



عنوان مقالات

تدبیه نشخوارکنندگان

تعیین ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم گیاه آستراگالوس بودولوبوس (*Astragalus podolobus*) در مراحل مختلف فنولوژیکی و مقایسه آن با چند گیاه شورزیست در شرایط آزمایشگاهی..... ۱
فاطمه عقیلی پور، جواد بیات کوهسار، فرزاد قنبری و مجید محمد اسماعیلی

تأثیر همزمانی ماده مغذی بر تخمیر شکمبه‌ای، ساخت پروتئین میکروبی و تعادل نیتروژن در گوسفند ۱۹
طاهر یلچی، جمال سیف دواتی و رضا سید شریفی

تأثیر روش‌های مختلف عمل‌آوری فیزیکی و بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی و تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای دانه‌ای ذرت..... ۳۵
حسین اصغر حسن زاده، فریا فریور، جواد بیات کوهسار و فرزاد قنبری

تدبیه طیور

تأثیر پودر گیاه دارویی کنترفرکتی (*Cynara scolymus*) بر عملکرد، جمعیت میکروبی ایلئوم، آنزیم‌های کبدی و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی..... ۴۷
علی تقی شکری، صیغعلی ورمقانی، محمد اکبری قرانی، کامران طاهرپور، علی خطیب‌جو و مهدی سلطانی

تعیین معادلات رگرسیونی پیش‌بینی مقادیر انرژی قابل متابولیسم ارقام پر تولید جو در ایران و مقایسه نتایج حاصل با نتایج روش NIRS و ارقام مندرج در جداول NRC بر اساس عملکرد جوجه‌های گوشتی نر..... ۶۱
احمد ملک زادگان، احمد حسن آبادی، حسن نصیری مقدم، حسین مروج و حیدر زرقی

ارزیابی اثر افزودن عصاره الکلی گیاهان دارویی آویشن شیرازی و سرخارگل به جیره بر عملکرد، خصوصیات لاشه، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و وضعیت ایمنی جوجه‌های گوشتی..... ۷۵
رضا فرخ‌نیا، فرید مسلمی‌پور، شهریار مقصودلو و فرزاد قنبری

اثر عصاره گیاه جای ترش بر سامانه ایمنی، وضعیت پاداکسیدانی پلاسما، تعادل اکسیدانی و فراسنجه‌های عملکردی و بیوشیمیایی خون مرغ‌های تخم‌گذار مسن..... ۸۷
شهن ثابت سروستانی، سید محمد حبیبی و سید همایون فرهنگفر

ژنتیک و اصلاح

بررسی چند شکلی ژن بومس (پروایپومالانو کورتین) و ارتباط آن با صفات رشد در جوجه‌های گوشتی ۱۰۳
حجت جعفری زاده، محمد باقر منتظر تربتی و سید همایون فرهنگفر

بهنه‌سازی پارامترهای روش‌های یادگیری ماشین بر ارزیابی ژنومی صفات گسته دودویی با در نظر گرفتن ساختار جمعیت و توزیع‌های متفاوت فنوتیپ در جمعیت مرجع ۱۱۳
یوسف نادری

بررسی اثر چند ریختی تک نوکلئوتیدی BIEC2-808543 ژن LCORL بر اندازه بدنی اسب عرب ایرانی ۱۲۵
زیا ابریشمی مقدم، سید محسن میراسماعیلی، مرتضی یطرف ثانی و سید مرتضی سیفتی

Contents

Ruminant Nutrition

Determination of Chemical Composition, Gas Production Parameters and *in vitro* Digestibility of *Astragalus podolobus* in Different Phenological Stages and Comparison with some Halophyte Plants..... 16
F. Aghili pour- J. Bayat Koohsar- F. ghanbari and M. M. Esmaili

Effect of Nutrient Synchrony on Ruminant Fermentation, Microbial Protein Synthesis and Nitrogen Balance in Sheep 32
T. Yalchi, J. Seifdavati and R. Seyed Sharifi

The Effect of Different Processing Methods (Physical and Biological) on Chemical Composition and Ruminant Degradability of Corn Grain..... 44
H. A. Hossein zadeh, F. Farivar, J. Bayat Kouhsar and F. ghanbari

Poultry Nutrition

Effect of *Cynara Scolymus* on Microbial Population, Liver Enzymes and Immune System in Broiler Chickens under Cold Stress Condition 59
A. Shokri, S. Varmaghany, M. Akbari Gharaei, K. Taherpour, A. Khatibjoo and M. Soltani

Developing Regression Predictive Equations for Metabolizable Energy of High-Yielding Iranian Barley Varieties and Comparison with NIRS Method and the Values Indicated in the NRC Tables Based on the Performance of Male Broiler Chickens 72
A. Malakzadegan, A. Hassanabadi, H. Nassiri Moghaddam, H. Moravej and H. Zarghi

Evaluation of the Effect of Adding Coneflower and Thyme Extracts to Diet on Performance, Carcass Characteristics, Blood Parameters and Immunity Status of Broiler Chickens 85
R. Farrokhnia, F. Moslemipur, Sh. Maghsoudlou and F. Ghanbari

The Effect of Sour Tea (*Hibiscus sabdariffa*) Plant Extract on Immune System, Plasma Antioxidant Status, Oxidant Balance and Blood Biochemical and Functional Parameters of Old Laying Hens..... 100
Sh. Sabet Sarvestani, S. M. Hosseini and S. H. Farhangfar

Genetic and Breeding

Study of *POMC* (Pro-Opiomelanocortin) Gene Polymorphism and its Association with Growth Traits of Broiler Chicks..... 111
H. Jafarizadeh, M. B. Montazer Torbati and S. H. Farhangfar

The Effect of Parameters Tuning of Machine Learning Methods on Genomic Evaluation of Discrete Traits Considering Population Structure and Different Distributions of Phenotype in Training Set..... 123
Y. Naderi

Effect of BIEC2-808543 Near *LCORL* on Body Size of Iranian Arab horse 132
Z. Abrishami-Moghaddam, S. M. Miresmaeli, M. Bitaraf Sani and S. M. Seifati

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 ۱۲ شماره ۱ بهار ۱۳۹۹

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: دکتر حسن نصیری مقدم

سرمدبیر: 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
۱	تعیین ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم گیاه آستاراگالوس پودولوبوس (<i>Astragalus podolobus</i>) در مراحل مختلف فنولوژیکی و مقایسه آن با چند گیاه شورزیست در شرایط آزمایشگاهی فاطمه عقیلی پور، جواد بیات کوهسار، فرزاد قنبری و مجید محمد اسماعیلی
۱۹	تأثیر همزمانی ماده مغذی بر تخمیر شکمبه‌ای، ساخت پروتئین میکروبی و تعادل نیتروژن در گوسفند طاہر بلچی، جمال سیف دواتی و رضا سید شریفی
۳۵	تأثیر روش‌های مختلف عمل‌آوری فیزیکی و بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی و تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای دانه‌ی ذرت حسین اصغر حسین زاده، فریبا فریور، جواد بیات کوهسار و فرزاد قنبری
	تغذیه طیور
۴۷	تأثیر بودر گیاه دارویی کنگر فرنگی (<i>Cynara scolymus</i>) بر عملکرد، جمعیت میکروبی ایلئوم، آنزیم‌های کبدی و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی علی‌نقی شکری، صیفعلی ورمقانی، محمد اکبری قرائی، کامران طاهرپور، علی خطیب‌جو و مهدی سلطانی
۶۱	تعیین معادلات رگرسیونی پیش‌بینی مقادیر انرژی قابل متابولیسم ارقام پر تولید جو در ایران و مقایسه نتایج حاصل با نتایج روش NIRS و ارقام مندرج در جداول NRC بر اساس عملکرد جوجه‌های گوشتی نر احمد ملک زادگان، احمد حسن آبادی، حسن نصیری مقدم، حسین مروج و حیدر زرقی
۷۵	ارزیابی اثر افزودن عصاره الکلی گیاهان دارویی آویشن شیرازی و سرخارگل به جیره بر عملکرد، خصوصیات لاشه، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و وضعیت ایمنی جوجه‌های گوشتی رضا فرخ‌نیا، فرید مسلمی‌پور، شهریار مقصودلو و فرزاد قنبری
۸۷	اثر عصاره گیاه چای ترش بر سامانه ایمنی، وضعیت پاداکسیدانی پلاسما، تعادل اکسیدانی و فراسنجه‌های عملکردی و بیوشیمیایی خون مرغ‌های تخم‌گذار مسن شهین ثابت سروستانی، سید محمد حسینی و سید همایون فرهنگ‌فر
	ژنتیک و اصلاح
۱۰۳	بررسی چند شکلی ژن پومس (پرواپیوملانو کورتین) و ارتباط آن با صفات رشد در جوجه‌های گوشتی حجت جعفری زاده، محمد باقر منتظر تربتی و سید همایون فرهنگ‌فر
۱۱۳	بهینه‌سازی پارامترهای روش‌های یادگیری ماشین بر ارزیابی ژنومی صفات گسسته دودویی با در نظر گرفتن ساختار جمعیت و توزیع‌های متفاوت فنوتیپ در جمعیت مرجع یوسف نادری
۱۲۵	بررسی اثر چند ریختی تک نوکلئوتیدی BIEC2-808543 ژن LCORL بر اندازه بدنی اسب عرب ایرانی زبیا ابریشمی مقدم، سید محسن میراسماعیلی، مرتضی بیطرف ثانی و سید مرتضی سیفتی

اسامی ارزیابان جلد ۱۲ شماره ۱ (بهار ۱۳۹۹) نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران (به ترتیب الفبا)

مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان	دکتر سید نادر آلبوشوکه
دانشگاه ایلام	دکتر محمد اکبری قرایی
دانشگاه تبریز	دکتر حسین جانمحمدی
دانشگاه فردوسی مشهد	دکتر احمد حسن آبادی
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان	دکتر سعید حسنی
دانشگاه ارومیه	دکتر محسن دانشیار
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان	دکتر بهروز دستار
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری	دکتر عیسی دیرنده
دانشگاه زابل	دکتر محمد رکوعی
دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان	دکتر سمیه سالاری
دانشگاه شهید باهنر کرمان	دکتر رضا طهماسبی
موسسه تحقیقات علوم دامی کشور	دکتر امیرحسین علیزاده قمصری
شرکت کیمیا آنزیم	دکتر مرضیه قدمی کوهستانی
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان	دکتر محمدرضا قربانی
مجتمع آموزش عالی تربت جام	دکتر محسن کاظمی
دانشگاه فردوسی مشهد	دکتر رضا مجیدزاده هروی
دانشگاه یاسوج	دکتر مصطفی محقق دولت آبادی
دانشگاه شهید باهنر کرمان	دکتر محمدرضا محمدآبادی
دانشگاه تربیت مدرس تهران	دکتر علی اکبر مسعودی
دانشگاه آزاد اسلامی - واحد مراغه	دکتر علی نوبخت
دانشگاه آزاد - واحد کرج	دکتر علیرضا نوشری

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@fums.ac.ir 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.

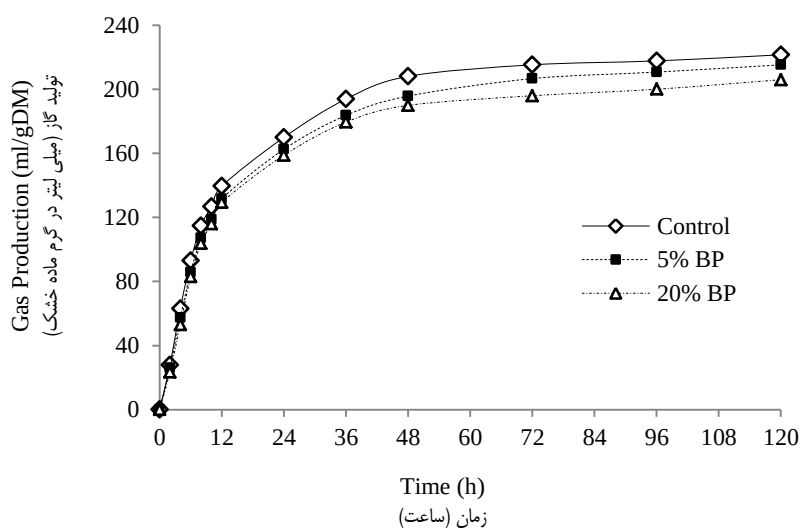
²Blood urea nitrogen

³Aspartate Aminotransferase

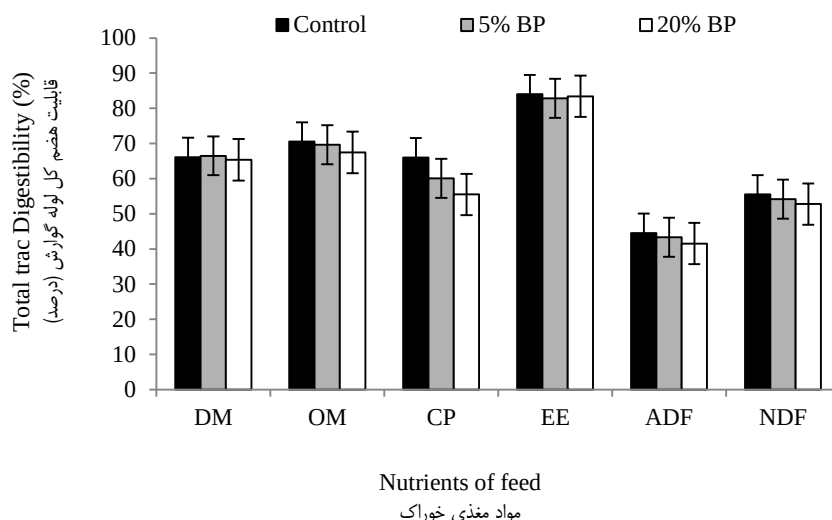
⁴Alanine Aminotransferase

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.

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][illegible][illegible][illegible]

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



تعیین ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم گیاه آستاراگالوس پودولوبوس (*Astragalus podolobus*) در مراحل مختلف فنولوژیکی و مقایسه آن با چند گیاه شورزیست در شرایط آزمایشگاهی

فاطمه عقیلی پور^۱، جواد بیات کوهسار^{۲*}، فرزاد قنبری^۳، مجید محمد اسماعیلی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲۴

چکیده

مطالعه‌ای به منظور تعیین ارزش تغذیه‌ای گیاه آستاراگالوس پودولوبوس و مقایسه آن با چند گونه گیاه شورپسند آتریپلکس کانسنس (*Atriplex canescens*)، سالسولاریجیدا (*Salsola rigida*)، لیسوم (*Lycium barbarum*)، و درمنه دشتی (*Lycium barbarum*) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. گونه‌های مورد مطالعه در سه مرحله رشد فنولوژیکی (رویشی، گل‌دهی و بذردهی) از منطقه داشلی برون گنبد کاووس جمع‌آوری شدند. نتایج نشان داد که در بین گونه‌های مختلف، از نظر ترکیب شیمیایی اختلاف وجود دارد ($P < 0.05$). مقدار ماده آلی در دامنه ۶۳/۷۷ تا ۸۹/۳۳ درصد بود که بالاترین و پایین‌ترین مقدار آن به ترتیب در درمنه دشتی در مرحله گل‌دهی (۸۹/۳۳ درصد) و گونه سالسولا در مرحله بذردهی (۶۶/۵۰ درصد) مشاهده شد. بین گونه‌های مختلف از نظر پتانسیل و نرخ تولید گاز اختلاف وجود داشت ($P < 0.05$); بالاترین مقدار پتانسیل تولید گاز در مرحله رشد رویشی مربوط به گونه درمنه دشتی و در مراحل گل‌دهی و بذردهی مربوط به گونه آتریپلکس بود. گونه سالسولا پایین‌ترین مقدار قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر را داشت. بین گونه‌های مختلف از نظر قابلیت هضم ماده خشک در مرحله رشد رویشی اختلاف وجود داشت ($P < 0.01$). بالاترین و پایین‌ترین قابلیت هضم ماده خشک به ترتیب مربوط به گونه درمنه دشتی (۵۸/۶۶ درصد) و آتریپلکس (۵۰ درصد) بود. بالاترین مقدار عامل تفکیک در مرحله رشد رویشی مربوط به گونه سالسولا (۷/۳۷ میلی گرم بر میلی لیتر) و پایین‌ترین مقدار در مرحله بذردهی مربوط به گونه لیسوم (۳/۴۲ میلی گرم بر میلی لیتر) بود. به طور کلی نتایج نشان داد که گونه‌های آستاراگالوس پودولوبوس و درمنه دشتی در مقایسه با سایر گونه‌ها، از قابلیت هضم ماده خشک، قابلیت هضم ماده آلی و تولید پروتئین میکروبی بالاتری برخوردار بودند.

واژه‌های کلیدی: آستاراگالوس پودولوبوس، ارزش تغذیه‌ای، تولید گاز، گیاهان شورزیست.

مقدمه

قلیایی است که بیشتر در قسمت‌های شمالی استان قرار دارند که بالغ بر ۱۶۷ هزار هکتار وسعت می‌باشد. بخشی از این اراضی با توجه به نوع پوشش گیاهی به عنوان مرتع هم در تغذیه دام استفاده می‌شود. از طرفی، همراه با افزایش شوری خاک و آب در بسیاری از مناطق جهان، چالش‌های جدی در تولید محصولات کشاورزی ایجاد شده است. اما برخی از گیاهان قادر به رشد در زمین‌های شور بوده و می‌توانند با مصرف توسط دام تبدیل به گوشت، شیر، پشم و دیگر محصولات شوند (۱۸). از این گذشته، فقر پوشش گیاهی مراتع و افزایش جمعیت دامی چراکننده همراه با مدیریت ضعیف چرا در مناطق خشک موجب وارد آمدن صدمات جدی به پوشش طبیعی این نواحی شده است.

در راستای اصلاح و احیاء مراتع به ویژه مراتع مناطق خشک و نیمه خشک با داشتن اکوسیستم‌های متفاوت و پیچیده اقدام به کشت

بخش بزرگی از سرزمین ایران در منطقه خشک و نیمه خشک واقع شده است که دارای مناطق وسیع اراضی شور و کویری است و بنا به گزارشات موجود حدود ۱۲/۵ درصد از عرصه کشور به این مناطق تعلق دارد. این مقدار که تقریباً معادل کل اراضی زراعی کشور می‌باشد می‌بایست مورد توجه مدیران، برنامه‌ریزان و کارشناسان قرار گیرد (۲۴).

استان گلستان نیز دارای مناطق بسیار وسیعی از خاک‌های شور و

۱- دانشجو آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشگاه گنبد کاووس

۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشگاه گنبد کاووس

۳- دانشیار، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشگاه گنبد کاووس

*-ایمیل نویسنده مسئول: javadbayat90@gmail.com

خالی بین شاخه‌های بوته از بین رفته و چرا و استفاده دام از آن به سختی و یا به میزان کم صورت می‌گیرد که باید در مدیریت و بهره‌برداری گیاه، به آن توجه شود. با توجه به وسعت رویشگاه شور و قلیایی منطقه مورد مطالعه و نوع پوشش گیاهی که از گونه‌های شورزیست تشکیل شده است، از چندی قبل در برنامه‌ای اقدام به معرفی، تکثیر و توسعه کشت آستاراگالوس پودولوبوس در این منطقه انجام گرفته است (۲). با این حال، مطالعه‌ای در خصوص ارزش تغذیه‌ای این گونه و مقایسه آن با گیاهان عمده و غالب منطقه که عمدتاً شورزیست هستند، انجام نشده است. لذا هدف از انجام این مطالعه، تعیین ارزش تغذیه‌ای گونه آستاراگالوس پودولوبوس و مقایسه آن با چند گونه شورزیست موجود در منطقه با آب و هوای خشک بیابانی و خاک شور بود.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش و گیاهان مورد مطالعه

در این مطالعه، گونه‌های مختلف مورد مطالعه شامل آستاراگالوس پودولوبوس، آتریپلکس کانسنس (*Atriplex canescens*)، سالسولاریجیدا (*Salsola rigida*)، لیسوم (*Lycium barbarum*) و درمنه دشتی (*Lycium barbarum*) در سه مرحله فنولوژیکی (رویشی، گل‌دهی و بذردهی) از منطقه داشلی‌برون گنبد کاووس با مختصات جغرافیایی ۵۵ درجه و ۱۲ دقیقه طول شرقی و ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقه عرض شمالی و ۴۵ متر ارتفاع از سطح دریا، متوسط بارندگی ده ساله در حدود ۴۵۰ میلی‌متر و میانگین دمای سالانه ۲۰ درجه سانتی‌گراد جمع‌آوری شدند. منطقه مورد مطالعه در تمام طبقه‌بندی‌های اقلیمی از نوع خشک بیابانی محسوب شده به نحوی که میانگین بارش سالیانه ۲۲۲/۹ میلی‌متر می‌باشد. بافت خاک منطقه لسی و اسیدیته کل اشباع آن ۸-۷/۸ می‌باشد. برای نمونه‌گیری پنج محل مشخص و در هر محل از سه نقطه و در هر نقطه ده پایه گیاهی شناسایی و از قسمت‌های قابل استفاده دام نمونه‌برداری شد. مقدار نمونه جمع‌آوری حدود نیم تا یک کیلوگرم بود. نمونه‌ها پس از نمونه‌برداری، داخل پاکت کاغذی ریخته شده و روی پاکتها مشخصات منطقه مورد برداشت نمونه‌ها ثبت گردید. به منظور تهیه مخلوطی یکنواخت، نمونه‌های جمع‌آوری شده در آون با درجه حرارت ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید و سپس با استفاده از آسیاب با توری یک میلی‌متر (برای اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی) و ۱/۵ میلی‌متری (آزمایش تولید گاز و قابلیت هضم) آسیاب شدند. اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی نمونه‌های گیاهی شامل ماده خشک، پروتئین خام و خاکستر خام مطابق با روش AOAC (۵) و اندازه‌گیری مقدار الیاف نامحلول در شوینده خشی و اسیدی مطابق با روش ون سوست و همکاران (۵۱) انجام شد. اندازه‌گیری سدیم،

گونه‌های غیربومی وارداتی شد که مشکلات خاص خود را به وجود آورده است. مثلاً در مراتع خشک و نیمه‌خشک استان گلستان گونه‌های وارداتی آتریپلکس کشت می‌گردد که با وجود تولید علوفه مناسب، دارای معایبی از جمله افزایش تدریجی شوری سطح خاک، عدم زادآوری طبیعی گیاه در سال‌های پس از استقرار، ایجاد اختلالات متابولیکی در دام‌ها، اثرات منفی بر گیاهان بومی رویشگاه، افزایش آفات در عرصه مورد کاشت و نابودی گیاه به علت سرمای شدید را نام برد که بی‌شک پس از نابودی، باز کاشت آن علاوه بر کاهش تولید علوفه، موجب افزایش هزینه‌های اقتصادی نیز خواهد گردید (۶). با توجه به موارد اشاره شده فوق، ضرورت معرفی، تکثیر و استقرار گونه‌های بومی با سازگاری و عملکرد بالا احساس می‌شود که در این مورد می‌توان از گونه‌های دیوخر و درمنه نام برد که در مراتع قشلاقی ترکمن صحرا رویش دارد. از بین گونه‌ها می‌توان از گونه بومی ایران آستاراگالوس پودولوبوس با نام فارسی یونجه وحشی نام برد (۴۰). این گونه با ویژگی‌های مناسب علوفه‌ای، دارای سازگاری بالا در مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد که کشت و استقرار آن برای بسیاری از مراتع ایران می‌تواند مورد بررسی قرار گیرد. این گونه محافظ خاک است و علوفه مرغوب و ویژگی‌های بسیار عالی دیگر دارد که می‌توان از آن در توسعه و اصلاح بسیاری از مراتع مناطق خشک و نیمه خشک استفاده کرد (۴۰). این گونه از با ارزش‌ترین گونه‌های بدون خار کشور است که با گستره نسبتاً زیاد در مراتع میان‌بند و بیلاقی، عموماً به صورت گونه همراه در ترکیب تیپ‌های مرتعی مشاهده می‌شود. علاوه بر مقاومت به گرما، به‌شدت به سرما (تا ۳۰- درجه سانتی‌گراد) و یخبندان نیز مقاوم می‌باشد (۴۰). از ویژگی‌های جالب این گیاه تغییر فرم رویشی آن در اقلیم‌های مختلف می‌باشد. به‌طوری‌که در اقلیم نیمه‌خشک که بارندگی بیشتر است و رطوبت بیشتری در دسترس گیاه قرار می‌گیرد، گیاه تقریباً حالت علفی و در مناطق خشک، فرم بوته‌ای و حتی گاهی درختچه‌ای به خود می‌گیرد. ریشه گیاه راست و با انشعابات نسبتاً کم که عمق نفوذ آن در برخی رویشگاه‌ها تا ۸۰ سانتی‌متر اندازه‌گیری شده است. تاج گیاه وسیع و گاهی تا قطر یک متر دیده شده است که به همراه اندام‌های هوایی توپی و فشرده، آن را به عنوان گیاه بسیار مناسبی برای حفاظت خاک معرفی می‌نماید (۴۰). این گونه خوش‌خوراک بوده و به‌خوبی توسط گوسفند، بز و گاو چرا می‌گردد. به‌طوری‌که عموماً این چرا به صورت مکرر و تا سطح طوقه صورت می‌گیرد. با این حال، علی‌رغم این شدت چرا، به واسطه مقاومت بسیار خوب گیاه نسبت به بهره‌برداری‌های نامناسب، از این حیث، کمتر صدمه دیده و عموماً به طور طبیعی به رشد و رویش ادامه می‌دهد و خود را بازسازی می‌نماید. همچنین چرای معقول دام بر روی آن اثر مثبت فیزیولوژیک دارد. به‌طوری‌که اگر گیاه یک سال مورد چرا و بهره‌برداری قرار نگیرد، خشی شده و اندام‌های هوایی آن فشرده می‌گردند که تقریباً فضای

از ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)، CP₁ پروتئین خام (برحسب درصد)، A مقدار خاکستر، CP₂ پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک) و CF چربی خام (بر حسب درصد) می‌باشد.

اندازه‌گیری قابلیت هضم در شرایط آزمایشگاهی

روش تهیه بزاق مصنوعی و جمع‌آوری مایع شکمبه مطابق آنچه در آزمون تولید گاز شرح داده شد، صورت گرفت. pH مخلوط بافر و مایع شکمبه توسط دستگاه pH متر الکترونیکی (مدل ۶۹۱، شرکت Metrohm) کنترل و به ۶/۸ رسانده شد. مقدار ۵۰۰ میلی گرم ماده خشک نمونه‌های آسیاب شده به همراه ۵۰ میلی لیتر بزاق مصنوعی و مایع شکمبه صاف شده به نسبت ۲ به ۱ در ویال‌های شیشه‌ای ۱۲۵ میلی لیتری ریخته و پس از درپوش‌گذاری، در بن ماری با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت تمامی شیشه‌ها از حمام آب گرم خارج و نمونه‌های موجود در هر ویال، با استفاده از پارچه مخصوص از جنس داکرون صاف شده و محتویات هضم نشده هر ویال جمع‌آوری و درون کروزه‌های با وزن مشخص انتقال یافت. کروزه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با درجه حرارت ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس قابلیت هضم ظاهری محاسبه شد. کروزه‌های حاوی محتویات هضم نشده به مدت ۶ ساعت در کوره با دمای ۵۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. این کار به منظور تعیین مقدار خاکستر خام مواد هضم نشده موجود در کروزه‌ها صورت گرفت. میزان نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها با استفاده از روش فنل-هیپوکلریت تعیین گردید (۱۶). بدین منظور از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر جهت قرائت جذب نوری استفاده شد. بازده تولید گاز به صورت حجم گاز تولید شده پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون تقسیم بر مقدار ماده تجزیه شده واقعی (گرم) محاسبه شد. جهت محاسبه توده میکروبی تولید شده از معادله پیشنهاد شده (معادله ۸) بلومل و همکاران (۱۴) استفاده گردید.

$$\text{MCP (mg)} = \text{GP} \times (\text{PF} - 2.2) \quad \text{معادله ۸}$$

در این معادله، MCP تولید توده میکروبی، PF فاکتور تفکیک و GP میلی لیتر گاز تولید شده در زمان ۲۴ ساعت می‌باشد. برای تعیین ماده آلی واقعاً هضم شده پس از پایان انکوباسیون، محتوای شیشه‌ها با محلول شوینده خنثی به مدت یک ساعت جوشانده شد. سپس محلول صاف و باقی‌مانده برای خشک شدن به آون و سپس به کوره منتقل گردید و با کم کردن اعداد بعد آون و بعد کوره از همدیگر، ماده آلی واقعاً هضم شده محاسبه شد. عامل تفکیک (PF) که نسبت میلی گرم ماده آلی حقیقی هضم شده بر میلی لیتر حجم گاز خالص تولیدی می‌باشد، محاسبه شد. بازده توده میکروبی تولید شده با تقسیم توده میکروبی تولید شده بر مقدار ماده آلی حقیقی قابل تخمیر در پایان زمان انکوباسیون و بازده تولید گاز به

پتاسیم با دستگاه فلیم‌فوتومتر (Jenway) و کلسیم، منیزیم و فسفر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری (Biochrom Libera- S22) اندازه‌گیری شدند. مقدار فنل بر اساس روش مالیک و سینگ (۳۳) اندازه‌گیری شد. مقدار کل مواد مغذی قابل هضم (TDN)، انرژی خالص شیردهی (NE_l) و انرژی خالص رشد با استفاده از معادلات ۱، ۲ و ۳ محاسبه شد (۴۱).

$$\text{معادله ۱} \quad \text{TDN (\%)} = 81.38 + (\text{CP} \times 0.36) - (\text{ADF} \times 0.77)$$

$$\text{معادله ۲} \quad \text{NE}_l (\text{Mcal kg}^{-1}) = [(0.0245 \times \text{TDN}) - 0.12]$$

$$\text{معادله ۳} \quad \text{NE}_g (\text{Mcal kg}^{-1}) = [(0.029 \times \text{TDN}) - 1.01]$$

آزمون تولید گاز

برای انجام آزمایش تولید گاز، مایع شکمبه از ۳ راس گوسفند نر نژاد دالاق (۲/۵ ± ۴۵ کیلوگرم) دارای فیستولای شکمبه‌ای و قبل از خوراک صبحگاهی گرفته شد. مایع شکمبه با عبور دادن از چهار لایه پارچه متقال صاف و به نسبت ۲:۱ با محلول بزاق مصنوعی در حضور دی‌اکسید کربن مخلوط و ۳۰ میلی لیتر از این محلول به داخل ویال‌های شیشه‌ای ۱۲۵ میلی لیتری حاوی ۲۰۰ میلی گرم نمونه ریخته شد. سپس سر این ویال‌های شیشه‌ای به کمک درپوش لاستیکی و پوشش آلومینیومی به طور کامل بسته و در حمام آب گرم با دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. به منظور تصحیح گاز تولید شده ناشی از ذرات باقی‌مانده در مایع شکمبه، ۴ تکرار به عنوان بلانک در نظر گرفته شد. فشار گاز تولید شده در فواصل زمانی ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از انکوباسیون با استفاده از دستگاه فشارسنج اندازه‌گیری و حجم گاز تولیدی در هر زمان از رابطه تئودورو و همکاران (۴۹) به دست آمد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک معادله ارسکوف مکدونالد (۴۳) انجام شد:

$$\text{معادله ۴} \quad P = b(1 - e^{-ct})$$

که در این معادله P حجم تولید گاز در زمان t (میلی لیتر به ازاء گرم ماده خشک)، c ثابت نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)، b گاز تولید شده از بخش قابل تخمیر (میلی لیتر) و t مدت زمان انکوباسیون می‌باشد.

قابلیت هضم ماده آلی (معادله ۵) طبق معادله منک و استینگاس (۳۸)، انرژی قابل متابولیسم (معادله ۶) طبق روش منک و همکاران (۳۹) و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (معادله ۷) با استفاده از معادله گتاچیو و همکاران (۲۱) تخمین زده شد.

معادله ۵

$$\text{OMD (\%)} = 14.88 + 0.899\text{GP} + 0.45\text{CP}_1 + 0.065\text{A}$$

معادله ۶

$$\text{CF } 0.0029 + \text{ME (MJ/kg DM)} = 2.20 + 0.136\text{GP} + 0.00574\text{CP}_2$$

معادله ۷

$$\text{SCFA (mmol)} = -0.00425 + 0.0222\text{GP}$$

در این معادلات GP تولید خالص گاز در ۲۴ ساعت (میلی لیتر به

نومولاریا از ۱۹/۸ تا ۳۴/۴ (۵۰)، لینتفورمیس، ۱۲/۳ درصد (۳)، کانسنس، ۱۷/۲ درصد (۴۶) گزارش شده است.

مقدار پروتئین خام برای تمامی گونه‌ها در همه مراحل رشد در دامنه ۱/۹۲ تا ۷/۳۸ درصد قرار داشت. در مطالعه کوچکی و همکاران (۲۷) مقدار پروتئین خام ۱۲ گونه شورپسند بین ۸/۲ تا ۱۹/۲ درصد و در مطالعه باشتنی و همکاران (۱۰) برای پنج گونه شورپسند بین ۶/۲ تا ۱۱/۶۳ درصد گزارش شده است؛ هر چند در این مطالعات یک مرحله رشد در نظر گرفته شده بود. در این مطالعه با افزایش مراحل رشد مقدار پروتئین خام روند نزولی داشت که همسو با نتایج ابرسجی و همکاران (۱) بود. با برداشت گیاهان در سنین بالا، کاهش معنی داری در مقدار نیتروژن همه آن‌ها مشاهده شد (۳۰). به نظر می‌رسد علت کاهش درصد پروتئین همسو با افزایش مراحل رشد این باشد که متناسب با رشد گیاه، قسمت‌های الیافی گیاه توسعه بیشتری یافته و دیواره سلولی به طرف سلولزی شدن پیش می‌رود که از این جهت می‌تواند درصد مواد مغذی و به ویژه پروتئین خام را تحت تاثیر قرار دهد. هرچند پایین بودن مقدار پروتئین خام در مرحله بذردهی به ریزش بذرها نیز نسبت داده شده است (۲۶). ابرسجی و همکاران (۱) با بررسی کیفیت گونه مرتعی سولا (*Hedysarum coronarium*) در سه مرحله فنولوژی نشان دادند که با بالغ شدن گیاه مقدار پروتئین خام کاهش یافته و در مرحله رسیدن بذر به حداقل خود می‌رسد. بخش اعظم پروتئین خام گیاهان شورزیست به صورت ترکیبات غیر-پروتئینی همانند نیترات، گلیسین، بتائین و پرولین است (۳۷). گلیسین، بتائین و پرولین در برگ‌های این گیاهان وجود داشته و به گیاه در زمان استرس‌های کم آبی کمک می‌کنند. هر چند می‌توان بخشی از تفاوت در مقادیر پروتئین خام را به تفاوت در گونه‌های مورد مطالعه نیز نسبت داد. به عنوان مثال، مقدار پروتئین خام در گونه‌ای از آتریپلکس (*Atriplex dimorphostegia*) ۶/۲۲ درصد (۴۷) و آتریپلکس کانسنس ۱۰/۰۴ درصد (۴۶) گزارش شد. همچنین در این مطالعه، بالاترین مقدار پروتئین خام در گونه سالسولا ریجیدا در مرحله گل‌دهی ۴/۶۷ درصد گزارش شد که بسیار پایین‌تر از مقدار گزارش شده (۱۰/۲۳ درصد) توسط رزاقی و همکاران (۴۶) بود.

در این مطالعه، به موازات افزایش مراحل رشد مقدار دیواره سلولی گونه‌های مورد مطالعه روند افزایشی نشان داد و در دامنه ۲۳ تا ۵۳ درصد در مراحل مختلف رشد قرار داشت. الشاعر (۱۸) میزان الیاف برگ‌های گیاهان شورزیست در مناطق بیابانی مصر را در دامنه ۳۰ تا ۴۵ درصد برای NDF و ۱۵ تا ۲۹ درصد برای ADF گزارش کرد. براساس گزارش باشتنی و توکلی (۱۰) میزان فیبر خام پنج گونه گیاه شورپسند بین ۸/۶ تا ۲۰/۵ درصد متغیر بود. مواد فیبری و خاکستر گیاهان شورزیست بالاست و با کاهش پروتئین و انرژی خام، این ترکیبات افزایش یافته و همچنین با پیشرفت در بلوغ گیاهان میزان ترکیبات فیبری آن افزایش می‌یابد. با افزایش سن گیاه نیاز به بافت

صورت حجم گاز تولید شده پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون تقسیم بر مقدار ماده تجزیه شده واقعی (گرم) محاسبه شد.

داده‌های حاصله در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار آماری SAS (۴۸) نسخه ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به ترکیب شیمیایی گونه‌های مرتعی آستاراگالوس پودولوبوس، آتریپلکس کانسنس، سالسولا ریجیدا، لیسیم و درمنه دشتی در سه مرحله رشد رویشی، گلدهی و بذردهی در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بین گونه‌های مورد مطالعه بیشترین ماده آلی در گونه درمنه دشتی (۸۹/۳۳ درصد) در مرحله گلدهی و کمترین ماده آلی در گونه سالسولا (۶۶/۵۰ درصد) در مرحله بذردهی می‌باشد که با بقیه گونه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). از نظر خاکستر خام بالاترین و پایین‌ترین مقدار به ترتیب مربوط به گونه سالسولا در مرحله بذردهی (۳۳/۵۰ درصد) و گونه درمنه دشتی در مرحله رویشی (۱۰/۵۵ درصد) بود ($P < 0.05$). پایین‌ترین مقدار پروتئین خام در مرحله بذردهی مشاهده شد و از این نظر درمنه دشتی (۱/۹۲ درصد) پایین‌ترین و آتریپلکس (۴/۴۶ درصد) بالاترین مقدار بود. با افزایش مراحل رشد، مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی در تمامی گونه‌ها روند افزایشی داشت و از این نظر گونه آستاراگالوس پودولوبوس بالاترین مقدار را در مرحله بذردهی (۵۶/۰۰ درصد) و گونه آتریپلکس کمترین مقدار را در مرحله رویشی (۲۳/۰۰ درصد) داشت.

در مطالعه هرمزی‌پور و همکاران (۲۳) میزان ماده آلی شش گونه گیاهی منطقه سیستان بین ۸۱/۰۸ تا ۹۲/۳۶ درصد گزارش شد. در این مطالعه کمترین مقدار مقدار ماده آلی حدود ۶۶/۵۰ درصد بود که در توافق با نتایج پیروی (۴۴) بود که حداقل مقدار ماده آلی را ۶۳/۷۷ درصد گزارش کرد. به نظر می‌رسد که با افزایش مقدار شوری محیط به علت جذب و تجمع عناصر معدنی و افزایش محتوی خاکستر، سهم ماده آلی گیاهان کاهش می‌یابد (۷). در حقیقت بالا بودن میزان خاکستر در این گونه‌های گیاهی را می‌توان به شوری زیاد خاک و خاصیت این گیاهان در جذب کاتیون‌ها نسبت داد. در بین پنج گونه مورد مطالعه، گونه آستاراگالوس پودولوبوس و درمنه دشتی پایین‌ترین مقدار خاکستر را داشتند. حسینی نژاد و همکاران (۲۵) با بررسی ارزش تغذیه‌ای پنج گونه شورزیست سیستان، بالاترین مقدار خاکستر را مربوط به گیاه سالسولا گرفتیتی (۴۶/۸۷ درصد) گزارش کردند. عمده دلایلی که برای توجیه تفاوت در مقادیر خاکستر خام گونه‌های شورزیست ذکر شده است شامل مرحله فنولوژیکی، اجزای گیاهی، فصل، منطقه رویشی، شرایط متفاوت محیطی و گونه گیاه می‌باشد (۱۱ و ۱۸). مقدار خاکستر گونه‌های مختلف خانواده آتریپلکس در

رویشی و گلدهی بود. در گونه آستاراگالوس پودولوبوس مقدار کل مواد مغذی قابل هضم، مقدار انرژی خالص شیردهی و انرژی خالص رشد در مرحله گلدهی بالاترین و در سایر گونه‌ها در مرحله رویشی بالاترین مقدار بود.

بالاترین مقدار سدیم و پتاسیم در هر سه مرحله فنولوژیکی، در گونه آتریپلکس مشاهده شد. بن‌سالم و همکاران (۱۱ و ۱۲) گزارش کردند ترکیب مواد معدنی گیاهان شورزیست ممکن است به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر نمک‌های موجود در آب و خاک تغییر یابد. غلظت مواد معدنی گیاهان شورزیست وابسته به میزان مواد معدنی تجمع یافته در برگ این گیاهان است. اغلب نمک‌های گیاهان شورزیست به‌صورت کلر و سدیم و کلر و پتاسیم است. با این حال این گیاهان دارای غلظت بالایی از کلسیم، گوگرد و فسفر نیز هستند که می‌تواند باعث عدم تعادل در متابولیسم مواد معدنی دام‌های مصرف کننده شود. پژوهشگران میزان سدیم گونه غالب آتریپلکس را ۴/۱ تا ۷/۹ درصد ماده خشک و کلر را ۱۱ درصد ماده خشک نیز گزارش کردند. سطح مختلف کاتیون- آنیون گونه‌های مختلف آتریپلکس وابسته به معادله مورد استفاده برای محاسبه آن در برخی نمونه‌های جمع‌آوری شده در استرالیا بین ۶۰ تا ۹۰ میلی اک‌ی‌والان در ۱۰۰ گرم ماده خشک تخمین زده شده است. مسترز و همکاران (۳۶) گزارش کردند که پتاسیم، کلسیم و منیزیم می‌توانند در مقادیر حداکثر سطوح قابل تحمل ۲، ۱/۵ و ۰/۶ درصد برای نشخوارکنندگان در گیاهان شورزیست تجمع یابند. مقدار فنل کل بین گونه‌های مختلف در مراحل رشد رویشی و گل‌دهی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، با این حال، بالاترین مقدار فنل در مرحله بذردهی در گونه لیسیموم و پایین‌ترین مقدار در گونه سالسولا مشاهده شد.

ساختمانی افزایش می‌یابد و در نتیجه مقادیر کربوهیدرات‌های ساختمانی آن مانند سلولز و همی‌سلولز و لیگنین آن افزایش می‌یابد (۳۱). گزارش شده است که با افزایش سن علوفه‌های مرتعی، محتوی دیواره سلولی گونه‌های پهن‌برگ و بوته‌ای افزایش می‌یابد (۳۰). ابرسجی و همکاران (۱) گزارش کردند که با پیشرفت مرحله رشد گیاه، از رویشی به بذردهی، کیفیت و ارزش غذایی آن‌ها کاهش می‌یابد. همزمان با رشد تدریجی گیاه نسبت برگ به ساقه کاهش یافته و با رشد کامل گیاه، بیشترین حجم تولید علوفه به ساقه اختصاص دارد که در مرحله رشد رویشی و گلدهی، برگ‌ها و ساقه‌ها تازه و سرسبز هستند و با بالغ شدن گیاه، بر میزان کربوهیدرات‌های ساختاری افزوده می‌شود. زندی‌اصفهانی و همکاران (۵۳) گزارش نمودند که برگ‌ها نسبت به ساقه‌ها معمولاً دارای پروتئین خام بیشتری هستند و بالعکس، ساقه‌ها بیشترین میزان الیاف را دارند. به‌طور کلی، با بلوغ گیاه، غلظت دیواره سلولی در ساقه و برگ افزایش و نسبت محتویات محلول سلول کاهش و میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی افزایش می‌یابد به عبارت دیگر لیگنینی شدن گیاه اتفاق می‌افتد. اختلاف در مواد مغذی گیاهان شورزیست را می‌توان به مرحله برداشت گیاه، شرایط محیطی و آب و هوایی منطقه و توانایی آن‌ها برای دریافت مواد مغذی از خاک نسبت داد. در این مطالعه احتمالاً بتوان بخشی از تغییرات و مغایرت نتایج با سایر مطالعات را به روش متفاوت نمونه‌گیری نسبت داد. در این مطالعه سعی بر این بود که نمونه‌گیری از قسمت‌های قابل مصرف دام گونه‌های گیاهی صورت گیرد. لذا، برای درمئه دشتی نمونه‌گیری شامل برگ و ساقه‌ها بود و برای گونه‌های شورزیست از قسمت‌های برگ صورت پذیرفت. در این مطالعه، مقادیر کل مواد مغذی قابل هضم، انرژی خالص شیردهی و انرژی خالص رشد در مرحله بذردهی پایین‌تر از مراحل

جدول ۱- ترکیب شیمیایی آستاراگالوس پودولوبوس در مراحل مختلف فنولوژیکی و مقایسه آن با چند گیاه شورزیست (درصد ماده خشک)^۱

Table 1- Chemical composition of *Astragalus podolobus* in different phenological stages and compared it with some halophyte plants (% DM)¹

مرحله	تیمارها					میانگین اشتباه استاندارد SEM	سطح معنی داری P-value
	آستاراگالوس پودولوبوس <i>Astragalus podolobus</i>	آتریپلکس کانسنس <i>Atriplex canescens</i>	سالسولا ریجیدا <i>Salsola rigida</i>	لیسیوم <i>Lyceum barbarum</i>	درمئه دشتی <i>Artemisia Sieberi</i>		
مرحله رویشی Vegetation	87.66 ^a	79.66 ^b	76.33 ^c	79.33 ^b	87.00 ^a	0.298	0.0001
مرحله گلدهی Flowering	87.50 ^b	79.16 ^c	69.16 ^e	77.35 ^d	89.33 ^a	0.288	0.0001
مرحله بذردهی Seeding	85.83 ^b	79.5 ^e	66.50 ^e	71.33 ^d	87.00 ^a	0.130	0.0001

ماده آلی
OM

خاکستر خام Ash							
مرحله رویشی Vegetation	10.89 ^c	20.86 ^b	23.22 ^a	20.33 ^b	10.55 ^c	0.567	0.0001
مرحله گلدهی Flowering	12.16 ^d	20.83 ^c	30.83 ^a	22.66 ^b	10.67 ^e	0.288	0.0001
مرحله بذردهی Seeding	14.16 ^d	20.50 ^c	33.50 ^a	28.67 ^b	13.00 ^e	0.130	0.1000
پروتئین خام CP							
مرحله رویشی Vegetation	4.34 ^c	4.76 ^{bc}	4.54 ^c	6.99 ^{ab}	7.38 ^a	0.650	0.0532
مرحله گلدهی Flowering	4.44 ^C	6.32 ^{ab}	4.67 ^{bc}	6.88 ^a	5.08 ^{bc}	0.473	0.0547
مرحله بذردهی Seeding	3.57 ^{ab}	4.46 ^a	2.20 ^{bc}	2.74 ^{bc}	1.92 ^c	0.372	0.0231
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF							
مرحله رویشی Vegetation	34.00 ^a	31.00 ^{ab}	23.00 ^c	28.00 ^{be}	31.00 ^{ab}	1.48	0.022
مرحله گلدهی Flowering	42.00 ^a	42.00 ^a	35.00 ^b	36.00 ^b	35.00 ^b	1.095	0.0103
مرحله بذردهی Seeding	46.00 ^a	53.00 ^{ab}	50.00 ^{ab}	47.00 ^b	37.00 ^c	1.949	0.006
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF							
مرحله رویشی Vegetation	18.00 ^a	9.00 ^b	15.00 ^a	9.00 ^b	16.00 ^a	1.48	0.022
مرحله گلدهی Flowering	15.00 ^{ab}	11.00 ^b	17.00 ^{ab}	13.00 ^b	20.00 ^a	1.78	0.087
مرحله بذردهی Seeding	26.00 ^{ab}	14.00 ^e	27.00 ^a	20.00 ^{bc}	30.00 ^a	1.84	0.0089
همی سلولز HEM							
مرحله رویشی Vegetation	16.00 ^b	22.00 ^a	8.00 ^c	19.00 ^{ab}	15.00 ^b	1.095	0.0021
مرحله گلدهی Flowering	27.00 ^a	31.00 ^a	18.00 ^b	23.00 ^{ab}	15.00 ^b	2.19	0.0174
مرحله بذردهی Seeding	30.00 ^b	39.00 ^a	23.00 ^c	27.00 ^{bc}	7.00 ^d	1.788	0.0005
کل مواد مغذی قابل هضم TDN (%)							
مرحله رویشی Vegetation	69.08 ^b	76.16 ^a	71.46 ^a	76.96 ^a	71.71 ^b	1.17	0.020
مرحله گلدهی Flowering	71.43 ^{abc}	75.18 ^a	70.00 ^{bc}	73.84 ^{ab}	67.81 ^c	1.34	0.057
مرحله بذردهی Seeding	62.64 ^{bc}	72.20 ^a	61.38 ^c	66.96 ^{ab}	58.97 ^c	1.46	0.0078
انرژی خالص شیردهی (مگاژول در کیلوگرم) NEL (mj/Kg)							
مرحله رویشی Vegetation	1.572 ^b	1.746 ^a	1.630 ^b	1.765 ^a	1.637 ^b	0.028	0.020
مرحله گلدهی Flowering	1.630 ^{abc}	1.722 ^a	1.595 ^{bc}	1.689 ^{ab}	1.541 ^c	0.032	0.057

۷ تعیین ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم گیاه آستاراگالوس پودولوبوس...

