛ به طوری که موادی که سریع‌تر تخمیر می‌شوند توده میکروبی بیشتری نیز تولید می‌کنند. ساکارز و پکتین در مقایسه با نشاسته ذرت سریع‌تر تخمیر می‌شود (29 و 30). غلظت پروتئین قابل تجزیه در شکمبه¹ ممکن است با منبع کربوهیدرات‌های غیرالیافی تداخل داشته باشد و پاسخ‌های متفاوتی به pH شکمبه، ناپدید شدن فیبر، تولید شیر و بازدهی خوراک نشان دهد. هلت و همکاران (12) و هال و همکاران (11) گزارش کردند که اثر انواع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی با مقدار پروتئین تجزیه‌پذیر خوراک اثر متقابل نشان می‌دهد. این تداخل‌ها در حال حاضر در چگونگی تأمین احتیاجات مواد مغذی حیوانات در نظر گرفته نمی‌شود. هدف از انجام این آزمایش بررسی تأثیر منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی و سطوح متفاوت پروتئین تجزیه‌پذیر شکمبه‌ای بر تولید گاز و قابلیت هضم در شرایط آزمایشگاهی بود.

$b =$ گاز تولید شده از بخش قابل تخمیر

$t =$ مدت زمان انکوباسیون

برآورد قابلیت هضم ماده آلی: برای تخمین قابلیت هضم ماده آلی از حجم گاز تولیدی بر اساس 200 میلی گرم ماده خشک در طول 24 ساعت از معادله زیر استفاده شد (16).

$$OMD = 14.88 + 0.889 GP + 0.45 CP + 0.0651 Ash$$

OMD: قابلیت هضم ماده آلی (درصد ماده خشک).

GP: حجم گاز تولیدی تصحیح شده برای 24 ساعت (میلی لیتر بر

200 میلی گرم ماده خشک).

CP: پروتئین خام (درصد)

Ash: خاکستر خام (درصد ماده خشک)

برآورد انرژی قابل متابولیسم: این شاخص بر اساس معادله زیر محاسبه گردید (16).

$$ME = 2.20 + 0.136 GP + 0.057 CP + 0.0029 CF$$

ME: انرژی قابل متابولیسم (مگا ژول بر کیلوگرم ماده خشک)

GP: حجم گاز تولیدی در 24 ساعت (میلی لیتر بر 200 میلی گرم

ماده خشک)

CP: پروتئین خام (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)

برآورد اسیدهای چرب کوتاه زنجیر: این شاخص با استفاده از

معادله زیر محاسبه گردید (16).

$$SCFA = 0.0222 GP - 0.00425$$

SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول)

GP: حجم گاز تولیدی در 24 ساعت (میلی لیتر بر 200 میلی گرم

ماده خشک)

برآورد قابلیت هضم در شرایط برون تنی

اندازه گیری قابلیت هضم تیمارهای مختلف براساس روش کشت بسته انجام شد (28). روش تهیه بزاق مصنوعی و جمع آوری مایع شکمبه مطابق آزمون تولید گاز بود. با این تفاوت که در آزمایش تعیین قابلیت هضم، داخل هر یک از ویال های شیشه ای 500 میلی گرم از هر نمونه ریخته شده و 50 میلی لیتر از مخلوط بزاق مصنوعی و مایع شکمبه به نسبت 2 به 1 (2) حجم بزاق مصنوعی و 1 حجم مایع شکمبه) به داخل هر ویال اضافه شد (18). سپس به مدت 10 ثانیه به داخل هر ویال شیشه ای گاز دی اکسید کربن وارد نموده و درب آن به کمک درپوش لاستیکی و پوشش آلومینیومی به طور کامل بسته شد. ویال ها درون حمام آب گرم در دمای 39 درجه سانتی گراد قرار گرفته و در فواصل زمانی معین و مساوی تکان داده می شدند. بعد از گذشت 24 ساعت، تمامی ویال ها از حمام آب گرم خارج شده و به ظرف حاوی یخ منتقل شدند. نمونه های موجود در هر ویال، با استفاده از پارچه مخصوص صاف شده و محتویات هضم نشده از فاز مایع جدا شد. سپس pH فاز مایع نمونه ها اندازه گیری شد. محتویات هضم

نشده هر ویال جمع آوری شده و درون کروزه های با وزن مشخص انتقال یافت. کروزه ها به مدت 48 ساعت در آون با درجه حرارت 60 درجه سانتی گراد قرار داده شدند. سپس قابلیت هضم ظاهری محاسبه شد و کروزه های حاوی محتویات هضم نشده به مدت 6 ساعت در کوره با دمای 540 درجه سانتی گراد قرار داده شدند. این کار به منظور تعیین مقدار خاکستر خام مواد هضم نشده موجود در کروزه ها صورت گرفت.

برآورد قابلیت هضم ماده خشک: این شاخص با استفاده از

معادله زیر صورت گرفت (4).

$$DMD = (0/5 - \text{وزن نمونه باقی مانده بعد از هضم} - 0/5)$$

DMD: قابلیت هضم ماده خشک

برآورد قابلیت هضم ماده آلی: برآورد قابلیت هضم ماده آلی با

استفاده از معادله زیر انجام شد (4).

ماده آلی اولیه / (ماده آلی باقی مانده - ماده آلی اولیه) = OMD

OMD: قابلیت هضم ماده آلی

برآورد عامل تفکیک: این شاخص براساس معادله زیر انجام

گرفت (4).

$$PF = GP_{24} / \text{میلی گرم ماده آلی ناپدید شده} = PF$$

PF: عامل تفکیک

GP_{24} : میلی لیتر گاز تولید شده در زمان 24 ساعت.

برآورد توده میکروبی: محاسبه توده میکروبی تولید شده با

استفاده از معادله زیر محاسبه گردید (4):

$$MCP (mg) = (GP \times PF) - 2.2$$

MCP = تولید توده میکروبی (میلی گرم)

GP = میزان تولید گاز خالص بعد از 24 ساعت (میلی لیتر)

PF = عامل تفکیک (میلی گرم در میلی لیتر)

برآورد بازده تولید پروتئین میکروبی: بازده تولید پروتئین

میکروبی با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (4).

بازده تولید پروتئین میکروبی / MCP = ماده آلی ناپدید شده

برآورد بازدهی تولید گاز: این شاخص (میلی لیتر گاز به ازاء 500

میلی گرم ماده خشک) بر اساس معادله زیر محاسبه شد (4).

$$Gy = GP_{24} / (0/5 - \text{وزن ماده خشک بعد از آون} - 0/5)$$

Gy: تولید گاز

اندازه گیری آمونیاک مایع شکمبه: میزان نیتروژن آمونیاکی

مایع شکمبه با استفاده از روش فنل - هیپوکلریت تعیین گردید (5).

جذب نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با مدل Libera- S22

Biochrom در طول موج 630 نانومتر اندازه گیری شد.

جدول 1- اجزای مواد خوراکی مورد استفاده در جیره‌ها

Table 1- Components of food ingredients used in the diets

مواد خوراکی Ingredients	پروتئین قابل تجزیه در شکمبه بالا High level of RDP				پروتئین قابل تجزیه در شکمبه پایین Low level of RDP			
	نشاسته	پکتین	ساکارز	گلوکز	نشاسته	پکتین	ساکارز	گلوکز
	Starch	Pectin	Sucrose	Glucose	Starch	Pectin	Sucrose	Glucose
یونجه Alfalfa	30	30	30	30	30	30	30	30
سیلاژ ذرت Corn silage	10	10	10	10	10	10	10	10
دانه جو Barley grain	25	25	25	25	25	25	25	25
سبوس گندم Wheat Bran	9	9	9	9	9	9	9	9
نمک Salt	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
مکمل ویتامینی Vitamin supplement	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
کنجاله سویای حرارت ندیده Unheated soybean meal	15	15	15	15	-	-	-	-
کنجاله سویای حرارت دیده heated soybean meal	-	-	-	-	15	15	15	15
گلوکز Glucose	-	-	-	10	-	-	-	10
ساکارز Sucrose	-	-	10	-	-	-	10	-
پکتین Pectin	-	10	-	-	-	10	-	-
نشاسته Starch	10	-	-	-	10	-	-	-

نتایج و بحث

اثر منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی و سطح پروتئین

تجزیه پذیر شکمبه‌ای بر فراسنجه‌های تولید گاز

نتایج مربوط به تأثیر منابع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی (نشاسته، ساکارز، دکستروز و پکتین) و دو سطح پروتئین تجزیه پذیر در شکمبه بر پتانسیل تولید گاز، ثابت نرخ تولید گاز و فراسنجه‌های تخمینی در جدول 2 نشان داده شده است. نتایج نشان داد بین منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی در هر دو سطح پروتئین تجزیه‌پذیر از نظر فراسنجه‌های تولید گاز و پارامترهای تخمینی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). در هنگام استفاده از پروتئین تجزیه‌پذیر پایین، ساکارز بالاترین مقدار پتانسیل تولید گاز (242/2 میلی‌لیتر)، انرژی قابل متابولیسم (7/84 مگاژول)، انرژی خالص (3/93 مگاژول) و غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (0/69 میلی‌مول) و دکستروز پایین‌ترین مقدار پتانسیل تولید گاز (190/4 میلی‌لیتر)، قابلیت هضم

روش آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها: این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل 2×4 در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول: دو سطح پروتئین تجزیه پذیر در شکمبه (RDP) و فاکتور دوم: چهار نوع منبع کربوهیدراتی. مدل آماری مورد استفاده در این آزمایش به شرح زیر می‌باشد:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} = مقدار هر مشاهده

μ = میانگین کل

A_i = اثر سطح پروتئین

B_j = اثر نوع کربوهیدرات

AB_{ij} = اثر متقابل نوع منبع پروتئینی و کربوهیدراتی

e_{ijk} = خطای آزمایشی

پردازش داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه 9/1) و رویه GLM انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) استفاده شد.

هضم ماده آلی بالاتری داشت. به طور مشابه هلت و همکاران (19) در بررسی انواع مختلف قندها (گلوکز، فروکتوز و ساکارز) در مقایسه با نشاسته در دو سطح پروتئین تجزیه پذیر مشاهده کردند که قندها در مقایسه با نشاسته و مونوساکاریدها (گلوکز و فروکتوز) در مقایسه با ساکارز قابلیت هضم ماده آلی را بیشتر افزایش دادند. همچنین در ارتباط با هضم الیاف محلول در شوینده خنثی نیز قندها بهتر از نشاسته و مونوساکاریدها بهتر از ساکارز عمل کردند. در آزمایش هلت و همکاران (19) نیز تفاوت در ویژگی های هضمی علوفه به اثر متقابل بین منبع کربوهیدرات و سطح پروتئین تجزیه پذیر نسبت داده شد. بنابراین تغییر ویژگی های تخمیری دستگاه گوارش در اثر کربوهیدرات های مختلف غیرالیافی علاوه براینکه به مقدار و قابلیت تخمیر آنها بستگی دارد به ترکیب سایر اجزای جیره به ویژه سطح پروتئین تجزیه پذیر خوراک نیز وابسته است.

اثر منابع مختلف کربوهیدرات غیر الیافی و سطح پروتئین تجزیه پذیر بر قابلیت هضم و فراسنجه های تخمیری در شرایط برون تنی

نتایج حاصل از تاثیر افزودن منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی و سطح پروتئین تجزیه پذیر بر قابلیت هضم ماده آلی و ماده خشک (جدول 3) نشان داد که از این نظر بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < 0/05$). نشاسته در پروتئین تجزیه پذیر بالا، بالاترین و در پروتئین تجزیه پذیر پایین، پایین ترین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را بین منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی داشت. بالاترین و پایین ترین غلظت نیتروژن آمونیاکی در بین تیمارهای آزمایشی به ترتیب مربوط به تیمارهای نشاسته در پروتئین تجزیه پذیر پایین و نشاسته در پروتئین تجزیه پذیر بالا بود. در هر دو سطح پروتئین تجزیه پذیر تیمار پکتین در مقایسه با سایر منابع کربوهیدرات غیرالیافی به طور معنی داری pH بالاتری داشت ($P < 0/05$). به طور کلی بین منابع مختلف کربوهیدرات و دو سطح پروتئین تجزیه پذیر بالا و پایین از نظر عامل تفکیک و تولید توده میکروبی اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < 0/05$). در تیمارهای با پروتئین تجزیه پذیر پایین، تیمار پکتین بالاترین مقدار تولید توده میکروبی و عامل تفکیک را داشت و در بین تیمارهای با پروتئین تجزیه پذیر بالا، تیمار نشاسته بالاترین مقدار تولید توده میکروبی و عامل تفکیک را داشت.

پایین ترین بازده تولید گاز در تیمارهای با پروتئین تجزیه پذیر پایین و بالا متعلق به تیمار پکتین بود. تیمارهای پکتین و نشاسته بیشترین بازده تولید پروتئین میکروبی را در مقایسه با سایر منابع کربوهیدرات غیرالیافی به ترتیب در سطح پروتئین تجزیه پذیر پایین و بالا داشتند.

ماده آلی (48/21 درصد در مقایسه با 52/5 درصد در تیمار ساکارز)، انرژی قابل متابولیسم (7/16 مگا ژول) و غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (0/58 میلی مول) را در مقایسه با سایر منابع قندی داشتند ($P < 0/05$). اما در تیمارهای با پروتئین تجزیه پذیر بالا تفاوت معنی داری بین منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی مشاهده نشد. تاثیر منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی و دو سطح پروتئین تجزیه پذیر بر روند تولید گاز در زمان های مختلف انکوباسیون در شکل 1 نشان داده شده است. در تیمارهای با پروتئین تجزیه پذیر پایین، در تمام زمان های انکوباسیون ساکارز و دکستروز به ترتیب دارای بالاترین و پایین ترین مقدار تولید گاز بودند. در حالی که در تیمارهای با پروتئین تجزیه پذیر بالا بین منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی از نظر مقدار تولید گاز تفاوت قابل توجهی وجود نداشت. همانطور که نتایج این آزمایش نشان می دهد تفاوت های معنی دار و چشمگیری بین منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی در سطح پروتئین تجزیه پذیر پایین وجود دارد، حال آنکه در سطح پروتئین تجزیه پذیر بالا تفاوت قابل ملاحظه ای بین منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی از نظر ویژگی های هضمی مشاهده نمی شود، و این نشان می دهد که بین نوع منبع کربوهیدرات غیرالیافی و سطح پروتئین تجزیه پذیر اثر متقابل وجود دارد. اثرات متقابل بین سطح پروتئین تجزیه پذیر خوراک و انواع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است؛ به طور مثال زیانگ و همکاران (31) مشاهده کردند که ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی برای ساکارز و پکتین در مقایسه با نشاسته و اینولین بیشتر بود. همچنین این محققان برای ناپدید شدن الیاف محلول در شوینده خنثی¹ اثر متقابل بین کربوهیدرات غیرالیافی و پروتئین تجزیه پذیر مشاهده کردند، به طوری که ناپدید شدن الیاف محلول در شوینده خنثی در تیمار ساکارز و پکتین در مقایسه با نشاسته در پروتئین تجزیه پذیر پایین کمتر بود، اما در تیمار با پروتئین تجزیه پذیر بالا تفاوت خاصی بین تیمارها مشاهده نشد. آزمایشات بر روی گاوهای شیری و در شرایط آزمایشگاهی نشان داده اند که تغییر در منبع کربوهیدرات غیرالیافی خوراک و پروتئین تجزیه پذیر مصرف خوراک، عملکرد شیردهی و فاکتورهای خونی را تحت تاثیر قرار می دهد (10 و 11). هال و همکاران (10 و 11) همچنین مشاهده کردند که در ارتباط با pH شکمبه، ناپدید شدن فیبر، تولید شیر و بازدهی خوراک بین نوع کربوهیدرات غیرالیافی و سطح پروتئین تجزیه پذیر اثر متقابل وجود دارد.

در آزمایش حاضر در تیمارهای با سطح پروتئین تجزیه پذیر پایین، تیمار دارای ساکارز در مقایسه با سایر تیمارها به طور معنی داری پتانسیل تولید گاز، انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص و قابلیت

آلی را تولید می‌کنند که دارای اثرات متفاوت بر pH شکمبه هستند. افت کمتر در pH تیمارهای حاوی پکتین ممکن است به این دلیل باشد که پکتین برخلاف نشاسته تولید لاکتات را کمتر نموده و سبب کاهش کمتری در pH می‌شود (3).

نشاسته در تیمارهای با پروتئین تجزیه‌پذیر بالا بیشترین و در تیمارهای با پروتئین تجزیه‌پذیر پایین، کمترین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را داشت که نشان می‌دهد بین منبع کربوهیدرات غیرالیافی و سطح پروتئین تجزیه‌پذیر در ارتباط با این فاکتورها اثر متقابل وجود دارد. در برخی مطالعات ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی در تیمار پکتین نسبت به نشاسته بالاتر گزارش شده است (31).

در آزمایش حاضر پکتین در هر دو سطح پروتئین تجزیه‌پذیر بالاترین pH را در بین تیمارها داشت. مشابه نتایج این آزمایش زیانگ و همکاران (31) در مقایسه بین نشاسته و پکتین در دو سطح پروتئین مشاهده کردند که میانگین 12 ساعته pH برای تیمار پکتین در پروتئین تجزیه‌پذیر بالا بیشتر بود و اثر متقابل بین کربوهیدرات غیرالیافی و پروتئین تجزیه‌پذیر برای pH گزارش کردند. هلت و همکاران (12) نیز نشان دادند که جیره‌های حاوی نشاسته pH شکمبه را نسبت به جیره‌های حاوی گلوکز، فروکتوز و ساکارز بیشتر کاهش می‌دهند. منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی از نظر خصوصیات هضمی با یکدیگر متفاوت بوده و زمانی که این منابع کربوهیدراتی در شکمبه تخمیر می‌شوند ترکیبات مختلفی از اسیدهای

جدول 2- اثر متقابل منابع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی و سطوح متفاوت پروتئین تجزیه‌پذیر بر فراسنجه‌های تولید گاز¹

Table 2- Interaction of various sources of non-fiber carbohydrates and different level of degradable proteins on gas production parameters¹

سطح پروتئین تجزیه‌پذیر	انواع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی	پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر)	ثابت نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)	قابلیت هضم ماده آلی (درصد)	انرژی قابل متابولیسم (مگا ژول در کیلوگرم)	انرژی خالص (مگا ژول در کیلوگرم)	اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول)
Level of RDP ¹	Type of NFCs	Gas production potential (ml)	Gas production rate (ml/h)	Organic matter digestibility (%)	Metabolizable energy (mj/kg)	Net energy (mj/kg)	Short chain fatty acid (mmol)
LRDP ²	نشاسته	227.3±5.739	0.0398±0.0026	51.19 ^{ab}	7.47 ^{abc}	3.60 ^{ab}	0.63 ^{abc}
	Saccharose	242.2±4.68	0.0442±0.0023	52.51 ^a	7.84 ^a	3.93 ^a	0.69 ^a
	دکستروز	190.4±3.58	0.0498±0.0026	48.21 ^b	7.16 ^c	3.34 ^b	0.58 ^c
	Pectin	239.5±3.158	0.0433±0.0015	52.8 ^a	7.75 ^{ab}	3.82 ^{ab}	0.67 ^{ab}
HRDP ³	نشاسته	214.8±4.15	0.0385±0.0019	48.43 ^b	7.18 ^{bc}	3.35 ^b	0.58 ^{bc}
	Saccharose	220.2±4.27	0.0473±0.0025	50.00 ^{ab}	7.71 ^{abc}	3.80 ^{ab}	0.66 ^{abc}
	دکستروز	220.5±3.39	0.0432±0.0017	50.01 ^{ab}	7.46 ^{abc}	3.59 ^{ab}	0.62 ^{abc}
	Pectin	188.8±6.81	0.0476±0.0043	50.08 ^{ab}	7.45 ^{abc}	3.58 ^{ab}	0.62 ^{abc}
	MSE			1.131	0.174	0.147	0.028
	RDP			0.120	0.41	0.410	0.38
	NFC			0.084	0.037	0.038	0.031
	NFC×RDP			0.179	0.303	0.0305	0.314

¹ در هر ستون، اعداد با حروف غیر مشابه از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند (P<0/05).

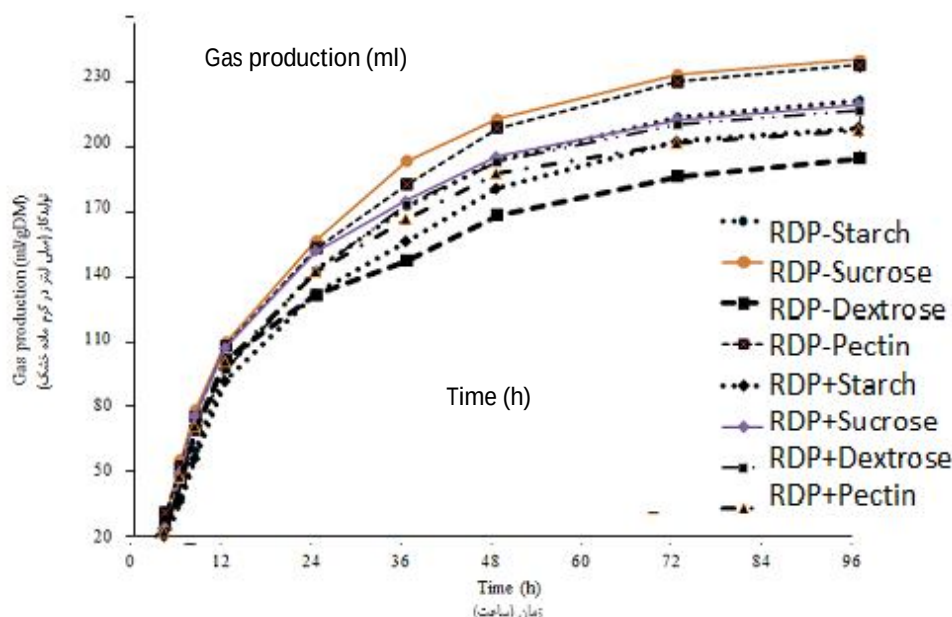
² LRDP: سطح پایین پروتئین تجزیه‌پذیر شکمبه‌ای،

³ HRDP: سطح بالای پروتئین تجزیه‌پذیر شکمبه‌ای

¹In each column, numbers with non-identical alphanumeric characters are statistically different.

²LRDP: Low level of rumen degradable protein,

³HRDP: High level of rumen degradable protein



شکل 1- روند تولید گاز (ml) در زمان های مختلف انکوباسیون

Figure 1- Gas production (ml) at different incubation times

خصوصیت است اول اینکه جیره مستعد تولید نسبت مولی بالاتر از اسید چرب پروپیونات می باشد، دوم اینکه بیشترین بخش ماده تجزیه شده وارد ساختار میکروبی و تولید توده میکروبی گردیده است و به عبارت دیگر بازده سنتز پروتئین میکروبی در آن بیشتر است، سوم اینکه علوفه های با عامل تفکیک بالاتر دارای ماده خشک مصرفی بالاتر توسط دام می باشند و چهارم اینکه مقدار گاز تولیدی از جمله گاز متان پایین تر بوده و در نتیجه اتلاف انرژی در آن ها نیز پایین است (4 و 17).

در این مطالعه، از دو سطح پروتئین تجزیه پذیر پایین و بالا و چهار نوع کربوهیدرات غیرالیافی استفاده شده بود. از آنجایی که همبستگی مثبتی بین تولید گاز و تولید اسید چرب فرار و همبستگی منفی بین تولید گاز و تولید توده میکروبی وجود دارد (4) به نظر می رسد که نشاسته در بین تیمارهای دارای پروتئین تجزیه پذیر بالا حداکثر سنتز پروتئین میکروبی را ایجاد کرده است و در مقایسه با تیمارهای دارای پروتئین تجزیه پذیر پایین که تیمار پکتین حداکثر توده میکروبی را تولید کرده بود، حدود 23 میلی گرم پروتئین میکروبی بیشتری تولید کرده است. به نظر می رسد که نشاسته توانسته است فراهمی بهتری از انرژی را برای سنتز پروتئین میکروبی ایجاد کند. مطالعات اندکی تاثیر جایگزینی نشاسته را با قندها یا تزریق درون شکمبه ای قند برای افزایش قابلیت دسترسی شکمبه ای بر سنتز پروتئین میکروبی و بازدهی نیتروژن شکمبه ای بررسی کرده اند.

در مطالعه حاضر در جیره های با سطح پروتئین تجزیه پذیر بالا و پایین، نشاسته در مقایسه با سایر منابع کربوهیدراتی، به ترتیب پایین ترین و بالاترین غلظت نیتروژن آمونیاکی را داشت. بازدهی تولید پروتئین میکروبی نیز در تیمارهای دارای نشاسته در پروتئین تجزیه پذیر بالا بیشتر بود. با توجه به ماهیت نشاسته از نظر تجزیه پذیری، به نظر می رسد که نشاسته توانسته با تأمین ثابت و مداوم کربوهیدرات قابل دسترس برای میکروارگانیسم ها غلظت نیتروژن آمونیاکی را در جیره با پروتئین تجزیه پذیر پایین فراهم کرده باشد. با این حال، در جیره با پروتئین تجزیه پذیر بالا احتمالاً به دلیل عدم هم زمانی بین منابع پروتئینی و کربوهیدراتی، غلظت نیتروژن آمونیاکی افزایش یافته است.

بین تیمارهای با پروتئین تجزیه پذیر پایین، پکتین و بین تیمارهای با پروتئین تجزیه پذیر بالا، نشاسته بالاترین عامل تفکیک را در مقایسه با سایر کربوهیدرات ها داشتند. عامل تفکیک $2 (PF)$ بنا به تعریف نسبت میلی گرم ماده آلی حقیقی هضم شده بر میلی لیتر حجم گاز خالص تولیدی است و بیان کننده نسبت تجزیه واقعی سوبسترا به حجم گاز تولید شده در دوره های زمانی انکوباسیون (معمولاً 24 یا 48 ساعت) بوده (22) و شاخصی از راندمان سنتز توده میکروبی در شرایط آزمایشگاهی می باشد (4). عامل تفکیک بالاتر بیان گر چندین

تجزیه‌پذیری پایین تفاوت‌های بیشتری بین منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی ایجاد می‌شود، حال آنکه در سطح پروتئین تجزیه‌پذیر بالا تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی از نظر ویژگی‌های هضمی مشاهده نمی‌شود.

بر اساس نتایج به دست آمده می‌توان برداشت کرد که منبع کربوهیدرات غیرالیافی به همراه سطح پروتئین تجزیه‌پذیر این توانایی را دارد تا ویژگی‌های تخمیر شکمبه‌ای را تغییر دهد. بررسی‌های بیش‌تری در مورد تغذیه انواع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی و تجزیه پروتئین مورد نیاز است تا به درک جامعی از تأثیرات آن‌ها بر pH شکمبه، غلظت اسیدهای چرب فرار، غلظت نیتروژن آمونیاکی، متابولیت خون، تولید و ترکیب شیر دست یافت. با توجه به اثرات مستقیم منبع کربوهیدرات غیرالیافی و غلظت پروتئین تجزیه‌پذیر و اثرات متقابل بین آنها برای تغییر عملکرد حیوان پیشنهاد می‌شود که مطالعات جامعی شامل ویژگی‌های متفاوت تغذیه‌ای در انواع متفاوت کربوهیدرات‌های غیرالیافی برای درک این اثرات انجام شود.

تزریق درون شکمبه‌ای ساکارز در جیره گاوهای شیری تولید پروتئین میکروبی را افزایش داد (14) که در تضاد با نتایج این مطالعه بود. قندها در شکمبه نسبت به نشاسته قابل تخمیرتر هستند. جایگزینی نشاسته با قند ممکن است قابلیت دسترس ATP را افزایش دهد، بنابراین استفاده از نیتروژن شکمبه‌ای را افزایش داده و اجازه سنتز موثرتر تولید پروتئین میکروبی را می‌دهد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد که کربوهیدرات‌های مختلف غیرالیافی و سطح پروتئین تجزیه‌پذیر پاسخ‌های متفاوتی بر پارامترهای تخمیری شکمبه‌ای داشتند. به طوری که تیمار ساکارز در سطح پروتئین تجزیه‌پذیر پایین، بیشترین مقادیر پتانسیل تولید گاز، نرخ تولید گاز، انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص، غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و قابلیت هضم ماده آلی را در مقایسه با سایر منابع قندی داشت. به نظر می‌رسد که هنگام استفاده از پروتئین با

منابع

- 1- Amanzougarene, Z., S. Yuste, A. Vega, and M. Fondevila. 2017. In vitro fermentation pattern and acidification potential of different sources of carbohydrates for ruminants given high concentrate diets. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 15(2): 2171-9292.
- 2- AOAC. 2005. Official Methods Of Analysis. 18th ed. Vol. 1. No. 1. Association of Official Analytical Chemists Washing Town, D.C.
- 3- Barrios-Urdaneta, A., M. Fondevila, and C. Castrillo. 2003. Effect of supplementation with different proportions of barley grain or citrus pulp on the digestive utilization of ammonia-treated straw by sheep. *Journal of Animal Science*, 76: 309-317.
- 4- Blummel, M., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 1997. In vitro gas production: a technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77: 24-34.
- 5- Broderick, G. A. and J. H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of Dairy Science*, 63: 64-75.
- 6- Broderick, G. A. and W. J. Radloff. 2002. Effects of replacing dietary high moisture corn with dried molasses on production of dairy cows. U.S. Dairy Forage Research Center 2000-2001. Research Report, pp. 106-109.
- 7- Chamberlain, D. G., S. Robertson, and J. J. Choung. 1993. Sugars versus starch as supplements to grass silage: Effects on ruminal fermentation and the supply of microbial protein to the small intestine, estimated from the urinary excretion of purine derivatives, in sheep. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 63: 189-194.
- 8- Chester-Jones, H., M. D. Stern, H. M. Metwally, J. G. Linn, and D. M. Ziegler. 1991. Effects of dietary protein-energy interrelationships on Holstein steer performance and ruminal bacterial fermentation in continuous culture. *Journal of Animal Science*, 69: 4956- 4966.
- 9- Hall, M. B. 2002. Working with sugars (and molasses). In *Proceedings from the 13th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium*, Gainesville, FL.
- 10- Hall, M. B. and C. Herejk, 2001. Differences in yields of microbial crude protein from in vitro fermentation of carbohydrates. *Journal of Dairy Science*, 84: 2486-2493.
- 11- Hall, M. B., C. C. Larson, and C. J. Wilcox. 2010. Carbohydrate source and protein degradability alter lactation, ruminal, and blood measures. *Journal of Dairy Science*, 93: 311-322.
- Heldt, J. S., R. C. Cochran, G. L. Stokka, C. G. Farmer, C. P. Mathis, E. C. Titgemeyer, and T. G. Nagaraja. 1999. Effects of different supplemental sugars and starch fed in combination with degradable intake protein on low-quality

- forage use by beef steers. *Journal of Animal Science*, 77: 2793–2802.
- 12- Huhtanen, P. 1988. The effects of barley, unmolassed sugar-beet pulp and molasses supplements on organic matter, nitrogen and fibre digestion in the rumen of cattle given a silage diet. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 20 (4): 259-278.
 - 13- Kim, K. H., J. Choung, and D. G. Chamberlain. 1999. Effects of varying the degree of synchrony of energy and nitrogen release in the rumen on the synthesis of microbial protein in lactating dairy cows consuming a diet of grass silage and a cereal-based concentrate. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 79: 1441–1447.
 - 14- Lykos, T., G. A. Varga, and D. Casper. 1997. Varying degradation rates of total nonstructural carbohydrates: Effects on ruminal fermentation, blood metabolites, and milk production and composition in high producing Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 80: 3341– 3355.
 - 15- Makkar, H. P. S. 2004. Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. *Assessing Quality and Safety of Animal Feeds*. FAO Animal Production and Health Series 160. FAO, Rome, pp. 55–88.
 - 16- Makkar, H. P. S. 2005. *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. *Animal Feed Science and Technology*, 124: 291-303.
 - 17- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, and W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Agriculture and Food Science*, 93: 217– 222.
 - 18- Menke, K. H. and H. Steingass. 1978. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Science Development*, 28: 7-12.
 - 19- Nocek, J. E. and J. B. Russell. 1988. Protein and energy as an integrated system: Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *Journal of Dairy Science*, 71: 2070–2107.
 - 20- National Research Council. 2001. *Nutrient Requirements of dairy cattle*. 7th ed, National Academy Press. Washington, DC.
 - 21- Olivera, R. M. P. 1998. Use of *in vitro* gas production technique to assess the contribution of both soluble and insoluble fraction on the nutritive value of forages. Msc thesis, University of Aberdeen.
 - 22- Ordway, R. S., V. A. Ishler, and G. A. Varga. 2002. Effects of sucrose supplementation on dry matter intake, milk yield, and blood metabolites of periparturient Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85: 879-888.
 - 23- Orskov, E. R. and I. MacDonald. 1979. The estimate of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92: 499- 503.
 - 24- Rezaei, F., and J. Bayat kouhsar. 2019. Effects of microwaving, and moist and dry heating on ruminal degradability of protein and dry matter in soybean meal. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 2019, 7 (1): 11-19.
 - 25- Sannes, R. A., M. A. Messman, and D. B. Vagnoni. 2002. Form of rumen- degradable carbohydrate and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85: 900–908.
 - 26- SAS. 2003. *SAS User's Guide: Statistics*, Version 9.1 Edition. SAS Institute, Cary, NC.
 - 27- Strobel, H. J. and J. B. Russell. 1986. Effect of pH and energy spilling on bacterial versus corn starch or beet pulp fiber diet effects of digestion and intestinal amino acids in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 76: 2692-2700.
 - 28- Theodorou, M. K., B. A. Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan, and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 48: 185-197.
 - 29- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583- 3597.
 - 30- Weisbjerg, M. R., T. Hvelplund, and B. M. Bibby. 1998. Hydrolysis and fermentation rate of glucose, sucrose and lactose in the rumen. *Journal of Animal Science*, 48:12–18.
 - 31- Zhao, X. H., M. G. Jian, Z. Shan, B. F. Chuan, J. L. Chan, J. X. Lan, P. Ke, and R. Q. Ming. 2015. Effects of Degradable Protein and Non-Fibre Carbohydrates on Microbial Growth and Fermentation in the Rumen Simulating Fermenter (Rusitec). *Italian Journal of Animal Science*, 14 (2):3771.



Gas Production and *In vitro* Digestibility of Various Sources of Non-fiber Carbohydrates and Rumen Degradable Protein

Eshagh esmaili doabi¹, Javad Bayatkouhsar², Farkhondeh Rezaii^{3*}, Yousef. Mostafalou², Ashoor Mohamad

Gharebash²

Received: 01-01-2018

Accepted: 25-08-2018

Introduction: Carbohydrates are generally classified as either non-structural or structural carbohydrates. Structural carbohydrates include cellulose, hemicellulose and lignin, and non-fiber carbohydrates (NFC) are present inside the plant cells and are usually more digestible than carbohydrates found in plant cell walls. Dietary non-fiber carbohydrates are the main source of energy for high-producing dairy cows, which provide 30 to 45 percent of the dry matter intake. They are a very diverse group of non-fiber carbohydrates, which include starch, sugars, fructans, and pectin substances. Although the total amount of non-fiber carbohydrates is referred to as a single value, different types of NFC have different effects on digestibility and production properties. The dietary profile of NFC has the potential to alter the supply of metabolizable nutrients to the animal because NFC differ in digestion and fermentation characteristics. Sucrose is rapidly fermented in the rumen compared with corn starch. *In vitro* fermentation of sucrose, starch, and pectin resulted in different organic acid profiles, digestion characteristics, and maximal microbial protein yields. In addition, these effects may be affected by other feed components, such as the amount of rumen degradable protein. Some researchers have been showed that the impact of starch and sugars on low quality forage utilization may interact with the amount of supplemental rumen degradable protein.

This experiment was conducted to investigate the effect of various sources of non-fiber carbohydrates (starch, sucrose, pectin, dextrose) in combination with different levels of rumen degradable protein on gas production and digestibility of fermentation parameters in *in vitro* condition.

Materials and Methods: Soybean meal treated with heating at 160°C-60 min and untreated soybean meal were selected as low rumen degradable protein (RDP) and high RDP sources, respectively. Four types of non-fiber carbohydrates (dextrose, sucrose, starch and pectin) supplemented with two levels of rumen degradable protein (RDP) in a 2×4 factorial arrangement by gas production and batch culture. A basal diet including: alfalfa (30%), corn silage (10%), barley grain (25%), wheat barn (9%), salt (0.5%), mineral-vitamin supplement (0.5%), soybean meal (15%) and non-fiber carbohydrate source (10%) was prepared. This study was conducted in two experiments. In the first experiment, the gas production parameters for two levels of high and low rumen degradable protein and four types of non-fiber carbohydrates (starch, sucrose, pectin and glucose) using the gas production technique. In the second experiment, the digestibility of the first experimental treatments were measured in an *in vitro* batch culture method. In the first experiment, the gas pressure was recorded with the pressure gauge at 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 72, 96 h after incubation. In the second experiment treatments were incubated in batch culture conditions for 24 hours and the degradability parameters were determined using equations.

Results and Discussion: the obtained results showed that sucrose had highest gas production potential, organic matter digestibility (OMD), metabolizable energy (ME) and SHORT CHAIN FATTY ACIDS

(SCFAs) than other NFC type in low RDP level. There was a significant difference in digestibility of organic matter and dry matter between treatments ($P<0.05$). The highest and lowest ammonia nitrogen concentrations were obtained from treatments with starch in combination with high and low RDP, respectively. Treatments had a significant effect on partitioning factor and production of microbial mass ($P<0.05$). Among the low-degradability protein-based treatments, pectin treatment had the highest amount of microbial production and

1-Graduated from Agricultural College, Gonbad University,

2- Assistant Professor, Faculty of Agriculture, University of Gonbad

3- Assistant Professor, Agriculture Department, Payame Noor University

(*- Corresponding Author: Email address: frezaii@pnu.ac.ir)

DOI:10.22067/ijasr.v11i4.69793

among the treatments with high degradability protein content, starch treatment had the highest production of microbial mass and partitioning factor. Overall, the results showed that when the RDP level is low, sucrose has a better performance in terms of fermentation parameters, whereas when using the high RDP, there was no significant difference between different types of carbohydrates. It seems that these interactions should be considered in regulating diets.

Conclusion: The results of this experiment showed that different types of non-fiber carbohydrates and levels of rumen degradable protein had a different responses to fermentation parameters. When using low protein levels, it seems that there is a greater difference between different sources of non-fiber carbohydrates, while at high levels of protein degradation there is no significant difference between the different sources of non-fiber carbohydrates in terms of digestibility. Based on these results, it can be concluded that the non-fiber carbohydrate sources, along with the degradable protein supplement, has the ability to change the characteristics of ruminal fermentation, the source of food and the production.

Keywords: Degradable protein, Gas production, Non-fiber carbohydrates, Digestibility.



تعیین ظرفیت بافری برخی ترکیبات آلکالایزری و بافری معدنی بومی و تأثیر آن‌ها بر فراسنجه- های تخمیر و هضم شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی

سید مرتضی وقار سیدین¹، محسن مجتهدی^{2*}، سید احسان غیاثی² و محمدحسن فتحی نسری³

تاریخ دریافت: 1397/04/10

تاریخ پذیرش: 1397/07/17

چکیده

آزمایشی طی دو مرحله با هدف بررسی ظرفیت و شاخص ارزش بافری برخی ترکیبات بافری و آلکالایزری بومی و تأثیر آن‌ها بر فراسنجه‌های تخمیر و هضم شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی انجام شد. نمونه‌های مختلف اکسید منیزیم، کربنات منیزیم و بنتونیت سدیم از معادن بومی استان خراسان جنوبی و یک نمونه بیکربنات سدیم به عنوان رایج‌ترین بافر مورد استفاده در تغذیه دام تهیه شد. در مرحله اول pH، ظرفیت بافری و شاخص ارزش بافری نمونه‌ها و در مرحله دوم فراسنجه‌های تخمیر و تولید گاز با دو سطح یک و سه درصد از نمونه‌های منتخب و در روش کشت ثابت شکمبه‌ای اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده از مرحله‌ی اول نشان داد که بیشترین مقدار pH، ظرفیت بافری و شاخص ارزش بافری مربوط به نمونه‌های اکسید منیزیم بود که با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌دار آماری داشت. در مرحله دوم آزمایش بیشترین مقدار تولید گاز پس از 96 ساعت انکوباسیون مربوط به سطح 3 و 1 درصد بیکربنات سدیم و کربنات منیزیم، و کمترین مقدار مربوط به سطح 3 درصد اکسید منیزیم بود. بالاترین مقدار pH و ماده خشک ناپدید شده پس از 24 ساعت انکوباسیون به ترتیب در سطح 3 درصد اکسید منیزیم و سطح 1 درصد کربنات منیزیم مشاهده شد. علاوه بر این ترکیبات مورد آزمایش بر غلظت نیتروژن آمونیاکی در طول 24 ساعت انکوباسیون تأثیری نداشتند. بطور کلی نتایج این پژوهش بیان می‌کند که ترکیبات آلکالایزری و بافری بومی، به لحاظ ویژگی‌های بافری تفاوت‌های زیادی داشته و نمونه‌های کربنات منیزیم بدون داشتن ظرفیت بافری بالا قادرند قابلیت هضم را بهبود ببخشند.

واژه‌های کلیدی: اکسید منیزیم، بنتونیت سدیم، ظرفیت بافری، قابلیت هضم، کربنات منیزیم.

مقدمه

جیره‌ی گاوهای شیری به دلیل تأثیر مثبت بر تولید و پیشگیری از اسیدوز مورد استفاده قرار می‌گیرند. در دام بافرها می‌توانند از طریق تولید اندوژنوس (از طریق بزاق) و یا از طریق بافرهای جیره (عمدتاً بیکربنات سدیم)، تامین شوند (11). بافرها موادی هستند که تمایل دارند در برابر تغییرات pH در هنگام اضافه شدن مقدار کم اسید یا باز مقاومت نمایند. از جمله مکمل‌هایی که در جیره به عنوان بافر مورد استفاده قرار می‌گیرند می‌توان به بیکربنات سدیم، سنگ آهک (کربنات کلسیم)، بنتونیت سدیم، کربنات منیزیم و اکسید منیزیم اشاره کرد. افزودن برخی بافرها مانند بیکربنات سدیم، کربنات منیزیم و بیکربنات پتاسیم فقط سبب خنثی کردن اسیدیته شکمبه می‌شود. درحالی‌که برخی ترکیبات علاوه بر این امر سبب افزایش pH شکمبه می‌شوند. بافرهای حقیقی از افزایش اسیدیته جلوگیری می‌کنند، اما pH را بالاتر از حد معینی نمی‌برند. بیکربنات سدیم، کربنات کلسیم، بنتونیت سدیم و کربنات منیزیم بافرهای حقیقی هستند. ترکیبات بازی کننده (آلکالایز) با اضافه شدن به محیط محلول می‌توانند باعث افزایش

امروزه اساسی‌ترین چالش در صنعت دامپروری به کارگیری جیره‌هایی با منابع خوراکی موجود، بدون مختل کردن اکوسیستم شکمبه، آسایش و عملکرد دام‌ها است. همه ساله بروز اسیدوز تحت حاد شکمبه‌ای ضررهای هنگفتی به صنعت دامپروری وارد می‌نماید. جیره‌هایی با کنسانتره بالا اغلب pH شکمبه و هضم فیبر را کاهش می‌دهد. نیاز به مواد بافری در جیره نشخوارکنندگان تابعی از ترشح بزاق، ظرفیت بافری مواد خوراکی و اسیدیته خوراک است (13). سال‌های زیادی است که مکمل‌های بافری و آلکالایزری در

1- دانشجوی دکترا تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

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

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

DOI:10.22067/ijasr.v11i4.73860

(Email: mojtahedi@birjand.ac.ir)

(*) نویسنده مسئول:

افزایش pH و کاهش قابلیت هضم ماده خشک گردید. کشور ایران و به ویژه استان خراسان جنوبی، به لحاظ معادن مختلف از جمله منیزیت، کائولینیت، بنتونیت و سایر کانی های غیرفلزی بسیار غنی می باشد، اما متأسفانه به دلیل عدم شناخت و آگاهی کافی از ترکیبات و ویژگی های آن ها، استفاده مؤثری از این ترکیبات نمی شود. این در حالی است که سالیانه حجم عظیمی از همین ترکیبات معدنی طبیعی و با فراوری خاص (به عنوان مکمل دامی و غیره) با برندهای مختلف تجاری، به کشور وارد می شود (26). هدف از انجام این مطالعه بررسی ظرفیت و شاخص ارزش بافری برخی ترکیبات بافری و آلکالایزری استان خراسان جنوبی (در مقایسه با جوش شیرین تجاری به عنوان متداول ترین ترکیب بافری) و تأثیر آن ها بر فراسنجه های تخمیر و هضم شکمبه ای در شرایط برون تنی بود.

مواد و روش ها

تهیه نمونه ها و طرح آزمایشی

نمونه های معدنی مورد استفاده در این تحقیق به روش استاندارد نمونه گیری از برخی معادن استان خراسان جنوبی تهیه شد. نمونه های گرفته شده شامل 4 نوع کربنات و اکسید منیزیم، 2 نوع بنتونیت سدیم و یک نمونه بیکربنات سدیم تجاری به عنوان رایج ترین مکمل بافری بود. سپس نمونه ها توسط آسیاب مخصوص پودر و با استفاده از الک با مش 18 (با قطر منافذ 1 میلی متر) غربال شدند و نمونه ها برای آنالیزهای آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفتند. این آزمایش شامل دو مرحله بود. در مرحله اول مقدار pH، ظرفیت بافری و شاخص ارزش بافری نمونه ها تعیین شد (3 تکرار برای هر فراسنجه). نمونه های مورد بررسی در این مرحله شامل 4 نوع کربنات منیزیم (کربنات منیزیم A، کربنات منیزیم B، کربنات منیزیم C و کربنات منیزیم D)، 4 نوع اکسید منیزیم (اکسید منیزیم A، اکسید منیزیم B، اکسید منیزیم C و اکسید منیزیم D)، 2 نوع بنتونیت سدیم (بنتونیت سدیم A و بنتونیت سدیم B) و یک نمونه بیکربنات سدیم بود. برای انجام مرحله دوم آزمایش ترکیبات منتخب در مرحله اول که بیشترین مقدار ظرفیت بافری را داشتند جهت افزودن به محیط کشت ثابت و بررسی تأثیر آن ها بر فراسنجه های تخمیر و هضم شکمبه ای در سطوح یک و سه درصد (برحسب ماده خشک) استفاده شدند.

اندازه گیری pH، ظرفیت و شاخص ارزش بافری

درصد رطوبت نمونه ها براساس روش ذکر شده در ASTM D2974-00 محاسبه گردید (5). مقدار pH توسط pH متر (مدل METROHM 727 PH LAB)، بر اساس توصیه ذکر شده در ASTM D4972-1 اندازه گیری شد (6). ظرفیت بافری طبق روش

pH شوند. از جمله این ترکیبات می توان به اکسید منیزیم اشاره نمود که یک بافر حقیقی نیست. مصرف بافرها باعث کاهش بروز اسیدوز در گاوهایی که با کنسانتره بالا تغذیه می شوند، می گردد. اما پاسخ های حیوانات در استفاده از بافرها بسیار متفاوت است (17).

مطالعات نشان داده اند که استفاده از بافرها در تغذیه دام شرایط محیطی شکمبه را بهبود بخشیده و به وسیله تعدیل اسیدیته شکمبه از افت pH جلوگیری می کنند. بیکربنات سدیم و اکسید منیزیم اثرات مثبتی بر بافری کردن شکمبه و عملکرد دام ها داشته اند. بیکربنات سدیم یک بافر ایده آل است که ثابت تفکیک اسیدی (pK) آن برابر 6/25 است، یعنی در pH معادل 6/25 این بافر می تواند اسمولاریته شکمبه را افزایش دهد و به این ترتیب نوع اسیدهای چرب فرار را تحت تأثیر قرار دهد (29). کربنات منیزیم به طور معمول از استخراج سنگ معدن منیزیت بدست می آید. در موارد نادر، این کانی ممکن است به طور مستقیم آسیاب شود و به عنوان منبع خوراکی منیزیم عرضه شوند. در این صورت، فراهمی منیزیم آن بسیار پایین است. استفاده اولیه از کربنات منیزیم تولید اکسید منیزیم از طریق فرآیند کلسینه کردن (احیا، اکسیداسیون و سوزاندن یا حرارت دادن با گرمای شدید) است (7). به طور معمول اکسید منیزیم به عنوان نمک منیزیم در جیره های گاوهای شیری با دارا بودن مقدار منیزیم بین 51 تا 59 درصد استفاده می شود. همچنین این نمک ها در جیره های گاوهای شیری به منظور قلیایی کردن اکوسیستم شکمبه -نگاری زمانی که مقدار علوفه جیره کمتر از حد نرمال و زمانی که مکمل منیزیم مورد نیاز است، گنجانده می شوند (37). تحقیقات مختلف نشان می دهد یکی از پیامدهای اصلی کمبود منیزیم در کاهش هضم علوفه و سلولز مشاهده می شود. همچنین استفاده از منیزیم سبب بهبود فعالیت باکتری های سلولیتیک در شرایط کشت ثابت شده است (8 و 31). در برخی گزارشات استفاده از کربنات منیزیم سبب بهبود شرایط تخمیر و افزایش جمعیت پروتوزوایی گردیده، این درحالی است که استفاده از اکسید منیزیم تولید گاز در شرایط برون تنی را کاهش داده است (38 و 39). همچنین ترکیب اکسید منیزیم و بیکربنات سدیم سبب افزایش pH شکمبه و کاهش تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی شده است (30). بنتونیت سدیم یک ماده معدنی از دسته رس ها یا شبه رس ها است و از کانی های متورم شونده تشکیل شده، که عموماً حاوی مونتموریلونیت و به مقدار کم بیدلایت است (26). خصوصیات ویژه بنتونیت از قبیل آبگیری، تورم و افزایش حجم با جذب آب، ویسکوزیته، ظرفیت بالای تبادل یونی و باند شدن با کاتیون های مختلف، آن را به ماده با ارزشی برای محدوده وسیعی از کاربردها در صنعت و سیستم های پرورشی و مزرعه ای تبدیل کرده است (2). مجتهدی (27) با بررسی تأثیر بنتونیت سدیم بر تخمیر و هضم شکمبه ای در شرایط برون تنی گزارش کرد که این ترکیب سبب

متری غربال شد و تجزیه تقریبی جیره آزمایشی با استفاده از روش ذکر شده در AOAC (4) اندازه‌گیری شد که به شرح جدول 1 است. به منظور افت pH در شرایط کشت ثابت جیره پایه از مخلوط 80 درصد کنسانتره و 20 درصد علوفه انتخاب شد.

کشت ثابت

در مرحله دوم آزمایش کشت ثابت مطابق با روش بلومل و همکاران (9) انجام شد. در این روش 500 میلی گرم ماده خشک جیره و 50 میلی لیتر مخلوط مایع شکمه و بزاق مصنوعی (به نسبت 1 به 2) در شیشه‌های 120 میلی لیتری بی هوازی، تحت جریان مداوم گاز دی اکسید کربن، قرار گرفت و فشار گاز تولیدی در زمان های 2، 4، 6، 8، 12، 24، 36، 48، 72 و 96 ساعت بعد از آغاز انکوباسیون با استفاده از فشار سنج کمی قرائت شد. برای انجام کشت ثابت مایع شکمه از 2 رأس گاو هلشتاین دارای فیستولای شکمبه‌ای که با جیره کاملاً مخلوط (50 درصد علوفه و 50 درصد کنسانتره) در 2 نوبت صبح (ساعت 6) و عصر (ساعت 17) و در حد احتیاجات نگهداری تغذیه می‌شدند، قبل از خوراک صبح گرفته شد و بلافاصله توسط چهار لایه پارچه متقال صاف گردید و به سرعت در فلاسک حاوی آب گرم (38 درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت و به آزمایشگاه منتقل گردید. جهت توقف فعالیت میکروبی و اندازه‌گیری pH، قابلیت هضم ماده خشک و غلظت نیتروژن آمونیاکی ویال‌ها به داخل آب سرد منتقل گردید. اندازه‌گیری pH محیط کشت در زمان‌های 8 و 24 ساعت پس از انکوباسیون توسط pH متر دیجیتال (مدل METROHM 727 PH LAB) انجام شد. جهت اندازه‌گیری مقدار ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون تنی طبق روش جهانی و همکاران (18) عمل شد (زمان‌های 8 و 24 ساعت پس از انکوباسیون)، بدین صورت که ابتدا نمونه‌ها با صافی 42 میکرومتر فیلتر شده و مواد باقی مانده در دمای 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت در آون قرار گرفتند و طبق فرمول $IVDMD = [A - (B \times 100 / C)] / A$ = وزن ماده خشک نمونه، B = وزن بعد از انکوباسیون و C = وزن ظرف خالی فاقد رطوبت بود (واحدها برحسب گرم ماده خشک). نیتروژن آمونیاکی با استفاده از روش فنل-هیپوکلریت (10) اندازه‌گیری شد. در این روش 5 میلی لیتر مایع شکمه در زمان‌های 8 و 24 ساعت پس از انکوباسیون صاف و با 333 میکرولیتر اسید کلریدریک 0/1 نرمال ترکیب شد و در دمای 20- درجه سانتی‌گراد منجمد گردید. برای تعیین نیتروژن آمونیاکی 3 میلی لیتر مایع شکمه به مدت 10 دقیقه با 1500 دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. با استفاده از محلول‌های هیپوکلریت، فنول و محلول استاندارد کلرید آمونیوم آماده‌سازی انجام شد و غلظت این فراسنجه توسط دستگاه الایزا در طول موج 550 نانومتر تعیین شد.

محمرری (25) محاسبه گردید. جهت اندازه‌گیری این فراسنجه مقدار نیم گرم از هر نمونه (براساس ماده خشک) به داخل بشر حاوی 30 میلی لیتر آب دوبار تقطیر اضافه و توسط مگنت به آرامی مخلوط شد. سپس توسط اسید هیدروکلریک و هیدروکسید سدیم تا رسیدن به pH های 5 و 7 تیتراسیون انجام شد. در انتها بر اساس مقدار اسید و باز مصرفی ظرفیت بافری هر نمونه طبق معادله زیر اندازه‌گیری شد.

$$BC = (\text{ml of 1N HCl}) + (\text{ml of 1N NaOH}) \times 10^3 / 30$$

شاخص ارزش بافری براساس پروتکل توکر و همکاران (36)

اندازه‌گیری شد، که به شرح ذیل است:

$$BVI = 100 + (10 \times (((\text{antilog}_{10}(-STPH)) - (\text{antilog}_{10}(-SAPH))) / (\text{antilog}_{10}(-STPH)) + ((SABC-STBC) / STBC)))$$

pH استاندارد 6 = SAPH، اسیدیته اولیه محلول نمونه، STBC = ظرفیت بافری استاندارد 50 میلی‌اکی‌والان در لیتر، SABC = ظرفیت بافری محلول نمونه

جدول 1- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره (درصد ماده خشک)

Table 1- Ingredient and chemical composition of basal diet (% of dry matter)

مقدار Amount	اجزای جیره Diet ingredients
20	کاه گندم Wheat straw
40	ذرت آسیاب شده Corn ground
40	جو آسیاب شده Barley ground
	ترکیب شیمیایی جیره Chemical composition of diet
1.26	چربی خام Crude fat
9.18	پروتئین خام Crude protein
7.8	خاکستر Ash
25.2	فیبر نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber (NDF)
13.56	فیبر نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber (ADF)
56.55	کربوهیدرات‌های غیر فیبری ¹ Non-fiber carbohydrates (NFC) ¹

¹ کربوهیدرات‌های غیر فیبری: 100 - (فیبر محلول در شوینده خنثی + درصد پروتئین خام + درصد چربی خام + درصد خاکستر)

$$^1 \text{NFC} = 100 - (\text{NDF} + \text{CP} + \text{EE} + \text{Ash})$$

جیره آزمایشی

جیره پایه در آزمایش تولید گاز و کشت ثابت شامل مخلوطی از کاه گندم، ذرت و جو بود که پس از آسیاب با استفاده از الک 1 میلی-

معادلات و روش‌های آماری

داده‌های حاصل از ظرفیت بافری، شاخص ارزش بافری و pH در مرحله‌ی اول آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از رویه GLM تجزیه و تحلیل شد. فشار گاز تولیدی در زمان‌های مختلف انکوباسیون با استفاده از رابطه تئودور و همکاران (35) به صورت حجم گاز تولید شده در زمان تبدیل گردید. تولید تجمعی گاز در زمان‌های مختلف محاسبه شد و فراسنجه‌های تولید گاز شامل نرخ تولید گاز (c) و پتانسیل تولید گاز (b) بر اساس مدل آماری ارسکوف و مکدونالد (28) به صورت تجمعی در زمان 96 ساعت انکوباسیون برآورد گردید. در انتها داده‌های به دست آمده از غلظت نیتروژن آمونیاکی، pH و قابلیت هضم ماده خشک در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه 9/4) و رویه GLM تجزیه و تحلیل آماری شده و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی-کرامر در سطح 5% خطا استفاده شد (33). مدل آماری مورد استفاده به صورت زیر بود:

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

که در این معادله Y_{ij} : متغیر وابسته، μ : میانگین کل، T_i : اثر تیمار و ε_{ij} : اثر خطای آزمایش بود.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به ماده خشک، pH، ظرفیت و شاخص ارزش بافری نمونه‌های مورد آزمایش در جدول 1 ارائه شده است. نتایج بدست آمده نشان داد که بین نمونه‌های مختلف از نظر pH تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P < 0/05$). بیشترین و کمترین مقدار pH به ترتیب در نمونه‌های گروه اکسید منیزیم و کربنات منیزیم مشاهده شد. بالاترین مقدار pH مربوط به نمونه اکسید منیزیم B (12/58) و پایین‌ترین مقدار را کربنات منیزیم A (6/30) بود. این مقادیر نشان می‌دهد که کاتیون‌های قلیایی قابل تبادل در بین لایه‌های ساختار نمونه اکسید منیزیم B بیش از سایر نمونه‌ها می‌باشد که با حل شدن در آب منجر به بالا رفتن میزان pH محلول شده است (26). ظرفیت و شاخص ارزش بافری در بین نمونه‌ها از اختلاف آماری برخوردار بود ($P < 0/05$). در بین نمونه‌ها بالاترین ظرفیت بافری مربوط به نمونه اکسید منیزیم A (386/888) و کمترین مقدار ظرفیت بافری را کربنات منیزیم D (0/666) داشت. همچنین بیشترین و کمترین مقدار شاخص ارزش بافری به ترتیب مربوط به نمونه‌های اکسید منیزیم A (177/377) و کربنات منیزیم A (93/198) بود. نتایج بدست آمده در این آزمایش با نتایج محرری (25) مطابقت نداشت، این محقق گزارش کرد که ظرفیت بافری بیکربنات سدیم بسیار بیشتر از اکسید منیزیم می‌باشد (188/33 در مقابل 3/40 میلی‌اکی‌والان). همچنین

برخلاف نتایج این آزمایش لی‌رویت و تاکر (22)، با بررسی اثر چندین بافر بر ظرفیت بافری به این نتیجه رسیدند که ترکیبات کربنات کلسیم و بی‌کربنات سدیم بیشترین مقدار ظرفیت بافری را نسبت به اکسید منیزیم داشتند. همچنین مهدوی‌راد و همکاران (23) گزارش کردند که ظرفیت بافری سسکوئی کربنات سدیم و بیکربنات سدیم بیشتر از اکسید منیزیم بوده و این ترکیبات مقادیر بیشتری اسید را خنثی می‌سازند که با یافته‌های این آزمایش هم‌خوانی ندارد. دلیل احتمالی تناقضات گزارش شده در این زمینه، می‌تواند به تفاوت‌های فیزیوشیمیایی، درصد خلوص و وجود برخی ترکیبات فرعی مانند آهنک و گچ، بین نمونه‌های مختلف معدنی مرتبط باشد. مجتهدی و وقارسیدین با بررسی تأثیر دما و زمان فرآوری بر تولید اکسید منیزیم از کربنات منیزیم، به این نتیجه رسیدند که این اثر می‌تواند در ظرفیت و شاخص ارزش بافری این نمونه بسیار تأثیر گذار باشد (نتایج گزارش نشده است).