مرحله بذردهی Seeding	1.415 ^{bc}	1.649 ^a	1.384 ^c	1.521 ^{ab}	1.325 ^c	0.0357	0.0077
انرژی خالص رشد (مگاژول در کیلوگرم) NE _g (mj/Kg)							
مرحله رویشی Vegetation	0.993 ^b	1.199 ^a	1.062 ^b	1.222 ^a	1.069 ^b	0.0339	0.0199
مرحله گلدهی Flowering	1.061 ^{abc}	1.17 ^a	1.02 ^{bc}	1.13 ^{ab}	0.956 ^c	0.0388	0.0573
مرحله بذردهی Seeding	0.807 ^{bc}	1.084 ^a	0.770 ^c	0.932 ^{ab}	0.700 ^c	0.0425	0.0079
سدیم Sodium							
مرحله رویشی Vegetation	8.50 ^c	17.31 ^a	8.06 ^d	8.36 ^{cd}	10.65 ^b	0.098	0.0001
مرحله گلدهی Flowering	11.90 ^c	16.14 ^a	13.23 ^b	13.25 ^b	11.75 ^c	0.105	0.0001
مرحله بذردهی Seeding	12.48 ^d	17.85 ^a	12.34 ^d	14.24 ^c	16.185 ^b	0.290	0.0002
پتاسیم Potassium							
مرحله رویشی Vegetation	24.5 ^b	30.02 ^a	12.85 ^d	18.92 ^c	21.25 ^c	0.928	0.0004
مرحله گلدهی Flowering	21.95 ^b	29.55 ^a	14.52 ^d	19.50 ^{bc}	19.15 ^c	0.686	0.0002
مرحله بذردهی Seeding	25.57 ^c	32.67 ^a	17.52 ^d	18.87 ^d	28.65 ^b	0.616	0.0001
منیزیم Magnesium							
مرحله رویشی Vegetation	1.73 ^a	0.65 ^b	0.83 ^b	0.88 ^b	0.58 ^b	0.092	0.0017
مرحله گلدهی Flowering	2.09 ^a	1.33 ^b	0.99 ^{bc}	0.94 ^c	1.005 ^{bc}	0.101	0.002
مرحله بذردهی Seeding	2.35 ^a	1.25 ^b	1.1 ^b	1.48 ^b	1.06 ^b	0.122	0.0033
کلسیم Calcium							
مرحله رویشی Vegetation	0.255 ^c	1.085 ^a	0.51 ^{bc}	0.90 ^{ab}	0.125 ^c	0.0119	0.0091
مرحله گلدهی Flowering	0.31 ^d	0.97 ^c	1.08 ^{bc}	1.25 ^b	2.39 ^a	0.069	0.0001
مرحله بذردهی Seeding	1.06 ^c	1.29 ^b	1.23 ^{bc}	1.32 ^b	2.77 ^a	0.049	0.0001
فسفر Phosphor							
مرحله رویشی Vegetation	0.045 ^{ab}	0.035 ^b	0.035 ^b	0.045 ^{ab}	0.055 ^a	0.005	0.044
مرحله گلدهی Flowering	0.04	0.035 ^{ab}	0.035 ^b	0.035 ^b	0.055 ^a	0.004	0.089
مرحله بذردهی Seeding	0.045 ^b	0.045 ^b	0.05 ^a	0.035 ^c	0.055 ^a	0.006	0.061
فنل (میلی گرم بر گرم ماده خشک) Phenol (mg/g DM)							
مرحله رویشی Vegetation	5.74	6.28	6.01	6.21	5.16	0.88	0.89

مرحله گلدهی Flowering	14.12	14.30	12.35	14.61	14.86	1.103	0.568
مرحله بذردهی Seeding	16.26 ^{ab}	14.27 ^b	12.38 ^b	21.39 ^a	17.14 ^{ab}	1.66	0.045

^۱ در هر ردیف اعداد با حروف غیرمشابه با یکدیگر اختلاف معنی داری دارند ($P < 0.05$).

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

خام کاهش و مقدار خاکستر خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی افزایش یافته است. فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم ماده آلی با میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی و میزان لیگنین همبستگی منفی دارند. محتویات سلول به آسانی و به طور کامل هضم می‌شود در حالی که دیواره سلولی به آرامی و تنها تا حد معینی که به درجه لیگنینی شدن وابسته است، قابل هضم می‌باشد (۴۵). لیگنین به عنوان یک بخش غیرقابل هضم در نظر گرفته می‌شود که از دسترسی آنزیم‌های میکروبی به پلی‌ساکاریدهای ساختاری دیواره سلولی ممانعت به عمل می‌آورد. نتایج نشان می‌دهد که در بیشتر گونه‌ها با بلوغ گیاه از میزان گاز تولیدی کاسته می‌شود (۴ و ۵۳). همسو با افزایش در مراحل رشد و بلوغ گیاهان، مقدار دیواره سلولی آنها نیز افزایش یافته که می‌تواند مانعی در برابر فعالیت میکروارگانیسم باشد و منجر به کاهش تولید گاز شود؛ چرا که افزایش این مقادیر، موجب کاهش قندهای محلول گردیده و در نهایت موجب کاهش هضم، تخمیر و تولید گاز گردد (۲۰ و ۳۲). در این مطالعه با افزایش سن گیاهان، مقدار دیواره سلولی افزایش و مقدار پروتئین خام کاهش یافته است و از این رو، قابلیت هضم و انرژی قابل متابولیسمی آنها کاهش یافته است. لاربی و همکاران (۲۸) رابطه مثبتی بین میزان پروتئین خام و تولید گاز نشان دادند. لودادیو و همکاران (۲۹) رابطه منفی بین کربوهیدراتهای ساختاری و پروتئین خام گیاهان شورزیست را گزارش نمودند که با نتایج حاصل مطابقت داشت.

در برخی از مطالعات (۲۵ و ۱۸) رابطه معکوس بین خاکستر و انرژی قابل متابولیسم گزارش شده است. در این مطالعه، گیاه سالسولا بالاترین مقدار خاکستر و پایین‌ترین مقدار انرژی قابل متابولیسم را در مقایسه با سایر گونه‌ها در همه مراحل رشد داشت که در توافق با نتایج حسینی‌نژاد و همکاران (۲۵) بود.

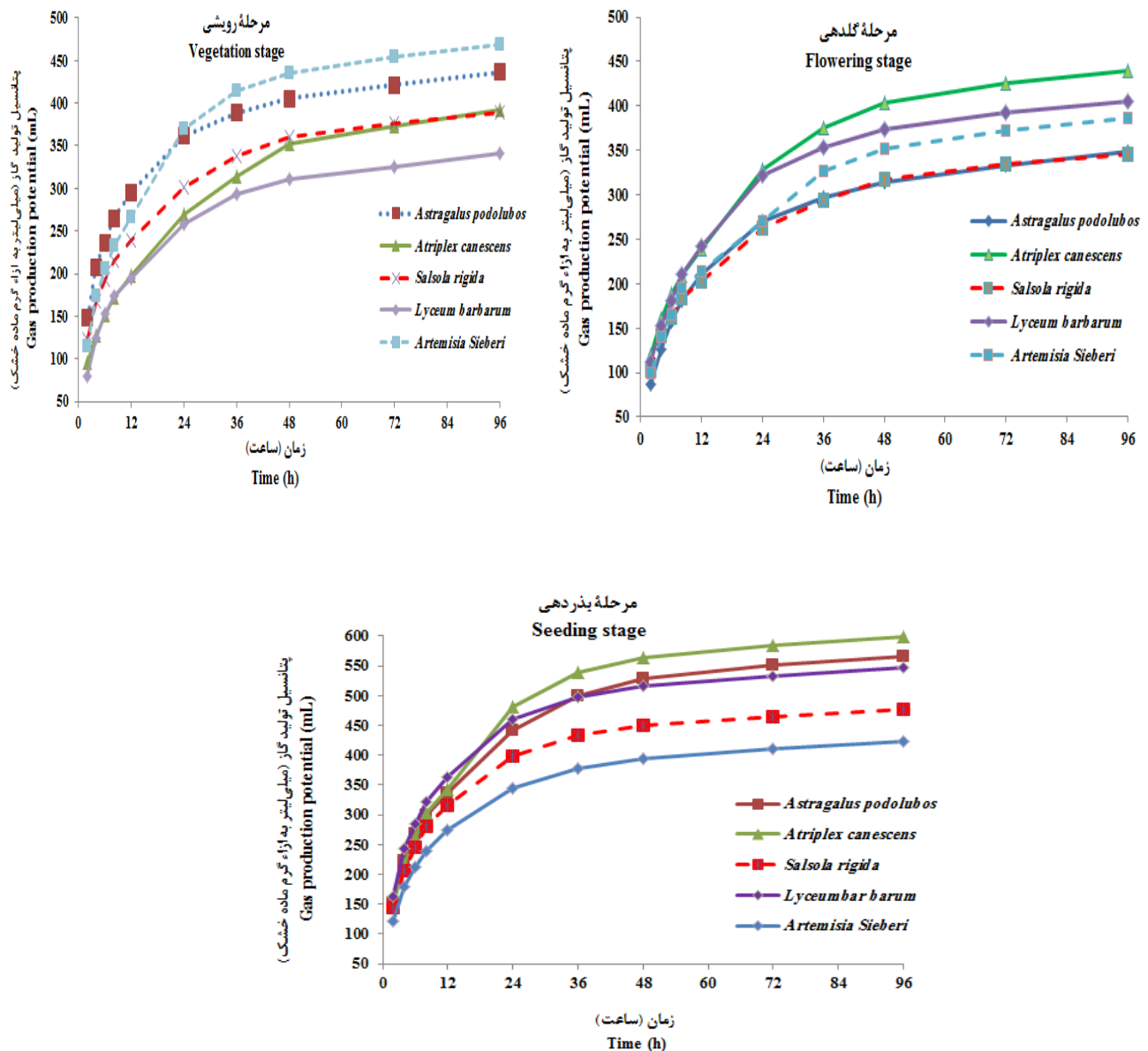
نتایج مربوط به پتانسیل و نرخ تولید گاز گیاهان شورزیست مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بین گونه‌های مختلف از نظر پتانسیل و نرخ تولید گاز در مراحل مختلف رشد اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$). از این نظر، در مرحله رشد رویشی بالاترین مقدار پتانسیل تولید گاز مربوط به درمنه دشتی (۴۴۳/۱ میلی‌لیتر) و پایین‌ترین مقدار مربوط به گیاه سالسولا (۳۵۷/۵ میلی‌لیتر) بود. در مرحله گلدهی بالاترین و پایین‌ترین مقدار پتانسیل تولید گاز به ترتیب مربوط به آتریپلکس و لیسیم بود. با افزایش مراحل رشد به مرحله بذردهی پتانسیل تولید گاز روند کاهشی داشت؛ به‌طوری‌که نسبت به مرحله رویشی در آستاراگالوس پودولوبوس، آتریپلکس، سالسولا، لیسیم و درمنه دشتی به ترتیب کاهش ۸۰/۷، ۴۷/۵، ۴۰، ۶۵/۲ و ۸۶/۹ میلی‌لیتری رخ داد. از نظر فراسنجه‌های تخمینی، گونه سالسولا پایین‌ترین مقدار قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر را در مقایسه با سایر گونه‌ها در همه مراحل رشد داشت. در مطالعه رزاقی و همکاران (۴۶) برای دو گونه آتریپلکس کانسنس و سالسولا ریچیدا مقدار انرژی قابل متابولیسم به ترتیب ۶/۴۹ و ۶/۰۳ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک و غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر به ترتیب ۰/۶ و ۰/۵۲ میلی‌مول گزارش شده است که همسو با نتایج این مطالعه بود. در مطالعه عزیزی و محمدی (۹) مقادیر انرژی قابل متابولیسم و غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر گزارش شده برای دو گونه آستاراگالوس (آنگوستی فلوروس و کورویروستریس) بالاتر از مقادیر گزارش شده در این مطالعه بود که احتمالاً به خاطر تفاوت در شرایط آب و هوایی و اقلیمی و نوع خاک و دیگر ویژگی‌های رویشگاهی باشد (۱۹).

داده‌های حاصل از تولید گاز در شرایط برون‌تنی در مطالعه لانگ و همکاران (۳۰) نیز به وضوح اثرات منفی بلوغ بر ارزش غذایی علوفه‌های مرتعی را نشان داده شده است. کاهش گاز تولیدی و پارامترهای تخمینی همسو با افزایش در بلوغ گیاه را می‌توان به تغییر در ساختار فیزیکی گیاهان و نیز تغییر ترکیب شیمیایی نسبت داد (۳۵). با توجه به نتایج، همسو با افزایش مراحل رشد مقدار پروتئین

جدول ۲. پاناسل و فرآوردههای تولید گاز استاراکالوس پودولوبوس در مراحل مختلف فیزیولوژیکی و مقایسه آن با چند گیاه شورزیست^۱
Table 2- Gas production parameters of *Astragalus podolobus* in different phenological stages and compared it with some halophyte plants¹

تیمارها	Treatments						سطح معنی داری P-value
	استاراکالوس پودولوبوس <i>Astragalus podolobus</i>	اتریپلکس کانسنس <i>Atriplex canescens</i>	سالسولا ریجیدا <i>Salsola rigida</i>	لیسوم <i>Lyceum barbarum</i>	درمنه دشتی <i>Artemisia Sieberi</i>	میانگین اشتباه استاندارد SEM	
مرحله رویشی Vegetation	402.5±8.72	410.9±10.47	357.5±8.08	379.4±7.14	443.1±11.18	-	-
مرحله گلدهی Flowering	330.1±11.04	371.2±11.70	348.7±7.68	316±6.59	395.2±8.64	-	-
مرحله بذردهی Seeding	321.8±8.80	363.5±9.71	317.6±9.07	314.2±10.44	365.2±9.34	-	-
مرحله رویشی Vegetation	0.1146±0.0114	0.075±0.0063	0.121±0.0094	0.096±0.0067	0.093±0.0078	-	-
مرحله گلدهی Flowering	0.102±0.0094	0.089±0.0074	0.109±0.106	0.102±0.0064	0.092±0.0079	-	-
مرحله بذردهی Seeding	0.104±0.0073	0.093±0.0063	0.127±0.0076	0.129±0.0091	0.121±0.0092	-	-
مرحله رویشی Vegetation	56.71 ^a	42.48 ^b	37.98 ^c	54.78 ^a	57.47 ^a	1.19	0.0001
مرحله گلدهی Flowering	52.96 ^a	41.59 ^b	34.29 ^c	54.29 ^c	44.87 ^b	1.42	0.0001
مرحله بذردهی Seeding	51.16 ^a	42.63 ^b	35.69 ^c	51.39 ^a	48.90 ^a	1.45	0.0001
مرحله رویشی Vegetation	8.52 ^a	6.373 ^b	5.693 ^c	8.23 ^a	8.641 ^a	0.180	0.0001
مرحله گلدهی Flowering	7.95 ^a	6.23 ^b	5.12 ^c	7.12 ^a	6.73 ^b	0.215	0.0001
مرحله بذردهی Seeding	7.68 ^a	6.39 ^b	5.28 ^c	7.70 ^a	7.34 ^a	0.220	0.0001
مرحله رویشی Vegetation	1.028 ^a	0.676 ^b	0.565 ^c	0.979 ^a	1.046 ^a	0.0294	0.0001
مرحله گلدهی Flowering	0.935 ^a	0.654 ^b	0.473 ^c	0.873 ^{ab}	0.735 ^b	0.0351	0.0001
مرحله بذردهی Seeding	0.891 ^a	0.680 ^b	0.498 ^c	0.894 ^a	0.835 ^a	0.0359	0.0001

در هر ردیف اعداد با حروف غیر مشابه با یکدیگر اختلاف آماری دارند (P<0.05).
^۱ Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).



شکل ۱- منحنی تولید گاز آستاراگالوس پودولوبوس در مراحل مختلف فنولوژیکی و مقایسه آن با چند گیاه شورزیست در ساعات مختلف پس از انکوباسیون.

Figure 1- Gas production curves of *Astragalus podolobus* in different phenological stages and compared it with some halophyte plants at different times after incubation

جمله ترکیبات فنلی تأثیر منفی بر میکروارگانیسم‌های شکمبه داشته که این کار را از طرق مختلف از جمله تجزیه دیواره سلولی، تراوش محتویات سلولی، آسیب به غشای سیتوپلاسم و کاهش حرکت پروتون‌ها، اعمال می‌کنند (۱۷) و یا از طریق باند شدن با مواد مغذی همچون پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها، از هضم میکروبی جلوگیری به- عمل می‌آورند (۵۱ و ۱۸).

روند تولید گاز نمونه‌های گیاهی مورد مطالعه در طول مدت

همانطور که نتایج نشان داد با افزایش مراحل رشد کاهش در تولید گاز مشاهد شد که از این نظر، بیشترین کاهش در گونه‌های آستاراگالوس پودولوبوس و درمنه دشتی مشاهده شد. شاید بتوان دلیل آن را تفاوت در نوع نمونه‌گیری دانست که در مورد این دو گونه نمونه گیری شامل قسمت‌های برگ و ساقه بود. از دیگر علل کاهش میزان انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی در گیاه می‌تواند فعالیت ضدتغذیه‌ای ترکیبات فنولی باشد. وجود ترکیبات ضدتغذیه‌ای و از

گونه‌های شورزیست را در شرایط مختلف (سن، وضعیت فیزیولوژیک گیاه، زمان برداشت) در دامنه ۴۰ تا ۷۰ درصد گزارش کردند (۱۸). روش برآورد قابلیت هضم نیز در اختلاف مقادیر گزارش شده تأثیر دارد. در شرایط درون‌تنی، ریاسی و همکاران (۴۷) قابلیت هضم مواد مغذی کوشیا و آتریپلکس را در دامنه ۴۰ تا ۵۰ درصد و بنیامین و همکاران (۱۳) قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و ماده آلی یک گونه آتریپلکس را به ترتیب ۵۹ و ۵۶ درصد و بن‌سالم و همکاران (۱۱) برای آتریپلکس در دامنه ۳۴/۲ تا ۶۶/۳ درصد گزارش کردند و در شرایط برون‌تنی نیز ۶۰ تا ۷۴ درصد گزارش شده است (۴۶). در این مطالعه دامنه قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی گونه‌های مختلف مورد مطالعه به‌ترتیب بین ۴۱/۳۳ تا ۵۸/۶۶ درصد و ۳۸/۴۲ تا ۵۶/۶۵ درصد قرار داشت.

عامل تفکیک محاسبه شده در این مطالعه که در واقع مبین نسبت ماده آلی ناپدید شده به میلی‌لیتر گاز تولید شده در طول مدت انکوباسیون (۴۲) و شاخصی از راندمان سنتز توده میکروبی در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد (۱۴)، برای گونه لیسیوم در مرحله گل‌دهی ۷/۸۴ بالاترین مقدار بود. عامل تفکیک بالاتر به معنی این است که ماده آلی بیشتری به سمت تولید پروتئین میکروبی وارد شده است. در برخی از مطالعات بالاتر بودن عامل تفکیک را به چند خصوصیت خوراک نسبت دادند از جمله اینکه جیره مستعد تولید نسبت مولی بالاتری از اسید چرب فرار پروپونات می‌باشد، مقدار گاز تولیدی از جمله گاز متان پایین‌تر بوده و در نتیجه اتلاف انرژی در آنها نیز پایین می‌باشد و خوراکی‌های با عامل تفکیک بالاتر دارای ماده خشک مصرفی بالاتر توسط دام می‌باشد (۲۰، ۳۲ و ۴۲). با این حال، دامنه مقدار عامل تفکیک در خوراکی‌های متعارف بین ۲/۷۴ تا ۴/۶۵ میلی-گرم/میلی‌لیتر گزارش شده است (۴۲). در این مطالعه دامنه مقدار عامل تفکیک بین ۳/۴۲ تا ۷/۸۴ میلی‌گرم/میلی‌لیتر قرار داشت. گونه لیسیوم در مرحله گل‌دهی بالاترین عامل تفکیک (۷/۸۴ میلی-گرم/میلی‌لیتر) را داشت که در مقایسه با گونه آستاراگالوس پودولوبوس در همان مرحله (۵/۶۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) به طور معنی-داری بالاتر بود؛ با این وجود، گونه لیسیوم قابلیت هضم و مقدار تولید توده میکروبی پایین‌تری داشت. با توجه به دلایل ذکر شده در بالا این اختلاف توجیه‌ناپذیر بوده و بایستی دلایلی دیگر داشته باشد. در برخی از مطالعات بالا بودن عامل تفکیک را به حضور مواد ضدتغذیه-ای (ترکیبات فنلی، تانن و ...) نسبت داده‌اند که در جریان تخمیر از نمونه خوراکی جدا شده و در ناپدید شدن ماده خشک سهیم می‌شوند بدون آنکه در تولید گاز مشارکت داشته باشند و یا احتمالاً این ترکیبات از حلالیت سلولهای گیاهی جلوگیری می‌کنند (۳۲). سه گونه آتریپلکس، سالسولا و لیسیوم در مرحله بذردهی به طور معنی‌داری پایین‌ترین مقدار تولید توده میکروبی را داشتند که به نظر می‌رسد به علت پایین‌تر بودن قابلیت هضم آنها در این مرحله باشد. گونه

انکوباسیون در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تا ۱۲ ساعت اول انکوباسیون اختلافی بین گونه‌های مختلف گیاهی در همه مراحل رشد وجود ندارد. روند تولید گاز در طول مدت انکوباسیون در بین نمونه‌های گیاهی در مراحل مختلف رشد از روند خاصی تبعیت نمی‌کند. به عنوان مثال، گیاه درمنه دشتی با اینکه در مرحله رشد رویشی بالاترین روند تولید گاز را داشت، با این حال، در مرحله بذردهی پایین‌ترین روند تولید گاز را به خود اختصاص داد. در مرحله رشد رویشی گونه درمنه دشتی و لیسیوم به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین روند تولید گاز را داشتند، در حالی که در مرحله رشد گل‌دهی و بذردهی بالاترین روند تولید گاز مربوط به گیاه آتریپلکس بود. روند تولید گاز گیاه آستاراگالوس پودولوبوس در مرحله رشد رویشی و بذردهی بعد از گیاه آتریپلکس قرار دارد.

نتایج مربوط به قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی و فراسنجه-های تخمیری در جدول ۳ نشان داده شده است. در بین گونه‌های مختلف از نظر قابلیت هضم ماده خشک در مرحله رشد رویشی، اختلاف مشاهده شد ($P < 0.01$). بیش‌ترین و کمترین مقدار قابلیت هضم ماده خشک به ترتیب مربوط به گونه درمنه دشتی (۵۸/۶۶ درصد) و آتریپلکس (۵۰ درصد) بود. در بین گونه‌ها از نظر قابلیت هضم ماده خشک در مراحل رشد گل‌دهی و بذردهی اختلاف معنی-داری وجود نداشت؛ با این حال، با افزایش مراحل رشد، قابلیت هضم روند کاهشی نشان داد و بیشترین کاهش قابلیت هضم در گونه لیسیوم (۱۰/۶۶ درصد) اتفاق افتاد. پایین‌ترین قابلیت هضم ماده آلی مربوط به دو گونه آتریپلکس و لیسیوم بود. بین گونه‌های مختلف از نظر عامل تفکیک، تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی اختلاف وجود داشت ($P < 0.01$). بیشترین مقدار عامل تفکیک در مرحله رشد رویشی مربوط به گونه سالسولا (۷/۳۷) و کمترین مقدار در مرحله بذردهی مربوط به گونه لیسیوم (۳/۴۲) بود. بیشترین مقدار تولید توده میکروبی برای سه گونه آستاراگالوس پودولوبوس، آتری-پلکس و سالسولا در مرحله رشد رویشی و برای دو گونه لیسیوم و درمنه دشتی در مرحله گل‌دهی بود. با این حال، در مرحله بذردهی گونه درمنه دشتی بالاترین مقدار تولید توده میکروبی را داشت. از نظر pH و نیتروژن آمونیاکی در مرحله رشد رویشی بین گونه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت و گونه آستاراگالوس بیشترین و سالسولا کمترین مقدار نیتروژن آمونیاکی را داشت.

همانطور که نتایج نشان داد قابلیت هضم گونه‌های مورد مطالعه با افزایش مراحل رشد روند کاهشی داشت. تفاوت در قابلیت هضم برآورد شده در این مطالعه با توجه به تفاوت در ترکیب شیمیایی نمونه-ها قابل توضیح می‌باشد. با افزایش مراحل رشد مقدار دیواره سلولی روند افزایشی و مقدار ماده آلی و خاکستر روند کاهشی داشت. به‌طور کلی دو گونه آستاراگالوس پودولوبوس و درمنه دشتی مقادیر قابلیت هضم بالاتری داشتند. در بسیاری از مطالعات مقادیر قابلیت هضم

بالا تر همراه با قابلیت هضم و تولید توده میکروبی بالاتر برخوردار بود و در مقابل آستاراگالوس پودولوبوس در همین مرحله از تولید گاز پایین تر و قابلیت هضم و تولید توده میکروبی بالاتر داشت. لذا به نظر می رسد که در کنار برآورد فراسنجه های تولید گاز اندازه گیری قابلیت هضم در شرایط برون تنی برای ارزیابی مواد خوارکی لازم می باشد. گونه آستاراگالوس پودولوبوس در مقایسه با سه گونه شورزیست آتریپلکس، سالسولا و لیسیموم از قابلیت هضم و تولید پروتئین میکروبی بالاتری برخوردار بود.

آتریپلکس در مرحله بذردهی بالاترین پتانسیل تولید گاز، پایین ترین قابلیت هضم ماده آلی و تولید توده پروتئین میکروبی را داشت که در تضاد با گزارش منصوری و همکاران (۳۴) بود که بیان کردند بالا بودن تولید گاز در شرایط برون تنی نشان دهنده بالا بودن انرژی قابل متابولیسم و همچنین نیتروژن قابل تخمیر و سایر مواد مغذی لازم برای فعالیت میکروارگانیسم می باشد. با توجه به اینکه همبستگی مثبتی بین تولید گاز و تولید توده میکروبی وجود دارد (۳۲)، درمنه دشتی در مرحله بذردهی در مقایسه با دو گونه لیسیموم و سالسولا از تولید گاز

جدول ۳- قابلیت هضم، فراسنجه های تخمیری و تولید توده میکروبی گیاه آستاراگالوس پودولوبوس در مراحل مختلف فنولوژیکی و مقایسه آن با چند گیاه شورزیست^۱

Table 3- Digestibility, fermentation characteristics and microbial biomass production of *Astragalus podolobus* in different phenological stages and compared it with some halophyte plants¹

phenological stages and compared it with some halophyte plants							
	تیمارها Tretments					میانگین اشتباه استاندارد SEM	سطح معنی داری P-value
	آستاراگالوس پودولوبوس Astragalus podolubos	آتریپلکس کانسنس Atriplex canescens	سالسولا ریجیدا Salsola rigida	لیسیوم Lyceum barbarum	درمنه دشتی Artemisia Sieberi		
	قابلیت هضم ماده خشک (درصد) IV DMD						
مرحلهٔ رویشی Vegetation	56.00 ^{ab}	50.00 ^b	51.33 ^{ab}	54.00 ^{ab}	58.66 ^a	2.34	0.0168
مرحلهٔ گلدهی Flowering	54.00	48.66	48.66	47.33	52.00	2.68	0.424
مرحلهٔ بذردهی Seeding	52.00	41.33	43.33	44.66	50.66	4.71	0.458
قابلیت هضم مادهٔ آلی (درصد) IV OMD							
مرحلهٔ رویشی Vegetation	56.65 ^a	47.21 ^b	49.45 ^b	48.33 ^b	51.72 ^{abc}	2.17	0.042
مرحلهٔ گلدهی Flowering	54.21	43.09	43.88	43.67	50.68	4.49	0.376
مرحلهٔ بذردهی Seeding	50.57 ^a	38.42 ^b	42.76 ^b	38.97	51.95 ^a	2.21	0.0032
عامل تفکیک (میلی گرم در میلی لیتر) PF							
مرحلهٔ رویشی Vegetation	5.35 ^{bc}	6.12 ^b	7. 37 ^a	3.42 ^c	4.76 ^{cd}	0.265	0.0001
مرحلهٔ گلدهی Flowering	5.60 ^c	5.83 ^{abc}	7.06 ^{ab}	7.84 ^a	6.71 ^{abc}	0.386	0.0124
مرحلهٔ بذردهی Seeding	5.38 ^{ab}	4.95 ^b	6.27 ^a	4.33 ^c	6.06 ^a	0.297	0.0004
تولید پروتئین میکروبی (میلی گرم / میلی لیتر) MCP							
مرحلهٔ رویشی Vegetation	146.03 ^a	120.59 ^{ab}	132.28 ^a	94.27 ^b	120.86 ^{ab}	8.84	0.0049
مرحلهٔ گلدهی Flowering	144.45	108.42	104.31	121.31	152.77	16.66	0.231
مرحلهٔ بذردهی Seeding	128.39 ^a	84.97 ^b	92.18 ^b	93.23 ^b	142.76 ^a	6.92	0.0005

بازده تولید پروتئین میکروبی EMCP							
مرحله رویشی Vegetation	0.58 ^{bc}	0.64 ^{ab}	0.73 ^a	0.48 ^d	0.53 ^{cd}	0.0218	0.0001
مرحله گلدهی Flowering	0.60 ^c	0.62 ^{bc}	0.68 ^{ab}	0.71 ^a	0.66 ^{abc}	0.021	0.022
مرحله بذردهی Seeding	0.59 ^{ab}	0.55 ^b	0.65 ^a	0.67 ^a	0.63 ^{ab}	0.026	0.053
بازده تولید گاز (میلی لیتر/ گرم ماده خشک) Gas yield (ml/g DM)							
مرحله رویشی Vegetation	166.14 ^a	126.93 ^b	100.24 ^b	189.16 ^a	182.39 ^a	8.34	0.0001
مرحله گلدهی Flowering	174.29 ^a	148.02 ^{ab}	102.75 ^{cd}	76.36 ^d	133.95 ^{bc}	12.23	0.0017
مرحله بذردهی Seeding	149.42 ^b	123.52 ^b	93.71 ^c	182.35 ^a	130.55 ^b	9.38	0.0007
pH							
مرحله رویشی Vegetation	6.71 ^{ab}	6.82 ^a	6.74 ^{ab}	6.48 ^{ab}	6.31 ^b	0.148	0.167
مرحله گلدهی Flowering	6.31	6.31	6.35	6.36	6.41	0.0371	0.414
مرحله بذردهی Seeding	6.45	6.32	6.32	6.27	6.24	0.0708	0.310
نیترژن آمونیاکی (میلی گرم در دسی لیتر) NH ₃ -N (mg/dL)							
مرحله رویشی Vegetation	2.39 ^a	1.42 ^{ab}	1.16 ^b	1.50 ^{ab}	1.38 ^{ab}	0.299	0.0101
مرحله گلدهی Flowering	1.25	3.42	1.37	1.11	2.52	0.767	0.244
مرحله بذردهی Seeding	1.92	1.05	1.45	1.25	1.24	0.593	0.864

^۱ در هر ردیف اعداد با حروف غیر مشابه با یکدیگر اختلاف آماری دارند ($P < 0.05$).

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

نتیجه گیری

قابلیت هضم بالاتری برخوردار بودند. با توجه به این که گیاه آستاراگالوس پودولوبوس در مطالعه‌ای در قالب طرح ملی با توجه به ویژگی آن از جمله بومی بودن و دارای قدرت زادآوری و مقاوم بوده به شرایط اقلیمی مختلف عملکرد مطلوبی داشته است و با در نظر گرفتن ارزش تغذیه‌ای نسبتاً برتر آن در این مطالعه، می‌تواند با اهداف مبارزه با بیابان‌زایی، فرسایش خاک، ریزگردها و حفظ پوشش گیاهی و نیز، با توجه به کمبود علوفه، در تأمین علوفه دام‌های موجود در این مناطق (شتر، گوسفند و بز) مورد توجه قرار گیرد.

به طور کلی، نتایج نشان داد که در بین گونه‌های مختلف از نظر ترکیب شیمیایی اختلاف وجود دارد. دو گونه آستاراگالوس پودولوبوس و درمنه دشتی در مقایسه با سه گونه دیگر دارای کمترین مقدار خاکستر خام بودند. همسو با افزایش سن گیاه، مقدار دیواره سلولی، خاکستر خام و مقدار ترکیبات فنلی روند افزایشی نشان داد. به‌طور کلی، ارزش تغذیه‌ای همه گونه‌ها در مرحله بذردهی در پایین‌ترین مقدار قرار داشت و دو گونه آستاراگالوس پودولوبوس و درمنه دشتی از

منابع

- 1- Abarsaji, Gh. A., G. H. Shahi, and M. Pasandi. 2008. Determining forage quality of *Hedysarum coronarium* in different phenology stages. *Journal of Research and Development*, 87: 51-55. (In Persian).
- 2- Agh, K., M. M. Esmaeil, H. Hossini Moghaddam, and H. Mostafalo. 2017. The assessment on propagation methods and establishment of *Astragalus podolobus* species in arid rangelands in north of Gonbad-e Qabus. *Desert Ecosystem Engineering Journal*, 16: 1-10. (In Persian).
- 3- Al-Owaimer, A. N., S. M. Zahran, and B. A. Al-Bassam. 2008. Effect of feeding some types of *Atriplex* spp. in

- complete diet on growth performance and digestibility of growing lambs. Res. Butt., No. (161), Journal of the Science of Food and Agriculture. Center, King Saud Univ. pp 5 – 19.
- 4- Ammar, H., S. Lopez, J. S. Gonzales, and M. J. Ranilla. 2004. Seasonal variations in the chemical composition and *in vitro* digestibility of some Spanish leguminous shrub species. *Animal Feed Science and Technology*, 115:327-340.
 - 5- AOAC. 1997. Official Methods of Analysis. Association on Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
 - 6- Arzani, H. 2009. The quality of forage and the daily requirement of grazing livestock. Tehran University publication. 278 Pp. (In Persian).
 - 7- Asri, Y. 1999. Plant cover of salt marshes of Uromia lake (1st Ed). Jihad Sazandegi Ministry, Pastures and Forests Research and Education Assistance.
 - 8- Azarnivand, H. and M. A. Zare chahouki. 2009. Range Improvement. Tehran University Press.
 - 9- Azizi, O. and S. Mohammadi. 2016. Determination of chemical composition and gas production parameters of some rangeland plants species of Kurdistan province. *Livestock Research (Quarterly)*, 5: 25-34.
 - 10- Bashtini, M. and h. Tavakoli. 2002. Determination of nutritive value of five dominant species of halophyte plants in salt desert lands of Khorasan province, *Journal of Pajouhesh and Sazandegi*, 55: 2-5. (In Persian).
 - 11- Ben Salem, H., H. C. Norman, A. Nefzaoui, D. E. Mayberry, K. L. Pearce, and D. K. Revell. 2010. Potential use of oldman saltbush (*Atriplex nimmularia Lindl.*) in sheep and goat feeding, *Small Ruminant Research*, 91: 13-28.
 - 12- Ben Salem, H., A. Nefzaoui, and L. Ben Salem. 2004. Spineless cactus and oldman saltbush as alternative supplements for growing Barbarine lambs given straw-based diets. *Small Ruminant Research*, 51: 65-73.
 - 13- Benjamin, R. W., W. E. Oren, E. Katz, and K. Becker. 1992. The apparent digestibility of *Atriplex barclayana* and its effect on nitrogen balance in sheep. *Animal Production*, 54:259-264.
 - 14- 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: 34-24.
 - 15- Blummel, M. and E. R. Ørskov. 1993. Comparison of *in vitro* gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 40: 109-119.
 - 16- Broderik, 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.
 - 17- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223–253.
 - 18- El shaer, H. M. 2010. Halophytes and salt – tolerant plants as potential forage for ruminants in near east region. *Small Ruminant Research*, 91:3-12.
 - 19- Farrukh, H. and J. Mufakhirah. 2009. Nutritional Evaluation of Some Forage Plants from Harbio Rangeland, Kalat, Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 41 (3): 1137-1154.
 - 20- Getachew, G., M. Blummel, H. P. S. Makkar, and K. Becker. 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 72: 261–281.
 - 21- Getachew, G., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 2002. Tropical browses: content of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acids and *in vitro* gas production. *Journal of Agricultural Science*, 139: 341-352.
 - 22- Ghorchi, T. 1995. Determination of chemical composition and digestibility of dominant rangeland plants in Isfahan province. M. Sc. Thesis, Isfahan University, Isfahan, Iran. (In Persian).
 - 23- Hormozi pour, H. 1388. Determination of nutritive value of six species of forage plants in Sistan region. Msc. Thesis, University of Zabol, Zabol.
 - 24- Hosseini, A. 1998. Otecology of *puccinelliadistans* species in Gorgan and dasht region. *Journal of pajouhesh and Sazandegi*, 36(3): 21- 27. (In Persian).
 - 25- Hosseini-Nezhad, Z., M. Yousef-Elahi. and H. Fazaeli. 2012. Determination of nutritive value of five halophyte plants in Sistan zone. *Iranian Journal of Animal Science*, 43(1):1-10. (In Persian).
 - 26- Jafari, H., H. Fazaeli, M. A. Mousavi, and S. Varmaghani. 2009. *In vitro* digestibility and gas production of range land forage in Ilam province. *Animal sciences Journal (Pajouhesh and Sazandegi)* No8-2: pp 85. (in persian).
 - 27- Kochehi, E., M. Nasiri Mahalati, M. Banayan Aval, and A. Kolahi Ahari. 1973. Grazingmanagement in pastures (Translate). Mashhad Publishing, Mashhad.
 - 28- Larbi, A., J. W. Smith, I. O. Kurdi, I. O. Adekunle, A. M. Rajj, and D. O. Ladipo. 1998. Chemical composition, rumen degradation and gas production characteristics of some multipurpose fodder trees and shrubs during wet and dry seasons in the humid tropics. *Animal Feed Science and Technology*, 72: 81-96.
 - 29- Laudadio, V., V. Tufarelli, M. Dario, M. Hammadi, M. M. Seddik, G. M. Lacalandar, and C. Dario. 2009. A Survey of chemical and nutritional characteristics of halophyts plants used by camels in Southern Tunisia. *Tropical Animal Health and Production*, 41: 209-215.
 - 30- Long, R. J., S. O. Apori, F. B. Castro, and E. R. Orskove. 1999. Feed value of native Forages of the Tibetan Plateau of China. *Animal Feed Science and Technology*, 80:101-113.

- 31- Macdonald, R. A., E. Edwards, and J. F. D. Green. 1995. Animal nutrition. Published, Oliver and Boyd Edinburgh England. 692 pp.
- 32- Makkar, H. S. P. 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, 160: 55-86.
- 33- Malick, C. P. and M. B. Singh. 1980. In plant enzymology and histo enzymology, Kalyani Publishers, New Dehli.
- 34- Mansuri, H., A. Nikkhah, M. Rezaian, and M. Moradi. 2003. Determination of Roughages Degradability through *In vitro* Gas Production and Nylon Bag Techniques, Iranian Journal of Science and Technology Sciences, 34(2): 495-507. (In Persian)
- 35- Marinas, A., R. Garcia Gonzalez, and M. Fondevila. 2003. The nutritive value of five pasture species occurring in the summer grazing ranges of the Pyrenees. Animal Science. 76: 461-469.
- 36- Masters, D. G., S. E. Bennes, and H. C. Norman. 2007. Biosaline agriculture for forage and livestock production. Agriculture, Ecosystems and Environment, 119: 234-248.
- 37- Masters, D. G., H. C. Norman, and R. A. Dynes. 2001. Opportunities and limitations for animal production from saline land. Asian-Australian Journal of Animal Science, 14:199-211.
- 38- Menke, K. H. and H. Staingass. 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research and Development, 28:7-55.
- 39- Menke, K. H., L. Rabb, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, and W. Schinder. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal of Agriculture Science, 93: 217-222.
- 40- Moghimi, J. 2005. Introduction of some important species suitable for rangeland development and improvement in Iran. Arvan Publications. 672 Pp. (In Persian)
- 41- NRC, 2001. Nutrient Requirements of dairy cattle. 7th ed, National Academy Press. Washington, DC. U.S.A.
- 42- Olivera, 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 forage. A thesis submitted to the University of Aberdeen, Scotland, in partial fulfillment of the degree of Master of science in Animal Nutrition.
- 43- Ørskov, E. R. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agriculture Science, 92: 499-503.
- 44- peiravi, M. 1388. Determination of nutritive value of nine species of pastoral in sisthan region. Msc. Thesis, University of Zabol, Zabol.
- 45- Parissi, Z. M., T. G. Papachristou, and A. S. Nastis. 2005. Effect of drying method on estimated nutritive value of browse species using an *in vitro* gas production technique. Animal Feed Science and Technology, 30:119-128.
- 46- Razzaghi, A., R. Valizadeh, and M. Tarahhomi. 2015. Chemical Composition, *in situ* Ruminant Degradability, and Gas Production of *Atriplex canescens*, *Salsola rigida* and *Aeluropus litoralis*. Iranian Journal of Animal Science Research. 7: 1-11.
- 47- Riasi, A., M. Danesh-Mesgaran, M. D. Stern and M. J. Ruiz Moreno. 2008. Chemical composition, *in situ* ruminal degradability and post-ruminal disappearance of dry matter and crude protein from the halophytic plants *Kochia scoparia*, *Atriplex dimorphostegia*, *Suaeda arcuata* and *Gamanthus gamacarpus*. Animal Feed Science and Technology, 141: 209-219.
- 48- SAS. 2000. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- 49- Theodorou, M. K., B. A., Milliams, M. S., Dhanoa, A. B. McAllan, and J. France. 1994. A Simple gas feeds. Animal Feed Science and Technology, 48: 185 -197.
- 50- Towhidi, A. and M. Zhandi. 2007. Chemical composition *in vitro* digestibility and palatability of nine plant species for dromedary camels in the province of semnan, Iran. Egypt Journal of Biology. 9: 47-52. (In Persian)
- 51- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminants, 2th Edition, Comstock Cornell University Press, USA.
- 52- Zaboli, M. A., Ghanbari, J. Zaboli, and S. Nouri. 2010. Effect of phenological stages on forage quality of *Aeluropus lagopoides* and *Aeluropus litoralis* in rangelands around Hamoon Lake. Journal of Rangeland. 4: 404-411. (In Persian)
- 53- Zandi Esfahan, E., M. H. Assareh, M. Jafari, A. A. Jafari, S. A. Javadi, and G. Karimi. 2010. Phenological effects on forage quality of two halophyte species *Atriplex leucoclada* and *suaedavermiculata* in four saline rangelands of Iran. Journal of Food, Agriculture and Environment. 8(3 and 4): 999-1003.



Determination of Chemical Composition, Gas Production Parameters and *in vitro* Digestibility of *Astragalus podolobus* in Different Phenological Stages and Comparison with some Halophyte Plants

F.Aghili pou¹ - J. Bayat Koohsar^{2*} - F. ghanbari² and M. M. Esmaili³

Received: 07-06-2018

Accepted: 13-02-2019

Introduction: Endemic plants of rangelands, especially key species and palatable ones are inevitable for improvement and development of rangelands. The grazing is a critical managing factor regarding to the resources conservation and quantitative and qualitative increase of plants production at the rangeland ecosystems. Rangelands are dynamic ecosystems and changing as a result of the environmental disturbances. Sustainable utilization of rangelands is obtained when the changes become known. The increase in population over the past few decades, due to the increased demand for livestock production, has increased the number of livestock in the rangeland, and as a result, the pressure on the rangelands, especially in arid and semi-arid areas, has damaged many rangelands. After the degradation of rangelands, one-year species, non-palatable and toxic species are replaced by the high quality and palatable species and therefore the quality and quantity of forage in most of the rangelands is by no means satisfactory. Many rangelands in arid and semi-arid regions have been affected by soil erosion and dust and greasy vegetation due to the lack of vegetation. In the vast array, rangelands cultivating non-domestic species have been imported. For example, in dry and semi-arid rangelands of northern of Golestan province, imported species of *Atriplex* cultivate which, despite proper forage production and other benefits, has some disadvantages, including gradual increase of soil salinity, lack of plant regeneration in the years after establishment which cause metabolic disorders in animals, negative effects on native plants, parasite organisms in planting areas and the destruction of the plant due to extreme cold, which will undoubtedly lead to an increase in economic costs after its destruction, as well as reducing fodder production. Therefore, in order to improve and revitalize dry and semi-arid rangelands, it is necessary to introduce, reproduce and deploy indigenous species with high adaptability and high yield.

Materials and Methods: Plant samples in different growth stages (vegetative, flowering and seeding) were collected from arid and semi-arid hilly loess soil located north of Golestan province, Gonbad-e Qabus (Dashli Borun). The Gonbad-e Qabus is located (55° 12 N, 37° 16 E) and 45 m above sea level. The mean annual rainfall amount is below 450 mm and mean annual temperature is above 20 °C. Samples of *Astragalus podolobus*, *Atriplex* (*A. canescens*), *Salsola* (*S. rigida*), *Lyceum*, *Artemisia sieberi* were taken and air dried at 60 °C for 48 h and milled to pass a 1 and 1.5 mm screen. Their nutritive value was evaluated through determination of chemical compositions and *in vitro* gas production techniques. Samples were tested in an *in vitro* gas production method (96 h incubation) and batch rumen culture system (24 h incubation). Rumen fluid was collected before the morning feed from three fistulated Dalagh male sheep (45 ± 2.5 kg live weight fed on a forage diet at a concentration of 40:60). *In vitro* gas production was measured in triplicate and for each replicate, a sample of 200 mg DM were used. The bottles were then filled with 30 ml of incubation medium that consisted of 10 ml of rumen fluid plus 20 ml of buffer solution and placed in a water bath at 39 °C. Gas production was recorded at 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72 and 96 h. Total gas values corrected for blank incubation and gas values expressed in ml g⁻¹ of DM. The asymptotic gas production system (A) and rate of gas production (c), organic matter digestibility (OMD), metabolizable energy (ME) and short chain fatty acids (SCFA). A medium similar to one developed for gas production was used for batch rumen culture system to measure pH, and NH₃-N and *in vitro* digestibility. The pH of the media was measured after 24 h incubation. After 24 h incubation, the contents of each glass bottle were empty, strained through four layers of cheesecloth and then 10 ml of strained rumen fluid was acidified by

1- Former MSc. Student of Animal Science Department, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Iran.

2- Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Iran.

3-Associate Professor of Range management, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Iran.

10 ml of 0.2 N HCl for determination of $\text{NH}_3\text{-N}$ using the distillation method. Finally, all contents remaining in the bottles were filtered through nylon bags, oven dried at 60 °C for 48 h and analyzed for IVDMD and IVOMD.

Results and Discussion: Results showed that there were significant differences among plants species for chemical composition. The OM content ranged from 63.77 to 89.33% for all species and *Artemisia sieberi* had highest and *salsola* had lowest at seedling stage. The results of the present study showed that there were significant differences among plants species on potential and rate of gas production. *Artemisia sieberi* and *Atriplex canescens* had highest potential gas production at flowering and seedling, respectively. *Salsola* had lowest OM digestibility, ME and ACFA concentration. There were significantly differences among different species on DM digestibility vegetative stage and *Artemisia sieberi* and *Atriplex* had highest (58.66 %) and lowest (50 %) DM digestibility, respectively. *Salsola* showed the highest value of partitioning factor at vegetative stage (7.37 mg/ml) and *lycium* showed the lowest value of partitioning factor at seeding stage (3.42 mg/ml).

Conclusion In conclusion, results of current study showed that *Astragalus podolobus* has nutritive value as similar as *Artemisia Sieberi*. However, further investigation is needed in order to determine nutritive value of these species.

Keywords: *Astragalus Podolobus*, Gas Production, Halophyte Plants, Nutritive Value.



تأثیر همزمانی ماده مغذی بر تخمیر شکمبه‌ای، ساخت پروتئین میکروبی و تعادل نیتروژن در گوسفند

طاهر یلچی^{1*}، جمال سیف دواتی² و رضا سید شریفی²

تاریخ دریافت: 1397/09/14

تاریخ پذیرش: 1397/12/27

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی آثار همزمان سازی تخمیر شکمبه‌ای ماده مغذی بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای، ساخت پروتئین میکروبی و تعادل نیتروژن در گوسفند انجام شد. ترکیبات شیمیایی به همراه فراسنجه‌های تجزیه پذیری پروتئین خام و کربوهیدرات علوفه یونجه، کاه گندم، دانه جو، دانه ذرت، تفالہ چغندر قند، سبوس گندم و کنجاله سویا اندازه‌گیری شد. سه جیره با انرژی و پروتئین خام یکسان اما با شاخص همزمانی متفاوت شامل 0/64، 0/78 و 0/92 که با استفاده از فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری مواد خوراکی محاسبه شده بودند، تنظیم شدند. از شش رأس گوسفند 14 ماهه با میانگین وزن $30/17 \pm 1/17$ کیلوگرم دارای فیستوله شکمبه‌ای در قفس‌های متابولیکی استفاده شد. طرح آزمایشی در قالب طرح مربع لاتین تکرار شده در سه دوره و اختصاص دو گوسفند به هر جیره آزمایشی در هر دوره انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش شاخص همزمانی غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه به ویژه در 1/5 ساعت بعد از مصرف خوراک کاهش یافت. غلظت کل اسیدهای چرب فرار در 3 ساعت بعد از تغذیه در جیره‌ای که بیشترین شاخص همزمانی را داشت بیشترین مقدار بود. با افزایش شاخص همزمانی غلظت کل اسیدهای چرب فرار به ویژه غلظت پروپیونات نیز افزایش معنی‌داری داشت. کل مشتقات پورینی دفع شده یا جذب شده و ساخت پروتئین میکروبی تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. با افزایش شاخص همزمانی کل نیتروژن دفع شده کاهش و بازدهی ابقاء نیتروژن افزایش یافت. هرچند در این پژوهش ساخت پروتئین میکروبی تحت تأثیر قرار نگرفت اما سایر نتایج مثبت از جمله بهبود تخمیر در شکمبه و ابقاء نیتروژن در بدن، استفاده از شاخص همزمانی را در تنظیم جیره‌های غذایی برای نشخوارکنندگان به ویژه گوسفندان قابل توصیه می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: ابقاء نیتروژن، تخمیر شکمبه‌ای، شاخص همزمانی، نیتروژن آمونیاکی، نیتروژن اوره‌ای خون

مقدمه

سینکلیز و همکاران (30) داده‌های حاصل از تجزیه پذیری پروتئین خام و ماده آلی اجزای جیره را در محاسبه شاخص همزمانی³ مورد استفاده قرار دادند. این شاخص به صورت ضربی از 1 محاسبه شده و هر چه این شاخص به 1 نزدیک تر باشد، جیره‌ها از همزمانی ماده مغذی بیشتری برخوردار هستند. سینکلیز و همکاران (30) اثر دو جیره با شاخص همزمانی 0/93 و 0/58 را در گوسفندان فیستوله گذاری شده بررسی کردند. جیره‌ای که شاخص همزمانی بیشتری داشت 27 درصد پروتئین میکروبی بیشتری تولید کرده بود. همچنین جیره‌ی با شاخص همزمانی 0/93 از نوسان کمتری در تولید فرآورده-های تخمیری شکمبه برخوردار بود. واتنی و همکاران (37) اثر شاخص همزمانی (0/37، 0/50 و 0/63) را در جیره‌هایی با 75 درصد کنسانتره و 25 درصد باگاس نیشکر با استفاده از بره‌های نر مورد بررسی قرار دادند. این پژوهشگران گزارش کردند با افزایش شاخص همزمانی

همزمان سازی شکمبه‌ای فراهمی انرژی و پروتئین یک استراتژی پیشنهاد شده برای افزایش کارایی فرایندهای متابولیکی نشخوارکنندگان از قبیل ساخت پروتئین میکروبی و کاهش دفع مواد مغذی در محیط است (18). فزون بر این همزمان سازی نرخ تخمیر کربوهیدرات و پروتئین در شکمبه تلاشی برای افزایش جریان یافتن پروتئین میکروبی ساخته شده در شکمبه به بخش‌های بعدی دستگاه گوارش است (26).

1- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی
2- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی

(*) ایمیل نویسنده مسئول: taheryalchi@uma.ac.ir
DOI:10.22067/ijasr.v12i1.76961

هضم² جیره‌های آزمایشی مقدار سه گرم از هر نمونه داخل کیسه‌های نایلونی به ابعاد 7×12 سانتی‌متر با قطر منفذ 17 میکرون ریخته شده و در شکمبه پنج رأس گوسفند مجهز به فیستوله شکمبه‌ای به مدت 12 روز (288 ساعت) انکوباسیون شدند. مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی غیرقابل هضم به صورت نسبتی از الیاف نامحلول در شوینده خنثی تعیین شد (34). کربوهیدرات کل از تفاضل مجموع پروتئین خام، چربی خام و خاکستر از کل بخش ماده خشک محاسبه شد. فراسنجه‌های تجزیه پذیری کربوهیدرات و پروتئین خام مواد خوراکی با استفاده از چهار رأس گوسفند دارای فیستوله شکمبه‌ای بعد از دو هفته عادت پذیری تعیین شدند. جیره گوسفندان شامل علوفه و کنسانتره با نسبت 40 به 60 بود. جیره‌ها در حد نگهداری تهیه شده و به صورت کاملاً مخلوط در دو وعده صبح و عصر داده شده و دسترسی به آب و مکمل معدنی آزاد بود. حدود چهار گرم از مواد خوراکی (جدول 1) در کیسه‌های نایلونی با قطر منفذ 40 میکرومتر به ابعاد 15×7 سانتی‌متر ریخته شده و در زمان‌های 2، 4، 8، 16، 24، 36، 48 و 72 ساعت (برای یونجه و کاه گندم تا 96 ساعت) در شکمبه انکوباسیون شد. فراسنجه‌های تجزیه پذیری با رابطه 1 محاسبه شدند (20).

$$P = a + b(1 - e^{-c(t-L)}) \quad (\text{رابطه 1})$$

در این رابطه P درصد ناپدید شدن در زمان t، a بخش قابل تجزیه سریع، b بخش قابل تجزیه کند، c نرخ تجزیه پذیری، t زمان-های تجزیه پذیری و L زمان تأخیر را نشان می‌دهد. تجزیه پذیری موثر³ با رابطه 2 محاسبه شد.

$$ED = a + [b \times c / (c + k)] \quad (\text{رابطه 2})$$

که در آن ED، تجزیه پذیری موثر و k نرخ خروج بخشی از مواد از شکمبه (برابر با 0/05 در ساعت) در نظر گرفته شد.

تنظیم جیره‌ها بر اساس شاخص همزمانی

در ابتدا سه جیره غذایی برای بره‌های پرواری بر اساس نیاز مواد مغذی توصیه شده توسط انجمن ملی تحقیقات (22) و با نرم افزار SRNS⁴ با انرژی و پروتئین خام یکسان تنظیم شد. سپس با مقادیر به‌دست آمده از تجزیه‌پذیری پروتئین خام و کربوهیدرات مواد خوراکی، قابلیت دسترسی نیتروژن و کربوهیدرات در شکمبه با رابطه 3 محاسبه شد (29):

$$P = a + \{[(bc)/(c + k)][1 - e^{-(c+k)(t-L)}](e^{-kL})\} \quad (\text{رابطه 3})$$

قابلیت هضم ماده خشک افزایش و نسبت استات به پروپیونات کاهش یافت. در پژوهش دیگری با جیره‌های فوق و گوسفندان فیستوله-گذاری شده در شکمبه مشخص شد که با افزایش شاخص همزمانی تجزیه‌پذیری ماده آلی کاهش اما در مقابل تجزیه‌پذیری پروتئین خام افزایش یافت (26). در یک پژوهش اثر شاخص همزمانی (0/59، 0/73 و 0/87) در جیره های حاوی 70 درصد کنسانتره بر عملکرد بره‌های نر پرواری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش بهبود بازده خوراک و عملکرد رشد را نشان داد (40). گزارش‌ها نشان می‌دهد با افزایش شاخص همزمانی ماده مغذی در جیره علاوه بر افزایش ظرفیت تخمیر شکمبه و عملکرد تولیدی حیوان در گاوهای شیری سیستم ایمنی حیوان نیز بهبود می‌یابد (24).

بررسی نتایج پژوهشگران پیشین در استفاده از جیره‌های همزمان سازی شده بر اساس نرخ تخمیر شکمبه‌ای مواد مغذی در شرایط مختلف و با استفاده از حیوانات مختلف نتایج متناقض و مبهمی بر تولید و کارایی استفاده از مواد مغذی نشان می‌دهد (42). از دلایل آن می‌توان به اثر اقلام خوراکی و ترکیب جیره در تیمارهایی که با سطوح متفاوت همزمانی طراحی شده بودند اشاره کرد به طوری که این آثار مانع از تظاهر اثر همزمانی نرخ تخمیر شکمبه‌ای به‌طور کامل و بدون تداخل سایر عوامل در نتایج می‌شد. گزارش دهورست و همکاران (6) نیز به عدم تفکیک اثر همزمانی به دلیل اثر ویژگی‌های ماده خوراکی استفاده شده در جیره‌های غذایی اشاره دارد. به هر حال، پژوهش اندکی در موضوع همزمانی ماده مغذی در جیره‌های غنی از کنسانتره و مشابه از نظر ساختار و ترکیب صورت گرفته‌است. از این رو هدف از این پژوهش انجام آزمایشی است تا اثر همزمانی ماده مغذی را بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای و خونی، ساخت پروتئین میکروبی و تعادل نیتروژن در گوسفندانی که با جیره‌های غنی از کنسانتره و مشابه از نظر ساختار و ترکیب تغذیه می‌شوند، بررسی نماید.

مواد و روش‌ها

مواد خوراکی و تعیین تجزیه پذیری

این پژوهش بین سال‌های 1395 تا 1397 در دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. مواد خوراکی معمول در تغذیه دام به همراه برخی مکمل‌ها جمع‌آوری شده و ترکیبات شیمیایی آن‌ها در سه تکرار شامل پروتئین خام، چربی خام، ماده آلی و خاکستر با روش‌های معمول (1) اندازه‌گیری شدند. بخش‌های الیافی شامل الیاف نامحلول در شوینده خنثی (با استفاده از آنزیم آلفا آمیلاز مقاوم به حرارت¹) و اسیدی تعیین شدند (35). برای اندازه‌گیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی غیرقابل

2- Indigestible Neutral Detergent Fiber (iNDF)

3- Effective degradability (ED)

4- Small Ruminant Nutrition System (SRNS)

1- α -Amylase, heat-stable, A3306-10ML, Sigma-Aldrich.

جدول 1- فراسنجه‌های تجزیه پذیری پروتئین خام و کربوهیدرات اقلام خوراکی
Table 1- Crude protein and carbohydrate degradability parameters of the feeds

مواد خوراکی Feeds	پروتئین خام Crude protein				کربوهیدرات Carbohydrate			
	a (%)	b (%)	c (%/h)	ED (%)	a (%)	b (%)	c (%/h)	ED (%)
یونجه خشک Alfalfa hay	39.80	46.95	6.80	66.86	18.53	46.95	5.06	42.15
کاه گندم Wheat straw	14.52	33.83	9.30	36.52	3.93	51.94	1.97	18.61
دانه جو Barley grain	33.55	60.75	6.41	67.68	22.72	61.55	15.21	69.04
دانه ذرت Corn grain	28.06	60.53	12.94	71.72	20.77	73.00	7.29	64.07
تفاله چغندر قند Sugar beet pulp	15.00	74.25	3.63	46.23	16.17	79.11	5.22	56.58
سبوس گندم Wheat bran	40.29	51.65	28.53	84.24	26.87	41.41	18.91	59.62
کنجاله سویا Soybean meal	15.21	83.34	3.64	50.32	24.09	75.70	5.31	63.08

¹a: بخش قابل تجزیه سریع (درصد)؛ b: بخش قابل تجزیه کند (درصد)؛ c: نرخ تجزیه پذیری (واحد در ساعت)؛ ED: تجزیه پذیری موثر (درصد)

¹a: rapidly soluble fraction; b: potentially degradable fraction; c: rate of degradation of b; ED: effective degradability

نیتروژن و کربوهیدرات قابل دسترس شکمبه‌ای جیره در مدت 24 ساعت و عدد 32 حد مطلوب نسبت گرم نیتروژن به کیلوگرم کربوهیدرات تخمیر شده است (32). شاخص همزمانی جیره‌ها در سه سطح 0/64، 0/78 و 0/92 طوری تنظیم شدند که پروتئین خام، انرژی قابل متابولیسم و نسبت کنسانتره به علوفه برابر بوده یا تغییرات اندکی داشتند (جدول 2). آسیاب کردن بخش کنسانتره‌ای و اندازه خرد کردن بخش علوفه‌ای در هر سه جیره یکسان بود.

تغذیه گوسفندان تحت آزمایش

در این بخش از پژوهش از شش رأس گوسفند نر مغانی با سن بین 14 تا 15 ماهه و با میانگین وزن $30/17 \pm 1/17$ کیلوگرم دارای فیستوله شکمبه‌ای استفاده شد. هر کدام از گوسفندان در یک قفس متابولیکی با امکان اندازه گیری مصرف خوراک و جمع‌آوری جداگانه مدفوع و ادرار قرار داشتند. گوسفندان دسترسی آزاد به آب داشته و شرایط محیطی برای همه آن‌ها یکسان بود. کل آزمایش در سه دوره 19 روزه شامل 14 روز عادت پذیری و پنج روز اندازه‌گیری انجام شد. در هر دوره هر یک از سه جیره غذایی (تیمار) به دو رأس گوسفند داده می‌شد به طوریکه در پایان سه دوره هر جیره غذایی توسط شش رأس گوسفند (تکرار) مصرف شده بود. حدود 830 گرم ماده خشک از جیره‌های آزمایشی در دو وعده هشت صبح و 17 عصر در اختیار گوسفندان قرار می‌گرفت و قبل از خوراک‌دهی روز بعد باقی مانده خوراک جمع‌آوری و توزین می‌شد.

در این رابطه، P قابلیت دسترسی ماده مغذی در زمان a، t، b و c فراسنجه‌های حاصل از تجزیه‌پذیری، k نرخ خروج از شکمبه در ساعت و t زمان‌های تجزیه پذیری و L زمان تأخیر بود. طبق خروجی نرم افزار جیره‌نویسی استفاده شده (SRNS) نرخ عبور بخش علوفه‌ای و مواد دانه‌ای در جیره‌های تنظیم شده به ترتیب در محدوده 4/01 تا 4/05 و 5/38 تا 5/44 درصد در ساعت بود. در مورد اوره گرانوله فرض شد که بخش قابل تجزیه سریع (a) آن 95 درصد و پنج درصد باقیمانده با نرخ تجزیه پذیری (c) 0/5 واحد در هر ساعت (50 درصد در هر ساعت) در شکمبه است (31). برخی پژوهشگران (18) معتقدند که محاسبه شاخص همزمانی از روی داده‌های حاصل از تجزیه پذیری پروتئین خام و ماده آلی در شکمبه دستخوش عوامل تصادفی زیادی قرار گرفته و ممکن است به هنگام محاسبه شاخص همزمانی مقدار واقعی به دست نیاید لذا در این پژوهش سعی شد تا حد امکان عوامل افزایشده ایجاد تغییرات محیطی کاهش یافته و برای افزایش دقت به جای ماده آلی در رابطه محاسبه شاخص همزمانی (30) از کربوهیدرات استفاده شد (32). شاخص همزمانی¹ (SI) جیره‌ها با مقادیر به‌دست آمده از قابلیت دسترسی نیتروژن و کربوهیدرات با رابطه 4 محاسبه شد (32):

$$SI = \frac{22 - SI_1 + \frac{(23 - SI_1) \cdot N/CHO^2}{24}}{24} \quad (\text{رابطه 4})$$

در این رابطه SI شاخص همزمانی، N و CHO به ترتیب

جدول 2- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی بر اساس ماده خشک

Table 2- Ingredients and chemical composition of experimental diets on dry matter basis.

اقلام خوراکی (درصد از کل جیره) Ingredients (% of ration)	شاخص همزمانی جیره‌ها Synchrony index of diets		
	0.64	0.78	0.92
یونجه خشک Alfalfa hay	6.38	17.78	24.40
کاه گندم Wheat straw	24.90	13.02	6.54
دانه جو Barley grain	58.00	38.10	21.54
دانه ذرت Corn	0.00	13.30	22.43
تفاله چغندر قند Sugar beet pulp	3.20	0.00	13.08
سبوس گندم Wheat bran	4.90	13.30	6.54
کنجاله سویا Soybean meal	0.00	2.67	4.67
اوره گرانوله (46% ازن) Granulated urea (N=46%)	1.40	0.44	0.20
مکمل معدنی و ویتامینه ¹ Mineral-vitamin premix ¹	0.40	0.40	0.40
نمک Salt	0.14	0.14	0.14
کربنات کلسیم Calcium carbonate	0.68	0.85	0.06
ترکیب شیمیایی Chemical composition			
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	13.65	13.24	13.14
پروتئین قابل متابولیسم (گرم در روز) Metabolizable protein (g d ⁻¹)	121	119	120
انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری به ازای هر کیلوگرم) Metabolizable energy (Mcal Kg ⁻¹)	2.42	2.45	2.48
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) Neutral detergent fiber (%)	39.31	38.21	38.54
الیاف نامحلول در شوینده خنثی غیر قابل هضم (درصد) Indigestible Neutral detergent fiber (%/NDF)	24.54	23.88	23.30
عصاره اتری (درصد) Ether extract (%)	2.31	2.72	2.84
خاکستر (درصد) Ash (%)	5.42	5.67	5.56

¹ هر کیلوگرم از مکمل شامل 500000 واحد بین‌المللی ویتامین A، 100000 واحد بین‌المللی ویتامین D₃، 100 میلی‌گرم ویتامین E، 20 گرم فسفر، 50 گرم سدیم، 20 گرم منیزیم، 3 گرم آهن، 2 گرم منگنز، 3 گرم روی، 280 میلی‌گرم مس، 100 میلی‌گرم کبالت، 100 میلی‌گرم ید و 4 میلی‌گرم سلنیوم بود.
¹ Containing vitamin A (500000 IU), vitamin D₃ (100000 IU), vitamin E (100 mg), P (20 g), Na (50 g), Mg (20 g), Fe (3 g), Mn (2 g), Zn (3 g), Cu (280 mg), Co (100 mg), I (100 mg), Se (4 mg) per kilograms.

دریچه فیستوله شکمبه‌ای قبل از وعده خوراکدهی صبح همچنین 1/5، سه و شش ساعت بعد از مصرف خوراک جمع‌آوری شده و بلافاصله pH آن اندازه‌گیری شد. برای نگهداری مایع شکمبه تا زمان اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی به هر میلی‌لیتر آن 20 میکرولیتر اسید

نمونه‌گیری از مایع شکمبه و تعیین فراسنجه‌های آن
از روز 15 تا 19 هر دوره حدود 50 میلی‌لیتر مایع شکمبه از طریق

نیتروژن آمونیاکی و pH شکمبه

بین جیره‌های آزمایشی از نظر pH شکمبه (جدول 3) در شرایط ناشتایی یا قبل از مصرف خوراک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که این نتیجه با گزارش‌های پیشین منطبق است (4، 25). با توجه به اینکه یک فاصله زمانی 12 ساعته بین مصرف خوراک و اندازه‌گیری pH وجود داشت اسیدهای چرب فرار حاصل از تخمیر خوراک در شکمبه جذب شده یا به قسمت‌های بعدی دستگاه گوارش وارد شده‌اند و با ادامه نشخوار توسط حیوان و ورود بزاق به شکمبه شرایط متعادل‌ی در pH شکمبه به‌وجود می‌آید (7). در اندازه‌گیری 1/5 ساعت بعد از مصرف خوراک تغییرات pH شکمبه بین تیمارها از تفاوت معنی‌داری برخوردار بوده و کمترین pH شکمبه مربوط به تیمار شماره دو با شاخص همزمانی 0/78 بود. هر چند در 1/5 ساعت بعد از مصرف خوراک بین تیمارها تفاوت معنی‌دار مشاهده شد اما بررسی روند خطی تیمارها تفاوت معنی‌داری را با افزایش شاخص همزمانی نشان نداد. در اندازه‌گیری‌های سه و شش ساعت بعد از مصرف خوراک نیز تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. شکمبه یک محیط با پایداری نسبی است (5) و این پایداری به جز در 1/5 ساعت بعد از مصرف خوراک که غلظت اسیدهای چرب فرار به‌واسطه عوامل هضم در اوج تولید است، سبب عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی شده است.

غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه (جدول 3) در وضعیت ناشتایی از الگوی مشابه pH شکمبه تبعیت می‌کند به طوری که تمایل به شرایط پایدار در شکمبه یک ثبات نسبی را به‌وجود آورده و سبب عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی در 1/5 و شش ساعت بعد از مصرف خوراک شده است. به نظر می‌رسد که بین 1/5 تا سه ساعت بعد از مصرف خوراک پایداری نسبی شکمبه به‌واسطه تولید اسیدهای چرب فرار و سایر فراورده‌های حاصل از هضم در محیط شکمبه و نگاری به هم خورده و نوع جیره نیز در این شرایط نقش ایفا می‌کند به طوری که در این پژوهش جیره‌ای که از شاخص همزمانی کمتری (0/64) برخوردار بود نسبت به جیره‌ای با همزمانی بالا (0/92) از غلظت نیتروژن آمونیاکی بیشتری نیز برخوردار بود که این نتیجه با گزارش‌های پیشین منطبق است (40). در بررسی جیره‌های با شاخص همزمانی مختلف از 0/61 تا 0/86 در بره‌ها مشخص شد که همزمانی ماده مغذی اثر معنی‌داری بر میانگین pH و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در ساعات مختلف، نداشت (25). نتایج مشابه دیگری در جیره‌های با شاخص‌های همزمانی مختلف از 0/39 تا 0/74 در گوساله‌های پرواری به دست آمد (4). معنی‌دار نبودن اثر تیمارهای آزمایشی بر pH و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در وضعیت ناشتا توسط پژوهشگران پیشین نیز گزارش شده بود (4، 25). در پژوهش‌های پیشین جیره‌های با شاخص همزمانی کم از نیتروژن آمونیاکی

سولفوریک 50 درصد اضافه شده و در 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (13). نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با اندکی تغییر در روش سوزا و همکاران (33) تعیین شد (40). غلظت اسیدهای چرب فرار با روش کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC) تعیین شد (41).

برآورد ساخت پروتئین میکروبی و تعادل نیتروژن

از روز 15 هر دوره به مدت پنج روز ادرار و مدفوع هر دام به طور جداگانه جمع‌آوری شد. در ظرف‌های جمع‌آوری ادرار 100 میلی‌لیتر اسید سولفوریک 10 درصد ریخته شده که به هنگام ثبت حجم روزانه ادرار دفعی این میزان حجم از آن کسر می‌شد. حدود 70 میلی‌لیتر از ادرار جمع‌آوری شده و در 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از یخ‌کشایی اسید اوریک ادرار با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون (شماره سفارش 1400031) اندازه‌گیری شد. گزانتین و هیپوگزانتین به همراه آلانتوئین ادرار به روش چن و گومس (3) اندازه‌گیری شد. پروتئین میکروبی ساخته شده از مجموع بازهای پورینی دفع شده محاسبه شد (3). تعادل نیتروژن از کسر مجموع نیتروژن دفعی از ادرار و مدفوع، از نیتروژن دریافتی از خوراک محاسبه شد.

خون‌گیری و تعیین فراسنجه‌های خونی

در روز 19 هر دوره قبل از خوراک‌دهی وعده صبح و سه ساعت بعد از مصرف خوراک از سیاهرگ گردن هر دام خون‌گیری انجام شد. غلظت گلوکز، آلبومین و نیتروژن اورده‌ای خون با دستگاه اتوآنالایزر (شرکت روج، مدل کوباس، ساخت آلمان) و کیت‌های شرکت پارس آزمون تعیین شد.

تجزیه آماری داده‌ها

داده‌ها در قالب طرح مربع لاتین تکرار شده با رویه مدل خطی عمومی¹ به همراه مقایسه‌های متعامد چندجمله‌ای² با نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در این طرح از مدل آماری به شرح زیر استفاده شد.

$$Y_{ijk} = \mu + L_i + R_j + C_k + T_j + E_{ijk} \quad (\text{رابطه 5})$$

در این مدل Y_{ijk} نشان‌دهنده‌ی هر مشاهده در آزمایش، μ : میانگین کل جمعیتی که از طریق نمونه‌ها با فرض صفر مورد بررسی قرار می‌گیرد، L_i : اثر مربع، R_j : اثر ردیف، C_k : اثر ستون، T_j : اثر تیمار و E_{ijk} : اثر اشتباه آزمایش است. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای 0/05 استفاده شد.

نتایج و بحث

- 1- General linear model (GLM)
- 2- Orthogonal polynomial

بیشتری در مایع شکمبه در ساعات‌های اولیه پس از مصرف خوراک نسبت به جیره‌های با شاخص همزمانی بالا برخوردار بودند که با نتایج

جدول 3- تأثیر سطوح مختلف شاخص همزمانی بر pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم در دسی لیتر) مایع شکمبه در گوسفندان فیستوله گذاری شده.

Table 3- Effect of synchrony index levels on rumen pH and NH₃-N (mg dl⁻¹) concentration in fistulated sheep.

Items	شاخص همزمانی جیره‌ها Synchrony index of diets				P-Value	
	صفات مورد مطالعه	0.64	0.78	0.92	SEM	Model Linear
pH						
pH-0 (قبل از خوراک‌دهی) (Before feeding)		6.61	6.51	6.46	0.07	0.1561 0.9117
pH-1.5 (1.5 ساعت بعد از خوراک‌دهی) (1.5 hours after feeding)		6.00 ^{ab}	5.84 ^b	6.03 ^a	0.04	0.0384 0.6658
pH-3 (3 ساعت بعد از خوراک‌دهی) (3 hours after feeding)		5.72	5.73	5.76	0.04	0.0583 0.1501
pH-6 (6 ساعت بعد از خوراک‌دهی) (6 hours after feeding)		5.76	5.86	5.88	0.04	0.0532 0.3404
نیتروژن آمونیاکی NH ₃ -N						
NH ₃ -N -0 (قبل از خوراک‌دهی) (Before feeding)		12.15	12.43	9.91	1.01	0.5858 0.2372
NH ₃ -N -1.5 (1.5 ساعت بعد از خوراک‌دهی) (1.5 hours after feeding)		24.63 ^a	20.72 ^b	16.07 ^c	0.99	0.0675 0.0075
NH ₃ -N -3 (3 ساعت بعد از خوراک‌دهی) (3 hours after feeding)		21.00 ^a	18.54 ^a	11.65 ^b	1.26	0.1679 0.0227
NH ₃ -N -6 (6 ساعت بعد از خوراک‌دهی) (6 hours after feeding)		14.03	12.74	10.05	1.25	0.3728 0.1452

¹ در هر سطر میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<0/05).

¹ Means in the same row with the different letters are significantly different (P<0.05).

افزایش یافت (P=0/0045). این نتیجه با گزارش کیوآ و همکاران (24) در بررسی جیره‌هایی با شاخص همزمانی 0/74، 0/85 و 0/97 روی گاوهای هولشتاین منطبق است. در بین اسیدهای چرب فرار فقط غلظت پروپیونات در بین جیره‌های آزمایشی (P=0/0234) و با روند افزایش خطی شاخص همزمانی افزایش معنی‌داری داشت (P=0/0049).

ریچاردسون و همکاران (25) در پرواربندی بره‌های نر با 6 جیره شامل 68 تا 70 درصد کنسانتره در دو گروه بر پایه جو با شاخص همزمانی 0/63، 0/76 و 0/86 و بر پایه تفاله چغندر با شاخص همزمانی 0/61، 0/76 و 0/85 گزارش کردند که غلظت اسیدهای چرب فرار، میانگین pH و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه که در ساعات مختلف نمونه‌گیری شده بود، تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. نتایج مشابه دیگری نیز با جیره‌های دارای 55 درصد کاه برنج و کنسانتره‌ای بر پایه دانه ذرت با چهار شاخص همزمانی 0/39، 0/50، 0/62 و 0/74 با گاوهای فیستوله گذاری شده گزارش شد (4).

غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه

بین جیره‌های آزمایشی از نظر غلظت کل اسیدهای چرب فرار تولید شده در شکمبه (جدول 4) در شرایط ناشتایی یا قبل از مصرف خوراک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. این نتیجه با گزارش پژوهشگران پیشین مطابقت دارد (4، 25، 41). غلظت پروپیونات برخلاف استات و بوتیرات در جیره‌هایی که از شاخص همزمانی بالاتری (0/78 و 0/92) برخوردار بودند بیشتر بود. غلظت ایزوبوتیرات در جیره شماره دو با شاخص همزمانی 0/78 نسبت به دو جیره دیگر بالاتر بود (P=0/0147). هیچ کدام از اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه در وضعیت ناشتایی در سه جیره آزمایشی تفاوت معنی‌داری را با توجه به روند افزایش شاخص همزمانی به صورت خطی نشان ندادند. برخلاف وضعیت ناشتایی در سه ساعت بعد از مصرف خوراک تفاوت معنی‌داری در غلظت کل اسیدهای چرب فرار تولید شده در شکمبه (جدول 4) مشاهده شد (P=0/0401). غلظت کل اسیدهای چرب فرار با روند افزایش شاخص همزمانی نیز به طور معنی‌داری

جدول 4- تأثیر سطوح مختلف شاخص همزمانی بر غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه (میلی‌مول در لیتر) در گوسفندان فیستوله گذاری شده.
Table 4- Effect of synchrony index levels on rumen liquor volatile fatty acids (VFA) (mmol l⁻¹) concentration in fistulated sheep.

صفات مورد مطالعه Items	شاخص همزمانی جیره‌ها Synchrony index of diets				P-Value	
	0.64	0.78	0.92	SEM	Model	Linear
VFA-0 (قبل از خوراک‌دهی) (Before feeding)						
استات Acetate	23.05	22.71	28.01	1.59	0.6422	0.1224
پروپیونات Propionate	11.91 ^b	13.42 ^a	14.12 ^a	0.31	0.0092	0.0928
بوتیرات Butyrate	9.42	9.37	9.37	0.37	0.4210	0.7300
ایزوبوتیرات Iso butyrate	0.03 ^b	0.05 ^a	0.04 ^b	0.003	0.0147	0.9203
ایزووالرات Iso valerate	0.23	0.22	0.24	0.03	0.4167	0.4762
والرات Valerate	1.41	0.98	1.19	0.22	0.7364	0.3078
کل اسیدهای چرب فرار Total VFA	46.13	46.75	52.97	2.24	0.5210	0.1227
VFA-3 (3 ساعت بعد از خوراک‌دهی) (3 hours after feeding)						
استات Acetate	40.38	42.75	49.58	2.37	0.4108	0.1242
پروپیونات Propionate	17.25 ^b	17.69 ^b	21.08 ^a	0.51	0.0234	0.0049
بوتیرات Butyrate	7.27	6.45	10.16	1.40	0.6341	0.1638
ایزوبوتیرات Iso butyrate	0.04	0.03	0.03	0.06	0.6271	0.3019
ایزووالرات Iso valerate	0.36	0.45	0.34	0.07	0.2149	0.2723
والرات Valerate	2.54	1.74	1.64	0.29	0.4966	0.0798
کل اسیدهای چرب فرار Total VFA	67.84 ^b	69.11 ^b	82.83 ^a	1.60	0.0401	0.0045

¹ در هر سطر میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<0/05).

¹ Means in the same row with the different letters are significantly different (P<0.05).

واتی و همکاران (37) با جیره‌هایی شامل 70 درصد کنسانتره و شاخص همزمانی 0/37، 0/50 و 0/63 در پرورش بره‌های نر نیز افزایش پروپیونات و کاهش نسبت استات به پروپیونات را گزارش کردند. مقادیر به‌دست آمده برای نسبت استات، پروپیونات و بوتیرات در بین تیمارها مشابه با نسبت‌های ذکر شده در منابع مختلف (21) بود به‌طوری که دملو (7) یک نسبت رایج از این سه اسید چرب اصلی را به ترتیب 66، 20 و 14 درصد ذکر کرده است. اما مقادیر این

سینکلیر و همکاران (30) در پژوهشی از بررسی جیره‌هایی با شاخص همزمانی 0/58 و 0/93 دریافتند که هرچند جیره‌ها از نظر تولید اسیدهای چرب فرار تفاوت معنی‌داری نداشتند اما جیره‌ی با شاخص همزمانی بالا نوسان کمتری در تولید اسیدهای چرب فرار در شکمبه داشت. عدم تفاوت معنی‌دار در غلظت اسیدهای چرب فرار در جیره‌هایی شامل کاه گندم و 60 تا 65 درصد کنسانتره با شاخص همزمانی 0/55 تا 0/87 در پرورش بره میش‌ها نیز گزارش شد (38).

آلانتوئین، گزانتین، هیپوگزانتین و اسیداوریک همچنین کل مشتقات پورینی جذب شده (جدول 5) تفاوت معنی‌داری نداشتند. نیتروژن میکروبی یا پروتئین میکروبی ساخته شده در بین جیره‌های آزمایشی همچنین در بررسی روند خطی همگام با افزایش شاخص همزمانی تفاوت معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). این نتیجه با گزارش کیوآ و همکاران (24) در بررسی جیره‌هایی با شاخص همزمانی 0/74، 0/85 و 0/97 روی گاوهای هولشتاین که با افزایش شاخص همزمانی ساخت پروتئین میکروبی به صورت خطی افزایش یافته بود، در تقابل است. البته به نظر می‌رسد در جیره شماره سه که از بیشترین شاخص همزمانی (0/92) برخوردار است مقدار مجموع گزانتین و هیپوگزانتین نیز بیشتر است هر چند در مقایسه بین تیمارها این مقدار معنی‌دار نشده است اما در بررسی روند خطی تیمارها این مقدار تمایل به معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P=0/0589$). در پژوهش‌های پیشین انجام شده روی گاو نتایج موافق (9، 23) یا مخالف (27، 28) با نتایج این پژوهش در مورد ساخت پروتئین میکروبی گزارش شد. تنظیم جیره‌ها در این پژوهش به نحوی انجام شد که علاوه بر یکسان بودن (یا تفاوت ناچیز) ترکیب شیمیایی مانند پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و محتوی انرژی، نسبت علوفه به کنسانتره نیز برابر بود. همچنین، ساختار جیره‌ها از نظر اندازه ذرات علوفه و کنسانتره مشابه بود.

اسیدها و نسبت‌های آن‌ها بر اساس نوع جیره (نسبت کنسانتره به علوفه یا نوع منبع کربوهیدراتی) و مدت زمان بعد از مصرف خوراک متغیر است. افزایش نسبت الیاف از منبع علوفه‌ای در جیره می‌تواند نسبت استات را تا 74 درصد افزایش داده و افزایش نسبت مواد دانه‌ای یا جیره غنی از نشاسته می‌تواند نسبت پروپیونات را تا 40 درصد افزایش می‌دهد هرچند بوتیرات کمتر تحت تأثیر نوع جیره قرار می‌گیرد (21). در این جیره‌ها با توجه به این که نسبت علوفه به کنسانتره همچنین اندازه ذرات که از عوامل اصلی و تأثیرگذار در غلظت و نسبت اسیدهای چرب فرار هستند مشابه بود لذا عدم تفاوت معنی‌دار بین نسبت اسیدهای چرب فرار دور از انتظار نبود. این نتیجه با یافته‌های پیشین در گوسفندان نر فیستوله گذاری شده (11) و گوساله‌های پرواری تغذیه شده با جیره‌هایی با شاخص همزمانی 0/51، 0/77 و 0/95 (23) مطابقت داشت، اما با نتایج پژوهش‌های انجام شده در گوسفندهای نر فیستوله گذاری شده که با جیره‌هایی با شاخص همزمانی 0/58 و 0/93 تغذیه شدند (30) و گوسفندهای نر یکساله در قفس‌های متابولیک (با شاخص همزمانی 0/5 و 0/7) (12) در تقابل است.

بازهای پورینی و ساخت پروتئین میکروبی

جیره‌های آزمایشی از نظر مقدار دفع بازهای پورینی شامل

جدول 5- تأثیر سطوح مختلف شاخص همزمانی بر بازهای پورینی و ساخت پروتئین میکروبی در گوسفندان فیستوله گذاری شده.

Table 5- Effect of synchrony index levels on purine bases and microbial protein synthesis in fistulated sheep.

صفات مورد مطالعه Items	شاخص همزمانی جیره‌ها Synchrony index of diets			SEM	P-Value	
	0.64	0.78	0.92		Model	Linear
آلانتوئین (میلی مول در روز) Allantoin (mmol d^{-1})	5.25	4.91	5.25	0.22	0.1688	0.1302
گزانتین+هیپوگزانتین (میلی مول در روز) Xanthine + Hypoxanthine (mmol d^{-1})	0.72	0.72	1.20	1.58	0.1363	0.0589
اسید اوریک (میلی مول در روز) Uric acid (mmol d^{-1})	1.21	1.33	1.13	0.11	0.5894	0.4730
کل مشتقات پورینی دفع شده (میلی مول در روز) Total purine derivatives excretion (mmol d^{-1})	7.12	7.01	7.34	0.14	0.3964	0.5938
کل مشتقات پورینی جذب شده (میلی مول در روز) Total purine derivatives absorption (mmol d^{-1})	7.97	7.83	8.22	0.17	0.3964	0.5938
نیتروژن میکروبی تولید شده (گرم در روز) Microbial nitrogen produced (g d^{-1})	5.79	5.69	5.98	0.07	0.3964	0.5938
پروتئین میکروبی تولید شده (گرم در روز) Microbial protein produced (g d^{-1})	36.20	35.56	37.34	0.76	0.3964	0.5938

¹ در هر سطر میانگین‌های با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P<0/05$).

¹ Means in the same row with the different letters are significantly different ($P<0.05$).

مغذی، پروتئین میکروبی ساخته شده به‌عنوان یک نتیجه کلیدی و

در اغلب پژوهش‌های پیشین مرتبط با موضوع همزمانی ماده

شماره یک با شاخص همزمانی 0/64 تغذیه کرده بودند بیشتر و در مقابل نیتروژن ابقاء شده و بازدهی ابقاء آن کمتر بود ($P=0/0019$). افزایش ابقاء نیتروژن با افزایش همزمانی در فراهمی انرژی و نیتروژن در شکمبه با استفاده از گوسفند های فیستوله گذاری شده (8) و بره های در حال رشد (19) گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. در مقابل پژوهش های انجام شده در بره های در حال رشد (تغذیه شده با جیره هایی با شاخص همزمانی 0/55 تا 0/87) (39) و گاوه های شیر (16) نشان داد که فراهمی همزمان انرژی و نیتروژن اثر معنی داری در دفع نیتروژن از حیوان نداشت هرچند سبب بهبود ساخت پروتئین میکروبی شده است. گزارش های دیگری نیز مبنی بر عدم تأثیر همزمانی ماده مغذی بر ابقاء نیتروژن وجود دارد (12، 25، 39). وضعیت غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه (کاهش معنی دار همگام با افزایش شاخص همزمانی) (جدول 3) به همراه زیاد بودن ابقاء نیتروژن نشان دهنده بهبود بازدهی استفاده از نیتروژن همگام با افزایش همزمانی ماده مغذی است.

عوامل اصلی برای ساخت پروتئین میکروبی در شکمبه انرژی، اسکلت کربنی و منابع مناسب نیتروژنی (آمونیاک، اسید آمینه ها و پپتیدها) هستند. در جیره های غنی از کنسانتره محدودیتی از نظر منابع انرژی و اسکلت کربنی برای رشد سلول باکتری های شکمبه به دلیل فراوانی کربوهیدرات های سهل الهضم وجود ندارد و اغلب منابع نیتروژنی عامل اصلی محدود کننده رشد میکروبی هستند (9). در پژوهش حاضر مقدار پروتئین خام هر سه جیره برابر بوده اما قابلیت دسترسی همزمان و مقادیر متناسب آن با منابع انرژی (به طور عمده کربوهیدرات ها) با یکدیگر متفاوت بود. بنابراین با افزایش شاخص همزمانی در جیره ها دسترسی همزمان و متناسب عوامل اصلی دخیل در ساخت پروتئین میکروبی، سبب استفاده بیشتر از منابع نیتروژنی موجود در شکمبه و کاهش اتلاف ATP حاصل از تخمیر کربوهیدرات (از مسیر تبدیل گلوکز -6- فسفات به گلیکوزن که نیازمند مصرف یک ATP است و مسیر هدررفت انرژی¹) شده است (9). پژوهشگران پیشین گزارش کردند که جیره هایی که از شاخص همزمانی بالایی (0/93 در مقابل 0/58) برخوردار هستند، می توانند با در اختیار گیری بهتر نیتروژن کارایی استفاده از آن را در گوسفند افزایش دهند (30).

فراسنجه های خونی

نتایج مربوط به اندازه گیری گلوکز، آلبومین و نیتروژن اوره ای خون در شرایط قبل از مصرف خوراک تفاوت معنی داری بین جیره های آزمایشی نشان نداد. عدم معنی داری مقادیر فراسنجه های خونی اندازه گیری شده در سه ساعت بعد از مصرف خوراک نیز مشاهده شد.

مهم گزارش شده است (40). ساخت پروتئین میکروبی توسط عوامل حیوانی و جیره ای زیادی تحت تأثیر قرار می گیرد که شامل مقادیر نیتروژن، منابع نیتروژن، نرخ های تجزیه کربوهیدرات و نیتروژن، نوع و مقدار کربوهیدرات در جیره، ماده خشک مصرفی و همزمانی بین نیتروژن و انرژی است (14). ساخت پروتئین میکروبی در شکمبه به عوامل زیادی از جمله قابلیت دسترسی کربوهیدرات و نیتروژن در شکمبه، pH شکمبه، اثرات فیزیولوژیک، مقادیر و منابع ترکیبات نیتروژنی، و پایداری تخمیری شکمبه ای وابسته است (15). مقادیر زیاد کربوهیدرات قابل تخمیر سریع در شکمبه می تواند کارایی ساخت پروتئین میکروبی در شکمبه را کاهش دهد (17). هرچند همزمان سازی کربوهیدرات قابل تخمیر سریع با ترکیبات نیتروژنی غیرپروتئینی در بهبود بازدهی ساخت پروتئین میکروبی باید مورد توجه قرار گیرد (2). جیره تنها عامل تعیین کننده کمیت و کیفیت مواد مغذی فراهم شده برای جمعیت میکروبی شکمبه و حیوان نیست بلکه مخازن داخل بدن و شکمبه نیز فراهمی برخی مواد مغذی از جمله نیتروژن را تحت تأثیر قرار می دهند. ترکیبات نیتروژنی از مخازن بدنی به شکل اوره از راه بزاق و دیواره شکمبه به داخل شکمبه وارد شده و مورد استفاده قرار می گیرند همچنین می توانند از مخزن شکمبه ای و از متلاشی شدن میکروب های شکمبه حاصل شوند. میکروب های شکمبه در شرایط مختلف از نظر فراوانی یا نقصان منابع غذایی مورد نیازشان پاسخ های مناسبی (عادت پذیری) می توانند داشته باشند به طوری که در شرایط فراوانی، مواد مغذی مورد نیاز را به صورت درون سلولی ذخیره نموده و در مواقع کمبود از این ذخایر استفاده می کنند (12). همچنین، برخی مخازن داخل شکمبه ای کربوهیدرات از جمله ذخایر گلیکوژنی درون سلول میکروبی که به هنگام مازاد کربوهیدرات سهل الهضم در شکمبه افزایش و به هنگام نیاز باکتری ها به انرژی تجزیه شده و کاهش می یابد، می تواند نقش یک تعدیل کننده را داشته باشد (9). لذا برای رسیدن به موفقیت در برقراری همزمانی ماده مغذی در جیره باید کلیه جوانب مربوط به منابع جیره ای و غیر جیره ای مواد مغذی در نظر گرفته شود (10). به نظر می رسد که مجموعه ای از عوامل جیره ای (شباهت در ترکیب شیمیایی و ساختار) و عوامل غیر جیره ای از جمله تلاش حیوان برای برقراری هموستازی (10) و اثر تعدیلی مخازن مواد مغذی بدن و شکمبه مانع بروز اثر شاخص همزمانی ماده مغذی در ساخت پروتئین میکروبی شده است.

تعادل و بازدهی نیتروژن

تراز نیتروژن همچنین ابقاء و بازدهی آن در گوسفندان تحت آزمایش در جدول شش نشان داده شده است. بررسی نیتروژن دفع شده از مدفوع و ادرار به طور جداگانه در بین تیمارها تفاوت معنی داری را نشان نمی دهد. کل نیتروژن دفع شده در گوسفندانی که از جیره

جدول 6- تأثیر سطوح مختلف شاخص همزمانی بر تعادل و ابقاء نیتروژن در گوسفندان فیستوله گذاری شده.

Table 6- Effect of synchrony index levels on nitrogen balance and reinstating in fistulated sheep.

صفات مورد مطالعه Items	شاخص همزمانی جیره‌ها Synchrony index of diets				P-Value	
	0.64	0.78	0.92	SEM	Model	Linear
نیتروژن مصرفی (گرم در روز) Nitrogen intake (g d ⁻¹)	17.26	17.26	17.26	-	-	-
نیتروژن دفع شده از مدفوع (گرم در روز) Nitrogen excretion from feces (g d ⁻¹)	3.55	2.96	3.25	0.16	0.2036	0.4112
نیتروژن دفع شده از ادرار (گرم در روز) Nitrogen excretion from urine (g d ⁻¹)	3.71	3.55	3.36	0.17	0.1216	0.3334
¹ کل نیتروژن دفع شده (گرم در روز) ¹ Total nitrogen excretion (g d ⁻¹)	7.26 ^a	6.51 ^b	6.61 ^b	0.08	0.0019	0.0123
نیتروژن ابقاء شده (گرم در روز) Reinstated nitrogen (g d ⁻¹)	10.00 ^b	10.76 ^a	10.65 ^a	0.08	0.0019	0.0123
بازدهی ابقاء نیتروژن (درصد) Reinstated nitrogen efficiency (%)	57.94 ^b	62.30 ^a	61.69 ^a	0.14	0.0019	0.0123

¹ بدون احتساب ریزش پشم و لایه‌های جدا شده از پوست؛ ² در هر سطر میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<0/05).

¹ Wool loss and dandruff skin was considered negligible; ² Means in the same row with the different letters are significantly different (P<0.05).

جدول 7- تأثیر سطوح مختلف شاخص همزمانی بر فراسنجه‌های خونی در گوسفندان فیستوله گذاری شده.

Table 7- Effect of synchrony index levels on blood parameters in fistulated sheep.

صفات مورد مطالعه Items	شاخص همزمانی جیره‌ها Synchrony index of diets				P-Value	
	0.64	0.78	0.92	SEM	Model	Linear
قبل از مصرف خوراک Before feeding						
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر) Glucose (mg dl ⁻¹)	63.50	62.92	66.50	0.89	0.0616	0.2472
آلبومین (گرم در لیتر) Albumin (g l ⁻¹)	3.80	3.55	3.87	0.27	0.5920	0.7221
نیتروژن اورهای خون (میلی گرم در دسی لیتر) Blood urea nitrogen (mg dl ⁻¹)	16.10	15.18	15.76	1.37	0.6754	0.7508
3 ساعت بعد از مصرف خوراک 3 hours after feeding						
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر) Glucose (mg dl ⁻¹)	73.00	74.20	74.00	4.09	0.3982	0.9047
آلبومین (گرم در لیتر) Albumin (g l ⁻¹)	3.66	3.58	4.04	0.33	0.6071	0.2953
نیتروژن اورهای خون (میلی گرم در دسی لیتر) Blood urea nitrogen (mg dl ⁻¹)	17.48	16.56	16.28	1.23	0.4194	0.5086

¹ در هر سطر میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<0/05).

¹ Means in the same row with the different letters are significantly different (P<0.05).

فیستوله گذاری شده (شاخص همزمانی جیره‌ها 0/5 و 0/7 و 12)،
بره‌های پرواری (شاخص همزمانی جیره‌ها 0/61، 0/76 و 0/85 و 25)

طبق نتیجه به‌دست آمده در این پژوهش، پژوهشگران پیشین اثر
معنی‌داری را از همزمانی ماده مغذی روی اوره پلاسمای گوسفندان

نشان داد. هرچند انتظار دستیابی به شرایطی از قبیل افزایش معنی‌دار در ساخت پروتئین میکروبی و کاسته شدن از نیتروژن اوردهای خون دیده نشد اما بهبود شرایط تخمیر و افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار به ویژه پروپیونات در شکمبه نشان دهنده افزایش بازدهی تخمیر و شرایط مطلوب در شکمبه است. تلاش‌هایی در تغییر رابطه محاسبه شاخص همزمانی توسط پژوهشگران مختلف صورت گرفته است اما با توجه به دخالت عوامل مختلف در تخمیر شکمبه‌ای و پیچیدگی‌های حیوان میزبان، مخازن ماده مغذی در بدن و شرایط محیطی به نظر می‌رسد که برای محاسبه این شاخص رابطه پیچیده‌تری نیاز است. به‌طوری‌که علاوه بر افزایش دقت در برآورد نتایج تجزیه‌پذیری مواد مغذی در شکمبه سایر عوامل در محاسبه شاخص همزمانی از جمله نوع منبع الیافی (علوفه‌ای یا غیر علوفه‌ای)، اندازه ذرات، سطح تغذیه، مقادیر کافی و مناسب از مواد معدنی (از جمله گوگرد) و ویتامین‌ها نیز در محاسبه این شاخص دخالت داده شوند.

و تلیسه‌های در حال رشد (شاخص همزمانی جیره‌ها 0/73 و 0/83) (29) مشاهده نکردند. در مقابل گزارش‌هایی با استفاده از بره‌های پرواری (شاخص همزمانی جیره‌ها 0/59، 0/73 و 0/87) (40)، گاوهای شیری (شاخص همزمانی جیره‌ها 0/74، 0/85 و 0/97) (24) و گاوهای گوشتی (شاخص همزمانی جیره‌ها 0/39، 0/50، 0/62 و 0/74) مبنی بر موثر بودن جیره‌های غذایی با سطوح مختلف همزمانی ماده مغذی بر نیتروژن اوردهای خون وجود دارد (4) به طوری که با افزایش شاخص همزمانی ماده مغذی در جیره‌های استفاده شده غلظت نیتروژن اوردهای خون کاهش یافته است. افزایش نیتروژن اوردهای خون به دنبال افزایش نیتروژن آمونیاکی شکمبه گزارش شده است (36).