با توجه به نتایج حاصل از مرحله‌ی اول ترکیبات کربنات منیزیم B، بنتونیت سدیم A و اکسید منیزیم A که ظرفیت بافری بالاتری را در بین نمونه‌ها از خود نشان داده بودند، انتخاب شدند و اثرات آنها بر فراسنجه‌های تولید گاز، هضم و تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی مورد بررسی قرار گرفت. تولید گاز مربوط به فعالیت میکروبی حاصل از تخمیر کربوهیدرات‌ها به استات، پروپیونات و بوتیرات است. جیره‌ها یا افزودنی‌های معدنی زیادی می‌توانند سبب تغییر و یا کاهش تخمیر شوند (8 و 31). نتایج مربوط به گاز تولیدی در جدول 3 ارائه شده است. نتایج بدست آمده نشان داد که بین تیمارهای مختلف از نظر پتانسیل تولید گاز در مدت 96 ساعت انکوباسیون تفاوت معنی‌داری وجود دارد و بیشترین مقدار پتانسیل تولید گاز در طول 96 ساعت انکوباسیون بین تیمارها مربوط به سطوح 3 درصد بیکربنات سدیم و 1 درصد کربنات منیزیم (به ترتیب 246/31 و 245/62 میلی‌لیتر) و کمترین مقدار این فراسنجه در سطح 3 درصد اکسید منیزیم (228/38 میلی‌لیتر) مشاهده شد. علاوه بر این نرخ تولید گاز نیز تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت و بیشترین مقدار این فراسنجه در تیمار 1 درصد بیکربنات سدیم (0/056 میلی‌لیتر در ساعت) مشاهده شد، که از نظر آماری نیز معنی‌دار بود. این درحالی بود که سطح 3 درصد اکسید منیزیم با نرخ تولید گاز 0/047 (میلی‌لیتر در ساعت) کمترین مقدار این فراسنجه را از خود نشان داد. علاوه بر این در بین تیمارها سطح 3 درصد بنتونیت سدیم سبب کاهش پتانسیل و نرخ تولید گاز در مقایسه با تیمار شاهد شد. محققین زیادی از روش تولید گاز برای برآورد ارزش کیفی بعضی از مواد افزودنی، فرآورده‌های خوارکی دامی، گیاهان و غیره استفاده کرده‌اند.

جدول 2 - مقایسه ماده خشک، pH، ظرفیت بافری و شاخص ارزش بافری بین نمونه‌های مورد آزمایش¹

نمونه Sample	ماده خشک (درصد) DM (%)	pH	ظرفیت بافری (میلی‌اکی‌والان در لیتر) BC ² (meq/L)	شاخص ارزش بافری BVI ³
A کربنات منیزیم Magnesium carbonate A	99.80	6.21 ^c	0.91 ^e	93.19 ^e
B کربنات منیزیم Magnesium carbonate B	99.98	6.88 ^c	1.11 ^e	98.54 ^e
C کربنات منیزیم Magnesium carbonate C	99.86	6.48 ^c	0.91 ^e	95.78 ^e
D کربنات منیزیم Magnesium carbonate D	99.85	7.91 ^b	0.66 ^e	99.99 ^e
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	99.94	8.61 ^b	282.22 ^c	156.41 ^{bc}
A بنتونیت سدیم Sodium bentonite A	99.83	8.51 ^b	3.11 ^e	100.58 ^d
B بنتونیت سدیم Sodium bentonite B	99.86	8.07 ^b	1.55 ^e	100.21 ^{de}
A اکسید منیزیم Magnesium oxide A	99.98	12.46 ^a	386.88 ^a	177.37 ^a
B اکسید منیزیم Magnesium oxide B	99.99	12.58 ^a	282.66 ^c	156.53 ^{bc}
C اکسید منیزیم Magnesium oxide C	99.96	12.21 ^a	248.22 ^d	149.64 ^c
D اکسید منیزیم Magnesium oxide D	99.98	12.19 ^a	306.88 ^b	161.37 ^b
P-value	0.9820	0.0001	0.0001	0.0001
SEM	0.083	0.187	2.578	1.440

¹ میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).² Means within same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).³ Buffering capacity³ Buffering value index

نیست، اما یکی از این مکانسیم‌های پیشنهادی در افزایش تولید گاز، افزایش تعداد میکروب‌های شکمبه با افزودن این ترکیبات عنوان شده است. مشخص شده است که افزودن بیکربنات سدیم، شمار کل باکتری‌های شکمبه، باکتری‌های سلولایتیک و آمیلولایتیک در بوفالو را افزایش داده است (21). چندین مطالعه درباره اثر منیزیم بر متابولیسم شکمبه در شرایط درون تنی وجود دارد. در آزمایشات برون تنی به دنبال کمبود منیزیم در متابولیسم شکمبه، کاهش هضم سلولز و خوراک‌های علوفه‌ای مشاهده شده است. (40 و 3). افزودن منیزیم در شرایط برون تنی سبب بهبود فعالیت باکتری‌های سلولایتیک در محیط کشت می‌شود، این پاسخ در غیاب منگنز و زمانی که منیزیم جذب شده توسط میکروب‌ها طی فرایند تخمیر مصرف می‌شود، خود را بهتر نشان می‌دهد (20). براساس نتایج این آزمایش اکسید منیزیم سبب کاهش تولید و نرخ تولید گاز می‌شود، که این نتایج تأیید کننده گزارشات وارادیا و همکاران (39) در خصوص کاهش گاز تولیدی از مکمل‌های منیزیت کلسینه شده (اکسید منیزیم) در مقایسه با تیمار

(24، 38 و 39). هم‌راستا با نتایج این آزمایش، گزارشات بدست آمده از مطالعه وارادیا و همکاران (38) نشان می‌دهد که مکمل‌های دولومیتی (کربنات منیزیم)، تولید گاز در شرایط برون تنی را نسبت به تیمار فاقد مکمل افزایش می‌دهند. توضیح احتمالی این امر اثرات بافری مکمل‌های دولومیتی بر جلوگیری از تولید اسید حاصل از کربوهیدرات‌ها عنوان شده است (15، 16، 40). در مطالعه دیگر گاز تولیدی از مکمل کربنات منیزیم (دولومیت) در مقایسه با اکسید منیزیم و کربنات کلسیم بیشتر بود (38). نتایج این آزمایش گزارشات مائو و همکاران (24) را که عنوان نمودند تیمار حاوی بیکربنات سدیم سبب افزایش تولید گاز نسبت به تیمار کنترل می‌شود را تأیید می‌کند. هم‌راستا با نتایج این آزمایش مجتهدی (26) گزارش کرد که استفاده از 6 درصد نمونه‌های مختلف بنتونیت سدیم در محیط کشت سبب کاهش معنی‌دار تولید و نرخ گاز در مقایسه با تیمار شاهد شده است. هرچند مکانیسم دقیقی برای پاسخ به افزایش تولید گاز در افزودن مکمل‌هایی مانند بیکربنات سدیم و کربنات منیزیم شناخته شده

طرفی کاهش تولید متان با کاهش جمعیت پروتوزوایی همبستگی مثبت دارد (38 و 39).

شاهد می‌باشد. عنوان شده است که منیزیت‌های کلسینه شده اثر آشکاری بر متانوژن‌ها داشته و از این طریق سبب کاهش تولید متان و در نتیجه کاهش حجم گاز تولیدی در طول انکوباسیون می‌گردند. از

جدول 3- تأثیر سطوح مختلف ترکیبات بافری و آلكالایزری بر فراسنجه‌ها و حجم گاز تولیدی در مدت 96 ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر به ازای گرم ماده خشک)¹

Table 3- Effect of different levels of buffer and alkalizer compounds on gas production parameters and volume after 96 h incubation (ml/DM)¹

تیمار Treatment	سطح Level (%)	ضرایب تولید گاز Gas production Parameters	
		مقدار تولید گاز (b) Cumulative gas production (ml/g DM)	
		نرخ تولید گاز (c) Gas production rate (ml/h)	
شاهد Control	0	242.93 ^b	0.053 ^c
کربنات منیزیم Magnesium carbonate	1	245.62 ^a	0.055 ^b
کربنات منیزیم Magnesium carbonate	3	237.37 ^c	0.055 ^b
اکسید منیزیم Magnesium oxide	1	235.86 ^c	0.052 ^d
اکسید منیزیم Magnesium oxide	3	228.38 ^d	0.047 ^e
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	1	242.57 ^b	0.056 ^a
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	3	246.31 ^a	0.053 ^c
بنتونیت سدیم Sodium bentonite	1	240.25 ^b	0.053 ^c
بنتونیت سدیم Sodium bentonite	3	236.13 ^c	0.052 ^d
P-Value	-	<0.0001	<0.0001
SEM	-	0.321	0.001

¹میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0/05$).

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

است که افزایش معنی‌دار pH محیط کشت با افزودن بنتونیت می‌تواند به دلیل کاتیون‌های قابل تعویض با یون هیدروژن، به‌عنوان تعدیل‌کننده یون هیدروژن در محیط کشت بوده و از کاهش شدید pH شکمبه جلوگیری نماید (26). از آنجایی که مهمترین اثر بافرها حفظ و پایداری pH مایع شکمبه است، لذا هرچه میزان pH بالاتر رود، هضم و تخمیر مواد خوراکی به واسطه میکروب‌ها بهبود می‌یابد. مطالعات مربوط به افزودن بیکربنات سدیم به جیره گاوهای شیری نشان می‌دهد که این ترکیب به افزایش pH (بوسیله بافری کردن) و افزایش نرخ رقت شکمبه کمک می‌کند (11 و 34). ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون‌تنی شاخصی است که می‌تواند با میزان هضم دستگاه گوارش نشخوارکنندگان مرتبط باشد. بیشترین مقدار ماده خشک ناپدید شده بعد از 8 و 24 ساعت انکوباسیون مربوط به تیمار 1 درصد کربنات منیزیم (به‌ترتیب 43/5 و 63/0 درصد) بود، که با سایر تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌داری داشت. درصد ماده خشک

تغییرات pH، IVDMD و غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت در جدول 4 خلاصه شده است. بالاترین مقدار pH مایع شکمبه در محیط کشت ثابت در زمان‌های 8 و 24 ساعت مربوط به نمونه‌های اکسید منیزیم سه درصد بود (به‌ترتیب 6/84 و 6/77) که با سایر نمونه‌های آزمایشی از نظر آماری اختلاف داشت ($P<0/001$). دلیل این مسئله بالا بودن ظرفیت بافری اکسید منیزیم است که به صورت خطی با افزایش مقدار این ماده، مقدار pH و مصرف اسید افزایش می‌یابد. علاوه بر این ترکیبات کربنات منیزیم (سطح 3 درصد) و بنتونیت سدیم (سطح 1 درصد) نیز سبب افزایش معنی‌دار pH پس از 24 ساعت انکوباسیون در مقایسه با تیمار کنترل شدند ($P<0/001$). کمترین مقدار pH در زمان 8 ساعت پس از انکوباسیون نیز مربوط به تیمار شاهد بود، که از نظر آماری با سایر تیمارها اختلاف داشت. هم‌سو با نتایج این آزمایش استفاده از 6 درصد بنتونیت سدیم در شرایط برون‌تنی باعث افزایش pH محیط کشت شده است (26). عنوان شده

طرفی نتایج بدست آمده از این بخش از آزمایش با نتایج بدست آمده از تولید گاز همخوانی داشت و تیمارهای کربنات منیزیم و اکسید منیزیم که به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار گاز تولیدی را به خود اختصاص داده بودند، به همان نسبت قابلیت هضم ماده خشک را هم تحت تأثیر قرار دادند. به‌طور کلی بافرها و ترکیبات آلکالایزری اثری بر قابلیت هضم ماده خشک نداشته و احتمالاً کاهش این فراسنجه در تیمار اکسید منیزیم بیانگر تغییر جمعیت‌های میکروبی مایع شکمبه تحت تأثیر این تیمارها می‌باشد.

ناپدید شده توسط سطوح یک و سه درصد بنتونیت سدیم در مقایسه با تیمار شاهد به‌صورت عددی کاهش یافت ولی این اختلاف معنی‌دار نبود. همچنین نتایج این آزمایش گزارشات مجتهدی (26) و جاسکوز و همکاران (19) را که عنوان کردند افزودن 2 تا 10 درصد بنتونیت سدیم سبب کاهش قابلیت هضم ماده خشک می‌گردد، تأیید می‌کند. به‌علاوه کمترین مقدار این فراسنجه در تیمار 3 درصد اکسید منیزیم مشاهده شد که با نتایج پیرز و همکاران (29) هم‌خوانی نداشت. این محققین گزارش نمودند که 0/5 درصد اکسید منیزیم سبب تغییر در قابلیت هضم ماده خشک در مقایسه با بیکربنات سدیم نمی‌گردد. از

جدول 4- اثر سطوح مختلف ترکیبات بافری و آلکالایزری بر فراسنجه‌های تخمیر و قابلیت هضم ماده خشک در زمان‌های 8 و 24 ساعت¹
Table 4- Effect of different levels of buffer and alkalizer compounds on the fermentation parameters and dry matter digestibility after 8 and 24h incubation¹

تیمار Treatment	سطح Level (%)	pH		ماده خشک ناپدید شده (درصد) IVDMD (%)		نیتروژن آمونیاکی NH ₃ -N (mmol/L)	
		8	24	8	24	8	24
شاهد Control	0	6.79 ^d	6.63 ^{cd}	42.64 ^{ab}	62.10 ^a	13.55	13.64
کربنات منیزیم Magnesium carbonate	1	6.82 ^{cd}	6.64 ^c	43.54 ^a	63.02 ^a	13.73	13.58
کربنات منیزیم Magnesium carbonate	3	6.88 ^b	6.66 ^b	42.33 ^a	61.49 ^a	13.55	13.61
اکسید منیزیم Magnesium oxide	1	6.84 ^c	6.66 ^b	41.32 ^{ab}	60.09 ^{ab}	13.74	13.60
اکسید منیزیم Magnesium oxide	3	6.95 ^a	6.77 ^a	38.85 ^b	57.40 ^b	13.61	13.59
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	1	6.84 ^c	6.64 ^c	43.89 ^a	62.88 ^a	13.73	13.78
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	3	6.89 ^b	6.68 ^b	42.95 ^{ab}	62.70 ^a	13.56	13.65
بنتونیت سدیم Sodium bentonite	1	6.82 ^{cd}	6.68 ^b	42.14 ^{ab}	61.80 ^a	13.55	13.60
بنتونیت سدیم Sodium bentonite	3	6.86 ^{bc}	6.61 ^d	41.38 ^{ab}	60.79 ^{ab}	13.64	13.59
P-Value	-	<0.0001	<0.0001	0.0121	0.0009	0.1448	0.2443
SEM	-	0.006	0.006	0.331	0.345	0.022	0.018

¹ میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0/05).

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

افزودن 4 درصد بنتونیت سدیم به‌طور مؤثری باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در زمان 4 ساعت پس از شروع انکوباسیون گردید. همین محققین عنوان کردند که استفاده از 4 درصد از بنتونیت، به‌طور مؤثری غلظت نیتروژن آمونیاکی را خصوصاً در ساعات اولیه پس از انکوباسیون کاهش داده و این اثر با بالا رفتن میزان تجزیه‌پذیری پروتئین بیشتر می‌شود. همچنین نتایج این آزمایش تأیید کننده گزارشات مائو و همکاران (24) است، که عنوان نمودند بیکربنات سدیم سبب تغییر غلظت نیتروژن آمونیاکی در مقایسه با تیمار شاهد

علاوه بر این اختلاف معناداری در غلظت نیتروژن آمونیاکی بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (P=0/2443). نتایج گزارش شده در ارتباط با تأثیر بافرها و آلکالایزرها بر غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه، تا حدودی متناقض است. هم راستا با نتایج این آزمایش، آقاشاهی و همکاران (1) گزارش کردند که افزودن 2 درصد بنتونیت سدیم به جیره تأثیر معنی‌داری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه نداشت، اما باعث کاهش نوسانات و افزایش یکنواختی نسبی غلظت نیتروژن آمونیاکی نسبت به تیمار شاهد می‌شود، درحالی‌که

بافره‌های خوراکی به‌طور گسترده به‌منظور بهبود تأثیر زیان‌بار اسیدیته در جیره‌هایی با مواد متراکم بالا استفاده می‌شوند، اما پاسخ به بافرها متغیر و غیرقابل پیش‌بینی است (14)، لذا شاید یکی از علل تفاوت بین نتایج آزمایش‌های مختلف را بتوان به تفاوت در ترکیب جیره‌هایی که بافر در آنها استفاده می‌شود مرتبط دانست.

نتیجه‌گیری

بطور کلی نتایج این آزمایش نشان دارد که اکسید منیزیم در عین حال که سبب افزایش pH مایع شکمبه می‌شود، اثرات منفی نیز بر فراسنجه‌های تولید گاز، تخمیر و احتمالاً فعالیت میکروبی دارد و موجب کاهش قابلیت هضم ماده خشک نیز می‌گردد. ولی کربنات منیزیم و بنتونیت سدیم به عنوان یک بافر حقیقی و با توجه به حفظ و پایداری اسیدیته مایع شکمبه می‌توانند بدون داشتن اثرات منفی بر قابلیت هضم سبب بهبود شرایط تخمیر شوند، بنابراین استفاده از سطوح یک درصد کربنات منیزیم و بنتونیت سدیم به عنوان بافر حقیقی در جیره دام‌ها پیشنهاد می‌شود.

نمی‌شود. اعتقاد بر این است که برخی ترکیبات از قبیل بنتونیت‌ها، قادر به جذب و رهاسازی دوباره پروتئین‌ها و سایر سوبستراهای نیتروژنه هستند، از این رو وقتی تجمع آمونیاک در شکمبه بالا باشد، آن را جذب کرده و زمانی که غلظت آمونیاک کاهش یابد، مقدار زیادی از آن را آزاد می‌کنند و از این طریق باعث افزایش راندمان استفاده از آمونیاک و پروتئین در شکمبه می‌شوند (26، 32). عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار در غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت در این آزمایش می‌تواند بدلیل عدم وجود مکمل پروتئینی و کم بودن پروتئین‌خام در جیره آزمایشی باشد. همچنین از آنجایی که ترکیبات مورد استفاده در این آزمایش به نوعی جاذب به شمار می‌روند می‌توانند اثرات مشابهی بر غلظت نیتروژن آمونیاکی داشته باشند که سبب تأثیر یکسان آن‌ها بر غلظت این فراسنجه شده باشد.

میزان بافر مورد نیاز در جیره گاو شیری تابعی از مقدار ترشح بافر بزاقی، ظرفیت بافری خوراک و ارزش اسیدزایی خوراک، میزان مصرف خوراک، ماده آلی قابل‌هضم و مقدار فیبر خوراک است. افزودن بافر هنگامی اهمیت می‌یابد که مقدار بافر تولید شده در بزاق و همچنین ظرفیت بافری مواد خوراکی تغذیه شده پائین باشد.

منابع

- 1- Aghashahi, A., A. Nikkhash, S. A. Mirhadi., M. Zahedifar, and H. Mansouri. 2005. Effects of different level of unprocessed bentonite, processed bentonite, and clinoptilolite at different rumen degradable protein level, on ammonia concentration, soluble and digestible protein (in-vitro). Pajouhesh and Sazandegi, 70: 80-90. (In Persian).
- 2- Agnote, M. 2004. Drought feeding and managing sheep. 4th. pp: 36. Victorian Government. Victoria, Australia.
- 3- Ammerman, C. B., C. F. Chicco., J. E. Moore., P. A. Van Wallenghem, and L. R. Arrington. 1971. Effect of dietary magnesium on voluntary feed intake and rumen fermentation. Journal of Dairy Science, 54(9), 1288-1292.
- 4- AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- 5- ASTM D2974-14. 2014. Standard Test Methods for Moisture, Ash, and Organic Matter of Peat and Other Organic Soils, ASTM International, West Conshohocken, PA.
- 6- ASTM D4972-13. 2013. Standard Test Method for pH of Soils, ASTM International, West Conshohocken, PA.
- 7- Beede D. K. 2017. Can we differentiate supplemental magnesium sources nutritionally? Tri-State Dairy Nutrition Conference. April. 17-19.
- 8- Bennink, M., R. T. R. Tyler., G.M. Ward, and D.E. Johnson. 1978. Ionic milieu of bovine and ovine rumen as affected by diets. Journal of Dairy Science, 61: 315-323.
- 9- Blümmel, M., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 1997. In vitro gas production: a technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 77: 24-34.
- 10- Broderick, G. A, and J.H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. Journal of Dairy Science, 63: 64-75.
- 11- Chalupa, W., D. T. Galligan, and J. D. Ferguson. 1996. Animal nutrition and management in the 21st century: dairy cattle. Animal Feed Science and Technology, 58: 1-18.
- 12- Cruywagen C. W., S. Taylor., M. M. Beya, and T. Calitz. 2015. The effect of buffering dairy cow diets with limestone, calcareous marine algae, or sodium bicarbonate on ruminal pH profiles, production responses, and rumen fermentation Journal of dairy Science, 98: 5506-5514.
- 13- Danesh Mesgaran, M., J. Amini, and M. Paktinat. 2013. In vitro usage of various non-organic compounds to subdue acidogenic value and enhance the fermentation of alfalfa hay-based diets by mixed rumen microbiota. Journal of Livestock Production, 4(10): 165-170.
- 14- Erdman, R. A. 1988. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: A review. Journal of Dairy Science, 71: 3246-3266
- 15- Goff, J.P., 2004. Macromineral disorders of the transition cow. VETERINARY Clinics of NORTH America, 20: 471-494.

- 16- Goff, J.P., 2006. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. *Animal Feed Science Technology*, 126: 237–257.
- 17- Horn, G. W., J. L. Gordon., E. C. Prigge, and F. N. Owens. 1979. Dietary buffers and ruminal and blood parameters of subclinical lactic acidosis in steers. *Journal of Animal Science*, 48(3): 683-691.
- 18- Jahani, A. H., M. Danesh Mesgaran., A. Vakili., K. Rezayazdi, and M. Hashemi. 2011. Effect of various medicinal plant essential oils obtained from semi-arid climate on rumen fermentation characteristics of a high forage diet using in vitro batch culture. *African Journal Microbial Research*, 5: 4812-4819.
- 19- Jacques, K.A., D. E. Axe., T. R. Harris, and D. L. Harmon. 1986. Effect of sodium bicarbonate and sodium bentonite on digestion, solid and liquid flow, and ruminal fermentation characteristics of forage sorghum silage-based diets fed to steers. *Journal of Animal Science*, 63: 923-932.
- 20- Komisarczuk-Bony, S, and M. Durand. 1991. Effects of minerals on microbial metabolism. In: Jouany, J.P. (Ed.), *Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion*. INRA Editions, Paris, 179–198.
- 21- Koul, Y., U. Kumar., K. Sareen, and S. Singh. 1998. Effect of sodium bicarbonate supplementation on ruminal microbial populations and metabolism in buffalo calves. *Indian Journal Animal Science*, 68(7): 629-631.
- 22- Le Ruyet, P, and W.B. Tucker. 1992. Ruminal Buffers: Temporal Effects on Buffering Capacity and pH of Ruminal Fluid from Cows Fed a High Concentrate Diet. *Journal of Dairy Science*, 75: 1069-1077
- 23- Mahdavi Rad, N., M. Chaji., M. Bojarpour, and M. Dehghanbanadaki. 2018. Investigation the buffering capacity of several conventional buffer compounds in feeding of ruminant animals by acid titration method and their effect on gas production parameters. *Iranian Journal of Animal Science*, 48 (4): 559-571. (in Farsi)
- 24- Mao, S., W. Huo., J. Liu., R. Zhang, and W. Zhu. 2017. In vitro effects of sodium bicarbonate buffer on rumen fermentation, levels of lipopolysaccharide and biogenic amine, and composition of rumen microbiota. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(4): 1276-1285.
- 25- Moharrery, A. 2007. The determination of buffering capacity of some ruminant's feedstuffs and their cumulative effects on TMR ration. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2 (4):72-78.
- 26- Mojtahedi, M. 2013. Identification of nanostructure and nanoporous bentonite adsorbents and their efficiency on aflatoxin b_1 detoxification *in vitro* and *in vivo*. Ph.D. Dissertation. Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (In Persian)
- 27- Mojtahedi, M., M. Danesh Mesgaran., S. A. Vakili, and E. Abdi Ghezeljeh. 2013. Effect of esterified glucomannan on carryover of aflatoxin from feed to milk in lactating holstein dairy cows. *Annual Review and Research in Biology*, 3: 76-82.
- 28- Ørskov, E.R, and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradation in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agriculture Science*, 92: 499–503.
- 29- Peirce, S.B., L. D. Muller, and H.W. Harpster. 1983. Influence of sodium bicarbonate and magnesium oxide on digestion and metabolism in yearling beef steers abruptly changed from high forage to high energy diets. *Journal of Animal Science*, 57(6): 1561-1567.
- 30- Perez-Ruchel, A., J. L. Repetto, and C. Cajarville. 2014. Use of NaHCO_3 and MgO as additives for sheep fed only pasture for a restricted period of time per day: effects on intake, digestion and the rumen environment. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98(6): 1068-1074.
- 31- Rayssiguier, Y, and C. Poncet. 1980. Effect of lactose supplement on digestion of Lucerne hay by sheep. II. Absorption of magnesium and calcium in the stomach. *Journal of Animal Science*, 51: 186–192.
- 32- Saleh, M. S, and A. B. Bonf. 2000. Bentonite supplementation to concentrate for lactating buffaloes. *Egypt Journal of Nutrient Feeds*, 6: 67-78.
- 33- SAS Institute Inc. 2009. *Statistical Analysis System (SAS) User's Guide*, SAS Institute, Cary, NC, USA.
- 34- Shaw, F. D, and W. J. Pryor. 1972. Feeding wheat to cattle. 2. The effect of level of wheat and sodium bicarbonate on ruminal characteristics. *Australian Veterinary Journal*, 48: 504-507.
- 35- Theodorou, M. K., B. A. Williams., M. S. Dhanoa., A. B. McAllan, and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48: 185-197.
- 36- Tucker, W. B., J. F. Hogue., M. Aslam., M. Lema., M. Martin., F. N. Owens., I. S. Shin., P. Le Ruyet, and G. D. Adams. 1992. A buffer value index to evaluate effects of buffers on ruminal milieu in cows fed high or low concentrate, silage, or hay diets. *Journal of Dairy Science*, 75: 1069-1077.
- 37- Urdaz, J.H., J.E.P. Santos, P. Jardon, and M.W. Overton. 2003. Importance of appropriate amounts of magnesium in rations for dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 222: 1518-1523.
- 38- Váradyová, Z., M. Baran., W. Zawadzki, and P. Siroka. 2003. Effect of dolomite, magnesium oxide (MgO) and chalk (CaCO_3) on in vitro fermentation of amorphous and crystalline cellulose and meadow hay using inoculum from sheep. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 116(1-2): 50-54.
- 39- Váradyová, Z., S.K. Kisidayov., K. Mihalikov, and M. Baran. 2006. Influence of natural magnesium sources on the in vitro fermentation and protozoan population in the rumen fluid collected from sheep. *Small Ruminant*

- Research, 61: 63–71.
- 40- Wilson, G.F. 1980. Effects of magnesium supplements on the digestion of forages and milk production of cows with hypomagnesaemia. *Animal Production*, 31: 153–157.



Investigation the buffering capacity of some native alkalizer and buffer compounds and their effect on fermentation and rumen digestion parameters *in vitro*

Seyed Morteza Vaghar Seyedin¹ Mohsen Mojtahedi^{2*}, Seyed Ehsan Ghiasi², Mohammad Hasan Fathi Nasri³

Received: 01-07-2018

Accepted: 09-10-2018

Introduction: Buffering and alkalizing supplements have been used in dairy cows in order to increase production and prevention of ruminal acidosis for many years. Magnesium carbonate is typically obtained from magnesite mines and magnesium oxide is produced by the calcification of magnesium carbonate (reduction, oxidation and burning or heating with extreme heat). Some minerals such as bentonite and zeolite have buffering properties and a special role in the buffering capacity of rumen cation exchange. Buffers raise acetate to propionate ratio and improve fiber digestion. The purpose of this experiment was to evaluate the buffering capacity (BC) and buffering value index (BVI) of some native buffer and alkalizer agents including sodium bentonite, magnesium carbonate, magnesium oxide and sodium bicarbonate and their effects on ruminal fermentation and digestion parameters *in vitro*.

Materials and Methods: The first experiment was performed with different types (11 samples) of buffer and alkalizer agents to determine the buffering Capacity (BC) and buffer Value Index (BVI). The experimental samples were including magnesium carbonate A (MgCA), magnesium carbonate B (MgCB), magnesium carbonate C (MgC C), magnesium carbonate D (MgC D), magnesium oxide A (MgOA), magnesium oxide B (MgOB), magnesium oxide C (MgOC), magnesium oxide D (MgOD), sodium bentonite A (SBeA), sodium bentonite B (SBeB) and sodium bicarbonate (SBI). The buffering capacity was defined as the resistance to change in pH from 7 to 5. In order to determine BC, individual samples were dried and ground to pass through 1-mm screen. Buffering capacity was determined by titrating the 30-ml solution under continuous stirring from its initial pH to 5 with 1 N HCl and by titrating a similar prepared solution of samples from its initial pH to 7 with 1 N NaOH. In the second experiment *in vitro* batch culture technique used. The basal diet contains 80 percent of the concentrate and 20 percent of the forage. half-gram (DM) of base ration with magnesium carbonate (MgC), magnesium oxide (MgO), sodium bentonite (SBe) and sodium bicarbonate (SBI) (1 and 3% DM of ration) were added into the culture vials, then incubated with 50 ml of buffered rumen fluid. Rumen fluid was collected from two ruminally fistulated cows. The gas production was estimated. *In vitro* dry matter disappearance (IVDMD), pH and ammonia nitrogen (NH₃-N) was measured after 8 and 24 h incubation times.

Results and Discussion: The results showed that the highest pH, buffering capacity and buffering value index were in MgOA and the least of these parameters indicated at MgCD, respectively. Compared to the control lower values were obtained for total gas production (b) of MgO 3%, MgC 3%, MgO 1% and SBe 3% additives. In the present study, addition of MgC and SBI (3% DM diet) also caused a remarkably increase in total gas production. Although the exact mechanisms are not known for the general responses in gas production to supplementation of MgC and SBI, one of the mechanisms of increasing total gas production is considered to be the higher ruminal microbial numbers caused by the SBI and MgC addition. It has been demonstrated that SBI addition increased the number of ruminal total bacteria, cellulolytic and amylolytic bacteria in buffalo. 3% MgO supplementation increased ($P < 0.05$) the final pH and it decreased ($P < 0.05$) the IVDMD compared with the control (after 24h incubation). Significant increase in pH by additive MgO and bentonite can be due to the exchange of cations with hydrogen ion as a modifier of hydrogen ion. Also, in this experiment use of SBe decreased digestibility of dry matter. Some researchers reported that 0.5% MgO (DM diet) does not change the digestibility of dry matter compared to sodium bicarbonate. On the other hand, results of this section of

1- Ph.D Student of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran.

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

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

(* Corresponding Author's Email: mojtahedi@birjand.ac.ir)

DOI:10.22067/ijasr.v11i4.73860

experiment was in agreement with results of gas production, MgC and MgO treatments which had the most and least amount of produced gas (respectively), these also affected digestibility of dry matter. Generally, buffers and alkalizing compounds have no effect on digestibility of dry matter, and probably this reduction in magnesium oxide treatment may indicated a change in the microbial population of ruminal fluid because of the effects of these treatments. In addition, Concentration of $\text{NH}_3\text{-N}$ did not differ ($P = 0.2443$) between the treatments. Some compounds, such as bentonites, are believed to be able to absorb and release proteins and other nitrogen substrates, so absorbing it when ammonia is high in the rumen, and when the ammonia concentration is reduced, a large amount of it released and thus increases the efficiency of ammonia and protein in the rumen.

Conclusion: In general, the results of this experiment show that magnesium oxide, while increasing the pH of the rumen fluid, also has negative effects on the parameters of gas production, fermentation and possibly microbial activity, and also reduces the *in vitro* digestibility of dry matter. However, magnesium carbonate and sodium bentonite as a true buffer and due to the preservation and stability of rumen fluid acidity can improve fermentation conditions without having a negative effect on digestibility, so using 1% magnesium carbonate and sodium bentonite as a true buffer is suggested in the livestock diet.

Keywords: Buffering capacity, Digestibility, Magnesium carbonate, Magnesium Oxide, Sodium bentonite.



تأثیر تغذیه منابع مختلف چربی در اواخر آبستنی و اوایل دوره شیردهی بر قابلیت هضم ظاهری، فراسنجه‌های شکمبه‌ای و الگوی تغییرات اسیدهای چرب شیر میش‌های افشاری

مهدی قهرمانی^{1*}، اکبرتقی‌زاده²، علی حسین خانی²، حمیدرضا میرزایی الموتی³، غلامعلی مقدم²، حمید پایا²

تاریخ دریافت: 1397/10/21

تاریخ پذیرش: 1398/02/07

چکیده

این پژوهش جهت بررسی تأثیر افزودن منابع مختلف چربی بر قابلیت هضم ظاهری، فراسنجه‌های شکمبه و الگوی اسیدهای چرب شیر میش‌های افشاری انجام شد. تعداد 50 رأس میش افشاری با میانگین وزن اولیه $9/29 \pm 88/7$ کیلوگرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و 10 تکرار استفاده شد. جیره‌های آزمایشی شامل: 1- جیره شاهد بدون مکمل چربی؛ 2- جیره حاوی 3 درصد پودر چربی محافظت شده اسیدهای چرب اشباع؛ 3- جیره حاوی 3 درصد مکمل نمک کلسیمی اسیدهای چرب امگا-6؛ 4- جیره حاوی 3 درصد نمک کلسیمی اسیدهای چرب امگا-3؛ 5- جیره حاوی 2 درصد پودر چربی محافظت شده اسیدهای چرب اشباع و 1 درصد فرآورده حاوی اسید لینولئیک مزدوج بود. خوراک مصرفی به طور روزانه و نمونه‌برداری از آن جهت تعیین قابلیت هضم هفته‌ای یک‌بار انجام شد. رفتار خوراک خوردن، تعیین pH شکمبه، فراسنجه‌های شکمبه و نمونه‌برداری از شیر جهت تعیین الگوی اسید چرب شیر بعد از زایش انجام شد. با افزودن منابع چربی ماده خشک مصرفی قبل از زایش کاهش و بعد از زایش افزایش پیدا کرد. قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی با افزودن منابع اسیدهای چرب اشباع کاهش پیدا کرد. رفتار خوراک خوردن و غلظت و نسبت اسیدهای چرب فرار و pH شکمبه تحت تأثیر منابع چربی قرار نگرفت. تیمار حاوی منبع اسیدهای چرب مزدوج باعث افزایش معنی‌دار غلظت اسید لینولئیک مزدوج شیر شد، سایر منابع نیز بصورت عددی باعث افزایش این اسید چرب شیر شدند. اثرات متفاوتی از منابع چربی بر ماده خشک مصرفی در پیش و پس از زایش مشاهده شد و منابع چربی باعث بهبود ماده خشک مصرفی بعد از زایش شد. افزودن منابع چربی باعث بهبود الگوی اسید چرب شیر شد.

واژگان کلیدی: اسید لینولئیک، اواخر آبستنی، دوره انتقال، روغن پالم، روغن ماهی، میش

مقدمه

برای تولید آغوز و رفع نیازهای متابولیکی که با کاهش اشتها و کاهش خوراک مصرفی همراه است، نقطه شروع قرار گرفتن حیوان در توازن منفی انرژی می‌باشد که پیش زمینه بروز مشکلات بعدی در حول و حوش زایش و پس از زایش می‌باشد (47). گزارش شده است که توازن منفی انرژی در اواخر دوره آبستنی گوسفند منجر به بیماری مسمومیت آبستنی و کتوز می‌شود و احتمال مرگ و میر میش و جنین را افزایش می‌دهد (22). یکی از راه کارهای تغذیه‌ای جهت افزایش غلظت انرژی جیره و حداقل کردن توازن منفی انرژی استفاده از منابع مختلف چربی می‌باشد (31). پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که تغذیه اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه در زمان‌های مختلف به گاو شیری سبب بهبود سیستم ایمنی حیوان پس از زایش (39) و کاهش تجمع چربی در کبد و پیش‌گیری از بروز کبد چرب در دوره انتقال (6) می‌شود، همچنین استفاده از منابع مختلف چربی‌ها می‌تواند منافع مختلفی از جمله بهبود افزایش جذب مواد محلول در چربی، اثرات

دوره انتقال به‌طور مشخص سه هفته قبل از زایش و سه هفته بعد از زایش را شامل می‌شود که به عنوان حساس‌ترین مرحله در چرخه زندگی گوسفند و گاو شیری مطرح است که با تغییرات شدید فیزیولوژیکی و بروز بیماری‌ها در ارتباط است (16). وقوع مشکلات سلامتی در طی این دوره یکی از عوامل اساسی تأثیرگذار بر عملکرد حیوان پس از زایش می‌باشد. افزایش تقاضا برای انرژی و مواد مغذی

1- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
2- به ترتیب استاد، دانشیار، استاد و استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
3- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان
(*-نویسنده مسئول: Email: m.ghahremani58@gmail.com
DOI:10.22067/ijasr.v11i4.78462

16 به میش‌ها ارائه شد و هر روز باقیمانده خوراک پیش از عرضه وعده صبح از آخور جمع‌آوری و وزن‌کشی شد. دسترسی به آب آزاد بوده و خوراک 5 تا 10 درصد بیشتر از حد اشتها عرضه می‌شد. هر هفته یک بار از خوراک مصرفی برای تعیین ترکیبات آن نمونه‌برداری شد. اندازه‌گیری پروتئین خام، چربی خام و خاکستر نمونه‌های خوراک بر اساس روش‌های آزمایشگاهی بین‌المللی (3) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی از طریق شستشو در شوینده خنثی به مدت یک ساعت (45) انجام گرفت. کربوهیدرات‌های غیر الیافی به روش تفاوت از کسر کردن مجموع چربی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و خاکستر از صد محاسبه شد (30). قابلیت هضم ظاهری ماده خشک در دستگاه گوارش به روش خاکستر نامحلول در اسید تعیین گردید (44).

اندازه‌گیری تولید شیر در روز 28 انجام شد. بدین منظور در روز نمونه‌گیری، بره‌ها از مادر جدا شدند و پس از تزریق وریدی اکسی‌توسین (10 واحد بین‌المللی)، شیردوشی انجام شد. یک نمونه از شیر بلافاصله جهت تعیین پروتئین، چربی، لاکتوز و کل مواد جامد بدون چربی با استفاده از دستگاه میکرواسکن (78110; Foss, Hillerod, Denmark)، آنالیز شد. نمونه دیگر برای اندازه‌گیری پروفیل اسیدهای چرب در فریزر و دمای 21- درجه سانتیگراد نگهداری شد. پروفیل اسیدهای چرب شیر با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی، طیف سنج جرم GC-mass مدل (Agilent, Palo Alto, CS, USA, 2001) تعیین شد. در روز 40 بعد از زایش، برای تعیین رفتارهای خوراک خوردن، رفتارها هر پنج دقیقه یک‌بار ثبت شد که شامل خوردن، ایستادن، ایستاده نشخوار کردن، خوابیدن، خوابیده نشخوار کردن و آب خوردن بود (21). لازم به ذکر است در روز ثبت رفتارها هیچ اقدامی که در رفتار طبیعی میش‌ها اختلال ایجاد کند انجام نشد. در روز 35 بعد از زایش نمونه‌گیری از شکمبه با برداشت مستقیم از مایع شکمبه از طریق شلنگ مری انجام شد، بلافاصله بعد از گرفتن مایع شکمبه pH آن توسط pH متر (Eit ABB Kent Taylor Ltd, Kent Ukraine) تعیین شد، تعیین غلظت اسیدهای چرب فرار با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل (Varian 3400, USA) انجام شد.

داده‌های حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار آماری SAS و رویه MIXED آنالیز شد. همچنین برای آنالیز مشاهدات تکرار شده از روش اندازه‌گیری‌های تکرار شده در طول زمان¹ (با اثرات ثابت تیمار، زمان (روز یا هفته) و اثر متقابل تیمار × زمان) استفاده شد. در ضمن مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی انجام شد. مدل آماری استفاده شده به شرح زیر می‌باشد.

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

مثبت فیزیولوژیک، بهبود الگوی اسیدهای چرب فرآورده، افزایش بازده انرژی و کاهش تولید متان و کاهش اثرات منفی تنش حرارتی را در پی داشته باشد (30).

امروزه مشخص شده است که اسیدهای چرب غیر اشباع نقش مهمی در سلامت انسان و جلوگیری از بروز بیماری‌های مختلف دارند، به‌خصوص ثابت شده است که اسیدهای چرب مزدوجی که در نتیجه بیوهیدروژناسیون در شکمبه نشخوارکنندگان ساخته می‌شود دارای خواص ضد بیماری می‌باشند (13). در مطالعات انجام شده بر روی میش‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع افزایش غلظت‌های اسیدهای چرب کونژوگه شده در بافت حیوان گزارش شده است (41). بنابراین با توجه به افزایش نرخ چند قلو زایی در گوسفند به دلیل برنامه‌های اصلاح نژادی در سال‌های اخیر، و بیشتر شدن مشکلات پیرامون زایش، توجه به تغذیه میش‌های آبستن در دوره انتقال ضروری می‌باشد. از طرفی اهمیت کیفیت و سلامت محصولات تولیدی صنعت دامپروری برای مصرف‌کننده-گان در سال‌های اخیر بیشتر شده است، که توجه ویژه به تغذیه دوره انتقال با رویکرد کاهش مشکلات سلامتی و بهبود کیفیت فرآورده را می‌طلبد. در نتیجه هدف از مطالعه حاضر افزودن منابع مختلف اسید-های چرب (، اشباع، امگا 6، امگا 3 و اسیدهای چرب مزدوج) در اواخر دوره آبستنی و اوایل دوره شیردهی میش‌های افشاری بر عملکرد شکمبه، قابلیت هضم و رفتار خوراک خوردن میش‌های افشاری و همچنین الگوی اسیدهای چرب شیر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این آزمایش از تعداد 50 رأس میش افشاری با میانگین وزن اولیه $9/29 \pm 88/7$ کیلوگرم و میانگین تعداد زایش $1/1 \pm 2/5$ استفاده شد. میش‌ها در جایگاه انفرادی در قالب طرح کاملاً تصادفی به پنج جیره آزمایشی شامل؛ 1- جیره شاهد بدون مکمل چربی؛ 2- جیره حاوی 3 درصد پودر چربی محافظت شده اسیدهای چرب اشباع (روغن پالم) (مگافت)؛ 3- جیره حاوی 3 درصد مکمل نمک کلسیمی اسیدهای چرب امگا-6 (روغن سویا) (پرشیافت)؛ 4- جیره حاوی 3 درصد نمک کلسیمی اسیدهای چرب امگا-3 (روغن ماهی) (پرشیافت)؛ 5- جیره حاوی 2 درصد پودر چربی محافظت شده اسیدهای چرب اشباع (روغن پالم) (مگافت) و 1 درصد فرآورده حاوی اسید لینولئیک مزدوج (CLA) (BASF آلمان) اختصاص داده شدند. یک هفته دوره عادت‌پذیری به جایگاه انفرادی و دوره زمانی بین 14 روز قبل از زایش تا 45 روز پس از زایش، جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. جیره‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار SRNS (40) و بر اساس توصیه‌های CNCPS-S تنظیم شدند (جدول 1).

جیره‌ها به صورت کاملاً مخلوط در دو وعده در ساعت‌های 8 و

جدول 1- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (بر اساس 100 درصد ماده خشک)
Table 1- Ingredients and chemical composition of experimental diets (% of DM)

مورد Item	قبل از زایش Before lambing	بعد از زایش After lambing
علف خشک یونجه Alfalfa hay	29.5	28.0
ذرت سیلو شده Corn silage	36.5	30.0
دانه جو Barley	26.5	31.0
کنجاله سویا Soybean meal	5.5	8.0
کربنات کلسیم CaCO ₃	0.7	1.0
نمک Salt	0.3	0.5
مکمل معدنی-ویتامینی ¹ Vitamin and mineral premix ¹	1.0	1.5
ترکیب شیمیایی (محاسبه شده) Chemical composition		
ماده خشک (درصد) Dry matter (percent)	45.10	49.6
پروتئین خام (درصد) Crude protein (percent)	13.36	14.27
انرژی متابولیسمی (مگا کالری در کیلوگرم) Metabolizable Energy (M.Cal/Kg)	2.33	2.35
دیواره سلولی (درصد) NDF (percent)	41.29	38.67
چربی خام (درصد) Crude fat (percent)	2.16	2.10
کلسیم (درصد) Calcium (percent)	0.67	0.85
فسفر (درصد) Phosphorus (percent)	0.27	0.28

¹ ترکیب مکمل معدنی ویتامینی (در هر کیلوگرم): کلسیم 200 گرم، فسفر 90 گرم، منیزیم 60 گرم، کبالت 35 میلی‌گرم، مس 350 میلی‌گرم، ید 150 میلی‌گرم در کیلوگرم، آهن 3000 میلی‌گرم در کیلوگرم، منگنز 2000 میلی‌گرم در کیلوگرم، سلنیم 90 میلی‌گرم در کیلوگرم و روی 3000 میلی‌گرم در کیلوگرم، ویتامین A 500000 واحد بین‌المللی، ویتامین D 100000 واحد بین‌المللی و ویتامین E 6000 واحد بین‌المللی.

¹kg of mineral and vitamin mix contained 200 g Ca, 90 g P, 60 g Mg, 35 mg Co, 350 mg Cu, 150 mg I, 3000 mg Fe, 2000 mg Mn, 90 mg Se, 3000 mg Zn, 500,000 IU vitamin A, 100,000 IU vitamin D, 6000 IU vitamin E.

شماره 2 ارائه شده است. در پیش از زایش افزودن منابع چربی اشباع، امگا-6 و امگا-3 باعث کاهش معنی‌دار در ماده خشک مصرفی شد ($P<0/01$) ولی در تیمار حاوی CLA این تأثیر مشاهده نشد. برخلاف تأثیرات مشاهده شده پیش از زایش افزودن منابع چربی بعد از زایش باعث افزایش معنی‌دار ماده خشک مصرفی شد که این تأثیر در تیمار حاوی CLA از سایر تیمارها بیشتر بود ($P<0/01$). قابلیت هضم ماده خشک با افزودن منبع چربی اشباع تمایل به کاهش نشان داد ($P<0/1$) ولی سایر منابع چربی تأثیری بر قابلیت هضم ماده خشک

$Y = \mu$ = میانگین مشاهدات، T_i = اثر i امین تیمار،
 BW_j = وزن اولیه (عامل کوواریت)، e_{ij} = اثر اشتباه آزمایشی

نتایج و بحث

ماده خشک مصرفی و قابلیت هضم

نتایج حاصل از تأثیر افزودن منابع مختلف چربی در پیش و پس از زایش بر ماده خشک مصرفی و قابلیت هضم ظاهری در جدول

گزارش شده است که اسیدهای چرب زنجیر بلند تأثیر اندکی بر قابلیت هضم الیاف دارند (48). همسو با نتایج این مطالعه آویلا و همکاران (4) و اکبری و همکاران (1) به ترتیب با اضافه کردن 2 و 2/5 درصد روغن گیاهی تأثیری بر قابلیت هضم مواد مغذی مشاهده نکردند. همچنین در چندین مطالعه دیگر استفاده از منابع مختلف چربی از جمله روغن پسماند آشپزخانه تا 5 الی 6 درصد تأثیری بر قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نداشت (5 و 26). در یک مطالعه بر روی بره‌های پرواری با افزودن 6 درصد روغن سویا کاهش قابل توجهی در قابلیت هضم الیاف و ماده خشک مشاهده شد (43) با توجه به وجود تناقضات مختلف در رابطه با تأثیر منابع مختلف چربی بر قابلیت هضم مواد مغذی در شکمبه نشخوارکنندگان چلیکانی و همکاران (11) پیشنهاد کرده‌اند که میزان تأثیر منابع چربی بر قابلیت هضم به منبع و مقدار مکمل چربی استفاده شده و به اثرات متقابل با سایر اجزای جیره وابسته است، همچنین مطرح شده که منبع علوفه جیره و نسبت علوفه به کنسارته نیز اثرات متقابلی با تأثیر چربی بر قابلیت هضم می‌تواند داشته باشد (8). تأثیر منفی اسیدهای چرب اشباع بر قابلیت هضم در مطالعه حاضر ممکن است به دلیل اثرات منفی پودر چربی بر میکروارگانیسم‌های شکمبه و ایجاد پوشش بر روی الیاف و جلوگیری از هضم آن‌ها در شکمبه باشد. همچنین، عدم تأثیر منابع چربی غیر اشباع بر قابلیت هضم ممکن است به دلیل اثرات کلسیمی کردن اسیدهای چرب غیر اشباع و محافظت کردن آن‌ها در شکمبه و جلوگیری از تأثیر منفی آنها بر میکروارگانیسم‌ها و هضم شکمبه‌ای باشد.

رفتارهای خوراک خوردن

نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای آزمایشی بر رفتارهای خوراک خوردن در جدول شماره سه ارائه شده است. نتایج نشان داد که افزودن منابع مختلف مکمل روغن به میزان سه درصد در جیره تأثیر معنی‌داری بر هیچ یک از رفتارهای خوراک خوردن گوسفندان افشاری نداشت ($P > 0/05$). داده‌های حاصل از رفتارهای خوراک نشان داد که میش‌ها در شرایط خوبی از نظر رفاه و آسایش قرار داشتند. زیرا گزارش شده است که دام‌هایی که در شرایط آسایش قرار داشته باشند بیشتر وقت خود را (حدود 44 درصد) در حالت خوابیده (خوابیده نشخوار کردن یا بدون نشخوار) می‌گذرانند (43). در مطالعه حاضر به طور میانگین میش‌ها 42 درصد از زمان خود را در 24 ساعت در حالت خوابیده گذراندند. موافق با نتایج این مطالعه در یک مطالعه با افزودن شش درصد از روغن گیاهی به جیره بره‌های پرواری تأثیری از افزودن روغن بر رفتارهای خوراک خوردن بره‌ها مشاهده نکردند (43).

نداشتند. قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی با افزودن اسیدهای چرب اشباع کاهش معنی‌داری پیدا کرد ($P < 0/05$) ولی اسیدهای چرب غیر اشباع تأثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی نداشتند. قابلیت هضم پروتئین خام و ماده آلی تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفتند.

موافق با نتایج این مطالعه با اضافه کردن پنج درصد از روغن کلزا یا کتان به جیره غذایی میش‌ها گزارش شده است که افزودن منابع چربی غیر اشباع باعث افزایش در خوراک مصرفی شد (27). همچنین گزارش شده است که تأثیر منابع مختلف چربی بر ماده خشک مصرفی، ثابت نیست و به عوامل مختلفی از جمله خوشخوراکی، مقدار، منبع، درجه اشباع بودن، طول زنجیر و شکل اسیدهای چرب (تری‌گلیسرید و اسید چرب آزاد) بستگی دارد (15). افزودن روغن به جیره غذایی گاوهای شیری منجر به کاهش خطی مقدار ماده خشک مصرفی می‌شود، البته این کاهش زمانی مشاهده می‌شود که مکمل روغن بیشتر از 5-6 درصد جیره باشد (30). گزارش شده است که هورمون لپتین از بافت آدیپوز ترشح شده و بر میزان خوراک مصرفی تأثیر گذار است (14) با افزودن اسیدهای چرب غیر اشباع به جیره، مقدار ترشح لپتین افزایش پیدا می‌کند (36) که خود دلیل بر کاهش اشتها و کاهش خوراک مصرفی می‌باشد (7). همچنین در یک مطالعه در مقایسه بین خوراندن مکمل چربی اشباع در مقابل غیر اشباع به میش‌های آبستن گزارش شد که میزان بیان ژن لپتین در تیمار حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع بیشتر بود (12). کاهش ماده خشک مصرفی بعد از وارد کردن مکمل چربی ممکن است ناشی از افزایش زمان نشخوار در نتیجه اثرات منفی بر هضم شکمبه‌ای یا خالی شدن آهسته شکمبه در نتیجه اثرات متابولیکی اسیدهای چرب زنجیر بلند باشد (30). بر خلاف نتایج حاضر در یک مطالعه با اضافه کردن روغن سویا (منبع امگا-6) و روغن ماهی (امگا-3) به جیره گوسفندان ماکویی در قبل از زایش، مقدار خوراک مصرفی تأثیر معنی‌داری نپذیرفت (23).

در رابطه با قابلیت هضم، پانتوجا و همکاران (34) گزارش کردند که با افزودن چربی به خصوص چربی‌های غیر اشباع قابلیت هضم ماده خشک و الیاف کاهش پیدا کرد. دلیل این امر به کاهش جمعیت باکتری‌های سلولاییتیک و پوشش دار شدن مواد خوراکی با روغن ارتباط داده شد (35). جنکینز (20) گزارش کرد که با افزودن مکمل چربی و با افزایش درجه غیر اشباع بودن آن هضم الیاف کاهش پیدا می‌کند و این کاهش به مهار شدن تخمیر میکروبی در شکمبه مربوط است. همچنین مطرح شده است که منابع اسیدهای چرب غیر اشباع برای پروتوزوا و باکتری‌های تجزیه کننده سلولز و متانوزن‌ها سمی بوده و می‌تواند هضم الیاف را کاهش دهد (29)، از طرفی موافق با نتایج این مطالعه در یک متا آنالیز در رابطه با قابلیت هضم الیاف

جدول 2- تأثیر افزودن مکمل چربی بر ماده خشک مصرفی (کیلوگرم) و قابلیت هضم ظاهری (درصد)¹
Table 2- effects of oil supplementation on dry matter intake (Kg) and apparent digestibility (%)¹

متغیر Variable	تیمارهای آزمایشی ² Experimental treatments ²					SEM	P-value
	1	2	3	4	5		
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم) Dry matter intake (Kg)							
قبل از زایش Before lambing	1.88 ^a	1.55 ^b	1.65 ^b	1.62 ^b	1.82 ^a	0.04	< 0.01
بعد از زایش After lambing	2.24 ^a	2.61 ^b	2.53 ^c	2.66 ^b	2.74 ^d	0.02	< 0.01
قابلیت هضم (درصد) Digestibility (%)							
ماده خشک DM	66.43	63.33	65.08	67.30	66.25	0.94	0.07
الیاف نامحلول در شوبنده خنثی NDF	48.97 ^a	43.19 ^b	44.70 ^{ab}	48.92 ^a	47.09 ^{ab}	1.35	0.02
ماده آلی OM	69.30	67.00	69.74	71.48	69.30	1.51	0.42
پروتئین خام CP	77.75	76.79	74.79	77.20	78.05	1.81	0.71

¹ حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی دار می باشد (P < 0/05).

² تیمارها شامل: 1- جیره شاهد بدون مکمل چربی؛ 2- جیره حاوی 3 درصد پودر چربی محافظت شده اسیدهای چرب اشباع (روغن پالم)؛ 3- جیره حاوی 3 درصد مکمل نمک کلسیمی اسیدهای چرب امگا-6 (روغن سویا)؛ 4- جیره حاوی 3 درصد نمک کلسیمی اسیدهای چرب امگا-3 (روغن ماهی)؛ 5- جیره حاوی 2 درصد پودر چربی محافظت شده اسیدهای چرب اشباع (روغن پالم) و 1 درصد فرآورده حاوی اسید لینولئیک مزدوج (CLA).

¹Different letters in each row indicates significant difference (P<0.05).

²Treatments include: 1- control (without fat supplement), 2- 3% protected fat powder of saturated fatty acids (palm oil), 3- 3% Ca salt of omega-6 fatty acids (soybean oil), 4- 3% Ca salt of omega-3 fatty acids (fish oil), 5- 2% protected fat powder of saturated fatty acids (palm oil) and 1% CLA.

فراسنجه‌های مایع شکمبه

نتایج حاصل از تأثیر افزودن مکمل چربی بر خصوصیات تخمیر شکمبه در جدول شماره 4 ارائه شده است. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که افزودن مکمل چربی بر pH شکمبه تأثیر معنی داری ندارد. همچنین غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه نشان داد که غلظت کل اسیدهای چرب فرار شکمبه و نسبت مولی آنها تحت تأثیر افزودن منابع مختلف چربی قرار نگرفت.

در این راستا در توافقی با نتایج مطالعه حاضر در اغلب مطالعات انجام شده با افزودن مکمل چربی تأثیر معنی داری بر pH شکمبه مشاهده نکرده‌اند (27). همچنین هارواتین و آلن (18) با استفاده از منابع چربی شامل اسیدهای چرب اشباع، حد واسط و غیر اشباع، تأثیر معنی داری از منابع چربی بر pH شکمبه مشاهده نکردند ولی نوسانات pH شکمبه با افزایش درجه غیر اشباع بودن به صورت خطی کاهش پیدا کرد. همچنین در یک مرور بر روی مطالعات انجام شده بر روی گاوهای شیری بیان شده است که افزودن منابع مختلف چربی به دلیل نامحلول بودن در محیط شکمبه تأثیر اندکی بر pH شکمبه می‌گذارد (42).

موافق با نتایج این مطالعه در مطالعه با افزودن مقادیر مختلف از روغن ماهی به جیره گوساله‌های پرواری، گزارش شد که مقادیر پایین تأثیری بر غلظت پروپیونات و نسبت استات به پروپیونات ندارد ولی مقادیر بالاتر باعث افزایش پروپیونات شکمبه شد (38). همچنین گزارش شده است که غلظت پروپیونات شکمبه می‌تواند تحت تأثیر منابع چربی به خصوص اسیدهای چرب زنجیر بلند باشد، زیرا باکتری‌های آمیلولیتیک درصد بالایی از اسیدهای چرب زنجیر بلند را در ساختار خود دارند (46).

گزارش شده است که منابع چربی به خصوص اسیدهای چرب زنجیر بلند به دلیل سمی بودن برای پروتوزوا و باکتری‌های تجزیه کننده الیاف و متانوژن‌ها باعث کاهش هضم الیاف شده و به دنبال آن کاهش تولید استات و بوتیرات در شکمبه اتفاق می‌افتد. همچنین باکتری‌های تولید کننده پروپیونات توسط این منابع چربی مهار می‌شود (29).

جدول 3- تأثیر افزودن مکمل چربی بر رفتارهای خوراک خوردن بعد از زایش (دقیقه در 24 ساعت شبانه روز)

Table3- effects of oil supplementation on feeding behaviors (min/d).