نتیجه‌گیری کلی

این پژوهش نتایج مثبتی را از اثر به کارگیری شاخص همزمانی در تنظیم جیره‌های غذایی برای نشخوارکنندگان به ویژه گوسفندان

منابع

- 1- AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- 2- Chanjula, P., M. Wanapat, C. Wachirapakorn, and P. Rowlison. 2004. Effect of synchronizing starch sources and protein (NPN) in the rumen on feed intake, rumen microbial fermentation, nutrient utilization and performance of lactating dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 17:1400-1410.
- 3- Chen X. B. and M. J. Gomes. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - An overview of the technical details. Rowett Research Institute, Bucksburn Aberdeen AB2 9SB, UK. 21p.
- 4- Chumpawadee, S., K. Sommart, T. Vongpralub, and V. Pattarajinda. 2006. Effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on ruminal fermentation, microbial protein synthesis, blood urea nitrogen and nutrient digestibility in beef cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19:181-188.
- 5- Czerwaski, J.W. 1986. An Introduction to Rumen Studies. Pergamon Press, Oxford, UK, 236p.
- 6- Dewhurst, R. J., D. R. Davies, and R. J. Merry. 2000. Microbial protein supply from the rumen. *Animal Feed Science Technology*, 85:1-21.
- 7- D'Mello, J. P. F. 2000. Farm Animal Metabolism and Nutrition. CABI Pub. 438p.
- 8- Elseed, F. A. M. A. 2005. Effect of supplemental protein feeding frequency on ruminal characteristics and microbial N production in sheep fed treated rice straw. *Small Ruminant Research*, 57:11-17.
- 9- Hall, M. B. 2013. Dietary starch source and protein degradability in diets containing sucrose: Effects on ruminal measures and proposed mechanism for degradable protein effects. *Journal of Dairy Science*, 96:7093-7109.
- 10- Hall, M. B. and G. B. Huntington. 2008. Nutrient synchrony: Sound in theory, elusive in practice. *Journal of Animal Science*, 86: E287-E292.
- 11- Henning, P. H., D. G. Steyn, and H. H. Meissner. 1993. Effect of synchronization of energy and nitrogen supply on ruminal characteristics and microbial growth. *Journal of Animal Science*, 71:2516-2528.
- 12- Ichinohe, T. and T. Fujihara. 2008. Adaptive changes in microbial synthesis and nitrogen balance with progressing dietary feeding periods in sheep fed diets differing in their ruminal degradation synchronicity between nitrogen and organic matter. *Animal Science Journal*, 79:322-331.
- 13- Kargar, S., G. R. Ghorbani, M. Alikhani, M. Khorvash, L. Rashidi, and D. J. Schingoethe. 2012. Lactational performance and milk fatty acid profile of Holstein cows in response to dietary fat supplements and forage: concentrate ratio. *Livestock Science*, 150:274-283.
- 14- Karsli, M. A. and J. R. Russell. 2002. Effects of source and concentrations of nitrogen and carbohydrate on ruminal microbial protein synthesis. *Turkish Journal of Veterinary Science*, 26:201-207.
- 15- Khorasani, G. R., G. Deboer B. Robinson, and J. J. Kennelly. 1994. Influence of dietary protein and starch on

- production and metabolic responses of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 77:813-284.
- 16- Kim, K. H., J. J. Choung, and D. G. Chamberlian. 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 the Science of Food and Agriculture*, 79:1441-1447.
 - 17- Kim, K. H., S. S. Lee, and K. J. Kim. 2005. Effect of in traruminal sucrose infusion on volatile fatty acid production and microbial protein synthesis in sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 18:350-353.
 - 18- Malekjahani, F., M. Danesh Mesgaran, A. Vakili, M. Sadeghi, and P. Yu. 2017. A novel approach to determine synchronization index of lactating dairy cow diets with minimal sensitivity to random variations. *Animal Feed Science and Technology*, 225:143-156.
 - 19- Matras, J., S. J. Bartle, and R. L. Preston. 1991. Nitrogen utilization in growing lambs: Effects of grain (starch) and protein sources with various rates of ruminal degradation. *Journal of Animal Science*, 69:339-347.
 - 20- McDonald, I. 1981. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. *The Journal of Agricultural Science*, 96:251-252.
 - 21- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F D.Greenhalgh, C. A. Morgan, L. A. Sinclair and R. G. Wilkinson. 2010. *Animal Nutrition*. 7th Ed. Pearson Education Canada. 712 p.
 - 22- NRC. 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. Natl. Acad. Press, Washington DC.
 - 23- Piao, M. Y., H. J. Kim, J. K. Seo, T. S. Park, J. S. Yoon, K. H. Kim, and J. K. Ha. 2012. Effects of synchronization of carbohydrate and protein supply in total mixed ration with Korean rice wine residue on ruminal fermentation, nitrogen metabolism and microbial protein synthesis in Holstein steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25:1568-1574.
 - 24- Qiao, G. H., Z. G. Xiao, Y. Li, G. J. Li, L. C. Zhao, T. M. Xie, and D. W. Wang. 2018. Effect of diet synchrony on rumen fermentation, production performance, immunity status and endocrine in Chinese Holstein cows. *Animal Production Science*, 59:664-672.
 - 25- Richardson, J. M., R. G. Wilkinson, and L. A. Sinclair. 2003. Synchrony of nutrient supply to the rumen and dietary energy source and their effects on the growth and metabolism of lambs. *Journal of Animal Science*, 81:1332-1347.
 - 26- Sani, F. F., L. K. Nuswantara, E. Pangestu, F. Wahyono, and J. Achmadi. 2016. Synchronization of carbohydrate and protein supply in the sugarcane bagasse based ration on in situ nutrient degradability. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 41:28-36.
 - 27- Seo, J. K., J. Y. Yang, H. J. Kim, S. D. Upadhaya, W. M. Cho, and J. K. Ha. 2010. Effects of synchronization of carbohydrate and protein supply on ruminal fermentation, nitrogen metabolism and microbial protein synthesis in Holstein steers. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 23:1455-1461.
 - 28- Seo, J. K., M. H. Kim, J. Y. Yang, H.J. Kim, C. H. Lee, K. H. Kim, and J. K. Ha. 2013. Effects of synchronicity of carbohydrate and protein degradation on rumen fermentation characteristics and microbial protein synthesis. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 26:358-365.
 - 29- Sinclair, K. D., L. A. Sinclair, and J. J. Robinson. 2000. Nitrogen metabolism and fertility in cattle: I. Adaptive changes in intake and metabolism to diets differing in their rate of energy and nitrogen release in the rumen. *Journal of animal science*, 78:2659-2669.
 - 30- Sinclair, L. A., P. C. Garnsworth, J. R. Newbold, and P. J. Buttery. 1993. Effect of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep. *The Journal of Agricultural Science*, 120:251-263.
 - 31- Sinclair, L. A., P. C. Garnsworth, J. R. Newbold, and P. J. Buttery. 1995. Effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release in diets with a similar carbohydrate composition on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep. *The Journal of Agricultural Science*, 124:463-472.
 - 32- Sinclair, L. A., P. C. Garnsworthy, P. Beardsworth, P. Freeman, and P. J. Buttery. 1991. The use of cytosine as a marker to estimate microbial protein synthesis in the rumen. *Animal Production*, 52:592(Abstr).
 - 33- Souza, N. K. P., E. Detmann, S. C. Valadares Filho, V. A. C. Costa, D. S. Pina, D. I. Gomes, A. C. Queiroz, and H. C. Mantovani,. 2013. Accuracy of the estimates of ammonia concentration in rumen fluid using different analytical methods. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 65:1752-1758.
 - 34- Thonney, M. L. and D. E. Hogue. 2013. Fermentable fiber for diet formulation. P 174-189, In: *Proceedings 2013 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Doubletree hotel, East Syracuse, New York.
 - 35- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74:3583-3597.
 - 36- Vongsamphan, P. and M. Wanapat. 2004. Effect of levels of cassava hay (CH) supplementation in native beef cattle feed on rice straw. In: Chumpawadee, S., K. Sommart, T. Vongpralub and V. Pattarajinda. (Eds). *Effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on ruminal fermentation, microbial protein synthesis, blood urea nitrogen and nutrient digestibility in beef cattle*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19:181-188.

- 37- Wati, N. E., L. K. Nuswantara, F. Wahyono, E. Pangestu, and J. Achmadi. 2015. The effects of Synchronization of carbohydrate and protein supply in the sugarcane bagasse based ration on body composition of sheep. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 40:222-228.
- 38- Witt, M. W., L. A. Sinclair, R. G. Wilkinson, and P. J. Buttery. 1999a. The effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen supply to the rumen on the production and metabolism of sheep: food characterization and growth and metabolism of ewe lambs given food ad libitum. *Animal Science*, 69:223-235.
- 39- Witt, M. W., L. A. Sinclair, R. G. Wilkinson, and P. J. Buttery. 1999b. The effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen supply to the rumen on the metabolism and growth of ram lambs given food at a restricted level. *Animal Science*, 69:627-636.
- 40- Yalchi, T. A. Teimouri Yanesari, M. Rezaee, and Y. Chashnidel. 2016. Effect of Synchronizing Rate of Ruminal Fermentation on Nitrogen Balance, Microbial Protein Synthesis and Growth Performance in Feedlot Male Lori Lambs. *Journal of Ruminant Research*, 4(4):67-90. (In Persian).
- 41- Yalchi, T. A. Teimouri Yanesari, M. Rezaee, and Y. Chashnidel. 2017. Enhancement of fattening efficiency and performance through nutrient synchrony in high concentrate-fed sheep. Ph.D. thesis. Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University. 170p. (In Persian).
- 42- Yang, J. Y., J. Seo, H. J. Kim, S. Seo, and J. K. Ha. 2010. Nutrient synchrony: Is it a suitable strategy to improve nitrogen utilization and animal performance. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23:972-979.



Effect of Nutrient Synchrony on Ruminal Fermentation, Microbial Protein Synthesis and Nitrogen Balance in Sheep

Taher Yalchi^{1*} - Jamal Seifdavati² - Reza Seyed Sharifi²

Received: 05-12-2018

Accepted: 18-03-2019

Introduction: The nutrient synchrony is synchronization of ruminal fermentation rate of energy and nitrogen which is a method to increasing microbial protein synthesis, improving nitrogen efficiency, decreasing urinary nitrogen excretion and improving animal performance. Microbial protein production is important for ruminants. Current concepts of ruminant nutrition focus on optimizing ruminal microbial protein synthesis. Microbial yield in rumen depends largely on the supply of carbohydrates and nitrogen in the rumen. Balancing the rate of supply of nitrogen and energy yielding substrates to rumen microbes has been proposed in order to maximize the capture of rumen degradable protein and to optimize microbial growth rate and its efficiency. A more efficient capture of rumen degradable protein would reduce the requirement for expensive undegradable protein sources and also reduce the excretion of urinary nitrogen which case to environmental pollution and economical losses. Synchronization index expressed as the ratio between the hourly degradability of nitrogen with organic matter or carbohydrates in the rumen where the highest value for the synchrony index is 1.0. This research was done to evaluate the effect of synchronizing the rate of carbohydrate and crude protein ruminal fermentation on ruminal fermentation products, microbial protein synthesis, and nitrogen balance and blood parameters in sheep which were fed with similar components or structure high concentrate diets.

Materials and methods: Chemical compositions and degradability parameters of crude protein and carbohydrate for alfalfa hay, wheat straw, barley grain, corn grain, sugar beet pulp, wheat bran and soybean meal were determined. Three diets were formulated for feedlot male lambs with same energy and metabolizable protein but containing different synchrony index 0.64, 0.78 and 0.92 which calculated by using degradation parameters of carbohydrate and crude protein of feeds from the diet. The effects of synchrony index of diets by 6 rumen-fistulated sheep with an average weight of 30.17 ± 1.17 kg in metabolic cages were assigned in a duplicate 3×3 Latin square design (2×3 animals; 3 periods). Samplings were done in 3 periods (each period containing 14 days for adaptation and 5 days for sampling). Rumen fluid was collected for 5 consecutive days in the end of each period and ruminal fermentation parameters containing pH, $\text{NH}_3\text{-N}$ and volatile fatty acids were determined. Urine of sheep was collected end of each period for 5 days and microbial protein synthesis was estimated by measuring purine bases also nitrogen balance was calculated from the values of nitrogen consumption and excretion. Bleeding (19th trial day) were done from sheep and blood parameters such as glucose, albumin and blood urea nitrogen were determined.

Results and discussion: There was no significant difference in ruminal pH among diets during fasting conditions or before feeding. Also there was no significant difference in ruminal pH between treatments at 3 or 6 hours after feed intake. With increasing synchrony index, ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentrate reduced especially at 1.5 and 3 hours after feed intake. Total volatile fatty acids highest at 3 hours after feed intake for diet had highest synchrony index. With increasing synchrony index, total volatile fatty acids concentration increased almost by 20 percent. Also the propionate concentrates increased not only before feeding but also at 3 hours after feeding. Total volatile fatty acids and propionate concentration showed a linear trend between diets at 3 hours after feeding. Purine bases such as allantoin, uric acid, xanthine and hypoxanthine, total purine derivatives excreted or absorbed also microbial protein synthesis not affected by experimental diets. With increasing synchrony index, total excreted nitrogen reduced but nitrogen retained and its efficiency increased. Blood parameters such as glucose, albumin and blood urea nitrogen not affected by treatments.

Conclusion: with increasing synchrony index of the diets, microbial protein synthesis did not increase but total volatile fatty acids concentration and retained nitrogen increased whereas ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration and total excreted nitrogen decreased. However, increasing nutrient synchrony index in high concentrated diets did

1-Assistant professor, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh ardabili.

2-Associate professor, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh ardabili

(* Corresponding author: taheryalchi@uma.ac.ir)

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.76961

not show the expected desirable results such as increasing microbial protein synthesis however did not also show undesirable results such as animal health. Due to the beneficial effects as increasing in fermentation and decreasing nitrogen excretion or environmental pollution using the high synchrony index diets can be useful for feed formulation or providing the perfect mix of feed items to meet nutritional requirements of sheep.

Keywords: Blood urea nitrogen, Microbial protein, Nitrogen retained, Ruminant fermentation, and Synchrony index.

تأثیر روش‌های مختلف عمل‌آوری فیزیکی و بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی و تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای دانه‌ی ذرت

حسین اصغر حسین زاده^۱، فریبا فریور^{۲*}، جواد بیات کوهسار^۲ و فرزاد قنبری^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۰۸

چکیده

مطالعه‌ای به منظور تعیین ترکیب شیمیایی و تجزیه‌پذیری ماده خشک در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار شامل: (۱) دانه ذرت بدون عمل‌آوری (شاهد)، (۲) دانه‌ی ذرت فلیک شده با بخار، (۳) فلیک+مخمّر، (۴) دانه‌ی ذرت مایکروویو شده، (۵) فلیک+مایکروویو، (۶) فلیک+مخمّر+مایکروویو انجام شد. اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی نمونه‌ها با استفاده از روش استاندارد تجزیه تقریبی انجام شد. تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای این تیمارها با روش کیسه‌های نایلونی با استفاده از سه رأس قوچ بالغ دالاق تعیین شد. نتایج این آزمایش نشان داد که فرآیند مایکروویو به تنهایی و یا همراه با سایر روش‌های عمل‌آوری منجر به افزایش مقادیر ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده‌ی خشی، الیاف نامحلول در شوینده‌ی اسیدی، کل مواد مغذی قابل هضم، انرژی خالص رشد و انرژی خالص شیردهی شد و بیشترین مقادیر در تیمار ۶ مشاهده شد. مقایسه خصوصیات تجزیه‌پذیری تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف نشان نداد، هرچند بخش سریع‌التجزیه و کند تجزیه در تیمار ۶ تفاوت قابل توجه غیر معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها داشت بدین ترتیب که پایین‌ترین مقدار بخش سریع‌التجزیه و بالاترین مقدار بخش کند تجزیه در این تیمار مشاهده شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که روش‌های مختلف عمل‌آوری بر ترکیب شیمیایی دانه ذرت مؤثر هستند؛ هر چند بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری تأثیر معنی‌داری نداشتند و ترکیب روش‌های عمل‌آوری فلیک+مخمّر+مایکروویو می‌تواند در بهبود ارزش تغذیه‌ای دانه ذرت مؤثرتر از روش‌های دیگر باشد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای، دانه‌ی ذرت، ساکارومایسس سرویزیه، عمل‌آوری، مایکروویو.

مقدمه

گذاشته و تأثیر مهمی بر شرایط تخمیر در شکمبه داشته باشد. این امر از طریق اثر بر pH، تولید اسیدهای چرب فرار و فرآیند تجزیه‌ی سلولز در شکمبه می‌تواند بر مصرف خوراک و تولید دام تأثیری بسزایی داشته باشد (۲۱). قابلیت هضم دانه‌های غلات در شکمبه و روده، متغیر است. نشاسته‌ی موجود در ذرت نسبت به دیگر دانه‌ها، در شکمبه به آرامی هضم شده و اگر در سطوح بالایی به حیوان خوراند شود، مقداری از نشاسته به روده کوچک منتقل و در آنجا هضم شده و به شکل گلوکز جذب می‌شود (۲۷).

در مقایسه با دانه‌ی جو، ذرت از نرخ تجزیه‌پذیری پایین‌تری در شکمبه برخوردار می‌باشد (۳۲). رینولدز و همکاران (۳۷) گزارش کردند که افزایش عبور نشاسته به روده‌ی باریک باعث بهبود عملکرد گاو می‌شود. در سال‌های اخیر، عمل‌آوری‌های مختلفی به منظور تعدیل نرخ تجزیه‌پذیری نشاسته‌ی ذرت در شکمبه پیشنهاد شده است. هدف از عمل‌آوری غلات بهینه نمودن فرآیند تخمیر، تجزیه‌پذیری و هضم نشاسته در بخش‌های مختلف دستگاه گوارش، کاهش خطر ابتلا به اسیدوز شکمبه‌ای و افزایش میزان ورود

دانه‌ی ذرت یکی از مهمترین غلات است که به واسطه فراوانی نشاسته (۷۳ درصد)، منبع عالی انرژی قابل هضم به‌شمار می‌آید. با اینکه نشاسته موجود در غلات، در دستگاه گوارش نشخوارکنندگان از قابلیت هضم کاملی برخوردار نیست، ولی مهم‌ترین کربوهیدراتی است که به عنوان منبع انرژی برای نشخوارکنندگان شناخته شده است (۵). در تغذیه‌ی نشخوارکنندگان، فرآورده‌های تخمیری حاصل از هضم دانه‌های غلات، شاخص مهمی در شناخت ارزش تغذیه‌ای آن‌ها به شمار می‌رود، عمل‌آوری فیزیکی یا شیمیایی آن‌ها می‌تواند بر مکان هضم نشاسته در دستگاه گوارش و تأمین پروتئین میکروبی اثر

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

(*)-ایمیل نویسنده مسئول: fariba_farivar@yahoo.com
DOI:10.22067/ijasr.v12i1.78492

خاکستر خام و تجزیه پذیری موثر تفاله لیمو و پرتقال شد و همچنین باعث کاهش مقدار ماده خشک، ماده آلی و قابلیت هضم شد. اگرچه که تاکنون مطالعات زیادی در خصوص عمل آوری دانه غلات به روش های مختلف انجام شده است، ولی مطالعات اندکی در خصوص مقایسه روش های مختلف عمل آوری بر ارزش تغذیه ای دانه ذرت انجام شده است. از این رو هدف از انجام این مطالعه مقایسه تأثیر روش های مختلف عمل آوری بر ترکیب شیمیایی و فراسنجه های تجزیه پذیری دانه ی ذرت بود.

مواد و روش ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) دانه ی ذرت بدون عمل آوری (شاهد)، (۲) دانه ی ذرت فلیک شده با بخار (غلات برای ۱۵ دقیقه یا کمتر جهت افزایش رطوبت در حدود ۱۵ درصد، بخار داده می شوند و سپس از بین غلطک ها عبور می کنند)، (۳) دانه ی ذرت تخمیر شده با مخمر ساکارومایسس سرویزیه و فلیک شده (۴) دانه ی ذرت میکروویو شده (با قدرت ۸۵۰ وات و به مدت ۳ دقیقه)، (۵) دانه ی ذرت فلیک و میکروویو شده و (۶) دانه ی ذرت فلیک + مخمر + میکروویو شده بودند. دانه ی ذرت دندان آسیبی (شاهد) از شرکت شادزی پاسارگاد تهیه شد و فلیک کردن (در روش های معمول فلیک تحت فشار بالا از سیستم پخت تحت فشار همراه با بخار مرطوب استفاده می شود. فشار وارده به دانه ی غلات در حدود ۳ تا ۴ کیلو گرم در هر سانتی متر مربع و به مدت ۳ دقیقه می باشد) نمونه ها نیز توسط همین شرکت انجام گرفت. به منظور آماده سازی شرایط بهینه ی رشد مخمر ساکارومایسس سرویزیه (در این پژوهش مخمر ساکارومایسس سرویزیه با عنوان PTCC 5269 از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران در ویال های سترون تهیه شد بود استفاده شد)، تیمارهای آزمایشی به مدت ۲۴ ساعت و به نسبت ۱ به ۲ با آب حاوی ۴ درصد مخمر مخلوط شدند تا رطوبت نسبی معادل ۸۵ درصد برای رشد مخمر فراهم گردد. در نهایت نمونه ها در دمای ۳۵ درجه سانتی-گراد در آن قرار داده شدند تا مخمر رشد کند (۹). بعد از عمل آوری، نمونه ها در آن خشک و ماده خشک آن ها تعیین گردید. بعد از آسیاب کردن نمونه های عمل آوری شده، درصد ترکیبات شیمیایی و میزان تجزیه پذیری آن ها تعیین شد.

اندازه گیری ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام به-روش AOAC (۱) و اندازه گیری الیاف نامحلول در شوینده ی خنثی و الیاف نامحلول در شوینده ی اسیدی مطابق با روش ون سوست و همکاران (۴۴) انجام شد. مقادیر کل مواد مغذی قابل هضم، انرژی خالص شیردهی، انرژی خالص رشد، کربوهیدرات های غیر فیبری، بخش محلول در شوینده ی خنثی و کل کربوهیدرات های محلول در

غلات قابل تخمیر هضم نشده به بخش های انتهایی دستگاه گوارش است (۲۵). برای عمل آوری دانه ی غلات روش های مختلفی وجود دارد که از جمله می توان روش های فیزیکی (مانند پلت کردن، برشته کردن، حرارت دادن، فلیک کردن)، روش های شیمیایی (مانند تیمار با هیدروکسید سدیم، فرمالدئید، آمونیاک، اوره) و روش های بیولوژیکی (مانند استفاده از آنزیم های فیبرولایتیک) اشاره کرد. ترکیبات شیمیایی که برای عمل آوری غلات استفاده می شوند، عموماً برای انسان و حیوان سمی بوده و در بسیاری از کشورها استفاده از آن ها ممنوع شده است (۱۱).

در ارتباط با استفاده از روش های مختلف عمل آوری فیزیکی مطالعات زیادی انجام شده است. کرونا و همکاران (۷) گزارش کردند که درصد نشاسته در مدفوع گوساله هایی که با دانه ی ذرت فلیک شده تغذیه شدند، نسبت به دانه ی ذرت کامل، دانه ی خشک غلطک زده شده و دانه ی آسیاب شده حدوداً ۹۵ درصد کمتر بود و راندمان استفاده از خوراک برای افزایش وزن نیز به طور معنی داری نسبت به گروه های دیگر بالاتر بود. میزان انرژی خالص ذرت برای نگهداری و رشد نیز در تیمار فوق نسبت به سایر گروه ها افزایش یافت.

اخیراً، از امواج مایکروویو به عنوان یک روش فیزیکی برای عمل آوری دانه ی غلات استفاده شده است. امواج مایکروویو از نوع الکترومغناطیسی غیر یونیزه بوده که انرژی آن ها به سرعت به مولکول های ماده خوراکی منتقل شده و با تولید حرارت باعث عمل آوری نمونه می شود (۲۲). به نظر می رسد پرتو تابشی مایکروویو می تواند در عمل آوری غلات، نقش بسزایی ایفا نماید، چون از یک سو فرآوری یکنواخت و قابل کنترلی را ارائه می دهد و از سویی دیگر در مقایسه با روش های متداول عمل آوری غلات، موجب صرفه جویی در وقت نیز می شود (۱۴).

کروکا و واگنر (۸) با پرتو تابشی دانه ی سورگوم با استفاده از امواج مایکروویو، بهبود راندمان خوراک، افزایش وزن و مصرف خوراک را در گاوهای پرواری مشاهده نمودند. گزارش شده است که مایکروویو کردن دانه ی کانولای پرچرب به مدت یک دقیقه و سی ثانیه منجر به کاهش تجزیه پذیری مؤثر پروتئین دانه ی کانولا در شکمبه و افزایش تجزیه ی آن در روده شد (۴۶).

از روش های عمل آوری بیولوژیکی متداول می توان به عمل آوری با انواع مخمرها اشاره کرد. مخمرها دسته ای از یوکاریوت های تک سلولی و جز پروبیوتیک ها می باشند. پروبیوتیک ها ارگانیسم های زنده ای هستند که باعث ایجاد تعادل در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش می شوند، معروف ترین آنها ساکارومایسس سرویزیه (*Saccharomyces cerevisiae*) نام دارد که به مخمر نان نیز معروف است (۱۹). دادور و همکاران (۹) نشان دادند که عمل آوری با مخمر ساکارومایسس سرویزیه باعث افزایش مقدار پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی،

رابطه‌ی پیشنهادی ارسکوف و مک‌دونالد محاسبه شد (۳۳).

$$ERD = a + \frac{b \times c}{c + k} \quad \text{رابطه‌ی (۸)}$$

در این رابطه، ERD: تجزیه‌پذیری مؤثر و K: نرخ عبور ۰/۵ درصد در ساعت می‌باشد، فراسنجه‌های a، b و c در رابطه ۷ معرفی شدند.

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به آزمایش ترکیب شیمیایی با استفاده از طرح کاملاً تصادفی، و داده‌های حاصل از آزمایش تجزیه‌پذیری با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه‌ی ۹/۱) و SAS رویه‌ی GLM انجام شد (۴۰). برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD ($P < 0.05$) استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوطه به تأثیر روش‌های مختلف عمل‌آوری بر ترکیب شیمیایی دانه‌ی ذرت در جدول ۱ نشان داده شده است. روش‌های مختلف عمل‌آوری تأثیر معنی‌داری بر مقدار ماده خشک و ماده آلی داشت ($P < 0.05$). مقدار ماده خشک تیمار ۱ (شاهد) ۹۱/۲۱ درصد بود. تیمارهای ۳، ۴، ۵ و ۶ باعث افزایش درصد ماده خشک (به ترتیب: ۹۲/۹۳، ۹۸/۷۰، ۹۷/۴۹ و ۹۹/۳۵ درصد) شدند. در مقابل مقدار ماده خشک تیمار ۲ (۸۷/۶۷ درصد)، به دلیل بخار دادن در حین فلیک کاهش یافت. کادلک و همکاران (۲۳) افزایش میزان ماده خشک در اثر پرتوتابی را به علت خشک شدن اولیه نمونه آزمایشی دانسته‌اند. تأثیر حرارت دادن در میزان پروتئین خام بستگی به میزان رطوبت دانه و دمای مورد استفاده و مدت زمان عمل‌آوری دارد. حرارت باعث تشکیل کمپلکس پروتئینی با سایر ترکیبات دانه می‌شود (۳). در مقایسه با تیمار ۱، درصد ماده آلی در تیمارهای ۲، ۳ و ۶ افزایش یافت (به ترتیب ۹۸/۶۷، ۹۸/۷۸ و ۹۹/۱۱ درصد). در تیمارهای ۴ و ۵ ماده آلی (به ترتیب ۹۸/۳۳ و ۹۸/۳۳) کاهش یافت.

مقدار پروتئین خام تیمارهای عمل‌آوری شده به‌خصوص تیمارهای عمل‌آوری شده با میکروویو در مقایسه با تیمار ۱ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$) بیشترین مقدار پروتئین خام مربوط به تیمار ۶ بود (۱۲/۲۶ درصد). عنوان شده است که احتمالاً حرارت از طریق دنا توره کردن و تغییر در ساختمان پروتئین، باعث ایجاد اتصالات عرضی بین اسیدهای آمینه و قندها می‌شود و بدین ترتیب محتوی پروتئین خام نمونه افزایش پیدا می‌کند (۱۵). گرانول‌های نشاسته در بخش آندوسپرم شاخی و ماتریکس پروتئینی محصور شده‌اند. به همین علت، عمل‌آوری حرارتی در دمای بالا باعث افزایش پروتئین می‌شود، چرا که باعث گسستن آندوسپرم می‌شود (۳۸). سپهری و همکاران (۴۲) بیان کردند که عمل‌آوری حرارتی دانه

شوینده‌ی خنثی به ترتیب با استفاده از روابط ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ برآورد شدند (۳۱).

$$TDN = (81.38 + CP \times (0.36 - ADF) \times 0.77) \quad \text{رابطه‌ی (۱)}$$

$$NEL = 0.0024 + TDN - 0.12 \quad \text{رابطه‌ی (۲)}$$

$$NE_g = 0.0029 + TDN - 1.01 \quad \text{رابطه‌ی (۳)}$$

$$NFC = 100 - (CP + EE + NDF + ASH) \quad \text{رابطه‌ی (۴)}$$

$$NDS = 100 - NDF \quad \text{رابطه‌ی (۵)}$$

TDN (MJ/Kg): کل مواد مغذی قابل هضم، CP (%): پروتئین خام، ADF (%): الیاف نامحلول در شوینده‌ی اسیدی، NE_L (MJ/Kg): انرژی خالص شیردهی، NE_G (MJ/Kg): انرژی خالص رشد، NFC (%): کربوهیدرات‌های غیرالیافی، EE (%): چربی خام، NDF (%): الیاف نامحلول در شوینده‌ی خنثی، ASH (%): خاکستر و NDS (%): بخش محلول در شوینده‌ی خنثی.

اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک دانه ذرت، با استفاده از تکنیک کیسه‌های نایلونی (قطر منافذ آن‌ها ۴۰ میکرون) انجام شد (۲۹). بدین منظور از سه رأس قوچ بالغ نژاد دالاق دارای فیستولای شکمبه‌ای با میانگین وزن 45 ± 2 کیلوگرم استفاده شد. دام‌ها به‌منظور کنترل شرایط آزمایش در قفس‌های انفرادی قرار گرفتند. دام‌ها در سطح نگهداری و در دو وعده‌ی غذایی تغذیه می‌شدند. آب به‌صورت آزاد در اختیار دام‌ها قرار گرفت. کیسه‌های حاوی ۵ گرم نمونه در زمان‌های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت در شکمبه قرار داده شدند. شروع کیسه‌گذاری تمامی زمان‌ها ۸ صبح بود. بعد از گذشت زمان‌های موردنظر کیسه‌ها از شکمبه خارج و به‌منظور توقف فعالیت میکروارگانیسم‌ها در آب سرد قرارداده شدند. سپس کیسه‌ها با استفاده از ماشین لباس‌شویی شسته شدند. کیسه‌ها در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت خشک و بلافاصله وزن شد. درصد تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک بقایای دانه ذرت در زمان‌های مختلف انکوباسیون با استفاده از رابطه ۶ تعیین شد:

$$\text{رابطه‌ی (۶)}$$

$$100 \times \left(\frac{\text{مقدار ماده خشک قبل از انکوباسیون شکمبه‌ای} - \text{مقدار ماده خشک قبل از انکوباسیون شکمبه‌ای}}{\text{مقدار ماده خشک قبل از انکوباسیون شکمبه‌ای}} \right) = \text{تجزیه‌پذیری ماده خشک}$$

برآورد فراسنجه‌های مختلف تجزیه‌پذیری ماده خشک با استفاده از نرم‌افزار SAS (۹/۱) انجام شد (۳۹). بدین منظور از رابطه‌ی ارسکوف و مک‌دونالد برای پردازش داده‌ها استفاده شد (۳۳).

$$P = b(1 - e^{-at}) \quad \text{رابطه‌ی (۷)}$$

در این معادله، P: پتانسیل تجزیه‌پذیری؛ a: بخش سریع تجزیه؛ b: بخش کند تجزیه؛ e: ثابت نرخ تجزیه و t: مدت زمان انکوباسیون شکمبه‌ای می‌باشد.

برآورد مقدار تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک دانه ذرت با استفاده از

مقدار کل مواد مغذی قابل هضم، انرژی خالص شیردهی و انرژی خالص رشد در همه تیمارهای عمل آوری شده در مقایسه با شاهد به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0.05$). همچنین عمل آوری با مخمر ساکارومایسس سرویزیه باعث کاهش کربوهیدرات غیر الیافی و بخش محلول در شوینده‌ی خنثی شد.

نتایج مربوطه به تأثیر روش‌های مختلف عمل آوری دانه‌ی ذرت بر فراسنجه‌های تجزیه پذیری در جدول ۲ نشان داده شده است. تیمار ۶ از درصد تجزیه پذیری مؤثر پایین تری ($59/20$) برخوردار بود ($P > 0.05$) بالاترین و پایین ترین مقدار بخش کند تجزیه یا بخش دارای پتانسیل تجزیه مربوط به تیمار ۶ ($63/21$ درصد) و ۲ ($52/83$) بود. همسو با نتایج تحقیق حاضر، صادقی و شورنگ (۳۸) گزارش کردند که استفاده از پرتوی مایکروویو در عمل آوری دانه‌ی جو، منجر به کاهش تجزیه پذیری مؤثر ماده خشک گردید.

بخش دارای پتانسیل تجزیه تمام تیمارها به غیر از تیمار ۴ نسبت به تیمار ۱ از نظر عددی کاهش یافت. عمل آوری با مایکروویو باعث کاهش ثابت نرخ تجزیه و تجزیه پذیری مؤثر شد. فیمس و همکاران (۱۶) گزارش کردند که فلیک کردن باعث افزایش تجزیه پذیری شکمبه‌ای دانه‌ی ذرت می شود، اما در دانه‌ی جو این اتفاق نمی افتد. در واقع، در گاو تغذیه شده با جو ورقه شده با بخار، میزان بروز آبسه‌های کبدی در مقایسه با گاوهای تغذیه شده با جوی غلطک زده‌ی خشک پایین تر بود (۲۰).

در این مطالعه عمل آوری با حرارت باعث افزایش بخش کند تجزیه، کاهش بخش سریع التجزیه و تجزیه پذیری مؤثر شد. همسو با نتایج این مطالعه، پیور و هیرستو (۳۶) گزارش کردند که که عمل آوری حرارتی کنجاله‌ی کلزا، منجر به کاهش بخش سریع التجزیه و نرخ تجزیه پذیری ماده خشک می شود. علت کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای ماده خشک در اثر عمل آوری‌های حرارتی را می توان به افزایش پیوندهای کربوهیدرات-پروتئین در اثر واکنش قهوه‌ای شدن، کاهش حلالیت پروتئین در شکمبه و از بین رفتن محل‌های فعال اتصال باکتری‌های پروتئولیتیک شکمبه مربوطه دانست. به هر حال، سازوکار حفاظتی پروتئین‌ها از تجزیه شکمبه‌ای در خوراک‌های عمل آوری شده توسط حرارت بسیار پیچیده است. ممکن است واکنش‌های شیمیایی (از قبیل واکنش میلارد) که در طول عمل آوری حرارتی ایجاد می شود، مسئول کاهش تجزیه پذیری شکمبه‌ای باشد. این واکنش‌ها باعث تبدیل پروتئین خوراک به ترکیباتی مقاوم به تجزیه در شکمبه می شوند (۳۹).

ی سوپای خام، باعث افزایش درصد پروتئین خام آن می شود. فیمس و همکاران (۱۶) مشاهده کردند که عمل آوری با بخار باعث کاهش میزان پروتئین خام جو و گندم می شود. افزایش در پروتئین خام ممکن است به دلیل ساخت پروتئین میکروبی، ترشح آنزیم‌ها و سایر محصولات بیولوژیکی و همچنین فعالیت پروتئولیتیکی میکروارگانیسم‌ها بر دانه‌ی ذرت باشد (۴۹). دای و همکاران (۱۰) نشان دادند که میزان پروتئین خام دانه‌ی سورگوم عمل آوری شده با مخمر ساکارومایسس سرویزیه از ۹ به ۲۷ درصد افزایش پیدا کرد. علت این افزایش را می توان رشد و تکثیر مخمر دانست که باعث افزایش بار پروتئینی دانه‌ها شده است. مخمرها بیشتر مواد سهل الهضم و لیگنوسلولزی موجود در تفاله را توسط آنزیم‌های خارج سلولی تجزیه کرده و مورد مصرف قرار می دهند و به دنبال آن انرژی، پروتئین و دی اکسید کربن تولید می کنند (۴۳).

چربی خام در تیمارهای عمل آوری به طور معنی داری ($P < 0.05$) کاهش یافت. مهربان و همکاران گزارش کردند که عمل آوری حرارتی میزان چربی خام دانه‌ی جو را افزایش می دهد اما در هیچ یک از منابع دلیلی مبنی بر افزایش یا کاهش میزان چربی خام در اثر عمل آوری حرارتی مطرح نشده است (۲۸). بر اساس نتایج به دست آمده در تیمارهای ۲ و ۳ مقدار الیاف نامحلول در شوینده‌ی خنثی نسبت به شاهد کاهش و در تیمارهای ۴، ۵ و ۶ افزایش یافت. افزایش در مقادیر الیاف نامحلول در شوینده‌ی خنثی در اثر عمل آوری حرارتی توسط سایر محققین گزارش شده است (۱۷ و ۴۱). افزایش الیاف نامحلول در شوینده‌ی خنثی و اسیدی می تواند به علت عدم استفاده مخمر از کربوهیدرات‌های ساختمانی و استفاده از کربوهیدرات‌های سهل الهضم و غیر ساختمانی باشد. این نتایج با آزمایش اسکرا و همکاران (۴۱) مطابقت دارد. قلی زاده و همکاران (۱۷) گزارش کردند مرحله برداشت و بوجاری کردن غلات نیز می تواند میزان دیواره سلولی را تحت تأثیر قرار دهد. عمل آوری در تمام تیمارها به غیر از تیمار فلیک شده، سبب افزایش الیاف نامحلول در شوینده‌ی اسیدی شد. غلطک زدن با بخار باعث افزایش نیتروژن نامحلول در شوینده‌ی اسیدی (ADIN) و الیاف نامحلول در شوینده‌ی اسیدی دانه‌ی جو می شود که نشان دهنده تشکیل محصولات میلارد است (۱۳). مخمر ساکارومایسس سرویزیه می تواند رشد قارچ را بر دیواره‌ی سلول‌های گیاهی افزایش داده و با تشکیل کلنی‌های قارچی بر روی دیواره سلولی گیاهی منجر به افزایش هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی شود و همچنین باعث افزایش هضم فیبر، افزایش میزان پروتئین خام و تجزیه الیاف نامحلول در شوینده‌ی خنثی گردد (۴۷).

جدول ۱- تأثیر روش‌های مختلف عمل‌آوری بر ترکیب شیمیایی دانه ذرت (برحسب درصد ماده خشک)^۱

Table 1- Effect of different methods of processing on the Chemical composition of corn grain (DM)¹

ترکیب شیمیایی Chemical composition	تیمارهای آزمایشی ^۲ Experimental treatments ²						SEM	P-Value
	1	2	3	4	5	6		
ماده خشک DM	91.21 ^d	87.67 ^e	92.93 ^c	98.70 ^a	97.49 ^b	99.35 ^a	1.012	<0.0001
ماده آلی OM	98.44 ^{cd}	98.67 ^{cb}	98.78 ^b	98.33 ^d	98.33 ^d	99.11 ^a	0.078	<0.0001
خاکستر Ash	1.56 ^{ab}	1.33 ^{bc}	1.22 ^c	1.67 ^a	1.67 ^c	0.89 ^d	0.274	<0.0001
پروتئین خام CP	9.63 ^f	9.80 ^e	10.16 ^d	11.38 ^c	11.91 ^b	12.26 ^a	0.005	<0.0001
چربی خام CF	4.14 ^a	3.91 ^b	3.80 ^b	3.52 ^c	2 ^d	1.81 ^e	0.030	<0.0001
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	14.40 ^c	11.80 ^d	14.20 ^c	17.80 ^b	19.60 ^a	15.60 ^c	0.333	<0.0001
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF	3.2 ^{cd}	3.8 ^{cd}	2.4 ^d	5.8 ^a	5 ^{ab}	4.5 ^{cab}	0.333	0.0143
کربوهیدرات غیر فیبری NFC	70.27 ^b	73.14 ^a	70.62 ^b	65.63 ^c	64.82 ^c	69.43 ^b	0.356	<0.0001
بخش محلول در شوینده خنثی NDS	85.60 ^b	88.20 ^a	85.80 ^b	82.20 ^c	80.40 ^d	84.40 ^b	0.333	<0.0001
کل مواد مغذی قابل هضم TDN (MJ/Kg)	79.28 ^{cab}	79.17 ^{cb}	80.61 ^a	78.35 ^c	79.33 ^{cab}	80.08 ^{ab}	0.256	0.0499
انرژی خالص شیردهی NE _L (MJ/Kg)	1.82 ^{ab}	1.82 ^{ab}	1.85 ^a	1.80 ^b	1.82 ^{ab}	1.84 ^a	0.006	0.0680
انرژی خالص رشد NE _g (MJ/Kg)	1.29 ^{cb}	1.28 ^{cb}	1.33 ^a	1.26 ^c	1.29 ^{cb}	1.31 ^{ab}	0.007	0.0266

^۱ در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

^۱ Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

^۲ تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) دانه‌ی ذرت بدون عمل‌آوری (شاهد)، ۲) دانه‌ی ذرت فلیک شده با بخار، ۳) دانه‌ی ذرت تخمیر شده با مخمر ساکارومایسس سرویزیه و فلیک شده، ۴) دانه‌ی ذرت مایکروویو شده، ۵) دانه‌ی ذرت فلیک و مایکروویو شده، ۶) دانه‌ی ذرت فلیک+مخمر+مایکروویو.

^۲ Experimental treatments were: 1) unprocessing corn grain (control), 2) Steam-flaked corn grain, 3) yeast and steam-flaked corn grain, 4) microwaved corn grain, 5) yeast and microwaved corn grain 6) yeast, steam-flaked and microwaved corn grain.

جدول ۲- تأثیر روش‌های مختلف عمل‌آوری دانه ذرت بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری (درصد ماده خشک)

Table 2- Effect of different methods of corn grain processing on degradability parameters (% of DM)

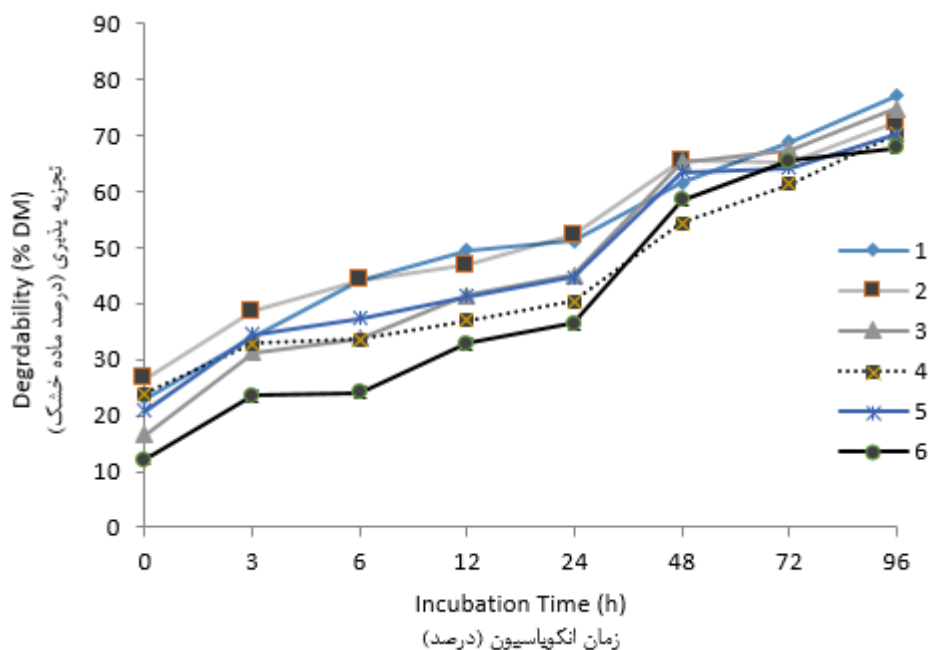
تیمارها Treatments	بخش سریع تجزیه quickly degradable fraction (a)	بخش کند تجزیه Slowly degradable fraction (b)	ثابت نرخ تجزیه constant rate of degradability of fraction b	a+b Potential Degradability	تجزیه‌پذیری مؤثر Effective degradability
1	41.66±4.44	56.77±8.66	0.027±0.012	98.43±3.15	68.48±4.03
2	40.58±2.38	52.83±3.75	0.034±0.007	93.41±4.9	68.63±4.08
3	35.23±4.30	59.76±7.08	0.032±0.012	94.99±6.01	66.15±3.10
4	42.17±3.66	60.42±12.42	0.015±0.011	102.60±5.12	62.08±3.01
5	40.06±4.18	53.09±10.07	0.023±0.013	93.16±4.3	63.52±3.5
6	31.42±6.09	63.21±11.83	0.023±0.016	94.63±4.8	59.20±2.9

عدم درج حروف معنی‌داری بیانگر عدم اختلاف معنی‌داری بین تیمارها می‌باشد ($p > 0.05$).

($p > 0.05$) The lack meaningful letters signify the absence of significant difference between treatments

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) دانه‌ی ذرت بدون عمل‌آوری (شاهد)، ۲) دانه‌ی ذرت فلیک شده با بخار، ۳) دانه‌ی ذرت تخمیر شده با مخمر ساکارومایسس سرویزیه و فلیک شده، ۴) دانه‌ی ذرت مایکروویو شده، ۵) دانه‌ی ذرت فلیک و مایکروویو شده، ۶) دانه‌ی ذرت فلیک+مخمر+مایکروویو.

Experimental treatments were: 1) unprocessing corn grain (control), 2) Steam-flaked corn grain, 3) yeast and steam-flaked corn grain, 4) microwaved corn grain, 5) yeast and microwaved corn grain 6) yeast, steam-flaked and microwaved corn grain.



شکل ۱- درصد تجزیه پذیری ماده خشک دانه ذرت عمل آوری به روش های مختلف

Figure 1- Dry matter degradability (%) of corn grain processed by different methods

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) دانه ذرت بدون عمل آوری (شاهد)، ۲) دانه ذرت فلیک شده با بخار، ۳) دانه ذرت تخمیر شده با مخمر ساکارومایسس سرویزیه و فلیک شده، ۴) دانه ذرت مایکروویو شده، ۵) دانه ذرت فلیک و مایکروویو شده، ۶) دانه ذرت فلیک+مخمر+مایکروویو.

Experimental treatments were: 1) unprocessing corn grain (control), 2) Steam-flaked corn grain, 3) yeast and steam-flaked corn grain, 4) microwaved corn grain, 5) yeast and microwaved corn grain 6) yeast, steam-flaked and microwaved corn grain.

فرار بیشتری در شکمبه تولید می گردد که این عامل باعث بروز مشکلات گوارشی مانند اسیدوز تحت بالینی می شود (۴۷). گیونز و همکاران (۱۸) پیشنهاد کردند که روش های عمل آوری که باعث کاهش نرخ تجزیه پذیری دانه ذرت می گردند، در تغذیه نشخوارکنندگان مناسب تر هستند. با کاهش نرخ تجزیه پذیری شکمبه ای، مقدار عبور نشاسته به روده ی باریک بیشتر خواهد شد (۳۷). در این مطالعه، تیمار ۶ باعث کاهش بخش سریع تجزیه و افزایش بخش کند تجزیه شد. اوونز و همکاران (۳۵) گزارش کردند که هضم نشاسته در روده ی باریک ۴۲ درصد انرژی بیشتری برای دام در مقایسه با هضم نشاسته در شکمبه فراهم می کند. با کاهش تجزیه پذیری مؤثر ماده خشک جو، امکان عبور نشاسته به روده ی باریک افزایش یافته و متعاقباً موجب بهبود بازده عملکرد یا تولید گاو می گردد (۳۷).

کوبینگ و همکاران (۲۴) گزارش کردند که تغییر اندازه ذرات و ساختار دانه های غلات به واسطه عمل آوری، می تواند سبب تغییر دسترسی به نشاسته و پروتئین، خصوصیات تخمیری شکمبه، نرخ ماندگاری در شکمبه، دسترسی به منابع کربوهیدراتی و تغییر مکان هضم گردد. بنابراین، نوع عمل آوری عامل مهم و تأثیرگذاری بر

مشتقی نیا و اینگالس (۳۰) بیان کردند که حرارت دادن، از طریق فرآیند دنا توره شدن و واکنش میلارد (واکنش ایجاد شده بین گروه آلدئید قند و گروه های آمینواسید آزاد پروتئین) سبب کاهش تجزیه پذیری پروتئین مواد خوراکی در شکمبه می گردند. از سوی دیگر، ووراگن و همکاران (۴۵) عنوان کردند که پیچ خوردن و دنا توره شدن پروتئین با حرارت موجب واسرشتگی پروتئین می شود و از این طریق سطح آب گریزی پروتئین را افزایش و بنابراین تجزیه پذیری شکمبه ای پروتئین خام را کاهش می دهد. در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که حرارت دادن باعث کاهش تجزیه پذیری مؤثر پروتئین شکمبه ای شده و عمل آوری های حرارتی منابع پروتئینی مثل کنجاله سویا را روش مؤثری برای تغییر مقدار هضم شکمبه ای پروتئین خام، از طریق افزایش بخش غیر قابل هضم پروتئین در شکمبه عنوان کردند (۴). در عمل آوری های حرارتی باید به رطوبت نمونه ی مورد عمل آوری، دما و مدت زمان حرارت دهی توجه کرد؛ زیرا حرارت دهی بیش از حد، ممکن است باعث کاهش هضم پروتئین ماده ی خوراکی در روده شده و آن را از دستگاه گوارش خارج کند (۱۵).