متغیر Variable	تیمارهای آزمایشی ¹ Experimental treatments ¹					SEM	P-value
	1	2	3	4	5		
کل زمان جویدن Total chewing	557.50	567.14	550.50	573.12	548.33	13.51	0.67
زمان خوردن Total feeding	258.50	282.14	256.50	261.25	271.66	10.49	0.39
زمان نشخوار کردن Total ruminating	299.00	285.00	294.00	311.87	276.66	11.15	0.26
ایستاده نشخوار کردن Standing rumination	126.50	132.14	122.00	123.12	108.88	7.63	0.38
خوابیدن بدون نشخوار Lying without Rumination	464.50	444.28	483.50	483.12	457.22	16.14	0.42
خوابیده نشخوار کردن Lying rumination	172.50	152.85	172.00	189.37	167.77	10.35	0.27
زمان ایستادن بدون نشخوار Total standing	336.50	354.28	323.00	311.87	354.44	19.79	0.45
زمان آب خوردن Total drinling	81.50	74.28	83.00	71.25	80.00	3.62	0.14
تعداد وعده های خوراک خوردن Meal frequency	8.00	7.57	7.80	7.12	7.88	0.61	0.87

¹ تیمارها شامل: 1- جیره شاهد بدون مکمل چربی؛ 2- جیره حاوی 3 درصد پودر چربی محافظت شده اسیدهای چرب اشباع (روغن پالم)؛ 3- جیره حاوی 3 درصد مکمل نمک کلسیمی اسیدهای چرب امگا-6 (روغن سویا)؛ 4- جیره حاوی 3 درصد نمک کلسیمی اسیدهای چرب امگا-3 (روغن ماهی)؛ 5- جیره حاوی 2 درصد پودر چربی محافظت شده اسیدهای چرب اشباع (روغن پالم) و 1 درصد فرآورده حاوی اسید لینولئیک مزدوج (CLA).

¹Treatments include: 1- control (without fat supplement), 2- 3% protected fat powder of saturated fatty acids (palm oil), 3- 3% Ca salt of omega-6 fatty acids (soybean oil), 4- 3% Ca salt of omega-3 fatty acids (fish oil), 5- 2% protected fat powder of saturated fatty acids (palm oil) and 1% CLA.

الگوی اسید چرب شیر

نتایج حاصل از تأثیر منابع مختلف چربی بر چربی و الگوی اسید چرب شیر نشان می‌دهد که افزودن چربی اشباع به تنهایی و به همراه اسیدهای چرب مزدوج باعث افزایش معنی‌دار در درصد چربی شیر شد ($P < 0/05$) (جدول 5). افزودن منبع چربی امگا-6 باعث کاهش غلظت اسیدهای چرب 14 کربنه و 16 کربنه و مجموع اسیدهای چرب زنجیر متوسط و اسیدهای چرب اشباع و افزایش اسیدهای چرب زنجیر بلند به خصوص با یک پیوند دوگانه شد ($P < 0/05$). تیمار حاوی منبع اسیدهای چرب مزدوج باعث افزایش معنی‌دار غلظت اسید لینولئیک مزدوج شیر شد ($P < 0/05$)، سایر منابع نیز باعث افزایش غلظت اسید لینولئیک مزدوج شیر شدند، اما معنی‌دار نبود.

گزارش شده است که مقدار، درصد و ترکیب اسیدهای چرب شیر گوسفند به نوع نژاد، تغذیه، مرحله شیردهی و شرایط محیطی وابسته است (37). منشأ چربی شیر از اسیدهای چرب حاصل از پلاسمای خون که از روده کوچک و یا بافت ادیپوز (اسیدهای چرب زنجیر بلند) و یا سنتز دنوو از استات و بوتیرات (اسیدهای چرب C4:0 تا C14:0

همچنین مطرح شده کاهش در ماده خشک مصرفی در جیره‌های حاوی چربی بالا سبب افزایش در زمان نشخوار می‌شود که سبب تأثیر منفی بر سرعت هضم شکمبه‌ای می‌شود، به علاوه سرعت خالی شدن شکمبه را به دلیل اثرات متابولیک اسیدهای چرب زنجیر بلند می‌کاهد در نتیجه میزان تولید پروپیونات کاهش پیدا می‌کند (12). در توافق با نتایج این مطالعه در یک مطالعه با افزایش غلظت روغن ماهی به عنوان منبع امگا-3 از صفر به 10، 20 و 30 گرم در روز برای بره‌های پرواری غلظت استات و بوتیرات به صورت خطی کاهش و غلظت پروپیونات افزایش پیدا کرد (19). پیشنهاد شده است که دلیل کاهش استات و بوتیرات کاهش در جمعیت باکتری‌های تولید کننده با افزودن منابع چربی غیر اشباع می‌باشد (28). به طور کلی می‌توان گفت وجود تناقض در نتایج مطالعات مختلف در رابطه با تأثیر منابع چربی بر شاخصه‌های تخمیر شکمبه می‌تواند به وجود تفاوت در سایر اجزای جیره مربوط باشد که خود می‌تواند عاملی در جهت تغییر جمعیت میکروبی شکمبه باشد (38).

و بخشی از C16:0) در غدد پستانی حاصل می‌شود. عوامل تغذیه‌ای چرب شیر را تغییر دهند. که تخمیر شکمبه را تحت تأثیر قرار می‌دهند، می‌توانند الگوی اسید

جدول 4- تأثیر افزودن مکمل چربی بر خصوصیات تخمیر شکمبه
Table 4- Effects of fat supplementation on Rumen characters

متغیر Variable	تیمارهای آزمایشی ¹ Experimental treatments ¹					SEM	P-value
	1	2	3	4	5		
کل اسیدهای چرب فرار (میلی مول) Total VFA (mM)	76.82	75.33	78.80	83.21	79.87	5.77	0.89
استات (درصد) Acetate (%)	62.99	67.85	65.89	66.55	65.16	2.22	0.66
پروپیونات (درصد) Propionate (%)	18.37	17.13	19.77	19.27	20.04	1.43	0.67
بوتیرات (درصد) Butyrate (%)	12.46	11.03	10.78	10.63	11.99	0.94	0.56
ایزو بوتیرات (درصد) Isobutyrate (%)	1.83	1.62	1.19	1.04	0.72	0.42	0.55
والرات (درصد) Valerate (%)	1.46	1.34	1.30	1.39	1.30	0.09	0.71
ایزو والرات (درصد) Iso valerate (%)	1.39	1.33	1.21	1.41	1.31	0.13	0.84
pH شکمبه Rumen pH	6.82	6.96	6.94	6.87	6.70	0.08	0.23

¹ تیمارها شامل: 1- جیره شاهد بدون مکمل چربی؛ 2- جیره حاوی 3 درصد پودر چربی محافظت شده اسیدهای چرب اشباع (روغن پالم)؛ 3- جیره حاوی 3 درصد مکمل نمک کلسیمی اسیدهای چرب امگا-6 (روغن سویا)؛ 4- جیره حاوی 3 درصد نمک کلسیمی اسیدهای چرب امگا-3 (روغن ماهی)؛ 5- جیره حاوی 2 درصد پودر چربی محافظت شده اسیدهای چرب اشباع (روغن پالم) و 1 درصد فرآورده حاوی اسید لینولئیک مزدوج (CLA).

¹Treatments include: 1- control (without fat supplement), 2- 3% protected fat powder of saturated fatty acids (palm oil), 3- 3% Ca salt of omega-6 fatty acids (soybean oil), 4- 3% Ca salt of omega-3 fatty acids (fish oil), 5- 2% protected fat powder of saturated fatty acids (palm oil) and 1% CLA.

چربی شیر نشد. همچنین نتایج مشابهی در رابطه با تغذیه روغن کتان به بز (32) و گوسفند (10) در رابطه با بی تأثیر بودن بر درصد چربی شیر گزارش شده است.

گزارش شده است که الگوی اسیدهای چرب شیر می‌تواند تحت تأثیر مقدار و نوع اسیدهای چرب جیره قرار بگیرد. (33). در این راستا نتایج مطالعات مختلفی نشان داده اند که همبستگی مثبتی بین مقدار چربی جیره ای غنی از اسید لینولئیک و لینولنیک با غلظت اسیدهای چرب مزدوج شیر وجود دارد (9 و 17). موافق با نتایج مطالعه حاضر گزارش شده است که وقتی که مکمل حاوی اسید لینولئیک مزدوج در تغذیه گاوهای شیری مورد استفاده قرار می‌گیرد، نسبت C_{18:1} به C_{18:0} کاهش می‌یابد. این نسبت‌ها بیانگر فعالیت آنزیم دلتا 9 دسچوراز پستانی هستند (9).

در یک مطالعه با اضافه کردن 140 گرم روغن سویا به جیره میش‌های شیرده با درصد بالای کنسارته افزایش معنی‌دار در غلظت اسیدهای چرب مزدوج سیس-9-ترانس-11 لینولئیک اسید به میزان 3/44 درصد گزارش شده است. افزایش این مقدار از اسیدهای چرب

در واقع نسبت استات به پروپیونات در مایع شکمبه نقش اساسی را در سنتز اسیدهای چرب شیر نشخوار کنندگان بازی می‌کنند. یکی از راهکارهای تغذیه‌ای که مقدار و الگوی اسیدهای چرب شیر را تحت تأثیر قرار می‌دهد افزودن منابع مختلف چربی به جیره نشخوار کنندگان می‌باشد (33). در این راستا گزارش شده است که افزودن منابع چربی عبوری مثل اسیدهای چرب کلسیمی باعث افزایش درصد چربی شیر می‌شود، ولی اگر مقدار این منابع چربی به بیش از 90 گرم به ازای هر رأس در روز در جیره گوسفند برسد باعث کاهش درصد چربی شیر می‌شود (37). در مطالعه حاضر نیز با توجه به این که میانگین مقدار مکمل چربی مصرفی در تیمارهای دارای مکمل چربی کمتر از 90 گرم در روز به ازای هر رأس بود، بنابراین در توافق با نتایج گزارش شده، در تیمارهای حاوی منابع چربی اشباع (تیمار دو و پنج) باعث افزایش معنی‌دار در درصد چربی شیر شد. همچنین در توافق با نتایج مطالعه حاضر گزارش شده است که افزودن منابع کلسیمی اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه حاصل از روغن ماهی (24) و روغن زیتون (2) به جیره‌های میش‌های شیرده باعث کاهش درصد

مزدوج در چربی شیر حکایت از بیهیدروژناسیون کمتر لینولئیک اسید در شکمبه و افزایش جریان دئودنومی حدواسطهای بیهیدروژناسیون مانند C18:1 ترانس-11 دارد (25). از طرفی ارتباط خطی که بین ایزومر 11-ترانس C18:1 و اسید لینولئیک مزدوج 9-سیس، 11-ترانس در چربی شیر وجود دارد بین پیش سازهای این دو ترکیب نیز دیده می‌شود.

جدول 5- تأثیر افزودن مکمل چربی بر چربی شیر و الگوی اسیدهای چرب شیر (درصد)¹
Table 5- effects of fat supplementation on milk fatty acids profile (%)¹

اسیدهای چرب Fatty acids	تیمارهای آزمایشی ¹ Experimental treatments*					SEM	P-value
	1	2	3	4	5		
چربی شیر Milk fat	5.07 ^a	5.96 ^b	5.33 ^{ab}	5.27 ^{ab}	5.95 ^b	0.22	0.02
اسید چرب Fatty acids							
C8:0	2.31	2.76	1.65	1.71	1.78	0.40	0.29
C10:0	9.26	10.78	7.85	8.10	9.24	1.22	0.49
C12:0	4.93	5.34	3.56	3.66	4.34	0.57	0.20
اسیدهای چرب زنجیر کوتاه SCFA	16.51	18.89	13.06	13.47	15.37	1.97	0.29
C14:0	10.22 ^a	9.82 ^{ab}	7.19 ^b	8.44 ^{ab}	7.25 ^b	0.65	0.02
C15:0	1.64	1.48	1.24	1.50	1.18	0.27	0.73
C16:0	31.06 ^{ab}	30.85 ^{ab}	26.80 ^a	33.22 ^{ab}	34.19 ^b	1.59	0.06
C16:1	0.89	0.83	1.57	1.70	0.85	0.40	0.38
C17:0	1.21 ^{ab}	0.89 ^{ab}	1.60 ^a	0.82 ^b	1.05 ^{ab}	0.17	0.05
اسیدهای چرب زنجیر متوسط MCFA	45.03 ^{ab}	43.89 ^{ab}	38.42 ^b	45.69 ^a	44.53 ^{ab}	1.60	0.06
C18:2	3.18	3.41	3.49	4.62	2.50	1.01	0.20
C18:2CLA	0.43 ^a	0.54 ^{ab}	0.55 ^{ab}	0.56 ^{ab}	0.73 ^b	0.06	0.05
C18:1Cis	20.85 ^{ab}	19.41 ^{ab}	25.66 ^a	21.21 ^{ab}	16.93 ^b	1.38	0.01
C18:3	0.68	1.01	0.65	0.99	1.04	0.20	0.48
C18:0	10.00 ^{bc}	9.05 ^{bc}	14.85 ^a	8.34 ^c	13.83 ^{ab}	1.05	<0.01
C20:0	0.43	0.40	0.46	0.41	0.45	0.05	0.92
اسیدهای چرب زنجیر بلند LCFA	35.58 ^b	33.84 ^b	45.31 ^a	36.15 ^b	35.49 ^b	2.00	0.01
اسیدهای چرب اشباع SFA	71.09	71.40	65.23	66.22	73.34	1.97	0.06
اسیدهای چرب غیر اشباع USFA	26.03 ^{ab}	25.22 ^{ab}	31.93 ^a	29.10 ^{ab}	22.06 ^b	1.83	<0.01
اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه MUFA	21.74 ^{ab}	20.24 ^{ab}	27.23 ^a	22.92 ^{ab}	17.78 ^b	1.63	0.02
اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه PUFA	4.29	4.97	4.70	6.18	4.28	0.61	0.24
سایر اسیدهای چرب Other fatty acids	2.87	3.37	2.83	4.67	4.59	0.58	0.12

¹ حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P < 0/05).

² تیمارها شامل: 1- جیره شاهد بدون مکمل چربی؛ 2- جیره حاوی 3 درصد پودر چربی محافظت شده اسیدهای چرب اشباع (روغن پالم)؛ 3- جیره حاوی 3 درصد مکمل نمک کلسیمی اسیدهای چرب امگا-6 (روغن سویا)؛ 4- جیره حاوی 3 درصد نمک کلسیمی اسیدهای چرب امگا-3 (روغن ماهی)؛ 5- جیره حاوی 2 درصد پودر چربی محافظت شده اسیدهای چرب اشباع (روغن پالم) و 1 درصد فرآورده حاوی اسید لینولئیک مزدوج (CLA).

¹ Different letters in each row indicates significant difference (P < 0.05).

² Treatments include: 1- control (without fat supplement), 2- 3% protected fat powder of saturated fatty acids (palm oil), 3- 3% Ca salt of omega-6 fatty acids (soybean oil), 4- 3% Ca salt of omega-3 fatty acids (fish oil), 5- 2% protected fat powder of saturated fatty acids (palm oil) and 1% CLA.

در شکمبه ارتباط داد از طرفی با توجه به اینکه در مطالعه حاضر مقدار استفاده مکمل چربی نسبت به مطالعات ذکر شده پایین تر بوده و باتوجه به اینکه منابع چربی غیر اشباع استفاده شده نیز به صورت نمک کلسیمی اسیدهای چرب بوده در نتیجه افزایش اندکی از اضافه کردن منابع امگا-6 و امگا-3 بر مقدار اسیدهای چرب مزدوج شیر مشاهده شد. از طرفی یکی دیگر از عوامل افزایش دهنده مقدار اسیدهای چرب مزدوج شیر زمانی که اسیدهای چرب غیر شباع در جیره استفاده می شود بالا بودن نسبت کنسایره به خصوص کربوهیدرات های غیر الیافی جیره می باشد (33) بنابراین یکی دیگر از عوامل عدم تأثیر اندک منابع امگا-6 و امگا-3 بر میزان اسیدهای چرب مزدوج شیر در مطالعه حاضر ممکن است بالا بودن نسبت علوفه به کنسایره (66 به 34 درصد) باشد.

نتیجه گیری کلی

افزودن منابع مختلف چربی در پیش و پس از زایش اثرات متفاوتی بر روی خوراک مصرفی داشت و باعث بهبود ماده خشک مصرفی بعد از زایش شد، همچنین اثرات اندکی از افزودن منابع چربی به میزان 3 درصد در جیره گوسفندان افزایشی بر روی رفتار، هضم و تخمیر شکمبه مشاهده شد. افزودن منابع چربی باعث بهبود الگوی اسیدهای چرب شیر شد.

بر اساس بیوهیدروژناسیون شکمبه که به قابل دسترس بودن 11-ترنس C18:1 برای جذب منتهی می شود چنین تصور گردید که بخشی از اسید لینولئیک مزدوج موجود در چربی نشخوارکنندگان بایستی منشأ اندوژنوسی داشته باشد لذا چنین فرض گردید که ایزومر اصلی، اسید لینولئیک مزدوج 9-سیس، 11-ترانس بایستی از غیر اشباع شدن 11-ترنس C18:1 توسط آنزیم دلتا 9 دسچوراز، منشأ گرفته باشد (15). همچنین غلظت بالای اسید لینولئیک جیره موجب جلوگیری از هیدروژنه شدن اسید واکسنیک شده و در نهایت منجر به سنتز بیشتر اسید لینولئیک مزدوج در غدد پستانی می گردد. این موضوع نشان می دهد که اسید لینولئیک به عنوان یک مهار کننده رقابتی در هیدروژناسیون اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه در گروه B باکتری های شکمبه ای نقش دارد (17). گزارش شده است که میزان تأثیر گذاری روغن های معمول مورد استفاده در جیره گوسفند (روغن سویا، کتان، آفتابگردان و گلرنگ) به مقدار استفاده شده آن در جیره و اثرات متقابل آن با سایر اجزای جیره بستگی دارد (33). همچنین گزارش شده است وقتی که روغن های گیاهی به صورت آزاد استفاده می شوند، تأثیر بیشتری در افزایش نسبت اسیدهای چرب مزدوج شیر دارند، نسبت زمانی که این روغن ها به صورت کلسیمی یا از دانه های روغنی استفاده می شوند (9). بنابراین می توان نتیجه گرفت که باتوجه به دلایل ذکر شده افزایش در مقدار اسیدهای چرب مزدوج شیر با افزودن منابع چربی به بیوهیدروژناسیون ناقص اسیدهای چرب

منابع

1. Akbari-Pabandi, K., and H. R. Mirzaei-Alamouti. 2015. Effects of feeding frequency and plant oil supplementation on performance and feeding behavior of Holstein lactating cows. *Iranian Journal of Animal Production*, 17: 119-129. (In Persian)
2. Antongiovanni, M., P. Secchiari, M. Mele, A. Boccioni, A. Serra, G. Ferruzzi, S. Rapaccini, And A. Pistoia. 2002. Olive oil calcium soaps and rumen protected methionine in the diet of lactating ewes: effect on milk quality. *Italian Journal of Animal Science*, 1:55-63.
3. AOAC International. 2000. Official Methods of Analysis. Vol. I. 17th ed. AOAC International, Arlington, VA.
4. Avila, C. D., E. J. DePeters, H. Perez-Monti, S. J. Taylor, and R. A. Zinn. 2000. Influences of Saturation Ratio of Supplemental Dietary Fat on Digestion and Milk Yield in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 83:1505-1519.
5. Awawdeh, M. S., B. S. Obeidat, and R. T. Kridli. 2009. Yellow grease as an alternative energy source for nursing awassi ewes and their suckling lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 152:165-174.
6. Badii, A., A. Aliverdilou, H. Amanlou, M. Beheshti, E. Dirandeh, R. Masoumi, F. Moosakhani, and H. V. Petit. 2014. Postpartum responses of dairy cows supplemented with n-3 fatty acids for difference duration during the peripartur period. *Journal of Dairy Science*, 97:6391-6399.
7. Ban-Tokuda, T., C. Delavaud, Y. Chilliard, and T. Fujihara. 2008. Plasma leptin, feed intake and body fat accumulation in fattening castrated male and female lambs. *Animal Science Journal*, 79:58-67.
8. Benchaar C., G. A. Romero-Perez, P. Y. Chouinard, F. Hassanat, M. Eugene, H. V. Petit, and C. Cortes. 2012. Supplementation of increasing amounts of linseed oil to dairy cows fed total mixed rations: effects on digestion, ruminal fermentation characteristic, protozoal populations, and milk fatty acid composition. *Journal of Dairy Science*, 95:4578-4590.
9. Bodas, R., T. Manso, A. R. Mantecón, M. Juárez, M. A. De La Fuente, and P. Gómez-Cortés. 2010. Comparison of the fatty acid profiles in cheeses from ewes fed diets supplemented with different plant oils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58:10493-502.
10. Caroprese, M., M. Albenzio, A. Bruno, V. Fedele, A. Santillo, and A. Sevi. 2011. Effect of solar radiation and

- flaxseed supplementation on milk production and fatty acid profile of lactating ewes under high ambient temperature. *Journal of Dairy Science*, 94:3856-3867.
11. Chelikani P.K., J. A. Ball, and J. J. Kennelly. 2004. Effect of feeding or abomasal infusion of canola oil in Holstein cows 1. Nutrient digestion and milk composition. *Journal of Dairy Research*, 71: 279-287.
 12. Coleman, D. N., K. D. Murphy, and A. E. Relling. 2018. Parturition fatty acid supplementation in sheep. II. Supplementation of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid during late gestation alters the fatty acid profile of plasma, colostrum, milk and adipose tissue, and increases lipogenic gene expression of adipose tissue. *Journal of Animal Science*, 96(3): 1181-1204.
 13. Connor, W. E. 2000. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 171-175.
 14. Contreras, G. A., C. Strieder-Barboza, and W. Raphael. 2017. Adipose tissue lipolysis and remodeling during the transition period of dairy cows. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8:41-53.
 15. Dhiman, T. R., L. D. Satter, M. W. Pariza, M. P. Galli, K. Albright, and M. X. Tolosa. 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *Journal of Dairy Science*, 83: 1016- 1027.
 16. Drackley, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier. 1999. *Journal of Dairy Science*, 82:2259-2273.
 17. Gómez-Cortés, P., A. Bach, P. Luna, M. Juárez, and M. A. De La Fuente. 2009. Effects of extruded linseed supplementation on n-3 fatty acids and conjugated linoleic acid in milk and cheese from ewes. *Journal of Dairy Science*, 92: 4122-4134.
 18. Harvatine, K. J., and M. S. Allen. 2006. Effects of Fatty Acid Supplements on Ruminant and Total Tract Nutrient Digestion in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 89:1092-1103
 19. Hernández-García, P. A., G. D. Mendoza-Martínez, N. Sánchez, J. A. Martínez-García, F. X. Plata-Pérez, A. Lara-Bueno, and S. M. Ferraro. 2017. Effects of increasing dietary concentrations of fish oil on lamb performance, ruminal fermentation, and leptin gene expression in perirenal fat. *Brazilian Journal of Animal Science*, 46(6):521-526.
 20. Jenkins, T. C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 76:3851.
 21. Kargar, S., M. Khorvash, G. R. Ghorbani, M. Alikhani, and W. Z. Yang. 2010. Short communication: effects of dietary fat supplements and forage: concentrate ratio on feed intake, feeding, and chewing behavior of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93: 4297-4301.
 22. Kellems, R. O., and D. C. Church. 2002. *Livestock feeds and feeding*, Thed. Pearson Hall, New Jersey.
 23. Khalilvand, H., and R. Pirmphammadi. 2016. Effects of feeding different fatty acid profiles in transition period on weight change, milk production and composition, nutrient digestibility, rumen parameters and population of some of rumen microorganisms in Makui ewes. 7th Iranian Congress of Animal Sciences. (In Farsi)
 24. Kitessa, S. M., D. Peake, R. Bencini, and A. J. Williams. 2003. Fish oil metabolism in ruminants: III. Transfer of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) from tuna oil into sheep ' s milk. *Animal Feed Science and Technology*, 108:1-14.
 25. Kucuk, O., B. W. Hess, and D. C. Rule. 2004. Soybean oil supplementation of a high-concentrate diet does not affect site and extent of organic matter, starch, neutral detergent fiber, or nitrogen digestion, but influences both ruminal metabolism and intestinal flow of fatty acids in limit-fed lambs. *Journal of Animal Science*, 82:2985-2994.
 26. Maia, M. O., I. Susin, E. M. Ferreira, C. P. Nolli, R. S., Gentil, A.V. Pires, and G. B. Mourão. 2012. Intake, nutrient apparent digestibility and ruminal constituents of sheepfed diets with canola, sunflower or castor oils. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41 (11): 2350-2356.
 27. Majewska, M. P., R. Miltko, G. Belzecki, J. Skomiał, and B. Kowalik. 2017. Supplementation of Rapeseed and Linseed Oils to Sheep Rations: Effects on Ruminal Fermentation Characteristics and Protozoal Populations. *Czech Journal of Animal Science*, 62(12): 527-538.
 28. Marinova, P., T. Popova, V. Banskaliyeva, E. Raicheva, M. Ignatova, and V. Vasileva. 2007. Effect of fish oil supplemented diet on the performance, carcass composition and quality in lambs. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 13:729-737.
 29. McAllister T. A., E. K. Okine, G. W. Mathison, and K. J. Cheng. 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 76: 231-243.
 30. NRC .2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
 31. NRC. 2007. *Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids and new world camelids*. 1st ed. Washington DC, USA: National Academies Press; 135.
 32. Nudda, A., G. Battaccone, A. S. Atzori, C. Dimauro, S. P. G. Rassu, P. Nicolussi, P. Bonelli, and G. Pulina. 2013. Effect of extruded linseed supplementation on blood metabolic profile and milk performance of Saanen goats. *Animal*, 7:1464-1471.
 33. Nudda, A., G. Battaccone, O. B. Neto, A. Cannas, A. Helena, D. Francesconi, A. S. Atzori, G. Pulina. 2014.

- Feeding strategies to design the fatty acid profile of sheep milk and cheese. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(8):445-456.
34. Pantoja, J., J. L. Firkins, M. L. Eastridge, and B. L. Hull. 1994. Effects of fat saturation and source of fiber on site of nutrient digestion and milk production by lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 77:2341-2356.
 35. Patra, A. K. and Z. Yu. 2013. Effects of coconut and fish oils on ruminal methanogenesis, fermentation, and abundance and diversity of microbial populations in vitro. *Journal of Dairy Science*, 96: 1782-1792.
 36. Puglisi, M. J., A. H. Hasty, and V. Sarasw. 2011. The role of adipose tissue in mediating the beneficial effects of dietary fish oil. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 22:101-108.
 37. Pulina, G., A. Nudda, G. Battaccone, and A. Cannas. 2006. Effects of nutrition on the contents of fat, protein, somatic cells, aromatic compounds, and undesirable substances in sheep milk. *Animal Feed Science and Technology*, 131:255-291.
 38. Shingfield, K. J., M. R. F. Lee, D. J. Humphries, N. D. Scollan, V. Toivonen, and C. K. Reynolds. 2010. Effect of incremental amounts of fish oil in the diet on ruminal lipid metabolism in growing steers. *British Journal of Nutrition*, 104:56-66.
 39. Silvestre, F. T., T. S. Carvalho, N. Francisco, J. E. P. Santos, C. R. Staples, T. Jenkins, And W. W. Thatcher. 2011. Effects of differential supplementation of fatty acids during the peripartum and breeding period of Holsteins cows. I. uterine and metabolic responses. Reproduction and lactation. *Journal of Dairy Science*, 94:189-204.
 40. Tedeschi, L. O., A. Cannas, and D. G. Fox. 2010. A nutrition mathematical model to account for dietary supply and requirements of energy and other nutrients for domesticated small ruminants: The development and evaluation of the Small Ruminant Nutrition System. *Small Ruminant Research*, 89: 174-184.
 41. Toral, P. G., G. Hervás, P. Gómez-Cortés, P. Frutos, M. Juárez, M. A. Fuente. 2010. Milk fatty acid profile and dairy sheep performance in response to diet supplementation with sunflower oil plus incremental levels of marine algae. *Journal of Dairy Science*, 93:1655-1667.
 42. Useni, B. A., C. J. C. Muller, and C. W. Cruywagen. 2018. Pre- and postpartum effects of starch and fat in dairy cows: A review. *South African Journal of Animal Science*, 48 (No. 3).
 43. Van Cleef, F. O. S., J. M. B. Ezequiel, A. P. D'Aurea, M. T. C. Almeida, H. L. Perez, E. H. C. B. van Cleef. 2016. Feeding behavior, nutrient digestibility, feedlot performance, carcass traits, and meat characteristics of crossbred lambs fed high levels of yellow grease or soybean oil. *Small Ruminant Research*, 137:151-156.
 44. Van Keulen, V., and B. H. Young. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 26: 119-135.
 45. Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74:3583-3597.
 46. Vlaeminck, B., V. Fievez, S. Tamminga, R. J. Dewhurst, A. Van Vuuren, D. De Brabander, D. Demeyer, 2006. Milk odd- and branched-chain fatty acids in relation to the rumen fermentation pattern. *Journal of Dairy Science*, 89: 3954-3964.
 47. Wankhade, P. R., A. Manimaran, A. Kumaresan, S. Jeyakumar, K. P. Ramesha, V. Sejian, D. Rajendran, and M. R. Varghese. 2017. Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review. *Veterinary World*, 10(11): 1367-1377.
 48. Weld, K. A., and L. E. Armentano. 2017. The effects of adding fat to diets of lactating dairy cows on total-tract neutral detergent fiber digestibility: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 100:1-14.



The effects of different fat sources during late pregnancy and early lactation on apparent digestibility, rumen parameters, and milk fatty acid pattern of Afshari ewes

M Ghahremani^{1*}, A Taghizadeh², A Hosseinkhani², HR Mirzaei Alamouti³, GH Moghaddam² and H Paya²

Received: 11-01-2019

Accepted: 27-04-2019

Introduction: Negative energy balance in pregnant ewes during last of gestation could result in fatal pregnancy toxemia and affects ewe and lamb health. Fat supplementation of the diet is an efficient mean to increase energy concentration of diet and modify body weight, body condition score, milk yield, fat content and fatty acid composition in lactating ruminants. Addition of fats to ruminant diets provides preformed fatty acids (FA) which are directly available for milk fat synthesis in dairy cows and small ruminants. Much of the research attempted to obtain milk fat with healthier properties by increasing milk concentration of specific human health promoting fatty acids. Although mechanisms of action are unclear and its use in humans is controversial, CLA is still of particular interest because of its speculated role in preventing human health problems and increasing the nutritive and therapeutic value of milk. Therefore, this study contacted to investigate effects of different fat sources and CLA during late-pregnancy and early lactation on DMI, rumen metabolites and milk fatty acid pattern of Afshari ewes.

Materials and Methods: Fifty Afshari ewes were assigned randomly to one of the five experimental diets with ten replicates in a completely randomized design; 1- control (without fat supplement), 2- 3% protected fat powder of saturated fatty acids (palm oil), 3- 3% Ca salt of omega-6 fatty acids (soybean oil), 4- 3% Ca salt of omega-3 fatty acids (fish oil), 5- 2% protected fat powder of saturated fatty acids (palm oil) and 1% CLA in a completely randomized design. Diets were fed between 14 days before and 45 days after lambing. Dry matter intake was measured daily, feed compound and milk composition was measured weekly. Milk fatty acid profile was determined using Gas Chromatography. Feeding behaviors were recorded every 5 minutes in 40 day of experiment. Rumen samples were taken directly from the rumen fluid through the esophagus and concentration of volatile fatty acids determined using a gas chromatography. Data were analyzed using SAS statistical software and MIXED procedure.

Result and discussion: In *prepartum*, the addition of saturated fat, omega-6, and omega-3 significantly reduced the dry matter intake, but this effect was not observed in CLA containing treatments ($P < 0.01$). In the *postpartum* period, the addition of fat resources caused a significant increase in dry matter intake ($P < 0.01$). NDF digestion decreased significantly by adding protected fat powder of saturated fatty acids ($P < 0.05$), but not affected by other treatments. It has been reported that the effect of different fat sources on the dry matter is not constant and depends on various factors such as palatability, amount, source and degree of saturation, chain length and fatty acid stiles (triglyceride and free fatty acid). The results showed that adding different sources of fat supplementation to 3% in diet did not have a significant effect on feeding behaviors of Afshari sheep. Animal-derived data showed that ewes were in good condition in terms of comfort. Rumen volatile fatty acid profile and pH after lambing were not affected by feeding different fat sources. In agreement with the results of this study, most studies no reported a significant effects on rumen pH with the addition of fat supplement. Adding protected fat powder of saturated fatty acids alone and, along with conjugated fatty acids, increased a significant increase in milk fat percentage. The addition of omega-6 fatty acids resulted in a reduction in the short, medium, and saturated fatty acid fatty acids, and the increase of medium chain fatty acids. The addition of omega-3 fatty acids did not have a significant effect on the fatty acid model of milk compared to the control treatment. The addition of conjugated fatty acids resulted in a significant increase in the concentration of

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

2-Professor, Associate Professor, Professor and Assistant Professor respectively, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

3-Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

*Corresponding author: Email: m.ghahremani58@gmail.com

DOI:10.22067/ijasr.v11i4.78462

conjugated linoleic acid in milk. It has been reported that the pattern of milk fatty acids can be affected by the amount and type of fatty acids in the diet.

Conclusion: Dry matter was reduced by fat supplementation resources before lambing and increased afterward. Reduction in dry matter digestibility and dietary fiber was observed with saturated fat sources. Rumen pH and VOLATILE FATTY ACIDS (VFA) were not affected by feeding different fat sources. Adding conjugate fatty acids in the diet, increased the conjugate linoleic acid (CLA) concentration in the milk. In general, supplementing fat sources to the prepartum diets increased dry matter intake (DMI) after parturition and conjugated fatty acids resulted in a significant increase in the concentration of conjugated linoleic acid in milk.

Key words: Fish oil, Linoleic acid, Palm oil, Periparturient period, Late gestation, Ewe



تعیین ترکیب شیمیایی و انرژی قابل سوخت و ساز دانه جو پرتوتابی شده با استفاده از جوجه‌های گوشتی و خروس‌های بالغ

لطف اله برنابی¹، سمیه سالاری^{2*}، نعیم عرفانی مجد³

تاریخ دریافت: 1397/02/16

تاریخ پذیرش: 1397/07/29

چکیده

این آزمایش به منظور تعیین ترکیبات شیمیایی و انرژی قابل سوخت و ساز دانه جو پرتوتابی شده با بیم الکترون در دزهای (صفر، 10، 20، 30 و 40 کیلوگری) در جوجه‌های گوشتی و خروس‌های بالغ در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. پس از تعیین ترکیبات شیمیایی، انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای نیتروژن (AME_n) به روش جایگزینی و نشانگر اکسید کروم تعیین شد. نمونه جو بدون پرتو و پرتوتابی شده در دزهای مختلف در سطوح 7، 14 و 21 درصد جایگزین جیره پایه (بر اساس ذرت و سویا) گردید. تعیین انرژی قابل سوخت و ساز حقیقی تصحیح شده برای نیتروژن (TME_n) جو پرتوتابی شده با استفاده از 24 خروس بالغ نژاد ردآیلندرد به روش تغذیه اجباری سیبالد انجام شد. نتایج نشان داد فیبر نامحلول در شوینده خشی با افزایش دز پرتو بطور معنی‌داری کاهش یافت. AME_n دانه جو در جوجه‌های گوشتی به ترتیب 2593/8، 2628/3، 2663/1، 2730/7 و 2795 کیلوکالری در کیلوگرم برای دانه جو بدون پرتو و دزهای 10، 20، 30 و 40 کیلوگری بدست آمد. این نتیجه نشان داد که با افزایش دز پرتو، AME_n افزایش یافت. در خروس‌های بالغ هم TME_n با افزایش دز پرتو (به جز 10 کیلوگری) افزایش عددی نشان داد. در مجموع می‌توان بیان نمود که پرتو بیم الکترون می‌تواند انرژی قابل سوخت و ساز دانه جو را افزایش دهد و احتمالاً سبب بهبود ارزش تغذیه‌ای آن گردد.

کلمات کلیدی: انرژی قابل سوخت و ساز، پرتوتابی، ترکیب شیمیایی، دانه جو.

مقدمه

غیرنشت‌های (به ویژه بتاگلوکان) است که مصرف آن را در طیور محدود می‌کند (15 و 20). بتاگلوکان سبب افزایش گرانی در دستگاه گوارش می‌شود. گرانی بوسیله فیبرهای محلول در آب مثل بتاگلوکان، آرابینوزایلان و پکتین بوجود می‌آید و باعث می‌شود که توده مواد غذایی در دستگاه گوارش حالت چسبندگی پیدا کنند که این حالت مانع از تماس آنزیم‌های گوارشی با مواد هضمی شده و کاهش قابلیت هضم را در پی دارد (10 و 18). در زمینه کاهش مواد ضدتغذیه‌ای موجود در منابع خوراکی روش‌های متفاوتی وجود دارد. یکی از این روش‌ها پرتوتابی است. در مطالعات مختلف حوزه تغذیه طیور از پرتوتابی برای افزایش کیفیت پروتئین، بهبود قابلیت هضم مواد مغذی، حذف عوامل ضد تغذیه‌ای و همچنین کاهش یا حذف آلودگی خوراک استفاده شده است (35). پرتوتابی دارای مزایایی از جمله عدم تغییر طعم و رنگ خوراک و همچنین کاهش کیفیت مواد مغذی نسبت به سایر روش‌هاست (19). در پژوهشی پرتو گاما و بیم الکترون (10 تا 40 کیلوگری) سبب کاهش گوسیپول و فیبرخام کنجاله پنبه‌دانه گردید (26). همچنین دزهای 10 تا 30 کیلوگری این

جیره معمول در تغذیه طیور بر پایه ذرت - سویا است. اما بخش زیادی از ذرت وارداتی است و جهت‌گیری مصرف ذرت در سال‌های اخیر به سمت صنایع جانبی از جمله تولید اتانول، باعث گران شدن قیمت آن شده است. از طرف دیگر امکان توسعه بیشتر کشت داخلی ذرت به دلیل نیاز آبی بالاتر آن نسبت به گندم و جو وجود ندارد و این مشکلات به خصوص در آینده نزدیک سبب استفاده بیشتر از گندم و جو در جیره پرندگان خواهد شد (17 و 23). ماده ضد تغذیه‌ای اصلی در دانه جو پلی‌ساکاریدهای

- 1- دانشجوی دکترای گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران
 - 2- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران
 - 3- استاد دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
- (*) - نویسنده مسئول:
Email: s.salari@asnruk.ac.ir
DOI:10.22067/ijasr.v11i4.72541

دزهای 10، 20، 30 و 40 کیلوگری در پژوهشکده کاربرد پرتوهای انرژی اتمی (یزد) انجام شد. جهت پرتوتابی بیم الکترون از دستگاه رودوترون که دارای شتاب دهنده TT200 می باشد با شدت 10 مگا ولت استفاده گردید. پس از اعلام نتایج حاصل از دزیمتری ترکیب شیمیایی نمونه‌ها به روش AOAC (1)، نشاسته به روش انترون (6) و میزان بتاگلوکان با استفاده از کیت آنزیمی شرکت مگازیم کشور ایرلند (Megazyme International Irland Ltd) به روش مک کلیری (21) اندازه‌گیری شد.

تعیین انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای نیتروژن جو پرتوتابی شده با استفاده از جوجه‌های گوشتی

برای تعیین انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای نیتروژن جو پرتوتابی شده، تعداد 320 قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه تجاری راس (Ross 308) به صورت یکجا پرورش داده شده و از یک جیره استاندارد بر اساس جداول احتیاجات جوجه‌های گوشتی (NRC، 1994) (پروتئین خام 21/21 درصد و انرژی قابل سوخت و ساز 2950 کیلوکالری در کیلوگرم) به مدت 2 هفته تغذیه شدند (25). آب و غذا در این مدت به صورت اختیاری در دسترس جوجه‌ها قرار گرفت. در روز دهم، جوجه‌ها توزین شدند و بصورت تصادفی در 64 واحد آزمایشی (16 تیمار در 4 تکرار) قرار گرفتند. در روز پانزدهم، پرندگان به مدت 4 ساعت گرسنه نگهداشته شده و سپس جیره‌های آزمایشی را از روز 15 تا 21 مصرف نمودند (24). برای تعیین AME_n از یک جیره پایه استفاده شد و نمونه مورد بررسی (جو بدون پرتو و نیز پرتوتابی شده در دزهای 10، 20، 30 و 40 کیلوگری) در سطوح 7، 14 و 21 درصد جایگزین جیره پایه (جدول 1) شدند که به همراه جیره پایه و در مجموع 16 تیمار حاصل و در واقع برای هر دز پرتوتابی و بدون پرتو 4 جیره آزمایشی بدست آمد. این جیره‌ها حاوی 0/3 درصد اکسید کروم به عنوان مارکر غیر قابل هضم بود که در یک آزمایش تعادلی برای تعیین AME_n استفاده گردید (13). در طول 3 روز آخر، نمونه‌های فضولات از هر واحد آزمایشی جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌های فضولات و جیره‌های آسیاب شده مورد تجزیه شیمیایی قرار گرفت. ماده خشک و پروتئین مطابق روش AOAC (1)، اکسید کروم توسط دستگاه جذب اتمی (Analytic jena)، مدل Contra 300 و انرژی خام بوسیله دستگاه بمب کالریمتر (Parr، ۱۲۶۱) تعیین شد. سپس انرژی قابل سوخت و ساز جیره‌های آزمایشی و دانه جو محاسبه شد. با کمک رگرسیون خطی بین AME_n جیره‌های آزمایشی در هر دز با سطوح افزایش دانه جو (7، 14 و 21 درصد)، AME_n دانه جو در 100 درصد جایگزینی محاسبه شد (27).

پرتوها سبب کاهش گوسپیول و فیبرخام در کنجاله تخم پنبه شد و بیم الکترون نسبت به پرتو گاما اثر بیشتری بر کاهش گوسپیول نشان داد (2). بیان شده است که پرتو بیم الکترون در دزهای 10 تا 30 کیلوگری باعث تغییر در ترکیبات شیمیایی دانه سورگوم نگردید، اما سبب کاهش تانن و فیتات در این دانه شد. همچنین کاهش این مواد ضد تغذیه‌ای سبب بهبود قابلیت هضم در خروس‌های بالغ گردید (31).

استفاده از اشعه گاما در دانه گندم، تریتیکاله، دانه جو پوست کنده، دانه جو بدون پوشینه، یولاف پوست کنده و یولاف بدون پوشینه در جوجه‌های گوشتی سبب افزایش وزن گردید. دانه جو و یولاف که دارای سطح بالایی از بتاگلوکان بودند به خوبی تحت تأثیر قرار گرفتند (4).

از طرف دیگر اندازه‌گیری انرژی قابل سوخت و ساز منابع خوراکی تحت تأثیر پرتوتابی امری لازم و ضروری است. انرژی قابل سوخت و ساز دارای انواع متفاوتی می‌باشد که روش‌های ویژه‌ای برای تعیین هر یک وجود دارد. انرژی قابل سوخت و ساز نشان دهنده انرژی مصرفی در فرآیندهای متابولیسمی پرنده می‌باشد. اندازه‌گیری این انرژی بر پایه روش تعادلی استوار است که در آن میزان انرژی مصرفی در طی یک دوره زمانی و انرژی دفع شده از طریق فضولات در طی همان مدت اندازه‌گیری می‌شود (12). اندازه‌گیری AME_n یک خوراک با جایگزینی آن در جیره پایه توسط هیل و اندرسون (13) و سیبالد و اسلینجر (33) توضیح داده شده است. ماده مورد آزمایش ممکن است در یک یا چند سطح در جیره پایه جایگزین شود. یک روش رگرسیون خطی برای محاسبه مقدار AME_n ماده آزمایشی که در چند سطح جایگزین شده باشد توسط پاتر و همکاران (27) پیشنهاد شده است. روش تغذیه اجباری سیبالد (34) سریع‌ترین و ارزان‌ترین روش تعیین انرژی قابل سوخت و ساز حقیقی (TME) و انرژی قابل سوخت و ساز حقیقی تصحیح شده برای نیتروژن (TME_n) ماده خوراکی است. TME_n تعیین شده با این روش نسبت به AME_n تغییرات کمتری دارد (37).

با توجه به گزارشات ذکر شده در خصوص اثر پرتوتابی احتمال می‌رود، پرتوتابی سبب بهبود ارزش غذایی دانه جو گردد و از آنجایی که گزارشی در خصوص اثر پرتو بیم الکترون بر انرژی قابل سوخت و ساز دانه جو در دسترس نیست لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر این پرتو بر انرژی قابل سوخت و ساز دانه جو انجام شد.

مواد و روش‌ها

دانه جو (رقم فجر) به مقدار مورد نیاز خریداری و در کیسه‌های پلی‌اتیلنی به ابعاد 65×35 سانتی‌متر مربع (در هر کیسه 2 کیلوگرم و تعداد 3 کیسه برای هر دز) بسته‌بندی گردید. پرتوتابی بیم الکترون در

استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت 0/01 گرم توزین و با استفاده از قیف مخصوص مطابق روش پیشنهادی سیبالد (34) به صورت تغذیه اجباری به 4 قطعه خروس به ازای هر نمونه خوراندند. تعداد 4 قطعه خروس نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند و به آنها هیچ غذایی داده نشد. بلافاصله پس از انجام عمل تغذیه اجباری، سینی مخصوص جمع‌آوری فضولات در زیر هر قفس قرار داده شد. ضمن بررسی سینی‌ها از نظر وقوع استفراغ در طول 48 ساعت پس از تغذیه اجباری، فضولات به طور روزانه جمع‌آوری و سپس با اندازه‌گیری میزان انرژی خام و پروتئین خوراک مصرفی و فضولات دفعی و ابقای نیتروژن میزان AME_n ، AME ، TME و TME_n نمونه‌ها تعیین شد.

آنالیز آماری

داده‌های حاصل از آنالیز دانه جو و تعیین انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای نیتروژن و انرژی قابل سوخت و ساز حقیقی تصحیح شده برای نیتروژن جو پرتوتابی شده و بدون پرتو در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شد. در آزمایش تعیین AME_n از رویه رگرسیون ساده نرم افزار آماری SAS (29) برای تجزیه و بدست آوردن معادلات رگرسیون استفاده شد. همه داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم افزار آماری SAS (29) آنالیز شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (7) در سطح معنی‌داری 5 درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی

نتایج حاصل از تجزیه شیمیایی جو بدون پرتو و پرتوتابی شده در دزهای 10 تا 40 کیلوگری در جدول 2 نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که پرتوتابی بیم الکترود بر درصد ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام، خاکستر، نشاسته، بتاگلوکان و ADF دانه جو تأثیر نداشت. NDF نمونه‌های جو با افزایش دز پرتو (10 تا 30 کیلوگری) بطور معنی‌داری ($P < 0/05$) کاهش یافت اما بین دز 30 و 40 کیلوگری این کاهش معنی‌دار نبود.

در پژوهشی گزارش شده است که اثر بیم الکترود در دزهای 10 تا 30 کیلوگری بر میزان ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام، خاکستر خام، نشاسته و بتاگلوکان دانه جو معنی‌دار نبود (32). همچنین در گزارش دیگری، پرتو بیم الکترود در دزهای 10 تا 30 کیلوگری تأثیر معنی‌داری بر ترکیب شیمیایی دانه سورگوم نداشت (31). این گزارشات با نتیجه این آزمایش همخوانی دارد.

محاسبات و فرمول‌های مورد استفاده (24، 30):

- (1) $AME_{Diet} = GE_{Diet} - (GE_{Excreta} * Marker_{Diet} / Marker_{Excreta})$
- (2) $AME_n = AME_{Diet} - 8.22 * NR$
- (3) $NR = N_{Diet} - (N_{Excreta} * Marker_{Diet} / Marker_{Excreta})$
- (4) $AMEN_{(kcal/kg)} = (AMEN_T - AMEN_B * a) / b$

AME_{Diet} : انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری جیره (کیلوکالری در کیلوگرم)

GE_{Diet} : انرژی خام جیره (کیلوکالری در کیلوگرم)
 $GE_{Excreta}$: انرژی خام فضولات (کیلوکالری در کیلوگرم)
 $Marker_{Diet}$: غلظت نشانگر در جیره

$Marker_{Excreta}$: غلظت نشانگر در فضولات

AME_n : انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای نیتروژن (کیلوکالری در کیلوگرم)

NR: نیتروژن ابقاء شده N_{Diet} : درصد نیتروژن در خوراک
 $N_{Excreta}$: درصد نیتروژن در فضولات

T: جیره آزمایشی B: جیره پایه a: درصد جیره پایه در جیره آزمایشی b: درصد جایگزینی ماده آزمایشی

بدین ترتیب پس از تعیین مقادیر AME_n جیره پایه و جیره‌های آزمایشی و با استفاده از فرمول 4 AME_n ماده آزمایشی (دانه جو) تعیین گردید.

تعیین انرژی قابل سوخت و ساز حقیقی تصحیح شده

برای نیتروژن جو پرتوتابی شده

در این آزمایش انرژی قابل سوخت و ساز حقیقی تصحیح شده برای نیتروژن نمونه‌های مورد بررسی (دانه جو بدون پرتو و دانه جو پرتوتابی شده در دزهای 10، 20، 30 و 40 کیلوگری) با روش تغذیه اجباری سیبالد (34) و با استفاده از 24 خروس بالغ نژاد ردآیلندرد تعیین شد. از این تعداد 4 خروس برای محاسبه میزان دفع انرژی از منشاء داخلی در تمام طول آزمایش گرسنه نگه‌داشته شدند. سن خروس‌ها در شروع آزمایش 43 هفته و میانگین وزن 2795 ± 92 گرم بود. خروس‌ها به صورت تصادفی در داخل قفس‌های انفرادی به ابعاد (طول 0/4، عرض 0/4 و ارتفاع 0/5 متر) قرار داده شدند. طول مدت روشنایی برای پرندگان 12 ساعت (6 تا 18) و دمای سالن 24 درجه سانتی‌گراد بود. به منظور کاهش تنش ناشی از گرسنگی به پرند، یک دوره 10 روزه سازگاری اعمال گردید که در این مدت از روزی 2 تا 10 ساعت به خروس‌ها گرسنگی داده شد و از یک جیره تجاری برای تامین احتیاجات پایه و نگهداری آنها استفاده شد. پس از اعمال 24 ساعت گرسنگی، مقدار 30 گرم از هر یک از نمونه‌های آزمایشی با

جدول 1- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه و جیره‌های دارای سطوح افزایشی دانه جو
Table1- Feed ingredients and chemical compositions of basal diet and diets with increasing levels of barley

اقلام خوراکی (%) Ingredients (%)	جیره‌های آزمایشی (درصد جایگزینی دانه جو در جیره پایه) Experimental diets (% replacement barley grain in basal diet)			
	0	7	14	21
ذرت Corn	61.16	56.87	52.00	47.37
کنجاله سویا (44% پروتئین خام) Soybean meal (44% CP)	34.33	31.62	29.49	27.12
جو Barley	0.00	7.00	14.00	21.00
سنگ آهک Limestone	1.40	1.40	1.40	1.40
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.68	1.68	1.68	1.68
نمک طعام Common salt	0.45	0.45	0.45	0.45
مکمل ویتامینی ¹ Viatmin premix ¹	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی ² Mineral premix ²	0.25	0.25	0.25	0.25
اکسید کروم Chromic oxide	0.30	0.30	0.30	0.30
دی ال - متیونین DL- Methionine	0.18	0.18	0.18	0.18
ترکیبات محاسبه شده Calculated composition				
انرژی قابل سوخت و ساز (کیلوکالری در کیلوگرم) AME (kcal/kg)	2814	2795	2769	2746
پروتئین خام (%) Crude protein (%)	20.30	19.59	19.07	18.47
متیونین (%) Methionine (%)	0.50	0.49	0.48	0.47
متیونین + سیستین (%) Methionine + cystine (%)	0.87	0.85	0.82	0.80
لیزین (%) Lysine (%)	1.08	1.03	0.98	0.94
ترئونین (%) Threonine (%)	0.77	0.73	0.71	0.68
فسفر قابل دسترس (%) Available phosphorus (%)	0.45	0.45	0.46	0.46
کلسیم (%) Calcium (%)	1.00	1.00	1.00	1.00
سدیم (%) Sodium (%)	0.19	0.19	0.19	0.19

¹ مکمل ویتامینه به ازای هر کیلوگرم از جیره مواد مغذی زیر را تأمین نمود: ویتامین A، 9000 واحد بین‌المللی؛ ویتامین D₃، 3000 واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، 48 میلی‌گرم؛ ویتامین K₃، 3 میلی‌گرم؛ ویتامین B₁، 1/8 میلی‌گرم؛ ویتامین B₂، 6 میلی‌گرم؛ ویتامین پیریدوکسین، 3 میلی‌گرم؛ ویتامین B₁₂، 0/012 میلی‌گرم؛ نیاسین، 42 میلی‌گرم؛ فولیک اسید، 1/2 میلی‌گرم؛ بیوتین، 0/24 میلی‌گرم؛ اسید پانتوتیک 12 میلی‌گرم.

² مکمل مواد معدنی به ازای هر کیلوگرم از جیره مواد مغذی زیر را تأمین نمود: منگنز، 120 میلی‌گرم؛ روی، 100 میلی‌گرم؛ آهن، 80 میلی‌گرم؛ مس، 20 میلی‌گرم؛ ید، 2 میلی‌گرم؛ سلنیوم، 0/3 میلی‌گرم؛ کبالت، 0/5 میلی‌گرم.

¹ Vitamin premix supplied per kilogram of diet: vitamin A (retinyl acetate), 9,000 IU; vitamin D₃, 3,000 IU; vitamin E (DL- α -tocopheryl acetate), 48mg; vitamin K, 3 mg; thiamin, 1.8 mg; riboflavin, 6 mg; pyridoxine, 3 mg; vitamin B₁₂, 0.012 mg; niacin, 42 mg; folic acid, 1.2 mg; biotin, 0.24 mg; pantothenic acid, 12 mg.

² Mineral premix supplied per kilogram of diet: manganese, 120 mg; zinc 100 mg; iron, 80 mg; copper, 20 mg; iodine, 2 mg; selenium, 0.3 mg; cobalt, 0.5 mg.

گزارش ابراهیمی و همکاران (8) نشان می‌دهد که پرتو گاما در دزهای 15، 30 و 45 کیلوگری بر درصد ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام، خاکسترخام، ADF و NDF دانه کلزا بی‌تأثیر بود که این گزارش به جزء NDF همسو با نتیجه این آزمایش است.

جدول 2- ترکیب شیمیایی دانه جو پرتو تابی شده و بدون پرتو (درصد از ماده خشک)¹

Table 2- Chemical composition of raw and electron beam irradiated barley grain (% of dry matter)¹

تیمار Treatments	ماده خشک Dry matter	پروتئین خام Crude protein	چربی خام Ether extract	خاکستر Ash	نشاسته Starch	بتاگلوکان β-glucan	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF ²)	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF ³)
جو بدون پرتو raw barley	94.45	12.37	3.50	3.75	55.27	3.93	19.25 ^a	6.71
10 کیلوگری 10 kGy	94.71	12.33	3.44	3.49	54.77	3.85	18.10 ^b	6.99
20 کیلوگری 20 kGy	94.72	12.23	3.47	3.71	56.44	3.92	16.17 ^c	6.61
30 کیلوگری 30 kGy	94.85	11.95	3.43	3.69	55.02	3.96	15.28 ^d	6.65
40 کیلوگری 40 kGy	94.83	11.83	3.50	3.49	56.00	3.68	15.04 ^d	6.45
SEM	0.07	0.14	0.04	0.04	0.46	0.04	0.42	0.06
P- value	0.421	0.823	0.977	0.156	0.817	0.242	0.0001	0.731

¹ میانگین‌های هرستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی داری می‌باشند (P<0.05).

² Means within same column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

³ Neutral detergent fiber

Acid detergent fiber

نتایج این جدول نشان می‌دهد که با افزایش سطح جایگزینی دانه جو بدون پرتو و پرتوتابی شده در دزهای 10، 20، 30 و 40 کیلوگری، AME_n این جیره‌ها کاهش عددی نشان داد (P>0/05). معادلات رگرسیون حاصل از AME_n جیره‌های آزمایشی در هر دز با سطوح افزایشی دانه جو در جدول 4 آمده است. AME_n دانه جو با جایگزینی 100 درصد دانه جو در این معادلات محاسبه شد. این معادلات نشان داد که با افزایش دز پرتو AME_n دانه جو افزایش یافت. AME_n دانه جو بدون پرتو و دزهای 10، 20، 30 و 40 کیلوگری به ترتیب 2593/8، 2628/3، 2663/1، 2730/7 و 2795 کیلوکالری در کیلوگرم برآورد گردید.

هوشمندی و همکاران (14) گزارش نمودند که پلت نمودن جیره‌های جوجه‌های گوشتی حاوی سه رقم جو (فجر، ریحانه و یوسف) سبب کاهش AME_n، AME و انرژی خالص گردید و افزودن آنزیم مقدار این شاخص‌ها و همچنین قابلیت هضم پروتئین و چربی را افزایش داد. جونپر و همکاران (16)، گارسیا و همکاران (10) و فونتی و همکاران (9) گزارش نمودند که با استفاده از مکمل آنزیمی گلاکوکسیداز (بتاگلوکاناز و زایلاناز) می‌توان AME_n دانه جو را در جوجه‌های گوشتی افزایش داد. افزایش AME و AME_n در جو جوانه‌زده نسبت به جو معمولی نیز گزارش شده است (28).

بحرینی و همکاران (2) نشان دادند که درصد ماده آلی، پروتئین خام و چربی خام کنجاله تخم پنبه تحت تأثیر پرتو گاما و بیم الکترون در دزهای 10، 20 و 30 کیلوگری قرار نگرفت. اما پرتو گاما در همه این دزها سبب کاهش فیبرخام گردید. هرچند که پرتو بیم الکترون تأثیری بر فیبر خام نشان نداد. گزارش نایفی و همکاران (26) نشان می‌دهد که اثر پرتو گاما و بیم الکترون در دزهای 10، 20، 30 و 40 کیلوگری بر کنجاله پنبه دانه سبب کاهش فیبرخام گردید و در دزهای 30 و 40 کیلوگری این دو پرتو این کاهش معنی‌دار بود.

با توجه به اینکه در این آزمایش ADF تحت تأثیر پرتو قرار نگرفت اما NDF کاهش معنی‌دار نشان داد می‌توان اینگونه بیان نمود که شاید دلیل کاهش معنی‌دار NDF تحت تأثیر پرتو، مربوط به تجزیه شدن بخش همی سلولز موجود در آن باشد. نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که بسته به نوع پرتو، دز استفاده شده، نوع خوراک و ترکیب شیمیایی مورد اندازه‌گیری نتایج حاصله می‌تواند تغییر نماید.

انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای نیتروژن جو پرتوتابی شده

جدول 3 مقادیر انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای نیتروژن جیره‌های مختلف آزمایشی و دانه جو را نشان می‌دهد.