با افزایش مقدار تخمیر نشاسته در شکمبه، مقدار اسیده های چرب

درصد ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی دانه‌ی جو و در نتیجه فراسجده‌های تجزیه‌پذیری این غله می‌باشد.

آریلی و همکاران (۲) دریافتند که عمل‌آوری حرارتی دانه‌ی جو، تأثیری بر نرخ تجزیه شکمبه‌ای ماده خشک نداشته اما نرخ تجزیه-پذیری نشاسته کاهش یافت. کنه و همکاران (۵) نیز گزارش کردند که فلیک کردن دانه‌ی جو نسبت به ورقه کردن خشک، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و نشاسته را کاهش می‌دهد. در مقابل مالکوم و کیسلینگ (۲۶) گزارش کردند که فلیک کردن دانه‌ی جو موجب افزایش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک می‌گردد.

پفر و همکاران (۱۲) نشان دادند که استفاده از مایکروویو با دماهای مختلف، تجزیه‌پذیری ماده خشک را در شکمبه کاهش و قابلیت هضم شکمبه‌ای را افزایش می‌دهد. صادقی و همکاران (۳۹) اثرات پرتوتابی مایکروویو را بر تجزیه‌پذیری ماده خشک، پروتئین و نشاسته‌ی دانه‌ی جو مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که پرتوتابی با مایکروویو به مدت ۳ دقیقه باعث افزایش تجزیه‌پذیری نشاسته و بیشتر از ۵ دقیقه باعث کاهش نرخ و میزان تجزیه‌ی پروتئین و نشاسته می‌شود.

تیمارهای عمل‌آوری شده با مخمر ساکارومایسس سرویزیه باعث کاهش بخش سریع التجزیه شد که این کاهش می‌تواند به دلیل استفاده‌ی بیشتر مخمر از بخش محلول در آب دانه‌ی ذرت به منظور تأمین انرژی خود باشد. بخش کند تجزیه روندی مخالف با بخش سریع تجزیه را نشان داد. به این صورت که بخش کند تجزیه کاهش یافت. دلیل این کاهش احتمالاً به خاطر استفاده‌ی مخمر از بخش دیواره سلولی دانه ذرت که تجزیه‌پذیری کندتری دارد می‌باشد. همچنین بین نمونه‌ها از نظر ثابت نرخ تجزیه تفاوت معنی‌داری

منابع

- 1- AOAC. 2000. Official methods of analysis. 17th ed. Association of official analytical chemists, Arlington, VA. 770 Pages.
- 2- Arieli, A., I. Bruckental, O. Kedar, and D. Sklan. 1995. In Sacco disappearance of starch nitrogen and fat in processed grains. Animal Feed Science and Technology, 51: 287-295.
- 3- Broderick, G. A. and W. M. Craig. 1980. Effect of heat treatment on ruminal degradation and escape, and intestinal digestibility of cottonseed meal protein. Journal of Nutrition, 110: 2381-2389.
- 4- Canbolat, O., A. Kamalak, E. Efe, M. Sahin, and C. O. Ozkan. 2005. Effect of heat treatment on in situ rumen degradability and *in vitro* gas production of full-fat soyabeans and soyabean meal. Animal Feed Science and Technology, 138: 143-148.
- 5- Cone, J. W., W. Cline-Theil, A. Malestein, and A. T. Van't Klooster. 1989. Degradation of starch by incubation with rumen fluid. A comparison of different starch source. Journal of the Science of Food and Agriculture, 49: 173-183.
- 6- Cooke, K. M., J. K. Bernard, and J. W. West. 2009. Performance of lactating dairy cows fed ryegrass silage and corn silage with ground corn, steam-flaked corn, or hominy feed. Journal of Dairy Science, 92: 1117-1123.
- 7- Corona, L., S. Rodriguez, R. A. Ware, and R. Zinn. 2005. Comparative effects of whole, ground, dry-rolled, and steam flaked corn on digestion and growth performance in feedlot cattle. The Professional Animal Scientist, 21 (3): 200-206.

مشاهده نشد. در موقع عمل‌آوری مواد خوراکی با مخمر، سیستم آنزیمی این میکروارگانیسم‌ها سبب شکستن پیوندهای شیمیایی در مواد کربوهیدراتی ساختمان مواد خوراکی می‌گردد. لذا از یک طرف مقدار لیاف خام در مواد خوراکی عمل‌آوری شده کاهش می‌یابد، اما از طرف دیگر، وجود دیواره سلولی مخمرها سبب می‌شود که در موقع تخمیر این مواد در شکمبه، مقدار بخش کند تجزیه را تا حدودی افزایش دهند (۳۳). ضریب تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک تحت تأثیر عمل‌آوری قرار نگرفت. نرخ عبور مواد از شکمبه تحت تأثیر مقدار خوراک مصرفی است، به طوری که با افزایش سطح مصرف خوراک، این مقدار نیز افزایش می‌یابد. همچنین، افزایش نرخ عبور مواد از شکمبه سبب می‌شود که مدت زمان دسترسی میکروارگانیسم‌های شکمبه به مواد خوراکی نیز کاهش یافته و در نتیجه میزان تجزیه-پذیری مؤثر ماده خشک در مواد خوراکی کاهش یابد (۳۳).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که روش‌های عمل‌آوری مورد استفاده در این پژوهش بر ترکیب شیمیایی دانه‌ی ذرت مؤثر بودند. همچنین با وجود عدم معنی‌داری تفاوت فراسجده‌های مختلف تجزیه‌پذیری، کاهش بخش سریع التجزیه و افزایش بخش کند تجزیه در تیمار ۶ درخور توجه بود. با توجه به این نتایج می‌توان گفت که روش عمل-آوری ترکیبی (فلیک+مخمر+مایکروویو) می‌تواند روش مناسب‌تری نسبت به روش‌های فیزیکی برای عمل‌آوری دانه‌ی ذرت برای تغذیه نشخوارکنندگان باشد.

- 9- Croka, D. C. and D. G. Wagner. 1975. Micronized sorghum grain. I. Influence on feedlot performance of cattle. *Journal of Animal Science*, 40: 924-930.
- 10- Dadvar, P., O. Diani, and M. R. Mohammadbadi. 2011. Determine the nutritional value of citrus pulp (lemon and orange) processing with yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of animal science research*, 21:2
- 11- Day, C. N., and R. O. Moravicki. 2018. Effects of fermentation by yeast and amylolytic lactic acid bacteria on grain sorghum protein content and digestibility. *Journal of Food Quality*, 141:8-17.
- 12- Dehghan-Banadaky, M., R. Corbett, and M. Oba. 2007. Effects of barley grain processing on productivity of cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 137: 1-24.
- 13- Dhiman, T. R., M. S. Zaman, I. S. MacQueen, and R. L. Boman. 2002. Influence of corn processing and frequency of feeding on cow performance. *Journal of Dairy Science*, 85: 217-226.
- 14- Engstrom, D. F., G. W. Mathison, and L. A. Goonewardene. 1992. Effect of glucan, starch, and fiber content and steam vs. dry rolling of barley grain on its degradability and utilization by steers. *Animal Feed Science and Technology*, 37: 33-46.
- 15- Fakhouri, M. O. and H. S. Ramaswamy. 1993. Temperature uniformity of microwave heated foods as influenced byproduct type and composition. *Food Research International*, 26:89-95.
- 16- Fathi Nasri, M. H., M. Danesh Mesgaran, R. Valizadeh, A. Nikkhah, M. R. Emami, and A. R. Heravi Mousavi. 2006. Effect of heating (roasting) on chemical composition, nitrogen fractions, degradability coefficients and ruminal – intestinal disappearance of dry matter and crude protein of two varieties (Sahar and Williams) of whole soybean grain. *Agricultural Science and Technology*, 20: 22-35. (In Persian).
- 17- Fiems, L. O., B. G. Cottyn, C. V. Boucque, J. M. Vanacker, and F. X. Buysee. 1990. Effect of grain processing on *in sacco* digestibility and degradability in the rumen. *Archives Animal Nutrition*. 40: 713-721.
- 18- Gholizadeh, H., A. A. Naserian, R. A. Valizadeh, and M. Tahmasbi. 2017. Study of Carbohydrate and Protein Fractions in Different Barley Cultivars Using Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS) *Iranian Journal of Animal Science Research*, 8: 541-552. (In Persian).
- 19- Givens, D. I., P. Clark, D. Jacklin, A. R. Moss, and C. R. Savery. 1993. Nutritional aspects of cereal by-products and cereal straw for ruminants. *HGCA Research review*, Home-grown Cereals Authority, Hamlyn House, Highgate Hill, London, UK. 24:1-180.
- 20- Golabi, M., M. Tavassoli, I. Nahvi, and M. Mobini Dehkordi. 2011. The Study of CO₂ Production and Growth Rate in Suitable Industrial Strains of *Saccharomyces cerevisiae* for Production of Baker's Yeast. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 8 (30): 35-44. (In Persian).
- 21- Grimson, R. E., R. D. Weisenburger, J. A. Basarab, and R. P. Stilborn. 1987. Effects of barley volume-weight and processing method on feedlot performance of finishing steers. *Canadian Journal Animal Science*, 67:43-53.
- 22- Herrera-Saldana R. E., J. T. Huber, and M. H. Poore. 1990. Dry matter, crude protein and starch degradability of five cereal grains. *Journal of Dairy Science*, 73: 2386-2393.
- 23- Kaasova, J., B. Hubackova, P. kadlec, J. Prihoda, and Z. Bubnik. 2002. Chemical and biochemical changes during microwave treatment of wheat. *Journal of czech food sciences*, 20: 74-78.
- 24- Kadlec, P., J. Kaasova, J. Dostalova, M. Zatopkova, V. Hosnedl, and J. Hrachovinova. 2002. Microwave treatment on drying of germinated pea. *Czech Journal of Feed Science*, 20: 23-30.
- 25- Koenig, K., K. Beauchemin, and L. Rode. 2003. Effect of grain processing and silage on microbial protein synthesis and nutrient digestibility in beef cattle fed barley-based diets. *Journal of Animal Science*, 81: 1057-1067.
- 26- Lewandowicz, G., T. Jankowsk, and J. Fornal. 2000. Effect of microwave radiation on physic-chemical properties and structure of cereal starches. *Carbohydrate Polymers*, 42: 193-199.
- 27- Malcom, K. J., and H. E. Kiesling. 1993. Dry matter disappearance and gelatinization of grains as influenced by processing and conditioning. *Animal Feed Science and Technology*, 40: 321-330.
- 28- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F.D. Greenhalgh, C. A. Morgan, and L. A. Sinclair. 2001. *Animal nutrition*. 7th ed. 715 pages.
- 29- Mehrabani, A., T. Ghoorchi, and S. E. Razavi. 2015. Determining the amount of chitin and degradation of dry matter and cell wall in treated rapeseed straw by white rot fungus *trametes versicolor*. *Journal of animal and poultry reserch*, 4(2): 51-61. (In Persian).
- 30- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, and W. Schneider. 1979. The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuff from the gas production when they incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Agricultural Science*, 92: 183-189.
- 31- Moshtaghi Nia, S. A., and J. R. Ingalls. 1995. Influence of moist heat treatment on ruminal and intestinal

- disappearance of amino acids from rapeseed meal. Journal of Dairy Science, 78: 1552-1560.
- 32- NRC. 2001. Nutrient Requirement of Dairy Cattle, 7th rev. ed. Natl. Acad. Prees, Washington, DC.
- 33- Offner, A., A. Bach, and D. Savant. 2003. Quantitative review of *in situ* starch degradation in the rumen. Animal Feed Science and Technology, 106: 81-93.
- 34- Orskov, E. R. 1992. Protein nutrition in ruminants (1st Ed.). United State: Academic Press, INC, San Diego.
- 35- Ørskov, E. R., and L. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to the rate of passage. Journal of Agricultural Science (Cambridge), 92: 499-503.
- 36- Owens, F. N., R. A. Zinn, and Y. K. Kim. 1986. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. Journal Animal Science, 63: 1634-1648.
- 37- Pfeffer, E. and A. N. Hristov. 2005. Nitrogen and Phosphorus Nutrition of Cattle: Reducing the Environmental impact of cattle operation. CABI. Wallingford, UK. 146 (02): 235-236.
- 38- Reynolds, C. K., J. D. Sutton, and D. E. Beever. 1997. Effects of feeding starch to dairy cattle on nutrient availability and production. Recent Advances in Animal Nutrition. Nottingham University Press, UK.
- 39- Rooney, L. W., and Pflugfelder, R. L. 1986. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. Journal Animal science, 63: 1607-1623.
- 40- Sadeghi, A. A., and P. Shawrang. 2008. Effects of microwave irradiation on ruminal dry matter, protein and starch degradation characteristics of barley grain. Animal Feed Science and Technology, 141:184-194.
- 41- SAS Institute. 2000. SAS/STAT user's guide. SAS Institute Inc, Cary.
- 42- Scerra, V., A. Caridi, F. Foti, M. C. Sinatra, and P. Caparra. 2000. Changes in chemical composition during the colonization of citrus pulps by a dairy *Penicillium roquefortii* strain. Bioresource Technology, 72:197-198.
- 43- Sepehri moghaddam, H., H. Nasiri Moghaddam, and M. Danesh Mesgran. 2008. Use of different levels of soybean seedsheat on the performance of broiler chicks. page. 61. (In Persian).
- 44- Shojaosadati, S. A., R. Faraidouni, A. Madadi-Nouei, and I. Mohamadpour. 1999. Protein enrichment of lignocellulosic substrates by solid state fermentation using *Neurospora sitophila*. Resource Conservation and Recycling, 27:73-87
- 45- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74:3583-3598.
- 46- Voragen, A. G. J., H. Gruppen, G. J. P. Marsman, and A. J. Mul. 1995. Effect of some manufacturing technologies on chemical, physical and nutritional properties of feed. Recent Advances in Animal Nutrition. Nottingham University Press, Nottingham, UK, 274 page.
- 47- Wang, Y., and T. McAllister. 2000. Grain processing for ruminants: Latest technologies, Processing. 21st West. Nutria. Conf., Winnipeg, MB, Canada. Pp: 39-55.
- 48- Williams, P. E. V., C. A. G. Tait, G. M. Innes, and C. j. Newbeld. 1991. Effects of the inclusion of yeast culture (*Sacharomyces cervisiac* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. Journal animal science, 69: 3015-3026.
- 49- Yang, W. Z., K. A. Beauchemin, B. I. Farr, and L. M. Rode. 1997. Comparison of Barley, HullI less Barley, and Corn in the Concentrate of Dairy Cows. Journal of Dairy Science, 80 (11): 2885-2895.
- 50- Zhong, R. Z., J. G. Li, Y. X. Gao, Z. L. Tan, and G. P. Ren. 2008. Effects of substitution of different levels of steam-flaked corn for finely ground corn on lactation and digestion in early lactation dairy cows. Journal of Dairy Science, 91:3931-3937.



The Effect of Different Processing Methods (Physical and Biological) on Chemical Composition and Ruminal Degradability of Corn Grain

Hossein Asghar Hossein zadeh¹, Fariba Farivar^{2*}, Javad Bayat Kouhsar², Farzad ghanbari²

Received: 12-01-2019

Accepted: 29-05-2019

Introduction: Cereal grains are important source of energy in livestock diet due to high amount of starch they store in their endosperm, but there is a paradox in grains nutrition in ruminants. Without processing, most of grains, specially corn and sorghum, starch will not be effectively digested, but most of processing methods can increase starch degradability in rumen and therefore increase acidosis risk. The dynamic of starch fermentation in rumen is an important indicator of nutritional value of cereal grain in ruminants nutrition. Due to reduced loss of methane and heat, available energy supply for the animal is greater when starch digested in the small intestine compared to starch fermented in either the rumen or large intestine. Several chemical and physical methods are commonly used for feed processing; however, chemical processing methods have been criticized recently because of toxic chemical remnants. Physical methods such as grinding, rolling, steam flaking and newly microwave irradiation are commonly used for grain processing. Among these, steam flaking and microwave irradiation have been considered as the most favorite methods for horse and ruminants. Steam flaking can increase starch availability and therefore the rate of degradation in rumen, but microwave irradiation has the reverse effect, so that overall degradability and digestibility of starch will be decreased. Yeasts have been used in human food processing for a long time, but recently it has been received considerable attention as a potential method of animal feed processing method. Every processing method will affect the extent and location of starch digestion in a different way, but for ruminant nutrition, the aim of all methods should be to optimize the place and amount of starch digestion in the different parts of digestive tract, so that both the rumen fermentation and intestinal digestion have optimum rate and host animal can achieve the most effective rumen microbial growth and also high glucose absorption in small intestine. None of processing methods can show such a combined effect itself. Therefore, this study was conducted to investigate the effects of different combinations of physical and biological methods of processing on chemical composition and rumen degradability parameters of corn grain.

Materials and Methods: This experiment was carried out in a completely randomized design with six treatments, each with three replicates. Experimental treatments includes: 1) un-processing corn grain (control), 2) Steam-flaked corn grain, 3) yeast treated and then steam-flaked corn grain, 4) microwaved (850 W for 3 minutes) corn grain, 5) yeast treated and then microwaved corn grain 6) yeast treated, steam-flaked and then microwaved corn grain. In order to treat with yeast, corn grains were mixed with solution of 4 percent yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in a 2:1 ratio and then incubated in 35°C for 24 h. Dry matter, organic matter, crude protein and crude fat were determined using AOAC standard methods, and NDF and ADF was determined. Dry matter degradability of samples was determined using nylon bag technique. Samples were placed in the polyester bags and incubated for 0, 3, 6, 12, 24, 36, 48, 72, and 96 h in the rumen of three mature Dalagh rams. Degradability parameters were estimated using non-linear model and all data were finally analysed using SAS (9.1) statistical software.

Results and Discussion: Results of this experiment showed that type of processing method had significantly effects on chemical composition. Processing methods including microwave irradiation increased dry matter, organic matter, crude protein, neutral detergent fiber, acid detergent fiber, total digestible nutrients, and decreased the amounts of ether extract, non-fiber carbohydrates and neutral detergent soluble fraction of corn grain.

1- Former MSc. Student of Animal Science Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University.

2- Assistant Professors, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University.

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

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.78492

treatment have no significant effect on dry matter degradability of corn grain, however, methods including yeast treatment especially the combination of yeast, flaking and microwave methods caused a non-significant reduction in the effective degradability and rapidly degradable fraction and also an increase in slowly degradable fraction of corn grain. Both of non-combined methods (steam flaking or microwave irradiation) caused a reduction in slowly degradable fraction of corn grain. The highest amounts of rapidly degradable fraction were also observed in these two treatments.

Conclusion: The results of this study demonstrated a significant effect of different processing methods on chemical composition of corn grain and had considerable effects on rumen dry matter degradability. Based on these results, it can be concluded that wet or dry heat processing methods are not appropriate processing methods of corn grain for ruminants nutrition, whereas combination of yeast treatment with steam flaking and microwave irradiation can be considered as the most appropriate methods.

Keywords: Corn grain, Microwave, Processing, Ruminal degradability, *Saccharomyces cerevisiae*

تأثیر پودر گیاه دارویی کنگرفرنکی (*Cynara scolymus*) بر عملکرد، جمعیت میکروبی ایلئوم، آنزیم‌های کبدی و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی

علی‌نقی شکری^۱، صیفعلی ورمقانی^{۲*}، محمد اکبری قرائی^۳، کامران طاهرپور^۴، علی خطیب‌جو^۵، مهدی سلطانی^۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۰۵

چکیده

این آزمایش به منظور تأثیر سطوح مختلف پودر گیاه دارویی کنگرفرنکی بر عملکرد، جمعیت میکروبی ایلئوم، غلظت آنزیم‌های کبدی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی انجام شد. تعداد ۴۰۰ قطعه جوجه نر یک روزه سویه راس-۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار، چهار تکرار و ۲۰ پرنده در هر تکرار به مدت ۴۲ روز مورد استفاده قرار گرفتند. تنش سرمایی شامل اعمال دماهای ۳۲، ۲۵، ۲۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب در ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ تا ۴۲ روزگی بود. تیمارها شامل: شاهد (جیره بدون افزودنی)، آنتی‌بیوتیک (جیره شاهد به اضافه ۰/۰۰۱۵ درصد آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین)، آسپیرین (جیره شاهد به اضافه ۰/۲ درصد پودر داروی آسپیرین) و تیمارهای حاوی یک و دو درصد از پودر گیاه دارویی کنگرفرنکی در جیره بودند. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که پرندگان تغذیه شده با جیره‌های حاوی پودر کنگرفرنکی، مصرف خوراک و افزایش وزن بیشتر و ضریب تبدیل خوراک بهتری نسبت به سایر تیمارها داشتند ($P < 0.05$). استفاده از دو درصد پودر گیاه کنگرفرنکی در جیره جوجه‌ها، سبب کاهش جمعیت اشری‌شیاکلاهی و افزایش جمعیت بیفیدوباکتریوم ناحیه ایلئوم در سن ۴۲ روزگی شد. تیمارهای حاوی دو درصد پودر کنگرفرنکی و آسپیرین سبب کاهش فعالیت آنزیم آلانین‌آمینوترانسفراز کبدی در سن ۲۱ روزگی شدند. فعالیت آنزیم آسپاراتات‌آمینوترانسفراز کبدی در پرندگان تغذیه شده با دو درصد پودر کنگرفرنکی در مقایسه با سایر جیره‌های آزمایشی در سن ۲۱ روزگی کاهش یافت. تغذیه جوجه‌های گوشتی با جیره حاوی دو درصد پودر کنگرفرنکی، عیار آنتی‌بادی علیه گلوبول قرمز گوسفند (SRBC) را در مقایسه با تیمار آنتی‌بیوتیک افزایش داد. پرندگان دریافت کننده جیره حاوی آنتی‌بیوتیک، کاهش جمعیت لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی و افزایش جمعیت اشری‌شیاکلاهی را در سن ۴۲ روزگی در مقایسه با شاهد و دیگر تیمارها داشتند. با توجه به نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر، استفاده از آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین در جیره جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی دارای اثرات منفی بر جمعیت میکروبی مفید و افزایش اشری‌شیاکلاهی بوده، لذا سطح دو درصد پودر کنگرفرنکی به جهت بهبود جمعیت میکروبی و آنزیم‌های کبدی به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های کبدی، تنش سرمایی، جمعیت باکتریایی، جوجه‌گوشتی، کنگرفرنکی

مقدمه

تنش سرمایی می‌تواند تعادل سیستم اکسیدان و آنتی‌اکسیدان را تخریب کند. تعادل نادرست سیستم اکسیدان و آنتی‌اکسیدانی منجر به آسیب اکسیداتیو و اثر منفی بر عملکرد بافت‌ها می‌شود، همچنین تنش سرمایی عملکرد طبیعی اندام‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی را با اثر گذاشتن بر غلظت سیتوکین‌ها، تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴۵). مقاومت میکروب‌های دستگاه گوارش در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در شرایط سرمایی افزایش می‌یابد (۲۱). در پرورش جوجه‌های گوشتی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در زمان تنش سرمایی مؤثر نیستند و حتی

- ۱- دانشجوی دکتری رشته تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
- ۲- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی ایلام، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ایلام، ایران
- ۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
- ۴- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
- ۵- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
- ۶- گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران

قرار گیرند، حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی این ترکیبات بین ۵۰ تا ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر است (۴۴).

اسید استیل‌سالیسیلیک که بیشتر با نام تجاری آسپیرین شناخته می‌شود، یک داروی ضد التهابی غیراستروئیدی است. آسپیرین و سایر داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی از فعالیت آنزیم سیکلواکسی‌ژناز جلوگیری می‌نمایند، این آنزیم سبب تشکیل پروستاگلاندین‌های عامل ایجاد التهاب و تب می‌شود. اختلال در تولید پروستاگلاندین‌ها در ترومبوسیت‌ها باعث کاهش لخته شدن خون می‌شود. علاوه بر این در زمان ابتلاء جوجه‌های گوشتی به بیماری‌های عفونی ویروسی و میکروبی، آسپیرین با تأثیر بر روی سیستم عصب مرکزی و مهار واسطه‌های التهابی مانع افزایش دمای بدن و کاهش اشتها در گله شده و باعث بهبود وضعیت عمومی گله جوجه‌گوشی می‌شود (۱۲).

گیاهان دارویی خاصیت ضد باکتریایی دارند. مشخص شده است که عصاره برگ کنگرفرنگی و ترکیبات موجود در آن، فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری داشته‌اند (۷). در زمینه تأثیر فرآورده‌های کنگرفرنگی بر سیستم ایمنی، برخی گزارشات ایجاد محافظت در برابر اثرات سرکوب‌کنندگی اوکراتوکسین بر تولید تخم‌مرغ مرغ‌های تخم‌گذار (۳۶) و پاسخ سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی را با مصرف عصاره آبی کنگرفرنگی موثر دانسته‌اند (۳۷). تحریک رشد سلول‌های جذبی روده، جذب مواد غذایی را بهبود می‌بخشد و باعث کاهش تلفات و افزایش سود اقتصادی می‌شود (۲۸). گزارش شده است که این مواد در شرایط سرمایی مؤثر نیستند (۲۱). لذا، استفاده از گیاهان دارویی در این شرایط می‌تواند مفید باشد. بنابراین، هدف از اجرای این آزمایش بررسی تأثیر استفاده از سطوح یک و دو درصدی از پودر گیاه دارویی کنگرفرنگی و مقایسه اثر آنها با آسپیرین و آنتی‌بیوتیک در شرایط تنش سرمایی بر عملکرد، میزان آنزیم‌های خون، جمعیت میکروبی دستگاه گوارش و وضعیت سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی بود.

مواد و روش‌ها

ابتدا مقدار مورد نیاز برگ کنگرفرنگی از مزرعه تحقیقاتی گیاهان دارویی ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان چرداول استان ایلام در مهر ماه سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری و در سایه و دمای معمولی اتاق خشک شد. مقدار ماده خشک و ترکیبات شیمیایی برگ کنگرفرنگی با استفاده از روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شدند (۴). گیاه کنگرفرنگی به صورت پودر مورد استفاده قرار گرفت. به منظور به حداقل رساندن اثرات انبارداری، مقدار مورد نیاز کنگرفرنگی به صورت هفتگی آسیاب شد. برای تنظیم جیره‌ها از جداول انجمن تحقیقات ملی (NRC، ۱۹۹۴) برای مواد خوراکی و همچنین احتیاجات ارائه شده در راهنمای پرورش سویه راس ۳۰۸ سال ۲۰۰۹، استفاده شد. جیره‌های

در بعضی از تحقیقات به عنوان راهکاری جهت چالش میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۱). تحقیقات نشان داده است که گیاهان دارویی مانند کنگرفرنگی در زمان چالش می‌توانند نقش قابل توجهی داشته باشند (۳۰). کنگرفرنگی یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی جهان با قدمت هزاران سال کشت است و قسمت‌های مورد استفاده آن ریشه و اندام‌های هوایی می‌باشد. کنگر فرنگی با نام علمی *Cynara scolymus* و نام لاتین آرتیشو (Artichoks) گیاهی از خانواده کاسنی است. فلاونوئیدهای موجود در این گیاه بیان ژن نیتریک اکساید سنتتاز را در سلول‌های اندوتلیال در سطح بالایی تنظیم می‌کنند. عصاره این گیاه بیماری آرترواسکلروز را بهبود می‌بخشد و باعث بهبود و التیام آسیب‌های وارده به کبد می‌گردد (۱۸).

ترکیبات اصلی کنگرفرنگی نمک‌های اسید کلروژنیک اسید، سینارین و ترکیبات فنولیکی مشتق از اسید کافئیک هستند، برگ‌های کنگرفرنگی محتوی ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و اسیدی می‌باشند. اسید کافئیک و استرهای اسیدکینک و اسیدکافئیک، کلروژنیک و پسودوکلروژنیک‌اسید، نوکلروژنیک‌اسید، سینارین و دی‌کافئیل‌کینیک اسید ترکیبات عمده گیاه محسوب می‌شوند (۱۳). سلول‌های کبدی حاوی غلظت‌های بالایی از آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) هستند (۹). افزایش مقادیر این آنزیم‌ها نشان دهنده افزایش تخریب بافت کبد می‌باشد (۲). هرچند مکانیسم‌های داخل سلولی مانع از تخریب سلول‌های کبدی می‌شوند، اما برخی عوامل همچون تنش و مسمومیت، سبب ناکارآمدی مکانیسم‌های داخلی فوق می‌شوند. بر این اساس، استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی جهت جلوگیری از تخریب سلول‌های کبد ضروری است (۱۹). گزارشات منتشر شده نشان می‌دهند که ترکیبات فعال گیاهی مانند فلاونوئیدها و فنول‌های موجود در سبزیجات، میوه‌ها و برخی گیاهان دارویی به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی می‌توانند در حفاظت از سلول‌های کبدی نقش داشته باشند (۳۴).

استفاده از عصاره گیاه کنگرفرنگی در موش صحرایی باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون پروتئین‌ها و افزایش فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز شد (۱۶). کرافت در مطالعه‌ای بیان کرد که عصاره آبی کنگرفرنگی فعالیت آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز را به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد (۱۷). ژئو و همکاران در مطالعه‌ای با بررسی ترکیبات فنولیک گیاه عصاره برگ کنگرفرنگی و فعالیت ضد میکروبی آن‌ها، گزارش کردند که ترکیبات اسید کلروژنیک، سینارین، لوتئولین-۷-روتینوسید و سیناروسید موجود در عصاره برگ کنگرفرنگی به دلیل دارا بودن خاصیت ضد میکروبی بر علیه باکتری-های گرم منفی، گرم مثبت و گروهی از قارچ‌ها می‌توانند مورد استفاده

شد و حجم ۱ میکرولیتر از هر یک از سری‌ها رقت بر روی محیط‌های کشت آماده شده، کشت داده شد (۲۶).

برای شمارش کل باکتری‌های هوازی از آگار انفوزیون مغز-قلب (مرک المان با شماره کد ۱/۱۳۳۲)، برای شمارش کلی‌فرم‌ها از آگار مک‌کانکی (کندا اسپانیا با شماره کد ۱۰۵۲/۰۰) و همچنین برای شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک از ام.آر.اس. آگار (مرک آلمان با شماره کد ۱/۱۱۴۳۱) استفاده شد. سپس محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد و پس از آن از روش قطره‌ای برای شمارش باکتری‌های زنده استفاده شد (۲۶). تعداد باکتری در هر گرم نمونه با در نظر گرفتن وزن نمونه، عامل رقت و حجم قطره کشت شده مطابق رابطه ۲ محاسبه شد: در پایان محاسبه تعداد باکتری‌ها برای ۱ گرم نمونه تصحیح شد.

(۲) حجم کشت داده شده $\times$ عکس رقت $\times$ تعداد کلونی‌ها = تعداد باکتری‌ها

در پایان روزهای ۲۱ و ۴۲ دوره پرورش دوپرنده‌ها هر واحد آزمایشی بعد از دو ساعت گرسنگی به صورت تصادفی انتخاب و از سیاهرگ بال آن‌ها به میزان ۲ میلی‌لیتر خون گرفته شد. سرم نمونه‌های خون پس از انعقاد جدا شد و به میکروتیوب منتقل شدند و به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شدند. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات‌آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) سرم خون با استفاده از کیت‌های شرکت پارس‌آزمون (ALT/AST, LOT; 95007 and ALP; LOT, 96002) صورت گرفت (۶). تیترا آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل در نمونه‌های سرم به روش آزمایش مهار هم‌آگلوتیناسیون اندازه‌گیری شد. جهت تعیین عیار آنتی‌بادی بر علیه ویروس بیماری نیوکاسل در روز ۷ دوره پرورشی برای تمام پرنده‌های هر واحد آزمایشی مقدار ۱/۱ دوز واکسن نیوکاسل (B1) به صورت قطره چشمی تجویز شد. سپس در روز ۱۴ آزمایش از هر واحد آزمایشی دو پرنده انتخاب شد و حدود ۲ میلی‌لیتر خون جهت تعیین عیار آنتی‌بادی از طریق ورید بالی گرفته شد (۱۴). به منظور بررسی ایمنی هم‌ورال، در روزهای ۱۶ و ۲۳ آزمایش، به دو پرنده از هر واحد آزمایشی مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند ۵ درصد در PBS، به عضله سینه تزریق شد، و در روزهای ۲۳ و ۳۰ از این پرنده‌ها از طریق ورید بال به مقدار ۲ میلی‌لیتر خون گرفته شد. نمونه‌های خون در دمای اتاق نگهداری شدند تا سرم از لخته خون جدا شود. سرم‌های حاصل با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتیفریوژ شدند. از روش هم‌آگلوتیناسیون میکروتیترا برای تعیین عیار پادتن تولیدشده علیه گلبول قرمز گوسفند، استفاده شد (۴۲).

غذایی بر پایه ذرت و کنجاله سویا برای سه دوره زمانی یک تا ۱۰، ۱۱ تا ۲۴ و ۲۵ تا ۴۲ روزگی بر اساس اسیدهای آمینه کل تنظیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل تیمارهای شاهد، آنتی‌بیوتیک (جیره شاهد به اضافه مقدار ۰/۰۱۵ درصد آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین)، آسپیرین (جیره شاهد به اضافه مقدار ۰/۲ درصد پودر داروی آسپیرین 180.16 Lot # 9017K4912 Aspirin SIGMA-ALDRICH)، یک درصد پودر گیاه دارویی کنگر فرنگی و دو درصد پودر گیاه دارویی کنگر فرنگی بودند. مقدار ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام، نشاسته، قند، فیبر خام، خاکستر خام، کلسیم و فسفر کل کنگر فرنگی در آزمایشگاه اندازه‌گیری و به ترتیب ۹۳/۲۶، ۱۴/۰۶، ۲/۰۱، ۶/۸، ۹/۲۸، ۱۶/۰۰، ۱۴/۳۳، ۲/۰۴ و ۰/۳۶ درصد بود. انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری تصحیح شده برای ازت گیاه کنگر فرنگی بر اساس رابطه ۱ محاسبه شد (۳۳) و مقدار آن ۱۲۶۰ کیلوکالری در کیلوگرم بود.

$$AMEn = (3.52 * \% CP) + (7.85 * \% EE) + (4.1 * \% ST) + (3.55 * \% SU) \quad (1)$$

در این فرمول CP پروتئین خام، EE چربی خام، ST نشاسته، SU قند و AMEn انرژی قابل متابولیسم ظاهری تصحیح شده برای ازت بر حسب کیلوکالری در گرم ماده خشک است.

جدول ۱ مواد خوراکی مورد استفاده و مواد مغذی تأمین شده جیره‌های غذایی را نشان می‌دهد. در این آزمایش از تعداد ۴۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه جنس نر سویه راس ۳۰۸ در یک طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار، چهار تکرار و ۲۰ جوجه در هر تکرار استفاده شد. طول دوره آزمایش ۴۲ روز بود. جوجه‌ها در طول دوره آزمایش، به آب و خوراک به صورت آزاد دسترسی داشتند. برنامه نوری به صورت ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی تنظیم شد. روز اول دمای سالن پرورش ۳۲ درجه سانتی‌گراد بود و سپس به تدریج کاهش یافت تا در پایان هفته، ۱۴ و ۲۱ روزگی به ترتیب به ۲۵، ۲۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد رسید و تا پایان دوره آزمایش دما در حدود ۱۵ درجه سانتی‌گراد حفظ شد (۴۰).

صفات مورد اندازه‌گیری شامل عملکرد، جمعیت میکروبی ایلئوم، غلظت آنزیم‌های کیدی و پاسخ ایمنی هم‌ورال بودند. برای اندازه‌گیری جمعیت میکروبی، محیط کشت‌های مورد نظر از ۲۴ ساعت پیش از جمع‌آوری نمونه‌ها آماده شدند و درون پتری‌دیش ریخته شدند تا در صورت آلودگی توسط سایر میکروارگانیسم‌ها، تشخیص داده شود و پتری‌دیش‌های آلوده حذف شوند. در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی از هر واحد آزمایشی دو پرنده انتخاب و دستگاه گوارش در شرایط آسپتیک در مجاورت شعله باز شد. با استفاده از قطعات فویل آلومینیومی از پیش استریل شده مقدار یک گرم از محتویات ایلئوم، برداشته شده و به لوله‌های حاوی ۹ میلی‌لیتر PBS افزوده شد. درب لوله‌ها بسته شد و بر روی یخ سریعاً به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه از هر یک از نمونه‌ها در شرایط استریل سری‌های رقت با عامل رقت ۱۰ تهیه

جدول ۱- ترکیب و اجزای تشکیل دهنده جیره‌های آزمایشی
Table 1- Ingredient and composition of experimental diets

اجزاء تشکیل دهنده (درصد) Diet Ingredients (%)	روز ۱-۱۰ 1-10 d			روز ۱۱-۲۴ 11-24 d			روز ۲۵-۴۲ 25-42 d		
	سطوح مختلف کنگرفرنگی (%) Different levels of Artichoks (%)			سطوح مختلف کنگرفرنگی (%) Different levels of Artichoks (%)			سطوح مختلف کنگرفرنگی (%) Different levels of Artichoks (%)		
	0	1	2	0	1	2	0	1	2
ذرت Corn	51.70	52.81	53.93	51.18	52.29	51.41	54.39	55.51	56.62
کنجاله سویا (Cp- ۴۴٪) Soybean meal (44 % CP)	32	32	32	33.50	33.50	31.50	33.71	33.71	33.70
روغن گیاهی (افتابگردان) Sunflower Oil	3.17	3.04	2.90	5.23	5.19	5.06	6.15	6.02	5.88
گلوتن ذرت Corn gluten	6.01	6.01	6.05	3.85	3.84	3.84	0	0	0
دی کلسیم فسفات Di calcium phosphate	1.94	1.94	1.94	1.67	1.67	1.67	1.51	1.52	1.52
پودر صدف Oyster Shell	1.34	1.35	1.36	1.09	1.10	1.11	1.05	1.06	1.07
نمک طعام Salt	0.39	0.40	0.41	0.39	0.40	0.42	0.39	0.40	0.42
مکمل مواد معدنی ^۱ Mineral premix ¹	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل ویتامینی ^۲ Vitamin premix ²	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
ترئونین Threonine	0.11	0.11	0.11	0.02	0.02	0.02	0	0	0
دی - ال متیونین DL- methionine	0.34	0.34	0.34	0.26	0.26	0.25	0.25	0.24	0.24
پودر کنگرفرنگی Artichoks powder	2	1	0	2	1	0	2	1	0
ال - لیزین هیدروکلراید L-Lysine HCL	0.5	0.5	0.5	0.22	0.22	0.22	0.05	0.05	0.05
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم) Metabolizable Energy (kcal/kg)	3025	3025	3025	3150	3150	3150	3200	3200	3200
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	23	23	23	22	22	22	20	20	20
کلسیم (درصد) Calcium (%)	1.05	1.05	1.05	0.90	0.90	0.90	0.85	0.85	0.85
فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorus (%)	0.5	0.5	0.5	0.45	0.45	0.45	0.42	0.42	0.42
سدیم کلراید (درصد) Sodium chloride (%)	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
ترئونین (درصد) Threonine	0.94	0.94	0.94	0.83	0.83	0.83	0.74	0.74	0.74
متیونین (درصد) Methionine (%)	0.72	0.72	0.71	0.61	0.61	0.61	0.55	0.55	0.55
متیونین+سیستین (درصد) Methionine + cystine	1.07	1.07	1.07	0.95	0.95	0.95	0.86	0.86	0.86
لیزین (درصد) Digestible lysine (%)	1.43	1.43	1.43	1.24	1.24	1.24	1.09	1.09	1.09

^۱ هر کیلوگرم جیره شامل: منگنز (اکسید) ۱۱۰ میلی گرم، روی ۱۰۰ میلی گرم، آهن ۳۵ میلی گرم، مس ۹ میلی گرم، ید ۱/۳ میلی گرم، بیوتین، ۰/۱ میلی گرم، کبالت ۰/۹ میلی گرم و سلنیوم ۰/۱۵ میلی گرم بود.

^۲ هر کیلوگرم جیره حاوی: ویتامین A ۱۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین D₃ ۱۵۰۰ واحد بین المللی، ویتامین E ۱۵ واحد بین المللی، ویتامین B₁₂ ۰/۰۰۸ میلی گرم، ویتامین نیاسین ۲۵ میلی گرم، تیامین ۰/۵ میلی گرم، ریبوفلاوین ۴ میلی گرم، اسید پانتوتنیک ۸ میلی گرم، پیریدوکسین ۱ میلی گرم، اسید فولیک ۰/۲ میلی گرم، بیوتین ۰/۱ میلی گرم بود.

^۱ Supplied per kilogram of diet: manganese, 110 mg; zinc, 100 mg; iron, 35 mg; copper, 9 mg; iodine, 1.3 mg; mg, Biotin 0.1 mg, co 0.9 mg and selenium, 0.15.

^۲ Supplied per kilogram of diet: vitamin A, 1000 IU; vitamin D₃, 1500 IU; vitamin E, 15 mg; vitamin B₁₂, 0.008 mg; vitamin B₃, ۲۵ mg; vitamin B₁ 0.5 mg, vitamin B₂; 4 mg; vitamin B₅ 8 mg, vitamin B₆ 1 mg, vitamin B₉ 0.2 mg, vitamin B₉ 0.1 mg.

اسید کلروژنیک، سینارین، لوتئولین-۷- روتینوسید و سیناروسید فعالیت بالایی برای مبارزه با ارگانیسم‌ها دارند. علاوه بر این محققین گزارش کردند که این ترکیبات در مقابل قارچ و باکتری‌ها مؤثر هستند. غلظت ممانعت‌کنندگی حداقل این ترکیبات بین ۵۰ تا ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر است. فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات کنگرفرنکی در مقابل باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت و همچنین گروه قارچ‌ها نیز گزارش شد (۴۴). صمدی و ساهانی (۲۸) در مطالعه‌ای نتایج مربوط به بررسی تأثیر پودر کنگرفرنکی (۱/۵ و سه درصد) و ویتامین E (۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را بر عملکرد تولید مثل، میکروفلورا و مورفولوژی روده بلدرچین ژاپنی، گزارش نمودند که با نتایج این آزمایش مطابقت ندارد. نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن پودر کنگرفرنکی در تمام طول دوره‌های پرورش تأثیری بر عملکرد بلدرچین‌ها نداشت. جمعیت لاکتوباسیل و کلی‌فرم تحت تأثیر افزودن پودر کنگرفرنکی قرار نگرفت در حالی که ویتامین E سبب افزایش جمعیت باکتری‌های هوازی شد. همچنین استفاده از پودر کنجاله کنگرفرنکی سبب بهبود صفات مربوط به مورفولوژی بلدرچین شد. نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف ترکیبات پلی‌فنل‌ها مثل پودر گیاه دارویی کنگرفرنکی سبب بهبود رشد باکتری‌های مفید شد (۲۸). فرضیه قابل بحث در این زمینه این است که بسیاری از میکروارگانیسم‌ها قادر به استفاده از چنین ترکیباتی به عنوان مواد مغذی قابل استفاده می‌باشند. به عنوان مثال، باکتری لاکتوباسیل قادر به متابولیزه کردن ترکیبات فنولی به سوبسترای انرژی می‌باشند (۱۵). به علاوه در برخی مطالعات آزمایشگاهی دیگر نشان داده شده که بسیاری از قارچ‌ها، باکتری‌ها و مخمرها قادر به استفاده و رشد از ترکیبات فنولی می‌باشند (۵). گزارش منتشر شده نشان می‌دهد که پودر و عصاره تعداد زیادی از گونه‌های مختلف گیاهان دارویی خاصیت ضد میکروبی دارند (۲۰). از جمله این گیاهان دارای خاصیت ضد میکروبی، کنگرفرنکی است که عصاره برگ این گیاه و ترکیبات موجود در آن فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری داشته‌اند (۷). گیاهان و عصاره‌های آن‌ها به داشتن ترکیبات فعال زیادی همانند تانن، آلکالوئیدها و اسانس‌ها شناخته شده‌اند که فعالیت‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دارند (۱۸). این ترکیبات بیواکتیو (زیست فعال) اثرات سودمند خود را از طریق دستکاری میکروفلور روده‌ای و بهبود قابلیت هضم ایجاد می‌کنند. از این رو، مطالعات زیادی نشان داده‌اند که گیاهان و ترکیبات زیست فعال آن‌ها می‌توانند pH روده را کاهش دهند و بنابراین، رشد باکتری‌های مفید همانند لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم را بهبود دهند و تعداد کلی‌فرم‌ها و کلوستریدیوم پرفرنس در ایلئوم و سکوم را کاهش دهند (۴۱). این امر سبب

داده‌های حاصل با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) بر اساس مدل ۳، تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند. نرمال بودن داده‌ها به کمک آزمون کولموگرووف اسمیرنوف بررسی شد. داده‌های که به صورت درصد بودند، با تبدیل به $\text{Arc Sin}\sqrt{x}$ نرمال شدند.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij} \quad (3)$$

در این رابطه، Y_{ij} مقدار هر مشاهده از تکرار j ام و تیمار i ام؛ μ میانگین جامعه، T_i اثر تیمار i ام و ε_{ij} اثر خطای آزمایش است.

نتایج و بحث

تأثیر جیره‌های مختلف آزمایشی بر میکروبیولوژی ایلئوم جوجه‌های گوشتی در دوره‌های ۲۱ و ۴۲ روزگی در جدول ۲ نشان داده شده است. جمعیت اشری‌شیاکلی در ۲۱ روزگی تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$)، اما جمعیت لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفتند ($P < 0.05$). پرندگان دریافت‌کننده جیره حاوی آنتی‌بیوتیک در مقایسه با پرندگان دریافت‌کننده سایر جیره‌های آزمایشی، جمعیت لاکتوباسیل کمتری داشتند ($P < 0.05$). سایر تیمارهای آزمایشی از نظر تعداد لاکتوباسیل تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند. تیمارهای یک و دو درصد پودر گیاه دارویی کنگرفرنکی تأثیر معنی‌داری بر جمعیت لاکتوباسیل نداشتند ($P > 0.05$). جوجه‌های تغذیه شده با جیره دارای آنتی‌بیوتیک و آسپیرین در مقایسه با جوجه‌های تغذیه شده با تیمار شاهد جمعیت بیفیدوباکتریوم را به ترتیب کاهش و افزایش دادند ($P < 0.05$). اختلاف میانگین جمعیت بیفیدوباکتریوم در بین جوجه‌های تغذیه شده با تیمار یک و دو درصد گیاه دارویی کنگرفرنکی معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

اختلاف میانگین جمعیت اشری‌شیاکلاهی، لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در بین پرنده‌های تغذیه شده با تیمارهای مختلف آزمایشی در ۴۲ روزگی معنی‌دار بود ($P < 0.01$). جمعیت اشری‌شیاکلی در پرنده‌های تغذیه شده با تیمارهای یک و دو درصد کنگرفرنکی در مقایسه با تیمار شاهد و آنتی‌بیوتیک کمتر بود ($P < 0.01$). پرنده‌های تغذیه شده با جیره حاوی آنتی‌بیوتیک در مقایسه با پرنده‌های تغذیه شده با سایر تیمارهای آزمایشی جمعیت لاکتوباسیلوس را کاهش داد ($P < 0.01$). پرنده‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی دو درصد کنگرفرنکی و آنتی‌بیوتیک در مقایسه با پرنده‌های تیمار شاهد جمعیت بیفیدوباکتریوم را به ترتیب افزایش و کاهش دادند ($P < 0.01$). ژبو و همکاران (۴۴) در مطالعه‌ای با بررسی ترکیبات فنولیک عصاره برگ گیاه کنگرفرنکی و فعالیت ضد میکروبی آن گزارش کردند که ترکیبات موجود در عصاره این گیاه همچون

تثبیت میکروفلور روده می‌شود و یک محافظتی بر علیه باکتری‌های بیماری‌زا را فراهم می‌کند (۴۳). پودر کنگرفرنکی خصوصاً سطح دو درصد آن باعث بهبود ترکیب جمعیت میکروبی ناحیه ایلئوم در سن ۴۲ روزگی شد. فعالیت ضدباکتری کنگرفرنکی در بهبود جمعیت میکروبی مؤثر بود.

جدول ۲- تأثیر تیمارهای مختلف روی میکروبیولوژی ناحیه ایلئوم جوجه‌های گوشتی در ۲۱ و ۴۲ روزگی
Table 2-. Effect of different diets on microbial ileum in broiler chicks (21 and 42 days)

صفات Traits	جیره‌های آزمایشی Experimental diets						
میکروبیولوژی ایلئوم Microbiology of ileum	شاهد control	ویرجینیامایسین Virginiamycin	آسپرین Aspirin	کنگرفرنکی ۱ درصد Artichoke 1%	کنگرفرنکی ۲ درصد Artichoke 2%	خطای معیار SEM	سطح احتمال P-value
۲۱ روزگی 21day							
اشری شیاکلائی Escherichia coli	7.14	7.58	7.18	7.08	7.25	0.16	0.25
لاکتوباسیلوس Lactobacillus	9.42 ^a	8.92 ^b	9.53 ^a	9.48 ^a	9.59 ^a	0.13	0.02
بیفیدوباکتریوم Bifidobacteriu	7.83 ^b	7.20 ^c	8.29 ^a	8.10 ^{ab}	8.07 ^{ab}	0.09	0.0001
۴۲ روزگی 42 day							
اشری شیاکلائی Escherichia coli	7.87 ^b	8.27 ^a	7.63 ^c	7.59 ^c	7.33 ^d	0.06	0.0001
لاکتوباسیلوس Lactobacillus	9.24 ^a	8.41 ^b	9.24 ^a	9.32 ^a	9.44 ^a	0.16	0.003
بیفیدوباکتریوم Bifidobacteriu	8.39 ^b	7.32 ^c	8.35 ^b	8.60 ^{ab}	8.79 ^a	0.09	0.0001

^۱حروف غیرمشابه در هر ردیف نشانه وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ($P < 0.05$).

^۱Non-similar means within same rows with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

مفید کنگرفرنکی بر عملکرد آنزیم‌های کبدی توسط پیچت (۲) بیان شده است. این محقق گزارش نمود که ترکیب آماده از کنگرفرنکی، عملکرد اندام‌های کبد و کلیه را تقویت می‌کند (۲۵). سلول‌های کبدی حاوی غلظت‌های بالایی از آنزیم‌های ALT و AST می‌باشند، که ALT در سیتوپلاسم و AST در میتوکندری سلول‌های کبدی وجود دارند (۹). افزایش مقادیر این آنزیم‌ها نشان دهنده افزایش تخریبی بافت کبد می‌باشد (۲). هرچند مکانیسم‌های داخل سلولی مانع از تخریب سلول‌های کبدی می‌شوند، اما برخی عوامل همچون تنش و مسمومیت سبب ناکارآمدی مکانیسم‌های داخلی فوق می‌شوند. بر این اساس، استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی جهت جلوگیری از تخریب سلول‌های بدن ضروری می‌باشد (۱۹). نتایج گزارش‌های منتشر شده نشان می‌دهند که ترکیبات فعال گیاهی مانند فلاونوئیدها و فنول‌های موجود در سبزی‌ها، میوه‌ها و برخی گیاهان دارویی به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی می‌توانند در حفاظت سلول‌های کبدی نقش داشته باشند (۳۴). در آزمایشی مشخص شد که استفاده از عصاره کنگرفرنکی در موش باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها،

جداول ۳ و ۴ نتایج مربوط به تأثیر جیره‌های آزمایشی بر آنزیم‌های سرم خون آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) جوجه‌های گوشتی در ۲۱ و ۴۲ روزگی را نشان می‌دهند. اختلاف میانگین فعالیت آنزیم‌های ALT و AST تیمارهای مختلف آزمایشی در ۲۱ روزگی معنی‌دار بود ($P < 0.05$)، به طوری که جیره حاوی آسپیرین و جیره حاوی دو درصد پودر کنگرفرنکی فعالیت آنزیم ALT و جیره حاوی دو درصد پودر کنگرفرنکی فعالیت آنزیم AST را در ۲۱ روزگی کاهش دادند ($P < 0.05$). جیره‌های آزمایشی تأثیری بر فعالیت آنزیم ALP در ۲۱ روزگی نداشتند ($P > 0.05$). تأثیر جیره‌های آزمایشی بر غلظت آنزیم‌های سرم خون در ۴۲ روزگی معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). عصاره کنگرفرنکی باعث کاهش غلظت آنزیم‌های ALT و AST سرم خون جوجه‌های گوشتی شد (۲۳) که با نتایج حاصل از این آزمایش در ۲۱ روزگی مطابقت دارد. کرافت (۱۷) در مطالعه‌ای گزارش نمود که عصاره آبکی کنگرفرنکی غلظت آنزیم‌های ALT، AST و ALP را در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد (۱۷). اثرات

های تولید کننده آنیون سوپر اکساید مانع تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر می‌شوند (۳۱) و از این رو شاید بتوانند مانع اکسید شدن غشای کبدی و آزادسازی آنزیم‌ها به درون خون شوند. مصرف دو درصد پودر کنگرفرنگی از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش ALT در تحقیق اخیر شده است. در آسیت بر اثر نارسایی کبد آنزیم‌های ALT و AST و ALP در سرم خون بالا می‌روند و با توجه به کاهش فعالیت این آنزیم‌ها توسط کنگرفرنگی، لذا این گیاه می‌تواند در کاهش آسیت مؤثر باشد.

اکسیداسیون پروتئین‌ها و افزایش فعالیت گلوکوتائون پراکسیداز می‌شود (۱۶). یک آزمایش از تتراکلرید کربن به عنوان عامل ایجاد تنش اکسیداتیو استفاده شد و غلظت آنزیم‌های کبدی مانند ALT و AST به ترتیب ۴۰ و ۵۲ درصد بعد از استفاده از عصاره برگ کنگرفرنگی به میزان ۱/۵ گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری نسبت به تیمار کنترل کاهش یافت (۷). کنگرفرنگی به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی، خاصیت آنتی-اکسیدانی نیز دارد. از بین ترکیبات فنولی موجود در کنگرفرنگی می‌توان به اسید کلروژنیک اشاره کرد (۲۹). فلاونوئیدها با مهار آنزیم-

جدول ۳- تأثیر جیره‌های مختلف آزمایشی بر غلظت آنزیم‌های کبدی سرم خون در ۲۱ روزگی
Table 3-. Effect of various experimental diets on blood serum enzymes at 21 days of age

جیره‌های آزمایشی Experimental diets							
فراسنجه‌ها Parameters	بدون افزودنی Control	ویرجینیامایسین Virginiamaycin	آسپیرین Aspirin	کنگرفرنگی (۱٪) Artichoke 1%	کنگرفرنگی (۲٪) Artichoke 2%	خطای معیار SEM	سطح احتمال P-value
آلانیل آمینوترانسفراز ALT (U/L)	17.50 ^a	17.75 ^a	14.25 ^b	15.00 ^{ab}	13.75 ^b	0.94	0.02
آسپاراتات آمینوترانسفراز AST (U/L)	99.25 ^a	103.25 ^a	95.25 ^a	97.25 ^a	84.75 ^b	3.39	0.01
آلکالین فسفاتاز ALP (U/L)	1991	1989	1971	1888	1869	42.69	0.16

^۱ میانگین‌های داخل هر ردیف باحروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار باهم می‌باشند ($P < 0.05$).

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

جدول ۴- تأثیر جیره‌های مختلف آزمایشی بر غلظت آنزیم‌های کبدی سرم خون در ۴۲ روزگی
Table 3-. Effect of various experimental diets on blood serum enzymes at 42 days of age

جیره‌های آزمایشی Experimental diets							
فراسنجه‌ها Parameters	بدون افزودنی Control	ویرجینیامایسین Virginiamaycin	آسپیرین Aspirin	کنگرفرنگی (۱٪) Artichoke 1%	کنگرفرنگی (۲٪) Artichoke 2%	خطای معیار SEM	سطح احتمال P-value
آلانیل آمینوترانسفراز ALT (U/L)	19.50	21	21.50	19.25	18.75	0.70	0.09
آسپاراتات آمینوترانسفراز AST (U/L)	88.25	87.00	83.25	86.00	84.75	3.15	0.82
آلکالین فسفاتاز ALP (U/L)	1350	1363	1354	1329	1257	49.43	0.56

^۱ میانگین‌های داخل هر ردیف باحروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار باهم می‌باشند ($P < 0.05$).

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

همکاران (۲۷) گزارش کردند که عیار پادتن تولید شده علیه گلبول‌های قرمز خون گوسفند در بین جیره‌ها (تیمار حاوی ۰/۱ درصد سیر و شاهد) در هر دو شرایط دمایی (دمای معمولی و دمای سرد برای ایجاد آسیت) معنی‌دار نبود (۲۷) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. فلاح و همکاران (۱۱) در مطالعه‌ای اثر پودر برگ کنگرفرنگی

نتایج مربوط به تأثیر جیره‌های آزمایشی بر بر عیار آنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز خون گوسفند در ۲ مرحله (۲۳ و ۳۰ روزگی) و نیوکاسل در جدول ۵ نشان داده شده است. جیره‌های مختلف آزمایشی تأثیری بر عیار آنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز خون گوسفند در ۲۳ و ۳۰ روزگی و تیتیر نیوکاسل نداشتند ($P > 0.05$). رحیمی و

جوجه‌های گوشتی شد (۳۷). فانی مکی و همکاران (۱۰) اثر گیاهان دارویی خار مریم (۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و آویشن (۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) را بر سیستم ایمنی و برخی از فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که جیره‌های آزمایشی حاوی گیاهان دارویی تأثیری بر سطوح ایمونوگلوبین‌های سرم، فعالیت آنزیم‌های کبدی و عیار آنتی‌بادی علیه نیوکاسل، برونشیت و گامبورو نداشتند. جیره‌های آزمایشی حاوی این گیاهان تعداد لنفوسیت و هتروفیل را افزایش دادند (۱۰). استفاده از روغن‌های استخراج شده از گیاهان، کارایی سیستم ایمنی طیور را بهبود می‌دهد (۲۴). بسیاری از مطالعات خارج سلولی نشان داده شده است که گیاهان دارویی و عصاره‌های گیاهی سبب تحریک فعالیت ماکروفاژها و افزایش فعالیت سیستم ایمنی می‌شوند (۳۵). گیاهان دارویی و ترکیبات آن‌ها می‌توانند به روش تکثیر لنفوسیت‌ها، رها سازی سیتوکین‌ها، فعالیت سلول کشنده طبیعی، و فاگوسیتوز سبب فعال تر شدن عملکرد ایمنی شوند (۳). بالاتر بودن عیار پادتن در جوجه‌های تغذیه شده با گیاهان دارویی نسبت به تیمار شاهد می‌تواند بیانگر این نکته باشد که در دستگاه گوارش با کاهش pH محیط، شرایط برای رشد و تکثیر باکتری‌هایی نظیر گونه لاکتوباسیلوس فراهم می‌شود. در آزمایش حاضر تأثیر معنی‌داری از کنگر فرنگی بر عیار آنتی‌بادی مشاهده نشد، با توجه به نتایج مربوط به تأثیر سطوح یک و دو درصد پودر گیاه دارویی کنگر فرنگی بر عیار آنتی‌بادی (جدول ۵) به نظر می‌رسد استفاده از سطوح بالاتر کنگر فرنگی بتواند اثر معنی‌داری بر سیستم ایمنی (عیار آنتی‌بادی) داشته باشد.

جدول ۶ تأثیر جیره‌های مختلف آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در طول دوره پرورش (۴۲-۱ روزگی) را نشان می‌دهد. میانگین افزایش وزن روزانه و شاخص اروپایی در تیمارهای حاوی کنگر فرنگی نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0.05$). میانگین ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای یک و دو درصد پودر کنگر فرنگی پایین‌تر از سایر تیمارها بود ($P < 0.05$). سطوح استفاده شده از پودر گیاه کنگر فرنگی باعث افزایش خوراک مصرفی به میزان ۴-۶ درصد در دوره ۴۲-۱ روزگی در مقایسه با تیمار شاهد گردید. ترکیبات طبیعی موجود در پودر گیاه کنگر فرنگی از جمله فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و ترکیبات فنلی با دارا بودن تأثیرات متفاوت، قادر به افزایش قابلیت هضم مواد غذایی هستند. الیگوساکاریدهای کنگر فرنگی پری‌بیوتیکی بوده و رشد بیشتر باکتری‌های سودمند را تسهیل می‌بخشد. سینارین موجود در این گیاه افزایش ترشح صفرا را بدنال دارد و سبب هضم بیشتر چربی می‌گردد، مزه ترش اسیدهای آلی موجود در کنگر فرنگی، محرک، اشتها آور و هضم کننده غذا است (۷).

(۱/۵ درصد) و عصاره نعنای (۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر سلول‌های ایمنی و فراسنجه‌های بیوشیمی خون جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ را بررسی و گزارش نمودند که جیره‌های آزمایشی تأثیری بر عیار آنتی‌بادی علیه نیوکاسل نداشتند. اثر پودر گیاه کنگر فرنگی به تنهایی و همچنین اثر متقابل هر دو گیاه باعث افزایش درصد هتروفیل شد (۱۱). تیموری‌زاده و همکاران (۳۹) اثر چند گیاه دارویی را بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی بررسی نموده و گزارش کردند که عیار آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل در هر دو دوره تحت تأثیر جیره‌ها قرار نگرفت. تاجدینی و همکاران (۳۸) به مقایسه اثرات استفاده از پودر کنگر فرنگی (۱/۵ و ۳ درصد) و ویتامین E بر عملکرد، وزن اندام‌های داخلی و میزان عیار آنتی‌بادی علیه واکسن نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی پرداختند و گزارش کردند که کنگر فرنگی تأثیری بر عملکرد جوجه‌ها نداشت. بیشترین تیتراژ آنتی‌بادی علیه نیوکاسل مربوط به پرندگان تغذیه شده با ۱/۵ درصد کنگر فرنگی بود. کنگر فرنگی سبب بهبود پاسخ سیستم ایمنی شد که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت ندارد. گزارش منتشر شده نشان می‌دهد که کنگر فرنگی به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین به دلیل وجود ترکیب‌های فنولیک، موجب تقویت سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی می‌گردد (۳۸)، علاوه بر آن نتایج گزارش دیگر نشان می‌دهد که کنگر فرنگی به دلیل وجود ترکیبات پلی‌فنولیک یک منبع قوی آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی است (۱۶). محققان در مطالعه‌ای گزارش کردند که افزودن عصاره یونجه در جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش معنی‌دار عیار آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل در ۴ و ۵ هفته‌گی می‌شود (۸).

شیرزادی و همکاران (۳۲) با بررسی عصاره گیاهان دارویی جغجغه، سماق و آنتی‌بیوتیک، عدم تأثیر جیره‌های آزمایشی بر عیار آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز خون گوسفند را گزارش نمودند، اما جیره‌های آزمایشی حاوی عصاره جغجغه، سماق و آنتی‌بیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد سبب افزایش عیار آنتی‌بادی علیه نیوکاسل شدند (۳۲). آقایی‌فر و همکاران (۱) به بررسی تأثیر پودر فلفل سیاه، سیر و زردچوبه بر عملکرد و عیار آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل جوجه‌های گوشتی سویه کاب (جنس نر) پرداختند و گزارش کردند در مورد عیار نیوکاسل، اثر گیاهان دارویی در مرحله قبل از واکسیناسیون موجب بهبود عیار نیوکاسل گردیدند. پودر فلفل سیاه و زردچوبه سبب بهبود تیتراژ نیوکاسل بعد از واکسیناسیون شدند اما سیر چنین اثری نداشت (۱). نجفی و ترکی (۲۲) گزارش نمودند که استفاده از سطح ۲۰۰ قسمت در میلیون پودر دارچین تأثیری بر عیار آنتی‌بادی بر علیه نیوکاسل نداشت (۲۲). بر طبق برخی گزارشات، عصاره آبی کنگر فرنگی سبب ایجاد محافظت در برابر اثرات سرکوب‌کنندگی اوکراتوکسین در مرغ‌های تخم‌گذار (۳۶) و پاسخ سیستم ایمنی در

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان عیار آنتی بادی علیه گلبول های قرمز خون گوسفند (۲۳ و ۳۰ روزگی) و عیار نیوکاسل (۱۴ روزگی)
Table 5- Effect of experimental treatments on level of HI- antibody titers against sheep red blood cell (23 and 30 days) and Newcastle vaccine (14 day) in broilers (log₂)

Newcastle vaccine (14 day) in broilers (log2)							
فراسنجه‌ها Parameters							نیوکاسل Newcastle NDHI log2
تیمارهای آزمایشی Experimental diets	تست اولیه Primary titer			تست ثانویه Secondary titer			
	IgM	IgG	Total	IgM	IgG	Total	
شاهد Control	2.00	2.25	4.25	2.50	3.50	6.00 ^{ab}	3.00
ویرجینیامایسین virginiamycin	1.75	2.00	3.75	2.75	2.50	5.25 ^b	2.75
آسپیرین Aspirin	2.50	2.00	4.50	3.25	3.00	6.25 ^{ab}	3.50
کنگرفرنگی ۱ درصد Artichoke 1%	2.00	2.50	4.50	3.00	3.75	6.75 ^a	3.50
کنگرفرنگی ۲درصد Artichoke 2%	2.25	2.00	5.25	3.75	3.50	7.25 ^a	3.25
خطای معیار SEM	0.33	0.36	0.37	0.39	0.31	0.33	0.47
سطح احتمال P- value	0.57	0.30	0.13	0.25	0.08	0.02	0.76

^۱ میانگین های داخل هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی دار با هم می باشند (P<۰/۰۵).

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

جدول ۶- اثر جیره های مختلف آزمایشی بر صفات عملکردی جوجه های گوشتی در طول دوره آزمایش (۱ تا ۴۲ روزگی)
Table 6- Effect of various experimental diets on growth performance of broiler chickens at 42 days of age

فراسنجه ها Parameters	تیمارهای آزمایشی Experimental diets						سطح احتمال P-value
	بدون افزودنی Control	ویرجینیامایسین virginiamycin	آسپرین Aspirin	کنگرفرنگی (۱٪) Artichoke 1%	کنگرفرنگی (۲٪) Artichoke 2%	خطای معیار SEM	
مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/b/d)	103.38 ^{bc}	100.89 ^c	101.68 ^c	109.35 ^a	107.93 ^{ab}	1.64	0.007
افزایش وزن (گرم/پرنده/روز) Weight gain (g/b/d)	49.26 ^b	48.35 ^b	48.19 ^b	54.57 ^a	54.14 ^a	0.556	0.0001
ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio	2.10 ^a	2.09 ^a	2.11 ^a	2.00 ^b	1.99 ^b	0.024	0.007
شاخص اروپایی European index	230.25 ^b	236.50 ^b	224.75 ^b	264.25 ^a	262.25 ^a	5.913	0.0004

^۱ میانگین های داخل هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی دار با هم می باشند (P<۰/۰۵).

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

علیه واکسن نیوکاسل در جوجه های گوشتی پرداختند و گزارش کردند که کنگرفرنگی تأثیری بر عملکرد رشد جوجه ها نداشت (۳۸). تأثیر مثبت کنگرفرنگی بر صفات عملکردی جوجه های گوشتی در این آزمایش احتمالاً مربوط به چالش تنش سرمایی بوده است. تأثیر استفاده از گیاهان دارویی در جیره غذایی جوجه های گوشتی بر عملکرد به طور متناقضی در آزمایش های مختلف گزارش شده است (۲۲)، دلایل این پاسخ های متفاوت ممکن است

مصرف مقدار سه درصد پودر گیاه کنگرفرنگی در جیره غذایی بلدرچین ژاپنی، اثر منفی بر شاخص های عملکرد داشت (۲۸)، که با نتایج این تحقیق مطابقت ندارد. تأثیر منفی کنگرفرنگی بر عملکرد بلدرچین ژاپنی شاید مربوط به میزان حجم بیشتر الیاف خام در جیره و تأثیر آن بر قابلیت هضم مواد مغذی باشد. تاجدینی و همکاران (۳۹) به مقایسه اثرات استفاده از کنگرفرنگی (۱/۵ و ۳ درصد) و ویتامین E بر عملکرد، وزن اندام های داخلی و میزان عیار آنتی بادی

بر اساس نتایج تحقیق اخیر، آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین نه تنها تأثیری بر جمعیت میکروبی ایلتوم نداشت، بلکه باکتری‌های مفید را کاهش و باکتری‌های مضر را افزایش داد. بنابراین مصرف دو درصد پودر گیاه دارویی کنگرفرنکی در جیره جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی با بهبود جمعیت میکروبی و آنزیم‌های کبدی و همچنین تقویت پاسخ ایمنی به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک توصیه می‌شود.

مربوط به مقدار مورد استفاده گیاه دارویی، نوع گیاه مورد استفاده، نوع جیره پایه، تنش، بیماری‌ها و شرایط محیط آزمایش باشد. استفاده از گیاهان دارویی در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی زمانی که شرایط محیطی و مدیریتی مطلوب باشد ممکن است بر عملکرد خیلی مؤثر نباشند اما در شرایط بحرانی این افزودنی‌ها بهتر اثر خود را نشان می‌دهند.

نتیجه‌گیری کلی

منابع

- 1- Aghayarifar, B., N. Eila., B. Hemmati and M. J. Nemati. 2015. The effect of black pepper powder, garlic and turmeric on yield and antibody titer against Newcastle virus Cobb broiler chicks (male). Research on Animal Production, 6 (11): 111-112. (In Persian).
- 2- Ajayi, O.B. and A. Odutuga. 2004. Effect of low-zinc status and essential fatty acids deficiency on the activities of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in liver and serum of albino rats. Molecular Nutrition & Food Research, 48 (2): 88-90.
- 3- Ao, X. J., S. Yoo., T. X. Zhou., J. P. Wang., Q. W. Meng., L. Yan., J. H. Cho, and I. H. Kim. 2011. Effects of fermented garlic powder supplementation on growth performance, blood profiles and breast meat quality in broilers. Livestock Science, 141: 85-89.
- 4- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemist, Virginia, USA.
- 5- Arunachalam, M., M. Mohan Raj., N. Mohan, and A. Mahadevan. 2003. Biodegradation of catechin. Proceedings-Indian National Science Academy Part B, 69: 353-370.
- 6- Bergmeyer, H. U., M. Horder, and R. Rej. 1986a. Approved recommendation IFCC method for the measurement of catalytic concentration of enzymes. IFCC method for alanine aminotransferase. Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry, 24: 481-495.
- 7- Colak, E., M. C. Ustuner, N. Tekin., E. Colak., D. Burukoglu., I. Degirmenci, and H. V. Gunes. 2016. The hepatocurative effects of *Cynara scolymus L.* leaf extract on carbon tetrachloride-induced oxidative stress and hepatic injury in rats. Springer Plus, 5: 1-9.
- 8- Dong, X. F., W. W. Gao., J. M. Tong., H. Q. Jia., R. N. Sa, and Q. Zhang. 2007. Effect of polysavone (alfalfa extract) on abdominal fat deposition and immunity in broiler chickens. Poultry Science, 86: 1955-1959.
- 9- Drotman, R. B, and G. T. Lawhorn. 1978. Serum enzymes as indicators of chemical-induced liver damage. Drug and Chemical Toxicology, 1: 163-171.
- 10- Fani Maki; O., A. Ebrahimzadeh; H. Ansari Nik; M. Ghazaghi. 2013. The effect of herbs on *Thymus vulgaris L* and *Silybum mariauum* on immune system and some blood parameters in broiler chickens. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 7 (2): 1836-1843. (In Persian).
- 11- Fallah, R., A. Kiani, and A. Azarfar. 2013. Effect of artichoke leaves meal and mentha extract (*Mentha piperita*) on immune cells and blood biochemical parameters of broilers. Global Veterinaria, 10 (1): 99-102.
- 12- Fathi M, M. Haydari, and T. Tanha. 2016. Influence of dietary aspirin on growth performance, antioxidant status and mortality due to ascites in broiler chickens. Poultry Science Journal, 4 (2): 139-146.
- 13- Fritsche, J., C. M. Beindorff., M. Dachtler., H. Zhang, and J. G. Lammers. 2002. Isolation, characterization and determination of minor artichoke (*Cynara scolymus L.*) leaf extract compounds. European Food Research and Technology, 215 (2): 149-157.
- 14- Fu X and Z. Liu. 1997. Micro hemagglutination inhibition (HI) test. Page 97 in Handbook of Poultry Diseases Detection, ed. X. Q. Fu and Z.J. L, Ed. China Agriculture University Press, Beijingm, China.
- 15- Garcia-Ruiz, A., B. Bartolom., A. J. Martinez-Rodriguez., E. Pueyo, P. J. Martin-Álvarez, and M. V. Moreno-Arribas. 2008. Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. Food Control, 19: 835-841.
- 16- Jimenez-Escrig, A., L.O. Dragsted, B. Daneshvar, R. Pulido and F. Saura-Calixto. 2003. In vitro antioxidant activities of edible artichoke (*Cynara scolymus L.*) and effect on biomarkers of antioxidants in rats. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51 (18): 5540-5545.
- 17- Kraft, K. 1997. Artichoke leaf extract-recent findings reflecting effects on lipid metabolism, liver and gastrointestinal tracts. Phytomedicine, 4: 369-378.

- 18- Lee, K.W., H. Everts, and A. C. Beynen. 2004. Essential oils in broiler nutrition. *International Journal of Poultry Science*, 3 (12): 738-752.
- 19- Lieber, C. S. 1997. Role of oxidative stress and antioxidant therapy in alcoholic and nonalcoholic liver diseases. *Advance Pharmacology*, 38: 601-628.
- 20- Mau, J. L., C. P. Chen, and P. C. Hsieh. 2001. Antimicrobial effect of extracts from Chinese chive, cinnamon, and corni fructus. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 49 (1):183 -188.
- 21- Moro, M. H., G. W. Beran., L. J. Hoffman, and R. W. Griffith. 1998. Effects of cold stress on the antimicrobial drug resistance of *Escherichia coli* of the intestinal flora of swine. *Letters in Applied Microbiology*, 27 (5): 251-254.
- 22- Najafi, P, and M. Torki. 2010. Performance, blood metabolites and immunocompetence of broiler chicks fed diets included essential oils of medicinal herbs. *Journal of Animal Veterinary Advanced*, 9 (7): 1164-1168.
- 23- Nateghi, R. 2011. Effects of *Cynara scolymus* L. extract on liver histology and blood parameters in broiler chicks. MSc. Thesis of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, 64p. (In Persian).
- 24- Ocak, N., G. Erener, F. Burak., M. Sungu., A. Altop, and A. Ozmen. 2008. Performance of broilers fed diets supplemented with dry peppermint (*Mentha piperita* L) or thyme (*Thymus vulgaris* L) leaves as growth promoter source. *Czech Journal of Animal Science*, 53 (4): 169-175.
- 25- Pecht, G. 1996. "Natural substances" for animal nutrition (II). *Kraftfutter*, 11: 523-526.
- 26- Quinn P. J., M. E. Carter, B. Markey B and G. R. Carter. 1994. *Clinical Veterinary Microbiol.* Wolfe Publishing, London.
- 27- Rahimi, S., Z. Z. Teymourzadeh., T. M. Karimi., R. Omidbaigi, and H. Rokni. 2011. Effect of the three herbal extracts on growth performance, immune system, blood factors and intestinal selected bacterial population in broiler chickens. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13: 527-539.
- 28- Samadi F. and M. Sahneh. 2015. Effects of artichoke (*Cynara scolymus* L) leaf meal and vitamin E on productive performance, intestinal microflora and morphology in Japanese quail, *Journal of Poultry Science*, 3 (1): 87-98.
- 29- Sarawek, S. 2007. Xanthine oxidase inhibition and antioxidant activity of an artichoke leaf extract (*Cynara scolymus* L.) and its compounds. PhD thesis of the University of Florida.
- 30- Saxena, M., J. Saxena., R. Nem., D. Singh, and A. Gupta. 2013. Pharmacognosy of medicinal plants. *Journal of Pharmacogenosy and Phytochemistry*, 1(6): 168-182.
- 31- Schaffer, S., G. P. Eckert, W. E. Muller, R. Llorach, D. Rivera, S. Grande, C. Galli, and F. Visioli. 2004. Hypochlorous acid scavenging properties of local mediterranean plant foods. *Lipids*, 39 (12): 1239-1247.
- 32- Shirzadi, H., F. Shariatmadari., M. A. Karimi Torshizi., S. Rahimi., A. A Masoudi. 1394. Investigation of the effect of extract of dwarf and rattan plants compared to oxytracycline on growth performance, blood biochemical parameters and bacterial immune response in broiler chickens. *Journal of Animal Production*, 17 (1): 160-151. (In Persian)
- 33- Sibald, I.R. 1976. A bioassay for true metabolizable energy in feedstuffs. *Poultry Science*, 55: 303-308.
- 34- Sonkusale, P., A. G. Bhandarker, N. V. Kurkare, K. Ravikanth, S. Maini, and D. Sood. 2011. Hepatoprotective activity of superliv liquid and repchol in CCl4 induced FLKS syndrome in broilers. *International Journal of Poultry Science*, 10 (1): 49-55.
- 35- Stimpel, H., A. Proksch., H.Wagner, and M.L. Lohmann-Matthes. 1984. Macrophage activation and induction of macrophage cytotoxicity by purified polysaccharide fractions from plant *Echinacea purpurea*. *Infection and Immunity*, 46 (3): 845-849.
- 36- Stoev, S. D. 2010. Studies on some feed additives and materials giving partial protection against the suppressive effect of ochratoxin on egg production of laying hens. *Research in Veterinary Science*, 88: 486-491.
- 37- Stoev, S. D., G. Anguelov., I. Ivanov, and D. Pavlov. 2000. Influence of ochratoxin A and an extract of artichoke on the vaccinal immunity and health in broiler chicks. *Experimental Toxicologic Pathology*, 52 (1): 43-55.
- 38- Tajdodini, M., F. Samadi., S. Hashemi., S. Hasani, and A. Ghasemnejad. 2013. Comparing the effects of using artichokes (*Cynara scoolyumus* L.) and vitamin E on yield, weight of organs internal and antibody titer against newcastle vaccine in broiler chickens. *Biomedical Journal of Iranian Medicinal Plants and Herbs Research*, 31(1): 92-101.
- 39- Teymouri Zadeh, Z., S.H. Rahimi., M.A. Karimi Torshizi, and R. Omidbaigi. 2009. The effects of *Thymus vulgaris* L., *Echinacea purpurea*, *allium sativum* L. extracts and virginiamycine antibiotic on intestinal microflorapopulation and immune system in Broilers. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25 (1): 39-48. (In Persian)
- 40- Varmaghany, S., S. Rahimi, M. A. Karimi Torshizi, H. Lotfollahian, and M. Hassanzadeh. 2013. Effect of olive leaves on ascites incidence, hematological parameters and growth performance in broilers reared under standard and cold temperature conditions. *Animal Feed Science and Technology*, 185 (1): 60-69.
- 41- Vidanarachchi, J. K., L. L. Mikkelsen, I. M. Sims, P. A. Iji, and M. Choct. 2006. Selected plant extracts modulate the gut microflora in broilers. Pages 145-148 In *proc. 18th Australian Poultry Science Symposium*, Gold Coast, Australia.

- 42- Wegmann, T, and O. Smithies. 1966. A simple hemagglutination system requiring small amounts of red cells and antibodies. *Transfusion*, 6: 67-75.
- 43- Wenk ,C. 2000. Why all the discussion about herbs? In: Lyons, TP, editor. *Proc. Alltechs 16th Ann. Symp. Biotechnol. In the Feed Industry*. Nicholasville, KY: Alltech Tech. Publ., Nottingham, University Press, 79-96.
- 44- Zhu, X., H. Zhang, and R. Lo. 2004. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (l.) and their antimicrobial activities. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52 (24): 7272-7278.
- 45- Zhao, F. Q., Z. W. Zhang, J P. Qu, H. D Yao, M. Li, S. Li, and S.W. Xu. 2014. Cold stress induces antioxidants and Hsps in chicken immune organs. *Cell Stress and Chaperones*, 19 (5): 635-648.



Effect of *Cynara Scolymus* on Microbial Population, Liver Enzymes and Immune System in Broiler Chickens under Cold Stress Condition

Alinaghi Shokri¹, Saifali Varmaghany^{2*}, Mohammad Akbari Gharaei³, Kamran Taherpour⁴, Ali Khatibjoo⁵, Mehdi Soltani⁶

Received: 14-03-2018

Accepted: 26-05-2019

Introduction: Medicinal plants play an important role in maintaining the health and performance of the poultry during stress. One of the most important medicinal plants is artichoke. Artichoke, the scientific name of *Cynara scolymus* and the Latin name *Artichoks*, is an herb of the chicory family of the oldest medicinal plants. The extract of this plant improves arthrosclerosis and liver damages. This experiment was conducted to investigate the effect of Artichoke medicinal herb on growth performance, microbial population, liver enzymes and immune response in broiler chickens under cold stress condition in a completely randomized design.

Materials and Methods: In this experiment, 400 one day old broiler chicks of Ross 308 were used in a completely randomized design with five treatments, four replicates and 20 chicks in each replicate. Experimental treatments were control (basal diet), antibiotic (basal diet plus 0.0015 percent antibiotic virginiamycin), aspirin (basal diet plus 0.2 percent aspirin powder), 10 and 20 g/Kg artichoke powder. During the experiment (42 days), the chicks had free access to water and feed. The broiler chickens were exposed to a temperature of 32°C at one-day-old, with stepwise reductions to 25 °C, 20 °C and 15 °C on days 7, 14, and 21, respectively. At this point, a temperature of 15 °C was maintained until the end of the experiment. At 21 and 42 days of each experimental unit, two birds were selected and the gastrointestinal tract opened in an aseptic condition adjacent to the flame. Using pre-sterilized aluminum foil pieces, 1 g of ileal contents was removed and added to tubes containing 9 ml of phosphate buffer saline and transferred to the laboratory to determine the population of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *Escherichia coli* (E. coli). The number of bacteria per gram of sample was calculated. At the end of days 21 and 42, the breeding period after two hours of starvation from each experimental unit of 2 birds were randomly selected and 2 ml blood was taken via a wing vein. Serum samples were isolated after blood coagulation and transferred to the micro tube and centrifuged for 10 minutes. The enzymes activity of Alanine Aminotransferase (ALT), Aspartate Aminotransferase (AST) and Alkaline Phosphatase (ALP) were measured. To assay the primary and secondary antibody responses against sheep red blood cell (SRBC), at 16 and 23d of age, 2 birds/replicate were immunized intramuscularly with 0.5 mL 10% SRBC. Blood samples were obtained from the brachial vein at 7d following each injection (days 23 and 30). Antibody titers against Newcastle virus were measured in serum samples by hemagglutination inhibition assay.

Results and Discussion: The results indicated that the population of E. coli was not subjected to experimental diets at 21 days. Lactobacillus population was subjected to experimental rations at 21 days. The effect of experimental diet on *Bifidobacterium* population was significant at 21 days of age. The experimental diets containing antibiotics and aspirin reduced and increased *Bifidobacterium* population respectively. The effect of experimental diets on the population of E. coli was significant at 42 days of age. Both levels of artichoke reduced the population of E. coli by comparison with the control and antibiotic groups. The diet containing aspirin and antibiotics also reduced and increased the E. coli population, as compared to the control group. The effect of experimental diets on Lactobacillus population was significant at 42 days of age. Antibiotic diet lowered the Lactobacillus population compared with other experimental groups. The effect of experimental diet on *bifidobacterium* population was significant at 42 days of age. The diets of 2% of artichokes and antibiotics increased and decreased *bifidobacterium* population respectively. One reported in a study that

1-PhD student Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran
2-Assistant Professor, Animal Science Research Department, Ilam Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization, Ilam, Iran
3-Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran
4-Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran
5-Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran
6-Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran
(*- Corresponding Author Email: s.varmaghany@areeo.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i1.71660

evaluated the phenolic compounds of leaf extract and their antimicrobial activity that the compounds in the plant's extract such as chlorogenic acid, cinnarin, luteolin-7 rhinosinus and sinarocide showed high activity for combat with organisms. Experimental treatments had significant effect on activity of liver enzymes. The treatments 2% artichoke and aspirin were reduced activity ALT at 21 days. The treatment 2% artichoke reduced the amount of AST enzyme compared to control and other experimental diets. The experimental diets had no effect on ALP at 21 days of age. The effect of experimental diets on blood enzymes at 42 days of age was not significant. The result of a study showed that artichoke extract reduced the concentration of AST and ALT in broiler chickens. Kraft (1997) stated that watery extract of artichoke significantly reduced the concentration of AST, ALT and ALP compared to control group. The effect of different diets on the antibody titer against SRBC in 2 stages (23 and 30 days) and Newcastle disease (at 7 days of injection and 7 days after blood donation) was not significant. According to the results of the present study, Rahimi et al. (2011) reported that the antibody produced against RBC of sheep between rations (containing 0.1% garlic and control) in both temperature conditions (normal temperature and cold temperature to create ascites) was not meaningful. The results of this study showed that the diets containing each plant and their interaction did not have a significant effect on the antibody titer against Newcastle disease. Feed intake and body weight were increased and feed conversion rate was decreased in artichoke powder received groups in comparison with other treatment.

Conclusion: Antibiotics are used to prevent bacterial infections and improve the digestive system's health in the poultry diet. In this research, which was carried out under cold conditions, virginiamycin antibiotics not only had no positive effect on the ileum microbial population, but also compared with control treatment reduced beneficial bacteria and increased harmful bacteria. It is concluded that the inclusion of 2 percent of artichoke in broiler diet, under cold stress conditions had positive effect on microbial population, liver enzymes and immune response in comparison with control treatment and antibiotic treatment, therefore it can be recommended.

Key words: Artichokes, Bacterial populations, Broiler chicken, Cold stress, Liver enzymes.



تعیین معادلات رگرسیونی پیش‌بینی مقادیر انرژی قابل متابولیسم ارقام پرتولید جو در ایران و مقایسه نتایج حاصل با نتایج روش NIRS و ارقام مندرج در جداول NRC بر اساس عملکرد جوجه‌های گوشتی نر

احمد ملک زادگان¹، احمد حسن آبادی^{2*}، حسن نصیری مقدم²، حسین مروج³، حیدر زرقی⁴

تاریخ دریافت: 1397/06/19

تاریخ پذیرش: 1398/03/20

چکیده

به منظور تعیین معادلات رگرسیونی پیش‌بینی مقادیر انرژی قابل متابولیسم در ارقام پرتولید جو ایرانی و مقایسه این معادلات با نتایج روش NIRS و ارقام مندرج در جداول (NRC (1994)، سه آزمایش انجام شد. در آزمایش اول ترکیبات شیمیایی 10 رقم جو پرتولید ایرانی تعیین گردید. در آزمایش دوم، انرژی قابل متابولیسم به روش جمع‌آوری فضولات و با استفاده از نشانگر برای ارقام جو پرتولید ایرانی با جایگزینی 40 درصد جو در جیره پایه در سنین 10 و 24 روزگی جوجه‌های گوشتی نر به دست آمد. داده‌های حاصل از این دو آزمایش جهت تعیین معادلات پیش‌بینی مقدار انرژی قابل متابولیسم با استفاده از نرم‌افزار SPSS و رویه Enter مورد استفاده قرار گرفتند. معادلات پیش‌بینی میزان AMEn برای ارقام جو پرتولید ایرانی در سنین 10 و 24 روزگی به ترتیب به صورت $AME_n = 407.87 \times EE + 27.27 \times NFE$ و $AME_n = 271 \times EE + 33 \times NFE$ به دست آمد. جهت بررسی صحت و دقت معادلات به دست آمده، آزمایش سوم با استفاده از 400 قطعه جوجه نر سویه راس 308 در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار و 20 جوجه در هر تکرار انجام شد. AME_n جو مورد استفاده در آزمایش سوم با استفاده از پنج روش زیر مشخص شد: 1- جدول (NRC (1994) 2- معادله رگرسیون (NRC (1994) 3- روش بیولوژی 4- معادلات رگرسیون به دست آمده از آزمایش دوم 5- با توجه به معادلات رگرسیون به دست آمده از روش NIRS. در تعیین AME_n جو، نزدیک‌ترین مقادیر به آزمایش بیولوژیکی از معادلات به دست آمده در آزمایش دوم حاصل شد که نشان‌دهنده صحت بالای این معادلات می‌باشد. به طور کلی بر اساس نتایج حاصل از آزمایش حاضر، استفاده از معادلات پیش‌بینی جهت برآورد دقیق‌تر AME_n جو در هنگام جیره‌نویسی پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: انرژی قابل متابولیسم، جو، جوجه گوشتی، معادلات رگرسیونی پیش‌بینی

مقدمه

مصرف را نسبت به سایر غلات در جیره طیور دارد، ولی به علت تولید ناکافی آن در داخل کشور، وابستگی شدیدی به واردات آن وجود دارد و با توجه به تأثیرپذیری از نوسانات قیمتی در دنیا، صنعت پرورش طیور داخلی با مشکلات عدیده اقتصادی روبرو می‌شود. بنابراین، یافتن جایگزینی مناسب برای ذرت ضروری به نظر می‌رسد. از جمله غلاتی که قابلیت جایگزینی ذرت را دارند، می‌توان به گندم، چاودار، تریتیکاله و جو اشاره کرد. در این بین، جو به علت تولید مناسب در کشور که طبق آمار وزارت کشاورزی حدود چهار میلیون تن می‌رسد و نیز تناسب اقلیمی کشور برای کاشت آن، می‌تواند با اتخاذ نکات مدیریتی و پرورشی جایگزین تقریباً مناسبی برای ذرت باشد. ارقام متنوعی از جو مانند بهمن‌همدان، والفجر، دشت، گرگان 8، بهمن‌کرج، پاکوتاه، کارون‌درکوب و ریحانی در ایران کشت می‌شود. ترکیبات دانه جو در مقایسه با سایر غلات دارای گوناگونی بیشتری

در بین اقلام خوراکی مورد استفاده در تغذیه طیور، غلات منبع اصلی تأمین‌کننده انرژی قابل متابولیسم در جیره به شمار می‌روند و با توجه به سطح انرژی مورد نیاز در جیره، سهم قابل ملاحظه‌ای از خوراک طیور را به خود اختصاص می‌دهند. در این بین، ذرت بالاترین

- 1- دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
 - 2- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
 - 3- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
 - 4- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
- (*)- ایمیل نویسنده مسئول: hassanabadi@um.ac.ir

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.75305

پیشنهاد کرده است که ضریب تبیین و معنی داری بالایی دارد (14).
 $AMEn = 34.92 CP + 63.1 EE + 36.42 NFE \quad R^2 = 0.87$
 $(P < 0.01)$

در عین حال، باید توجه داشت که این معادلات رگرسیونی مربوط به تحقیقات گوناگون انجام شده در سالیان پیش و مربوط به مناطقی با شرایط آب و هوایی متفاوت با ایران و بدون هیچ گونه فرآوری بر روی مواد خوراکی می باشد. از آنجا که روش استفاده از معادلات پیش بینی نسبت به سایر روش های فوق، عملیاتی تر و کم هزینه تر می باشد، می تواند جایگزین روش استفاده از جدول های ترکیب انرژی اقلام خوراکی گردد. بنابراین، لازم است این معادلات بر روی ارقام جو پر تولید در ایران تعیین گردند. با استفاده از این معادلات می توان جیره ها را با دقت بیشتری در مقایسه با استفاده از اعداد جداول مواد خوراکی تنظیم کرد.

با توجه به مطالبی که در بالا بیان شد، آزمایشی طراحی گردید که در آن ترکیبات شیمیایی ارقام جو پر تولید در ایران اندازه گیری - شود، همچنین معادلات رگرسیونی پیش بینی مقادیر انرژی قابل متابولیسم آنها تعیین شوند و در نهایت نتایج معادلات مورد آزمون قرار گیرد.

مواد و روش ها

آزمایش اول

تمام آزمایش ها در سال 1394 در دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران واقع در کرج انجام پذیرفت. برای اجرای این آزمایش تعداد ده رقم جو پرمصرف ایرانی با نام های بهمن همدان، والفجر، دشت، گرگان 8، بهمن کرج، پاکوتاه، ریحانی، کارون درکوبر، ارس و فجر 30 تهیه و ترکیبات شیمیایی آنها تعیین گردید. برای تعیین ترکیبات شیمیایی شامل ماده خشک، پروتئین خام، فیبر خام، خاکستر خام و عصاره اتری و نیز الیاف محلول در شوینده خنثی و اسیدی با استفاده از روش های اشاره شده در AOAC (2006) (3) عمل گردید و عصاره عاری از نیتروژن به روش محاسباتی طبق فرمول $NFE = DM - (CF + CP + EE + Ash)$ برآورد شد (11). همچنین محتوی ناشسته دانه ها با استفاده از روش رز و همکاران (16) تعیین گردید.

محتوی انرژی خام هر یک از جیره های آزمایشی، خوراک پایه و فضولات با استفاده از بمب کالری متری و درصد اکسیدکروم در خوراک و فضولات با استفاده از روش ویلیام و همکاران (20) تعیین شد. مقدار نیتروژن نمونه های خوراک و فضولات با استفاده از دستگاه کجلال دیجیتال اتوماتیک² (ساخت کشور سوئد) تعیین شد. مقدار الیاف خام، الیاف محلول در شوینده اسیدی و نیز الیاف محلول در شوینده خنثی با استفاده از دستگاه آنکوم³ اندازه گیری گردیدند.

می باشد و ارقام مختلف آن، از نظر مواد مغذی تفاوت چشم گیری با یکدیگر دارند. جروج و دانیک (9) و اسوایهوس و همکاران (19) گزارش نموده اند که مواد مغذی موجود در ارقام مختلف جو از تنوع زیادی برخوردار است. از آنجا که تنظیم مقدار انرژی جیره بر مصرف خوراک جوجه ها و بازده تولید نقش به سزایی دارد، تعیین محتوی انرژی قابل متابولیسم دانه جو که با میزان انرژی جیره و در نهایت با تعادل مواد مغذی در ارتباط هست، از اهمیت خاصی برخوردار می باشد.

به منظور اطمینان از تنظیم جیره ای متعادل، لازم است علاوه بر سایر مواد مغذی، مقدار انرژی قابل متابولیسم موجود در اجزای خوراک نیز به طور دقیق مشخص گردد. برای تعیین و اطلاع از مقدار انرژی قابل متابولیسم موجود در اقلام خوراکی چندین روش مانند روش های بیولوژیکی (روش سیبالد و روش استفاده از نشانگر)، استفاده از جداول مواد مغذی اقلام خوراک (جداول NRC، FEEDSTUFF و...)، استفاده از دستگاه NIRS و استفاده از فرمول های پیش بینی حاصل از معادلات رگرسیونی چند متغیره وجود دارد. اما باید توجه داشت که مقادیر ذکر شده در این جداول، میانگینی از داده های به دست آمده از تحقیقات گوناگون انجام شده در سالیان پیش و مناطق آب و هوایی متفاوت با ایران می باشد. بسیاری از محققان معتقدند که مقادیر مواد مغذی انواع مواد خوراکی موجود در جداول عمومی، به علت متنوع بودن واریته های اقلام، بسیار متغیر و غیرواقعی است و به علت متغیر بودن انرژی اقلام خوراکی، کارخانجات تولید کننده خوراک نباید به این گونه جداول استناد کنند. همچنین، روش های بیولوژیکی مانند روش جمع آوری کل فضولات و روش استفاده از نشانگر، زمان بر و پرهزینه هستند و با دشواری می توان آن ها را مورد استفاده قرار داد (22).

یکی از روش های دیگر جهت برآورد انرژی قابل متابولیسم خوراک ها، استفاده از معادلات رگرسیونی است که در منابع مختلف علمی از جمله NRC (1994) (14) تعدادی از آنها ارائه شده است و توسط برخی از پژوهشگران مانند ناسیمتو و همکاران (12)، سیلوا و همکاران (18)، الوارنگا و همکاران (2) در جوجه های گوشتی مورد مطالعه قرار گرفته است. همچنین، یگانی و همکاران (23) معادلات پیش بینی¹ رگرسیونی جهت تعیین انرژی قابل متابولیسم برای هشت رقم گندم را به صورت زیر ارائه کردند:

$$AMEn \text{ (kcal/kg of DM)} = 9.9237 + 0.2154 \times CP$$

جانمحمدی و همکاران (8) نیز معادله پیش بینی زیر را برای پنج رقم جو موجود در منطقه آذربایجان جهت تعیین انرژی قابل متابولیسم به دست آوردند:

$$AMEn \text{ (kcal/kg of DM)} = 5.9422 - 9.2499 \text{ Ash}$$

انجمن تحقیقات ملی آمریکا (1994) معادله زیر را جهت پیش بینی انرژی قابل سوخت و ساز گندم بر اساس ماده خشک

2-Kejeltec Auto Analyzer 1030 Tecator

3- ANKOM fiber analyzer (ANKOM Technology, Fairport, New York)

1- Prediction equations

آزمایش دوم

این آزمایش جهت اندازه‌گیری انرژی قابل متابولیسم ارقام مختلف جو در آزمایشی با استفاده از جوجه‌های گوشتی سویه راس - 308 در سنین 10 و 24 روزگی در دو آزمایش مجزا در قفس‌های پرورشی انجام شد. این آزمایش‌ها با استفاده از نشانگر اکسید کروم، جیره پایه و فضولات جمع‌آوری شده صورت پذیرفت. در این آزمایش برای اندازه‌گیری انرژی قابل متابولیسم ارقام مختلف جو در سن 10 روزگی از 88 و در سن 24 روزگی از 44 قطعه جوجه خروس گوشتی سویه راس - 308 استفاده شد. در سن 10 روزگی برای هر تیمار 8 و در 24 روزگی 4 تکرار در نظر گرفته شد. جیره‌های آزمایشی برای هر سن شامل یازده جیره بودند که یک جیره

پایه و ده جیره آزمایشی را شامل می‌شد که به جیره پایه مقدار 40 درصد از هر رقم جو آسیاب شده اضافه شد. در واقع، ابتدا جیره‌های مرجع بدون نمونه‌های آزمایشی بر اساس راهنمای تغذیه‌ای دوره آغازین سویه راس - 308 تنظیم گردیدند (4) و پس از آن، جیره‌های آزمایشی به نسبت 60 به 40 از جیره مرجع با 10 نمونه آزمایشی مخلوط و از اکسید کروم به میزان نیم درصد به عنوان نشانگر استفاده شد (17). تمام جیره‌ها به شکل آردی و به طور آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار گرفتند. درجه حرارت، رطوبت، روشنایی و آب مصرفی برای کلیه جوجه‌ها یکسان و مطابق شرایط استاندارد پرورش سویه راس - 308 بود (4). در جدول شماره یک جیره پایه برای سنین 10 و 24 روزگی ارائه گردیده است.