جدول 3- انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای نیروزن (AME_n) of experimental diets and barley grain, raw and irradiated
Table 3- Apparent metabolizable energy (AME_n) of experimental diets and barley grain, raw and irradiated

تعداد Treatments	بدون پرتو Raw	10 کیلوگری 10 kGy	20 کیلوگری 20 kGy	30 کیلوگری 30 kGy	40 کیلوگری 40 kGy
سطح دانه جو در جیره پایه (درصد) Level of barley grain in basal diet (%)	AME _n (Kcal/kg) جیره آزمایشی AME _n (Kcal/kg) Experimental diet	AME _n (Kcal/kg) دانه جو AME _n (Kcal/kg) barley grain	AME _n (Kcal/kg) جیره آزمایشی AME _n (Kcal/kg) Experimental diet	AME _n (Kcal/kg) دانه جو AME _n (Kcal/kg) barley grain	AME _n (Kcal/kg) دانه جو AME _n (Kcal/kg) barley grain
0	2906.20	2906.20	2906.20	2906.20	2906.20
7	2889.24	2891.01	2898.12	2903.03	2903.06
14	2880.06	2883.00	2886.12	2896.19	2898.26
21	2835.25	2843.04	2852.16	2866.20	2881.16
SEM	11.17	10.34	10.11	9.27	6.56
P-Value	0.126	0.159	0.257	0.441	0.583
SEM=Standard Error of Mean					

جدول 4- معادلات رگرسیون خطی حاصل از AME_n جیره‌های آزمایشی با سطوح افزایشی دانه جو پرتوتابی شده و بدون پرتوTable 4- Linear regression equations of AME_n of experimental diets with increasing levels of raw and irradiated barley grain

تیمار Treatments	معادله رگرسیون خطی Linear regression equation	R^2	تخمین AME_n (Kcal/kg) دانه جو با 100 درصد جایگزینی دانه جو Calculated AME_n of barley grain (Kcal/kg) with 100% replacement barley grain
جو بدون پرتو raw barley	$Y = 2911 - 0.3172x$	0.89	2593.8
10 کیلوگری 10 kGy	$Y = 2910.4 - 0.2821x$	0.89	2628.3
20 کیلوگری 20 kGy	$Y = 2911.8 - 0.2487x$	0.89	2663.1
30 کیلوگری 30 kGy	$Y = 2911.9 - 0.1812x$	0.80	2730.7
40 کیلوگری 40 kGy	$Y = 2909.2 - 0.1142x$	0.85	2795.0

X=سطح دانه جو در جیره آزمایشی (گرم در کیلوگرم)

 AME_n (kcal/kg)=Y جیره آزمایشی در دزهای

مختلف

الکترون را انتظار داشت، چون احتمالاً پرتودهی در این آزمایش اثرات مشابهی داشته است و سبب کاهش مواد ضد تغذیه‌ای و افزایش قابلیت هضم مواد مغذی شده است.

انرژی قابل سوخت و ساز حقیقی تصحیح شده برای نیتروژن جو پرتوتابی شده

مقادیر انرژی قابل سوخت و ساز (AME_n ، TME، TME_n) دانه جو بدون پرتو و پرتوتابی شده با دزهای مختلف در جدول 5 نشان داده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که تمام شاخصه‌های انرژی مورد ارزیابی از 20 تا 40 کیلوگری روند افزایشی داشت و شاخص اصلی یعنی TME_n مشابه سایر شاخص‌ها تمایل به معنی‌داری نشان داد ($P=0/082$).

TME_n دانه جو بدون پرتو بدست آمده در این آزمایش کمتر از (1994) NRC ($2651/7$) در مقایسه با 2900 کیلوکالری در کیلوگرم) است (25) که احتمالاً علت آن به نوع خروس استفاده شده بستگی دارد. تعیین TME_n در NRC به کمک خروس‌های بالغ لگه‌ورن انجام شده در حالی که در این آزمایش از خروس‌های بالغ ردآیلندرد استفاده شد. تعیین TME_n پنج رقم جو کشت شده در ایران توسط قیصری و همکاران (12) با این نتیجه همخوانی دارد و میانگین TME_n این پنج رقم 2380 کیلوکالری در کیلوگرم بود که از NRC کمتر است و این کاهش به خروس‌های گوشتی استفاده شده در آزمایش نسبت داده شد.

افزایش AME_n در این گزارشات به کاهش پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای، کاهش ویسکوزیته دستگاه گوارش و افزایش قابلیت هضم مواد مغذی نسبت داده شد. افزایش AME_n در این گزارشات با نتیجه این آزمایش در خصوص افزایش میزان AME_n دانه جو با افزایش دز پرتوتابی بیم الکترون همخوانی دارد.

بیان شده است که پرتو گاما و بیم الکترون (10 تا 40 کیلوگری) سبب کاهش خطی گوسپول و فیبرخام کنجاله پنبه‌دانه گردید (26). همچنین دزهای 10 تا 30 کیلوگری این پرتوها سبب کاهش گوسپول و فیبرخام در کنجاله تخم پنبه شد. کاهش این مواد ضد تغذیه‌ای قابلیت هضم پروتئین را در خروس‌های بالغ لگه‌ورن افزایش داد و بالاترین آن در دز 30 کیلوگری گاما بدست آمد (2). تانگ و همکاران (36) علت کاهش فیبرخام در اثر پرتو گاما را اکسیداسیون سلولز و تبدیل سلولز و لیگنین به دیواره سلولی محلول عنوان کردند. با توجه به کاهش فیبرخام در اثر پرتودهی در این گزارشات و کاهش NDF در آزمایش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که شاید پرتو بیم الکترون سبب سست شدن دیواره سلولی شده که این امر منجر به در دسترس قرار گرفتن مواد مغذی بیشتر و افزایش AME_n در جوجه‌های گوشتی با افزایش دز پرتو بیم الکترون شده است.

در پژوهشی، استفاده از کنجاله کانولا پرتوتابی شده با اشعه گاما (15 تا 45 کیلوگری) در مرغ‌های مادر گوشتی سبب افزایش قابلیت هضم ظاهری آمینواسیدها با افزایش دز پرتو گردید. سطح گلوکوزینولات در دز 45 کیلوگری 58 درصد کاهش یافت (5). همچنین افزایش دز اشعه گاما از 10 تا 30 کیلوگری میزان گلوکوزینولات را در کنجاله کانولا کاهش داد (11). با توجه به نتیجه این گزارشات می‌توان افزایش AME_n با افزایش دز پرتو بیم

جدول 5- انرژی قابل سوخت و ساز جو پرتوتایی شده و بدون پرتو در خروس‌های بالغ

Table 5- The metabolizable energy of raw and irradiated barley grain in cockerels

انرژی قابل سوخت و ساز (کیلوکالری در کیلوگرم)

تیمار Treatments	AME	AME _n	TME	TME _n
جو بدون پرتو raw barley	2425.7	2426.0	2663.7	2651.7
10 کیلوگری 10 kGy	2403.0	2403.2	2641.0	2628.9
20 کیلوگری 20 kGy	2480.6	2480.9	2718.6	2706.6
30 کیلوگری 30 kGy	2653.0	2653.4	2891.0	2879.2
40 کیلوگری 40 kGy	2730.1	2730.2	2968.1	2956.0
SEM	46.81	46.80	46.81	46.80
P- value	0.084	0.082	0.083	0.082

SEM=Standard Error of Mean

جایگاه فعال آنزیم پپسین و تریپسین هستند، که این شرایط سبب افزایش قابلیت هضم پروتئین می‌شود (22). پرتو می‌تواند سبب دپلمره شدن مولکول بتاگلوکان و کاهش وزن مولکولی آن شده که این سبب افزایش حلالیت آن و کاهش ویسکوزیته می‌گردد (38). همچنین کاهش تانن و فیتات در سورگوم و بهبود در قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام و انرژی خام در خروس‌های بالغ با کمک پرتوی بیم الکترون (10 تا 30 کیلوگری) توسط شورنگ و همکاران (31) گزارش گردید.

بررسی این گزارشات نشان دهنده افزایش در قابلیت هضم مواد مغذی، کاهش مواد ضد تغذیه‌ای و تغییرات مولکولی حاصله از اثر پرتو بر مواد غذایی می‌باشد. شاید بتوان دلیل افزایش انرژی قابل سوخت و ساز در پژوهش حاضر با افزایش دز پرتو بیم الکترون را به موارد ذکر شده نسبت داد.

نتیجه‌گیری کلی

نتیجه این آزمایش نشان داد که پرتو بیم الکترون سبب افزایش انرژی قابل سوخت و ساز در جوجه‌های گوشتی و خروس‌های بالغ گردید. لذا این روش عمل‌آوری احتمالاً باعث افزایش فراهمی انرژی قابل سوخت و ساز دانه جو گردد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به‌خاطر حمایت‌های مالی پروژه تشکر و قدردانی می‌گردد.

بر اساس گزارش ویلامید و همکاران (37) سطح 50 درصد هشت رقم جو مورد آزمایش همراه با آنزیم سبب بهبود در AME_n جیره‌های آزمایشی و ارقام جو در جوجه‌های گوشتی نسبت به جیره‌های بدون آنزیم گردید. ارقامی که ویسکوزیته بالاتری داشتند بیشتر تحت تأثیر قرار گرفتند. TME_n به کمک خروس‌های بالغ تعیین شد و بزرگتر از AME_n بود و افزودن آنزیم باعث افزایش AME_n و نزدیک شدن به TME_n شد، که نشان می‌دهد شرایط هضمی در خروس با جوجه متفاوت است. اثر افزایش دز پرتو در این آزمایش سبب افزایش AME_n گردید و به TME_n نزدیک شد که با این گزارش همخوانی دارد.

در پژوهشی استفاده از آنزیم بتاگلوکاناز در دانه جو سبب افزایش AME_n و کاهش ویسکوزیته شیرابه هضمی در جوجه‌های گوشتی گردید. TME_n بوسیله خروس‌های بالغ تعیین شد و آنزیم اثری بر آن نداشت (9). اما نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که پرتو حتی در خروس‌های بالغ هم سبب افزایش TME_n می‌گردد.

بر اساس گزارش بهشتی مقدم و همکاران (3) اثر پرتو بیم الکترون در دز 20 کیلوگری بر دانه کتان سبب افزایش قابلیت هضم ایلئومی ماده خشک، ماده آلی و چربی خام در 21 روزگی جوجه‌های گوشتی گردید. پرتو بیم الکترون در این آزمایش سبب کاهش فیبر خام و کل گلیکوزیدهای سیانوژنیک دانه کتان گردید که می‌تواند علت افزایش قابلیت هضم باشد.

پرتودهی سبب تخریب پروتئین و در سطح قرار دادن اسیدهای آمینه آب گریز (به‌ویژه آروماتیک) شده که گروه‌های مناسبی برای

منابع

- 1- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- 2- Bahraini, Z., S. Salari., M. Sari., J. Fayazi, and M. Behgar. 2017. Effect of radiation on chemical composition and protein quality of cottonseed meal. *Animal Science Journal*, 88: 1425-1435.
- 3- Beheshti Moghadam, M. H., M. Rezaei., M. Behgar, and H. Kermanshahi. 2017. Effects of irradiated flaxseed on performance, carcass characteristics, blood parameters, and nutrient digestibility in broiler chickens. *Poultry Science Journal*, 5: 153-163.
- 4- Campbell, G. L., H. L. Classen, and G. M. Balance. 1986. Gamma irradiation treatment of cereal grains for chick diets. *Journal of Nutrition*, 116: 560-569.
- 5- Chamani, M., M. Molaei., F. Foroudy., H. Janmohammadi, and G. Raisali. 2009. The effect of autoclave processing and gamma irradiation on apparent ileal digestibility in broiler breeders of amino acids from canola meal. *African Journal of Agricultural Research*, 4: 592-598.
- 6- Clegg, K. M. 1956. The application of the anthrone reagent to the estimation of starch in cereals. *Journal of food the Science and Agriculture*, 7: 40-44.
- 7- Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics*, 11: 1-42.
- 8- Ebrahimi, S. R., A. Nikkhah., A. A. Sadeghi, and G. Raisali. 2009. Chemical composition, secondary compounds, ruminal degradation and in vitro crude protein digestibility of gamma irradiated canola seed. *Animal Feed Science and Technology*, 151: 184-193.
- 9- Fuente, J. M., P. Perez de ayala., A. Flores, and M. J. Villamide. 1998. Effect of storage time and dietary enzyme on the metabolizable energy and digesta viscosity of barley-based diets for poultry. *Poultry Science*, 77: 90-97.
- 10- Garcia, M., R. Lazaro., M. A. Latorre., M. I. Gracia, and G. G. Mateos. 2008. Influence of enzyme supplementation and heat processing of barley on digestive Traits and productive performance of broilers. *Poultry Science*, 87: 940-948.
- 11- Gharaghani, H., M. Zaghari., G. Shahhosseini, and H. Moravej. 2008. Effect of gamma irradiation on antinutritional factors and nutritional value of canola meal for broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 21(10): 1479-1485.
- 12- Gheisari, A. A., A. H. Pourabadeh., J. Pourreza., M. Mahlougi, and R. Bahadoran. 2007. Determination of chemical composition and evaluation of apparent and true metabolizable energy of different barley cultivars in broiler chicks. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 41: 405-415. (In Persian).
- 13- Hill, F. W, and D. N. Anderson. 1958. Comparison of metabolizable energy and productive energy determinations with growing chicks. *Journal of Nutrition*, 64: 587-603.
- 14- Hooshmandi, A. M., M. Bojarpour., A. Yaghobfar., S. Salari, and H. Rokni. 2017. Effect of physical form, barley variety and enzyme addition on nutrient ileal digestibility and apparent metabolizable energy of broiler diets. *Journal of Animal Production*, 19: 159-174. (In Persian).
- 15- Jacob, J. P, and A. J. Pescatore. 2012. Using barley in poultry diets—A review. *Journal Applied Poultry Research*, 21: 915-940.
- 16- Juanpere, J., A. M. Perez-Vendrell., E. Angulo, and J. Brufau. 2005. Assessment of potential interactions between phytas and glycosidase enzyme supplementation on nutrient digestibility in broilers. *Poultry Science*, 84: 571-580.
- 17- Kalantar, M., A. Yaghobfar, and F .khajali. 2014. Effect of non-starch polysaccharides of barley supplemented with enzyme on growth performance, gut microbial population and intestinal morphology of broiler chickens. *Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 106: 121-132. (In Persian).
- 18- Knudsen, K. E. B. 2014. Fiber and nonstarch polysaccharide content and variation in common crops used in broiler diets. *Poultry Science*, 93: 2380-2393.
- 19- Lewis, S. J., A. Velasquez., S. L. Cuppett, and S. R. Mckee. 2002. Effect of electron beam irradiation on poultry meat safety and quality. *Poultry Science*, 81: 896-903.
- 20- Masey Oneill, H. V., J. A. Smith, and M. R. Bedford. 2014. Multicarbohydrase enzymes for non-ruminants. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 27(2): 290-301.
- 21- McCleary, B. V, and R. Codd. 1991. Measurement of (1→3), (1→4)-β-D-glucan in barley and oats: a streamlined enzymic procedure. *Journal Science Food Agric*, 55: 303-312.
- 22- Murray, R. K., D. K. Granner., P. A. Mayes, and V.W. Rodwell. 2003. *Harper's Biochemistry*. 26th edn. McGraw-Hill, New York, NY, USA.
- 23- Nahas, J, and M. R. Lefrancois. 2001. Effects of feeding locally grown whole barley with or without enzyme addition and whole wheat on broiler performance and carcass traits. *Poultry Science*, 80: 195-202.
- 24- Nassiri Moghaddam, H., S. Salari., J. Arshami., A. Golian, and M. Maleki. 2012. Evaluation of the nutritional

- value of sunflower meal and its effect on performance, digestive enzyme activity, organ weight, and histological alterations of the intestinal villi of broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 21: 293–304.
- 25- National Research Council, NRC. 1994. Nutrient requirements of poultry. 9th ed. National Academy Press. Washington, DC.
 - 26- Nayefi, M., S. Salari., M. Sari, and M. Behgar. 2014. Treatment by gamma or electron radiation decreases cell wall and gossypol content of cottonseed meal. *Radiation Physics and Chemistry*, 99: 23–25.
 - 27- Potter, L. M., L. D. Matterson., A. W. Arnold., W. J. Pudalkiewicz, and E. P. Singen. 1960. Studies in evaluating content of feeds for the chick. 1. The evaluation of the metabolizable energy and productive energy of alpha cellulose. *Poultry Science*, 39: 1166–1178.
 - 28- Rasteh, M. R, and B. Dastar. 2015. Determination of chemical composition and metabolisable energy of germinated barley in broiler chickens. *Research on Animal Production*, 11: 1-7. (In Persian).
 - 29- SAS Institute. 2001. SAS User's Guide. Version 9.1.4th ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
 - 30- Scott, T. A, and J. W. Hall. 1998. Using acid insoluble ash marker rations (Diet: Digesta) to predict digestibility of wheat and barley metabolizable energy and nitrogen in broiler chicks. *Poultry Science*, 77: 674–679.
 - 31- Shawrang, P., A. A. Sadeghi., M. Behgar., H. Zareshahi, and G. Shahhoseini. 2011. Study of chemical compositions, anti-nutritional contents and digestibility of electron beam irradiated sorghum grains. *Food Chemistry*, 125: 376–379.
 - 32- Shawrang, P., A. A. Sadeghi, and B. Ghorbani. 2013. The effect of electron beam irradiation on β -glucan content, X-ray diffraction of starch, protein subunit patterns, and in vivo digestibility of barley grain in cockerels. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 37: 443–448.
 - 33- Sibbald, I. R, and S. J. Slinger. 1963. A biological assay of ME in poultry feed ingredients together with findings which demonstrate some of the problems associated with the evaluation of fats. *Poultry Science*, 42: 313 – 325.
 - 34- Sibbald, I. R. 1986. The TME system of feeding evaluation. Research branch contribution 43-86. Animal research center. Agriculture Canada. Ottawa, Ontario, Canada.
 - 35- Sumira, J., T. Parween., T. O. Siddiqi, and X. Mahmooduzzafar. 2012. Effect of gamma radiation on morphological, biochemical, and physiological aspect of plant and product. *Environmental Reviews*, 20(1): 17-39.
 - 36- Tang, J., I. Fernandez Garcia., S. Vijayakumar., H. Martinez., I. Illa Bochaca., D. Nguyen., J. Mao, and S. Costes. 2012. Systems modeling of stem/progenitor self-renewal romotion following ionizing radiation. The 58th Annual Meeting of the Radiation Research Society. San Juan, Puerto Rico.
 - 37- Villamide, M. J., J. M. Fuente., P. Perez de ayala, and A. Flores. 1997. Energy evaluation of eight barley cultivars for poultry: effect of dietary enzyme addition. *Poultry Science*, 76: 834–840.
 - 38- Wasikiewicz, J. M., F. Yoshii., N. Nagasawa., R. A. Wach, and H. Mitomo. 2005. Degradation of chitosan and sodium alginate by gamma radiation, sonochemical and ultraviolet methods. *Radiation Physics and Chemistry*, 73: 287–295.



Determination of Chemical Composition and Metabolisable Energy Irradiated Barley Grain in Broiler Chickens and Cockerels

Lotfolah Bornaei¹, Somayyeh Salari^{2*}, Naeim Erfanimajd³

Received: 06-05-2018

Accepted: 21-10-2018

Introduction: Cereals are the major part of a poultry diet and primary sources of feed energy. Because of the worldwide high cost of corn, the use of barley and wheat grain in broiler diets has become more appealing. However, the use of barley in poultry diets because of its high content of non-starch polysaccharides (NSP) is limited. NSP increased intestinal viscosity, reduced litter quality and poor productive performance. Most of the adverse effects of barley in poultry feed have been attributed to the content of β -glucans. The NSP fraction of the cereal protects lipids, starch, and protein, thereby compromising the access of digestive enzymes to dietary components. Therefore, the processing of barley grain to remove anti-nutritional factors and improve its nutrient bioavailability before including it in the diets of one-stomach animals is beneficial. However, information concerning the effect of electron beam radiation on nutritional and anti-nutritional components of barley grain are scarce. Therefore, this study was carried out to evaluate the effects of electron beam radiation on the chemical composition and metabolizable energy of barley grain.

Materials and Methods: The barley samples (cultivar Fajr) were packed in nylon bags and exposed to electron beam irradiation (Rhodotron TT200 accelerator, IBA Co., Belgium) at the Yazd Radiation Processing Center (AEOL, Yazd Center, Iran) at doses of 10, 20, 30, and 40 kGy at room temperature. Chemical composition of the raw and electron beam irradiated barley grain was determined. In order to estimate AME_n Chicks were fed a standard broiler diet for a 15-d pre-experimental period and, after four h of feed deprivation, were randomly distributed into experimental groups (16 treatments, 4 replicates and 5 birds in each) in such a way that all groups had a similar average weight. All diets were given in mash form with birds having free access to water and feed throughout the experiment. The basal diet used during the experimental period was based on corn and soybean meal as major ingredients. The raw and electron beam irradiated barley grain (as test ingredient) was included in the basal diet at levels of 7, 14, and 21% to form test diets. The 16 experimental diets, evaluated in a balance trial to determine the AME_n content which contained 0.3% chromium oxide as an indigestible marker. The precision-fed cockerel assay of Sibbald was used for determining the TME_n of the raw and electron beam irradiated barley grain. The birds were housed in individual metabolism cages, following a period of 24 h without feed, 30 g of the different ground barley samples were fed by intubation to 20 (4 per treatment) adult cockerels (Rhode island reds). At the same time, another 4 cockerels were deprived of feed to estimate the endogenous energy losses. Total excreta over the following 48-h period were dried and ground for subsequent analyses. Roosters were assigned to treatments at random.

Results and Discussion: The results showed that percentage of dry matter, crude protein, ether extract, ash, β -glucan, ADF, and starch of barley grain were not affected by radiation. However, electron beam irradiation in all doses significantly decreased ($P < 0.05$) the NDF of samples compared to raw barley grain. The AME_n of barley was calculated by extrapolation of the linear regression equation to a 100% of barley inclusion. These equations indicated that with increasing dose of irradiation, AME_n of barley increased. The AME_n value of raw and irradiated barley at doses of 10, 20, 30 and 40 kGy were 2593.80, 2628.30, 2663.10, 2730.70 and 2795 kcal/kg, respectively. The electron beam irradiation numerically increased ($P > 0.05$) AME , AME_n , TME and TME_n of barley grain in cockerels at doses above 20 kGy. Previous studies using gamma or electron irradiation show a reduction in anti-nutrient content of canola meal,

1-Ph. D student of Animal Nutrition, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

2-Associate Professor, Department of Animal Science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

3- Professor, Veterinary Faculty, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

(*-Corresponding Author Email: s.salari@asnruk.ac.ir)

DOI:10.22067/ijasr.v11i4.72541

barley, and cottonseed meal and an improvement in their utilization increase in broilers. Gamma and electron radiation can denature proteins, decrease starch crystallinity and increase digestibility of barley and canola meal. Therefore, increased AME_n and TME_n of barley grain were expected in this experiment.

Conclusion: The present study showed that electron beam irradiation reduced NDF and increased AME_n and TME_n of barley grain. It seems that radiation is an effective processing method for improving the nutritive value of barley, but more experiment is needed to evaluate radiation.

Keywords: Barley grain, Chemical composition, Electron beam, Metabolizable energy.



اثرات اسانس مرزنگوش، شاهاسپر، گندواش، رازیانه و کاج بر جوجه‌های گوشتی: اثرات ضدباکتریایی *In-Vitro* و عملکرد، مورفولوژی ژئوزنوم و جمعیت میکروبی ایلئوم

علی خطیب جو^{1*}، مریم اعلانی²، فرشید فتاح‌نیا³، مصطفی نعمتی⁴، دکتر محمدرضا حافظی احمدی⁵ و دکتر هومن فرزادی⁶

تاریخ دریافت: 1397/10/04

تاریخ پذیرش: 1398/03/21

چکیده

اثرات ضد باکتریایی اسانس‌های هیدروالکلی مرزنگوش، شاهاسپر، گندواش، رازیانه و کاج بر باکتری‌های اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه و سالمونلا تیفی‌موریوم در شرایط *in-vitro* و حیوان زنده مورد ارزیابی قرار گرفت. در آزمایش اول تأثیر اسانس‌های هیدروالکلی بر قطر هاله عدم رشد باکتری‌های اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه و سالمونلا تیفی‌موریوم در مقایسه با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین در محیط *in-vitro* مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج آزمایش *in-vitro*، در آزمایش دوم اثر سه اسانس هیدروالکلی مرزنگوش، شاهاسپر و گندواش بر عملکرد، مورفولوژی و بافت روده و جمعیت باکتری‌های دستگاه گوارش مورد بررسی قرار گرفت. تعداد 384 قطعه جوجه گوشتی سویه راس-308 (مخلوط مساوی از هر دو جنس) در قالب طرح کاملاً تصادفی به 8 تیمار، 4 تکرار و 12 قطعه جوجه در هر تکرار اختصاص داده شد. به دلیل اثرات مثبت اسانس‌های مرزنگوش، گندواش و شاهاسپر در آزمایش اول، تیمارهای آزمایش دوم عبارت بودند از: 1) جیره پایه (شاهد)، 2) جیره پایه + 200 میلی‌گرم در کیلوگرم آنتی‌بیوتیک کلی‌استاپ 10، 3 و 4) جیره پایه + 200 و 400 میلی‌گرم اسانس مرزنگوش در کیلوگرم جیره، 5 و 6) جیره پایه + 200 و 400 میلی‌گرم اسانس گندواش در کیلوگرم جیره و 7 و 8) جیره پایه + 200 و 400 میلی‌گرم اسانس شاهاسپر در یک کیلوگرم جیره. در هفته دوم جوجه‌های هر تکرار به 3 گروه 4 تایی تقسیم شدند و با یک میلی‌لیتر محلول حاوی 1×10^9 cfu باکتری‌های اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم از طریق خوراکی آلوده شدند. نتایج آزمایش اول نشان داد که در مقایسه با اسانس‌های کاج و گندواش، اسانس‌های رازیانه، شاهاسپر و مرزنگوش مانع رشد باکتری‌های اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم شدند و در مقایسه با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین، بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به اسانس شاهاسپر بود. نتایج آزمایش دوم نشان داد که افزودن اسانس‌ها به جیره جوجه‌های گوشتی موجب بهبود مقادیر خوراک مصرفی روزانه و افزایش وزن و عدم تأثیر بر ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی آلوده شده، شدند. افزودن اسانس مرزنگوش سبب افزایش درصد نفوسیت و کاهش نسبت هتروفیل به نفوسیت در جوجه‌های آلوده شده با باکتری اشریشیاکلی شد. اسانس‌ها سبب افزایش جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل جوجه‌های سالم و کاهش جمعیت باکتری اشریشیاکلی در گروه آلوده شده با باکتری اشریشیا-کلی شدند. به طور کلی، آنتی‌بیوتیک قابلیت جایگزینی با اسانس‌ها را دارد و قادر به کاهش اثرات نامساعد سالمونلوز و کلی‌باسیلوز در جوجه‌های گوشتی شد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، اشریشیاکلی، جوجه گوشتی، سالمونلا تیفی‌موریوم، عملکرد

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌ها به منظور کاهش یا جلوگیری از رشد

میکروارگانیسم‌ها و بهبود عملکرد طیور به کار می‌روند (9). زمانی که آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت طولانی مدت استفاده شوند، سبب بروز مقاومت دارویی عوامل بیماری‌زا می‌شوند. به علاوه، امکان باقیماندن آنتی‌بیوتیک‌ها در فرآورده‌های طیور نیز وجود دارد که مصرف این فرآورده‌ها توسط انسان، سبب مقاومت عوامل بیماری‌زا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود. بسیاری از کشورها استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان یک افزودنی در خوراک دام و طیور را ممنوع کرده‌اند (13). در چند دهه اخیر، استفاده از متابولیت‌های گیاهی نظیر عصاره و اسانس به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها از نظر خواص ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفته‌اند (16، 28). اسانس‌ها ترکیباتی از مواد معطر و

- 1- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه ایلام
 - 2- دانش آموخته دکتری علوم دامی دانشگاه ایلام
 - 3- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه ایلام
 - 4- استادیار گروه میکروبیولوژی دانشکده پیرامپزشکی دانشگاه ایلام
 - 5- استاد بافت شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایلام
 - 6- دکتری دامپزشکی دانشگاه شهرکرد
- (*) - نویسنده مسئول:
Email: a.khatibjoo@ilam.ac.ir
DOI:10.22067/ijasr.v11i4.77873

(*Salmonella typhimurium* PTCC1609)، استافیلوکوکوس (آرئوس *Staphylococcus aureus* PTCC 1764(ATCC 13813) و استرپتوکوکوس پیوژنز (*Streptococcus pyogenes* PTCC 1447(CIP 54.5)) از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران تهیه شدند. باکتری‌های مورد نظر به درون محیط کشت TSB تلقیح شده و به مدت 24 ساعت درون انکوباسیون قرار گرفتند. سپس توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر غلظت باکتری به نیم مک فارلند (10^6) کاهش داده شد. برای بررسی اثرات ضد میکروبی، از دو روش انتشار در آگار به روش انتشار روی دیسک (Disc diffusion) برای حداقل غلظت کشندگی (Minimal Bactericide Concentration) و برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimal Inhibitory Concentration) روش رقت در آگار استفاده شد (26). بعد از کشت یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری مورد نظر به صورت چمنی در سطح پلیت حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار، دیسک‌های استریل تهیه شدند و پس از تماس کامل با محیط کشت با فاصله مناسب از یکدیگر، با سمپلر استریل مقدار 20 میلی‌گرم از اسانس‌های گیاهی رقیق شده با دی‌متیل سولفوکساید به غلظت‌های 0/2، 2، 4، 10 و 20 میلی‌گرم بر لیتر رسانده شده و روی دیسک‌ها ریخته شدند. قطر هاله ممانعت از رشد پس از 24 ساعت انکوباسیون پلیت‌ها در دمای 37 درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها در مقایسه با دیسک‌های آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و جنتامایسین به عنوان شاهد، مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایش تعیین اثر ضد میکروبی با 4 تکرار انجام و متوسط فعالیت ضد میکروبی گزارش شد. برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از روش رقت در آگار استفاده شد، بدین صورت که در محیط کشت مولر هیتون آگار 50-1000 میکرولیتر (1 cc، 500، 400، 300، 200، 100 و 50) از هر اسانس اضافه شد. بعد از بسته شدن محیط کشت، پلیت‌ها به دورن هود انتقال داده شد و باکتری‌ها به میزان 5 μ l به محیط کشت‌ها تلقیح شدند. پس از خشک شدن باکتری‌ها، محیط کشت‌ها را درون انکوباسیون 37 درجه سانتی‌گراد انتقال و پس از 24 ساعت حداقل غلظت مهارکنندگی تعیین شد.

آزمایش دوم این پژوهش در سالن مرغداری دانشگاه ایلام با استفاده از تعداد 384 قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه راس-308 (مخلوط مساوی از دو جنس) با میانگین وزنی 42 گرم اجرا شد. این پژوهش به صورت طرح کاملاً تصادفی با 8 تیمار، 12 تکرار و 4 قطعه جوجه در هر تکرار انجام شد. جیره‌های آزمایشی عبارت بودند از: 1) جیره پایه (شاهد)، 2) جیره پایه به علاوه آنتی‌بیوتیک کلی‌استاپ 10 (200 میلی‌گرم در یک لیتر آب)، 3 و 4) جیره پایه + 200 و 400 میلی‌گرم در کیلوگرم جیره اسانس مرزنگوش، 5 و 6) جیره پایه +

فرار هستند که ترکیبات و میزان غلظت این ترکیبات در گیاهان مختلف بسیار متفاوت است (18، 24). اغلب اسانس‌ها دارای خواص ضدباکتریایی، ضد ویروسی، ضد انگلی و آنتی‌اکسیدانی هستند که این به دلیل وجود گروه‌های فعال و آروماتیک مانند ترپن‌ها و فنیل‌پروپن-ها در ساختار آن‌ها می‌باشد (13، 24). این مواد به علت چربی دوست بودن، به غشاء سلولی باکتری‌ها رخنه کرده و وارد بخش‌های داخلی میکروارگانیسم‌ها می‌شوند. در مطالعات *in-vitro* نشان داده شده است که عصاره‌های گیاهی بر قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها تأثیرگذار هستند و به عبارت دیگر، مانع از رشد باکتری‌ها یا نابودی آن‌ها می‌شوند (2، 27).

اسانس‌های گیاهان دارویی به علت داشتن اثرات سودمند، به‌طور قابل ملاحظه‌ای در جیره طیور مورد استفاده قرار گرفته‌اند. اسانس‌ها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند و سبب کاهش باکتری‌های بیماری‌زایی و احتمالاً افزایش وضعیت ایمنی طیور می‌شوند (4، 11). در زمینه تأثیر اسانس گیاهان دارویی بر عملکرد، ایمنی و میکروبیولوژی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی و مرغ‌های تخم‌گذار مطالعات مختلفی انجام شده است به طور مثال، استفاده از آویشن به صورت پودر گیاه یا اسانس منجر به افزایش وزن و توده بدن شد در حالیکه اسانس یا اجزای اصلی آن بر بازده خوراک جوجه‌های گوشتی تأثیر نداشت (7، 8). همچنین در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که جیره دارای 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم ترکیبی از اسانس‌ها و سدیم باربیتورات نسبت به جیره شاهد، میزان باکتری سالمونلا را در سکوم کاهش داد اما بر عملکرد جوجه‌های گوشتی تأثیرگذار نبود (6). بسیاری از ویژگی‌های سودمند گیاهان دارویی به دلیل وجود مواد موثره موجود در آنها مانند کارواکرول، تیمول و میرسن می‌باشد و بیشتر فعالیت‌های بیولوژیکی اثبات شده این مواد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی می‌باشد. با توجه به نتایج متناقض استفاده از گیاهان دارویی و عدم وجود آزمایش همزمان در محیط آزمایشگاهی و موجود زنده، هدف از این مطالعه، بررسی اثر ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی در شرایط *in-vitro* و *in-vivo* بر عملکرد و ایمنی جوجه‌های گوشتی سالم و آلوده شده با باکتری اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال 1395 در دانشگاه ایلام در قالب 2 آزمایش انجام شد. در آزمایش اول اسانس پنج گونه گیاهی مرزنگوش، رازیانه، شاه‌اسپر، کاج و گندواش از شرکت گیاه‌اسانس استان گلستان تهیه شد و پنج سویه باکتری شامل اشریشیاکلی (*Escherichia coli* PTCC 1399 (ATCC 25922)، کلبسیلا پنومونه (*Klebsiella pneumoniae* PTCC 1053(ATCC 1003)، سالمونلا تیفی‌موریوم

200 و 400 میلی گرم در کیلوگرم جیره اسانس گندواش و 7 و 8) همچنین برآورد مواد مغذی اجزای جیره از راهنمای نیازمندی‌های جیره پایه + 200 و 400 میلی گرم در کیلوگرم جیره اسانس شاه اسپرم. برای تعیین نیاز غذایی جوجه‌ها در دوره‌های مختلف پرورش و

جدول 1- مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره پایه از 1-14 روزگی (گرم در کیلوگرم)
Table 1- Feed ingredient and nutrient composition of basal diet from 1-14 d (g/kg)

1-14 روزگی	ترکیب شیمیایی محاسبه شده	1-14 روزگی	ماده خوراکی (گرم بر کیلوگرم)
1-14 d	Feed Calculated Analysis	1-14 d	Ingredient (g/kg)
2900	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم)		ذرت
	Metabolizable Energy (Kcal/kg)		Corn
237	پروتئین خام	53.07	کنجاله سویا (44% پروتئین خام)
	Crude protein	33.00	Soybean meal (44 % CP)
7.9	ترئونین قابل هضم ایلئومی	7.50	گلوتن ذرت (60 درصد پروتئین)
	Threonine SID ²		Corn gluten meal (60% CP)
5.7	متیونین قابل هضم ایلئومی	2.00	روغن سویا
	Methionine SID		Soybean oil
9.0	متیونین + سیستین قابل هضم ایلئومی	1.52	دی کلسیم فسفات
	Methionine + Cystine SID		Di-Calcium phosphate
12.4	لیزین قابل هضم ایلئومی	1.33	کربنات کلسیم
	Lysine SID		Calcium carbonate
10.0	کلسیم	0.25	نمک طعام
	Calcium		Salt
5.0	فسفر قابل دسترس	0.25	مکمل مواد معدنی ¹
	Available phosphorus		Mineral premix ¹
1.8	سدیم	0.25	مکمل ویتامینه ¹
	Sodium		Vitamin premix ¹
2.3	کلر	0.05	ال - ترئونین
	Chlorine		L-Threonine
226	تعادل آنیون - کاتیون (میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم)	0.23	دی‌ال - متیونین
	DCAB (mEq/Kg)		DL- methionine
12.5	اسید لینولئیک	0.31	ال - لیزین هیدروکلراید
	Linoleic acid		L-Lysine HCL

¹ هر کیلوگرم جیره حاوی: 13500 واحد بین المللی ویتامین A ترانس رتینول؛ 5000 واحد بین المللی ویتامین D₃؛ 30 واحد بین المللی ویتامین E توکوفرل استات؛ 2 میلی گرم ویتامین K₃؛ 1 میلی گرم ویتامین B₁، 6 میلی گرم ویتامین B₂؛ 30 میلی گرم ویتامین نیاسین؛ 12 میلی گرم پانتوتینیک اسید؛ 3 میلی گرم ویتامین B₆؛ 10 میلی گرم ویتامین B₁₂؛ 0/1 میلی گرم بیوتین؛ 500 میلی گرم کولین کلراید؛ 50 میلی گرم آهن؛ 8 میلی گرم مس؛ 80 میلی گرم منگنز؛ 60 میلی گرم روی؛ 0/5 میلی گرم ید؛ 0/2 میلی گرم کبالت؛ 0/15 میلی گرم سلنیوم. ² اسید آمینه قابل هضم استاندارد شده ایلئومی.

¹Each kg of diet contained: Vitamin A, 13500 I.U. trans retinol; Vitamin D₃, 5000 I.U.; Vitamin E, 30 I.U. DL- α -tocopheryl acetate; Vitamin K₃, 2 mg; Vitamin B₁, 1 mg; Vitamin B₂, 6 mg; niacin, 30 mg; pantothenic acid, 12 mg; Vitamin B₆, 3 mg; Vitamin B₁₂, 10 μ g; biotin, 0.1 mg; choline chloride, 500 mg; Fe, 50 mg; Cu, 8 mg; Mn, 80 mg; Zn, 60 mg; I 0.5 mg; Co, 0.2 mg; Se, 0.15 mg.

²SID= Standardized ileal digestibility.

محلول حاوی دارای 10^9 cfu باکتری سالمونلا تیفی-موریوم (ATCC 1609) از طریق خوراکی آلوده شدند. به دلیل اینکه آنتی‌بیوتیک ویرجینامایسین عموماً به عنوان یک ماده محرک رشد استفاده می‌شود و استفاده درمانی موثری ندارد، در این آزمایش در هنگام آلوده کردن جوجه‌ها از آنتی‌بیوتیک کلی استاپ 10 استفاده شد. میزان مصرف خوراک، افزایش وزن جوجه‌ها، ضریب تبدیل خوراک و تلفات جوجه‌ها در هفته اول و دوم (بدون آلودگی و با آلودگی) اندازه‌گیری و ثبت شد.

به منظور ایجاد آلودگی در روز هشتم، تکرارهای هر تیمار به 3 گروه 4 تایی (4 تکرار با 4 جوجه در هر تکرار) تقسیم و به ترتیب به گروه سالم، آلوده شده با باکتری اشریشیاکلی و آلوده شده با باکتری سالمونلا اختصاص داده شدند. در روز هشتم آزمایش، 4 جوجه در هر تکرار با یک میلی لیتر محلول حاوی دارای 10^9 cfu باکتری اشریشیا-کلی (ATCC 25922) و 4 جوجه در هر تکرار با یک میلی لیتر

نتایج

آزمایش اول

باکتری‌ها در غلظت‌های 20، 30، 40 و 50 میلی گرم اسانس مرزنگوش و شاه‌اسپریم رشد نکردند ($P > 0/05$) اما در غلظت 10 میلی گرم همه باکتری‌ها پس از گذشت 24 ساعت رشد کردند ($0/05 < P$). حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) این اسانس‌ها برای تمام باکتری‌ها 20 میلی گرم بود. نتایج نشان داد که اسانس گندواش در غلظت 50 میلی گرم مانع رشد باکتری‌ها نشد ($0/05 < P$) و MIC این اسانس برای باکتری‌ها ممکن است 100 میلی گرم باشد. اسانس رازیانه در غلظت 50 میلی گرم سبب مهار رشد باکتری اشرشیاکلی شد ($0/05 < P$) اما بر رشد باکتری‌های کلبسیلا پنومونه و سالمونلا تیفی‌موریوم تأثیری نداشت ($0/05 < P$) و غلظت 50 میلی گرم اسانس کاج، مانع رشد باکتری کلبسیلا پنومونه نشد ($0/05 < P$). بنابراین، MIC اسانس کاج برای باکتری کلبسیلا ممکن است غلظت 100 میلی گرم باشد. در غلظت 40 میلی گرم اسانس کاج، باکتری‌های اشرشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم رشد کردند ($0/05 < P$). اسانس‌های رازیانه، شاه‌اسپریم و مرزنگوش سبب ممانعت از رشد باکتری اشرشیاکلی شدند ($0/05 < P$) و اسانس شاه‌اسپریم و مرزنگوش در غلظت‌های 50 و 40 میلی گرم قطر هاله عدم رشد بیشتری نسبت به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین داشتند.

روز 7 و 14 آزمایش، از تمام جوجه‌ها به وسیله سرنگ 2/5 میلی‌لیتری از سیاهرگ زیر بال نمونه خون گرفته شد. لازم به ذکر است که خون درون لوله‌های آزمایشی حاوی ماده ضد انعقاد اتیلن دی‌آمین تترائستیک اسید (EDTA) جمع‌آوری و شمارش هتروفیل و لنفوسیت نمونه‌ها از طریق مشاهده و شمارش آنها بعد از رنگ‌آمیزی گیمسا در زیر میکروسکوپ نوری انجام شد.

تمام جوجه‌ها در 14 روزگی (سالم و بیمار) به روش جابجایی گردن کشته شدند و قسمت‌های مختلف روده آن‌ها جهت کشت میکروبی (لاکتوباسیلوس، اشیریشیاکلی و سالمونلا) سریعاً به آزمایشگاه منتقل شدند. شمارش لاکتوباسیل‌ها، سالمونلا و اشیریشیا-کلی ایلئوم جوجه‌های بدون آلودگی و آلوده شده با استفاده از روش رقیق‌سازی متوالی در محیط کشت (EMB: Eosin methylene blue agar) محیط کشت اختصاصی اشیریشیاکلی و MRS (محیط کشت اختصاصی لاکتوباسیل) انجام شد (29). همچنین از ژئوژنوم روده جوجه‌های سالم و آلوده شده، نمونه‌برداری شد و نمونه‌ها در محلول 10 درصد فرمالین قرار داده شد. سپس از روده‌ها سطح مقطع تهیه و رنگ‌آمیزی و میزان آسیب به سلول‌های روده، سلول‌های گابلت و ماکروفاژها بررسی شد. همچنین طول ویلی ناحیه ژئوژنوم نیز اندازه‌گیری شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS نسخه 9/4 و با استفاده از رویه GLM آنالیز شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش چنددانه‌ای دانکن (در سطح احتمال 5 درصد) انجام شد.

جدول 2- تأثیر اسانس و آنتی‌بیوتیک بر میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌های اشیریشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم (میلی‌متر)¹

Table 2- Effect of essential oil and antibiotic on mean of minimal inhibitory concentration of *Escherichia coli* and *salmonella typhimurium* (mm) (experiment 1 In-Vitro)¹

غلظت (میکرولیتر) Concentration (μl)	<i>Salmonella typhimurium</i> ²			<i>Escherichia coli</i> ²				
	Marjoram	TB	Fennel	Pinus	AR	Marjoram	TB	Fennel
50	15.73 ^a	17.34 ^a	8.28 ^{abc}	11.68	16.28	25.32 ^a	23.29 ^a	17.57 ^a
40	16.12 ^a	15.28 ^{ab}	6.57 ^{bc}	12.39	16.12	20.09 ^b	21.79 ^{ab}	16.26 ^{ab}
30	15.62 ^a	11.33 ^c	5.61 ^{bc}	12.53	14.32	18.42 ^{bc}	18.26 ^{bc}	15.03 ^{abc}
20	12.59 ^b	10.21 ^{cd}	5.14 ^{bc}	10.31	12.69	16.34 ^{bcd}	16.39 ^{dc}	13.17 ^{bc}
10	11.32 ^b	8.29 ^d	2.33 ^c	9.33	11.37	14.33 ^d	13.32 ^d	11.38 ^c
جنتامایسین	12.58 ^b	12.58 ^{bc}	12.62 ^{ab}	12.78	12.64	12.57 ^d	12.72 ^d	12.71 ^{bc}
Gentamicin								
تتراسایکلین	15.67 ^a	15.61 ^{ab}	15.58 ^a	15.72	15.47	15.82 ^{cd}	15.64 ^{dc}	15.66 ^{bc}
Tetracycline								
SEM ³	0.92	0.99	2.78	1.35	1.84	1.30	1.43	1.41
P-Value	0.01	0.0001	0.05	0.08	0.35	0.0002	0.0008	0.05

¹ در هر ستون اعداد با حروف غیر مشابه از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0/05$).

² TB = شاه‌اسپریم (*Tanacetum balsamita*) و AR = آرتمیزیا (*Artemisia annua*).

³ SEM = خطای استاندارد میانگین‌ها

¹ Means within the same line with no common superscript letter differ significantly ($P < 0.05$).

² TB = *tanacetum balsamita*, AR = *Artemisia annua*.

³ SEM = Standard error of means.

های مختلف اسانس های کاج و گندواش مانع رشد باکتری *سالمونلا* تیفی *موریوم* نشدند و اختلاف معنی داری با آنتی بیوتیک ها نداشتند (جدول 2) اما اختلاف میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری *سالمونلا* تیفی *موریوم* بین غلظت های مختلف اسانس های رازیانه، شاه اسپرم و مرزنگوش با آنتی بیوتیک ها معنی دار بود ($P < 0/05$).

اسانس شاه اسپرم در غلظت های 50 و 40 میلی گرم عملکرد بهتری نسبت به آنتی بیوتیک تتراسایکلین داشت ($P < 0/05$) و اسانس مرزنگوش در غلظت 20 و 10 میلی گرم، قطر هاله عدم رشد مشابه با آنتی بیوتیک تتراسایکلین داشت و در همین غلظت ها قطر هاله عدم رشد بیشتری نسبت به هر دو آنتی بیوتیک داشت. غلظت -

جدول 3- تأثیر اسانس و آنتی بیوتیک بر میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری *کلبسیلا پنومونیه* (میلی متر)¹

Table 3- Effect of essential oil and antibiotic on mean of minimal inhibitory concentration of *Klebsiella pneumonia* (mm) (experiment 1 *In-Vitro*)¹

غلظت (میکرولیتر) Concentration (μl)	Pinus	<i>Artemisia annua</i>	Marjoram	<i>Tanacetum balsamita</i>	Fennel
50	11.18 ^{abc}	19.12 ^a	20.04 ^a	19.33 ^a	13.96 ^a
40	10.55 ^{bc}	17.83 ^{ab}	16.27 ^b	17.04 ^{ab}	10.08 ^{abc}
30	10.32 ^{bc}	15.72 ^{abc}	15.03 ^b	13.69 ^{bcd}	11.32 ^{ab}
20	9.33 ^c	13.57 ^{cd}	14.05 ^b	12.09 ^{cd}	8.27 ^{bc}
10	8.08 ^c	10.29 ^d	10.32 ^c	10.72 ^d	5.74 ^c
جنتامایسین	14.27 ^a	14.27 ^{bc}	14.31 ^b	14.28 ^{bc}	14.34 ^a
Gentamicin					
تتراسایکلین	13.16 ^{ab}	13.04 ^{cd}	13.14 ^{bc}	13.02 ^{cd}	13.08 ^{ab}
Tetracycline					
SEM ²	1.14	1.20	1.19	1.11	1.73
P-Value	0.02	0.003	0.002	0.001	0.02

¹ در هر ستون اعداد با حروف غیر مشابه از لحاظ آماری اختلاف معنی داری دارند ($P < 0/05$).

² SEM = خطای استاندارد میانگین ها

¹ Means within the same line with no common superscript letter differ significantly ($P < 0.05$).

² SEM= Standard error of means.

افزودن آنتی بیوتیک یا 400 میلی گرم اسانس شاه اسپرم و مرزنگوش و 200 میلی گرم اسانس شاه اسپرم به جیره جوجه های سالم سبب افزایش خوراک مصرفی شد ($P < 0/05$). همچنین افزودن آنتی بیوتیک، اسانس مرزنگوش و 400 میلی گرم اسانس شاه اسپرم به جیره جوجه های سالم سبب افزایش وزن بدن جوجه های گوشتی شد ($P < 0/05$) و بهترین ضریب تبدیل خوراک مربوط به تیمار شاهد و جیره دارای 200 میلی گرم اسانس مرزنگوش و 400 میلی گرم اسانس مرزنگوش در جوجه های سالم بود ($P > 0/05$). در مقابل، افزودن کلیه اسانس ها به خصوص اسانس مرزنگوش موجب افزایش خوراک مصرفی و وزن بدن جوجه های گوشتی آلوده شده با باکتری اشریشیاکلی شد ($P < 0/05$). تفاوت معنی داری بین ضریب تبدیل خوراک گروه دریافت کننده 200 میلی گرم اسانس شاه اسپرم و 400 میلی گرم اسانس مرزنگوش با گروه شاهد در جوجه های گوشتی آلوده شده با باکتری اشریشیاکلی نداشتند ($P > 0/05$). در جوجه های آلوده شده با باکتری سالمونلا، در مقایسه با گروه شاهد، افزودن کلیه اسانس ها موجب افزایش خوراک مصرفی و وزن بدن جوجه های گوشتی آلوده شده شد ($P < 0/05$) اما بین ضریب تبدیل خوراک تیمارهای مختلف، تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P > 0/05$).

اسانس های شاه اسپرم و مرزنگوش در غلظت 50 میلی گرم، قطر هاله عدم رشد بیشتری نسبت به جنتامایسین داشتند ($P < 0/05$). قطر هاله عدم رشد باکتری *کلبسیلا پنومونیه* در اثر اسانس ها و آنتی بیوتیک ها در جدول 3 نشان داده شده است. در غلظت 50 میلی گرم، سه اسانس مرزنگوش، شاه اسپرم و گندواش میانگین قطر هاله عدم رشد بیشتری نسبت به جنتامایسین و تتراسایکلین داشتند ($P < 0/05$). بیشترین و کمترین قطر هاله عدم رشد باکتری ها به ترتیب به اسانس مرزنگوش و اسانس کاج تعلق داشت و تفاوتی بین آنتی بیوتیک ها و اسانس رازیانه از لحاظ قطر هاله عدم رشد مشاهده نشد ($P < 0/05$).

آزمایش دوم:

افزودن اسانس ها به جیره در هفته اول دوره پرورش (بدون آلودگی) بر عملکرد جوجه های گوشتی تأثیر نداشت (جدول 4؛ $P > 0/05$). نتایج این آزمایش نشان داد که طی هفته دوم و بعد از اعمال آلودگی با اشریشیاکلی و سالمونلا، افزودن اسانس مرزنگوش، گندواش و شاه اسپرم تأثیری بر افزایش وزن جوجه های گوشتی سالم و آلوده شده نداشت (جدول 5؛ $P > 0/05$) در حالیکه بر ضریب تبدیل و خوراک مصرفی جوجه های گوشتی تأثیر معنی داری داشتند ($P < 0/05$).

جدول 4- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی از 1 تا 7 روزگی¹

Table 4- Effect of dietary treatments on broiler chickens performance from 1-7 day of age¹

جیره‌های آزمایشی Experimental diets	خوراک مصرفی (گرم) Feed intake (g)	وزن بدن (گرم) Body weight (g)	ضریب تبدیل Feed conversion ratio
جیره پایه (شاهد) Basal diet	243	199	1.22
جیره پایه + آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین (PPM 200) Basal diet + Virginiamycin (PPM 200)	210	197	1.06
جیره پایه + اسانس مرزنگوش (PPM 200) Basal diet + Marjoram (200 mg/kg)	201	182	1.13
جیره پایه + اسانس مرزنگوش (PPM 400) Basal diet + Marjoram (400 mg/kg)	194	176	1.11
جیره پایه + اسانس گندواش (PPM 200) Basal diet + Artemisia annua (200 mg/kg)	216	188	1.16
جیره پایه + اسانس گندواش (PPM 400) Basal diet + Artemisia annua (400 mg/kg)	217	183	1.19
جیره پایه + اسانس شاه‌اسپریم (PPM 200) Basal diet + Tanacetum balsamita (200 mg/kg)	219	181	1.21
جیره پایه + اسانس شاه‌اسپریم (PPM 400) Basal diet + Tanacetum balsamita (400 mg/kg)	223	181	1.19
SEM ²	9.5	7.5	0.056
P-Value	0.06	0.37	0.31

¹ در هر ستون اعداد با حروف غیر مشابه از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<0/05).

² SEM = خطای استاندارد میانگین‌ها

¹ Means within the same line with no common superscript letter differ significantly (P < 0.05).

² SEM= Standard error of means.

جدول 5- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر مقادیر خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی (14-8 روزگی)¹

Table 5- Effect of dietary treatments on the amount feed intake, body weight and FCR of broiler chickens from 8-14 day of age¹

جیره‌های آزمایشی Experimental diets ²	No Challenge ³			Challenged with E. coli ³			Challenged with Salmonella ³		
	FI (g)	BW (g)	FCR	FI (g)	BW (g)	FCR	FI (g)	BW (g)	FCR
1	491 ^b	260 ^b	1.88 ^b	411 ^c	218 ^b	1.88 ^c	443 ^d	199 ^c	2.23 ^{ab}
2	604 ^a	303 ^a	1.99 ^{ab}	482 ^b	239 ^a	2.01 ^b	490 ^c	231 ^a	2.12 ^b
3	539 ^b	286 ^b	1.88 ^b	548 ^b	230 ^{ab}	2.38 ^a	537 ^a	227 ^a	2.37 ^a
4	594 ^a	289 ^b	2.06 ^a	455 ^b	232 ^{ab}	1.96 ^{bc}	508 ^b	221 ^{ab}	2.30 ^a
5	610 ^a	308 ^a	1.99 ^{ab}	548 ^a	252 ^a	2.17 ^{ab}	505 ^b	239 ^a	2.11 ^b
6	614 ^a	316 ^a	1.95 ^b	538 ^a	243 ^a	2.46 ^a	511 ^b	223 ^{ab}	2.29 ^a
7	591 ^a	285 ^b	2.08 ^a	454 ^b	235 ^{ab}	1.93 ^c	504 ^b	218 ^b	2.32 ^a
8	611 ^a	292 ^{ab}	2.09 ^a	560 ^a	227 ^{ab}	2.47 ^a	528 ^a	233 ^a	2.26 ^{ab}
SEM ⁴	4.6	7.8	0.293	12.7	9.3	0.27	3.9	7.2	0.122
P-Value	0.001	0.07	0.003	0.001	0.02	0.02	0.001	0.02	0.02

¹ در هر ستون اعداد با حروف غیر مشابه از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<0/05).

² 1) شاهد + آنتی‌بیوتیک کلی‌استاپ 10، 3) شاهد + اسانس هیدروالکلی مرزنگوش (200 میلی‌گرم در کیلوگرم)، 4) شاهد + اسانس هیدروالکلی مرزنگوش (400 میلی‌گرم در کیلوگرم)، 5) شاهد + اسانس هیدروالکلی گندواش (200 میلی‌گرم در کیلوگرم)، 6) شاهد + اسانس هیدروالکلی گندواش (400 میلی‌گرم در کیلوگرم)، 7) شاهد + اسانس هیدروالکلی شاه‌اسپریم (200 میلی‌گرم در کیلوگرم) و 8) شاهد + اسانس هیدروالکلی شاه‌اسپریم (400 میلی‌گرم در کیلوگرم).

³ FI = خوراک مصرفی، BW = وزن بدن و FCR = ضریب تبدیل خوراک

⁴ SEM = خطای استاندارد میانگین‌ها.

¹ Means within the same line with no common superscript letter differ significantly (P < 0.05).

² 1) Control= basal diet, 2) Control + Coli-stop 10 (200 mg/Kg), 3 and 4) Control+ Marjoram essential oil (200 and 400 mg/Kg), 5 and 6) Control+ Fennel essential oil (200 and 400 mg/Kg) and 7 and 8) Control+ Tanacetum Balsamita essential oil (200 and 400 mg/Kg).

³ FI= Feed intake, BW- Body weight and FCR= Feed conversion ratio.

⁴ SEM: Standard error of means.

معنی دار نبود و بین تیمارهای آزمایشی تفاوت آماری معنی داری وجود نداشت ($P > 0/05$). اسانس های گندواش، شاه اسپرم و مرزنگوش بر طول ویلی ژئوژنوم تأثیر معنی داری نداشتند ($P > 0/05$ ؛ جدول 7). همچنین بافت روده جوجه های گوشتی آلوده شده با باکتری ها و جوجه های سالم تفاوت معنی داری با هم نداشتند و ضایعاتی در سلول های روده، سلول های گابلت و ماکروفاژها جوجه های آلوده شده مشاهده نشد (شکل های 1-3). تأثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی جوجه های گوشتی سالم، آلوده شده با اشیریشیاکلی و آلوده شده با سالمونلا در جدول 8 نشان داده شده است. تأثیر اسانس های گندواش، شاه اسپرم و مرزنگوش بر جمعیت باکتری اشیریشیاکلی ایلووم جوجه های گوشتی سالم معنی دار نبود ($P > 0/05$) در حالی که جوجه های دریافت کننده جیره دارای 400 میلی گرم اسانس شاه اسپرم و مرزنگوش نسبت به گروه شاهد باکتری لاکتوباسیل بیشتری داشتند ($P < 0/05$).

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت سلول های خونی جوجه های گوشتی سالم، آلوده شده با اشیریشیاکلی و آلوده شده با سالمونلا به ترتیب در جدول 6 نشان داده شده است. تأثیر اسانس های گندواش، شاه اسپرم و مرزنگوش بر جمعیت سلول های خونی جوجه های گوشتی سالم معنی دار بود. جوجه های دریافت کننده آنتی بیوتیک، 200 و 400 میلی گرم اسانس شاه اسپرم و 200 میلی گرم اسانس مرزنگوش نسبت به گروه شاهد لنفوسیت کمتری داشتند در حالی که تمامی افزودنی ها نسبت به گروه شاهد موجب افزایش هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت جوجه های گوشتی شد ($P < 0/05$).

در جوجه های گوشتی آلوده شده با اشیریشیاکلی، جوجه های دریافت کننده جیره دارای 400 میلی گرم اسانس مرزنگوش نسبت به گروه شاهد درصد لنفوسیت بیشتر و نسبت هتروفیل به لنفوسیت کمتری داشتند ($P < 0/05$) ضمن اینکه تأثیر افزودنی ها بر درصد هتروفیل جوجه های گوشتی آلوده شده با اشیریشیاکلی معنی دار نبود ($P > 0/05$).