جدول 1- اجزای جیره‌های غذایی پایه در سنین 10 و 24 روزگی

Table 1- Ingredients of basal diets used in the 10 and 24 days

مواد خوراکی (درصد) Ingredients (%)	10 روزگی 10 days	24 روزگی 24 days
ذرت Corn	56.52	59.01
کنجاله سویا 44% Soybean meal (44% CP)	37.01	34.05
روغن آفتابگردان Sunflower oil	2.26	3.00
دی‌کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.79	1.55
کربنات کلسیم Calcium carbonate	0.80	1.09
نمک طعام Common salt	0.30	0.30
جوش شیرین Sodium bicarbonate	0.05	0.05
مکمل ویتامینه ¹ Vitamin premix ¹	0.25	0.25
مکمل مواد معدنی ² Mineral premix ²	0.25	0.25
دی ال-متیونین DL- Methionine	0.36	0.26
ال-لیزین هیدروکلرید L-Lysine HCl	0.31	0.15
ال-ترئونین L-Threonine	0.10	0.04

¹ پیش مخلوط ویتامینی در هر کیلوگرم جیره 11000 واحد بین‌المللی ویتامین A، 1800 واحد بین‌المللی ویتامین D، 11 میلی‌گرم ویتامین A، 2 میلی‌گرم ویتامین K₃، 5/7 میلی‌گرم ویتامین B₂، 2 میلی‌گرم ویتامین B₆، 0/024 میلی‌گرم ویتامین B₁₂، 28 میلی‌گرم اسید نیکوتینیک، 0/5 میلی‌گرم اسید فولیک، 12 میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، 250 میلی‌گرم کولین کلراید را تأمین می‌کرد.

² پیش مخلوط معدنی در هر کیلوگرم جیره 100 میلی‌گرم منگنز، 65 میلی‌گرم روی، 5 میلی‌گرم مس، 0/22 میلی‌گرم سلنیوم، 0/5 میلی‌گرم ید و 0/5 میلی‌گرم کبالت را تأمین می‌کرد.

¹Vitamin premix provided per kilogram of diet: retinyl acetate, 11,000 IU; cholecalciferol, 1,800 IU; DL- α -tocopheryl acetate, 11 mg; menadione sodium bisulphate, 2 mg; riboflavin, 5.7 mg; pyridoxine hydrochloride, 2 mg; cyanocobalamin, 0.024 mg; nicotinic acid, 28 mg; folic acid, 0.5 mg; pantothenic acid, 12 mg; choline chloride, 250 mg.

²Mineral premix provided per kilogram of diet: Mn, 100 mg; Zn, 65 mg; Cu, 5 mg; Se, 0.22 mg; I, 0.5 mg; and Co, 0.5 mg.

از معادله ذیل محاسبه گردید.

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum (Y - \bar{Y})^2}{N}}$$

که در این معادله SEP = خطای استاندارد پیش‌بینی، Y = میانگین انرژی قابل متابولیسم به دست آمده به روش بیولوژی هر رقم، Y' = انرژی پیش‌بینی شده با استفاده از مدل برای هر رقم، N = تعداد ارقام است.

آزمایش سوم

در آزمایش سوم کارایی و صحت و دقت معادلات بیولوژیکی به دست آمده از آزمایش دوم مورد بررسی عملیاتی قرار گرفتند. در این آزمایش تعداد 400 قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس-308 در سن 25-44 روزگی استفاده گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 5 تیمار، چهار تکرار و 20 قطعه جوجه در هر تکرار صورت پذیرفت. از رقم پرمحصول زرجو که دارای مقاومت بالا، تولید قابل توجه و میزان پروتئین خام و انرژی قابل متابولیسم مناسبی است، در این آزمایش استفاده شد. رقم زرجو جزو ارقام مورد بررسی در آزمایش‌های اول و دوم نبود ولی جهت تأیید همخوانی خروجی معادلات به دست آمده، انتخاب شد و مورد استفاده قرار گرفت. در ابتدای این آزمایش با توجه به اینکه جو مورد ارزیابی برای کشت سال بعد از آزمایش اول و دوم بود و از سطح یک مزرعه در استان قم جمع‌آوری گردیده بود، انرژی قابل متابولیسم آن به روش جمع‌آوری مدفوع اندازه‌گیری گردید. همچنین جهت به دست آوردن انرژی قابل متابولیسم بر اساس معادله رگرسیون (1994) NRC و نیز معادلات به دست آمده از آزمایش دوم ترکیب شیمیایی زرجو مورد آنالیز قرار گرفت و پس از به دست آمدن ترکیبات شیمیایی، عدد انرژی قابل متابولیسم بر اساس فرمول‌ها تعیین گردید. میزان انرژی قابل متابولیسم جو موجود در تیمارهای آزمایش سوم با استفاده از پنج روش زیر و برحسب هوا خشک³ در نظر گرفته شد: 1- جدول (1994) NRC (Kcal/kg) 2640-2 معادله رگرسیون (1994) NRC (Kcal/kg) 2965-3 روش بیولوژی (2814 Kcal/kg) 4- معادلات رگرسیون به دست آمده از آزمایش دوم (2775 Kcal/kg) 5- با توجه به معادلات رگرسیون به دست آمده از روش NIRS (2420 Kcal/kg). در این آزمایش شاخص‌های عملکردی مانند افزایش وزن روزانه، خوراک مصرفی روزانه و ضریب تبدیل غذایی مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به اینکه در سنین پایین امکان استفاده از میزان قابل توجهی جو در جیره وجود ندارد تا بتوان بر اساس آن ارزیابی دقیقی صورت داد، لذا بررسی صحت معادلات از سن 24 روزگی آغاز گردید. جوجه‌ها از سن 1 تا 24 روزگی و در دوره آزمایش (25-44 روزگی) بر اساس

اندازه‌گیری انرژی قابل متابولیسم

غلظت اکسیدکروم در خوراک و فضولات با استفاده از روش ویلیام و همکاران (20) تعیین گردید. انرژی خام نمونه‌های خوراک و فضولات با استفاده از بمب کالریمتر¹ اندازه‌گیری شد. سپس مقدار انرژی قابل متابولیسم ظاهری (AME) و انرژی قابل متابولیسم ظاهری تصحیح شده برای نیتروژن (AMEn) جیره‌ها با استفاده از روابط 1 و 2 محاسبه شدند (5):

$$AME = GE \text{ Diet} - GE \text{ Excreta} * (Cr2O3 \text{ Diet} / Cr2O3 \text{ Excreta}) \quad (1)$$

$$AMEn = AME - 8.73 * [N \text{ Diet} - (Cr2O3 \text{ Diet} / Cr2O3 \text{ Excreta}) * N \text{ Excreta}] \quad (2)$$

GE Diet: انرژی خام در هر گرم خوراک

GE Excreta: انرژی خام در هر گرم فضولات

Cr₂O₃ Diet: غلظت نشانگر در هر گرم خوراک

Cr₂O₃ Excreta: غلظت نشانگر در هر گرم فضولات

N Diet: غلظت نیتروژن در هر گرم خوراک

N Excreta: غلظت نیتروژن در هر گرم فضولات

پس از تعیین انرژی قابل متابولیسم ظاهری برای کل جیره، مقادیر انرژی قابل متابولیسم 11 رقم جو در دو سن 10 و 24 روزگی با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

جیره (AMEn) - جیره مرجع AMEn = رقم آزمایشی AMEn
[سطح جایگزینی / (جیره آزمایشی AMEn - مرجع

جیره (AMEn) - جیره مرجع AMEn = رقم آزمایشی AMEn
[سطح جایگزینی / (جیره آزمایشی AMEn - مرجع

آنالیزهای آماری

برای مقایسه میانگین ترکیبات شیمیایی ارقام جو مورد مطالعه در این تحقیق با میانگین ارائه شده در جداول مرجع از نرم‌افزار آماری SPSS Version 17 از رویه MEANS و روش تی-تست با یک نمونه استفاده شد. به منظور برآورد معادلات از نرم‌افزار SPSS گزینه-Regression و رویه Enter استفاده شد. که در این رویه AMEn به عنوان متغیر وابسته و تمامی اجزای تجزیه تقریبی به عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شدند. جهت مقایسه انرژی‌های قابل متابولیسم پیش‌بینی شده ارقام مختلف جو در بین مدل‌های مختلف و همچنین مقایسه با مقادیر اندازه‌گیری شده به روش بیولوژی از رویه MEANS و از روش تی-تست جفت شده استفاده شد (7). جهت مقایسه دقیق‌تر مدل‌های مختلف به دست آمده از این تحقیق از خطای استاندارد پیش‌بینی² (SEP) استفاده گردید. خطای استاندارد پیش‌بینی با استفاده

1-IKAC-400 adiabatic calorimeter (IKA-nalysentechnik GMBH, Heitersheim, Germany)

2-Standard Error of Prediction

3- As fed

توصیه دفترچه راهنمای سویه راس-308 مورد تغذیه قرار گرفتند (4). جدول شماره دو گزارش شده است.
اجزا و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در آزمایش سوم در

جدول 2- ترکیب و غلظت مواد مغذی جیره‌های مورد استفاده در آزمایش سوم (25-44 روزگی)
Table 2- Composition and nutrients concentration of diets used in the third experiment (25-44 d)

مواد خوراکی (درصد) Ingredients (%)	روش تعیین AMEn Method of AMEn determination				NIRs
	جدول NRC NRC recommendation	معادله NRC NRC Equation	خروجی مستقیم روش	خروجی معادله به دست	
			بیولوژی Direct bio-assay output	آمده Output of the developed equation	
جو Barley	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00
ذرت Corn	32.29	34.90	33.67	33.40	28.08
کنجاله سویا 44% Soybean meal (44% CP)	26.26	25.70	25.98	26.00	28.50
روغن آفتابگردان Sunflower oil	2.65	5.60	1.53	1.74	4.66
دی‌کلسیم فسفات Dicalcuim phosphate	1.54	1.54	1.54	1.54	1.53
کربنات کلسیم Calcium carbonate	0.91	0.91	0.91	0.91	0.90
نمک طعام Common salt	0.31	0.31	0.31	0.31	0.32
جوش شیرین Sodium Bicarbonate	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
مکمل ویتامینه ¹ Vitamin premix ¹	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل مواد معدنی ² Mineral premix ²	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
دی ال- متیونین DL-Methionine	0.25	0.25	0.25	0.25	0.26
ال- لیزین هیدروکلرید L-Lysine HCl	0.19	0.20	0.20	0.19	0.15
ال- ترئونین L-Threonine	0.06	0.06	0.06	0.06	0.04
ترکیبات شیمیایی جیره‌ها Chemical composition					
AME _n (کیلوکالری بر کیلوگرم) (kcal kg ⁻¹)	2850	2850	2850	2850	2850
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	19.00	19.00	19.00	19.00	19.00
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85
فسفر قابل دسترس (درصد) Available Phosphorus (%)	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42
سدیم (درصد) Sodium (%)	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
متیونین + سیستین (درصد) Methionine+ Cystine (%)	1.09	1.09	1.09	1.09	1.09

لیزین (درصد) Lysine (%)	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86
ترئونین (درصد) Threonine (%)	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74
فیبر خام Crude fiber	3.94	3.97	3.96	3.95	4.01

1- پیش مخلوط ویتامینی در هر کیلوگرم از جیره مواد مغذی زیر را تأمین می‌کرد: 11000 واحد بین‌المللی ویتامین A، 1800 واحد بین‌المللی ویتامین D، 11 میلی‌گرم ویتامین A، 2 میلی‌گرم ویتامین K₃، 5/7 میلی‌گرم ویتامین B₂، 2 میلی‌گرم ویتامین B₆، 0/024 میلی‌گرم ویتامین B₁₂، 28 میلی‌گرم اسید نیکوتینیک، 0/5 میلی‌گرم اسید فولیک، 12 میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، 250 میلی‌گرم کلین کلراید
²پیش مخلوط معدنی در هر کیلوگرم از جیره مواد مغذی زیر را تأمین می‌کرد: 100 میلی‌گرم منگنز، 65 میلی‌گرم روی، 5 میلی‌گرم مس، 0/22 میلی‌گرم سلنیوم، 0/5 میلی‌گرم ید و 0/5 میلی‌گرم کبالت

1-Vitamin premix provided per kilogram of diet: retinyl acetate, 11,000 IU; cholecalciferol, 1,800 IU; DL- α -tocopheryl acetate, 11 mg; menadione sodium bisulphate, 2 mg; riboflavin, 5.7 mg; pyridoxine hydrochloride, 2 mg; cyanocobalamin, 0.024 mg; nicotinic acid, 28 mg; folic acid, 0.5 mg; pantothenic acid, 12 mg; choline chloride, 250 mg.

2-Mineral premix provided per kilogram of diet: Mn, 100 mg; Zn, 65 mg; Cu, 5 mg; Se, 0.22 mg; I, 0.5 mg; and Co, 0.5 mg.

جدول 3- آنالیز تقریبی (%) و انرژی قابل متابولیسم (کیلوگرم/کیلوکالری) ارقام جو (بر اساس ماده خشک)

Table 3- Proximate analysis (%) and metabolizable energy (Kcal/kg) content of barley varieties (dry matter basis)

نام رقم Item	ماده خشک Dry matter	خاکستر خام Crude Ash	فیبر خام Crude fiber	فیبر نامحلول در شوینده اسیدی Insoluble fiber in acid detergent	فیبر نامحلول در شوینده خنثی Insoluble fiber in neutral detergent	پروتئین خام Crude protein	چربی خام Crude fat	نشاسته Starch	NFE ¹	AMEn 10 روزگی 10-d- AMEn	AMEn 24 روزگی 24-d- AMEn
بهمن همدان Bahman Hamedan	92.00	3.37	3.04	5.33	21.63	12.30	2.39	67.17	70.89	2658	2752
والفجر Valfajr	94.90	4.11	3.27	6.01	20.33	10.59	2.42	49.35	74.15	3111	3141
دشت Dasht	93.40	2.78	2.78	4.93	19.91	12.73	1.82	55.53	73.28	2280	2701
گران 4 Gorgan 4	93.60	2.56	1.92	3.21	21.90	11.39	2.03	57.11	75.69	3245	3244
بهمن کرج Bahman Karaj	93.20	3.43	2.36	4.40	19.64	10.45	2.25	50.45	74.71	2411	2530
پاکوتاه Pakootah	93.80	2.77	1.92	3.37	19.72	7.57	1.81	58.10	79.73	2400	2939
ریحانی Reyhani	92.40	2.81	2.06	3.14	18.72	12.31	2.49	52.04	72.74	2948	3264
کارون در کویر Karooin in kavir	94.10	3.72	2.55	4.04	19.66	12.36	2.55	47.97	72.92	3131	3337
ارس Aras	92.40	3.03	1.84	3.68	21.86	12.38	2.16	59.36	72.98	2964	3130
فجر 30 Fajr 30	92.60	2.81	2.70	4.54	24.95	10.16	2.38	55.74	74.56	2896	3020
میانگین Mean	93.24	3.14	2.44	3.40	20.8	11.26	2.23	55.3	74.16	2804.4	3005.8
ضریب تغییرات Coefficient of variation	0.96	15.9	20.6	21.5	8.7	14	12	10.3	3.18	12.26	8.9

¹ عصاره عاری از نیتروژن

¹Nitrogen free Extract

نتایج و بحث

نتایج تجزیه شیمیایی و نیز داده‌های مربوط به انرژی قابل متابولیسم بر اساس ماده خشک در آزمایش‌های اول و دوم در جدول شماره سه گزارش شده است.

حداکثر و حداقل درصد ماده خشک در این آزمایش به ترتیب در ارقام والفجر (94/90 درصد) و بهمن همدان (92/00 درصد) با ضریب تغییرات 0/96 درصد مشاهده شد. همچنین حداکثر و حداقل درصد خاکستر خام به ترتیب در ارقام والفجر (4/11 درصد) و گرگان 4 (2/56 درصد) با ضریب تغییرات 15/9 درصد بود. بیشترین و کمترین میزان فیبر خام نیز به ترتیب در ارقام والفجر (3/27 درصد) و ارس (1/84 درصد) با ضریب تغییرات 20/6 درصد مشاهده گردید. فیبر نامحلول در شوینده اسیدی به ترتیب در ارقام والفجر (6/01 درصد) و ریحانی (3/14 درصد) با ضریب تغییرات 21/5 درصد دارای بیشترین و کمترین میزان بودند. حداکثر و حداقل فیبر نامحلول در شوینده خنثی به ترتیب مربوط به ارقام فجر 30 (24/95 درصد) و ریحانی (17/72 درصد) با ضریب تغییرات 8/7 درصد بود.

بیشترین و کمترین میزان پروتئین خام نیز به ترتیب در ارقام دشت (12/73 درصد) و پاکوتاه (7/57 درصد) با ضریب تغییرات 14 درصد مشاهده گردید. همچنین حداکثر و حداقل چربی خام در ارقام مختلف به ترتیب مربوط به ارقام کارون در کویر (2/55 درصد) و پاکوتاه (1/81 درصد) با ضریب تغییرات 12 درصد بود. بیشترین و کمترین میزان نشاسته نیز در ارقام بهمن همدان (67/17 درصد) و کارون در کویر (47/97 درصد) با ضریب تغییرات 10/3 درصد مشاهده شد. حداکثر و حداقل عصاره عاری از نیتروژن نیز به ترتیب مربوط به ارقام پاکوتاه (79/73 درصد) و بهمن همدان (70/89 درصد) با ضریب تغییرات 3/18 درصد بود.

نتایج به دست آمده در آزمایش دوم نشان داد که در بین ارقام مختلف جو در سن 10 روزگی به ترتیب ارقام گرگان 4 (3245 کیلوکالری) دارای بیشترین مقدار انرژی قابل متابولیسم و رقم دشت (2280 کیلوکالری) دارای کمترین مقدار انرژی قابل متابولیسم با ضریب تغییرات 12/26 درصد بود. همچنین میانگین انرژی قابل متابولیسم در بین ارقام مختلف جو در این سن 2804 کیلوکالری بود. حداکثر و حداقل مقدار انرژی قابل متابولیسم در بین ارقام مختلف جو در سن 24 روزگی به ترتیب در ارقام کارون در کویر (3337 کیلوکالری) و دشت (2701 کیلوکالری) با ضریب تغییرات 8/9 درصد با میانگین 3005 کیلوکالری در کیلوگرم مشاهده شد.

همان‌طور که در جدول شماره دو مشاهده می‌گردد، نتایج مربوط به تجزیه شیمیایی و همچنین انرژی قابل متابولیسم در بین ارقام مختلف جو کاملاً متفاوت است. تفاوت‌هایی که در تجزیه شیمیایی و

انرژی اقلام مختلف جو مشاهده گردید، احتمالاً به دلیل تفاوت در ژنوتیپ و عوامل مرتبط با محیط (محیط کشت و شرایط آب و هوایی) می‌باشد که در مطالعات هالتک جولن و همکاران (6) و رابینز و همکاران (15) نیز به آن اشاره شده است. نوع کشت و دو یا شش ردیفه بودن خوشه جو در میزان ترکیبات آن بسیار موثر است. همچنین کوددهی زمین با کودهای نیتروژن دار باعث افزایش میزان پروتئین خام جو می‌شود (10). دو ردیفه نسبت به شش ردیفه بودن باعث افت کیفی جو می‌شود که در این آزمایش ارقام بهمن که دو ردیفه هستند، عملکرد پایین‌تری نسبت به ارقام دیگر که شش ردیفه هستند، نشان داد. در جدول شماره دو میزان انرژی قابل متابولیسم و ترکیب شیمیایی آنها ارائه گردیده است که نسبت به ارقام دیگر ضعیف‌تر می‌باشد (10).

نصیری مقدم و همکاران (13) انرژی قابل متابولیسم ارقام جو کشت شده در منطقه خراسان رضوی را با استفاده از خروس‌های گوشتی در سن 18 تا 28 روزگی با روش استفاده از نشانگر در فضولات مورد بررسی قرار دادند و مقادیر انرژی قابل متابولیسم ارقام ریحانی و والفجر را به ترتیب 2973 و 2939 کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک گزارش کردند. اکبری و همکاران (1) انرژی قابل متابولیسم ارقام ریحانی، ارس، والفجر و دشت را به ترتیب 2939، 3087، 3087 و 2041 کیلوکالری در کیلوگرم گزارش کردند و میانگین ارقام انرژی جو مورد آزمایش را 2814 کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک گزارش کردند.

در جدول شماره 4 میانگین ترکیب شیمیایی و انرژی قابل متابولیسم ارقام جو موجود در تحقیق حاضر با نتایج ارائه شده در (1994) NRC و Feed Stuff 2014 مقایسه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌گردد نتایج تجزیه شیمیایی و انرژی قابل متابولیسم ارقام جو ایرانی با مقادیر ارائه شده در جداول (1994) NRC و 2014 Feed Stuff متفاوت است و نیاز به بررسی دقیق ارقام جوهای ایرانی را آشکار می‌سازد.

جزئیات معادلات رگرسیونی پیش‌بینی انرژی قابل متابولیسم به دست آمده برای ارقام مختلف جو در این آزمایش در جدول شماره 4 نشان داده شده است. در این معادلات از عوامل چربی خام و عصاره عاری از نیتروژن برای پیش‌بینی معادلات استفاده شده است که هم معادلات و هم ضریب تبیین از معنی‌داری بالایی برخوردار بودند.

مقایسه انرژی قابل متابولیسم نتایج حاصل از روش بیولوژیکی با معادلات به دست آمده در این آزمایش و معادله پیش‌بینی (1994) NRC در جدول شماره 5 گزارش شده است. همان‌طور که در جدول 6 مشاهده می‌گردد، نتایج به دست آمده از معادله پیش‌بینی (1994) NRC با نتایج بیولوژی همخوانی ندارد و انرژی قابل متابولیسم را بیش از حد انتظار گزارش می‌کند.

جدول 4- مقایسه میانگین ترکیب شیمیایی (%) و انرژی قابل متابولیسم (کیلوگرم/کیلوکالری) ارقام جو موجود در تحقیق حاضر با مقادیر ارائه شده در (1994) NRC و (2014) FeedStuff

Table 4- Comparison mean of the proximate analyses (%) and metabolizable energy (Kcal/kg) contents of the barley varieties used in the present study with the amounts recommended by NRC (1994) and FeedStuff (2014)

		ماده خشک Dry matter	خاکستر Ash	الیاف خام Crude fiber	پروتئین خام Crude protein	چربی خام Crude fat	عصاره عاری از نیتروژن Nitrogen-free extract	AMEn 10 روزگی-10 d-AMEn	AMEn 24 روزگی 24-d-AMEn
تحقیق حاضر Present Research	میانگین Mean	93.24	3.14	2.44	11.26	2.23	74.17	2804	3006
NRC 1994	میانگین Mean	89	-	6.18	12.36	2.02	-	2966	2966
	p-value	<0.0001	-	<0.0001	0.0549	0.0348	-	0.1714	0.6520
	مقدار t t- value	14.86	-	-23.39	-2.20	2.48	-	-1.49	0.47
FeedStuff 2014	میانگین Mean	89	2.81	5.62	12.92	2.13	65.52	3090	3090
	p-value	<0.0001	0.0670	<0.0001	0.0088	1.18	0.0001	0.0275	0.3495
	مقدار t t- value	14.86	2.08	-19.89	-3.33	0.2674	11.57	-2.63	-0.99

جدول 5- معادله‌های پیش‌بینی انرژی قابل متابولیسم (کیلوگرم/کیلوکالری) بسط داده شده برای ارقام مختلف جو با استفاده از جوجه‌های گوشتی 10 و 24 روزگی

Table 5- Metabolizable energy (Kcal/kg) prediction equations developed for different barley varieties using 10 and 24-d-old broiler chickens.

سن Age	عوامل Factors	مدل تابعیت Regression equation	R ²
10 روزگی 10 day	NFE,EE	AMEn=27.27NFE+407.87EE	97.80
24 روزگی 24 day	NFE,EE	AMEn =33NFE+271EE	97.10

نزدیکی انرژی‌های قابل متابولیسم واقعی آنها است. در واقع جهت انجام این آزمایش انرژی تمام جیره‌ها 2850 کیلوکالری در کیلوگرم در نظر گرفته شد ولی ارقام واقعی آنها به ترتیب برای عدد NRC 2934، معادله NRC 2796، عدد بیولوژی 2850، معادلات بیولوژیک به دست آمده 2849 و NIRS 2987 کیلوکالری در کیلوگرم بوده است. معادله (1994) NRC بر اساس میزان نشاسته است که وایزمن (21) گزارش کرد انرژی قابل متابولیسم همواره با میزان نشاسته و قابلیت هضم آن همبستگی ندارد و به سایر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی مانند سختی دانه، وزن صد دانه، ویسکوزیته، فعالیت آنزیم فیتاز و مقدار پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای بستگی دارد.

در جدول شماره 7 عملکرد به دست آمده از جوجه‌ها در آزمایش سوم ارائه گردیده است. همان‌طور که مشاهده می‌گردد، تیمار مربوط به معادله NRC که برآورد غیرواقعی بالاتری از ارقام جو ایرانی نشان داد، ضعیف‌ترین عملکرد را به دنبال داشت، ضریب تبدیل خوراک جوجه‌ها نیز به طور معنی‌داری بالاتر بود و نسبت به عدد بیولوژی عملکرد پایین‌تری داشتند. همچنین تیمار عدد NRC و معادله NIRS به واسطه اینکه برآورد غیرواقعی پایین‌تری نسبت به عدد بیولوژی داشتند و جیره‌هایی با انرژی بالاتر دریافت کردند، لذا به ترتیب تیمار NIRS و عدد NRC عملکرد بالاتری نشان دادند ولی عملکرد به صورت معنی‌داری نبود. تیمار عدد معادله به دست آمده از این آزمایش نیز عملکردی نزدیک به تیمار بیولوژی داشت که احتمالاً به دلیل

جدول 6- مقایسه مقادیر انرژی قابل متابولیسم (کیلوگرم/کیلوکالری) به دست آمده طی روش بیولوژیکی با مقادیر پیش‌بینی شده با استفاده از معادلات حاصل از این تحقیق و نیز مقادیر حاصل از معادلات توصیه شده توسط NRC (1994) (بر اساس ماده خشک)

Table 6- Comparing AMEn (Kcal/kg) values of different barley varieties obtained using biological method with those predicted using the equations developed in this study as well as with those predicted using the NRC 1994 recommended equations (dry matter basis).

نام رقم Item	بیولوژی 10 روزگی Biological method 10 d	بیولوژی 24 روزگی Biological method 24 d	مدل 10 روزگی The equation developed at d 10	مدل 24 روزگی The equation developed at d 24	NRC 1994
بهمن همدان Bahman Hamedan	2658	2752	2908	2987	3421
والفجر Valfajr	3111	3141	3009	3103	3237
دشت Dasht	2280	2701	2743	2911	3337
گرگان 4 Gorgan 4	3245	3244	2892	3048	3430
بهمن کرج Bahman Karaj	2411	2530	2982	3075	3329
پاکوتاه Pakootah	2400	2939	2912	3121	3439
ریحانی Reyhani	2948	3264	2999	3075	3371
کارون در کویر Karoondar kavir	3131	3337	3038	3097	3389
ارس Aras	2964	3130	2872	2994	3458
فجر 30 Fajr 30	2896	3020	3003	3105	3347
میانگین Mean	2804	3006	2935	3051	3358

$$\text{AMEn (Kcal/kg of DM)} = 3078 - 90.4 \times \text{CF} + 9.2 \times \text{STA}(\text{NRC1994})$$

$$\text{AMEn} = 27.27\text{NFE} + 407.87\text{EE} \quad (\text{مدل 10 روزگی}) \quad (\text{the equation developed using 10-d-old chickens})$$

$$\text{AMEn} = 33\text{NFE} + 271\text{EE} \quad (\text{مدل 24 روزگی}) \quad (\text{the equation developed using 24-d-old chickens})$$

جدول 7- تأثیر جیره‌های تنظیم شده بر اساس مقادیر AMEn جو بر آورد شده با استفاده از روش‌های مختلف (کیلوگرم/کیلوکالری) بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در 44-24 روزگی.

Table 7- The effect of dietary formulation based on barley AMEn values estimated using different methods (Kcal/kg) on growth performance of broiler chickens in 24-44 d.

تیمار Treatment	خوراک مصرفی (دوره/گرم) Feed intake (g/period)	افزایش وزن (دوره/گرم) Weight gain (g/period)	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio
عدد NRC (2640) NRC Value (2640)	2579	1316	1.96 ^{ab}
معادله NRC (2965) NRC Equation (2965)	2498	1213	2.06 ^a
عدد بیولوژی (2814) Biology value (2814)	2447	1242	1.97 ^{ab}
معادلات به دست آمده (2775) Equations obtained (2775)	2444	1260	1.94 ^{ab}
(2420) NIRS	2500	1337	1.87 ^b
P-value	0.1	0.1	0.05

نتیجه گیری کلی

از نتایج این آزمایش این گونه بر می آید که انرژی به دست آمده از معادلات NRC (1994) و همچنین انرژی توصیه شده برای جو در NRC، برای ارقام جو ایرانی قابل استفاده نبوده و نتایج به دست آمده از معادلات بسط داده شده طی این آزمایش از دقت بالاتری برای

پیش بینی انرژی قابل متابولیسم ارقام جو ایرانی برخوردار بودند. همچنین، تعیین ارزش تغذیه ای سایر مواد خوراکی تولید شده در داخل کشور برای استفاده در جیره های طیور و بسط معادلات پیش بینی جدید برای آنها و مقایسه نتایج با اعداد درج شده در منابع معتبر علمی نظیر NRC (1994) توصیه می شود.

منابع

- 1- Akbari, R., H. Moravej, and K. Rezayazdi. 2015. Prediction of metabolizable energy of current barley cultivars in Alborz province by linear regression equations. *Iranian Journal of Animal Science*, 46 (20): 73-81. (In Persian).
- 2- Alvarenga, R. R., M. G. Zangeronimo, P. B. Rodrigues, L. J. Pereira, R. C. Wolp, and E. C. Almeida. 2013. Formulation of diets for poultry: The importance of prediction equations to estimate the energy values. *Archivos de Zootecnia*, 62: 1-11.
- 3- AOAC International. 2006. Official Methods of Analysis. 18th ed. Arlington, VA.
- 4- Aviagen. 2014. Broiler nutrition specifications. Ross 308. Technical Section. Aviagen, Midlothian, UK.
- 5- Choct, M., G. Annison, and R. J. Hughes. 1999. Apparent metabolisable energy and chemical composition of Australian wheat in relation to environmental factors. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50 (4): 447-451.
- 6- Holtekjølen, A. K., A. K. Uhlen, E. Bråthen, S. Sahlstrøm, and S. H. Knutsen. 2006. Contents of starch and non-starch polysaccharides in barley varieties of different origin. *Food Chemistry*, 94: 348-358.
- 7- Hullar, I., I. Meleg, S. Fekete, and R. Romvari. 1999. Studies on the energy content of pigeon feeds I. Determination of digestibility and metabolizable energy content. *Poultry Science*, 78: 1757-1762.
- 8- Janmohammadi, H., A. Taghizadeh and N. Pirany. 2009. Chemical composition and metabolizable energy content of some barley varieties of east Azarbyjan using adult Leghorn roosters. *Animal Science Researches*. 19: 105-115. (In Persian).
- 9- Jeroch, H., and S. Danicke. 1995. Barley in poultry feeding: a review. *World's Poultry Science Journal*, 51: 271-292.
- 10- Khodabande, N. 2012. Cereals. 11th ed. Tehran University Publishing Co.
- 11- Kırkpınar, F., M. Polat, H. Özelçam, H. Hanoğlu, and Y. Şayan. 2013. Prediction of metabolisable energy value and in vivo digestibility of some organic feedstuffs and diet for roosters. *Journal of Animal Production*, 54: 10-13.
- 12- Nascimento, G. A. J. D., P. B. Rodrigues, R. T. F. D. Freitas, A. G. Bertechini, R. R. D. Lima, and L. E. A. Pucci. 2009. Prediction equations to estimate the energy values of plant origin concentrate feeds for poultry utilizing the meta-analysis. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38 (7): 1265-1271.
- 13- Nassiri-Moghaddam, H., M. Danesh-Mesgaran, and M. D. Shakouri. 2006. Comparison of nutritional value of different barley varieties with and without supplementation of enzymatic supplementation in chickens. *Agricultural Sciences and Technology Journal*, 20 (1): 57-69. (In Persian).
- 14- National Research Council. 1994. Nutritional Requirements of Poultry. National academic press. 9th edition, Washington DC.
- 15- Robbins, D. H., and J. D. Firman. 2006. Evaluation of the metabolizable energy of poultry by-product meal for chickens and turkeys by various methods. *International Journal of Poultry Science*, 5 (8): 753-758.
- 16- Rose, R., C. L. Rose, S. K. Omi, K. R. Forry, D. M. Durall, and W. L. Bigg. 1991. Starch determination by perchloric acid vs enzymes: evaluating the accuracy and precision of six colorimetric methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39 (1): 2-11.
- 17- Scott, T. A., and J. W. Hall. 1998. Using acid insoluble ash marker ratios (diet: digesta) to predict digestibility of wheat and barley metabolizable energy and nitrogen retention in broiler chicks. *Poultry Science*, 77 (5): 674-679.
- 18- Silva, E. P., C. B. V. Rabello, L. F. T. Albino, J. V. Ludke, M. B. Lima, and W. M. Dutra Junior. 2010. Prediction of metabolizable energy values in poultry offal meal for broiler chickens. *Brazilian Journal of Animal Science*, 39: 2237-2245.
- 19- Svihus, B., and M. Gullord. 2002. Effect of chemical content and physical characteristics on nutritional value of wheat, barley and oats for poultry. *Animal Feed Science and Technology*, 102 (1): 71-92.
- 20- Williams, C. H., D. J. David, and O. Iismaa. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by

atomic absorption spectrophotometry. The Journal of Agricultural Science, 59 (3): 381-385.

- 21- Wiseman, J., and J. McNab. 1995. Nutritive value of wheat varieties fed to non-ruminants. HGCA Project Report.
- 22- Yaghobfar, A. 2001. Effect of genetic line, sex of birds and the type of bioassay on the metabolisable energy value of maize. British Poultry Science, 42 (3): 350-353.
- 23- Yegani, M., M. L. Swift, R. T. Zijlstra, and D. R. Korver. 2013. Prediction of energetic value of wheat and tritcale in broiler chicks: A chick bioassay and in vitro digestibility technique. Animal Feed Science and Technology, 183 (1): 40-50.



Developing Regression Predictive Equations for Metabolizable Energy of High-Yielding Iranian Barley Varieties and Comparison with NIRS Method and the Values Indicated in the NRC Tables Based on the Performance of Male Broiler Chickens

Ahmad Malakzadegan¹- Ahmad Hassanabadi^{2*}- Hassan Nassiri Moghaddam²- Hossein Moravej³-Heydar Zarghi⁴

Received: 01-09-2018

Accepted: 10-06-2019

Introduction: Cereals are the main sources of calorie in poultry diets and corn is the most common cereal in poultry feed formulations; however, in some countries such as Iran, corn is mainly imported from other countries. In addition to import-associated problems, high volatility of corn price has recently resulted in a marked tendency between Iranian poultry producers to use other alternative grains in their formulations. Among the other cereals, wheat, rye, and barley are the most frequently used grains in poultry diets from which, barley is believed to be a great alternative for corn due to its high productivity and good compatibility to the climatic conditions of the country. Barley is one of the most abundant grains raised in various areas of Iran and could be included in the formulations instead of corn. However, the extreme variability in nutrient contents observed within and between different barley varieties makes it difficult to achieve a good nutrient balance in barley-containing diets. The energy content of feedstuffs is a topic of high importance for poultry nutritionists since birds regulate their feed intake based on dietary energy concentration. There are different methods to determine metabolizable energy (AME) content of feedstuffs including energy balance bioassay (excreta or ileal digesta-based methods), referring to the standard tables describing feedstuff compositions (NRC and FEEDSTUFF tables), indirect AME determination using near-infrared spectroscopy (NIRS) technique and the use of multivariate prediction equations. Energy balance bioassay is the most reliable but time-consuming and expensive method while nutritionists need relatively simpler and faster methods for accurate feed AME estimation. On the other hand, contents of standard feed-describing tables are mean values obtained in a variety of previous studies performed under climatic conditions differing fairly from those of Iran. Most researchers agree that the values presented in the tables are not reliable and generalizable due to the extensive variability of feed types and varieties. During the last decades, various AME-predicting regression equations have been suggested for different feedstuffs but the data used for exploiting the equations have been obtained from animals and feeds genetically different from the modern commercial strains and varieties. Therefore, updating the equations using animals and feeds of today seems to be necessary. This study aimed at developing prediction equations for AME of the most producing Iranian barley varieties.

Materials and Methods: Three trials were conducted to develop regression predictive equations for apparent metabolizable energy (AME) of some of the most producing Iranian barley varieties in broiler chicken diets and to compare the outputs of the equations with the AME_n values estimated by infra-red spectrophotometry (NIRS) method as well as with the values published by the national research council (NRC, 1994). In the first experiment, 10 different barley varieties were analyzed for proximate composition. Then, in the second experiment, total tract AME_n values were determined for all of the barley varieties using 10 or 24-d-old broiler chickens and chromium oxide as an indigestible marker. Results of the two first trials were used to develop

1- Ph.D student, Department of Animal Sciences, 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- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tehran University, Tehran, Iran.

4- Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

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

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.75305

AME_n-predicting equations using SPSS software and "enter" procedure. To verify the accuracies of the predictive equations, the third trial was conducted using 400 broiler chicks in a completely randomized design consisting of five treatments with four replicates of 20 birds each. The AMEn content of the barley variety used in the third experiment was estimated according to the following five procedures: 1) The AMEn recommended by NRC (1994); 2) The AMEn predicted using the equation suggested by NRC (1994); 3) The AMEn values directly estimated in the balance trial (trial 2); 4) The AMEn values predicted by the equations developed in the 2nd trial; and 5) The AMEn estimated using NIRS method.

Results and Discussion: The equations obtained for 10 and 24-d-old broilers were: AMEn= 407.87*EE+27.27*NFE and AMEn= 271*EE + 33*NFE, respectively. The results showed that the AMEn values exploited from the equations developed in the energy balance assay produced the closest performance to that of the AMEn values estimated directly during the same trial.

Conclusion: According to our findings, predictive equations can be used for accurate estimating of barley AMEn value for broiler diets formulation. In addition, our results showed that the old AMEn values and AMEn-predicting equations published by NRC (1994) and FEEDSTUFF (2014) are not accurate at least for Iranian barley varieties evaluated in the present study.

Keywords: Barley, Broiler, Metabolizable energy, Regression predictive equations



ارزیابی اثر افزودن عصاره الکلی گیاهان دارویی آویشن شیرازی و سرخارگل به جیره بر عملکرد، خصوصیات لاشه، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و وضعیت ایمنی جوجه‌های گوشتی

رضا فرخ‌نیا¹، فرید مسلمی‌پور^{2*}، شهریار مقصودلو²، فرزاد قنبری²

تاریخ دریافت: 1396/11/22

تاریخ پذیرش: 1398/03/22

چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی اثر افزودن عصاره الکلی گیاهان دارویی سرخارگل و آویشن به جیره بر عملکرد، صفات لاشه و همچنین فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و وضعیت ایمنی جوجه‌های گوشتی بود. تعداد 160 قطعه جوجه یک روزه گوشتی سویه راس - 308 (نر و ماده به تعداد مساوی) در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تیمار با چهار تکرار و هر تکرار ده قطعه، تقسیم شده و پرورش یافتند. طول مدت تحقیق، 42 روز بود که به سه دوره پرورشی آغازین (1-10 روزگی)، رشد (11-23 روزگی) و پایانی (24-42 روزگی) تقسیم شد که تیمارهای آزمایشی از ابتدای دوره اعمال شدند. تیمارهای آزمایشی شامل 1- شاهد (جیره پایه)، 2- افزودن 0/2 درصد عصاره آویشن به جیره پایه، 3- افزودن 0/2 درصد عصاره سرخارگل به جیره پایه و 4- افزودن مخلوط 0/2 درصد عصاره آویشن و 0/2 درصد عصاره سرخارگل به جیره پایه بودند که از روز اول به جوجه‌ها تغذیه شدند. خوراک مصرفی، وزن زنده و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌ها به صورت هفتگی ثبت شد. در پایان دوره پرورش، یک پرندۀ نر از هر تکرار آزمایشی جهت خون‌گیری و تجزیه لاشه کشتار شدند. نتایج نشان داد که اثر تیمارها بر مصرف خوراک و افزایش وزن زنده جوجه‌ها در کل دوره معنی‌دار نبود. ضریب تبدیل خوراک جوجه‌ها به طور معنی‌دار تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. به طوری که بهترین آن در گروه شاهد و بدترین آن در گروه سرخارگل بود. ویژگی‌های لاشه و وزن اندام‌های داخلی جوجه‌ها تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. اثر تیمارهای آزمایشی بر عیار آنتی‌بادی علیه بیماری‌های نیوکاسل و آنفولانزا در جوجه‌ها معنی‌دار بود. کمترین آنتی‌بادی علیه نیوکاسل و بیشترین آنتی‌بادی علیه آنفولانزا در گروه آویشن مشاهده شد. افزودن عصاره‌های آویشن و سرخارگل به جیره باعث افزایش وزن در وزن غده بورس فابریسیوس جوجه‌ها نسبت به شاهد شد ولی بر وزن طحال تأثیری نداشت. افزودن عصاره‌های آویشن و سرخارگل باعث کاهش چشم‌گیر غلظت تری‌گلیسریدها و VLDL خون جوجه‌ها شد. تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌دار بر تراکم گلبول‌های سفید خون شامل لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها نداشتند. به طور کلی، افزودن عصاره‌های آویشن و سرخارگل به جیره جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌دار بر شاخص‌های عملکردی و ویژگی‌های لاشه نداشت، ولی باعث افزایش عیار آنتی‌بادی علیه آنفولانزا و کاهش سطح لیپیدهای خون شد.

واژه‌های کلیدی: ایمنی، جوجه گوشتی، چربی‌های خون، رشد، گیاهان دارویی.

مقدمه

افزایش میزان آنتی‌بادی بدن آن‌ها می‌گردند (22). از طرفی، به دلیل اثرات منفی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های صنعتی بر سلامت مصرف‌کنندگان، تمایل به استفاده از عصاره‌های گیاهی افزایش یافته است (3).

آویشن (Thyme) با نام علمی *Thymus vulgaris* یکی از شناخته‌شده‌ترین گیاهان دارویی از تیره نعنائیان است. ویژگی ضدباکتریایی و ضدقارچی آن به خاطر وجود ماده‌ای به نام تیمول است (15). ترکیب 5-متیل 1-اتیل - فنل در آویشن، خاصیت ضد باکتریایی دارد. همچنین، تیمول و کارواکرول موجود در آویشن باعث شده است که از این گیاه به‌عنوان ضدعفونی‌کننده دستگاه گوارش و

گیاهان دارویی به خاطر ترکیبات فعال و ثانویه موجود در آن‌ها می‌توانند باعث حفظ سلامتی حیوانات پرورشی و بهبود کیفیت محصولات تولیدی شوند که البته مصرف آن‌ها برای انسان نیز بی‌خطر می‌باشد (18، 24). بررسی‌ها نشان داده است که پلی‌ساکاریدهای موجود در این گیاهان، محرک سیستم ایمنی در طیور بوده و باعث

1- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشگاه گنبد کاووس، ایران

2- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد، ایران

(*) ایمیل نویسنده مسئول: Moslemipur@gonbad.ac.ir

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.70937

بنابراین، با توجه به اهمیت استفاده از گیاهان دارویی در بهبود کمی و کیفی تولید جوجه‌های گوشتی و همچنین امکان کشت تجاری گیاهان دارویی در ایران، هدف این تحقیق بررسی اثر افزودن عصاره الکلی گیاهان دارویی سرخارگل و آویشن به جیره جوجه‌های گوشتی بر شاخص‌های عملکرد رشد، ویژگی‌های لاشه، شاخص‌های ایمنی و فراسنجه‌های خون آنها بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در واحد مرغداری 60 هزار قطعه‌ای شرکت کوهپایه فاضل‌آباد واقع در روستای فاضل‌آباد شهرستان آزادشهر در خرداد و تیر ماه سال 1393 انجام شد. تعداد 160 قطعه جوجه یکروزه گوشتی سویه راس - 308 به صورت مخلوط مساوی از هر دو جنس و به طور کاملاً تصادفی در چهار گروه تیماری با چهار قفس (به عنوان تکرار) و 10 قطعه در هر تکرار تقسیم شدند. جوجه‌ها در شرایط بستر پرورش یافتند. تیمارهای آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی، شامل: 1- شاهد (جیره پایه)، 2- افزودن 0/2 درصد عصاره آویشن به جیره، 3- افزودن 0/2 درصد عصاره سرخارگل به جیره و 4- افزودن مخلوط 0/2 درصد عصاره آویشن و 0/2 درصد عصاره سرخارگل به جیره بودند. طول مدت تحقیق، 42 روز بود که از نظر نوع خوراک مصرفی و دوره آزمایش به سه دوره پرورشی آغازین (10-1 روزگی)، رشد (23-11 روزگی) و پایانی (42-24 روزگی) تقسیم شد که تیمارهای آزمایشی از ابتدای دوره اعمال شدند. برنامه روشنایی طبق راهنمای پرورش سویه راس شامل 20 ساعت روشنایی و 4 ساعت تاریکی بود که از 7 روزگی به بعد اعمال گردید. جیره‌های غذایی (جدول 1) بر اساس توصیه شرکت کاب با استفاده از نرم‌افزار UFFDA و برنامه واکسیناسیون جوجه‌ها بر اساس توصیه شرکت مولد آنها بود.

جهت تهیه عصاره الکلی گیاهی، ابتدا اندام‌های هوایی گیاهان آویشن شیرازی و سرخارگل، در آون کاملاً رطوبت‌گیری شدند. پس از آن، سوسپانسیون 5 درصد وزنی به حجمی در اتانول تهیه و مخلوط حاصل را سانتریفیوژ نموده و جهت تبخیر حلال از نمونه آزمایشی از دستگاه evaporator Rotary با ظرفیت یک لیتر در ساعت ساخت کمپانی بوچی سوئیس استفاده گردید. در نهایت عصاره استخراج شده با افشانده مخصوص با دان مخلوط و برای آزمایش استفاده شد.

در طول دوره پرورش، میزان خوراک مصرفی و وزن بدن پرندگان به طور هفتگی با ترازوی دقیق (یک صدم گرم) وزن کشی شد. ضریب تبدیل خوراک در پایان دوره از تقسیم وزن کل خوراک مصرفی بر وزن زنده به دست آمد.

بهبود دهنده هضم و جذب استفاده شود (1). البته غیر از موارد یاد شده، مواد دیگری همچون فلاونوئیدها، ترپن‌ها، روغن‌های فرار، سایر ترکیبات فنلی، ترکیبات تند و تعداد دیگری از مواد فعال نیز در آن به چشم می‌خورند (14). مصرف آویشن باعث تحریک ترشح بیشتر آنزیم‌های گوارشی مانند آمیلاز، پروتئاز و لیپاز و در نتیجه باعث افزایش قابلیت هضم مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی می‌گردد. به علاوه، امروزه در مزارع بزرگ پرورش طیور اروپا از این گیاه به عنوان داروی ضداسهال، رفع تنگی نفس و درمان برونشیت، عفونت ریه، سرماخوردگی و آنفولانزا استفاده می‌شود (11). نوری‌زاده و همکاران بیان نمودند که استفاده از عصاره گیاه دارویی آویشن به صورت آشامیدنی در سطوح 0/15 و 0/2 درصد جیره از پنج روزگی به مدت پنج هفته باعث بهبود افزایش وزن روزانه، خوراک مصرفی و صفات لاشه بهتری نسبت به شاهد در جوجه‌های گوشتی می‌گردد (21). در مقابل نجفی و ترکی (19) بیان کردند که استفاده از روغن اسانس آویشن در جیره جوجه‌های گوشتی اثر مثبتی بر عملکرد آنها در کل دوره پرورشی 42 روزه نداشت (19).

گیاه سرخارگل (Coneflower) گیاهی چند ساله با نام علمی *Echinacea purpurea* و بومی آمریکای شمالی بوده که به عنوان یک گیاه دارویی ارزشمند شناخته شده است (12). روستایی علی‌مهر و همکاران (1390) گزارش کردند که افزودن عصاره الکلی سرخارگل در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی سبب بهبود افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک می‌شود و آنها را به تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی و بهبود فرآیند هضم و جذب مواد مغذی ارتباط دادند (25). ترکیبات مهم دارویی مانند پلی‌ساکاریدها، فلاونوئیدها، مشتقات اسید کافئیک، عصاره‌های روغنی، پلی‌استیلین‌ها و آلکامیدها در این گیاه وجود دارند که توانایی تعدیل و بهبود سیستم ایمنی را دارند (4). سرخارگل از گیاهانی است که خاصیت ضد میکروبی و بهبود دهنده سیستم ایمنی را دارد. البته گزارش‌های محدودی از کاربرد گیاه سرخارگل در صنعت طیور وجود دارد (3). پلی‌استیلین‌های ریشه گیاه سرخارگل اثر مهارکنندگی بر فعالیت باکتری اشریشیاکولای دارند (27). مطالعات نشان داده‌اند که عصاره سرخارگل، دارای عوامل محرک ایمنی مانند آلکامیدها، اسیدکافئیک و مشتقات آن مانند اسید شیکوریک بوده که سبب افزایش توانایی ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها در انجام فاگوسیتوز می‌شود. بنابراین، به نظر می‌رسد عصاره سرخارگل محرک پاسخ ایمنی در جوجه‌های گوشتی باشد (3).