تأثیر استفاده از اسانس های گندواش، شاه اسپرم و مرزنگوش بر جمعیت سلول های خونی جوجه های گوشتی آلوده شده با سالمونلا

جدول 6- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر شمار گلبول های سفید خون جوجه های گوشتی در روز چهاردهم¹
Table 6- Effect of dietary treatments on white blood cell count of broiler chickens in day 14th

جیره های آزمایشی ² Experimental diets ²	No Challenge ³			Challenged with E. coli ³			Challenged with Salmonella ³		
	H%	L%	H:L	H%	L%	H:L	H%	L%	H:L
1	26.37 ^d	72.44 ^a	37.14 ^d	32.49 ^{ab}	66.19 ^b	0.51 ^a	36.54	60.69	0.62
2	33.58 ^{bc}	65.09 ^b	52.23 ^{bc}	33.67 ^a	65.21 ^b	0.52 ^a	37.09	60.53	0.44
3	31.22 ^{cd}	68.24 ^{ab}	46.09 ^{cd}	28.17 ^{ab}	70.15 ^{ab}	0.41 ^{ab}	39.73	57.75	0.69
4	30.43 ^{cd}	68.19 ^{ab}	45.37 ^{cd}	26.67 ^b	72.66 ^a	0.37 ^b	39.67	56.69	0.71
5	37.03 ^{ab}	59.68 ^c	63.96 ^{ab}	28.22 ^{ab}	70.50 ^{ab}	0.41 ^{ab}	39.68	58.52	0.81
6	30.19 ^{cd}	66.29 ^{ab}	48.24 ^{cd}	33.16 ^b	65.48 ^b	0.51 ^a	41.53	56.18	0.75
7	41.14 ^a	57.43 ^c	74.08 ^a	27.67 ^{ab}	70.21 ^{ab}	0.39 ^{ab}	30.24	67.48	0.64
8	41.37 ^a	56.73 ^c	74.32 ^a	31.26 ^{ab}	67.74 ^{ab}	0.46 ^{ab}	35.21	62.47	0.58
SEM ⁴	1.86	1.77	0.47	1.82	1.73	0.032	3.84	3.31	0.094
P-Value	0.001	0.001	0.001	0.057	0.044	0.04	0.51	0.33	0.54

¹ در هر ستون اعداد با حروف غیر مشابه از لحاظ آماری اختلاف معنی داری دارند ($P < 0/05$).

² 1) جیره پایه (شاهد)، 2) شاهد + آنتی بیوتیک کلی استاپ 10، 3) شاهد + اسانس هیدروالکلی مرزنگوش (200 میلی گرم در کیلوگرم)، 4) شاهد + اسانس هیدروالکلی مرزنگوش (400 میلی گرم در کیلوگرم)، 5) شاهد + اسانس هیدروالکلی گندواش (200 میلی گرم در کیلوگرم)، 6) شاهد + اسانس هیدروالکلی گندواش (400 میلی گرم در کیلوگرم)، 7) شاهد + اسانس هیدروالکلی شاه اسپرم (200 میلی گرم در کیلوگرم) و 8) شاهد + اسانس هیدروالکلی شاه اسپرم (400 میلی گرم در کیلوگرم).

³ L= لنفوسیت، H= هتروفیل و H:L= نسبت هتروفیل به لنفوسیت.

⁴ SEM= خطای استاندارد میانگین ها.

¹ Means within the same line with no common superscript letter differ significantly ($P < 0.05$).

² 1) Control= basal diet, 2) Control + Coli-stop 10 (200 mg/Kg), 3 and 4) Control+ Marjoram essential oil (200 and 400 mg/Kg), 5 and 6) Control+ Fennel essential oil (200 and 400 mg/Kg) and 7 and 8) Control+ Tanacetum Balsamita essential oil (200 and 400 mg/Kg).

³ L= Lymphocyte, H= Heterophil and H:L= Heterophil to lymphocyte ratio.

⁴ SEM: Standard error of means.

جدول 7- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر طول ویلی ژنوجوم جوجه‌های گوشتی سالم و آلوده شده (میکرومتر)¹

Table 7- Effect of dietary treatments on the length of villi jejunum in broiler chicks (μm)¹

جیره‌های آزمایشی ² Experimental diets ²	No Challenge	Challenged with Coli. E	Challenged with Salmonella
1	1072	838	979
2	1101	977	1194
3	1050	1176	1114
4	1194	1118	990
5	1021	1139	1067
6	947	1107	1080
7	1168	1167	1160
8	1159	926	1115
SEM ³	68.3	95.6	47.4
P-Value	0.15	0.17	0.063

¹ در هر ستون اعداد با حروف غیر مشابه از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<0/05).

² 1) جیره پایه (شاهد)، 2) شاهد + آنتی‌بیوتیک کلی‌استاپ 10، 3) شاهد + اسانس هیدروالکلی مرزنگوش (200 میلی‌گرم در کیلوگرم)، 4) شاهد + اسانس هیدروالکلی مرزنگوش (400 میلی‌گرم در کیلوگرم)، 5) شاهد + اسانس هیدروالکلی گندواش (200 میلی‌گرم در کیلوگرم)، 6) شاهد + اسانس هیدروالکلی گندواش (400 میلی‌گرم در کیلوگرم)، 7) شاهد + اسانس هیدروالکلی شاه‌اسپریم (200 میلی‌گرم در کیلوگرم) و 8) شاهد + اسانس هیدروالکلی شاه‌اسپریم (400 میلی‌گرم در کیلوگرم).

³ SEM = خطای استاندارد میانگین‌ها.

¹ Means within the same line with no common superscript letter differ significantly (P < 0.05).

² 1) Control= basal diet, 2) Control + Coli-stop 10 (200 mg/Kg), 3 and 4) Control+ Marjoram essential oil (200 and 400 mg/Kg), 5 and 6) Control+ Fennel essential oil (200 and 400 mg/Kg) and 7 and 8) Control+ *Tanacetum Balsamita* essential oil (200 and 400 mg/Kg).

³ SEM: Standard error of means.

جدول 8- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه‌های گوشتی سالم و آلوده شده (cfu/g, 1×10⁷)¹

Table 8- Effect of dietary treatments on ileal bacterial counts (cfu/g, 1×10⁷)¹

جیره‌های آزمایشی ² Experimental diets ²	Salmonella Challenged		E. coli Challenged		No Challenge	
	Lactobacillus	Salmonella	Lactobacillus	E. coli	Lactobacillus	E. coli
1	41 ^a	11 ^c	168	68 ^a	21 ^c	185
2	23 ^{ab}	21 ^b	91	28 ^b	84 ^b	104
3	8 ^b	7 ^c	44	16 ^d	45 ^{bc}	75
4	13 ^b	8 ^c	133	5 ^e	75 ^b	164
5	4 ^b	43 ^a	129	36 ^{bc}	44 ^{bc}	130
6	13 ^b	5 ^c	211	43 ^b	43 ^{bc}	231
7	18 ^b	6 ^c	45	8 ^e	51 ^{bc}	54
8	10 ^b	10 ^c	15	5 ^e	168 ^a	21
SEM ³	6.5	2.3	55.4	3.1	14.1	69.2
P-Value	0.016	0.001	0.43	0.001	0.001	0.43

¹ در هر ستون اعداد با حروف غیر مشابه از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<0/05).

² 1) جیره پایه (شاهد)، 2) شاهد + آنتی‌بیوتیک کلی‌استاپ 10، 3) شاهد + اسانس هیدروالکلی مرزنگوش (200 میلی‌گرم در کیلوگرم)، 4) شاهد + اسانس هیدروالکلی مرزنگوش (400 میلی‌گرم در کیلوگرم)، 5) شاهد + اسانس هیدروالکلی گندواش (200 میلی‌گرم در کیلوگرم)، 6) شاهد + اسانس هیدروالکلی گندواش (400 میلی‌گرم در کیلوگرم)، 7) شاهد + اسانس هیدروالکلی شاه‌اسپریم (200 میلی‌گرم در کیلوگرم) و 8) شاهد + اسانس هیدروالکلی شاه‌اسپریم (400 میلی‌گرم در کیلوگرم).

³ SEM = خطای استاندارد میانگین‌ها.

¹ Means within the same line with no common superscript letter differ significantly (P < 0.05).

² 1) Control= basal diet, 2) Control + Coli-stop 10 (200 mg/Kg), 3 and 4) Control+ Marjoram essential oil (200 and 400 mg/Kg), 5 and 6) Control+ Fennel essential oil (200 and 400 mg/Kg) and 7 and 8) Control+ *Tanacetum Balsamita* essential oil (200 and 400 mg/Kg).

³ SEM: Standard error of means.

جمعیت لاکتوباسیلوس ایلئوم جوجه‌ها تأثیری نداشتند (P > 0/05).
همچنین، تفاوت معنی‌داری بین تمامی افزودنی‌ها با جیره شاهد
در جمعیت سالمونلای ایلئوم جوجه‌های گوشتی آلوده شده با سالمونلا

نسبت به گروه شاهد، جمعیت باکتری اشریشیاکلی جوجه‌های
گوشتی آلوده شده با اشریشیاکلی در اثر افزودن تمامی اسانس‌ها به
جیره کاهش یافت (P < 0/05) در حالی که افزودن اسانس‌ها بر

مشاهده کردند که قطر هاله های عدم رشد نسبت به کنترل های موجود قابل قبول ارزیابی گردید (12). در تحقیق دیگری، مشخص شد که اسانس الکی مرزنگوش خاصیت ضد باکتری قوی تری علیه باکترهای *Pseudomonas fluorescens*، *Escherichia coli* و *Bacillus cereus* نسبت به اسانس اتانولی آن دارد (11). با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق نیز خاصیت ضدباکتریایی اسانس مرزنگوش تأیید شد. همچنین، اسانس گندواش مانع رشد باکتری *Escherichia coli* نمی شود (19) اما در تحقیق حاضر، عدم تأثیر اسانس گندواش بر هاله عدم رشد این باکتری احتمالاً به تفاوت در فعالیت ضدباکتریایی این اسانس به علت تفاوت در شیوه استخراج اسانس مربوط باشد (20).

با توجه به نتایج آزمایش اول، در آزمایش دوم از اسانس سه گیاه داروئی شاه اسپرم، گندواش و مرزنگوش به دلیل داشتن خاصیت ضد میکروبی بالاتر استفاده شد و مشاهده گردید که فقط طی هفته دوم افزودن اسانس گیاهان داروئی موجب بهبود عملکرد (خوراک مصرفی و افزایش وزن) جوجه های گوشتی آلوده شده با باکتری های اشریشیا کلی و سالمونلا شد. با توجه به اینکه جمعیت باکتری های لاکتوباسیل ایلنوم نیز به واسطه افزودن اسانس ها بهبود یافته است، چنین به نظر می رسد که تأثیرگذاری اسانس ها نیاز به حداقل زمان یک هفته تا 10 روز پس از مصرف دارد. نتایج این تحقیق با نتایج سایر محققین (3، 7) مطابقت داشت. در حالی که مطالعه دیگری، محققین گزارش کردند که استفاده از 300 میلی گرم بر کیلوگرم جیره اسانس مرزنگوش و 300 میلی گرم بر کیلوگرم جیره اسانس سیر بر وزن جوجه های گوشتی تأثیری نداشتند (23). همچنین افزودن اسانس مرزنگوش به میزان 300 میلی گرم در کیلوگرم خوراک در جوجه های گوشتی باعث افزایش وزن بدن و بهبود ضریب تبدیل خوراک شد (5)، (10). گزارش شده است که سطوح مختلف پودر گیاه شاه اسپرم (1، 1/5 و 2 درصد) همراه با سطح 0/1 درصد پروبیوتیک سبب بهبود مصرف خوراک جوجه های گوشتی شد که مشابه با نتایج آزمایش حاضر بود (26). جوجه های آلوده شده، با وجود مصرف خوراک بیشتر نسبت به جوجه های سالم، از افزایش وزن قابل قبول و منطقی برخوردار نبودند و ضریب تبدیل خوراک جوجه های آلوده شده در برخی تیمارها کاهش و در برخی افزایش داشت. با این وجود، محققان دلیل بهبود ضریب تبدیل خوراک با مصرف اسانس ها را، ثبات اکوسیستم دستگاه گوارش جوجه ها بیان نموده اند که به دلیل وجود مواد فعالی مانند تیمول و کارواکرول که در گیاهان داروئی سبب کنترل عوامل بیماری زا، کاهش تولید اسیدهای چرب فرار و ثبات pH دستگاه گوارش و در نهایت بهبود ضریب تبدیل حیوان می شود (1، 10، 30).

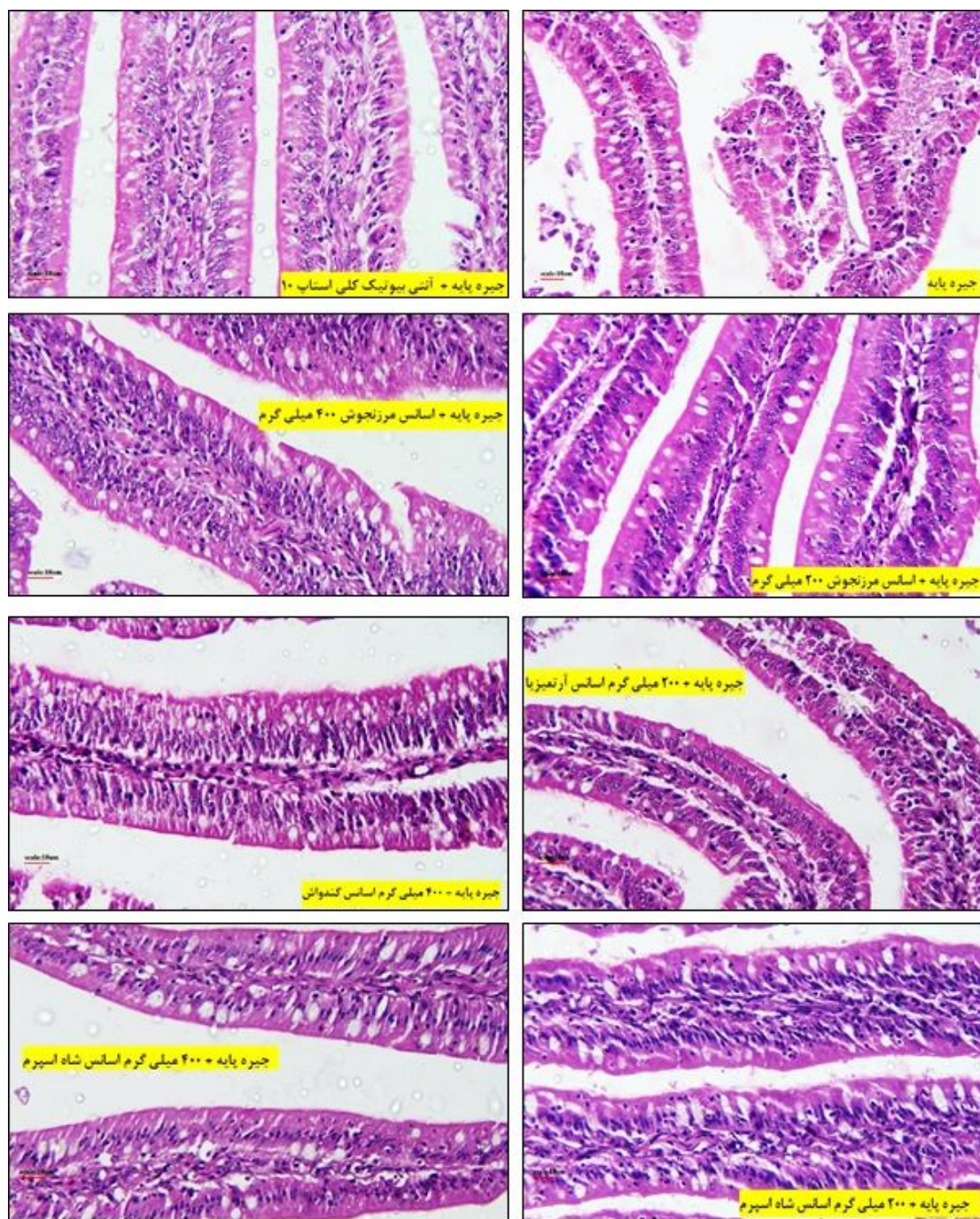
مشاهده نشد ($P > 0/05$) اما جمعیت لاکتوباسیل جوجه های گوشتی دریافت کننده جیره حاوی اسانس های گندواش، شاه اسپرم و مرزنگوش و آلوده شده با سالمونلا نسبت به گروه شاهد کاهش یافت ($P < 0/05$).

بحث

مطلوب ترین راهبرد ممکن در پرورش طیور، روشی خواهد بود که به تولید گوشت عاری از بقایای آنتی بیوتیک منجر شود. در تحقیق حاضر اثرات ضد باکتری اسانس 5 گونه گیاهی بر 3 گونه از باکتری های گرم منفی به روش انتشار در آگار به شیوه دیسک دیفیوژن¹ مورد بررسی قرار گرفت. بر مبنای تئوری، قطر هاله عدم رشد پاسخی از غلظت ماده مؤثره موجود در گیاهان است. این رویداد یک ارتباط خطی بین اندازه هاله و لگاریتم غلظت مواد مؤثر گیاه مورد آزمایش می باشد که با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد و مقایسه با آنتی بیوتیک مورد نظر، میزان خاصیت ضد میکروبی گیاه مورد مطالعه تعیین می شود (29). بنابراین، هرچه میزان قطر هاله عدم رشد بیشتر باشد، خاصیت ضد میکروبی آن ماده بیشتر است و در غلظت های بالاتر به دلیل وجود میزان بیشتری مواد ضد میکروبی، قطر هاله عدم رشد افزایش می یابد.

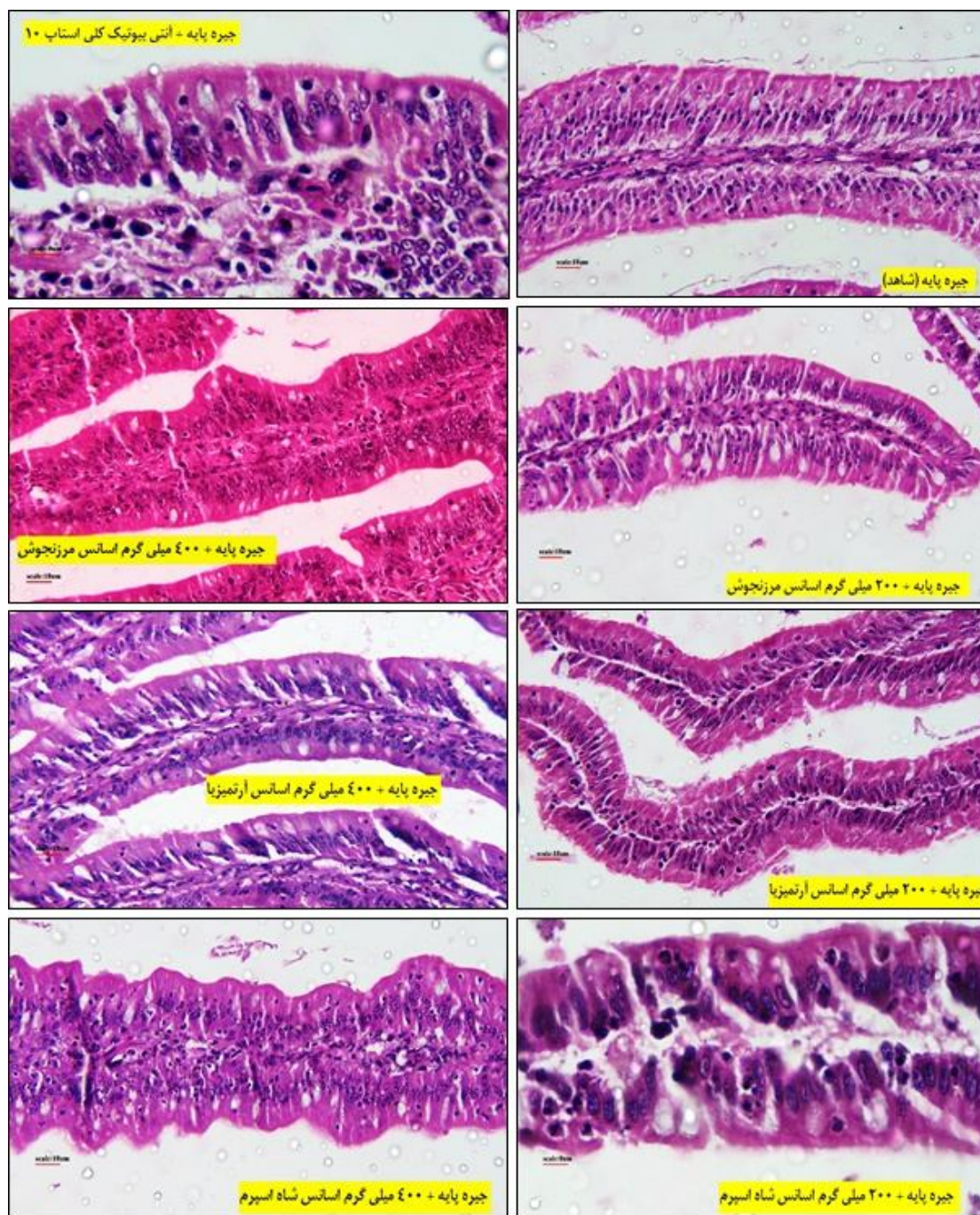
با توجه به نتایج آزمایش اول مشاهده شد که تفاوت در حساسیت های باکتری ها نسبت به اسانس های مختلف وجود دارد اما بهترین نتایج در غلظت 50 میلی گرم بر لیتر از اسانس ها نسبت به آنتی بیوتیک های جنتامایسین و تتراسایکلین به دست آمد و در غلظت های پایین تر، اسانس ها خاصیت ضدباکتریایی کمتری داشتند. ترپن ها و فینیل پروپن های موجود در اسانس ها به علت چربی دوست بودن، به غشاء سلولی باکتری ها رخنه و وارد بخش های داخلی میکروارگانیسم ها می شوند که خصوصیات ساختمانی اسانس ها مانند حضور گروه های فعال و آروماتیکی مسئول خاصیت ضد میکروبی آن ها است (25).

ترکیبات مؤثره اسانس ها مستقیماً با لایه فسفولیپیدی غشاء باکتری ها واکنش می دهند و سبب افزایش نفوذپذیری یون ها و نشت ترکیبات داخل سلول یا اختلال در سیستم آنزیمی باکتری ها می شوند و باکتری های گرم منفی دارای لایه خارجی در غشاء فسفولیپیدی هستند. این غشاء خارجی انتشار مواد آب گریز از میان این لایه پوشاننده لیپولی ساکاریدی را محدود و باکتری ها را نسبت به این ترکیبات محافظت می کند (28). در این زمینه، اثر عصاره روغنی، متانولیک و اتانولیک دانه گیاه رازیانه را بر باکتری های جنس باسیلوس، اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه و گونه های پseudomonas بر روی محیط مولر هینتون به وسیله روش دیسک دیفیوژن مطالعه و



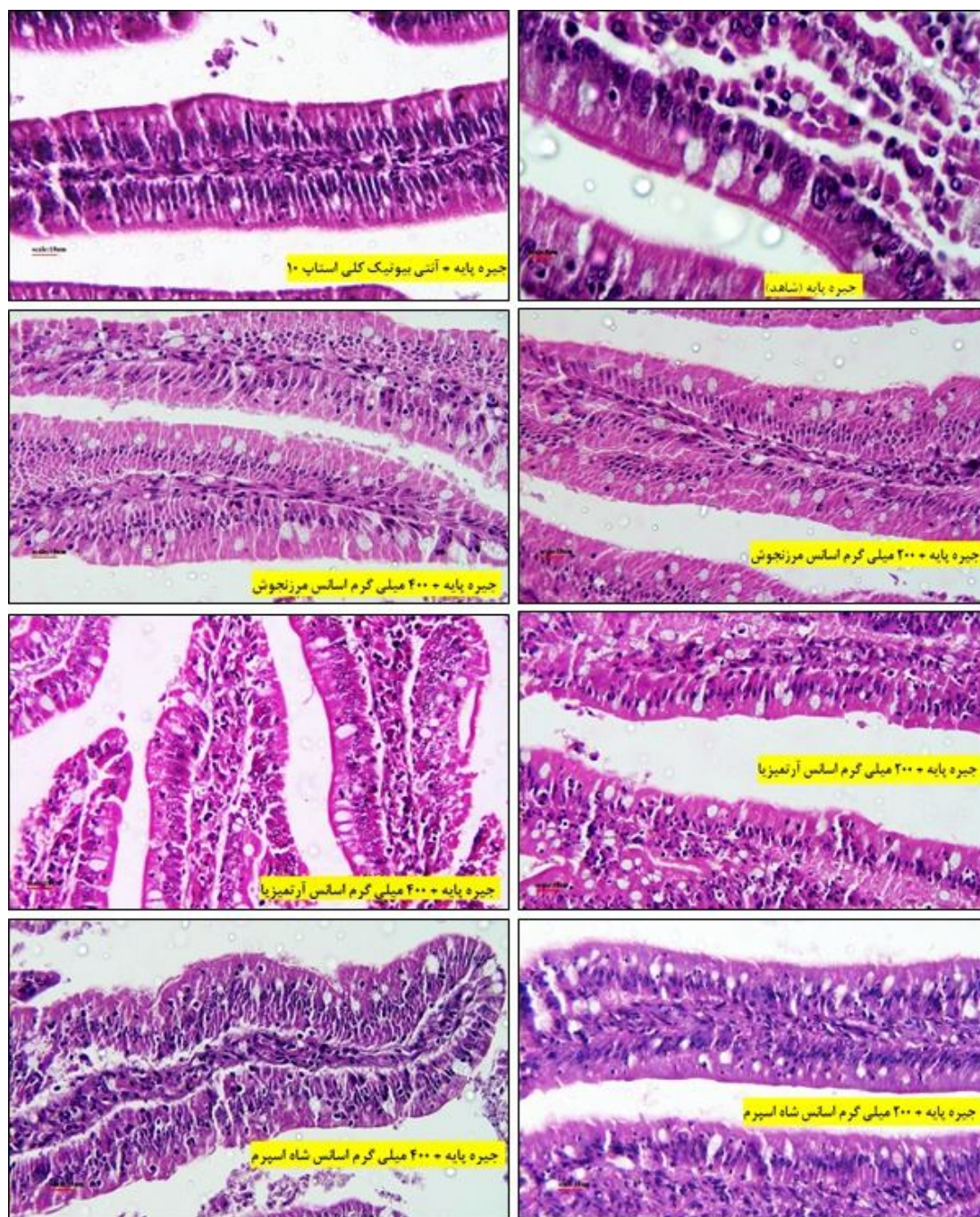
شکل 1- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر روده جوجه‌های گوشتی سالم.

Figure 1- Effect of dietary treatments on small intestine of healthy broiler chickens



شکل 2- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ضایعات میکروسکوپی روده جوجه‌های گوشتی آلوده شده با باکتری اشریشیاکلی.

Figure 2- Effect of dietary treatments on microscopic lesions of small intestine of broiler chickens challenged with Escherichia Coli.



شکل 3- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ضایعات میکروسکوپی روده جوجه‌های گوشتی آلوده شده با باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم*
Figure 3- Effect of dietary treatments on microscopic lesions of small intestine of broiler chickens challenged with *Salmonella typhimurium*.

آلوده شده، کاهش جذب مواد مغذی به دلیل ضایعات میکروسکوپی روده‌ای نباشد. زیرا بین مورفولوژی روده جوجه‌های سالم و بیمار تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و علت کاهش وزن را باید در جایی

احتمالاً در زمان مواجهه با بیماری، بیشتر خوراک مصرفی صرف نگهداری و بقا حیوان شده و به سمت رشد و افزایش وزن حیوان سوق داده نشده است. به نظر می‌رسد که علت کاهش وزن جوجه‌های

دور از روده و سیستم جذب جوجه ها جستجو کرد.

افزودن اسانس های گندواش، شاه اسپرم و مرزنگوش بر جمعیت سلول های خونی جوجه های گوشتی سالم و آلوده شده با اشریشیاکلی تأثیرگذار بود. گزارش شده است که افزودن پودر برگ مرزنگوش به میزان 1 درصد در جیره جوجه های گوشتی موجب افزایش مونوسیت و فعالیت بیشتر ماکروفاژها در ارتباط با سیستم ایمنی می شود (21). درحالی که محققین با به کار بردن سطوح (0/5 و 1 درصد) پودر گیاه شاه اسپرم و عصاره شاه اسپرم (0/1 و 0/2 درصد) گزارش کردند که سطوح مختلف و شکل های مختلف گیاه شاه اسپرم تأثیری بر شمار لنفوسیت، هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت نداشت.

تفاوت در نتایج ممکن است مربوط به گونه و کیفیت گیاه، ترکیب جیره و وضعیت مدیریت حیوان آزمایشی باشد (26). تیمارهای آزمایشی بر طول ویلی ژنوم جوجه های گوشتی سالم، آلوده شده با اشریشیاکلی و آلوده شده با سالمونلا تأثیر نداشتند. گزارش شده است که اسانس ها باعث افزایش ظرفیت جذبی دستگاه گوارش از طریق افزایش طول و عرض ویلی و عمق کریپت و بهبود عملکرد حیوان می شوند (17) و استفاده از تیمول و کارواکرول (ماده موثره مرزنگوش) به میزان 200 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم در جیره جوجه های گوشتی طول پرزهای ایلئوم و ژژونوم را افزایش داد (25).

افزودن اسانس ها سبب کاهش جمعیت باکتری اشریشیاکلی در ایلئوم جوجه های آلوده شده با این باکتری شدند. در رابطه با تأثیر روغن های ضروری بر باکتری ها، تحقیقات آزمایشگاهی و حیوانی انجام شده است. یک ارتباط قوی بین تیمول و کارواکرول موجود در اسانس مرزنگوش با فعالیت آنتی میکروبی آن وجود دارد که از طریق آسیب به غشای پلازما که منجر به از دست دادن محتویات سلول می شود (8). همچنین تیمول و کارواکرول اثرات ضدباکتریایی علیه کلسترییدیوم پرفرینجنس و اشریشیاکلی داشته اند (16، 19). خصوصیات ساختمانی اسانس ها مانند حضور گروه های فعال و آروماتیکی مسئول خاصیت ضد میکروبی آن ها است (24) و تخریب

آنتی ژن ها در روده سبب کاهش بیماری های روده ای طیور می شود که در نتیجه ایمنی و عملکرد طیور بهبود می یابد. ترکیبات موثر اسانس ها مستقیماً با لایه فسفولیپیدی غشاء باکتری ها واکنش داده و سبب افزایش نفوذپذیری یون ها و نشت ترکیبات داخل سلول یا اختلال در سیستم آنزیمی باکتری ها می شوند (28). در آزمایش حاضر، افزودن اسانس ها به ویژه اسانس شاه اسپرم به جیره طیور، تعداد باکتری های لاکتوباسیل را افزایش داد. لاکتوباسیل ها جزء باکتری های معمول دستگاه گوارش هستند. سویه های لاکتوباسیل به دلیل تأثیر بر سلامت طیور و تحریک رشد، در دسته باکتری های مفید قرار دارند و به سبب تحریک اشتها، بهبود تعادل فلور میکروبی، سنتز ویتامین ها، تحریک آنزیم های هضمی، استفاده از کربوهیدرات های غیر قابل هضم، تحریک اسید لاکتیک، کاهش pH و آزادسازی باکتریوسین بر عملکرد طیور موثر هستند (22).

نتیجه گیری کلی

نتایج آزمایش اول نشان داد که در مقایسه با آنتی بیوتیک ها، به ترتیب اسانس های شاه اسپرم و مرزنگوش در بین 5 گونه مورد آزمایش، قوی ترین خاصیت ضد میکروبی را داشتند. نتایج آزمایش دوم نشان داد که هر 3 اسانس مورد بررسی، بویژه اسانس شاه اسپرم و گندواش، مقادیر خوراک مصرفی و افزایش وزن جوجه های گوشتی را بهبود داده و سبب افزایش جمعیت لاکتوباسیل ها و کاهش جمعیت باکتری های مضر دستگاه گوارش می شوند. با این وجود، بر طول ویلی روده جوجه های سالم و آلوده شده با باکتری اشریشیاکلی و سالمونلا تأثیرگذار نبودند. با توجه به اینکه تأثیر اسانس ها و آنتی بیوتیک بر عملکرد جوجه های گوشتی برابر بود و اسانس های مورد مطالعه سبب افزایش میزان لاکتوباسیل ها شدند، بنابراین، چنین می توان نتیجه گیری کرد که اسانس ها قابلیت جایگزینی آنتی بیوتیک ها را دارند.

منابع

1. Bassett, R., 2000. Oregano's positive impact on poultry production. World Poultry-Elsevier, 16 (9): 31-34.
2. Berahou, A., A. Auhmani, N. Fdil, A. Benharref, M. Jana, and C. A. Gadhi. 2007. Antibacterial activity of quercus ilex bark's extracts. Journal of Ethnopharmacology, 112 (3): 426-429.
3. Botsoglou, N. A., D. J. Fletouris, P. Florou-Paneri, E. Christaki, and A. B. Spais. 2003. Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate supplementation. Food Research International, 36(3): 207-213.
4. Brenes, A. and E. Roura. 2010. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. Animal Feed Science and Technology, 158: 1-14.
5. Çabuk, M., M. Bozkurt., A. Alcicek., Y. Akbas., and K. Kucukyilmaz. 2006. Effect of an herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broilers from young and old breeder flocks. South African Journal of Animal Science, 36: 135-141.
6. Cerisuelo, A., C. Marín, F. Sánchez-Vizcaíno, E. A. Gómez, J. M. De la Fuente, R. Durán, and C. Fernández.

2014. The impact of a specific blend of essential oil components and sodium butyrate in feed on growth performance and Salmonella counts in experimentally challenged broilers. *Poultry Science*, 93: 599-606.
7. Cross, D. E., R. M. McDevitt, K. Hillman, and T. Acamovic. 2007. The effect of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of age. *British Poultry Science*, 48: 496-506.
8. Chun, S. S., A. V. Vatter, Y. T. Lin., and K. Shetty. 2004. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry*, 40: 809-816.
9. Ferket, P. R. 2004. Alternatives to antibiotics in poultry production: Responses, practical experience and recommendations, Page 57-67 in *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries*, Lyons, T. P. and K. A. Jacques. Nottingham University Press, Nottingham. UK.
10. Giannenas, I., P. Florou-paneri., M. Papazahariadou., N. Botsoglou., E. Christaki., and A. B. Spaisn. 2003. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. *Archives in Animal Nutrition*, 57: 99-106.
11. Giannenas, I., P. Florou-paneri., N. Botsoglou., E. Christaki., and A. B. Spaisn. 2005. Effect of supplementing feed with oregano and/or a-tocopheryl acetate on growth of broiler chickens and oxidative stability of meat. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 14: 521-535.
12. Golfaraz. M. 2008. Antibacterial and antifungal activity of *foeniculum vulgare*. *African Journal of Biotechnology*, 7: 326-346.
13. Gopi, M., K. Karthik, H. V. Manjunathachar, P. Tamilmahan, M. Kesavan, M. Dashprakash, B. L. Balaraju, and M. R. Purushothaman. 2013. Essential Oils as a Feed Additive in Poultry Nutrition. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 2(1): 1-13.
14. Hammer, K. A., C. F. Carson, and T. V. Riley. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86(6): 985-990.
15. Hashemipour, H., H. Kermanshahi., A. Golian., A. Raji., and M. M. Van Krimpen. 2012. Effect of thymol + carvacrol by next enhance 150 on Intestinal development of broiler chickens fed CMC containing diet. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 3(3): 567-576.
16. Helander, I. M., H. L. Alakomi, K. Latva-Kala, T. Mattila-Sandholm, I. Pol, E. J. Smid, L.G. Gorris, and A. Von Wright. 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9): 3590-3595.
17. 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 Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90(5-6): 255-268.
18. Jang, I. S., Y. H. Ko, S. Y. Kang, and C. Y. Lee. 2007. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 134: 304-315.
19. Juteau, F., V. Masotti, J. M. Bessière, M. Dherbomez, and J. Viano. 2002. Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. *Fitoterapia*, 73(6): 532-535.
20. Kannathan, K., A. Senthilkumar, and V. Venkatesalu. 2011. Mosquito larvicidal activity of methyl-P-hydroxybenzoate isolated from the leaves of *Vitex Trifolia* Linn. *Acta-Tropica*, 120(1-2): 115-118.
21. Khalaji, S., M. Zaghari, K. H. Hatami, S. Hedari-Dastjerdi, L. Lotfi, and H. Nazarian. 2011. Black cumin seeds, *Artemisia leaves (Artemisia sieberi)*, and *Camellia L.* plant extract as phytochemical products in broiler diets and their effects on performance, blood constituents, immunity, and cecal microbial population. *Poultry Science*, 90(11): 2500-2510.
22. Khan, S. H., M. Atif, N. Mukhtar, A. Rehman, and G. Fareed. 2011. Effects of supplementation of multi-enzyme and multi-species probiotic on production performance, egg quality, cholesterol level and immune system in laying hens. *Journal of Applied Animal Research*, 39(4): 386-398.
23. Kırkpınar, F., H. B. Ünlü, and G. Özdemir. 2011. Effects of oregano and garlic essential oils on performance, carcass, organ and blood characteristics and intestinal microflora of broilers. *Livestock Science*, 137(1-3): 219-225.
24. Lee, K. W., H. Everts, and A. G. Beynen. 2004. Essential oils in broiler nutrition. *International Journal of Poultry Science*, 3(12): 738-752.
25. Lee, K. W., H. Everts, H. J. Kappert, K. H. Yeom, and A. C. Beynen. 2003. Dietary carvacrol lowers body weight gain but improves feed conversion in female broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 12(4): 394-399.
26. Mansoub, N.H., 2011. Comparative influence of using different level of *Tanacetum balsamita* with probiotic on performance and serum composition of broiler chickens. *Advances in Environmental Biology*, 2708-2712.
27. Sakar, M. K., D. Şöhretoğlu, M. Özalp, M. Ekizoğlu, S. Piacente, and C. Pizza. 2005. Polyphenolic compounds and antimicrobial activity of *Quercus aucheri* leaves. *Turkish Journal of Chemistry*, 29(5): 555-559.
28. Sandri, I. G., J. Zacaria, F. Fracaro, A. P. L. Delamare, and S. Echeverrigaray. 2007. Antimicrobial activity of the

- essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against foodborne pathogens and spoiling bacteria. *Food Chemistry*, 103(3): 823-828.
29. Shirazi, M. H., GH. Amin, B. Akhondi Lavasani, and S. Eshraghi. 2012. Microbial growth inhibitory effect of *Adiantum capillus-veneris* extract on gram positive and gram negative bacteria. *Medicinal Plant*, 4(40): 124-132 (in Persian).
30. Vagia, E., B. Simandi, A. Suhajd, and E. He'thely. 2005. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. *Food Research International*, 38: 51-57.



Use of essential oils in broiler chickens: *In-vitro* antimicrobial activities and effects on growth performance, intestinal morphology and microflora

Ali Khatibjoo^{1*}, Maryam Aalaei², Farshid Fattahnia³, Mostafa Neamati⁴, Mohammadreza Hafezi-ahmadi⁵ and Hooman Farzadi⁶

Received: 25-12-2018

Accepted: 11-06-2019

Introduction: Antibiotics as growth promoters in poultry feed are posing serious health risks to human health. Because of their residual effects in poultry meat and eggs, as well as result pathogens develop resistance to antibiotics. Currently, poultry scientists are challenged to find out alternatives to antibiotic growth promoters with no side effects for poultry that could be more or as effective against harmful microorganisms in the gastrointestinal tract and to stimulate the growth by increasing the efficiency of feed utilization and to enhance the immunity. Regarding to this subject, supplementing the dietary herbs or plant extracts would stimulate the productive performance of poultry. In recent years, products containing essential oils derived from several spices and herbs could be used feed additives as growth promoters in animal nutrition. These phytochemical additives may have more than one mode of action, including improving feed intake and flavor, stimulating the secretion of digestive enzymes, increasing gastric and intestinal motility, endocrine stimulation, antimicrobial, anti-viral, anthelmintic and coccidiostat activities, immune stimulation, and anti-inflammatory and anti-oxidative activity and pigments. Many studies have also been conducted on the effects of dietary essential oils or combinations thereof on the performance of poultry but with varying and conflicting results. While one report demonstrated that essential oils improved animal performance, some researchers reported that these additives were not effective in this regard. *Salmonella* and *Escherichia coli* bacteria have become the major cause of foodborne diseases which has raised a great safety concern to public health. In several geographic regions, a large proportion of foodborne diseases are confirmed by the hazardous salmonellosis caused by infectious *Salmonella*. The antibacterial effects of essential oils have received widespread attention and numerous reports exist in the literature. The essential oil of oregano has been shown to inhibit *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. The aims of this study were to investigate the *In-Vitro* and *In-Vivo* effects of 5 dietary essential oils, marjoram, tanacetum balsamita, *Artemisia annua*, Fennel and Pinus, on minimal bactericide concentration (MBC) and minimal inhibitory concentration (MIC) of 5 bacteria strains including *Escherichia coli* (PTCC 1399), *Klebsiella pneumonia* (PTCC 1053), *Salmonella typhimurium* (PTCC1609), *Staphylococcus aureus* (PTCC 1764) and *Streptococcus pyogenes* (PTCC 1447) and performance and intestinal microflora of broiler chickens challenged with *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*.

Materials and Methods: The disc diffusion method, the minimum inhibitory concentration (MIC), and the minimum bactericidal concentration (MBC) were applied for the determination of antimicrobial activities of essential oils. In vivo study, a total of three hundred eighty four 1-d-old broiler chickens were assigned to 8 dietary treatment groups: 1) Control= basal diet, 2) Control + Virginiamycin (200 mg/Kg), 3 and 4) Control+ Marjoram Hydro alcoholic essential oil (200 and 400 mg/Kg), 5 and 6) Control+ Fennel hydro alcoholic essential oil (200 and 400 mg/Kg) and 7 and 8) Control+ Tanacetum Balsamita Hydro alcoholic essential oil (200 and 400 mg/Kg). At the second week of life (8-14 d) the broilers of each replicate in all of the treatments divided to 3 part (4 broilers in each treatment) and one group had no challenge, and the 2 other groups were challenged with challenged with *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. Essential oils were provided by Giah-Essanse Company in Golestan Province. The diets were formulated to meet the requirements of broilers as established by the Ross 308 broilers feeding guide in starter (1-14 d). The birds

1- Assistant Prof. of animal science group of Ilam University

2- PhD graduate student of animal science group of Ilam University

3- Associated Prof. of animal science group of

4- Assistant Prof. of Microbiology group of Veterinary faculty of Ilam University

5- Professor of Histology group of Medical University of Ilam

6- Veterinary Medicine of Ilam University

(*-Corresponding author email address: a.khatibjoo@ilam.ac.ir or a.khatibjoo@gmail.com)

were kept under conventional conditions for vaccination, temperature, ventilation, and lighting based on Ross 308 catalogue recommendations. Standard management practices of commercial broiler production were applied. The broiler diets were formulated based on standardized ileal digestible amino acids and other requirements were obtained from Ross catalogue recommendations. Broiler chicken performance (feed intake, body weight gain, feed conversion efficiency at the end of the first and second week of age), blood cell count and ileal morphology were measured. Finally population of *Lactobacillus* and *Escherichia coli* of ileum were detected.

Results and Discussion: The results showed that fennel, tanacetum and marjoram essential oils inhibited the growth of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* and the greatest MBC belonged to tanacetum essential oil as compared to virginiamycin. Inclusion of essential oils improved feed intake and body weight gain of broiler chickens challenged with *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Escherichia coli*-challenged broiler chickens fed diet supplemented with essential oils had higher lymphocyte percentage and lower heterophil to lymphocyte ratio as compared to control group. Essential oils significantly increased *Lactobacillus* and decreased *Escherichia coli* count of healthy and *Escherichia coli* challenged broiler chickens compared to control group respectively.

Conclusion: In conclusion, supplementation of essential oil had MIC and MBC effects and improved growth performance of broiler chickens challenged with *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. It is suggested that these essential oils can be supplemented to broiler chickens diet as substitution of antibiotics.

Keywords: Broiler Chicken, Essential Oil, *Escherichia coli*, Growth Performance, *Salmonella typhimurium*



بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت اسب‌های عرب ایرانی

سروین جباری¹، محمدرضا مشایخی^{2*}، علی حسن پور³، بهزاد شیرمحمدلی⁴

تاریخ دریافت: 1397/02/22

تاریخ پذیرش: 1397/10/15

چکیده

اسب حیوانی است که در طول تاریخ همواره کنار انسان بوده و در تشکیل تمدن بشری نقش مهمی داشته است. نژادهای متنوعی از این حیوان در سراسر جهان وجود دارد که از لحاظ ظاهری با یکدیگر تفاوت دارند. امروزه پژوهشگران از نشانگرهای مولکولی مانند STR های معرفی شده از سوی انجمن ژنتیک حیوانات، جهت مطالعات ژنتیکی و تعیین اصل و نسب استفاده می کنند که می توانند خطاها را به حداقل برسانند. در این مطالعه، تنوع ژنتیکی 50 راس اسب نژاد عرب مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور از نشانگرهای ریزماهوره پیشنهادی ISAG استفاده شد. این نشانگرها شامل ریز ماهوره های ASB17، LEX3، HMS1، CA425 می باشند. این جایگاه ها توسط روش مولتی پلکس PCR با چهار جفت پرایمر نشان دار به رنگ فلورسانس تکثیر شدند. سپس اندازه محصولات حاصل از PCR توسط الکتروفورز موینه جداسازی و مورد بررسی قرار گرفتند. پس از آنالیز داده ها، نتایج نشان داد که تعداد آلل های مشاهده شده برای هر جایگاه از 5 تا 9 آلل متغیر بود. بیشترین تعداد آلل مربوط به نشانگر LEX3 با 9 آلل بود و بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی را نشانگر ASB17 دارا بود. جایگاه CA425 دارای 5 آلل بود که کمترین تعداد آلل در میان جایگاه های بررسی شده را داشت و جایگاه LEX3 دارای پایین ترین مقدار هتروزیگوسیتی بود. همچنین بیشترین مقدار PIC و نیز شاخص شانون برای جایگاه LEX3 و کمترین مقدار برای جایگاه CA425 مشاهده شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تنوع ژنتیکی جمعیت اسب های عرب، فراوانی بسیار بالایی در مقایسه با سایر نژادهای اسب دارد.

واژه های کلیدی: اسب عرب، تنوع ژنتیکی، مولتی پلکس PCR، STR

مقدمه

تجزیه و تحلیل رنگ های بدن اسب نشان می دهد که اولین اسب ها در استپ های اوراسیا، بین هزاره پنجم و چهارم قبل از میلاد مسیح بوده اند (3)؛ اخیراً مطالعات ریز ماهوره ای DNA نشان داده اند که منشأ اسب های اهلی در بخش غربی استپ اوراسیا بوده است (4). از آنجایی که انسان ها خواستار اسب هایی پرتوان، زیبا و با استقامت بوده اند، بنابراین در طول تاریخ، همواره فشار انتخاب مصنوعی را بر اسب ها اعمال کرده اند (5). کشور ما با داشتن پتانسیل اقلیمی، اجتماعی و اقتصادی مناسب و بنا بر اقتضای وضع و هدف پرورش - دهنندگان، دارای اشکال گوناگون مدیریت پرورش اسب و اسب داری می باشد. اما متأسفانه عدم حمایت، ممنوعیت صادرات، بالا بودن هزینه پرورش و نگهداری، ورود اسب های خارجی، نبود برنامه ریزی جامع و شناسنامه دار نشدن باعث شدت گرفتن انقراض اسب های اصیل ایرانی شده است. اسب ها را می توان به 4 گروه از نظر قامت به اسب کاری، اسب سبک، اسب مینیاتوری و نیز پونی ها گروه بندی نمود. همچنین اسب ها از نظر دودمان به خون جوش (تروبرد، عرب، استاندارد برد و کوارتر)، خونگرم (بیشتر نژادها)، خونسرد (اسب های آرام کاری) و نیز اسبچه ها طبقه بندی می شوند (6، 7).

اسب جانوری است از شاخه مهره داران، رده پستانداران، راسته تک سمیان، خانواده اکوئیده² و جنس اکوئوس که در زبان لاتین اکوئوس کابالوس³ خوانده می شود (1). جمعیت اسب های آزاد و وحشی در آفریقا، آسیا، استرالیا، اروپا، آمریکای شمالی و جنوبی و در برخی جزایر اقیانوسی وجود دارد (2). شواهد باستان شناسی و

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه ژنتیک، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

2- استادیار گروه ژنتیک، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

3- دانشیار گروه علوم درمانگاهی دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

4- دانش آموخته دکترای حرفه ای دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

(*) - نویسنده مسئول:

(Email: M.mashayekhi@iaut.ac.ir

DOI:10.22067/ijasr.v11i4.72653

2- Equidae

3- Equus caballus

مورد مطالعه از واکنش زنجیره‌ای پلی مرز استفاده شد بدین ترتیب که از 4 جفت آغازگر نشان‌دار شده استفاده شد که انتهای 5' پیشرو آن‌ها با رنگ فلورسانس HEX نشان‌دار شده بود (جدول 1).

سپس PCR با 12/5 میکرولیتر مسترمیکس و 4 میکرولیتر مجموع پرایمرها و یک میکرولیتر DNA و در نهایت با حجم نهایی 25 میکرولیتر انجام شد. چرخه دمایی PCR که در هر 4 جفت یکسان بود در حالت مولتی پلکس به ترتیب در دماهای واسرشته اولیه در 95 درجه 5 دقیقه و 30 چرخه و واسرشته در 95 درجه 30 ثانیه و اتصال در 60 درجه 1 دقیقه و طولی شدن در 72 درجه 30 ثانیه و طولی شدن نهایی در 72 درجه 5 دقیقه انجام شد. محصولات PCR در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری و طول قطعات توسط دستگاه الکتروفورز موئنه اندازه‌گیری شد. سپس توسط نرم‌افزار Genemapper (17) مورد آنالیز ژنتیکی قرار گرفته و با استفاده از اعداد به دست آمده، تعداد آل‌ها و نیز هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار و همچنین اختلاف هتروزیگوتی مشاهده شده و مورد انتظار توسط فرمول‌های زیر محاسبه گردید (18).

$$P_i = \frac{\sum N_i + (N_i)^2}{N} \quad (1)$$

$$H_o = \sum N_{ij} / N \quad (2)$$

$$H_e = 1 - \sum P_i^2 \quad (3)$$

که در فرمول‌های بالا N_i نشان دهنده تعداد آل‌های هموزیگوت و N_{ij} نشان دهنده تعداد آل‌های هتروزیگوت می‌باشد و همچنین N تعداد کل آل‌ها را نشان می‌دهد. همچنین برای شاخص شانون که نشان‌دهنده میزان تنوع در یک جایگاه می‌باشد و شاخص PIC^2 که نشان‌دهنده میزان ارزش یک منطقه پلی‌مورف است، فراوانی آل‌ها و هتروزیگوتی مشاهده شده و مورد انتظار با استفاده از فرمول‌های زیر به دست آمد که در آن فراوانی‌های آل‌ی i امین آل و P_i فراوانی آل‌ی i امین آل می‌باشد. (19)

$$H' = -\sum P_i \ln P_i \quad (4)$$

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2 \quad (5)$$

نتایج و بحث

نتایج مطالعه که بر اساس DNA استخراج شده از نمونه‌ها با غلظت حوالی 200 نانو گرم بر میکرو لیتر و شاخص آلودگی 260/280 در حدود 1/8 بود و همچنین در الکتروفورز جایگاه‌های مشخص شده خود را نیز نشان داد که در جایگاه ASB17، کوچک‌ترین آل 88 جفت باز دارا می‌باشد و بزرگ‌ترین آل مشاهده شده در این جمعیت 110 جفت باز طول دارد که مورد انتظار می‌باشد. فراوان‌ترین آل در جمعیت نیز همان 110 جفت باز مشاهده شد که فراوانی آل آن برابر

اخیراً گزارش شده است که از توالی‌های تکراری ساده¹ برای تشخیص دقیق والدین می‌توان استفاده کرد. این توالی‌های تکراری در سرتاسر ژنوم پراکنده‌اند و چندشکلی‌های بالایی را نشان می‌دهند که یکی پس از دیگری پشت سرهم قرار گرفته‌اند. همچنین این توالی، تقریباً در هر 3-5 کیلو جفت باز از ژنوم جانداران تکرار می‌شود و براساس تعداد نوکلئوتیدهایی که در هر تکرار قرار می‌گیرند، به صورت تری، تترا، پنتا، هگزا نوکلئوتیدی نام گذاری می‌شوند. این تکرارها در ژنوم گیاهان، بی‌مهرگان، حشرات، خزندگان، دوزیستان و پستانداران به فراوانی دیده می‌شوند. علاوه بر این، این توالی‌ها در مجموع 20 درصد از ژنوم پستانداران را به خود اختصاص داده‌اند (8). در طول چند دهه گذشته، بررسی مارکرهای مولکولی، پلی‌مورفیسم یا چندشکلی‌هایی در سطح DNA، به عنوان یک روش بسیار مناسب در مطالعات ژنتیکی حیوانات استفاده شده‌اند. در بین مارکرهای مولکولی، میکروستالات‌های DNA به طور وسیعی استفاده می‌شوند و دلیل استفاده از این مارکرها، سهولت کاربرد آن‌ها در روش‌هایی مثل PCR و نیز ژل الکتروفورز برای تعیین سبب آل‌ها می‌باشد (9، 10).

امروزه استفاده از میکروستالات‌ها در تکنیک‌های آنالیز DNA کاربرد روزافزونی پیدا کرده است (11). بررسی‌های مولکولی DNA در مقایسه با روش‌های قدیمی، در تعیین نسب اسب‌ها مزایای ویژه‌ای دارد که از این جمله می‌توان، چندشکلی بسیار زیاد، هم‌باز بودن، عدم تأثیر انتخاب طبیعی و مصنوعی بر آن‌ها، کم‌هزینه بودن و ژنوتیپ یابی آسان را نام برد. همچنین کاربردهای فراوانی برای این روش‌ها مانند، تجزیه و تحلیل پیوستگی، آزمون والدین، نقشه‌برداری ژنومی و مطالعات فیلوژنیک را نام برد (12). این ساختارهای ژنتیکی و روش‌های مولکولی از دقت بسیار بالایی برخوردار هستند، به طوری که در مورد نژادهای مختلف اسب می‌توان از آن‌ها برای شناخت نژادهای اصیل و برتر بهره برد. انجمن ژنتیک حیوانات (ISAG) که مرکز آن در کشور پرتغال واقع است (13)، مطالعات زیادی بر روی اسب‌های تروبرد کره‌ای (14) و یا اسب‌های کرد (15) انجام گرفته است. هدف از این مطالعه استفاده از مارکرهای ASB17، LEX3، HMS1 و CA425 برای بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت اسب‌های عرب ایرانی است.

مواد و روش‌ها

پس از انتخاب اسب‌های نژاد عرب مورد نظر در استان آذربایجان شرقی (بر اساس خصوصیات ظاهری)، خون‌گیری از 50 حیوان انجام گرفت. سپس از روش نمک اشباع (16) برای استخراج DNA استفاده شد. پس از استخراج DNA جهت تعیین غلظت و بررسی نبود آلودگی در نمونه‌ها از نانودراپ استفاده شد. به منظور بررسی جایگاه‌های

0/46 است. برای جایگاه LEX3، کوچک‌ترین آلل 144 جفت باز مشاهده شد که مطابق انتظار است. همچنین بزرگ‌ترین آلل مشاهده‌شده در این جمعیت 166 جفت باز است که بیشتر از محدوده مورد انتظار می‌باشد. فراوان‌ترین آلل مشاهده‌شده در جمعیت 160 جفت باز مشخص شد که فراوانی آلل آن برابر 0/32 است.

جدول 1- پرایمر های مورد استفاده با توالی های پیشرو و برگشت

Table 1- Primers used with forward and reverse sequences

Locus جایگاه	ALLELE RANGE محدوده آللی	chromosome number	Forward primer توالی پرایمر پیشرو (5'→3')	Reverse primer توالی پرایمر برگشت (5'→3')
ASB17	87-129	2	ACCATTTCAGGATCTCCACCG(HEX)	GAGGGCGGTACCTTTGTACC
LEX3	142-164	X	ACATCTAACCAGTGCTGAGACT(HEX)	GAAGGAAAAAAGGAGGAAGAC
HMS1	170-186	15	CATCACTCTTCATGTCTGCTTGG(HEX)	TTGACATAAATGCTTATCCTATGGC
CA425	226-246	28	AGCTGCCTCGTTAATTCA(HEX)	CTCATGTCCGCTTGCTC

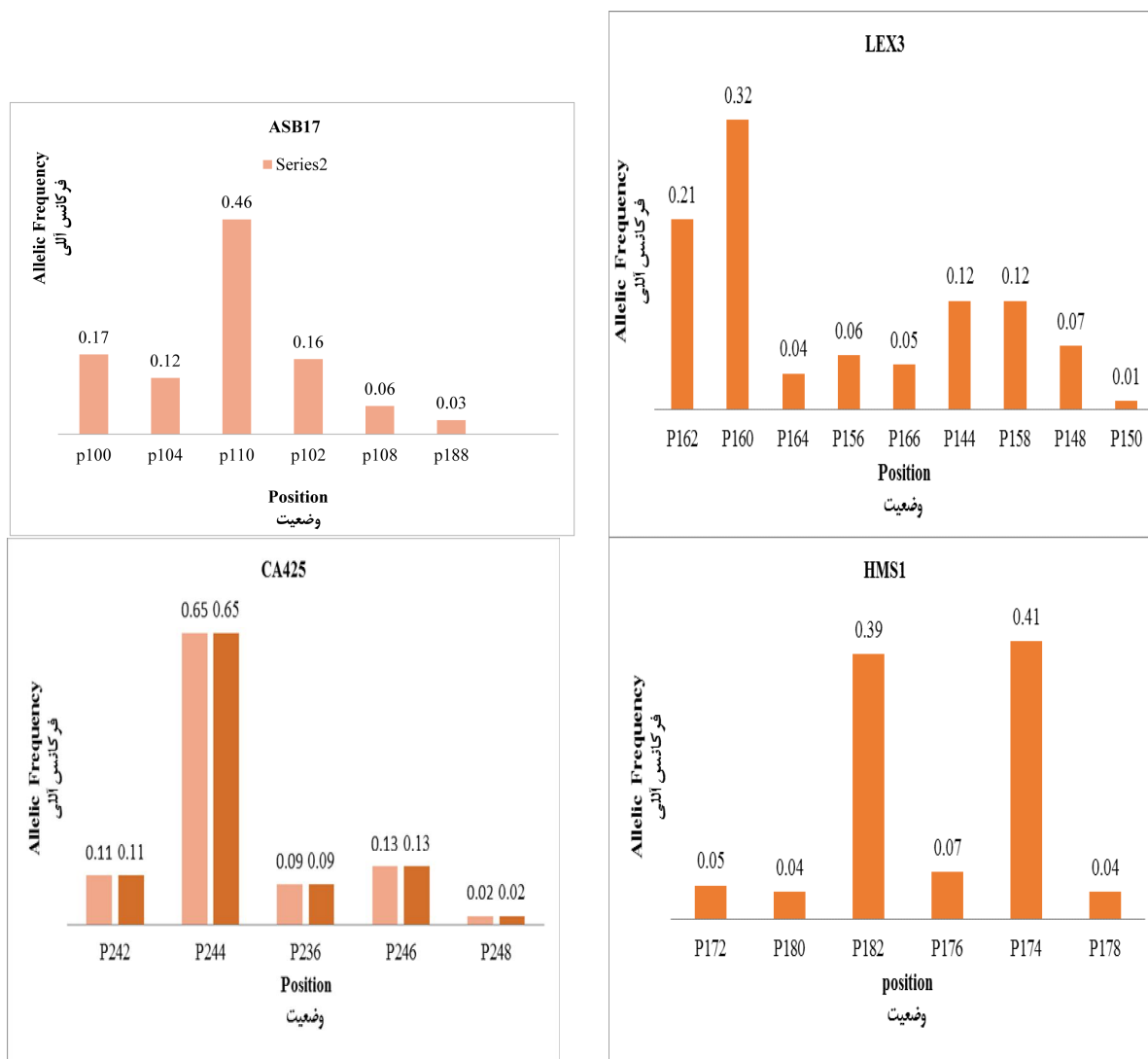
بیشترین مقدار و نیز در جایگاه CA425 واحد PIC کمترین مقدار محاسبه شد. همچنین اختلاف هتروزیگوتی مشاهده شده و مورد انتظار در جایگاه CA425 کمترین مقدار و جایگاه LEX3 بیشترین مقدار را دارا بود.

در جایگاه ASB17، 6 آلل برای این جایگاه در جمعیت اسب‌های عرب مشاهده گردید که PIC آن برابر 0/6803 بود. درحالی‌که در اسب‌های تروبرد کره‌ای بررسی‌شده توسط Lee و همکاران 9 آلل گزارش شد و هتروزیگوتی آن برابر 0/762 و PIC آن 0/710 بود (14). جایگاه LEX3، 9 آلل برای آن در جمعیت اسب‌های عرب مشاهده گردید و PIC آن 0/7895 گزارش شد، در صورتی‌که در اسب‌های تروبرد کره‌ای بررسی‌شده 8 آلل گزارش شد و هتروزیگوتی و واحد PIC نیز به ترتیب 0/756 و 0/691 بود. با توجه به ارقام بالا می‌توان نزدیک بودن این 2 گونه نژاد اسب را در این جایگاه استنباط کرد. همچنین در مطالعه‌ای که بر روی اسب‌های تروبرد کره‌ای صورت گرفت (14) برای جایگاه HMS1، 3 آلل دیده شد که هتروزیگوتی آن 0/62 و شاخص PIC نیز 0/547 می‌باشد که برای اسب‌های عرب 0/52 و 0/611 بدست آمد. در نهایت برای جایگاه CA425، در مطالعه‌ای که بر روی اسب‌های تروبرد کره‌ای صورت گرفت، 7 آلل دیده شد که هتروزیگوتی و PIC آن به ترتیب 0/513 و 0/553 می‌باشد. در مطالعه حاضر به‌طور متوسط برای جایگاه‌های مطالعه شده در جمعیت اسب‌های عرب 7/375 آلل مشاهده شد.

همچنین در جایگاه HMS1 کوچک‌ترین آلل مشاهده‌شده در جمعیت 172 جفت باز می‌باشد که مطابق محدوده آللی مورد انتظار می‌باشد. بزرگ‌ترین آلل مشاهده‌شده در جمعیت 182 جفت باز است که در محدوده آللی مورد انتظار می‌باشد. فراوان‌ترین آلل در جمعیت مربوط به آلل 174 جفت بازی مشاهده شد که فراوانی آن 0/41 است و فراوانی این آلل در سایر نژادها نیز بالا است. برای جایگاه CA425، کوچک‌ترین سایز آللی برای این جایگاه در جمعیت 242 جفت باز مشاهده شد که کوچک‌تر از اندازه آللی مورد انتظار است؛ و فراوانی آن به‌طور قابل‌توجهی برابر 0/11 است. بزرگ‌ترین اندازه آللی مشاهده‌شده در این جایگاه 248 جفت باز می‌باشد که در بالاتر از محدوده آللی مورد انتظار قرار گرفته است که در شکل شماره 2 نمایش داده شده است.

با توجه به مطالعات قبلی که بر روی اسب‌های تروبرد کره‌ای انجام گرفت (14)، برای جایگاه ASB17 9 آلل گزارش شد که هتروزیگوتی آن برابر 0/762 بود. بنابراین از آنجایی‌که در این مطالعه برای جایگاه ASB17 6 آلل در اسب‌های نژاد عرب مشاهده شد، این جایگاه می‌توان به‌عنوان یک مارکر مناسب برای تمایز نژاد عرب از نژادهای کره‌ای مناسب باشد.

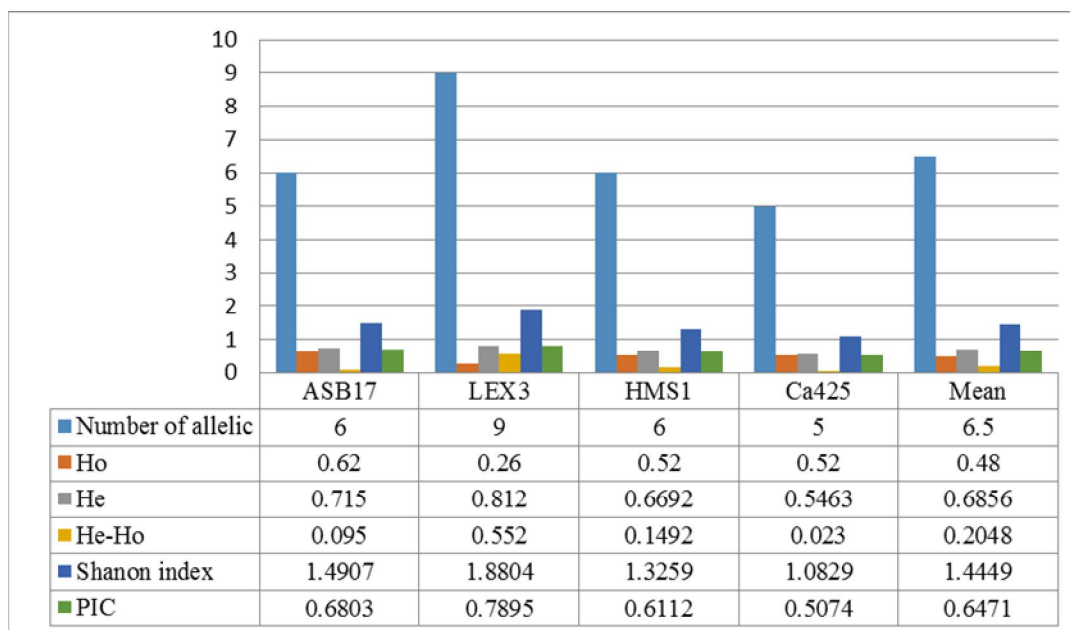
نتایج حاصل از شاخص شانون و PIC نیز نشان داد که برای جایگاه LEX3 شاخص شانون بیشترین مقدار و جایگاه CA425 کمترین مقدار محاسبه شد و واحد PIC برای جایگاه LEX3



شکل 2- فرکانس آلی جایگاه‌های ASB17، LEX3، HMS1 و CA425
Figure 2- Allelic frequency chart for ASB17, LEX3, HMS1 and CA425

جدول 2- تعداد آلل، هتروزیگوتی مشاهده شده، هتروزیگوتی مورد انتظار برای جایگاه‌های ASB17، LEX3، HMS1 و CA425
Table 2- Number of alleles Observed heterozygosity and Expected heterozygosity for ASB17, LEX3, HMS1 and CA42

لوکوس locus	تعداد آلل Allele number	هتروزیگوتی مشاهده شده Observed heterozygosity	هتروزیگوتی مورد انتظار Expected heterozygosity	اختلاف H_o و H_e Difference of H_o and H_e
ASB17	6	0.62	0.715	0.095
LEX3	9	0.26	0.812	0.552
HMS1	6	0.52	0.669	0.149
CA425	5	0.52	0.546	0.023
متوسط	6.5	0.48	0.685	0.204



شکل 3- مقایسه هتروزیگوتی، تعداد آلل جایگاه‌ها، شاخص‌های PIC و Shanon و میانگین آن‌ها برای جایگاه‌های ASB17، LEX3، HMS1 و CA425
Figure 3- Comparison of heterozygosity, number of alleles of sites, PIC and Shanon indices and their mean for ASB17, LEX3, HMS1 and CA425 Loci

نژادها دارند. به‌طور کلی چندین آلل در جمعیت اسب‌های عرب ایران با فراوانی‌های متفاوت مشاهده شده است که در بقیه نژادها وجود ندارد و می‌توان از مقایسه فراوانی برخی از آلل‌ها شاخصی را برای تفکیک نژادها جدا نمود.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از آلل‌های مشاهده‌شده در میان جمعیت اسب‌های عرب، می‌توان گفت که تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی در میان این جمعیت وجود دارد. همچنین می‌توان استنباط کرد، برخی از آلل‌ها فراوانی بالایی در جمعیت اسب‌های عرب نسبت به دیگر

منابع

1. Blood, D. C., and V. P. Studdert. 1988. Baillière's comprehensive veterinary dictionary. Publisher of book: Baillière Tindall. PP 1123.
2. Wilson, D. E., and D. M. Reeder. 2005. Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. Journal of Mammalogy, 88 (3): 824-830.
3. Anthony, D. W., and D. R. Brown. 2003. Eneolithic horse rituals and riding in the steppes: new evidence. Publisher book: McDonald Institute for Archaeological Research, pp 55-68.
4. Warmuth, V., A. Eriksson., M. A. Bower., G. Barker., E. Barrett., B. K. Hanks., S. Li., D. Lomitashvili., M. Ochir-Goryaeva., and G. V. Sizonov. 2012. Reconstructing the origin and spread of horse domestication in the Eurasian steppe. Proceedings of the National Academy of Sciences, 8202-8206.
5. Bennett, D., R.S. Hoffmann. 1999. Equus caballus Linnaeus, 1758 Horse. Mammalian Species, 1: pp 73.
6. Schuurman, N. 2017. The Transnational Image of the Spanish Horse in the Leisure Horse Trade. Equestrian Cultures in Global and Local Contexts, Springer. 119-129.
7. Mahrous, K.F., H.I. Shafey, E.A. Balabel, O.E. Othman. 2017. Genetic Biodiversity analysis of two Mitochondrial genes in Arabian and Thoroughbred Horses. Biosciences Biotechnology Research Asia, 14 (1): 25-32.

8. Dieringer, D., C. Schlötterer. 2003. Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Molecular Ecology Notes*, 3 (1): 167-169.
9. Georgescu, S.E., E. Condac, M. Rebedea, C. DumitruTasio, A. Dinischiotu, M. Costache. 2005. Arabian horses genotyping using seventeen microsatellites. *Archiva Zootechnica*, 8: 169-175.
10. Haghparast, N., M. Pakzad, P. Farzaneh, M. Ebrahimi, V. Hajihosseini, M. Tondar, H. Baharvand. 2014. Stem Cell Banking in Iran. *Stem Cell Banking*, Springer. 123-141.
11. Caetano, A.R., Y.-L. Shiue, L.A. Lyons, S.J. O'Brien, T.F. Laughlin, A.T. Bowling, J.D. Murray. 1999. A comparative gene map of the horse (*Equus caballus*). *Genome Research*, 9 (12): 1239-1249.
12. Kimpton, C., D. Fisher, S. Watson, M. Adams, A. Urquhart, J. Lygo, P. Gill. 1994. Evaluation of an automated DNA profiling system employing multiplex amplification of four tetrameric STR loci. *International Journal of Legal Medicine*, 106: 302-311.
13. Hirota, K.-i., H. Kakoi, H. Gawahara, T. Hasegawa, T. Tozaki. 2010. Construction and validation of parentage testing for thoroughbred horses by 53 single nucleotide polymorphisms. *Journal of Veterinary Medical Science*, 72 (6): 719-726.
14. Lee, S.-y., G.-j. Cho. 2006. Parentage testing of Thoroughbred horse in Korea using microsatellite DNA typing. *Journal of Veterinary Science*, 1 (7): 63-67.
15. Va, M.A., M.R. Mashayekhi, A. Hasan pour, M.R. Ayubi. 2017. Evaluation of the genetic diversity of Iranian Kurdish horses. *Journal of Animal Science Researches*, 27 (1): 95-102. (In Persian)
16. Aljanabi, S.M., I. Martinez. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*, 25 (22): 4692-4693.
17. Voorrips, R.E. 2002. MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Journal of Heredity*, 93 (1): 77-78.
18. Ala-Amjadi, M., H. Mehrabani Yeganeh, M. Sadeghi. 2017. Study of Genetic variation in Iranian Kurdish horse using microsatellite marker. *Iranian Journal of Animal Science*, 48 (3): 335-342. (In Persian)
19. Botstein, D., R.L. White, M. Skolnick, R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32 (3): 314-331.



Evaluation of the genetic diversity of Iranian Arabian horses

S Jabbari¹, MR Mashayekhi^{2*}, A Hasanpour³ and B Shirmohammadly⁴

Received: 12-05-2018

Accepted: 05-01-2019

Introduction: Horses (*Equus ferus caballus*) have always been alongside humans and played an important role in the formation of human civilization. Horses are vertebrates that belong to the Mammalia class, the Equidae family, and the Equus genus. There are free and wild horses in Africa, Asia, Australia, Europe, North and South America, and some oceanic islands. Because of the long-standing relationship with human civilization, horses are considered as companions, a symbol of power and predilection, human assistant, and rival of other animals. The origins of domesticated horses have always been interesting to humans, and studying them is very important. Archaeological evidence and analysis of the horse's body color indicate that the first horses were found in the Eurasian steppes between 5th and 4th millennia BC. Among the genetic studies, simple repeat sequencing can be implied. Random repetitive sequences are scattered throughout the genome and show high polymorphisms that are harbored consecutively and repeat almost every 3-5 Kbp of genome. These sequences comprise a total of 20% of the mammalian genome sequence.

Material and methods: Blood samples were obtained from Arabian horses and their DNAs extracted using salting out method. Extracted DNAs was run in an agarose gel and concentration and quality of DNAs were measured by Nano-drop. Four microsatellite markers were used that all have been recommended by International Society for Animal Genetics (ISAG) for testing the parentship. These markers included ASB17, LEX3, HMS1 and CA425. These loci were amplified by multiplex polymerase chain reaction (PCR) with fluorescent dye-labeled primers. PCR was performed using total volume of 25 ml for each sample and PCR products were separated and analyzed with capillary electrophoresis and the products were evaluated using GenMapper software.

Results and discussion: According to the results obtained, the smallest allele was found is 88 bp at the position of ASB17 locus, as expected. Moreover, the largest allele observed in this population was 110 bp. The most frequent allele observed in the population was also 110 bp, with an allele frequency of 0.46%. For LEX3, the smallest allele observed is 144 bp, which was expected. The largest allele observed in this population was 166 bp, which was more than expected range. The most frequent allele observed in the population was 160 bp, with an allele frequency of 0.32%. However, the smallest allele observed in the population at position HMS1 was 172 bp, which was expected to be within the normal allele frequency range. The largest allele observed in the population was 182 bp, which was expected to be in the allele range. The most abundant allele observed in the population was the 174 bp allele, with a frequency of 0.41%, which has a high prevalence in other races. For CA425, the smallest size of the allele observed for this site was in the population of 242 bp, which was smaller than the expected allele size and had a significant frequency of 0.11%. The largest allele size observed in this site was 248 bp, which was expected to be above the expected allele range. The largest allele observed in the population was 182 bp, which was expected to be in the allele range. The most abundant allele observed in the population was the 174 bp allele, with a frequency of 0.41%, which has a high prevalence in other races. For CA425, the smallest size of the allele observed for this site was in the population of 242 bp, which was smaller than the expected allele size and has a significant frequency of 0.11%. The largest allele size observed in this site was 248 bp, which was expected to be higher than the expected allele range.

Conclusion: According to the results obtained from the observed alleles in the studied population of Arabian horses, there is a relatively high genetic variation among this population. It can also be said that for some alleles, there is a high prevalence in the Arabian horse population, while they were not seen in other breeds of horses. In general, several alleles in the Arabian horse population of Iran have been observed with different frequencies that were not present in rest of the races, which implies to the differentiation of this race from horses of other races.

Keywords: Arab horse, genetic diversity, multiplex PCR, STR

1- MSc Graduated, Department of Genetic, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

2- Assistant professor, Department of Genetic, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

3- Associate professor, Department of Clinical Sciences, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

4- Doctor of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

(*-Corresponding Author Email: M.mashayekhi@iaut.ac.ir)

DOI:10.22067/ijasr.v11i4.72653



مطالعه تغییرات، پیش‌بینی مؤلفه‌های واریانس و فراسنجه‌های ژنتیکی تابع توزیع زنده‌مانی در میش‌های نژاد کرمانی

محبوبه کرد¹، محمدرضا محمدآبادی^{2*}، علی اسمعیلی‌زاده کشکونیه²، ارسلان برازنده³

تاریخ دریافت: 1397/03/02

تاریخ پذیرش: 1397/10/15

چکیده

در این مطالعه از رکوردهای طول عمر 772 رأس میش‌های دارای ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند کرمانی واقع در شهرستان شهربابک استان کرمان که طی سال‌های 1368 تا 1387 جمع‌آوری شده بودند، استفاده شد. توزیع فراوانی علل حذف و تابع توزیع زنده‌مانی میش‌ها با استفاده از نرم افزار R پیش‌بینی شد. همچنین، از مدل ویبال و نرم افزار Matvec برای پیش‌بینی اجزای واریانس و فراسنجه‌های ژنتیکی صفت طول عمر به عنوان بقاء، استفاده شد. متوسط طول عمر تولیدی میش‌ها در این مطالعه 4/72 سال به دست آمد که به‌طور متوسط 3/4 بره در طول عمر خود داشته‌اند. بیماری بالاترین علت حذف میش‌ها (53 درصد) را به خود اختصاص داد. پس از بیماری به ترتیب پیری، مشکلات باروری، تولید پایین شیر، مشکلات پستانی، کشتار آزمایشی، حادثه فیزیکی و در آخر تیپ نامناسب (0/5 درصد) بیشترین درصد حذف میش‌ها را شامل شدند. با افزایش سن احتمال شرطی تلفات روند افزایشی را نشان داد، ولی برعکس آن میزان زنده‌مانی تجمعی روند کاهشی نشان داد. نسبت خطر مرگ تا سن چهار سالگی به طور جزئی، ولی بعد از آن به شدت افزایش نشان داد. وراثت‌پذیری‌ها در مقیاس لگاریتمی، مقیاس اولیه و وراثت‌پذیری موثر نسبت خطر حاصل شده از مدل پدری و دارای تابع ویبال در حد کم به بالا (0/002 تا 0/145) پیش‌بینی شدند. نتایج حاصله بیانگر آن است که جهت افزایش طول عمر و زنده‌مانی میش‌ها باید علاوه بر بهبود شرایط محیطی و بهداشتی و تصمیمات مدیریتی و کاربردی به اصلاح ژنتیکی نیز اهتمام ورزید.

واژه‌های کلیدی: طول عمر اقتصادی، علل حذف، میش کرمانی.

مقدمه

این رو توجه به بحث اصلاح نژاد این دام و بهبود شرایط محیطی و ژنتیکی گوسفند کرمانی کمک بسزایی در تأمین بخشی از نیاز به محصولات دامی مردم کرده است.

به طور کلی دو صفت در رابطه با ماندگاری در حیوانات مد نظر قرار می‌گیرد که شامل طول عمر واقعی (مدت زمان عمر از تولد تا حذف) و طول عمر تولیدی (مدت زمان بین اولین زایش تا حذف) می‌باشد. طول عمر تولیدی یا اقتصادی در گوسفند داشتی، فاصله زمانی از اولین بهره‌زایی تا زمان مرگ یا حذف می‌ش تعریف می‌شود (4، 11، 12، 28 و 36). طول عمر تولیدی در میش یک صفت با اهمیت اقتصادی بالا می‌باشد، زیرا افزایش طول عمر اقتصادی منجر به کاهش نرخ حذف و نیز هزینه‌های جایگزینی در گله می‌شود (25) و (31). با افزایش طول عمر، خطر حذف اجباری کاهش می‌یابد و

بالغ بر 26 توده جمعیتی گوسفند در ایران وجود دارد که با مناطق مختلف سازگار شده‌اند (21). در حال حاضر، تولید گوشت مهمترین دلیل پرورش گوسفند در ایران است و تولیدات دیگر مانند پشم، شیر و پوست در درجات بعدی اهمیت قرار دارند (16). گوسفند کرمانی یکی از مهمترین نژادهای گوسفند بومی ایران است و به خوبی با شرایط محیطی خشن و نامطلوب قسمت جنوب شرقی کشور که عمدتاً آب و هوای گرم و خشک غالب است و مراتع کم و کم‌کیفیت هستند سازگار شده است (20). این گوسفند دنبه‌دار دو منظوره (گوشت و پشم) با اندازه متوسط و پشم سفید است (20) و در استان کرمان بسیاری از نیازهای مردم عشایر و دامپروران این استان را تأمین می‌کند (16). از

(mrm@uk.ac.irEmail:

DOI:10.22067/ijasr.v11i4.72943

*) ایمیل نویسنده مسئول:

1. دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشگاه شهید باهنر کرمان.

2. استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان.

3. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از رکوردهای طول عمر تعداد 772 رأس میش، حاصل از 68 رأس قوچ و 541 رأس میش، مربوط به گله ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند کرمانی واقع در شهرستان شهرابک استان کرمان، جمع آوری شده طی سال‌های 1368 تا 1387 برای بررسی طول عمر اقتصادی استفاده گردید. این منطقه دارای اقلیم بیابانی است، متوسط بارندگی آن 150 میلی‌متر در سال و میانگین رطوبت نسبی آن 34 درصد می‌باشد. این منطقه به صورت دشت مرتعی و مسطح بوده و متوسط ارتفاع آن از سطح دریا 170 متر می‌باشد. طول عمر کلی برابر با فاصله زمانی بین تولد تا حذف میش بر حسب روز محاسبه گردید (6). در فایل داده‌های ثبت شده، میش‌های داشتی با سن دو سال شناسایی شده و رکوردهای آنها به عنوان پایه جهت برآورد احتمال ماندگاری مورد استفاده قرار گرفت. معمولاً میش‌ها به دلیل ناباروری، تولید کم، بیماری، سن یا مرگ از گله حذف می‌شوند. همچنین میش‌هایی که در n سال از سن بره‌زایی داشتند، اما در سال $n+1$ از سن بره‌زایی نداشتند از گله حذف شدند. همه ماده‌ها پس از رسیدن به سن 8 سالگی از گله حذف و جای خود را به جایگزین‌ها می‌دادند. در این مطالعه ماندگاری کلی (ماندگاری میش‌ها از هر زایش نسبت به زایش اول) اندازه گیری شد.

صفات ماندگاری (زایش $n/2$) به عنوان احتمالی که یک میش تا سن n ام در گله حضور داشته به شرط اینکه در سن دو سالگی بره‌زایی داشته باشد و برای n مساوی است با 3، 4، 5، 6، 7 و 8 سالگی میش‌ها تعریف گردید (25). جهت پیش‌بینی فراسنجه‌های ژنتیکی صفت طول عمر اقتصادی در هر یک از سنین علل حذف میش‌ها پس از هر زایش بررسی و سپس برای میش‌های باقیمانده در گله مقدار صفر و میش‌های حذف شده مقدار یک به عنوان صفت ماندگاری در هر زایش اختصاص یافت. همچنین طول عمر میش‌ها از تفاضل تاریخ تولد و تاریخ حذف محاسبه گردید (یعنی هر رکورد زنده مانی برای هر میش شامل دو ستون، سن در حین حذف بر حسب سال و کد سانسور بود) (6). تمام ویرایش‌های لازم و عملیات مختلف برای ایجاد فایل‌های مناسب برای تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزارهای Excel و Sql server انجام گردید. جهت تعیین توزیع فراوانی علل حذف میش‌ها از نرم افزار R و همچنین جهت تعیین تابع توزیع زنده‌مانی $S(t)$ (32) از بسته آماری Survival (29) این نرم‌افزار استفاده گردید.

$$S(t) = \prod_{j=1}^{t_j \leq t} \left[1 - \frac{d_j}{n_j} \right]$$

می‌توان با تولید فرزندان بیشتر از مادران برتر، شدت انتخاب و میزان پیشرفت ژنتیکی گله و در نتیجه سود دامدار را افزایش داد (2 و 10). با توجه به این موضوع پیش‌بینی پارامترهای ژنتیکی این صفات برای برآورد ارزش اصلاحی حیوان و استفاده در برنامه‌های اصلاح نژادی به منظور حداکثر کردن بهبود ژنتیکی لازم است (27). وراثت‌پذیری صفات طول عمر در مطالعات نذاف فهمیده و همکاران (23) در گوسفندان گیلانی، وطن خواه (31) در گوسفندان لری بختیاری، رضایی و قوی‌حسین زاده (24) در گوسفندان مهربان و نوید قوی حسین زاده و همکاران (14) در گوسفندان مغانی در دامنه 0/002 تا 0/22 پیش‌بینی گردیده است. مدل سازی صفت طول عمر با استفاده از مدل‌های غیرخطی نظیر تجزیه زنده‌مانی (بقاء) با مدل‌های نسبت خطر مناسب‌تر است، زیرا ماهیت توزیع‌های غیرنرمال، خصوصیات رکوردهای سانسور شده و همچنین اثرات وابسته به زمان بر بقاء برای عوامل محیطی را در نظر می‌گیرند (1، 6، 10 و 22). نظر به این که گوسفند حساس به بسیاری از بیماری‌ها و انگل‌ها است، کاهش تلفات در این حیوان در مقایسه با سایر دام‌های اهلی دارای اهمیت بالایی است. متوسط طول عمر میش در خارج از گله‌های تجاری 10 تا 12 سال می‌باشد و قوچ نیز قادر است تا سن 14 سالگی زنده بماند (6، 29 و 32). دستیابی به این سنین در سیستم‌های تولیدی معمولاً امکان پذیر نیست. طول عمر تولیدی میش براساس سیاست‌های مختلف حذف در نژادهای مختلف متفاوت و در محدوده 4 تا 6 سال قرار دارد (7).

متوسط طول عمر تولیدی در میش‌های نژاد آواسی، نجدی و لری بختیاری به ترتیب 6/04، 4/48 و 4/86 گزارش شده است (1 و 32). مطالعه روی سایر نژادهای گوسفند نیز نشان داده که طول عمر اقتصادی با افزایش سن میش بهبود می‌یابد (4، 6 و 26). در مطالعه‌ای بر روی صفات طول عمر اقتصادی گوسفند کردی نتیجه گرفتند که حدود 99 درصد از میش‌های گله به دلایل دیگری غیر از سن از گله حذف شده‌اند. این محققین میانگین طول عمر تولیدی میش‌های مورد بررسی را 4/27 سال گزارش نمودند که بیانگر آن است که هر گوسفند به طور تقریبی 1/8 شکم زایش نموده و سپس حذف گردیده است (25). نظر به این که بررسی و شناسایی عوامل مهم حذف میش‌ها از گله که منجر به کاهش عملکرد و طول عمر اقتصادی حیوان می‌شود، می‌تواند در ارایه و تدوین راهبرد مناسب جهت ارتقا ماندگاری و طول عمر اقتصادی میش مورد استفاده قرار گیرد و علاوه بر این عدم وجود فراسنجه‌های ژنتیکی صفات طول عمر گوسفند کرمانی، هدف از این پژوهش مطالعه تغییرات، پیش‌بینی مؤلفه‌های واریانس و فراسنجه‌های ژنتیکی تابع توزیع زنده‌مانی در میش‌های نژاد کرمانی می‌باشد.

2 نزدیک باشد، برآورد وراثت‌پذیری از هر دو فرمول تقریباً یکسان خواهد شد.

$$h^2_{eff} = \frac{4 \times \sigma_s^2}{\sigma_s^2 + 1}$$

نتایج و بحث

متوسط طول عمر تولیدی میش‌های مورد بررسی در این پژوهش 4/72 سال به دست آمد که به‌طور متوسط 3/4 بره در طول عمر خود داشته‌اند. در مطالعات انجام شده بر روی گوسفند نژاد کردی میانگین طول عمر تولیدی میش‌ها 4/27 سال با متوسط بره‌زایی 1/8 (25) و در گوسفند نژاد اتیوپی متوسط طول عمر تولیدی میش‌ها 5/32 با متوسط بره‌زایی 2/6 (13) پیش‌بینی گردیده است. در مقایسه با این دو نژاد گوسفند کرمانی دارای عملکرد طول عمر تولیدی بهتری است. در مطالعه‌ای دیگر روی میش نژاد آواسی و نجدی متوسط طول عمر تولیدی این دو نژاد به ترتیب 6/04 و 4/48 سال پیش‌بینی شد که به ترتیب 4/1 و 3/3 بره در طول عمر خود داشتند (1). این آمار نشان می‌دهد که طول عمر میش‌های کرمانی کمتر از آواسی و مشابه نجدی می‌باشد. فراوانی علل حذف میش‌ها در جدول 1 آورده شده است. همانگونه که مشخص است، مهمترین عامل تلف شدن و حذف دام در این گله بیماری است که تعداد 399 رأس (53 درصد) را به خود اختصاص داده است. عوامل پیری، مشکلات باروری (قصر بودن و مشکلات سخت زایی)، تولید پایین (تولید شیر و مشکلات پستانی)، کشتار آزمایشی، حادثه فیزیکی و تیپ نامناسب (مشکلات ظاهری) به ترتیب در جایگاه‌های بعدی قرار دارند.

در مطالعه وطن خواه و طالبی (32) بر روی نژاد لری بختیاری و ساقی و همکاران (25) در نژاد کردی نیز بیماری مهمترین عامل حذف بود. با توجه به نتایج مطالعات این محققین و مطالعه حاضر شاید بتوان گفت که در گله‌های داشتی ایران عدم رعایت مسائل بهداشتی و مدیریتی از مهمترین عوامل تلف شدن دام هستند. با توجه به این که حذف به علت بیماری بیش از نصف تلفات را به خود اختصاص می‌دهد (53 درصد)، عملیات مدیریتی که منجر به حفاظت، پیشگیری، عدم گسترش و درمان بیماری‌ها می‌گردد در نژاد کرمانی اهمیت دارد. بحری بیناباج (3) در مطالعه‌ای بر روی میش‌های قره‌گل و بلوچی بیان کرد که به ترتیب حدود 10 تا 30 درصد از حذف‌ها در این نژادها به‌علت شیوع بیماری‌های مختلف می‌باشد. همچنین، در میش‌های میول حذف در اثر بیماری 6/2 درصد گزارش گردیده است (18). هر چند نتایج این سه مطالعه تلفات را در اثر بیماری بسیار کمتر از مطالعه حاضر گزارش کردند، ولی در میش‌های تارگی (6) و لری بختیاری (33) گزارش شد که به ترتیب نزدیک به 66 و 72 درصد از میش‌ها به خاطر عواملی غیر از سن (پیری) گله را ترک نموده‌اند. بنابراین،

که در مدل بالا، $S(t)$ احتمال زنده‌مانی در زمان t ، n_j تعداد افراد در معرض خطر، d_j تعداد افرادی که در زمان t تلف شده‌اند، $\frac{d_j}{n_j}$ نسبت مرگ و میر و $1 - \frac{d_j}{n_j}$ نسبت زنده‌مانی در زمان t است.

علاوه بر این، احتمال شرطی حذف و نسبت خطر نیز محاسبه گردید. احتمال شرطی حذف (نسبت افرادی که در هر فاصله زمانی یک ساله حذف شده‌اند به شرط این که در ابتدای دوره زمانی مربوطه زنده بوده‌اند) برابر است با تعداد میش‌های حذف شده در فاصله زمانی یک ساله تقسیم بر اندازه مؤثر (تعداد میش‌های زنده در ابتدای هر گروه سنی). نسبت خطر نیز برابر است با

$$h(t_{im}) = \frac{d_i}{b_i \left(n_i - \frac{w_i}{2} - \frac{d_i}{2} \right)}$$

در معادله بالا، $h(t_{im})$ نسبت خطر در حدوسط فاصله زمانی t_{im} ؛ d_i تعداد تلفات در زمان t_{im} ؛ b_i عرض فواصل زمانی و w_i تعداد افرادی که در فاصله زمانی t_{im} سانسور شده از راست‌اند (25 و 32).

برای پیش‌بینی مؤلفه‌های واریانس و پارامترهای ژنتیکی صفات طول عمر به عنوان صفات بقا از مدل ویبال زیر (12) و نرم افزار Matvec (34) استفاده گردید. در این مدل β بردار اثرات ثابت، x_i ماتریس طرح، s بردار اثرات ژنتیکی افزایشی بین پدران با توزیع چندمتغیره نرمال $s \approx N(0, A\delta_s^2)$ ، A ماتریس روابط ژنتیکی افزایشی بین پدران، δ_s^2 واریانس ژنتیکی افزایشی بین پدران و z_1 ماتریس طرح می‌باشد.

$$h(t; x; z_1) = h_0(t) \times \exp(x'\beta + z_1's)$$

میزان وراثت‌پذیری بر پایه مقیاس لگاریتم برای مدل پدري ویبال به صورت زیر برآورد شد (25 و 34)

$$h^2_{log} = \frac{4 \times \sigma_s^2}{\sigma_s^2 + \frac{\pi^2}{6}}$$

برای تبدیل وراثت‌پذیری از مقیاس لگاریتمی به مقیاس پایه اولیه نیز از فرمول زیر استفاده شد (25 و 34)

$$h^2_{ori} = (\exp(v/\rho) - 2) h^2_{log}$$

که v مقدار ثابت $v=0/5772$ است و ρ نیز پارامتر شکل توزیع ویبول پایه می‌باشد.

روش دیگری که برای برآورد وراثت‌پذیری بر پایه مقیاس اولیه پیشنهاد شد و به پارامترهای تابع ویبال نیز وابسته نمی‌باشد، استفاده از فرمول زیر است که به عنوان وراثت‌پذیری مؤثر نامیده شده است (35). با توجه به این که مقدار پارامتر شکل تابع بین 1 و 2 می‌باشد، اگر به

83 درصد از کل تلفات را به خود اختصاص می‌دهند، می‌توان نتیجه گرفت که بخش عمده حذف‌ها غیراختیاری بوده و عملاً توان انتخاب میش‌ها و حذف به‌خاطر کمی تولید بسیار اندک بوده است.

بایستی نوع و زمان شیوع بیماری‌ها بررسی و اقدامات پیشگیرانه و درمانی در خصوص بیماری‌ها انجام گیرد. از طرفی با توجه به این که مجموع حذف‌های غیراختیاری (بیماری، حادثه فیزیکی و پیری) حدود

جدول 1- فراوانی علل حذف میش‌ها از گله

Table 1- Frequency of the culling causes of ewe in the herd

دلیل Cause	فراوانی نسبی (درصد) Relative frequency (%)	فراوانی (حیوان) Frequency (animal)
بیماری Disease	53	399
پیری Oldness	26	196
مشکلات تولیدمثلی Reproductive problems	5.07	38
تولید پایین Low production	9.04	68
کشتار آزمایشی Experimental slaughter	5.2	19
حادثه فیزیکی Physical phenomenon	3.89	29
تیپ نامناسب Bad type	0.5	4
کل All	100	753

اوج تولید از گله حذف می‌شوند. در مطالعه وطن خواه و طالبی (32) بخش عمده‌ای از تلفات در اثر بیماری‌ها قبل از بلوغ کامل میش، به خصوص شکم دوم زایش اتفاق افتاد. این محققین بیان کردند که شاید یکی از مهم‌ترین دلایل پایین بودن عملکرد طول عمر میش‌ها در این نژاد، بالا بودن تلفات در ابتدای عمر تولیدی آنها می‌باشد. شکل 3 تابع توزیع تجمعی زنده‌مانی طول عمر میش‌ها را نشان می‌دهد. این تابع کاهش زنده‌مانی با افزایش سن میش را به صورت پلکانی نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود کاهش زنده‌مانی با افزایش سن میش‌ها یکسان نمی‌باشد. در محدوده چهار تا شش سالگی (1500 تا 2000 روزگی) میزان افت بیشتر از سایر سنین مشاهده می‌شود. در بررسی میش‌های لری بختیاری و تارگی نتایج مشابهی گزارش شد (6 و 32).

توزیع فراوانی زنده‌مانی و نسبت خطر با جزئیات بیشتر در جدول 2 آورده شده است. در ستون دوم این جدول تعداد میش‌های حذف شده در فواصل زمانی یک ساله نشان داده شده است. تعداد میش‌های حذف شده ابتدا با افزایش سن میش تا سن پنج سالگی افزایش یافته، ولی از این سن به بعد کاهش یافته به‌طوری که در هشت سالگی به کمترین مقدار خود یعنی 19 راس رسیده است. تعداد میش‌های زنده در ابتدای هر گروه سنی (اندازه مؤثر) در ستون سوم جدول نشان داده شده است. اندازه مؤثر دارای روند کاهشی بوده و از 772 رأس در ابتدا

میزان حذف میش‌ها در سنین مختلف در شکل 1 نشان داده شده است. در سن دو و سه سالگی درصد حذف کم و تقریباً مثل هم بوده، در سن چهار سالگی به اوج خود رسیده، از این سن به بعد دوباره روند کاهشی داشته به طوری که نوسانات جزئی در سن 5 تا 6 سالگی داشته و در سن 7 و 8 سالگی کاهش اتفاق افتاده است. نتایج نشان می‌دهد که اکثر میش‌ها قبل از رسیدن به سن 8 سالگی از گله حذف شده‌اند. در تحقیقی گزارش شده که میش‌های چهار ساله ماندگاری بیشتری نسبت به میش‌های جوان‌تر و پیرتر دارند (18) که با نتایج ما مغایرت دارد. نظر به این که در این مطالعه بیشترین عامل حذف میش‌ها مربوط به بیماری (53 درصد) است، شاید بتوان با تعیین سن حذف میش‌ها در اثر بیماری با اقدامات پیشگیرانه و درمانی حذف غیراختیاری را کاهش داد.

همان‌گونه که شکل 2 نشان می‌دهد بالاترین درصد حذف به‌واسطه بیماری مربوط به گروه میش‌های چهار ساله (شکم سوم زایش) بود. هر چند پس از این سن، میزان تلفات میش‌ها در اثر بیماری دارای روند نسبتاً نزولی بوده، ولی شیوع بیماری در گروه‌های سنی پنج و شش سال نیز بالا بود. بیش از نیمی از تلفات میش‌ها در سنین پیش از بلوغ کامل جسمی و پیک تولید در اثر ابتلا به بیماری‌های مختلف تلف و از گله حذف شده‌اند که باید مورد توجه قرار گیرد، زیرا بیانگر آن است که این تعداد میش قبل از رسیدن به

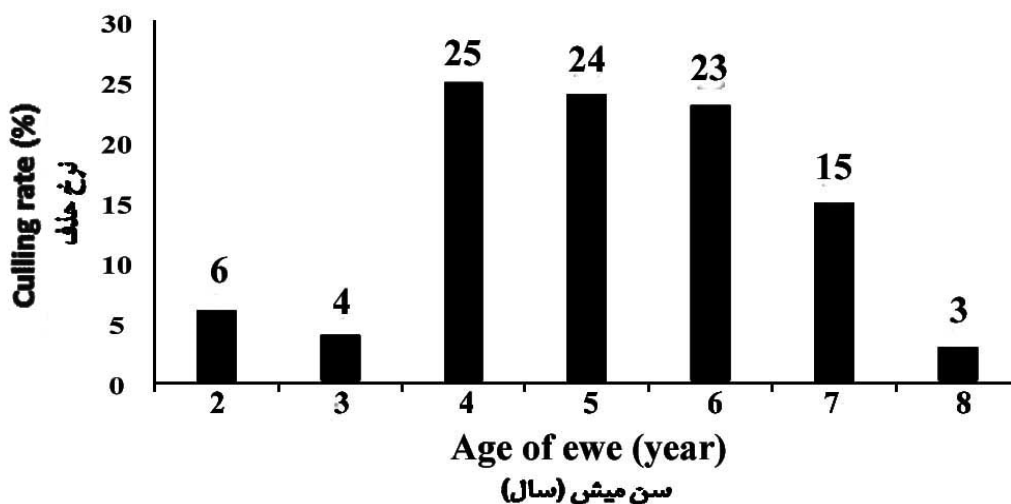
معادل 0/5 سال خواهد بود و بیانگر آن است اگر میزان خطرات در این فاصله‌ی زمانی ثابت باقی بماند، طول عمر میش فقط شش ماه خواهد بود و میش‌های زنده مانده در این گروه پس از شش ماه تلف خواهند شد.

در مطالعه وطن خواه و طالبی (32) بر روی نژاد لری بختیاری و بورگ (6) بر روی نژاد تارگی روند افزایش خطر مرگ تقریباً مشابه نتایج مطالعه حاضر است. همانگونه که مشاهده گردید تابع توزیع زنده‌مانی، جدول توزیع زنده‌مانی و نسبت خطر حاصل شده در این پژوهش به طور مفصل روند زنده‌مانی و نسبت خطر را در سنین مختلف میش بیان نمودند که می‌تواند به عنوان الگو در اختیار پرورش دهندگان این نژاد قرار گیرد.

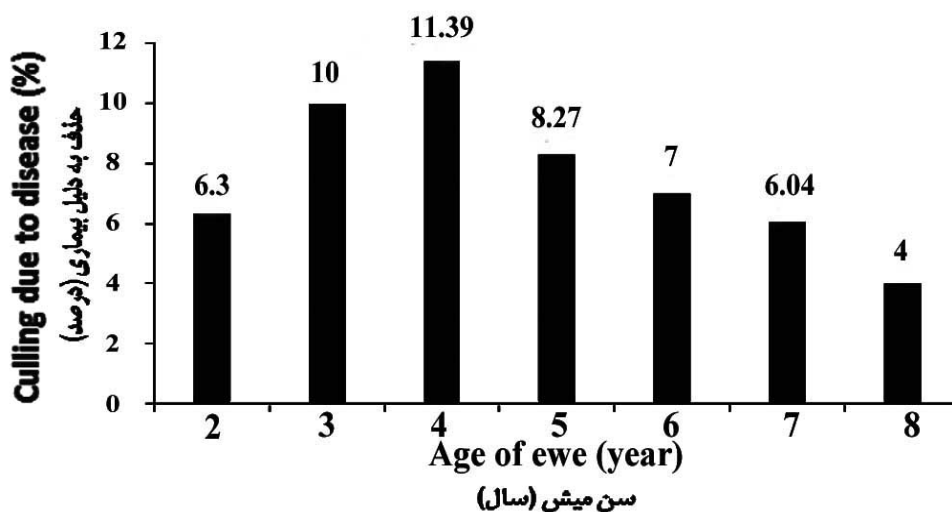
پیش‌بینی مولفه‌های واریانس و پارامترهای ژنتیکی زنده‌مانی حاصل از تجزیه با مدل‌های مختلف دارای تابع وییال در جدول 3 نشان داده شده است. مولفه واریانس ژنتیکی بین پدرها، وراثت‌پذیری در مقیاس لگاریتمی، وراثت‌پذیری در مقیاس اولیه و وراثت‌پذیری موثر حاصل از تجزیه با مدل پدری با افزایش سن گوسفندان کاهش یافته و در سن 6 و 7 سالگی به کمترین مقدار خود رسیده، در سن 8 سالگی بیشتر از 6 و 7 سالگی شده است. میزان وراثت‌پذیری حاصل شده از مدل پدری، در مقیاس لگاریتمی از کم به بالا (0/002 تا 0/081)، در مقیاس اولیه از کم به بالا (0/003 تا 0/145) و وراثت‌پذیری موثر نیز در حد کم به بالا (0/003 تا 0/132) برآورد شده است.

برای میش‌های یک ساله به 19 رأس در میش‌های هشت ساله کاهش یافته است. در ستون چهارم احتمال شرطی تلفات، که بیانگر نسبت افرادی که در هر فاصله زمانی تلف شده‌اند مشروط بر این که در ابتدای دوره زمانی زنده بوده‌اند را نشان می‌دهد. این معیار نیز با افزایش سن روند افزایشی نشان داده و در میش‌های هشت ساله به یک (100 درصد) رسیده است. میزان زنده‌مانی تجمعی برخلاف احتمال شرطی تلفات روند کاهشی نشان داده و از یک در ابتدای دوره زمانی به دو در انتهای سن هشت سالگی رسیده است. این فراسنجه نسبتی از افراد را نشان می‌دهد که در یک فاصله زمانی و بیشتر از آن زنده مانده‌اند. میزان (تابع) خطر در ستون آخر جدول 2 آورده شده است. نسبت خطر در هر فاصله زمانی در واقع بیانگر احتمال وقوع رخداد (مرگ یا حذف) در فاصله زمانی مربوطه است. این فراسنجه با افزایش سن تا چهار سالگی به‌طور یکنواخت و جزئی افزایش یافته است، ولی از سن چهار سالگی به بعد به طور فزاینده‌ای افزایش یافته، به‌گونه‌ای که در سن هفت تا هشت سالگی به دو رسیده است.

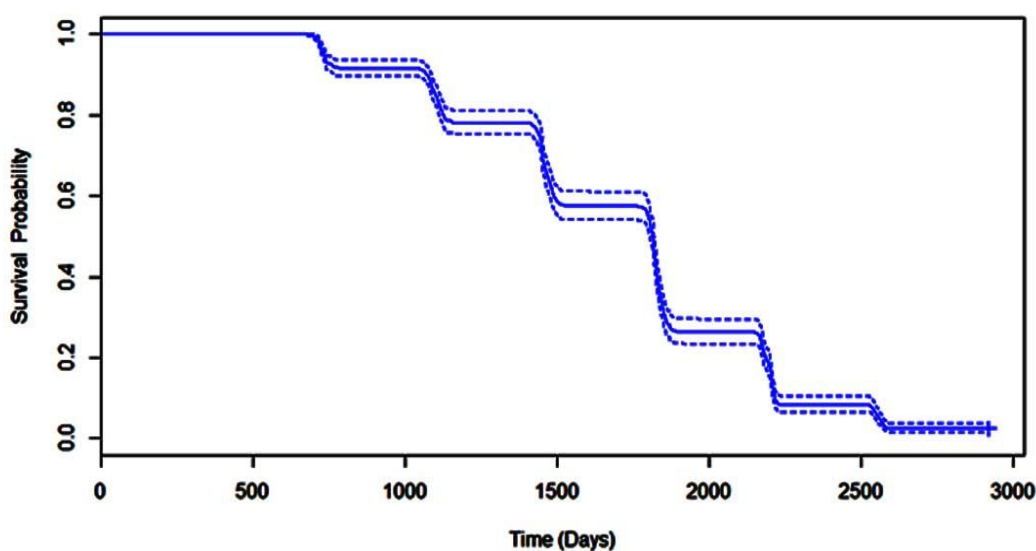
میزان خطر بالا نشان دهنده‌ی وقوع زود هنگام مرگ خواهد بود، یعنی این که طول عمر کوتاه خواهد بود. معمولاً معکوس این نسبت اطلاعات مفیدی را بیان می‌کند. زیرا معکوس این نسبت در یک فاصله زمانی خاص، مشروط بر این که میزان خطر در این فاصله زمانی ثابت باقی بماند، مدت زمانی که طول می‌کشد تا حادثه (مرگ) رخ دهد را نشان خواهد داد (32). به عنوان مثال، در فاصله زمانی سه تا چهار سال طول عمر میش برابر با معکوس 0/5298 یعنی دو سال خواهد بود. ولی، برای میش‌های هفت تا هشت ساله معکوس دو،



شکل 1- نمودار نرخ مرگ و میر گوسفندان کرمانی در خلال سال‌های مختلف عمر
Figure 1- Mortality rate at different ages of Kermani sheep



شکل 2- میزان حذف در اثر بیماری به تفکیک سن میش‌ها
Figure 2- Culling rate of ewes due to disease by age



شکل 3- نمودار تابع توزیع زنده مانگی گوسفند کرمانی از دو تا هشت سالگی
Figure 3- The survival distribution function in Kermani sheep from two to eight years' old

پیش بینی وراثت‌پذیری صفت طول عمر در این مطالعه با نتایج مطالعه نداف فهمیده و همکاران (23) در گوسفندان گیلانی (0/059-0/002)، وطن خواه (31) در گوسفندان لری بختیاری (0/01-0/08)، و نوید قوی حسین زاده و همکاران (14) در گوسفندان مغانی (0/004-0/061) همخوانی و کمتر از پژوهش رضانی و قوی حسین زاده (24) در گوسفندان مهربان (0/16-0/22) و مک کوی و همکاران (18) در میش‌های میول (0/27) پیش‌بینی گردیده است.

در بسیاری از تحقیقات انجام شده وراثت‌پذیری برآورد شده بر مبنای لگاریتمی بین 0/05 الی 0/10 و وراثت‌پذیری تغییر یافته به مبنای معمولی بین 0/18 تا 0/22 گزارش شده است (8). در بررسی‌های انجام شده در این تحقیق وراثت‌پذیری برآورد شده بر مبنای لگاریتمی در 7 سالگی با 0/002 کمترین مقدار و در 2 سالگی با 0/081 بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده اند که نسبت به نتایج دیگر کمتر برآورد گردید.

جدول 2- توزیع زنده مانی و نسبت خطر از تولد تا هشت سالگی در گوسفند کرمانی

Table 2- Distribution of relative survival and risk ratio from birth to eight years old in Kermani sheep

سن (سال) Age (year)	تعداد حذف (راس) Number of culling (animal)	اندازه موثر Effective number	احتمال شرطی حذف (درصد) Conditional culling probability (%)	زنده مانی تجمعی (درصد) Cumulative survival (%)	میزان خطر Risk ratio
0 to 2	65	772	8.42±0.67	100.0±0.00	0.1683±0.0094
2 to 3	103	707	14.14±0.86	91.58±0.23	0.2914±0.0172
3 to 4	160	604	26.49±1.00	78.23±0.78	0.5298±0.0401
4 to 5	241	444	54.28±1.28	57.51±1.29	1.0865±0.0865
5 to 6	138	203	67.98±1.80	26.29±1.53	1.3596±0.0606
6 to 7	46	65	70.76±2.29	8.42±0.89	1.4153±0.0835
7 to 8	19	19	100.0±0.00	2.46±0.14	2.0000±0.0000

جدول 3- برآورد مؤلفه‌های واریانس و پارامترهای ژنتیکی زنده مانی تجمعی با استفاده از مدل پدیری ویبال.

Table 3- Estimates of variance components and heritabilities obtained from Weibul sire model

Productive life length trait صفت طول عمر اقتصادی	واریانس پدیری σ_s^2	وراثت‌پذیری در مقیاس لگاریتمی h_{log}^2	وراثت‌پذیری در مقیاس اولیه h_{ori}^2	وراثت‌پذیری موثر h_{eff}^2
2 سالگی 2 year	0.34012	0.081	0.145	0.132
3 سالگی 3 year	0.03010	0.072	0.128	0.117
4 سالگی 4 year	0.2715	0.065	0.0116	0.106
5 سالگی 5 year	0.02424	0.058	0.103	0.095
6 سالگی 6 year	0.00104	0.003	0.005	0.004
7 سالگی 7 year	0.00073	0.002	0.003	0.003
8 سالگی 8 year	0.02679	0.064	0.114	0.104

نتیجه جهت ارتقاء و بهبود طول عمر تولیدی باید عوامل محیطی و مدیریتی نظیر تغذیه سالم، بهداشت بهبود و در مورد نوع و زمان وقوع بیماری‌ها بررسی‌های لازم انجام و پیشگیری و درمان‌های لازم صورت بگیرد و به لحاظ ژنتیکی نیز در صورت امکان به دنبال ایجاد مقاومت ژنتیکی به بیماری‌ها و شرایط نا مساعد محیطی بود. از طرفی نتیجه حاصل از مدل‌های دارای تابع ویبال بیانگر آن است که جهت ارتقاء میزان زنده مانی و طول عمر شاید علاوه بر بهبود عوامل غیرژنتیکی باید به انتخاب در داخل نژاد نیز توجه نمود. همچنین صفات دارای وراثت‌پذیری بالا که همبستگی ژنتیکی بالایی با صفات طول عمر دارند را شناسایی و انتخاب غیرمستقیم براساس آنها انجام شود.

برآورد وراثت‌پذیری بالاتر نرخ بقاء از طریق مدل حیوانی ویبال نسبت به مدل پدیری می‌تواند تا حدی به علت تعداد کمتر پدرها در مقایسه با تعداد حیوانات در آنالیز باشد، و تا حدی به علت این واقعیت است که واریانس پدیری برای فقط یک چهارم از واریانس ژنتیکی حساب شده است، در حالی که کل واریانس ژنتیکی برای مدل حیوانی حساب شده است (22، 26 و 31). هر چند برآورد وراثت‌پذیری برای صفت طول عمر کم می‌باشد، با این حال ممکن است بتوان پیشرفت ژنتیکی را با انتخاب دام‌های دارای ارزش اصلاحی بالاتر افزایش داد.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که موثرترین عامل کوتاه بودن طول عمر و کاهش نسبت زنده مانی در میش‌های نژاد کرمانی حذف در اثر بیماری، به خصوص در سنین قبل از بلوغ کامل است. در

منابع

1. Abdelqader, A., A. Al Yacoub, and M. Gauly. 2012. Factors influencing productive longevity of Awassi and Najdi ewes in intensive production systems at arid regions. *Small Ruminant Research*, 104:37-44.
2. Abdulmohammadi, A., M. Moradi-shahrbabac, S. R. Miraei Ashtiani, and M. B. Sayyadnezhad. 2004. Estimation of Genetic parameters of longevity and its relationship with production traits in Holstein cows. *Proceedings of the first Iranian congress of Animal Science*, 2932-2935. (In Persian).
3. Bahri Binabaj, F. 2014. Genetic study of survival criteria at different ages and their relationship with reproductive traits in Karakul and Baluchi sheep. Ms.c thesis, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
4. Beygi, M., M. Vatankeh, and M. Faghani. 2014. Estimation of genetic, environmental and phenotypic trends for economic lifetime of the Lori-Bakhtiari ewes. *Journal of Animal Science*, 45:273-278. (In Persian).
5. Boettcher, P. J., L. K. Jairath, and J. C. M. Dekkers. 1999. Comparison of methods for genetic evaluation of sires for survival of their daughters in the first three lactations. *Journal of Dairy Science*, 82:1034-1044.
6. Borg, R. C. 2007. Phenotypic and genetic evaluation of fitness characteristics in sheep under a range environment. PhD Thesis, Blacksburg: Virginia Polytechnic Institute and State University.
7. Brash, L. D., N. M. Fogarty, and A. R. Gilmour. 1994. Reproductive performance and genetic parameters for Australian Dorset sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*, 45:427-441.
8. Caraviello, D. Z., K. A. Weigel, and D. Gianola. 2004. Comparison between a Weibull proportional hazards model and a liner model for predicting the genetic merit of US Jersey sires for daughter longevity. *Journal of Dairy Science*, 87(10):3518-3525.
9. Conington, J. S., C. Bishop, A. Waterhouse, and G. Simm. 2004. A bioeconomic approach to derive economic values for pasture-based sheep genetic improvement programs. *Journal of Animal Science Research*, 82(5):1290-1304.
10. Dadar, M., F. Eftekharsahrudi, and SH. Moshref. 2007. Investigation of the factors affecting the birth weight, weaning and the pregnancy period of Golpayegani cattle. *Proceedings of the second Iranian congress on Animal and Aquatic Sciences*. 1674-1677. (In Persian).
11. Dastaniyan Khalejzadeh, S., M. Sayyadnejad. 2011. Genetic and phenotypic traits of longevity in Holstein cows in Iran. *The first national conference modern topics in agriculture*. (In Persian).
12. Ducrocq, V. R., L. Quaas, E. J. Pollak, and G. Casella. 1988. Length of productive life of dairy cows. 2. Variance component estimation and sire evaluation. *Journal of Dairy Science*, 71(11):3071-3079.
13. Getachew, T., S. Gizaw, M. Wurzinger., A. Haile., B. Rischkowsky., A. M. Okeyo., J. Silkner, and G. Meszaros. 2015. Survival analysis of genetic and non-genetic factors influencing ewe longevity and lamb survival of Ethiopian sheep breeds. *Livestock Science*, 176:22-32.
14. Ghavi Hosseini-Zadeh, N., R. Noori, and A. A. Shadparvar. 2018. Genetic analysis of longevity and lamb survival from birth to yearling in Moghani sheep. *Journal of Applied Animal Research*, 46:1363-1369. (In Persian).
15. Kaplan, E. L., and P. Meier. 1958. Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American statistical association*, 53:457-481.
16. Khodabakhshzadeh, R., M. R. Mohammadabadi, A. Esmailzadeh Koshkoie, H. Moradi-Shahrebabak, F. Bordbar, and S. Ansari Namin. 2016. Identification of point mutations in exon 2 of GDF9 gene in Kermani sheep. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19(2):281-289.
17. Matos, C. A., C. Ritter, D. Gianola, and D. L. Thomas. 1993. Bayesian analysis of lamb survival using Monte Carlo numerical integration with importance sampling. *Journal of Animal Science Research*, 71(8):2047-2054.
18. Mekki, W. R., R. M. Roehe, M. Lewis, H. Davies, L. Bünger, G. Simm, and W. Haresign. 2009. Genetic relationship between longevity and objectively or subjectively assessed performance traits in sheep using linear censored models. *Journal of Animal Science Research*, 87(11):3482-3489.
19. Mohammadabadi, M. R. 2017. Role of *Clostridium perfringens* in pathogenicity of some domestic animals. *Journal of Advances in Agriculture*, 7(3):1117-1121.
20. Mohammadabadi, M. R., and R. Sattayimokhtari. 2013. Estimation of (co)variance components of ewe productivity traits in Kermani sheep. *Slovak Journal of Animal Science*, 46:45-51.
21. Mohammadabadi, M. R., E. Esfandiyarpoor, and A. Mousapour. 2017. Using inter simple sequence repeat multi-loci markers for studying genetic diversity in Kermani Sheep. *Journal of Research and Development*, 5:154-157.
22. Mohammadinejad, F., M. Mohammadabadi, A. Barazandeh, M. Asadi Fozzi. 2017. Estimating genetic parameters of kid survival in Raini Cashmere goat using linear and Weibul models. *Iranian Journal of Animal Science*, 48:297-304. (In Persian).
23. Nadaf Fahmideh, M., N. Ghavi Hosseini-Zadeh, and M. Golshani. 2017. Study of genetic relationship between longevity and body weights in Guilan province native sheep. *Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*. 30(115):93-102. (In Persian).

24. Ramezani, S., and N. Ghavi Hossein-Zadeh. 2017. Genetic and non-genetic factors affecting longevity of Mehraban sheep. *Research Animal Production*, 8(17):157–165. (In Persian).
25. Saghi, R., A. Aslami Nezhad, D. A. Saghi, and M. M. Shariati. 2016. Investigating factors affecting economic lifetime traits in Kurdi sheep. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 7:478–485. (In Persian).
26. Schneider, M. del. P., E. Strandberg, V. Ducrocq, and A. Roth. 2005. Survival analysis applied to genetic evaluation for female fertility in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 88:2253–2259.
27. Shairy, S. A., M. Tahmorespour, and M. M. Shariati. (2015). Estimation of genetic and environmental parameters of growth traits and percentage of deaths and livestock in Karakul lambs. *Iranian Journal of Animal Science*, 34(3-4), 13-33. (In Persian).
28. Simmons, P., and C. Ekarius. 2009. *Storey's guide to raising sheep*: North Adams, MA: Storey Publishing LLC.
29. Therneau, T. M. and Lumley, T. 2017. *Survival: Survival analysis*. R package version 2.42.3 <https://github.com/therneau/survival>.
30. Vajed Ebrahimi, M. T., M. R. Mohammad Abadi, and A. Esmailzadeh Koshkoieh. 2016. Analysis of genetic diversity in five Iranian sheep population using microsatellites markers. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 7:143-158.
31. Vatankhah, M. 2013. Estimation of the genetic parameters for survival rate in Lori-Bakhtiari lambs using linear and Weibull proportional hazard models. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15:1133-1143.
32. Vatankhah, M., and M. A. Talebi. 2014. The study of the causes of culling and survival distribution function in Lori-Bakhtiari ewes. *Journal of Ruminant Research*, 2:145-156. (In Persian).
33. Vukasinovic, N., J. Moll, and L. Casanova. 2001. Implementation of a routine genetic evaluation for longevity based on survival analysis techniques in dairy cattle populations in Switzerland. *Journal of Dairy Science*, 84:2073-2080.
34. Wang, T., Fernando, R. L. and Kachman, S. D. 2002. *Matvec User's Guide*. Version 1.03. Available: <http://statistics.unl.edu/faculty/steve/software/matvec/>.
35. Yazdi, M. H., Visscher, P. M., Ducrocq, V. and Thompson, R. 2002. Heritability, reliability of genetic evaluations and response to selection in proportional hazard models. *Journal of Dairy Science*, 85:1563-1577.
36. Zamani, P., M. Akhondi, and M. R. Mohammadabadi. 2015. Associations of Inter-Simple Sequence Repeat loci with predicted breeding values of body weight in sheep. *Small Ruminant Research*, 132:123-127.



Study of variations, prediction of variance components and genetic parameters of survival distribution function in Kermani ewes

Kord M.¹, Mohammadabadi M.R.^{2*}, Esmailizadeh Koshkoieh A.², Barazandeh A.³

Received: 23-05-2018

Accepted: 05-01-2019

Introduction: The Kermani sheep breed is one of the most important native breeds in Iran. It is well adapted to the harsh and undesirable environmental conditions of the southeastern part of the country. Therefore, consideration to the breeding of Kermani sheep and the improvement of the environmental and genetic conditions of this breed can contribute greatly to providing a part of the livelihood needs of the people. The longevity in the ewe is a high economic trait, because increasing the longevity will lead to a reduction in the culling rate as well as replacement costs in the herd and increasing of number of lambs. Considering that the investigation and identification of the important factors influence culling of ewes from the herd, which leads to a decrease in the yield and longevity of the animal, can be used to provide and develop a suitable strategy to promote the survival and longevity of the ewes. In addition, due to the absence of genetic parameters of production life length in Kermani sheep, the aim of this study was to study changes, prediction of components of variance and genetic parameters of survival distribution function in Kermani ewes.

Materials and Methods: In this research, longevity records of 772 heads of Kermani ewes (collected from 1989 to 2008) at the Kermani sheep station (Shahr Babak, Kerman province) were studied. The overall production life length was equal to the time between births to ewe culling. Frequency distribution for causes of culling and survival distribution function for ewes were estimated using R software. The Weibull model and Matvec software were also used for estimating variance component and genetic parameters of longevity traits as survival.

Results and Discussion: The results showed that the mean of ewe's longevity was 4.72 years with average lambing of 3.4 in life time. The most important cause of culling was disease (53%), especially in the first three parity of the ewe. After disease, oldness, reproductive problems, low production, physical phenomenon, experimental slaughter, selling additional ewes and bad type (0.5%) are the accounted causes for remaining ewe culling, respectively. Considering that culling due to disease accounts for more than half of the deaths, prevention and treatment of diseases are important in this breed. Therefore, the type and timing of the prevalence should be investigated and preventive and therapeutic proceeding should be taken for diseases. The total amount of non-optional culling (illness, physical incidence, and aging) was about 83% of total casualties. It can be concluded that the deletion due to the low production was very small. At the age of two and three, the mortality rate was low, reaching its peak at the age of four, has declined since this age, with partial fluctuations between the ages of 5 and 6, and at the age of 7 and 8 years decline have happened. Therefore, most ewes were culled from the herd before reaching the age of 8. Most culling has occurred in pre-maturity ages, so it should be taken into consideration because it indicates that the ewes were eliminated before they reach the peak of production.

The conditional culling probability increases with age, while cumulative survival rate decreased with age of ewe. The hazard ratio of death increased with age up to 6 years of old steadily and then increased strongly, and reached two at 7 to 8 years of old. The high hazard ratio indicated an early death or short longevity. Normally, inverse of this ratio expresses useful information. The reversal of this ratio at a certain time interval, provided that the hazard level remains constant at this interval, will indicate the time it takes to occur (death). For example, at a time interval of 3 to 4 years, the ewe's longevity will be equal to a reversal of 0.5298, equivalent to two years. But, for 7 to 8 years old, the reciprocal of two will be 0.5 years that indicating if the dangers remain constant at this interval, the ewe's life will be only 6 months, and ewes remaining in this group will be lost after 6 months. Trend of survival and hazard ratio at different ages of ewes can be provided as a model to breeders of this breed. Heritability on the logarithmic scale, the original scale and effective heritability of the risk ratio obtained from the

1- MSc Student, Department of Animal Science, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

2- Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Animal Science, University of Jiroft, Jiroft, Iran.

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

DOI:10.22067/ijasr.v11i4.72943

sire model with the Weibull function was predicted at low to high (0.002-0.145). Although heritability estimates for longevity are low, but genetic improvement may be increased by selecting animals with higher inbreeding values.

Conclusion: The results of this study showed that the most effective factor in shortening the longevity and decreasing survival in Kermani ewes is culling due to disease, especially in pre-maturity. Therefore, in order to improve the longevity, necessary studies and necessary preventive should be taken regarding the type and timing of the disease. Genetically, if possible, it would seek to create genetic resistance to diseases and environmental conditions. On the other hand, the results of models with the Weibull function indicate that in order to improve the survival rate and longevity, in addition to improving the non-genetic factors, the selection should be considered within the breed. Also, high heritability traits with high genetic correlation with longevity traits are identified and indirect selection be done based on them.

Keywords: Cause of culling, Economic life length, Kermani ewe.



آنالیز ساختاری آنزیم آسپاراتات کیناز در کورینه باکتریوم به منظور پیشنهاد بهترین ساختار آنزیم جهت افزایش تولید صنعتی اسید آمینه لیزین

مرتضی هاشمی عطار¹، محمدرضا نصیری^{2*}، علی جوادمنش³ و بهار نیری فسائی⁴

تاریخ دریافت: 1397/12/26

تاریخ پذیرش: 1398/03/21

چکیده

آنزیم آسپاراتات کیناز یکی از آنزیم‌های کلیدی و حساس در متابولیسم تولید لیزین در طیف وسیعی از جانوران بخصوص گونه‌های مختلف میکروارگانیسم کورینه باکتریوم می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی بیوانفورماتیکی آنزیم آسپاراتات کیناز در گونه‌های مختلف کورینه باکتریوم توسط پایگاه‌های معتبر می‌باشد تا بهترین ساختار بیوانفورماتیکی آنزیم آسپاراتات کیناز به منظور استفاده برای تولید لیزین در مقیاس صنعتی پیشنهاد شود. ویژگی‌های تکاملی، فیزیولوژیکی و فیزیوشیمیایی آنزیم آسپاراتات کیناز در 33 گونه مختلف کورینه باکتریوم توسط پایگاه‌ها و نرم افزارهای ProtScale، MEGA 6.6 و ProtParam مورد بررسی قرار گرفت. سپس ساختار سه بعدی پروتئین‌های مذکور به روش هومولوژی و با استفاده از سرور Swiss-Model مدل سازی شد و ارزیابی کیفیت مدل‌های بدست آمده پس از بهینه سازی انرژی با استفاده از ابزار Rampage صورت گرفت. نتایج تجزیه و تحلیل درخت تکاملی نشان دادند که زمان اشتقاق پروتئین آسپاراتات کیناز در 33 گونه کورینه باکتریوم مورد مطالعه، بسیار بهم نزدیک می‌باشد. نتایج بررسی پایگاه‌های ProtScale و ProtParam نشان داد که آنزیم آسپاراتات کیناز در گونه کورینه باکتریوم گلوتامیکوم با شماره دستیابی CA000530.1 و SJM57548.1 دارای بهترین خواص فیزیوشیمیایی و بیشترین پایداری می‌باشند. سپس با بررسی‌های بیشتر توسط سرور Swiss-Model و ابزار Rampage مشخص شد که دو پروتئین CA000530.1 و SJM57548.1 دارای بهترین ساختار سه بعدی می‌باشند. از نتایج آنالیز *in silico* به دست آمده می‌توان چنین استنباط نمود که احتمالاً آنزیم آسپاراتات کیناز با شماره‌های دستیابی بالا دارای بهترین خواص فیزیوشیمیایی، بیشترین پایداری و همچنین بهترین ساختار سه بعدی نسبت به دیگر پروتئین‌های مورد بررسی در این مطالعه بود. این یافته‌ها می‌تواند برای بهترین نوع آنزیم آسپاراتات کیناز به منظور تولید نو ترکیب در شرایط آزمایشگاهی مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: آسپاراتات کیناز، بیوانفورماتیک، کورینه باکتریوم، لیزین

مقدمه

افزودن منابع حیوانی و یا مکمل اسید آمینه لیزین انجام شود (6). یکی از منابع غنی از این اسید آمینه‌های ضروری میکروارگانیسم کورینه باکتریوم گلوتامیکوم است که به‌طور گسترده‌ای برای تولید اسیدهای آمینه مثل آل گلوتامات و آل لیزین به کار برده می‌شود (15). این باکتری گرم مثبت، غیر اسپورزا، میله‌ای شکل با انتهای متورم شده و هوازی است (6). مقدار لیزین قابل تولید در انواع وحشی (طبیعی) کورینه باکتریوم گلوتامیکوم بسیار کم است و نمی‌توان با کشت و تکثیر آن‌ها اسید آمینه مورد نیاز بازار را در مقیاس صنعتی و مقرون به صرفه تولید کرد (6). بنابراین تحقیقات زیادی برای اصلاح کردن ژنتیکی این میکروارگانیسم انجام شده است که در راستای بدست آوردن سویه‌های جدید با توان تولید بالای آل لیزین می‌باشد (15).

دستیابی به تکنولوژی‌های جدید همچون ابزارهای بیوانفورماتیک

لیزین یکی از اسیدهای آمینه ضروری می‌باشد که توسط انسان و دیگر پستانداران ساخته نمی‌شود و باید از طریق رژیم غذایی تامین شود (17). از آن جایی که غلات و سبزیجات موجود در رژیم غذایی لیزین کمی دارند، بنابراین برای افزایش ارزش مواد غذایی و غذای حیواناتی که از منابع گیاهی تغذیه می‌کنند، بایستی غنی سازی با

1- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

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

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

4- دانشیار گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

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

DOI:10.22067/ijasr.v11i4.79758

بررسی فواصل و شباهت های ژنتیکی: به منظور بررسی

تکاملی پروتئین آسپارات کیناز در 33 گونه کورینه باکتریوم، درخت فیلوژنتیکی به روش Neighbor Joining (14) و با استفاده از نرم افزار MEGA 6 (16) ساخته شد و بررسی بوت استرپ با 1000 تکرار به منظور به دست آمدن حدود اطمینان برای شاخه ها نیز انجام گردید (4). روابط فیلوژنتیکی در شکل شماره 1 آورده شده است و همچنین بررسی های هم ردیف سازی چندگانه و بررسی شباهت های ژنتیکی با توجه به توالی های پروتئینی 33 گونه مورد بررسی توسط نرم افزار (CLC Sequence Viewer 8.0) در شکل شماره دو مورد بررسی قرار گرفت.

پیش بینی خواص فیزیکیوشیمیایی: جهت پیش بینی ویژگی

های فیزیکیوشیمیایی پروتئین آسپارات کیناز شامل وزن مولکولی، نقطه ایزوالکتریک نظری (theoretical isoelectric point)، شاخص ناپایداری (Guruprasad et al 1990)، شاخص آلفاتیک (7) و گراویتهی پروتئین از سرور Protscal به آدرس (<http://web.expasy.org/protscale>) و سرور ProtParam به آدرس (<http://web.expasy.org/protparam>) استفاده شد (5). با توجه به این که آنزیم های آسپارات کیناز در گونه کورینه باکتریوم گلوتامیکوم با شماره دستیابی CA00530.1 و SJM57548.1 دارای بالاترین شاخص آلفاتیک و همچنین کمترین شاخص ناپایداری بودند، لذا برای آنالیزهای بعدی انتخاب شدند.

پیش بینی ساختار دوم: برای پیش بینی ساختار دوم دو پروتئین

انتخاب شده از سرور Pspred (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred>) استفاده شد (7). برای این منظور توالی های پروتئینی آسپارات کیناز در گونه کورینه باکتریوم گلوتامیکوم با شماره های دستیابی CA00530.1 و SJM57548.1 به سرور Pspred وارد شد و ساختار دوم آن ها ترسیم شد (شکل های 3 و 4).

مدل سازی و پیش بینی ساختار سه بعدی پروتئین: ساختار

سه بعدی آنزیم آسپارات کیناز توسط سرور Swiss model به آدرس (<https://swissmodel.expasy.org/>) مدل سازی شد (4). سپس کیفیت دو مدل پیش بینی شده توسط سرور Rampage به آدرس

(http://mordred.bioc.cam.ac.uk/~rapper/rampa_ge2.php) مورد ارزیابی قرار گرفت (5) که ساختار سه بعدی پروتئین ها در تصویر شماره پنج نشان داده شده است. در مرحله بعد نمودار رامچاندرا به منظور به تصویر کشیدن زوایای پیوندی از نظر سطح انرژی و پایداری جهت محاسبه کانفورمرهای پایدار پروتئین ترسیم گردید (8).

زمینه پیشرفت سریع مطالعات را فراهم نموده است، این ابزارها جهت حل مسائل پیچیده و نتیجه گیری منطقی مورد استفاده قرار میگیرند. امروزه ابزارهای بیوانفورماتیکی متعددی به صورت دسترسی آزاد و آنلاین توسط پایگاه داده ها و نرم افزارهای تحت وب در اختیار محققان قرار گرفته است که با استفاده از این ابزارها میتوان در کمترین زمان و هزینه بر اساس نوع هدف پیشرو به نتایج معتبر دست یافت با توجه به انجام هزینه های بالای آزمایشگاهی، استفاده از روشهای بیوانفورماتیک در بدست آوردن نتیجه نهایی حائز اهمیت خواهد بود (19).

آنزیم آسپارات کیناز (EC 2.7.2.4) با فسفریلاسیون آمینواسید آسپارات اولین مرحله در بیوسنتز آمینو اسیدهای خانواده آسپارات را که شامل لیزین، ترهئونین، ایزولوسین، و متیونین می باشد را انجام می دهد (12). آمینواسید لیزین یکی از اولین محصول های آنزیم آسپارات کیناز می باشد که با افزایش بیان آن از طریق مکانیسم فیدبک منفی سبب کاهش فعالیت آنزیم آسپارات کیناز (EC 2.7.2.4) می شود (12) رستگاری و همکاران در سال 2013 طی تحقیقی در مورد یکی از ژنهای موثر در چرخه اصلی بیوسنتز لیزین اعلام نمودند که افزایش بیان ژن *lysc* که کد کننده آنزیم آسپارات کیناز در کورینه باکتریوم گلوتامیکوم افزایش 2 برابری تولید ال لیزین می گردد (13)، پلاچیز و همکاران در سال 2003 در مطالعه ای که بر روی آنزیم موثر در تولید لیزین داشتند، مشخص گردید که بیان بالای آسپارات کیناز که آنزیم اصلی و موثر در چرخه اصلی تولید لیزین در کورینه باکتریوم گلوتامیکوم می باشند، باعث افزایش 250 درصدی تولید لیزین گردید (10). بکرو همکاران در سال 2005 طی تحقیقی اعلام نمودند با استفاده از کورینه باکتریوم گلوتامیکوم جهش یافته (*lysc^{CT311}*) در ژن *lysc* که کد کننده آنزیم آسپارات کیناز می باشد، استفاده از دو پروموتور جدا گانه جهت تولید آنزیم فروکتوز 6 فسفات با نام های *P_{EFTU} fbp* و *P_{sod} fbp* به ترتیب باعث افزایش فعالیت آنزیمی 150 و 75 درصدی و همچنین افزایش 40 درصدی تولید ال لیزین گردیده است (1).

هدف از این تحقیق بررسی بیوانفورماتیکی ساختار آنزیم آسپارات کیناز در 33 گونه مختلف کورینه باکتریوم می باشد تا بهترین ساختار بیوانفورماتیکی آنزیم آسپارات کیناز به منظور استفاده از آن برای تولید لیزین در مقیاس صنعتی معرفی و پیشنهاد شود.

مواد و روش ها

بدست آوردن توالی های پروتئینی: توالی آمینواسیدی آنزیم

آسپارات کیناز از 33 گونه کورینه باکتریوم از پایگاه NCBI به آدرس (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein>) دانلود شده و به فرمت FASTA ذخیره گردید (جدول 1).

جدول 1 - نام علمی و شماره دستیابی 33 گونه کورینه باکتریوم در پایگاه داده NCBI

Table 1- Scientific name and accession number of 33 species of *Corynebacterium* from the NCBI database

نام علمی	شماره دستیابی
Scientific name	Accession number
[<i>Corynebacterium Simulans</i>]	AM091582.1
[<i>Corynebacterium diphtheriae</i>]	CAE48781.1
[<i>Corynebacterium pelargi</i>]	QAU53330.1
[<i>Corynebacterium geronticis</i>]	AZA12319.1
[<i>Corynebacterium maeruchotii</i>]	SPW24280.1
[<i>Corynebacterium provencense</i>]	AWT25259.1
(<i>Corynebacterium</i> sp. KPL1996)	ERS43361.1
[<i>Corynebacterium</i> sp. KPL2004]	ERS76247.1
[<i>Corynebacterium</i> sp. KPL1859]	ERS78921.1
[<i>Corynebacterium ulcerans</i> NCTC 12077]	ESU59341.1
[<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i> 090104]	ERJ43463.1
[<i>Corynebacterium marinum</i> DSM 44953]	AJK67843.1
<i>Corynebacterium</i> sp. KPL1998]	ERS74544.1
[<i>Corynebacterium lactis</i> RW2-5]	ALA66521.1
[<i>Corynebacterium deserti</i> GIMN1.010]	ALC04747.1
[<i>Corynebacterium efficiens</i> YS-314]	BAC17030.1
[<i>Corynebacterium glutamicum</i>]	BAV22049.1
[<i>Corynebacterium glutamicum</i>]	CAO00530.1
[<i>Corynebacterium flavescens</i>]	AAA23293.1
[<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> 258]	AFK15829.2
[<i>Corynebacterium argentoratense</i> DSM 44202]	AGU14304.1
[<i>Corynebacterium oculi</i>]	KQB84521.1
[<i>Corynebacterium</i> sp. KPL1989]	ERS73502.1
[<i>Corynebacterium</i> sp. KPL1814]	ERS63333.1
[<i>Corynebacterium</i> sp. KPL1818]	ERS61024.1
[<i>Corynebacterium</i> sp. KPL1824]	ERS55010.1
[<i>Corynebacterium</i> sp. KPL1855]	ERS51758.1
[<i>Corynebacterium glutamicum</i> ATCC 13032]	CAF18822.1
[<i>Corynebacterium glutamicum</i>]	SJM57548.1
[<i>Corynebacterium</i> sp.jB4]	SLM93573.1
[<i>Corynebacterium glaucum</i>]	AQQ14140.1
[<i>Corynebacterium jeikeium</i>]	SCX24992.1
[<i>Corynebacterium striatum</i>]	CQD06071.1

نتایج و بحث

بررسی فواصل و شباهت های ژنتیکی

به منظور بررسی رابطه فیلوژنتیکی و تکاملی پروتئین آسپارات کیناز در کورینه باکتریوم های مورد مطالعه، نمودار درختی با استفاده از 33 توالی هم ردیف شده آمینواسیدهای مربوط به آن ها توسط نرم افزار MEGA 6 رسم گردید (شکل 1).

نتایج این آزمون و جدول درصد تشابه ژنتیکی (شکل 2) خصوصاً در مورد سه گونه انتخاب شده CAO00530.1 و SJM57548.1 و CAF18822.1 که مناسب ترین خواص فیزیکی شیمیایی را در بین 33 گونه انتخاب شده دارند، نشان داد که زمان اشتقاق پروتئین آسپارات کیناز در 33 گونه کورینه باکتریوم مورد مطالعه، بسیار بهم نزدیک می باشد.

نتیجه بررسی مقایسه روند تکاملی پروتئین آسپارات کیناز در

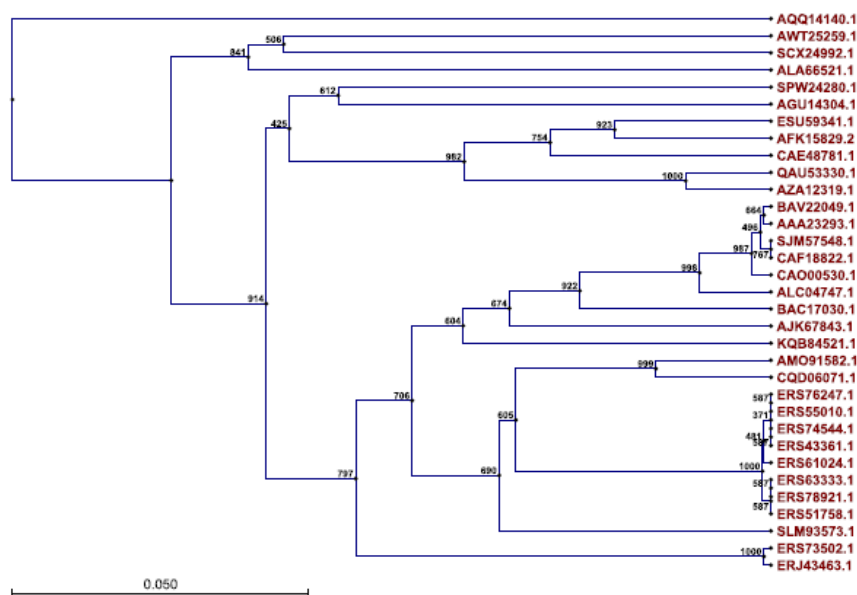
درخت فیلوژنی و جدول درصد تشابه ها به این معنی است که بررسی تفاوت تک نوکلئوتیدها در خصوصیات فیزیکی شیمیایی پروتئین ها در گونه هایی که توالی تکاملی شبیه و نزدیک به هم دارند برای بدست آوردن بهترین ساختار پروتئینی حائز اهمیت خواهد بود.

بررسی بیوانفورماتیکی خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیکی شیمیایی آنزیم آسپارات کیناز در 33 گونه مختلف، به دست آمده با استفاده از برنامه ProtParam نشان داد که وزن مولکولی محاسبه شده بین 44/56 تا 45/62 کیلودالتون متغیر هست.

از عواملی که بر روی ثابت انحلال پروتئین ها نقش دارد pH می باشد، حلالیت در pH ایزو الکتریک کمترین است چون بار خالص صفر است، با تغییر pH قابلیت انحلال آنها سریعاً افزایش می یابد چون از نقطه ایزوالکتریک دور می شوند، نقطه ایزو الکتریک pH ای است که در آن یک آمینو اسید و یا پروتئین بار خود را از دست می دهد لذا در میدان الکتریکی با جریان مستقیم قادر به حرکت

از کروماتوگرافی تبادل یونی و الکتروفورز ایزو الکتریک فوکوسینگ بسیار مفید باشد (3).

نمی‌باشد بررسی نقطه ایزو الکتریک یک پروتئین می‌تواند برای انتخاب و بهینه‌سازی روش‌های مورد استفاده برای خالص سازی پروتئین اعم



شکل 1- درخت فیلوژنتیکی پروتئین آسپارتات کیناز در 33 گونه کورینه باکتریوم مورد مطالعه.

Figure 1- Phylogenetic tree for Aspartat kinases protein in 33 Corynebacterium species

بسیار بالای این سه گونه کورینه باکتریوم می‌باشد. در واقع طی بررسی صورت گرفته از مطالعات گذشته (3 و 7) نشان می‌دهد که بررسی شاخص الیفاتیک و شاخص ناپایداری ضمن موثر بودن اینکه هریک از شاخص‌ها در بین گونه‌های مورد مقایسه به ترتیب در بالاترین و پائین ترین مقدار مورد نظر باشند مناسب تر است و به تنهایی دارای اهمیت می‌باشند ولی بررسی اختلاف بین شاخص ناپایداری و شاخص الیفاتیک ($\text{Difference} = \text{AI} - \text{II}$) در این خصوص نیز حائز اهمیت می‌باشد که هرچه بیشتر باشد پروتئین پایدارتر خواهد بود.

در این تحقیق اختلاف بین شاخص ناپایداری و شاخص الیفاتیک CAO00530.1 برای سه آنزیم ($\text{Difference} = \text{AI} - \text{II}$) SJM57548.1 و CAF18822.1 به ترتیب 73/37، 73/19 و 72/61 می‌باشد (جدول 2) که نسبت به سایر گونه‌های مورد بررسی در این تحقیق بالاتر می‌باشند.

با توجه به گزارش کریش ندو و همکاران (2017) در بررسی شاخص‌های مورد مطالعه برای پایداری پروتئین گونه کورینه باکتریوم گلوتامیکوم، با نتایج بدست آمده در این تحقیق همخوانی دارد (11).

نقطه ایزوالکتریک پیش بینی شده برای پروتئین‌های مختلف آسپارتات کیناز بین 4/08 تا 5/11 می‌باشد. شاخص بعدی مورد ارزیابی شاخص آلیفاتیک بود (Aliphatic Index-AI) این شاخص در واقع عبارتست از حجم نسبی پروتئین که با زنجیره‌های اسیدآمینه‌ای آلیفاتیک اشغال شده اند (آلانین، ایزولوسین، لوسین و وال-سین) که به عنوان یک عامل مهم به منظور برآورد مقاومت پروتئین‌ها در برابر حرارت می‌باشد (7). این شاخص پیش‌بینی شده برای پروتئین‌های مختلف مورد بررسی آسپارتات کیناز بین 89/11 تا 99/35 می‌باشد. طبق این شاخص، پروتئین آسپارتات کیناز با مشخصات CAO00530.1 دارای بالاترین شاخص آلیفاتیک و مقاومت در برابر حرارت می‌باشد. CAF18822.1 مربوط به باکتری کورینه باکتریوم گلوتامیکوم می‌باشد (جدول 2).

شاخص بعدی مورد بررسی شاخص ناپایداری می‌باشد که هر چقدر کمتر از 40 باشد به معنای پایدار بودن پروتئین هست (3 و 7). این شاخص با استفاده از سرور ProtParam محاسبه شده و برای گونه‌های مورد بررسی در محدوده 25/34 تا 37/22 می‌باشد که با توجه به این که محدوده مشخص شده کمتر از 40 می‌باشد، آنزیم مذکور پایدار می‌باشد (7). آنزیم‌های CAF18822.1 و CAO00530.1 و SJM57548.1 شاخص ناپایداری آن‌ها به ترتیب 25/95 و 25/98 و 26/38 می‌باشد که نشان دهنده پایداری

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
AA02203.1	1	98.76																															
BAV22059.1	2	98.52	99.76																														
CAT18822.1	3	99.52	99.76	99.85																													
SLM7548.1	4	99.52	99.76	99.85																													
CAO0530.1	5	99.05	99.29	99.52	99.52																												
ALC07672.1	6	97.36	97.62	97.66	97.86	93.36																											
BAC17020.1	7	93.46	93.69	93.33	93.46	94.16																											
AK07763.1	8	91.45	91.69	91.32	91.45	91.69	90.89	90.50																									
SLM08731.1	9	90.50	90.74	90.74	90.74	90.74	90.50	90.49	90.50																								
KOB04521.1	10	90.74	90.74	90.74	90.74	90.74	90.50	90.74	90.50	90.74																							
ERS02361.1	11	88.60	88.84	88.60	88.60	88.36	89.31	87.38	89.39	91.45	88.36																						
ERS78921.1	12	88.36	88.60	88.36	88.36	88.12	89.07	87.15	89.35	91.45	88.36	100.00	99.76																				
ERS74544.1	13	88.60	88.84	88.60	88.60	88.36	89.31	87.38	89.39	91.45	88.36	100.00	99.76	100.00																			
ERS05010.1	14	88.60	88.84	88.60	88.60	88.36	89.31	87.38	89.39	91.45	88.36	100.00	99.76	100.00	100.00																		
ERS03331.1	15	88.36	88.60	88.36	88.36	88.12	89.07	87.15	89.35	91.45	88.36	100.00	99.76	100.00	100.00	100.00																	
ERS07878.1	16	88.36	88.60	88.36	88.36	88.12	89.07	87.15	89.35	91.45	88.36	100.00	99.76	100.00	100.00	100.00	100.00																
ERS02671.1	17	88.60	88.84	88.60	88.60	88.36	89.31	87.38	89.39	91.45	88.36	100.00	99.76	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00															
ERS01024.1	18	88.60	88.84	88.60	88.60	88.36	89.31	87.38	89.39	91.45	88.36	100.00	99.76	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00														
ERS01024.1	19	88.60	88.84	88.60	88.60	88.36	89.31	87.38	89.39	91.45	88.36	100.00	99.76	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00													
ERS01024.1	20	88.60	88.84	88.60	88.60	88.36	89.31	87.38	89.39	91.45	88.36	100.00	99.76	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00												
ERS01024.1	21	88.22	88.46	88.46	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	
ERS01024.1	22	88.22	88.46	88.46	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	
ERS01024.1	23	88.22	88.46	88.46	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	
ERS01024.1	24	88.22	88.46	88.46	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	
ERS01024.1	25	88.22	88.46	88.46	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	
ERS01024.1	26	88.22	88.46	88.46	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	
ERS01024.1	27	88.22	88.46	88.46	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	
ERS01024.1	28	88.22	88.46	88.46	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	
ERS01024.1	29	88.22	88.46	88.46	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	
ERS01024.1	30	88.22	88.46	88.46	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	
ERS01024.1	31	88.22	88.46	88.46	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	
ERS01024.1	32	88.22	88.46	88.46	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	
ERS01024.1	33	88.22	88.46	88.46	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	88.46	88.22	

1- PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
(*-Corresponding Author Email: nassiryf@um.ac.ir)

DOI:10.22067/ijagr.v1i14.79758

Figure 2- The genetic similarity (below the diagonal) and differences (above the diagonal) percentages in 33 studied *Corynebacterium* species

شکل ۲ - درصدهای تشابه (پایین قطر) و تفاوت ژنتیکی (بالای قطر) در ۳۳ گونه کورینه باکتریوم مورد بررسی

جدول 2- تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی آسپارات کینازهای مختلف توسط سرورهای ProtScale و ProtParam

Table 2- Determination of physicochemical properties of Aspartate kinase proteins by ProtScale and ProtParam servers

شماره دستیابی	وزن مولکولی	pH ایزوالکتریک	شاخص ناپایداری	شاخص آلیفاتیک	اختلاف شاخص های ناپایداری و آلیفاتیک	گرایی
Accession number	Molecular weight	Isoelectric point	Instability index	Aliphatic index	Difference of aliphatic index and instability index	GRAVY
AM091582.1	44.76	4.96	25.34	96.62	71.28	0.018
CAE48781.1	44.73	4.99	34.02	97.31	63.29	0.010
QAU53330.1	44.90	4.91	31.25	97.30	66.05	0.009
AZA12319.1	44.77	4.81	33.27	98.24	64.97	0.015
SPW24280.1	44.65	5.11	27.74	97.5	69.76	0.025
AWT25259.1	45.12	5.07	26.45	97.28	70.83	0.012
ERS43361.1	44.69	4.91	26.73	94.51	67.78	0.011
ERS76247.1	44.56	4.91	26.85	94.51	67.66	-0.074
ERS78921.1	44.69	4.94	32.97	94.53	61.56	-0.094
ESU59341.1	45.52	5.02	30.67	96.64	65.97	-0.000
ERJ43463.1	44.69	4.99	37.04	96.81	59.77	0.008
AJK67843.1	45.48	4.97	28.38	97.10	68.72	0.013
ERS74544.1	44.69	4.91	26.73	94.51	67.78	0.049
ALA66521.1	44.96	4.95	32.97	95.86	62.89	-0.013
ALC04747.1	44.65	4.88	30.67	98.71	68.04	0.007
BAC17030.1	45.62	4.97	37.04	93.64	56.6	-0.003
BAV22049.1	44.73	4.92	28.38	98.94	70.56	-0.074
CAO00530.1	45.12	4.92	25.98	99.35	73.37	-0.094
AAA23293.1	44.79	4.89	32.97	99.14	66.17	-0.000
AFK15829.2	45.04	5.09	30.04	97.76	67.72	0.008
AGU14304.1	44.85	4.99	26.85	89.11	62.26	0.013
KQB84521.1	44.73	5.04	32.97	96.62	63.65	-0.054
ERS73502.1	44.67	4.99	25.95	97.05	71.1	-0.013
ERS63333.1	44.69	4.91	29.36	94.51	65.15	-0.094
ERS61024.1	44.70	4.91	29.05	94.51	65.46	-0.000
ERS55010.1	44.69	4.08	37.22	94.51	57.29	0.008
ERS51758.1	44.69	4.94	32.97	94.57	61.6	0.013
CAF18822.1	44.75	4.92	25.95	99.14	73.19	-0.054
SJM57548.1	44.75	4.92	26.38	98.99	72.61	0.008
SLM93573.1	44.80	4.97	27.54	95.91	68.37	0.019
AQQ14140.1	44.56	4.72	26.14	94.58	68.44	0.020
SCX24992.1	45.15	5.00	26.37	94.98	68.61	0.040
CQD06071.1	44.69	4.98	26.14	96.81	70.67	0.022

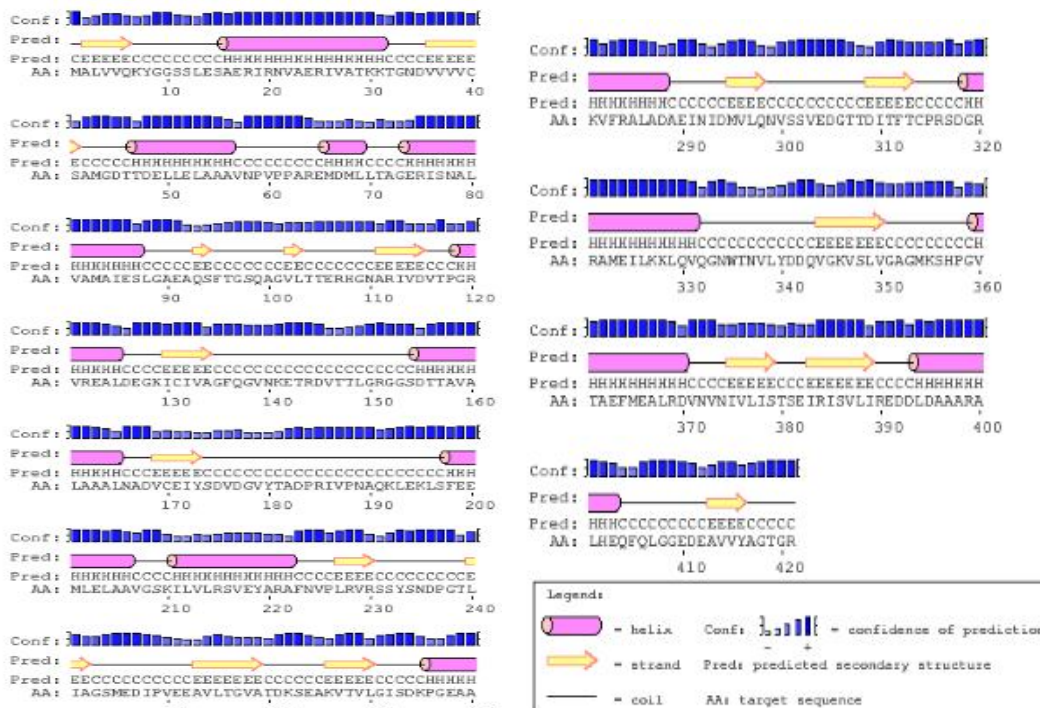
باکتریوم گلوتامیکوم با شماره‌های دستیابی CAO00530.1 و SJM57548.1 به سرور psipred وارد شد و ساختار دوم آن‌ها ترسیم شد (شکل های 3 و 4).

نتایج نشان داد که آنزیم آسپارات کیناز در گونه کورینه باکتریوم گلوتامیکوم با شماره دسترسی CAO00530.1 دارای 12 مارپیچ آلفا، 17 صفحه بتا و 30 عدد کوئل می باشد. همچنین آنزیم آسپارات کیناز در گونه کورینه باکتریوم با شماره دسترسی SJM57548.1 نیز دارای 12 مارپیچ آلفا، 17 صفحه بتا و 30 عدد کوئل می باشد که ساختار سه بعدی آنزیم آسپارات کیناز برای دو پروتئین مذکور در کورینه باکتریوم گلوتامیکوم توسط سرور Swiss model (<https://swissmodel.expasy.org>) مدل سازی و نشان داده شده است (شکل 5).

در تحقیقی کاربردی توسط بکر و همکاران (2005) جهت تولید صنعتی ال - لیزین استفاده از آنزیم آسپارات کیناز کورینه باکتریوم گلوتامیکوم CAF18822.1 جهت جهش نقطه‌ای به جهت دارا بودن پارامترهای مناسب نسبت به سایر گونه‌ها انتخاب که باعث افزایش 80 درصدی در تولید اسید آمینه ال - لیزین گردید (1).

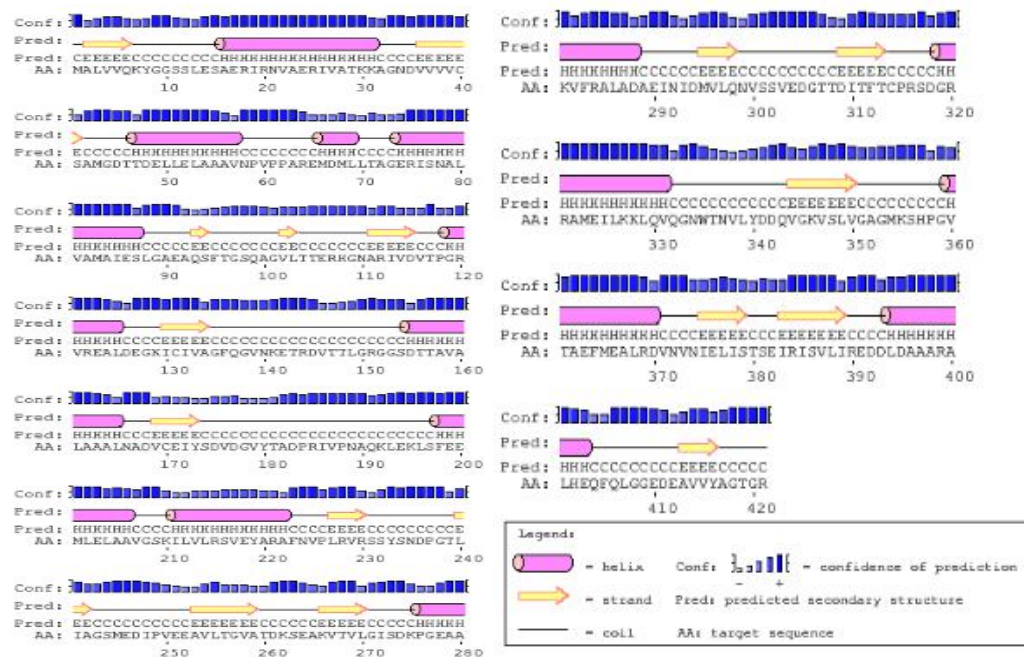
با توجه به این که آنزیم های آسپارات کیناز در گونه کورینه باکتریوم گلوتامیکوم با شماره دستیابی CAO00530.1 و SJM57548.1 در NCBI دارای مناسب ترین پارامتر های مورد نظر در بین 33 گونه مورد بررسی بودند، لذا برای آنالیزهای بعدی انتخاب شدند.

برای پیش بینی ساختار دوم دو پروتئین انتخاب شده از سرور psipred (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred>) استفاده شد (2). برای این منظور توالی های پروتئینی آسپارات کیناز در گونه کورینه



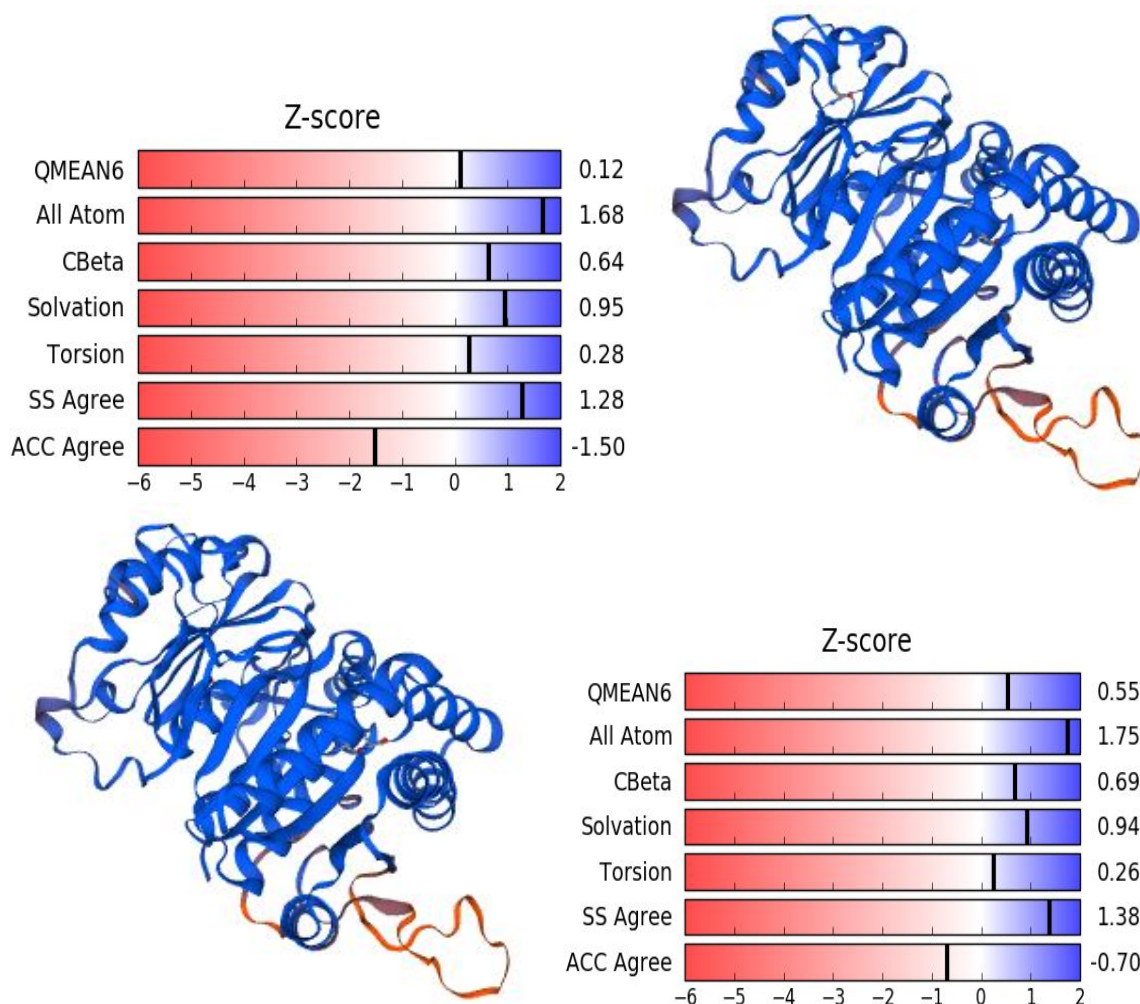
شکل 3- ساختار دوم پیش‌بینی شده برای آنزیم آسپارتات کیناز توسط سرور psipred با شماره دستیابی CAO00530.1.

Figure 3 - Prediction of the second structure for the aspartate kinase enzyme by the psipred server (Accession number: CAO00530.1).



شکل 4- ساختار دوم پیش‌بینی شده برای آنزیم آسپاراتات کیناز توسط سرور psipred با شماره دستیابی SJM57548.1

Figure 4 - Prediction of the second structure for the aspartate kinase enzyme by the psipred server (Accession number SJM57548.1)



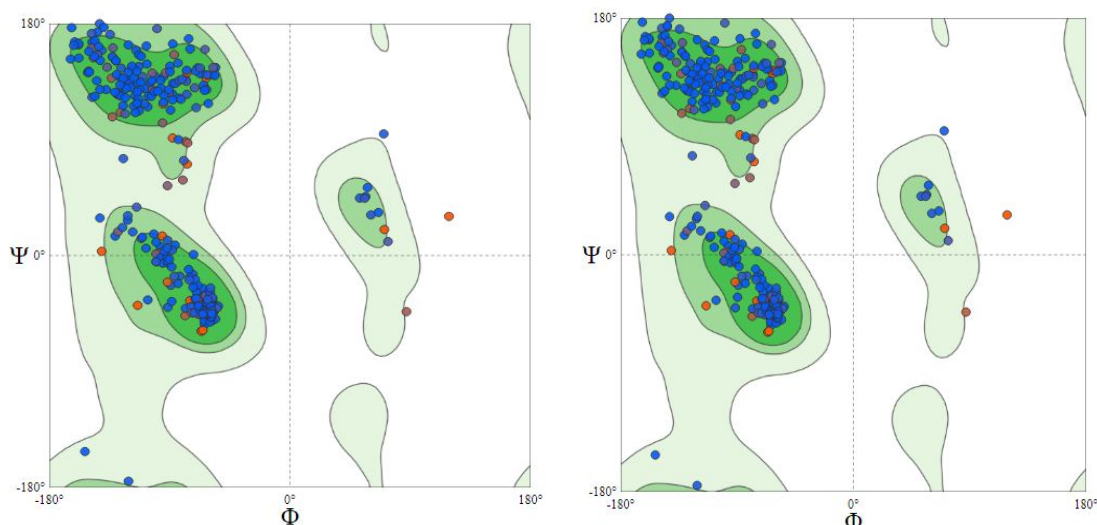
شکل 5- ساختار سه بعدی پیش‌بینی شده برای آنزیم اسپاراتات کیناز در دو گونه کورینه باکتریوم گلوتامیکوم توسط سرور سوئیس مدل. شماره دستیابی CAO00530.1 (شکل بالا) و شماره دستیابی SJM57548.1 (شکل پایین)

Figure 5 - The predicted three-dimensional structure for the aspartate kinase enzyme in *corynebacterium glutamicum* by the Swiss model access (bottom) access number SJM57548.1 number CAO00530.1 (top) and

اسیدها در ناحیه مطلوب، 1/2 درصد در ناحیه مجاز و 0/7 درصد آمینواسیدها در ناحیه غیر مجاز قرار گرفته‌اند و همچنین برای گونه کورینه باکتریوم گلوتامیکوم به شماره دستیابی SJM57548.1 نیز 98 درصد آمینواسیدها در ناحیه مطلوب، 1/2 درصد در ناحیه مجاز و 0/7 درصد آمینواسیدها در ناحیه غیرمجاز قرار گرفته‌اند. با توجه به نتایج مذکور، هر دو مدل شبیه سازی شده کیفیت بسیار مناسبی دارند (شکل 5)، که با نتایج یوشیدا و تومیتا (2010) در آنالیز بهترین ساختار کریستالی آنزیم اسپاراتات کیناز در کورینه باکتریوم گلوتامیکوم مطابقت دارد (18).

سپس کیفیت دو مدل پیش‌بینی شده توسط سرور Rampage (<http://mordred.bioc.cam.ac.uk/~rapper/rampage2.php>) مورد ارزیابی قرار گرفت (9) و نمودار رامچاندرا مربوطه به منظور به تصویر کشیدن زوایای پیوندی از نظر سطح انرژی و پایداری در جهت محاسبه کانفورمرهای پایدار پروتئین ترسیم شد نمودار رامچاندرا با محاسبه درصد آمینواسیدهای قرار گرفته در نواحی مطلوب، مجاز و غیرمجاز، کیفیت مدل پیش‌بینی شده را تعیین می‌کند (8) (شکل 6).

داده های بدست آمده از این نمودار توسط سرور rampage نشان می‌دهد که برای آنزیم اسپاراتات کیناز در دو گونه کورینه باکتریوم گلوتامیکوم به شماره دستیابی CAO00530.1، 98 درصد آمینو



شکل 6- نمودار رامچاندرا برای مدل شبیه سازی شده سه بعدی آسپارات کیناز توسط سرور Swiss model (11) به شماره دستیابی CAO00530.1 (شکل راست) و به شماره دستیابی SJM57548.1 (شکل چپ). سبز تیره نواحی مطلوب، سبز روشن نواحی مجاز و سفید نواحی غیرمجاز.

Figure 6- The Ramachandran diagram for the simulated model of aspartate kinase by the Swiss model server. access number CAO00530.1 (right) and access number SJM57548.1 (left). Darker green represents favored, lighter green represent allowed and white color represent disallowed region.

ویژگی های فیزیکوشیمیایی، بیشترین پایداری و همچنین بهترین ساختار سه بعدی به منظور کلونینگ و تولید لیزین در مقیاس صنعتی را دارند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد و با شماره گرنت 3/37050 انجام شد.

نتیجه گیری کلی

با توجه به اهمیت تولید لیزین در کشور و نیاز به انتخاب سویه مناسب کورینه باکتریوم، جهت انجام مهندسی ژنتیک و تولید صنعتی استفاده از ابزارهای بیو انفورماتیک جهت پیش بینی مناسب حائز اهمیت می باشد، از نتایج آنالیز *in silico* به دست آمده می توان چنین استنباط نمود که در مقایسه آنزیم آسپارات کیناز در 33 گونه متفاوت کورینه باکتریوم، وجود گونه های کورینه باکتریوم گلوتامیکوم با شماره دستیابی CAO00530.1 و SJM57548.1 دارای بهترین

منابع

- 1-Becker, J., C. Klopprogge, O. Zelder, E. Heinzle, and C. Wittmann. 2005. Amplified Expression of Fructose 1,6-Bisphosphatase in *Corynebacterium glutamicum* Increases In Vivo Flux through the Pentose Phosphate Pathway and Lysine Production on Different Carbon Sources. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12): 8587-8596.
- 2-Chou P. Y., and G. D. Fasman. 1974. Conformational parameters for amino acids in helical, β -sheet, and random coil regions calculated from proteins. *Biochemistry*, 13: 211-222.
- 3-Fallahzadeh Mamaghani V. 2016. Characterization of Conserved Hypothetical Proteins from Proteome of *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, with Ethylene Induction Activity on *Arabidopsis thaliana*. *Genetic Engineering and Biosafety*, 5(1): 31-39.
- 4-Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39: 783-791.
- 5-Gasteiger, E., C. Hoogland, A. Gattiker, S. Duvaud, M. R. Wilkins, R. D. Appel, and A. Bairoch. 2005. Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. *The Proteomics Protocols Handbook*. Humana Press, pp. 571-607.
- 6-Hermann, T. 2003. Industrial production of amino acids by *Coryneform* bacteria. *Journal of Biotechnology*, 104: 155-172.
- 7-Ikai A. 1980. Thermostability and aliphatic index of globular proteins. *Journal of Biochemistry*, 88: 1895-1898.
- 8-Kent, J. T., Mardia, K. V., and C. C. Taylor. 2010. Matching Unlabelled Configurations and Protein Bioinformatics.

- Research Report STAT10-01, University of Leeds, Leeds, UK.
- 9-Lovell S. C., I. W. Davis, W. B. Arendall, P. I. W. de Bakker, J. M. Word, M. G. Prisant, J. S. Richardson and D. C. Richardson. 2002. Structure validation by Calpha geometry: phi,psi and Cbeta deviation. *Proteins*, 50: 437-450.
- 10-Plachys, J., and S. Ulbert. 1985. Preparation of lysine by mutants of *Corynebacterium*. *Kvasny Prumysl*, 31: 159-160.
- 11-Pramanik, K., P. Rajbhar. 2017. Functional and Phylogenetic Analyses of *Corynebacterium* Aspartokinase: An Enzyme of Aspartate Family of Amino Acids. Microbiology Laboratory, Department of Botany, The University of Burdwan Burdwan, PIN-713104, West Bengal, India.
- 12-Rafalski J. A., and S. C. Falco. 2004. Structure of the yeast HOM3 gene which encodes aspartokinase. *Journal of Biological Chemistry*, 263(5):2146-2151.
- 13-Rastegari H., M. Chiani, A. Akbarzadeh, S. Cheraghi, Z. Saffari, M. R. Mehrabi. 2013. Improvement in the Production of L-Lysine by Over expression of Aspartokinase (ASK) in *C. glutamicum* ATCC21799. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12 (1): 51-56.
- 14-Saitou N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4: 406-425.
- 15-Seibold, G., M. Auchter, S. Berens, J. Kalinowski, B. J. Eikmanns. 2006. Utilization of soluble starch by a recombinant *Corynebacterium glutamicum* strain: Growth and lysine production. *Journal of Biotechnology*, 124(2): 381-391.
- 16-Tamura K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski, and S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.
- 17-Tryfona, T., and M. T. Bustard. 2005. Fermentative production of lysine by *Corynebacterium glutamicum*: transmembrane transport and metabolic flux analysis. *Process Biochemistry*, 40(2): 499-508.
- 18-Yoshida, A., and T. Tomita. 2010. Mechanism of Concerted Inhibition of 2-type Hetero-oligomeric Aspartate Kinase from *Corynebacterium glutamicum*. The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan.
- 19-Zhu, Z. Y., and T. L. Blundell. 1996. The use of amino acid patterns of classified helices and strands in secondary structure prediction. *Journal of Molecular Biology*, 260: 261-276.



Structural analysis of aspartate kinase enzyme in *Corynebacterium* species to find the best enzyme structure for high industrial production of lysine amino acid

M. Hashemi Attar¹, M. Nassiri^{2*}, A. Javadmanesh³ and B. Nayeri fasaei⁴

Received: 17-03-2019

Accepted: 11-06-2019

Introduction Lysine is one of the essential amino acids not synthesized biologically in the human body and mammals so should be supplied through diets. Among the industrially important amino acids, L-lysine is in 1st position, which is used in pharmaceuticals, animals, human feeds and precursors for the production of peptides or agrochemicals. As L-lysine has large applications, the demand for it is increasing constantly year by year. To minimize the gap between increasing demand and production of L-lysine, it has to be produced in large scale. *Corynebacterium* species especially *Corynebacterium glutamicum* is widely used for the industrial production of amino acids especially L-glutamate and L-lysine. The *C. glutamicum* from long period has been used for the industrial production of various amino acids, primary metabolites and nucleotides. This organism is an aerobic gram positive, rod shaped and non-sporulating bacteria which used for the industrial production of amino acids of L-lysine and L-glutamate. This bacterium uses a variety of carbohydrates, alcohols and organic acids as single sources of carbon and energy for growth and also for the amino acid production. The quantity of lysine production by wild (natural) type of *Corynebacterium glutamicum* is very low, and its cultivation and propagation cannot provide the amino acid required by markets, therefore the wild type of this bacterium is not suitable and cost-effective for industrial purposes. To minimize the gap between increasing demand and production of L-lysine, it has to be produced in large scale. Aspartate kinase (AK) is one of the key enzymes in the biosynthesis of aspartate-derived amino acids such as lysine. This enzyme catalyzes the transfer of the C-phosphate group of ATP to aspartic acid. In most bacteria, the reaction is the first step of branched biosynthetic pathway for lysine, threonine, isoleucine and methionine and is known to be regulated by the end metabolites through feedback inhibition. For example, aspartate kinase from *Corynebacterium glutamicum* is concertedly inhibited by lysine and threonine, while aspartate kinase I and III from *Escherichia coli* is inhibited by threonine and lysine, respectively. Due to industrial production of lysine amino acid by using *Corynebacterium* species, a lot of researches have been done to improve the genetic modification of these microorganisms. Today, bioinformatics tools are available as online access through web-based databases and software, which can be used to study best structures of aspartate kinase enzyme with the least cost and time. Also due to high laboratory costs, the use of bioinformatics methods will be important in obtaining the final result. The aim of this study was to investigate the bioinformatics structure of aspartate kinase enzyme in different species of *Corynebacterium* by authenticated bioinformatics databases to suggest best bioinformatics structure of the aspartate kinase enzyme for applying in laboratory cloning and production of lysine amino acid for industrial purposes.

Material and methods The amino acid sequences of the aspartic kinase enzyme from 33 species of the *Corynebacterium* was obtained from the NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein>) and stored as FASTA. In order to study the genetic distances and similarities in 33 species of *Corynebacterium* a phylogenetic tree was constructed using the Neighbor Joining method using the Mega software (MEGA 6). (A bootstrap check with 1000 replications was also conducted to obtain a confidence level for the branches) ClustalW software was used to investigate genetic similarities using protein sequences. The Evolutionary properties, physiological and physicochemical properties of aspartate kinase enzyme were studied and investigated in 33 different species of *Corynebacterium* through valid databases and software of NCBI, MEGA, ProtScale and

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

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

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

4- Associate Professor, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran

(*-Corresponding Authors Email: nassiry@um.ac.ir)

DOI:10.22067/ijasr.v11i4.79758

ProtParam. In order to predict the second structure, two proteins selected from the psipred server were used (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred>). For this purpose, the protein sequences of aspartate kinase enzyme in *Corynebacterium glutamicum* with access numbers of CAO00530.1 and SJM57548.1 introduced into the psipred and their second structure was mapped. Afterward, three-dimensional structure of mentioned protein was modeled using Swiss-model server (<https://swissmodel.expasy.org>) Then the quality of the two predicted models evaluated by the Rampage server (<http://mordred.bioc.cam.ac.uk/~rapper/rampage2.php>), and in the next step its ramachandran plot mapped.

Results and discussions The results of evolutionary tree analysis in *Corynebacterium* species showed that derivation time of aspartate kinase protein in these 33 species is very close. The results of the ProtScale and ProtParam databases showed that the aspartatekinase enzyme of *Corynebacterium glutamicum* with the access number of CAO00530.1 and SJM57548.1 have the best physicochemical and maximum stability among 33 different species of study. Afterward, with further *in silico* investigation by the Swiss-Model server and Rampage tool, it was found that the two access numbers of CAO00530.1 and SJM57548.1 had the best three-dimensional structure. From the results of *in silico* analyses, it can be inferred that the aspartate kinase enzyme with the two access numbers of CAO00530.1 and SJM57548.1 have the best physicochemical properties, the most stable and also the best three-dimensional structure and therefore could be offered for laboratory cloning and production of lysine amino acid for industrial purposes.

Conclusion Due to wide applications and importance of lysine production in our country and also the necessity of selecting appropriate strain of *Corynebacterium* for genetic engineering and industrial production, this bioinformatics study was done to predict best structure of aspartate kinase enzyme and best strain of *Corynebacterium*. Based on the results of our *in silico* analysis, it is suggested that *corynebacterium glutamicum* has the best protein structure of aspartate kinase enzyme and may be beneficial to increase Industrial lysine amino acid production.

Keywords: Aspartate kinase, Bioinformatics, *Corynebacterium*, Lysine amino acid production.



عوامل موثر بر ورم پستان، فراوانی شیوع پاتوژن‌ها و برآورد پارامترهای ژنتیکی

سونیا زکی زاده^{1*}، بهنام صارمی²، حسین رشید³، مهناز نجفی⁴، سیما ساور سفلی⁵

تاریخ دریافت: 1397/08/16

تاریخ پذیرش: 1398/02/22

چکیده

برای مطالعه عوامل موثر بر ورم پستان، برآورد پارامترهای ژنتیکی و فراوانی پاتوژن‌های بیماری‌زا از 22722 رکورد 6 گله بزرگ خراسان رضوی استفاده شد. تجزیه و تحلیل عوامل محیطی با استفاده از رویه لجستیک نرم‌افزار SAS انجام شد. این عوامل شامل اثر گله، سال و ماه زایش، دوره شیردهی، تابعیت درجه اول از تعداد روزهای شیردهی و درجه دوم از نمره سلول‌های بدنی بودند. پارامترهای ژنتیکی ورم پستان با در نظر گرفتن اثرات بالا به همراه تعداد روزهای شیردهی و شجره و مدل دوصفحه لجستیک ASREML برآورد شدند. شصت نمونه شیر کشت میکروبی شدند. نتایج نشان داد کلیه عوامل محیطی در سطح 1% معنی‌دار بودند. در دوره‌های اول تا چهارم شیردهی ورم پستان کاهش و سپس افزایش یافت. میزان ابتلا به بیماری در بهمن‌ماه و در سال‌های مورد بررسی کاهش یافته بود که حاکی از بهبود صفت است. وراثت‌پذیری ورم پستان، سلول‌های بدنی و همبستگی ژنتیکی و فنوتیپی آنها به ترتیب $0/037 \pm 0/008$ ، $0/055 \pm 0/008$ و $0/712 \pm 0/112$ و $0/062 \pm 0/009$ برآورد شد. کشت میکروبی شیر حاکی از بروز الگوهای متفاوت ورم پستان وابسته به پاتوژن در مراحل شیردهی بود؛ بطوریکه شیوع E.Coli از نیمه دوم به بعد، استافیلوکوک از ماه پنجم و استرپتوکوک از ماه هشتم تا آخر شیردهی، مشاهده شد. با افزایش هر 10 کیلوگرم شیر احتمال ابتلا به استرپتوکوک افزایش یافت؛ آلودگی‌های E.Coli در دسته تولید بین 30 تا 40 کیلوگرم مشاهده شدند. بدلیل همبستگی بالا بین شمار سلول‌های بدنی و بیماری ورم پستان، امکان بهبود ژنتیکی گله‌های شیری و انتخاب گاوهای مقاوم به بیماری با انتخاب گاوهای با سلول‌های بدنی پایین‌تر وجود دارد.

کلمات کلیدی: کشت میکروبی؛ مدل لجستیک؛ مولفه‌های واریانس؛ ورم پستان وابسته به پاتوژن

مقدمه

گاو از گله و هزینه‌های بالای درمان و غیر مستقیم (کاهش کیفیت شیر تولیدی) می‌شود (7، 21، 22). این بیماری به دو نوع حاد و تحت بالینی تقسیم می‌شود که نوع بالینی آن با علائم کلینیکی واضح همراه است و توسط طیف وسیعی از باکتری‌ها ایجاد می‌شود (2، 22). در نتیجه بروز ورم پستان کیفیت شیر دچار تغییراتی از جمله لخته شدن، افزایش گلبول‌های سفید می‌شود که با درد و تورم و سفت شدن و ناراحتی غدد پستانی همراه است (28). رجبو و همکاران (26) گزارش کردند که صفت شمار سلول‌های بدنی شیر ناشی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی، از نظر ژنتیکی دو صفت مجزا به شمار می‌روند. بین باکتری‌های گرم منفی و احتمال بروز عفونت، همبستگی ژنتیکی وجود دارد که انتخاب حیوانات با سلول‌های بدنی کمتر، می‌تواند به کاهش وقوع ورم پستان کمک کند. با وجود این، تشخیص ناقص عفونت سبب تاثیر روی برآورد پارامترهای ژنتیکی می‌شود و راندمان استراتژی انتخاب برای تفکیک باکتری‌های گرم منفی و مثبت را کاهش می‌دهد. بسته به نوع بیماری و زمان بروز آن، کاهش تولید شیر ناشی از ورم پستان به دلیل پاتوژن ایکولای برابر

ورم پستان به التهاب غده پستانی اطلاق می‌شود و یکی از بیماری‌های باکتریایی شایع و پرهزینه در صنعت گاو شیری است که باعث ضررهای اقتصادی مستقیم (کاهش تولید شیر، حذف زود هنگام

- 1- دانشیار پژوهشی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
 - 2- مدیر بخش فنی شرکت سی جی در اروپا، خاورمیانه، آفریقا و روسیه، فرانکفورت، آلمان
 - 3- کارشناس مسوول دام سنگین معاونت بهبود تولیدات دامی خراسان رضوی، مشهد، ایران
 - 4- کارشناس آزمایشگاه میکروبیولوژی تشخیصی اداره کل دامپزشکی خراسان رضوی، مشهد، ایران
 - 5- استادیار پژوهشی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
- (*) - نویسنده مسئول:
Email: sonia_zaki@yahoo.com
DOI:10.22067/ijasr.v11i4.76477

0 برای عدم ابتلا در نظر گرفته شد.

فرمول (1)

$$Y_{ijklmn} = \mu + H_i + YE_j + M_k + L_l + \alpha(DIM_{ijklmn} - \overline{DIM}) + \beta(SCS_{ijklmn} - \overline{SCS}) + e_{ijklmn}$$

بردار Y رکورد (0 و 1) ابتلا به ورم پستان، H_i اثر گله، YE_j اثر سال زایش، M_k اثر ماه زایش، L_l اثر دوره شیردهی، DIM تعداد روزهای شیردهی، SCS شمار سلول‌های بدنی، α ضریب درجه اول تابعیت ورم پستان از تعداد روزهای شیردهی و β ضریب درجه دوم تابعیت ورم پستان از نمره سلول‌های بدنی و e_{ijklmn} اثرات باقیمانده است. برای نرمال کردن رکوردهای سلول‌های بدنی، لگاریتم طبیعی آن گرفته شد. استفاده از رکوردهای روزآزمون سلول‌های بدنی بهتر از میانگین ماهانه سلول‌های بدنی است، زیرا در غیر این صورت تشخیص موارد حاد ورم پستان و عفونت‌های کوتاه مدت مشکل خواهد بود (14). برای بررسی احتمال بروز ورم پستان با افزایش روزهای شیردهی، روزهای شیردهی به صورت 5 کلاس 3 ماهه بین 1 تا 450 روز دسته‌بندی شد که شامل 90% کل داده‌ها بودند. وراثت‌پذیری صفت ابتلا به ورم پستان و همبستگی‌های ژنتیکی و فنوتیپی بین سلول‌های بدنی با ابتلا به ورم پستان بر اساس رویه لجیت بسته نرم‌افزاری ASREML (13) و در نظر گرفتن اثرات گله، سال و ماه زایش، دوره شیردهی، مقدار شیر، نمره سلول‌های بدنی، تعداد روزهای شیردهی و شجره برآورد شد.

روش انتخاب نمونه، کشت میکروبی نمونه‌های شیر و بررسی شیوع عوامل بیماری‌زا

برای بررسی انواع عوامل بیماری‌زای ورم پستان و انجام کشت میکروبی، از تعداد 60 گاو به میزان 50 میلی‌لیتر از هر گاو مبتلا و غیرمبتلا به ورم پستان متعلق به 5 گاوداری صنعتی خراسان رضوی، نمونه شیر گرفته شد. بدین منظور، بر اساس گزارش رکوردهای ماهانه تعداد سلول‌های بدنی شیر معاونت امور دام، لگاریتم سلول‌های بدنی محاسبه و از شیر گاوهایی استفاده شد که مقدار شمار سلول‌های بدنی آنها از 75% فراوانی تجمعی جامعه بالاتر بود. لذا، به ازای هر 0/1 افزایش شمار سلول‌های بدنی، گاوها انتخاب و حداکثر تا 5 روز بعد از زمان رکوردبرداری امور دام، به گاوداری مراجعه و از تمام کارتی‌های گاوهایی مورد نظر، نمونه شیر گرفته شد.

برای جداسازی عوامل بیماری‌زای ورم پستان 12°C نمونه شیر در 2000 دور به مدت 20 دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از تخلیه مایع رویی، رسوب باقیمانده روی محیط‌های کشت (بلاد آگار، نوترینت برات) و محیط‌های کشت انتخابی باکتری‌های گرم منفی (مک کانکی آگار و EMB آگار و بریلیانت گرین آگار) برده شد. پس از مشاهده و وجود کلنی‌های براق، از کلنی‌های مشکوک گسترش گرفته شد. پس از رنگ‌آمیزی، در صورت مشاهده کوکسی‌های خوشه‌ای کاتالاز و

3/5 کیلوگرم در روز، استافیلوکوکوس اورئوس برابر 1/4 کیلوگرم در روز و استرپتوکوکوس اوپریس برابر 2/1 کیلوگرم در روز گزارش شده است (18).

بهبود مدیریت به تنهایی نمی‌تواند بیماری ورم پستان را کنترل نماید، زیرا ارگان‌سیم‌های محیطی ایجاد کننده بیماری، قابل حذف شدن نیستند و از نظر ژنتیکی نیز حساسیت به این بیماری تحت تأثیر عوامل پیچیده و ژن‌های متعددی قرار دارد (22). لذا، اصلاح نژاد در جهت افزایش مقاومت به ورم پستان، سبب تغییر پایدار در ترکیب ژنتیکی گله‌های شیری می‌شود (6). گزارش شده است دختران گاوهای نری که کمترین شمار سلول‌های بدنی را منتقل کرده و طول عمر بیشتری داشتند، در زایش اول کمترین میزان ابتلاء به عفونت‌های درون پستانی را نشان دادند (24). در اکثر کشورها، این بیماری همانند سایر بیماری‌های متأثر از مدیریت بهداشت، به طور منظم رکوردبرداری و ثبت نمی‌شوند. از طرف دیگر، بین تولید شیر و تعداد سلول‌های بدنی به عنوان شاخص غیر مستقیم بیماری ورم پستان، همبستگی نامطلوب وجود دارد (22). دی‌هاس و همکاران (9) گزارش کردند که در ورم پستان حاد ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس تعداد سلول‌های بدنی در 100 روز قبل از بروز بیماری در گاو بالا می‌رود (بالاتر از 200 هزار سلول در دام‌های شکم اول و 450 هزار در دام‌های مسن‌تر) و بعد از وقوع ورم پستان نیز بالا باقی می‌ماند، در حالی که در خصوص ایکولای، سطح سلول‌های بدنی افزایش می‌یابد و بسیار سریع نیز کاهش پیدا می‌کند. به دلیل پایین بودن وراثت‌پذیری ورم پستان، انتخاب مستقیم برای کم کردن این بیماری بسیار مشکل است و بیشتر کشورهایی که ارزیابی ژنتیکی برای مقاومت به ورم پستان انجام می‌دهند، عموماً از شمار سلول‌های بدنی به عنوان شاخص غیرمستقیم استفاده می‌کنند (1، 15، 33). با توجه به همبستگی مثبت بین ورم پستان با شمارش سلول‌های بدنی، در ارزیابی ژنتیکی صفت ورم پستان از شمارش سلول‌های بدنی استفاده می‌شود. از طرف دیگر، وراثت‌پذیری سلول‌های بدنی بیشتر از بیماری ورم پستان می‌باشد و از 0/040 تا 0/136 در دوره اول برای رکوردهای روزآزمون برآورد شده است (15، 35). تحقیق حاضر با هدف بررسی عوامل موثر بر بروز ورم پستان، برآورد مولفه‌های واریانس و بررسی فراوانی انواع پاتوژن‌های بیماری‌زا انجام شد.

مواد و روش

عوامل موثر بر ورم پستان و برآورد پارامترهای ژنتیکی

برای بررسی عوامل موثر بر ورم پستان از تعداد 22722 رکورد روزآزمون ورم پستان متعلق به 12003 حیوان و مدل لجیت زیر و رویه stepwise نرم‌افزار (9.2) SAS استفاده شد. کد 1 جهت نشان دادن ابتلا به ورم پستان (بروز حتی یک دفعه در دوره شیردهی) و کد

آورده شده است. نتایج جداول توافقی آنالیزهای لجیت، از هر دو جهت افقی و عمودی قابل خوانش است. درصدهای احتمال در ردیف نشان می‌دهد که احتمال درصد بروز بیماری/سالم بودن در طول دوره شیردهی چقدر است و درصد در ستون مشخص کننده درصد گاوهای بیمار/سالم، در زمان مشخصی از شیردهی است. بر اساس این جدول مشخص شد که 12/26٪ گاوها (2434 مورد) حداقل یکبار در طول دوره شیردهی خود دچار ورم پستان شده‌اند که بیشترین احتمال وقوع بیماری با تعداد 1062 مورد، در ماه‌های 9 تا 12 شیردهی (271-360 روز) بوده است (43/63٪). همچنین در 3 ماه ابتدای شیردهی تعداد 105 گاو (10/39٪ از کل موارد ورم پستان مشاهده شده) دچار ورم پستان شدند.

والیمونت و همکاران (34) نیز کمترین احتمال وقوع کلی ورم پستان را در گاوهای شکم اول 12/2٪ و بیشترین وقوع را در شکم‌های سوم تا پنجم گزارش کردند، در حالی که 84/6٪ گاوها هرگز دچار ورم پستان نشدند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

کوآگولاز مثبت کلنی‌های گرم مثبت، وجود استافیلوکوک محرز می‌گردد. در صورتی که از کلنی‌های مرطوب و محدب گسترش گرفته و به روش گرم رنگ آمیزی گردد، مشاهده کوکسی‌های زنجیره‌ای گرم مثبت و آزمایش کاتالاز منفی دلیل بر استرپتوکوک بودن آن است. باکتری استرپتوکوک روی بلاآگار، کلنی‌های مرطوب و روی نوترینت آگار، زنجیره‌های ظریفی ایجاد می‌کند. کلنی‌های E.coli روی محیط‌های گرم منفی به دلیل تخمیر لاکتوز در حضور معرف، به رنگ صورتی دیده خواهند شد. لازم به ذکر است، برای تایید باکتری E.coli از محیط‌های TSI آگار و تست‌های Imvic استفاده گردید. شیوع عوامل بیماری‌زای ورم پستان بر اساس آمار توصیفی و جدول توافقی پیش بینی احتمال و با استفاده از رویه FREQ نرم افزار SAS (9.2) (29) بررسی شد.

نتایج و بحث

احتمال بروز ورم پستان در روزهای مختلف شیردهی در کلیه گاوهای شکم اول تا نهم که از داده‌های آنها استفاده شد، در جدول 1

جدول 1- احتمال بروز ورم پستان در روزهای شیردهی مختلف
Table 1- Probability of Mastitis in different days in milk

روزهای شیردهی Days in milk	1-90	91-180	181-270	271-360	361-450	کل Total
فراوانی Frequency	906	1208	3467	8286	3678	
درصد Percent	4.56	5.45	17.46	41.74	18.53	17418
درصد در ردیف Percent in Row	5.20	6.21	19.90	47.57	21.12	87.74
درصد در ستون Percent in Column	89.61	79.02	88.99	88.64	86.97	
فراوانی Frequency	105	287	429	1062	551	
درصد Percent	0.53	1.45	2.16	5.35	2.78	2434
درصد در ردیف Percent in Row	4.31	11.79	17.63	43.63	22.64	12.26
درصد در ستون Percent in Column	10.39	20.98	11.01	11.36	13.03	
کل Total	1011	1368	3896	9348	4229	19852
	5.09	6.89	19.63	47.09	21.30	100.00

روز بعد زایش بودند. ایاره و میرزایی (3) نیز در گاوهای بدون سابقه ورم پستان، بین مرحله شیردهی با سلول‌های بدنی همبستگی مثبت (0/4+) و معنی‌دار گزارش کردند. نتایج آنالیز واریانس حاکی از موثر بودن تمامی عوامل مدل بر بروز ورم پستان بود ($P < 0.05$) (جدول 2).

در تحقیق والیمونت و همکاران (34) میانگین تعداد روزهای شیردهی در زمان بیماری ورم پستان (مرحله شیردهی) از 97 روز در شکم زایش 4 تا 112 روز در زایش دوم و به طور کلی از 67 تا 86 روز پس از زایش مشاهده شد که بیانگر توزیع با چاوله راست بود. همچنین، 27٪ از ورم پستان‌ها در محدوده زمانی 10 روز قبل تا 10

جدول 2- آنالیز واریانس عوامل موثر بر بروز ورم پستان

Table 2- Analysis of variance of factors affecting on mastitis

منابع تغییر	درجه آزادی	کای مربع	سطح احتمال <کای مربع
Source of variation	Degree of freedom	χ^2 -square	$\chi^2 < \alpha$
سال زایش	11	1364.397	<0.0001
Calving year			
نمره سلول‌های بدنی	1	278.823	<0.0001
Somatic cell score			
گله	5	170.191	<0.0001
Herd			
ماه زایش	11	32.846	<0.0006
Calving month			
تعداد روزهای شیردهی	1	9.823	<0.0017
Days in milk			
دوره زایش	8	16.316	<0.0381
Lactation			

امر دیده نشد (جدول 3). براساس گزارش اولدرکیک و همکاران (25) بیشترین شیوع ورم پستان از نوع پاتوژن اسپتریتوکوکوس اوبریس و E.coli در آگوست (مرداد) بود اما بدون توجه به نوع عامل بیماریزا، در ماه‌های زمستان این بیماری بیشتر مشاهده شده است. به نظر می‌رسد رطوبت و حرارت تابستان باعث افزایش تعداد کلی‌فرم‌ها در بستر شده و شیوع تابستانی این نوع از ورم پستان را افزایش می‌دهد (جدول 3). تاثیر تعداد روزهای شیردهی تا بروز ورم پستان در این تحقیق معنی‌دار بود ($P < 0.01$). احتمال بروز ورم پستان در هر مرحله شیردهی از یک دوره، همبستگی نامطلوبی با مقدار تولید شیر دارد، به طوری که احتمال بروز بیماری در ابتدا و انتهای دوره بیشتر است و حتی سبب رده بندی مجدد گاوهای نر از نظر قدرت انتقال به نتاج شده است (21).

ایاره و میزایی (3) گزارش کردند که در گاوهای با و بدون سابقه ورم پستان میزان تولید شیر با تعداد سلول‌های بدنی ارتباط معنی‌دار دارد، اما میانگین تعداد سلول‌های بدنی و تولید شیر در گاوهای با سابقه ورم پستان بیشتر از گاوهای بدون سابقه است. این در حالی است که در هر دو گروه بین تولید شیر و تعداد سلول‌های بدنی شیر همبستگی منفی (گروه گاوهای بدون سابقه ورم پستان $-0/5$ ، گاوهای با سابقه ورم پستان $-0/3$) وجود داشت.

همچنین در دوره اول تا چهارم شیردهی گاو، مقدار ابتلا به ورم پستان کاهش یافته اما پس از آن افزایش دیده شد. گرین و همکاران (14) گزارش کردند که خطر ورم پستان بر اساس نوع پاتوژن، در شکم‌های مختلف فرق می‌کند. به طور نمونه، خطر ابتلا به ورم پستان ناشی از اشریشیاکلی در زایش اول کمترین مقدار و توسط پاتوژن استرپتوکوک اورئوس در شکم اول تا سوم بیشترین مقدار بود، در حالی که استرپتوکوکوس دیسی‌آگالاکتیه فقط در زایش سوم

مقادیر نسبت شانس¹ عوامل موثر مختلف روی بروز ورم پستان در جدول 3 آورده شده است. نسبت شانس آماره‌ای است که بیانگر نسبت شانس یک واقعه در حضور و یا عدم حضور واقعه دیگر است. اگر این آماره بزرگتر از 1 باشد، به مفهوم ارتباط دو واقعه است و در حضور واقعه دوم، احتمال بروز رخداد اول بیشتر می‌شود. نسبت شانس با استفاده از جدول فراوانی 2×2 محاسبه می‌شود. اگر به عنوان مثال جدول دو بعدی زیر را در نظر بگیریم، مقدار OR با استفاده از فرمول $OR = \frac{ad}{bc}$ به دست می‌آید.

نتایج

	+	-
+	a	b
-	c	d

a تعداد نتایج موقعی که واقعه رخ دهد، b تعداد رخدادهای بدون نتیجه، c تعداد نتایج در حالتی که واقعه رخ نداده و d تعداد عدم نتیجه زمانی که واقعه رخ نداده است (31). همانگونه که در این جدول مشاهده می‌شود، روند بیماری ورم پستان از سال 79 تا 90 رو به کاهش رفته است و نشان دهنده بهبود وضعیت سلامت پستان است که می‌تواند به دلیل بهبود شیوه‌های مدیریتی و بهداشتی در گله‌ها باشد (جدول 3). تفاوت بین گله‌ها بر اساس مقایسه با گله شماره 1 واقع در شهرستان تربت حیدریه انجام شد. گله‌های 2 و 3 واقع در نیشابور بیشترین مقادیر ابتلا به بیماری و گله‌های شهرستان مشهد کمترین مقدار را نشان دادند (جدول 3).

کمترین میزان ابتلا به بیماری در گاوهای زایش کرده در ماه بهمن و بیشترین آن در مرداد مشاهده شد، اگرچه روند خاصی در این

1 Odds Ratio (OR)

کمترین مقدار بود. ایاره و میرزایی (3) نیز در گاوهای دارای سابقه ورم پستان، بین دوره شیردهی با سلول های بدنی همبستگی مثبت ($+0/2$) و معنی دار گزارش کردند. در گاوداری های صنعتی اطراف تهران نیز گزارش شده است که با افزایش شکم زایش، بروز تجمع ورم پستان افزایش نشان داد، به طوری که بیشترین موارد ابتلا در گاوهای شکم پنجم مشاهده شد (30).

جدول 3- نسبت شانس احتمال عوامل موثر بر بروز ورم پستان
Table 3- ODD ratio of factors affecting on mastitis

نسبت شانس ODD ratio	سطح Level	اثر Factor	اثر Factor	سطح Level	نسبت شانس ODD ratio
	12	مرجع Reference		1	مرجع Reference
	11	0.925		2	1.529
	3	1.035	گله Herd	3	0.957
	8	1.094		4	0.784
ماه زایش Calving month	2	1.105		5	0.567
	6	1.206		6	0.519
	10	1.227		79	<0.0000
	9	1.255		80	16.199
	4	1.256		81	15.281
	1	1.331		82	15.131
	7	1.349		83	10.922
	5	1.488		84	8.109
	7	0.903	سال زایش Calving year	86	6.195
	4	1.103		88	5.752
	3	1.112		85	5.301
	2	1.251		87	4.780
	1	1.276		89	3.707
دوره زایش Lactation	6	1.367		90	مرجع Reference
	8	1.414	تعداد روزهای شیردهی Days in milk		0.999
	5	1.472	نمره سلول های بدنی Somatic cell score		0.999
	9	مرجع Reference			

مقدار وراثت پذیری ورم پستان در فاصله 15 روز قبل از زایمان تا 30 روز پس از آن در گاوهای شکم اول را با استفاده از مدل دوصفته آستانه ای 0/07 برآورد کردند. کارلن و همکاران (6) مقادیر پارامترهای ژنتیکی ورم پستان در دوره های اول تا سوم شیردهی را 0/01 تا 0/03 برآورد کردند. مقدار وراثت پذیری ورم پستان با توجه به نوع پاتوزن درگیر از 0/01 تا 0/25 گزارش شده است (23). پایین بودن مقدار وراثت پذیری ورم پستان به این مفهوم است که بهبود ژنتیکی نسبت به بیماری ورم پستان، بسیار آهسته خواهد بود.

رجیو و همکاران (26) وراثت پذیری باکتری گرم منفی شمار سلول های بدنی شیر را 0/1، گرم مثبت را 0/03 و در حالت عفونی

وراثت پذیری ورم پستان، شمار سلول های بدنی و همبستگی بین آنها

مقادیر وراثت پذیری بروز ورم پستان و همبستگی های ژنتیکی و فنوتیپی آن با نمره سلول های بدنی در جدول 4 آورده شده است. پایین بودن وراثت پذیری ورم پستان بیانگر تاثیر بیشتر عوامل محیطی روی آن می باشد. این نتیجه با نتایج سایر محققین همخوانی دارد که مقدار ابتلای کلی به ورم پستان را بدون توجه به نوع باکتری بیماریزا از 0/01 تا 0/04 برآورد کردند (6، 8).

روپ و بیوکارد (27) وراثت پذیری ورم پستان را 0/024 و نمره سلول های بدنی را 0/17 برآورد کردند. هرینگشتاد و همکاران (20)

0/09 برآورد کردند. همبستگی ژنتیکی 0/62 بین باکتری‌های گرم منفی و مثبت، این احتمال را می‌دهد که این دو صفت از نظر ژنتیکی متفاوت باشند. همبستگی ژنتیکی بین باکتری‌های گرم منفی شمار سلول‌های بدنی شیر با حالت عفونی بیماری ورم پستان، 0/51 باشد. آنها نشان دادند که تشخیص ناقص عفونت منجر به برآورد کمتر از مقدار واقعی تفاوت‌های بین باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌شود. بوچر و همکاران (4) وراثت‌پذیری شمار سلول‌های بدنی شیر در دوره

اول و دوم شیردهی را به ترتیب 0/14 و 0/16 برآورد کردند. والیمونت و همکاران (34) میزان وراثت‌پذیری را 0/0073 (روزآزمون با مدل خطی) تا 0/1107 (مدل پواسون) بسته به مدل مورد استفاده در تجزیه و تحلیل برآورد کردند. همچنین، آنها گزارش کردند که بین افزایش نمره سلول‌های بدنی و ورم پستان، همبستگی ژنتیکی 0/66 تا 0/88 وجود دارد.

جدول 4- وراثت‌پذیری ورم پستان، شمار سلول‌های بدنی و همبستگی ژنتیکی و فنوتیپی آنها
Table 4- Heritabilities of mastitis, somatic cell score and their relationships

وراثت‌پذیری Heritability		همبستگی ورم پستان یا نمره سلول‌های بدنی Mastitis correlation with somatic cell score	
ورم پستان Mastitis	شمار سلول‌های بدنی Somatic cell score	همبستگی ژنتیکی Gen. correlation	همبستگی فنوتیپی Phen. correlation
0.0369±0.0077	0.0551±0.0081	0.7125±0.1178	0.0622±0.0092

سلول‌های بدنی منجر به کاهش بروز ورم پستان خواهد شد. کاراولو (5) همبستگی ژنتیکی بین این دو صفت را از 0/24 تا 0/99 برآورد کرد و احتمال ابتلا به بیماری را با افزایش تعداد سلول‌های بدنی، محتمل‌تر دانست.

بین دوره‌های اول تا سوم شیردهی نیز برای همین صفات همبستگی ژنتیکی بالایی وجود دارد، به طوریکه برای شمار سلول‌های بدنی 0/8، ورم پستان 0/7 و صفات تولیدی 0/9 برآورد شده است (6). به دلیل همبستگی بالای بین ورم پستان و تعداد سلول‌های بدنی، احتمالاً ژن‌های مشترکی به طور همزمان روی این دو صفت تاثیر می‌گذارند. لذا، انتخاب برای کاهش تعداد سلول‌های بدنی می‌تواند منجر به کاهش حساسیت به ورم پستان بالینی و تحت بالینی شود، اگرچه میزان همبستگی بین تعداد سلول‌های بدنی و ورم پستان بالینی کمتر از 1 است و به عنوان صفت واحدی نمی‌توانند در نظر گرفته شوند (27).

نتایج کشت میکروبی نمونه‌های شیر

از تعداد 60 نمونه شیر، 50 نمونه مورد آزمایش قرار گرفت و مشخص شد که کشت میکروبی تعداد 30 نمونه شیر گاو (60% کل نمونه‌ها) حاوی هیچ نوع باکتری نبودند. بیشترین میزان باکتری مشاهده شده مربوط به استرپتوکوکوس اورئوس (20%) و استافیلوکوکوس آگالاکتیه (12%) بودند. باکتری کلی فرم E.coli که عمدتاً باعث ورم پستان محیطی می‌شود، 6% کل نمونه‌ها را تشکیل داد. در یکی از نمونه‌ها باسیلوس و نمونه دیگر علاوه بر E.coli، مخمر نیز در نتایج کشت‌ها مشاهده شد که از آنالیزها حذف شدند. در مواردی که ورم پستان به صورت حاد بروز کرده بود، به دلیل زیاد بودن مقدار چرک، هیچ نوع باکتری از نمونه‌ها جدا سازی نشد که

بین شمار سلول‌های بدنی شیر و بروز ورم پستان همبستگی ژنتیکی مثبت وجود دارد. این مطلب حاکی از این امر است که بایستی در اهداف و برنامه‌های اصلاح نژادی حتماً به صفات مربوط به بهداشت و سلامتی گاو توجه نمود (6). هرینگشتاد و همکاران (20) وراثت‌پذیری شمار سلول‌های بدنی را در اولین اندازه‌گیری رکورد پس از زایمان در گاوهای شکم اول مبتلا به ورم پستان 0/03 و در گاوهای سالم 0/08 برآورد کردند و نشان دادند که همبستگی ژنتیکی 0/76 برای این دو صفت حاکی از این است که این شمار سلول‌های بدنی در این دو گروه بیانگر یک صفت نیست و هتروژن می‌باشد. همچنین آنها مقدار وراثت‌پذیری ورم پستان در فاصله 15 روز قبل از زایمان تا 30 روز پس از آن در گاوهای شکم اول را با استفاده از مدل دوصفته آستانه‌ای، 0/07 و همبستگی ژنتیکی آن را با شمار سلول‌های بدنی 0/62±0/030 برآورد کردند. هواگارد و همکاران (17) مقدار وراثت‌پذیری شمار سلول‌های بدنی را 0/17±0/011 و وراثت‌پذیری کلی ورم پستان را 0/11 و بر اساس نوع پاتوژن بیماری‌زا از 0/04 (استافیلوکوکوس اورئوس) تا 0/14 (استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه) در گاوهای قرمز نروژی، گزارش کردند. در تحقیق دیگری از هواگارد و همکاران (16) وراثت‌پذیری کلی ورم پستان 0/06 و از 0/02 تا 0/04 برای پاتوژن‌های استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه و استافیلوکوکوس اورئوس برآورد شد.

روپ و ویوکارد (27) همبستگی 0/72 بین نمره سلول‌های بدنی و وقوع ورم پستان بالینی و 0/09 بین تولید شیر و درصد پروتئین با ورم پستان و 0/1 بین درصد چربی شیر و ورم پستان گزارش کردند. کارلن و همکاران (6) مقدار متوسط همبستگی ژنتیکی میانگین سلول‌های بدنی در سه دوره اول شیردهی را با بروز ورم پستان 0/70 برآورد کردند و نتیجه گیری کردند که انتخاب گاوهای با میانگین پایین‌تر

پستان بیشتر شد (جدول 5). فراوانی ورم پستان در دوره‌های مختلف شیردهی متفاوت است که بستگی به این دارد آیا قبلا گاو در معرض قرار گرفته است یا خیر. در نتیجه مقاومت به ورم پستان دقیقا همان صفت در دوره‌های مختلف شیردهی نخواهد بود (34). یوریوست و همکاران (32) گزارش کردند که دوره شیردهی گاو در مدل لجستیک روی میزان ابتلا به ورم پستان تاثیر معنی‌دار دارد، به طوری که شیوع ورم پستان بالینی در گاوهای شکم اول نسبت به چند شکم‌زا کمتر بود.

شامل بخشی از همان 60% گروه بدون نتیجه کشت میکروبی بودند. در مطالعه سالکی و مرادی (28)، مشخص شد که 81/25% گاوهای به ظاهر سالم مبتلا به آلودگی باکتریایی هستند. بیشترین عامل باکتریایی شایع در واحدهای شیری شیراز به ترتیب استافیلوکوکوس اورئوس (31/5%)، استرپتوکوک آگالاکتیه (24/1%) و استرپتوکوک دیس آگالاکتیه (9/3%) گزارش شده است (11). در تحقیق حاضر مشاهده شد که بروز ورم پستان از دوره اول تا 4 شیردهی کاهش یافته و پس از آن افزایش یافت. بدون توجه به نوع عامل بیماری‌زا، با افزایش دوره شیردهی احتمال ابتلا به بیماری ورم

جدول 5- احتمال بروز ورم پستان به تفکیک نوع پاتوژن در دوره های مختلف شیردهی
Table 5- Probability of mastitis according to pathogens in different lactations

درصد در ردیف Percent in Row	دوره شیردهی Lactation						کل Total
درصد در ستون Percent in Column	1	2	3	4	5	6	
اشریشیاکولی E.coli	33.33	0.00	33.33	33.33	0.00	0.00	3
استرپتوکوک Streptococcus	5.26	0.00	11.11	33.33	0.00	0.00	6.00
استافیلوکوک Staphylococcus	30.00	40.00	10.00	0.00	10.00	10.00	10
باسیلوس Bacillus	15.79	28.57	11.11	0.00	33.33	50.00	20.00
بدون پاتوژن Without pathogen	0.00	66.67	0.00	16.67	0.00	16.67	6
کل Total	0.00	28.57	0.00	33.33	0.00	50.00	12.00
	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1
	0.00	7.14	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00
	50.00	16.67	23.33	3.33	6.67	0.00	30
	78.95	35.71	77.78	33.33	66.67	0.00	60.00
	19	14	9	3	3	2	50
	38.00	28.00	18.00	6.00	6.00	4.00	100.00

(18). قراگزلو و همکاران (12) گزارش کردند که 56/2 درصد از گاوهای شیری از ورم پستان به دلیل استرپتوکوکوس و باکتری‌های گرم منفی استرپتوکوکوس و ایکولای رنج می‌برند. گزارش شده است که کاهش ورم پستان مرتبط با استافیلوکوکوس اورئوس از بزرگترین چالش‌های صنعت گاو شیری فنلاند می‌باشد و به دلیل کاهش زیاد افت تولید به مدت طولانی، مضرت‌ترین پاتوژن مسبب این بیماری به شمار می‌رود (18). همچنین، به دلیل اثرات مخرب چرخه زندگی این پاتوژن، گاوهای مبتلا به طور مداوم دچار ورم پستان می‌شوند (17). با بررسی فاصله ماهیانه بین زمان زایش تا کشت میکروبی نمونه، مشخص شد که بیشترین مقدار E.coli از نیمه دوم شیردهی به بعد بروز کرده است، در حالی که استرپتوکوکوس از ماه هشتم به بعد و استافیلوکوک از ماه پنجم تا پایان دوره مشاهده گردید (جدول 6). در این تحقیق تاثیر مرحله شیردهی روی بروز ورم پستان معنی‌دار بود ($P<0.01$). گزارش شده است که احتمال بروز ورم پستان در هر مرحله شیردهی از یک دوره، همبستگی نامطلوبی با مقدار تولید شیر دارد، به طوریکه احتمال بروز بیماری در ابتدا و انتهای دوره بیشتر

تفکیک انواع پاتوژن‌های بیماری‌زای عمده نظیر استرپتوکوکوس اوبریس، استافیلوکوکوس دیس آگالاکتیه، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و سایر انواع دیگر، به دلیل اپیدمیولوژی خاص خودشان مهم است (25). اطیابی و همکاران (2) با کشت 2094 نمونه شیر از گاوداری‌های اطراف تهران در طول 4 سال گزارش کردند که از این تعداد 30/27 درصد به دلیل عفونت ناشی از انواع استرپتوکوک، 22/11 درصد به دلیل استرپتوکوکوس آگالاکتیه 11/43 درصد به دلیل استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه و 10/16 درصد به دلیل ایکولای بود. استافیلوکوکوس آگالاکتیه، استافیلوکوکوس دیس آگالاکتیه و ایکولای را از شایع‌ترین پاتوژن‌های نیمه حاد گاوداری‌های اطراف تهران گزارش کردند. همت زاده و عقیلی (19) طی یک سال بررسی نشان دادند که 55/8 درصد از باکتری‌های جدا شده به دلیل ایکولای، عمده‌ترین عامل ورم پستان بودند و بعد از آن استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس دیس آگالاکتیه 44/2 درصد به دلیل عوامل محیطی بودند. استافیلوکوکوس اورئوس هم در حالت ورم پستان حاد و هم تحت بالینی باعث کاهش تولید شیر در حد متوسط می‌شود

است و حتی منجر به رده بندی مجدد گاوهای نر از نظر قدرت انتقال به نتاج شده است (21).

جدول 6- احتمال بروز پستان به تفکیک نوع پاتوژن با توجه به فاصله زایش (ماه)
Table 6- Probability of pathogen based mastitis according to stage of lactation

درصد در ردیف Percent in Row	فاصله بین زایش تا بروز ورم پستان (ماه) Interval between calving and mastitis disease (month)														کل Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
درصد در ستون Percent in Column															
اشریشیاکولی E.coli	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	33.33 25.00	0.00 0.00	3.33 12.50	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	3.33 20.00	3 6.00
استرپتوکوک Streptococcus	10.00 25.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	10.00 20.00	30.00 37.50	30.00 50.00	10.00 50.00	0.00 0.00	0.00 0.00	10.00 20.00	10 20.00
استافیلوکوک Staphylococcus	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	16.67 33.33	16.67 25.00	16.67 25.00	16.67 20.00	16.67 12.50	0.00 0.00	16.67 50.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	6 12.00
باسیلوس Bacillus	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	100.00 16.67	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	1 2.00
بدون پاتوژن Without pathogen	10.00 75.00	10.00 100.00	3.33 100.00	6.67 100.00	6.67 66.67	10.00 75.00	6.67 50.00	10.00 60.00	10.00 37.50	6.67 33.33	0.00 0.00	3.33 100.00	6.67 100.00	10.00 60.00	30 60.00
کل Total	4 8.00	3 6.00	1 2.00	2 4.00	3 6.00	4 8.00	4 8.00	5 10.00	8 16.00	6 12.00	2 4.00	1 2.00	2 4.00	5 10.00	50 100.00

جدول 7- احتمال بروز ورم پستان به تفکیک نوع پاتوژن با تعداد سلول‌های بدنی
Table 7-Probability of specific pathogen mastitis with somatic cell counts

درصد در ردیف Percent in Row	دسته بندی تعداد سلول‌های بدنی شیر (به ازای هر 500 هزار سلول) Classification of milk somatic cell counts (500.000 cells)							کل Total
درصد در ستون Percent in Column	1	2	3	4	5	6	7	
اشریشیاکولی E.coli	3.33 4.55	3.33 9.09	3.33 20.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	3 6.00
استرپتوکوک Streptococcus	30.00 13.64	20.00 18.18	10.00 20.00	20.00 100.00	10.00 16.67	10.00 50.00	0.00 0.00	10 20.00
استافیلوکوک Staphylococcus	3.33 9.09	3.33 18.18	0.00 0.00	0.00 0.00	3.33 3.33	0.00 0.00	0.00 0.00	6 12.00
باسیلوس Bacillus	0.00 0.00	100.00 9.09	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	0.00 0.00	1 2.00
بدون پاتوژن Without pathogen	53.33 72.73	16.67 45.45	10.00 60.00	0.00 0.00	10.00 50.00	3.33 50.00	6.67 100.00	30 60.00
کل Total	22 44.00	11 22.00	5 10.00	2 4.00	6 12.00	2 4.00	2 4.00	50 100.00

بیشترین فراوانی E.coli در مقادیر پایین شمار سلول‌های بدنی مشاهده شد (جدول 7).

بر اساس دسته بندی صورت گرفته برای مقدار تولید شیر به ازای هر 10 کیلوگرم، مشخص شد که با افزایش تولید، احتمال ابتلا به استرپتوکوک افزایش می یابد اما برای استافیلوکوک تغییری مشاهده نشد. تمامی آلودگی با E.coli در دسته تولید بین 30 تا 40 کیلوگرم مشاهده شد که ممکن است به دلیل باز بودن طولانی مدت تر سرپرستان‌ها پس از شیردوشی و ورود آلودگی‌های بستر در هنگام استراحت دام باشد (جدول 8). بر اساس تحقیقی که در فنلاند انجام شده است، پاتوژن ایکولای باعث 10/6% کاهش تولید شیر در 305 روز تولید و یا معادل 3/5 کیلوگرم در روز می شود و با کنترل آن می توان باعث افزایش تولید قابل توجهی شد (18). والیمونت و همکاران (33) همبستگی ژنتیکی بین بروز ورم پستان و مقدار تولید شیر را از 0/03 تا 0/40 و بخصوص طی اولین دوره شیردهی (0/04 تا 0/40) گزارش کردند. اگر ورم پستان در اوایل شیردهی رخ دهد، کاهش تولید ناشی از آن به مراتب شدیدتر خواهد بود (18).

الگوهای پیک تعداد سلول‌های بدنی در یک دوره شیردهی می-تواند از نظر شناسایی نوع وقوع ورم پستان وابسته به حضور پاتوژن موثر باشد، به عنوان مثال E.coli دارای پیک کوتاه و استافیلوکوکوس اورئوس دارای پیک طولانی تری هستند (10، 17). به دلیل آنکه پاتوژن‌های مسبب ورم پستان الگوهای عفونت زایی متفاوتی دارند (به طور مثال؛ طول دوره عفونت، افزایش تعداد سلول‌های بدنی، دوره‌های سلامتی و بیماری خود بخودی)، میزان ضررهای اقتصادی آنها متفاوت خواهد بود (17).

برای بررسی رابطه بین تعداد سلول‌های بدنی با حضور عامل بیماریزا، جدول 7 نشان می دهد که به ازای افزایش هر 500 هزار سلول بدنی تفاوتی بین حضور E.coli یا استافیلوکوک مشاهده نمی-شود، اما در مورد حضور استرپتوکوک، ارتباط کاهشی بین افزایش تعداد سلول‌های بدنی با آن وجود داشت. گرین و همکاران (14) گزارش کردند که ورم پستان بالینی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس اوبریس با افزایش مقدار حداکثر شمار سلول‌های بدنی شیر همراه است، در حالی که در ورم پستان ناشی از اشریشیاکولی میزان ضریب تغییرات (انحراف معیار تقسیم بر میانگین) سلول‌های بدنی شیر افزایش می یابد.

در موارد ورم پستان تحت بالینی، پاتوژن‌ها به اندازه کافی باعث تخریب بافت آلوتول‌ها نمی شوند که در شیر مشاهده شود، اما عفونت از طریق افزایش تعداد سلول‌های بدنی قابل تشخیص است. لذا، تعداد این سلول‌ها ابزاری برای حذف غیراختیاری گاوها محسوب می شوند (5). در این تحقیق نیز تعداد این سلول‌ها بر بروز ورم پستان معنی دار بود. گرین و همکاران (14) گزارش کردند که بهترین شاخص برای بررسی احتمال بروز ورم پستان استفاده از حداکثر شمار سلول‌های بدنی شیر در طول دوره شیردهی به جای استفاده از میانگین هندسی آن برای یک دوره می باشد. توزیع تعداد سلول‌های بدنی شیر با پاتوژن‌های متفاوت مسبب ورم پستان مرتبط است. افزایش انحراف استاندارد شمار سلول‌های بدنی شیر با ورم پستان ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس اوبریس و افزایش ضریب تغییرات شمار سلول‌های بدنی با ورم پستان ناشی از اشریشیاکولی مرتبط است. افزایش میانگین هندسی تعداد سلول‌های بدنی شیر خطر ابتلا به ورم پستان ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس را افزایش و ورم پستان ناشی از ایکولای را کاهش می دهد. در این مطالعه نیز

جدول 8- احتمال بروز ورم پستان به تفکیک نوع پاتوژن با مقدار تولید شیر

Table 8- Probability of pathogen specific mastitis with milk production

درصد در ردیف Percent in Row	مقدار تولید شیر (کیلوگرم) Milk production (Kg)				کل Total
درصد در ستون Percent in Column	20<	20-30	30-40	40>	
اشریشیاکولی E.coli	0.00	0.00	100.00	0.00	3 6.00
استرپتوکوک Streptococcus	10.00	50.00	40.00	0.00	10 20.00
استافیلوکوک Staphylococcus	4.00	4.00	4.00	0.00	6 12.00
باسیلوس Bacillus	0.00	100.00	0.00	0.00	1 2.00
بدون پاتوژن Without pathogen	13.33	23.33	46.67	16.67	30 60.00
کل Total	7 14.00	15 30.00	23 46.00	5 10.00	50 100.00

توسط مرکز اصلاح فراهم آید. از سویی دیگر، کشت میکروبی شیر نیز می تواند به بررسی انواع پاتوژن های بیماریزای رایج و شایع در کشور کمک نماید.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی شماره 2-01-01-88001 موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی می باشد و بدینوسیله نویسندگان از کلیه کسانی که در اجرای این پروژه همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می نمایند. گزارش نهایی پروژه با شماره فروست 43790 در مرکز اطلاعات و مدارک علمی کشاورزی موجود می باشد.

نتیجه گیری کلی

بر اساس نتایج، همبستگی ژنتیکی بین سلول های بدنی و بروز ورم پستان (0/71) بالا است و امکان بهبود ژنتیکی گله های شیری و انتخاب گاوهای مقاوم به بیماری، با انتخاب گاوهای با سلول های بدنی پایین تر وجود دارد. به این دلیل، پیشنهاد می شود که گله های صنعتی تحت پوشش رکوردگیری معاونت بهبود تولیدات دامی، به اطلاعات سلول های بدنی توجه ویژه نشان دهند و مرکز اصلاح نژاد دام کشور نیز مقادیر ارزش اصلاحی این صفت را در گاوهای ماده و نرهای مورد استفاده در طرح اسپرم گیری را پیش بینی و در گزارشات شش ماهه و یا در کاتالوگ های اسپرم درج نماید. از آنجایی که ثبت اطلاعات بیماری، بسیار پراکنده بوده و توسط خود واحدهای دامداری انجام می شود، پیشنهاد می شود امکان ثبت متمرکز این اطلاعات

منابع

1. Alam, A., C. I. Cho., T. J. Choi., B. Park., J. G. Choi., Y. H. Choy., S. S. Lee, and K. H. Cho. 2015. Estimation of genetic parameters for somatic cell scores of Holsteins using multi-trait lactation models in Korea. Asian Australas. Journal of Animal Science, 28(3): 303-310.
2. Atyabi, N., M. Vodjgani, F. Gharagozloo, and A. Bahonar. 2006. Prevalence of bacterial mastitis in cattle from the farms around Tehran. Iranian Journal of Veterinary Research, 7(3):76-79.
3. Ayareh, M., and A. Mirzaei. 2014. Factors affecting milk somatic cell count of cows with clinical mastitis. Journal of Veterinary Research, 69(2):127-132. (In Persian)
4. Boettcher, P. J., J. C. M. Dekkers, and B. W. Kolstad. 1998. Development of an udder health index for sire selection based on somatic cell score, udder conformation, and milking speed. Journal of Dairy Science, 81:1157-1168.
5. Caraviello, D. Z. 2004. Selection for Clinical Mastitis and Somatic Cell Count. Dairy Updates. Reproduction and Genetics, No. 613
6. Carlen, E., E. Strandberg, and A. Roth. 2004. Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell score, and

- production in the first three lactations of Swedish Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 87(9):3062–3070.
7. Čítek, J., V. Řehout, L. Hanusová, A. Míková, and I. Jašková. 2011. Polymorphisms in CGIL4, breeding value for somatic cell count and resistance to mastitis. *Czech Journal of Animal Science*, 56(7): 301–304.
 8. de Haas, Y., H. W. Barkema, and R. F. Veerkamp. 2002. Genetic parameters of pathogen-specific incidence of clinical mastitis in dairy cows. *Animal Science*, 74: 233–242.
 9. de Haas, Y., H. W. Barkema, and R. F. Veerkamp. 2002. The effect of pathogen-specific clinical mastitis on the lactation curve for somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, 85(5):1314–1323.
 10. de Haas, Y., H. W. Barkema, Y. H. Schukken, and R. F. Veerkamp. 2003. Genetic associations for pathogen-specific clinical mastitis and patterns of peaks in somatic cell count. *Animal Science*, 77(2):187–195.
 11. Firouzi, R., H. Rajaiian, I. Tabaei, and A. Saeedzadeh. 2010. In vitro antibacterial effects of marbofloxacin on microorganisms causing mastitis in cows. *Journal of Veterinary Research*, 65(1): 51–55. (In Persian)
 12. Gharagozloo, F., A. Erfanmanesh, and A. Bahonar. 2001. A survey of milk quality and occurrence of mastitis by bacteriological method and somatic cell count (SCC) in industrial farms around city of Karadj. Pages 95–106 in *Proceeding of 1st special committee of milk and dairy industry*.
 13. Gilmour, A.R., B.R. Cullis, S.J. Welham, and R. Thompson. 2000. *ASREML*. NSW Agriculture, Orange, Australia.
 14. Green, M. J., L. E. Green, Y. H. Schukken, A. J. Bradley, E. J. Peeler, H. W. Barkema, Y. de Haas, V. J. Collis, and G. F. Medley. 2004. Somatic cell count distributions during lactation predict clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 87(5):1256–1264.
 15. Haile-Mariam, M., M. E. Goddard, and P. J. Bowman. 2001. Estimates of genetic parameters for daily somatic cell count of Australian dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 84(5):1255–1264.
 16. Haugaard K., B. Heringstad, and A. C. Whist. 2012. Genetic analyses of pathogen-specific clinical mastitis in Norwegian Red cows. *Journal of Dairy Science*, 93(3):1545–1551.
 17. Haugaard, K., B. Heringstad, and A. C. Whist. 2013. Genetic associations between somatic cell score and pathogen-specific subclinical mastitis in Norwegian Red cows. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 130(2):98–105.
 18. Heikkilä, A., M., E. Liski, S. Pyörälä, and S. Taponen. 2018. Pathogen-specific production losses in bovine mastitis. *Journal of Dairy Science*, 101(10):9493–9504.
 19. Hemmatzadeh, F., and S. Aghili. 2000. Isolation and identification of antibiotic resistant bacteria from bovine mastitis. *Iranian Journal Veterinary Research*, University of Shiraz, 1(2): 133–136.
 20. Heringstad, B., R. Rekaya, D. Gianola, G. Klemetsdal, and K. A. Weigel. 2003. Bivariate analysis of liability to clinical mastitis and to culling in first-lactation Cows. *Journal of Dairy Science*, 86(2):653–660.
 21. Heringstad, B., D. Gianola, Y. M. Chang, J. Ødegård, and G. Klemetsdal. 2006. Genetic associations between clinical mastitis and somatic cell score in early first-lactation cows. *Journal of Dairy Science*, 89(6):2236–2244.
 22. Mostert, B. E., C. Banga, E. Groeneveld, and F. H. J. Kanfe. 2004. Breeding value estimation for somatic cell score in South African dairy cattle. *South African Journal of Animal Science*, 34 (Supplement 2): 32–34.
 23. Nash, D. L., G. W. Rogers, J. B. Cooper, G. L. Hargrove, J. F. Keown, and L. B. Hansen. 2000. Heritability of clinical mastitis incidence and relationships with sire transmitting abilities for somatic cell score, udder type traits, productive life, and protein yield. *Journal of Dairy Science*, 83(10):2350–2360.
 24. Nash, D. L., G. W. Rogers, J. B. Cooper, G. L. Hargrove, and J. F. Keown. 2003. Heritability of intramammary infections at first parturition and relationships with sire transmitting abilities for somatic cell score, udder type traits, productive life, and protein yield. *Journal of Dairy Science*, 86(8):2684–2695.
 25. Olde Riekerink, R. G. M., H. W. Barkema, and H. Stryhn. 2007. The effect of season on somatic cell count and the incidence of clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 90(4):1704–1715.
 26. Reggio, V., B. Portolano, H. Bovenhuis, and S. C. Bishop. 2010. Genetic parameters for somatic cell score according to udder infection status in Valle del Belice dairy sheep and impact of imperfect diagnosis of infection. *Genetics Selection Evolution*, 42:30. doi: 10.1186/1297-9686-42-30.
 27. Rupp, R., and D. Boichard. 1999. Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell score, production, udder type traits, and milking ease in first lactation Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 82:2198–2204.
 28. Salaki K, and H. Moradi. 2011. Bacterial agents of mastitis in dairy cow farms in Ilam city. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 20(4): 88–95. (In Persian)
 29. SAS Institute Inc. 2009. *Base SAS ® 9.2 Procedures Guide*. Cary, NC: SAS Institute Inc.
 30. Sharifi, H., M. Badaghabadi, M. Adeli Sardooei, J. Kaboutari Kataj, and H. Babaei. 2016. Cumulative incidence of mastitis in dairy herds in Tehran province. *Journal of Veterinary Research*, 71(3):271–275. (In Persian)
 31. Szumilas, M. 2010. Explaining odds ratio. *Journal of the Canadian Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 19(3):227–229.
 32. Urioste, J. I., J. Franzén, and E. Strandberg. 2010. Phenotypic and genetic characterization of novel somatic cell

- count traits from weekly or monthly observations. *Journal of Dairy Science*, 93(12):5930–5941.
33. Vallimont, J. E., C. D. Dechow., C. G. Sattler, and J. S. Clay. 2009. Heritability estimates associated with alternative definitions of mastitis and correlations with somatic cell score and yield. *Journal of Dairy Science*, 92(7): 3402–3410.
34. Windig , J. J., W. Ouweltjes, J. ten Napel, G. de Jong, R. F. Veerkamp, and Y. De Haas. 2010. Combining somatic cell count traits for optimal selection against mastitis. *Journal of Dairy Science*, 93(4):1690–1701.
35. Zakizadeh, S., M. A. Abbasi, B. Saremi, H. Rashid. 2018. Factors affecting milk somatic cell Counts and its parameter estimation in Holstein of Khorasan Razavi province by random regression. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 9(4): 471-483. (In Persian)



Factors Affecting Mastitis, the Frequency of Pathogens and Estimation of Genetic Parameters

Sonia Zakizadeh^{1*}, Behnam Saremi², Hossein Rashid³, Mahnaz Najafi⁴, Sima Savar Sofla⁵

Received: 07-11-2018

Accepted: 12-05-2019

Introduction: Mastitis refers to inflammation of the mammary gland and is a common and costly bacterial disease in the dairy industry that causes direct economic losses (reduced milk production, early culling of cattle from the herd and high costs of treatment) and indirect (reducing the quality of milk production). The disease is divided into two types of acute and subclinical, which the clinical type is associated with clear clinical symptoms. Infection can have different origins and can be caused by various pathogens such as *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus obri* and *Klebsiella Pneumoniae*.

Management Improvement is not being alone able to control the disease of mastitis, because the environmental organisms causing the disease cannot be eliminated. As a fact, there are genetically different factors affecting on susceptibility to mastitis. Therefore, breeding in order to increase resistance to mastitis is a powerful tool to reduce the incidence of this disease. In most countries, this disease simply does not record like as the other health traits. On the other hand, there is an unpleasant correlation between milk production and the number of somatic cells count as an indirect indicator of mastitis.

Due to the low heritability of mastitis, a direct selection is very difficult to reduce the disease, and most countries that have a genetic evaluation for mastitis resistance, generally use the number of milk somatic cell as an indirect indicator. Considering the positive correlation between mastitis and somatic cell count, in the genetic evaluation of mastitis, a somatic cell count is used. On the other hand, the heritability of somatic cell is more than mastitis, and it has been estimated from 0.04-0.16 in the first lactation by test day method

The aim of this study was to investigate the factors affecting the incidence of mastitis, estimation of variance components and frequency of pathogens.

Materials and Methods: A total of 22722 records of Holstein cows' mastitis in 6 herds in Khorasan Razavi province. Environmental effects of mastitis were analyzed by the logistic procedure of SAS software. These effects included of the herd, year and month of calving, lactation number, stage of lactation, the first and the second degree of regression coefficients of days in milk and SCC, respectively. Variance components of mastitis were estimated by considering effects of herd, year and month of calving, lactation number, milk production, Somatic cell count, days in milk and pedigree in a logistic model of ASREML software. Sixty milk samples were collected to culture the most frequent pathogens of mastitis.

Results and Discussion: Our study showed that 12% of cows showed mastitis at least once during their lactation, which was the most likely outbreak in 9-12 months of lactation; however, 5% of all cows had mastitis during the first 150 days of lactation in all lactation periods. Analysis of variance revealed that all factors of the model were significant ($P<0.01$). Mastitis was reduced by the 4th lactation number and increased then after. Mastitis rate showed a decreasing trend in February and during the studied years, which interpreted improvement in this trait. The heritability of mastitis, somatic cell score and their genetic and phenotypic correlations were

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

2-Head of EMEA Technical Center, Frankfurt, Germany

3-Animal Science Department of Promotion of Animal Products. Mashhad, Iran

4-Microbial Laboratory of Veterinary Organization, Mashhad, Iran

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

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

DOI:10.22067/ijasr.v11i4.76477

estimated 0.037 ± 0.0008 , 0.055 ± 0.008 , 0.712 ± 0.112 and 0.062 ± 0.009 , respectively. The microbial culture showed different patterns of pathogen-related mastitis during the stage of lactation. The highest cultured bacterial strains were *Streptococcus aureus* (20%) and *Staphylococcus agalactiae* (12%). The *E. coli* bacteria, which mainly cause environmental mastitis, accounted for 6% of all samples. It was found by the interval between calving and microbial culture time, the highest amount of *E. coli* was observed in the second half of lactation, while the *streptococcus* from the eighth month and *staphylococcus* from the fifth month to the end of the period was observed. Based on the classification of milk production per 10 kg, it was found that by increasing production, the risk of *Streptococcus* increased, but no change was observed for *staphylococci*. All *E. coli* contamination was observed in cows producing range between 30 and 40 kg, which may be due to the long openness of the nipples after being milked and entering the pathogens during the resting time of cattle.

Conclusion: This study revealed that there was a high genetic correlation between the somatic cell count and mastitis infection (0.71). Hence, there is a possibility to genetically improve dairy herds by selection of resistant cows with lower somatic cells. Therefore, it is strongly suggested that the industrial herds take into account the milk somatic cell records. On the other hand, The National Animal Breeding Center and Promotion of Animal Products, should report the breeding values of this trait every six-month. Since the information of mastitis outbreak is highly scattered and done by herds individually, it is suggested that a central database of this information be provided by National Animal Breeding Center and Promotion of Animal Products.

Keywords: Logistic Model, Microbial Culture, Pathogen-Specific Mastitis, Variance Components.

Contents

Ruminant Nutrition

- Effects of roasting and extruding heat processes on chemical composition, degradability fractions and intestinal digestibility of dry matter and crude protein of whole soybeans** 411

H. Khorasani, M. Bashtani, A. Forughi, H. FarhangFar and F. Ganji

- Gas Production and *In vitro* Digestibility of Various Sources of Non-fiber Carbohydrates and Rumen Degradable Protein** 423

E. esmaili doabi, J. Bayatkouhsar, F. Rezaii, Y. Mostafalou and A. M. Gharebash

- Investigation the buffering capacity of some native alkalizer and buffer compounds and their effect on fermentation and rumen digestion parameters *in vitro*** 435

S. M. Vaghar Seyedin, M. Mojtahedi, S. E. Ghiasi and M. H. Fathi Nasri

- The effects of different fat sources during late pregnancy and early lactation on apparent digestibility, rumen parameters, and milk fatty acid pattern of Afshari ewes** 448

M Ghahremani, A Taghizadeh, A Hosseinkhani, HR Mirzaei Alamouti, GH Moghaddam and H Paya

Poultry Nutrition

- Determination of Chemical Composition and Metabolisable Energy Irradiated Barley Grain in Broiler Chickens and Cockerels** 461

L. Bornaei, S. Salari and N. Erfanimajd

- Use of essential oils in broiler chickens: *In-vitro* antimicrobial activities and effects on growth performance, intestinal morphology and microflora** 478

A. Khatibjoo, M. Aalaei, F. Fattahnia, M. Neamati, M. Hafezi-ahmadi and H. Farzadi

Genetic and Breeding

- Evaluation of the genetic diversity of Iranian Arabian horses** 487

S Jabbari, MR Mashayekhi, A Hasanpour and B Shirmohammadly

- Study of variations, prediction of variance components and genetic parameters of survival distribution function in Kermani ewes** 498

M. Kord, M. R. Mohammadabadi, A. Esmailizadeh Koshkoieh and A. Barazandeh

- Structural analysis of aspartate kinase enzyme in *Corynebacterium* species** 511

to find the best enzyme structure for high industrial production of lysine amino acid

M. Hashemi Attar, M. Nassiri, A. Javadmanesh and B. nayeri fasaei

- Factors Affecting Mastitis, the Frequency of Pathogens and Estimation of Genetic Parameters** 525

S. Zakizadeh, B. Saremi, H. Rashid, M. Najafi and S. Savar Sofla

« Scientific Journal »
Iranian Journal of Animal Science Research

Vol. 11

No. 4

Winter 2020

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
M. Chaji	Ruminant Nutrition	(Asso. Prof.)	Agricultural Science and Natural Resources University Of Khuzestan
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
A. Hassanabadi	Poultry Nutrition	(Prof.)	(F.U.M.)
B. Dastar	Poultry Nutrition	(Prof.)	Gorgan Agricultural and Natural Resources University
J. Zamiri	Animal Physiology	(Prof.)	Shiraz University
N. Pirani	Genetics & breeding	(Asso. Prof.)	Shahre kord University
M.R. Nassiri	Genetics & breeding	(Prof.)	(F.U.M.)
M. Tahmoorepour	Genetics & breeding	(Prof.)	(F.U.M.)
S. Zerehdaran	Genetics & breeding	(Prof.)	(F.U.M.)
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>