رحیمی و همکاران (23) اثر مصرف عصاره‌های سرخارگل، آویشن باغی و سیر با دوز 0/1 درصد در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی از آغاز دوره پرورش را بررسی کردند که کمترین وزن بدن و مصرف خوراک و بیشترین ضریب تبدیل غذایی در کل دوره و همچنین درصد لاشه مربوط به تیمار سرخارگل بود.

جدول 1- ارقام خوراکی (درصد) و ترکیبات مواد مغذی جیره‌های آزمایشی در مراحل مختلف پرورش
Table 1- The experimental diets (percent) ingredients and their nutrients in various rearing periods

اجزای جیره (درصد) Ingredients (%)	جیره‌های آزمایشی Experimental diets		
	آغازین Starter	رشد Grower	پایانی Finisher
ذرت Corn	57.27	62.07	66.00
کنجاله سویا Soybean meal	37.00	31.00	26.00
روغن سویا Soy oil	1.00	2.00	3.22
دی‌کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.50	1.25	1.00
سنگ آهک Limestone	1.00	1.00	0.80
نمک خوراکی Salt	0.30	0.30	0.15
مکمل ویتامینی - معدنی ¹ Vitamins-minerals supplement ¹	0.50	0.50	0.50
دی‌ال - متیونین D, L-methionine	0.20	0.17	0.15
لیزین L -Lysine hydrochloride	0.15	0.13	0.10
آنزیمیت Enzymite	1.00	1.50	2.00
ال ترئونین L-threonine	0.03	0.03	0.03
کوکسیدیواستات Coccidiostat	0.05	0.05	0.05
مواد مغذی (محاسبه شده) Calculated nutrients			
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم) Metabolizable energy (kcal/kg)	2950	3050	3150
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	22.00	21.00	19.00
لیزین (درصد) Lysine (%)	1.45	1.25	1.05
متیونین + سیستئین (درصد) Methionine + cysteine (%)	1.05	0.95	0.85
کلسیم (درصد) Calcium (%)	1.05	0.95	0.85
فسفر در دسترس (درصد) Available Phosphorus (%)	0.50	0.45	0.35
سدیم (درصد) Sodium (%)	0.20	0.17	0.15

¹ ویتامین A: 9000 واحد بین‌المللی، ویتامین D₃: 2000 واحد بین‌المللی، ویتامین E: 18 میلی‌گرم بر کیلوگرم، ویتامین K₃: 2 میلی‌گرم بر کیلوگرم، ویتامین B₁: 2 میلی‌گرم بر کیلوگرم، ویتامین B₂: 7 میلی‌گرم بر کیلوگرم، ویتامین B₃: 30 میلی‌گرم بر کیلوگرم، ویتامین B₅: 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم، ویتامین B₆: 0/4 میلی‌گرم بر کیلوگرم، منگنز: 100 میلی‌گرم، آهن: 50 میلی‌گرم، روی: 100 میلی‌گرم، مس: 20 میلی‌گرم، ید: 2 میلی‌گرم و سلنیوم: 0/5 میلی‌گرم

¹Vitamin-mineral premix content per kg: vitamin A, 9,000,000 U; vitamin D₃, 2000,000 U; vitamin E, 7200 U; vitamin K₃, 800 mg; vitamin B₁, 720 mg; vitamin B₂, 3300 mg; vitamin B₃, 4000 mg; vitamin B₅, 12000 mg; vitamin B₆, 1200 mg; Manganese, 100 mg; Fe, 50 mg; Zinc, 100 mg; copper, 20 mg; iodine, 2 mg; Selenium, 5 mg

هر میلی‌لیتر خون به دست آید. برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون ابتدا مقدار کمی از نمونه خون روی لام پخش و با الکل متیلیک به مدت یک دقیقه تثبیت شد. لام‌ها به مدت 30 دقیقه در محلول رنگ‌آمیزی گیمسای 5 درصد قرار گرفتند و سپس با آب مقطر شستشو شدند. بعد از آن با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی 100 برابر، با توجه به شکل و مورفولوژی، انواع گلبول‌های سفید شمارش شدند (13).

داده‌های حاصل در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه 9/1 (2003) رویه ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح خطای 5 درصد انجام شد.

نتایج

عملکرد

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در جدول 2 بیان شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود تأثیر تیمارهای آزمایشی بر وزن بدن و مصرف خوراک جوجه‌ها در کل دوره آزمایشی معنی‌دار نبود ($P>0/05$) در حالی که اثر تیمارهای آزمایشی بر ضریب تبدیل غذایی جوجه‌ها در کل دوره معنی‌دار بود ($P<0/05$) به طوری که مقدار آن در پرندگان دریافت‌کننده جیره شاهد ($1/74$) کمتر از پرندگان دریافت‌کننده سرخارگل ($1/81$) و آویشن+سرخارگل ($1/79$) بود.

به منظور بررسی خصوصیات لاشه، در پایان دوره آزمایش از هر تکرار تعداد یک قطعه پرنده نر، انتخاب و پس از اعمال حداقل 8 ساعت گرسنگی، کشتار و تجزیه لاشه گردیدند. وزن لاشه و اجزای لاشه نظیر ران، سینه، سنگدان، پیش‌معدة، روده کوچک و روده بزرگ و چربی محوطه بطنی با ترازوی دیجیتال با دقت یک صدم گرم، اندازه‌گیری شدند و وزن نسبی اجزای لاشه نسبت به وزن لاشه و وزن لاشه تهی شده نسبت به کل لاشه محاسبه گردیدند. به صورت همزمان، از هر پرنده دو نمونه خون یکی حاوی ماده ضد انعقادی سیترات و دیگری بدون ماده ضدانعقادی جهت آزمایش‌های خون‌شناسی جمع‌آوری گردید. گلبول‌های سفید (نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها)، گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین، میانگین حجم هر گلبول قرمز، میانگین هموگلوبین هر گلبول قرمز، درصد گلبول‌های قرمز خون (هماتوکریت) و همچنین فراسنجه‌های خونی کلسترول، تری‌گلیسریدها، لیپوپروتئین‌ها با چگالی خیلی پایین، لیپوپروتئین‌ها با چگالی بالا، گلوکز، پروتئین تام و اسید اوریک به روش اسپکتروفتومتری با دستگاه Bio-Chrome libra s 22 ساخت کشور هندوستان اندازه‌گیری شدند. جهت اندازه‌گیری عیار آنتی‌بادی علیه بیماری‌های آنفولانزا و نیوکاسل از روش ممانعت از هم‌آگلوتیناسیون¹ استفاده شد (10).

جهت شمارش گلبول‌های قرمز خون، ابتدا به‌وسیله پپیت مخصوص، مقدار مشخصی از نمونه خون با محلول هایم به اندازه 200 برابر رقیق گردید. سپس با استفاده از لام نئوبار زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی 40 برابر، تعداد گلبول‌های قرمز شمارش شدند. عدد به‌دست آمده در عدد 10,000 ضرب شد تا تعداد گلبول‌های قرمز در

جدول 2- میانگین شاخص‌های عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در کل دوره مطالعه¹
Table 2- Means of growth performance parameters of broilers over the study¹

متغیر Variables	تیمارها Treatments				میانگین خطای استاندارد SEM	احتمال معنی‌داری P value
	شاهد Control	آویشن Thyme	سرخارگل Coneflower	آویشن+سرخارگل Thyme+ Coneflower		
خوراک مصرفی (گرم) Feed intake (g)	3725.00	3550.00	3487.50	3750.00	80.90	0.11
افزایش وزن (گرم) Weight gain (g)	2150.00	1991.30	1925.00	2095.00	62.30	0.10
ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio	1.74 ^b	1.78 ^{ab}	1.81 ^a	1.79 ^a	0.02	0.04

¹در هر ردیف، میانگین‌های دارای حروف مختلف از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار دارند ($P<0/05$).

¹Means with different letters in each row are statistically different ($P<0.05$).

نشان داده شده است. عدم تأثیر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی شش‌ها، قلب، کبد و سنگدان در سن 42 روزگی مشاهده گردید

تجزیه لاشه

اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی اندام‌های داخلی در جدول 3

($P>0/05$). پرندگان دریافت کننده عصاره‌های آویشن و سرخارگل، وزن نسبی و طول روده بیشتری در مقایسه با پرندگان دریافت کننده عصاره آویشن یا سرخارگل به تنهایی، داشتند ($P<0/05$). تفاوت معنی‌داری برای وزن نسبی روده بین سایر تیمارهای آزمایشی مشاهده نگردید ($P>0/05$). همچنین طول روده پرندگان دریافت کننده آویشن+سرخارگل به طور عددی بیشتر از مقدار مربوط به پرندگان سایر تیمارهای آزمایشی بود ($P=0/08$).
اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی بخش‌های مختلف لاشه کامل، سینه، ران، لاشه تهی شده و چربی محوطه شکمی در سن 42 روزگی معنی‌دار نبود (جدول 4).

جدول 3: وزن نسبی اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی (درصدی از وزن بدن) در سن 42 روزگی¹
Table 3- Relativeweights of internal organs of broilers chickens (as a percent of BW) at 42thday¹

متغیر Variables	تیمار Treatment				میانگین خطای استاندارد SEM	احتمال معنی‌داری P value
	شاهد Control	آویشن Thyme	سرخارگل Coneflower	آویشن+سرخارگل Thyme+ Coneflower		
شش‌ها Lungs	0.64	0.64	0.65	0.66	0.11	0.77
قلب Heart	0.50	0.54	0.54	0.50	0.07	0.94
کبد Liver	2.15	2.20	2.14	2.10	0.21	0.39
سنگدان Gizzard	1.20	1.17	1.37	1.17	0.23	0.80
روده‌ها (کوچک و بزرگ) Intestines	4.60 ^{ab}	4.31 ^c	4.75 ^{bc}	5.41 ^a	0.32	0.008
طول روده‌های کوچک و بزرگ (سانتی‌متر) Intestines length (cm)	209	196	198	223	7.27	0.08

¹در هر ردیف، میانگین‌های دارای حروف مختلف از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار دارند ($P<0/05$).

¹Means with different letters in each row are statistically different ($P<0.05$).

جدول 4- وزن نسبی اجزای لاشه جوجه‌های گوشتی (درصدی از وزن بدن) در سن 42 روزگی
Table 4- Relative weightsof carcass partsof broiler chicken (as a percent of BW) at 42thday

متغیر Variables	تیمار Treatment				میانگین خطای استاندارد SEM	احتمال معنی‌داری P value
	شاهد Control	آویشن Thyme	سرخارگل Coneflower	آویشن+سرخارگل Thyme+ Coneflower		
لاشه تهی شده Empty carcass	84.88	87.30	85.71	83.60	6.70	0.37
سینه Breast	24.67	23.64	24.43	22.72	2.55	0.32
ران‌ها Thighs	20.35	20.25	19.65	19.65	1.61	0.13
چربی احشایی Abdominal fat	1.55	1.84	1.69	1.47	0.39	0.72
پشت Back	20.75	21.38	21.05	20.87	1.95	0.53

معنی‌دار نبود (جدول 5). عیار آنتی‌بادی علیه بیماری‌های نیوکاسل و آنفولانزا در جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P\leq 0/05$) به طوری که پادتن نیوکاسل در جوجه‌های گروه

شاخص‌های ایمنی

نتایج نشان داد که اثر تیمارهای آزمایشی بر درصد افتراقی گلبول‌های سفید خون شامل لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها

سرخارگل و مخلوط آویشن و سرخارگل به طور معنی داری بالاتر از جوجه های گروه شاهد بود. عیار آنتی بادی علیه واکسن آنفولانزا در جوجه های گروه آویشن به طور معنی دار کمتر از سایر گروه های آزمایشی بود.

جدول 5- میانگین تراکم افتراقی گلبول های سفید خون و عیار آنتی بادی جوجه های گوشتی در سن 42 روزگی¹

Table 5- Means of differential density of white blood cells and antibody titer in broiler chickens at 42th day¹

متغیر Variables	تیمار Treatment				میانگین خطای استاندارد SEM	احتمال معنی داری P value
	شاهد Control	آویشن Thyme	سرخارگل Coneflower	آویشن+سرخارگل Thyme+Coneflower		
نوتروفیل ها (درصد) Neutrophils (%)	50.75	47.50	62.50	55.50	6.77	0.46
لمفوسیت ها (درصد) Lymphocytes (%)	41.75	49.00	34.75	40.00	7.40	0.61
ائوزینوفیل ها (درصد) Eosinophils (%)	7.25	3.50	2.75	5.00	2.53	0.62
تیترا آنتی بادی نیوکاسل (لگاریتم 2) Newcastle titer (log ₂)	7.75 ^a	5.50 ^b	7.00 ^a	7.00 ^a	0.66	0.05
تیترا آنتی بادی آنفولانزا (لگاریتم 2) Influenza titer (log ₂)	0.75 ^c	2.25 ^{ab}	2.50 ^a	1.50 ^b	0.27	0.003

¹در هر ردیف، میانگین های دارای حروف مختلف از لحاظ آماری تفاوت معنی دار دارند (P<0/05).

¹Means with different letters in each row are statistically different (P<0.05).

تمایل به معنی دار شدن داشت و وزن این اندام در جوجه های دریافت کننده عصاره آویشن یا سرخارگل به طور عددی (P=0/08) بیشتر از مقدار مربوط به پرندگان گروه شاهد بود.

نتایج تحقیق نشان داد که تیمارهای آزمایشی اثر معنی داری بر وزن غده بورس فابریسیوس و طحال جوجه های گوشتی در سن 42 روزگی نداشتند (جدول 6) (P>0/05). البته وزن بورس فابریسیوس

جدول 6- میانگین وزن غده بورس فابریسیوس و طحال جوجه های گوشتی (گرم) در در سن 42 روزگی

Table 6- Means of bursa of fabricius and spleen weights of broiler chickens (g) at 42th day

متغیر Variables	تیمار Treatment				میانگین خطای استاندارد SEM	احتمال معنی داری P value
	شاهد Control	آویشن Thyme	سرخارگل Coneflower	آویشن+سرخارگل Thyme+Coneflower		
بورس فابریسیوس Bursa of fabricius	1.04	1.54	1.55	1.27	0.14	0.08
طحال Spleen	2.34	2.43	2.02	2.37	0.27	0.71

مقدار مربوط به پرندگان شاهد بود (P=0/08).

همان طور که در جدول 8 مشاهده می شود، اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه های خونسام شامل پروتئین تام، تری گلیسریدها، کلسترول، اسید اوریک، لیپوپروتئین ها با چگالی بالا (HDL) و لیپوپروتئین ها با چگالی خیلی پایین (VLDL) معنی دار بود (P<0/001).

فراسنجه های خون

نتایج نشان داد که هیچکدام از فراسنجه های خونی تراکم و حجم گلبول های قرمز خون و میانگین هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول 7). البته میزان هموگلوبین پرندگان دریافت کننده آویشن به طور عددی کمتر از

جدول 7- میانگین برخی فراسنجه‌های خون‌شناسی جوجه‌های گوشتی در سن 42 روزگی

Table 7- Means of some hematological parameters of broiler chickens at 42th day

متغیر Variables	تیمار Treatment				میانگین خطای استاندارد SEM	احتمال معنی‌داری P value
	شاهد Control	آویشن Thyme	سرخارگل Coneflower	آویشن+سرخارگل Thyme+ Coneflower		
گلبول‌های قرمز خون (میلیون/میلی‌لیتر) RBC ($\times 10^6$ /ml)	12.83	11.55	11.88	10.55	1.16	0.59
هموگلوبین (گرم/دسی‌لیتر) Hemoglobin (g/dl)	7.95	6.70	7.38	7.53	0.31	0.08
هماتوکریت (درصد) Hematocrit (%)	24.00	20.25	22.25	22.75	0.99	0.08
متوسط حجم سلولی (فمتولیتر) MCV (fl)	18.80	17.90	19.08	23.10	2.29	0.42
میانگین غلظت هموگلوبین سلولی (پیکوگرم) MCHC (pg)	6.18	5.90	6.30	7.55	0.73	0.42

RBC: Red blood cells; MCV: Means corpuscular volume; MCHC: Mean corpuscular hemoglobin concentrations

تحت تأثیر مصرف آویشن و سرخارگل کاهش یافت که البته تأثیر سرخارگل در این زمینه بارزتر بود. همچنین، غلظت اسید اوریک خون جوجه‌ها با مصرف آویشن در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی کاهش پیدا کرد. تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌دار بر سطح گلوکز خون جوجه‌ها در سن 42 روزگی نداشتند.

سطح پروتئین تام، تری‌گلیسریدها و VLDL خون به طور معنی‌دار با مصرف آویشن یا سرخارگل در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی کاهش یافت. سطح HDL خون جوجه‌ها با مصرف گیاهان دارویی در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت که البته بیشترین کاهش مربوط به تیمار آویشن بود. غلظت کلسترول خون جوجه‌ها نیز

جدول 8- میانگین غلظت فراسنجه‌های خون جوجه‌های گوشتی در سن 42 روزگی¹

Table 8- Means of blood biochemical concentrations of broiler chickens at 42th day¹

متغیر Variables	تیمار Treatments				میانگین خطای استاندارد SEM	احتمال معنی‌داری P value
	شاهد Control	آویشن Thyme	سرخارگل Coneflower	آویشن+سرخارگل Thyme+ Coneflower		
گلوکز (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Glucose (mg/dl)	260.48	264.53	258.79	251.58	9.29	0.79
پروتئین تام (گرم/دسی‌لیتر) Total protein (g/L)	5.86 ^a	3.11 ^b	2.89 ^b	6.07 ^a	0.13	<0.001
تری‌گلیسریدها (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Triglycerides (mg/dl)	735.48 ^a	325.81 ^b	321.29 ^b	744.20 ^a	36.54	<0.001
لیپوپروتئین با چگالی خیلی کم VLDL (mg/dl)	147.10 ^a	65.16 ^b	64.26 ^b	148.84 ^a	7.31	<0.001
لیپوپروتئین با چگالی بالا HDL (mg/dl)	135.82 ^a	108.37 ^c	121.94 ^b	121.20 ^b	3.10	<0.001
کلسترول (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Cholesterol (mg/dl)	175.07 ^a	134.00 ^b	61.35 ^c	154.21 ^{ab}	7.64	<0.001
اسید اوریک (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Uric Acid (mg/dl)	5.99 ^a	5.50 ^b	6.20 ^a	5.97 ^a	0.13	0.02

¹در هر ردیف، میانگین‌های دارای حروف مختلف از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار دارند ($p < 0/05$).

¹Means with different letters in each row are statistically different ($P < 0.05$).

بحث

درصد افتراقی گلبول‌های سفید خون جوجه‌ها شامل لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و اتوزینوفیل‌ها معنی‌دار نبود. عیار آنتی‌بادی علیه بیماری‌های نیوکاسل و آنفولانزا در جوجه‌های گوشتی کاملاً تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. عصاره سرخارگل می‌تواند فعالیت یاخته‌آزاری (سایتوتوکسیک) سلول‌های کشنده طبیعی را افزایش دهد (16). همچنین عصاره فوق یا ترکیبات مشتق از آن، اثرات مستقیمی روی ماکروفاژها دارد. به طوری که منجر به بیان واسطه‌های پیش‌التهابی و عوامل ضد میکروبی توسط آنها می‌گردد (16). بدین ترتیب مصرف همزمان عصاره سرخارگل و واکسن آنفولانزا باعث همراهی پاسخ‌های التهابی و اختصاصی علیه ویروس آنفولانزا شده و کارایی واکسن را افزایش می‌دهد.

گیاه سرخارگل به عنوان محرک سیستم ایمنی شناخته شده است (6). سرخارگل با افزایش تولید آنتی‌بادی IgG و IgM ایمنی همورال را تقویت می‌کند. از طرفی، این گیاه با تحریک ماکروفاژها تولید سایتوکاین‌ها به ویژه مقادیر انترفرون گاما را می‌افزاید. همچنین، سرخارگل تکثیر لنفوسیت‌های T را تقویت نموده، در نتیجه ایمنی سلولی را افزایش می‌دهد (6).

نتایج این تحقیق نشان داد که اثر افزودن عصاره گیاهان آویشن و سرخارگل به جیره بر تراکم و حجم گلبول‌های قرمز خون و میانگین هموگلوبین هر گلبول قرمز (MCH) معنی‌دار نبود. در آزمایشی مشابه، میزان گلبول قرمز خون در جوجه‌های گوشتی با افزایش سطوح مختلف عصاره آویشن، کاهش یافت که علت آن کاهش میزان اسید فولیک جذب شده از خوراک ذکر شده است. به این صورت که به دلیل اثرات ساپونین آویشن بر روی پرزهای روده، اسید فولیک خوراک، کمتر در دسترس بدن جوجه‌ها قرار می‌گیرد و جوجه‌ها علایم کم‌خونی را نشان می‌دهند (17). گزارش شده است سطوح بالای ساپونین (از مواد موثره عصاره آویشن) می‌تواند قطر پرزهای روده را کاهش دهد. کاهش قطر پرزها باعث کاهش نفوذپذیری روده به ملکول‌هایی مانند فریتین می‌شود. فریتین نیز بر میزان هموگلوبین و درصد هماتوکریت تأثیرگذار است. از سوی دیگر، کاهش نفوذپذیری روده‌ای در جذب سایر مواد مغذی دخیل در کم‌خونی مانند اسید فولیک اختلال ایجاد می‌کند (28).

در تحقیق حاضر، غلظت چربی‌های خون به طور معنی‌دار در تیمارهای مصرف کننده عصاره‌های آویشن و سرخارگل کاهش یافت. علت کاهش میزان چربی‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با عصاره‌های آویشن و سرخارگل می‌تواند به علت خاصیت کاهش دهنده چربی خون در این گیاهان باشد که حاصل تعامل و اثر هم‌کنش افزایی (سینرژیستیک) چند ماده موثر نظیر فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و آلکامیدها می‌باشد (20). به علاوه، ترپنوئیدهای موجود در اسانس گیاهان دارویی نظیر آویشن و سرخارگل با مهار آنزیم

نتایج تحقیق اخیر افزایش ضریب تبدیل غذایی را با مصرف سرخارگل و مخلوط سرخارگل و آویشن نشان داد. در یک پژوهش افزودن مخلوط عصاره‌های آویشن و دارچین، ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های مصرف کننده این مخلوط را به طور معنی‌دار کاهش داد. محققین دلیل این بهبودی را تأثیر ماده موثره موجود در این گیاهان دارویی در تحریک فرآیند هضم و خاصیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها علیه باکتری‌های روده گزارش نمودند (2). در تحقیق دیگر، استفاده از عصاره آویشن تأثیر معنی‌دار بر ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی نداشت (29).

در این مطالعه، پرورش پرندگان در محیطی ضد عفونی شده و با رعایت کلیه نکات بهداشتی انجام شد. علاوه بر آن، تراکم گله نیز در حد مطلوب 10 پرنده در هر مترمربع بود، بنابراین، ممکن است عدم تأثیر مثبت عصاره‌های گیاهی آویشن و سرخارگل بر وزن بدن و مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی به دلیل شرایط بهداشتی محیط آزمایش باشد. گزارش شده است که ترکیبات افزودنی محرک رشد نظیر افزودنی‌های گیاهی از طریق مکانیسم حذف رقابتی، سبب جلوگیری از رشد و تکثیر باکتری‌های بیماری‌زا می‌شوند. رشد و تکثیر عوامل بیماری‌زا در شرایط پرورشی نامطلوب نظیر تراکم بالای گله، رعایت نکردن مسایل بهداشتی و بروز تنش‌های محیطی و رفتاری افزایش می‌یابد و در این شرایط، استفاده از ترکیبات محرک رشد نظیر عصاره‌های گیاهی، ممکن است تأثیر مطلوب‌تری بر عملکرد پرندگان داشته باشند (26).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره سرخارگل سبب افزایش معنی‌دار ضریب تبدیل جوجه‌های گوشتی می‌شود که با نتایج پژوهش رحیمی و همکاران (23) موافق بود. ضریب تبدیل خوراک جوجه‌ها به افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک روزانه آنها بستگی دارد. یک توضیح برای این نتیجه این است که عصاره سرخارگل به دلیل تحریک سیستم ایمنی و هدایت مصرف انرژی خوراک به این سمت، موجب افت افزایش وزن روزانه در تیمار خود شده است، در نتیجه باعث افزایش ضریب تبدیل خوراک در این تیمار گردید.

در تحقیق حاضر افزودن عصاره گیاهان دارویی باعث افزایش غیرمعنی‌دار وزن غده بورس فابریسیوس جوجه‌ها شدند و البته تأثیر معنی‌داری بر وزن طحال آن‌ها نداشتند. از آن جایی که عمده‌ترین عامل تعیین کننده رشد قطعات لاشه از جمله طحال، ژنتیک می‌باشد (8) بنابراین، چون جوجه‌های مورد استفاده در این تحقیق به صورت تجاری تولید شده و پایه ژنتیکی بسیار نزدیکی دارند، عدم وجود اختلاف معنی‌دار در وزن این اندام‌ها منطقی به نظر می‌رسد.

اثر افزودن عصاره گیاهان دارویی آویشن و سرخارگل به جیره بر

اثر فعالیت دِآمیناسیونی میکروب‌های مضر روی پروتئین و اسیدهای آمینه مصرفی و نیز افزایش سرعت تجزیه آن‌ها در اثر ترشح موادی از قبیل آنزیم اوره‌آز توسط میکروب‌ها می‌باشد. با توجه به اینکه کاربرد گیاهان دارویی موجب کاهش جمعیت میکروبی مضر دستگاه گوارش می‌گردد، بنابراین، سرعت تجزیه پروتئین و اسیدهای آمینه مواد گوارشی کاهش یافته و مقادیر بیشتری از آن‌ها در بدن ذخیره شده، موجب کاهش تبدیل پروتئین به چربی گردیده و مقادیر کمتری چربی نیز می‌تواند در بدن تجمع یابد (14).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مصرف عصاره‌های الکلی آویشن و سرخارگل تأثیری بر میزان مصرف خوراک و ویژگی‌های لاشه جوجه‌های گوشتی نداشت ولی، باعث افزایش ضریب تبدیل غذایی آن‌ها شد. افزودن عصاره‌های الکلی آویشن و سرخارگل به تنهایی و به صورت مخلوط به جیره توانست به طور چشم‌گیری عیار آنتی‌بادی علیه آنفولانزا را در جوجه‌ها افزایش دهد ولی، مصرف عصاره آویشن به تنهایی باعث کاهش عیار آنتی‌بادی علیه نیوکاسل شد. از طرفی، مصرف عصاره‌های آویشن و سرخارگل باعث افزایش غیرمعنی‌دار وزن غده بورس فابریسیوس شد. همچنین، افزودن عصاره‌های آویشن و سرخارگل به جیره باعث کاهش معنی‌دار در غلظت لیپیدهای خون جوجه‌های گوشتی گردید.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاون پژوهشی و مدیریت دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبدکاووس به جهت حمایت مالی و تهیه امکانات آزمایشگاهی و همچنین کارکنان مرغداری شرکت کوهپایه فاضل‌آباد قدردانی می‌گردد.

HMG-CoA باعث کاهش معنی‌دار غلظت کلسترول و لیپوپروتئین‌ها با چگالی خیلی پایین می‌شوند (9). انسولین سبب افزایش سنتز اسیدچرب در سلول‌های کبدی می‌شود. اسیدچرب توسط لیپوپروتئین به سلول چربی منتقل شده و در آن جا ذخیره می‌شود. هورمون انسولین همچنین سبب مهار عمل آنزیم لیپاز حساس به هورمون و مهار هیدرولیز تری‌گلیسریدهای ذخیره شده در سلول‌های چربی می‌شود. بنابراین، به نظر می‌رسد در این آزمایش استفاده از عصاره گیاهان آویشن و سرخارگل با خاصیتی شبه انسولین، مانع تجزیه چربی‌های ذخیره‌ای و در نتیجه مانع آزاد شدن آن در خون گردیده‌اند. کاهش غلظت تری‌گلیسریدهای سرم در اثر افزودن مواد فعال آویشن به جیره در پژوهش مشابه‌ای نیز گزارش شده است که نتیجه‌گیری گردید نقش تیمول و کارواکرول در کاهش لیپیدهای خون ممکن است از طریق تأثیرشان در ممانعت از فعالیت آنزیم‌های کبدی دخیل در سنتز کلسترول و اسیدهای چرب باشد (2).

کاهش میزان پروتئین تام سرم خون جوجه‌های گوشتی در تحقیق حاضر احتمالاً ناشی از کاهش فعالیت کبد در اثر کاهش وزن آن در گروه‌های دریافت‌کننده سرخارگل و آویشن در مقایسه با گروه شاهد باشد که در تحقیق مشابه‌ای نیز مشاهده شده است (5).

در پژوهشی نشان داده شد که استفاده از عصاره سرخارگل در سطوح صفر، 0/5، 1، 1/5، 2 و 2/5 میلی‌لیتر در لیتر آب آشامیدنی از روز پنجم تا پایان 42 روزگی بر بازده لاشه، وزن سینه، وزن ران، وزن بال، وزن سنگدان، وزن کبد و وزن چربی محوطه شکمی، تأثیر معنی‌دار نداشت (7) که غیر از وزن ران، با سایر نتایج این تحقیق همسو است. در پژوهش حاضر، از لحاظ عددی استفاده از مخلوط عصاره گیاهان دارویی نسبت به گروه شاهد باعث کاهش چربی محوطه شکمی گردید (جدول 7). این کاهش می‌تواند مرتبط با اثرات ضد میکروبی گیاهان دارویی مورد استفاده باشد زیرا بر اساس نتایج سایر محققین، از جمله معایب وجود میکروب‌های مضر در دستگاه گوارش، افزایش تجزیه پروتئین و اسیدهای آمینه مواد گوارشی در

منابع

1. Alçiçek, A., M. Bozkurt, and M. Çabuk. 2003. The effect of an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. *South African Journal of Animal Science*, 33 (2): 89-94.
2. Al-Kassie, G.A.M. 2009. Influence of two plant extracts derived from thyme and cinnamon on broiler performance. *Pakistan Veterinarian Journal*, 29 (4): 169-173.
3. Allen, P.C. 2003. Dietary supplementation with Echinacea and development of immunity to challenge infection with coccidian. *Animal and Natural Resources Institute*, 91: 74-78.
4. Bauer, R. 1996. Echinacea drugs, effects and active ingredients. *Zeitschrift Fur Arztliche Fortbildung*, 90: 111-115.
5. Chen, H.L., D.F. Li, B.Y. Chang, L.M. Cong, J.D. Dai, and G.F. Yi. 2003. Effects of Chinese herbal polysaccharides on the immunity and growth performance of young broiler. *Poultry Science*, 82: 364-370.
6. Christake, E., P. Paneri, I. Giannenas, M. Papazahariadou, N.A. Botsoglou, and A.B. Spais. 2004. Effect of mixture of herbal extract on broiler chicken infected with eimeriatenella. *Animal Research*, 53: 137-144.
7. Debersac, P., M.F. Vernevaux, M.J. Amiot, M. Suschetet, and H. Siess. 2001. Effects of water-soluble extract of thyme and it's purified component in rat liver. *Food and Chemical Toxicology*, 29: 109-117.

8. Donaldson, W.E. 1985. Lipogenesis and body fat in chickens. *Poultry Science*, 64: 1199-1204.
9. Elson, C.E. and Y.G. Yu. 1994. The chemoprevention of cancer by mevalonate-derived constituents of fruits and vegetables. *Journal of Nutrition*, 124: 607-14.
10. Griffin, D.E. and W.J. Bellini. 2002. Measles virus. In: Knipe DM and Howley PM (Eds.). *Fields virology*. 4thedn., Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins, Pp. 1267-312.
11. Jamroz, D., J. Wertleki, A. Orda, A. Wilicziewicz, and J. Skorupińska. 2003. Influence of phatogenic extracts on gut microbial status in chickens. In: *Proceedings of 14th European Symposium on Poultry Nutrition*, August, Lillehammer, Norway, 176p.
12. Jouri, M.H. and M. Mahdavi. 2010. *Practical determining of pasture plants*. 1stedition, Ayizh Publication, Tehran, Iran, 436p (In Persian).
13. Kondera, E., A. Dmowska, M. Rosa, and M. Witeska. 2012. The effect of bleeding on peripheral blood and head kidney hematopoietic tissue in common carp (*Cyprinus carpio*). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 36 (2): 169-175.
14. Lee, K., H. Everts, and A.C. Beyen. 2003. Dietary carvacrol lowers body gain but improves feed conversion in female broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 12: 394-399.
15. Lopez-Bote, C.J., J.I. Gray, E.A. Gomaa, and C.J. Flegat. 1998. Effect of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat. *British Poultry Science*, 39: 235-240.
16. Luettig, B., C. Steinmüller, G.E. Gifford, H. Wagner, M. and L. Lohmann-Matthes. 1989. Macrophage activation by the polysaccharide arabinogalactan isolated from plant cell cultures of *Echinacea purpurea*. *Journal of the National Cancer Institute*, 81(9): 669-75.
17. Mohan, B.R., R. Kadirvel, and M. Bhaskaran. 1996. Effect of prebiotic supplementation on growth nitrogen utilization and serum factors in broilers. *Poultry Science*, 37: 395-401.
18. Mozaffarian, V. 1986. *Glossary of Iran's plants*. 1st edition, Farhang-e-Moaaser Publication, Tehran, Iran, 173p (In Persian).
19. Najafi, P. and M. Torki. 2010. Performance, blood metabolites and immunocompetence of broiler chicks fed diets included essential oils of medicinal herbs. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9: 1164-1186.
20. Nasiroleslami, M. and M. Torki. 2010. Including essential oils of *Echinacea purpurea* and thyme to diet and evaluating performance of laying hens, white blood cell count and egg quality characteristics. *Journal of Advances in Environmental Biology*, 4 (3): 341-345.
21. Nourizadeh, A., T. Mirzapor, K. Ghasemi, and M. Razavi. 2004. Antibacterial properties of spearmint, thyme, licorice, pennyroyal, camomile and serviceberry. *Daneshvar Pezeshki*, 52: 67-72 (In Persian).
22. Ocak, N., G. Erener, F. Burak, M. Sungu, A. Altop, and A. Ozmen. 2008. Performance of broilers fed diets supplemented with dry peppermint (*Menthapiperita* L.) or thyme (*Thymus vulgaris* L.) leaves as growth promoter source. *Czech Journal of Animal Science*, 53(4): 169-175.
23. Rahimi, S., Z. TeymouriZadeh, M.A. KarimiTorshizi, R. Omidbaigi, and H. Rokni. 2011. Effect of the three herbal extracts on growth performance, immune system, blood factors and intestinal selected bacterial population in broiler chickens. *Journal of Agriculture Science and Technology*, 13: 527-539.
24. Rojhan, M.S. 2000. *Drugs and herbal medicine*. 1stedition Alavi Publication, Tehran, Iran, 311p (In Persian).
25. RoustaeAlimehr, M., B. GhahramaniZahraei, and M. HaghighianRudsari. 2012. Effect of *Echinacea purpurea* extract on performance, cellular and humoral immune responses of broiler chickens. *Iran Veterinary Journal*, 9 (2): 60-70 (In Persian).
26. Sarica, S., A. Ciftci, E. Demir, K. Kilinc, and Y. Yıldırım. 2005. Use of an antibiotic growth promoter and two herbal natural feed additives with and without exogenous enzymes in wheat based broiler diets. *South African Journal of Animal Science*, 35: 61-72.
27. Schulte, K.E., G. Rucker, and J. Perlick. 1967. The presence of polyacetylene compounds in *Echinacea purpurea* and *Chinaceaangustifolia* DC. *Arzneimittel forschung*, 17: 825-829.
28. Seemnan, P., D. Cheng, and G.F. lies. 1973. Structure of membrane holes in, osmotic and saponin hemolysis. *Journal of Cell Biology*, 56: 519 - 27.
29. Thakar, N.M., D.M. Chairmam, A.R. McElroy, C.L. Novak, and R.L. Link. 2004. Pharmacological screening of some medicinal plants as antimicrobial and feed additives. MSc Thesis. Department of Animal Science. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia USA, 73p.



Evaluation of the Effect of Adding Coneflower and Thyme Extracts to Diet on Performance, Carcass Characteristics, Blood Parameters and Immunity Status of Broiler Chickens

Reza Farrokhnia¹, Farid Moslemipur^{2*}, Shahriar Maghsoudlou², Farzad Ghanbari²

Received: 11-02-2018

Accepted: 12-06-2019

Introduction: Nowadays, there is an increasing interest to use organic compounds in broiler chicken diets instead of antibiotics and other feed additives may cause deleterious effects on the poultry products consumers. Using medicinal plants have different effects on broiler life such as improving feed efficiency, augmentation of immunity, producing more desirable carcass and so on. The goal of this study was to investigate the effect of adding coneflower and thyme alcoholic extracts to diet on performance, carcass characteristics, internal organs weights and also some blood and immunity parameters of broiler chickens.

Materials and methods: One hundred-sixty 1-d-old chickens (male and female) were randomly divided into four treatment groups with four replicates in each, and reared for 42 days. The treatments were: 1- control (basal diet formulated according to Cobb500 nutrients recommendation), 2- adding 0.2% thyme extract into basal diet, 3- adding 0.2% coneflower extract into basal diet, and 4- adding 0.2% of thyme+ 0.2% of coneflower extracts into the respective basal diets; starter (1-10 d), grower (11-23 d) and finisher (24-42 d) that were fed to the birds from the beginning. Experimental plants extracts were collected via UV-extraction method by ethanol followed by the rotary evaporation to eliminate the diluent. All the feeding and vaccination programs of chickens were in accordance with Cobb500 commercial strain recommendations. Feed intake, weight gain and feed conversion ratio of chickens were weekly recorded. At the end of the study, one bird of each replicate was slaughtered for carcass analysis and blood sampling. Blood parameters were assayed via spectrophotometer. Carcass parts and internal organs weights were expressed as a percent of carcass weight. The antibody titers against Newcastle and Influenza diseases were assayed. Data were analyzed as a completely randomized design and the means comparison was performed by least significant different test.

Results and Discussion: Results showed that the effect of treatments on the amounts of feed intake and weight gain of chickens over the study. Feed conversion ratio of chickens was significantly affected by the treatments where the lowest was observed in control group and the highest in coneflower group. Carcass traits (the weights of empty carcass, breast, thighs, abdominal fat and back) and internal organs weights (liver, heart, lungs, intestines and gizzard) were not affected by the treatments. The weights of body organs are basically affected by genetic potential that the used chickens were very close in this sight of view, and weight gain also among groups was not significantly different. Effect of treatments on antibody titers against Newcastle and influenza was significant. The lowest antibody titer against Newcastle and the highest against influenza were observed in thyme group. Both of coneflower and thyme were showed having stimulatory effect on antibody production in poultry, but the different effects observed in the present study may be due to the epidemic of diseases and also the hygienic conditions of the farm. Adding coneflower and thyme into the diet increased the bursa of fabricius weight of chickens than the control, but it had no significant effects on spleen weight. It should be mentioned that the chickens in the present study were vaccinated according to the provider company recommendations and also a coccidiostat compound was used in the diet that they together can obstruct or interrupt on the expected beneficial effects of coneflower and thyme on immune parameters. Adding thyme and coneflower into the diet caused a marked decrease in blood lipids concentrations. One of the desired properties of medicinal plants is lowering the blood's and carcass's lipids that was observed in the present study. It is reported that these plants have some components suppressing the lipids synthesis in liver and also other ones effect on lipase enzymes activity in tissues. The treatments had no significant effects on the hematological

1- M.Sc., Dept. of Animal Science, University of Gonbad Kavoos, Iran

2- Assistant Professor, Dept. of Animal Science, University of Gonbad Kavoos, Iran

(*- Corresponding Author Email: Moslemipurf@gonbad.ac.ir)

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.70937

parameters of chickens. Whereas there were no significant differences in the amount of daily feed intake and weight gain of chickens and also all of the environmental conditions for chicken were the same, therefore none of hematological parameters were affected by the treatments.

Conclusion: Generally, adding coneflower and thyme extracts into the diets of chickens had not significant effects on their growth performance in the overall period of the experiment and carcass traits as well. Using coneflower and thyme extracts in broilers diets has a booster effect on the antibody titer against influenza, while no positive effects were observed for Newcastle disease. Adding coneflower and thyme extracts into the diet of chickens prominently decreased the all types of blood lipids. No synergistic effects were observed between coneflower and thyme extracts wherever they had a significant effect on assayed parameters.

Keywords: Blood's lipids, Broiler chicken, Immunity, Medicinal plants, Performance



اثر عصاره گیاه چای ترش بر سامانه ایمنی، وضعیت پاداکسیدانی پلاسما، تعادل اکسیدانی و فراسنجه‌های عملکردی و بیوشیمیایی خون مرغ‌های تخم‌گذار مسن

شهین ثابت سروستانی¹، سید محمد حسینی^{2*}، سید همایون فرهنگ‌فر³

تاریخ دریافت: 1397/10/01

تاریخ پذیرش: 1398/04/03

چکیده

از آن‌جا که دانش کافی درباره غلبه بر شرایط پرتنش طبیعی، با کمترین هزینه و بدون عوارض جانبی، در مرغ‌های تخم‌گذار مسن وجود ندارد، دو آزمایش با هدف بررسی اثر عصاره گیاه چای ترش، به عنوان یک پاداکسیدان طبیعی، بر سامانه ایمنی، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، وضعیت پاداکسیدانی پلاسما و تعادل اکسیدانی مرغ‌های تخم‌گذار مسن در دوره‌های تولک و پس از تولک و نیز ارزیابی صفات عملکردی و کلسترول زرده تخم-مرغ‌های تخم‌گذار در مرحله دوم تولید (بعد از تولک) طراحی شد. بعد از تعیین خواص پاداکسیدانی در مرحله پیش آزمایش، هر یک از آزمایش‌های اصلی با 200 قطعه مرغ تخم‌گذار سویه های -لین W-36 در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. در هر دو آزمایش، 5 تیمار آزمایشی به ترتیب شامل جیره شاهد، جیره پایه به همراه 300 و 700 میلی گرم در کیلوگرم عصاره برگ و جیره پایه با 300 و 700 میلی گرم در کیلوگرم عصاره کاسبرگ بود. برخلاف دوره پس از تولک، تلاش برای افزایش پایداری اکسیداتیو در دوره تولک موفقیت آمیز بود، به طوری که کاسبرگ چای ترش در سطوح 300 و 700 میلی گرم در کیلوگرم تعادل اکسیدانی و ظرفیت کل پاداکسیدانی پلاسمای مرغ‌های تخم‌گذار تولک رفته را به طور معنی داری بهبود بخشید. همچنین کاهش معنی دار گلوکز، کلسترول و تری گلیسرید خون در دوره پس از تولک و کاهش معنی دار کلسترول و تری گلیسرید خون در دوره تولک به وسیله سطح 700 میلی گرم در کیلوگرم عصاره برگ چای ترش مشاهده گردید. چای ترش بر صفات عملکردی و سامانه ایمنی تأثیر معنی داری نداشت.

واژه‌های کلیدی: تولک‌بری، تیترانتی‌بادی، چای ترش، مالون‌دی‌آلدهید.

مقدمه

متحمل می‌شوند و بدن آن‌ها حساس به اثرات محیطی خارجی است که به کاهش عملکرد آن‌ها منجر می‌شود (6). در صنعت پرندگان اهلی، محدود کردن استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد نگهدارنده مصنوعی، بازگشت بیماری‌های عفونی و خسارت‌های اقتصادی را برای مرغدار به دنبال دارد (13). به همین دلیل، امروزه کاربرد داروهای گیاهی علاقه فزاینده‌ای را به وجود آورده است (79). یکی از این گیاهان، چای ترش (هیپیسکاس سابداریفا²) نام دارد که در ایران به نام‌های چای قرمز و چای مکی نیز معروف است و غنی از اسیدهای آلی (اسید سیتریک، اسید آسکوربیک، آراشیدیک، استتاریک و اسید مالیک)، پلی فنول‌ها (روتین، ایزوگوئرسیتین، آنتوسیانین، اسید فنولیک، فلاونوئید)، فیتوسترول‌ها (بتا-سیتوسترول و ارگوسترول)، پکتین و فیتواستروژن‌ها (گوئرسیتین³ و دیدزین⁴) می باشد (36، 59).

تولک‌بری که یک تصمیم اقتصادی ضروری در صنعت پرندگان اهلی است، معمولاً فراتر از یک پرریزی دوره‌ای است، زیرا به غیر از تغییرات فیزیولوژیکی در سیستم تولیدمثل پرنده (38)، تغییر در نرخ متابولیسم (56) و افزایش در میزان عفونت (12) و نسبت هتروفیل به لنفوسیت (18) در این شرایط پرتنش رخ می‌دهد. گزارش شده است که بهبود جیره مرغ‌های تخم‌گذار در دوره تولک، می‌تواند به احیای سریعتر و عملکرد مطلوب‌تر آن‌ها بعد از تحمل تنش‌های این دوره، کمک کند (8، 43). علاوه بر دوره تولک، در فاز آخر تولید نیز، همزمان با افزایش سن، مرغ‌های تخم‌گذار تنش اکسیداتیو زیادی را

1 - دانش آموخته دکتری، گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند

2 - دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند

3 - استاد، گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند

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

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.77717

2- *Hibiscus sabdariffa*

3- Quercetin

4- Daidzein

90 هفتگی) در نظر گرفته شد که از نظر تولید، پرندگان در سه هفته اول پس از تولد بین 5 تا 50 درصد تولید و در سه هفته دوم در مرحله 50 درصد تا پیک تولید بودند. دمای سالن در 23 درجه سانتی-گراد تنظیم شد و برنامه نوری، 16 ساعت تاریکی و 16 ساعت روشنائی به ترتیب برای دوره‌های تولد و پس از تولد بود. محرومیت از غذا و تاریکی در 3 روز اول دوره تولد اعمال شد. سپس به مدت یک هفته، 20 گرم خوراک (10 گرم سبوس گندم + 10 گرم پودر پوسته صدف) به ازای هر پرنده (جیره 1: جدول 1) داده شد و بعد از آن پرندگان با جیره غذایی دومی به مدت 20 روز تا رسیدن به سطح تولید 5 درصد (جیره 2: جدول 1) تغذیه شدند. این جیره غذایی با 50 گرم به ازای هر پرنده آغاز شد و هر 2 روز 10 گرم اضافه شد تا مصرف خوراک روزانه هر پرنده به 100 گرم رسید. در آزمایش پس از تولد نیز روزانه به ازای هر پرنده، 100 گرم خوراک در اختیار مرغ‌ها قرار گرفت. در انتهای دوره هر آزمایش، پنج سی‌سی خون از ورید بال دو پرنده از هر تکرار در لوله‌های دارای ماده ضد انعقاد جمع‌آوری شد و بعد از سانتریفیوژ با دور 3000 در دقیقه به مدت 15 دقیقه، پلاسما جمع‌آوری گردید. میزان MDA به عنوان شاخص پاداکسیدانی در پلاسمای خون (77) و زرده تخم‌مرغ (16) 2 نمونه از هر تکرار به وسیله اسپکتوفتومتری اندازه‌گیری شد. اساس روش اندازه‌گیری MDA، واکنش با اسید تیوباربیتریک (TBA) و اسید تری کلرواستیک (TCA)، اندازه‌گیری جذب اسپکتروفتومتری و مقایسه جذب با منحنی استاندارد بود. نمونه پلاسمای خون (200 میکرولیتر) با 2 سی‌سی از محلول اسید تیوباربیتریک مخلوط و به مدت 30 دقیقه در حمام آب گرم با دمای 80 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن و افزودن 2 سی‌سی بوتانول به لوله آزمایش، به مدت 10 دقیقه در دور 3000 سانتریفیوژ شد تا دو لایه جدا شده و جذب لایه رویی در 531 نانومتر خوانده شود. در مورد زرده تخم‌مرغ، 2 گرم از نمونه زرده با 18 میلی‌لیتر محلول آبی اسید تری کلرواستیک (3/86 درصد) به طور کامل همگن و از کاغذ صافی عبور داده شد. سپس، 2 سی‌سی از محلول تهیه شده با 2 سی‌سی از محلول اسید تیوباربیتریک (0/8 درصد) مخلوط و به مدت 30 دقیقه در حمام آب گرم با دمای 80 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن، جذب نمونه‌ها در 531 نانومتر خوانده شد. ظرفیت کل پاداکسیدانی پلاسما نیز، با استفاده از دستگاه جذب نوری اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری گردید. کیت مورد استفاده، از شرکت راندوکس ساخت کشور انگلیس (شماره NX 2331)، طول موج و دمای مورد استفاده، به ترتیب، 600 نانومتر و 37 درجه سانتی‌گراد بود (44). برای مقایسه عملکرد سامانه ایمنی بین تیمارها، در انتهای هر آزمایش، خون‌گیری از ورید بال 8 مرغ از هر تیمار به منظور اندازه‌گیری نسبت هتروفیل به لنفوسیت (H/L) و عیار پادتن در برابر ویروس نیوکاسل با استفاده از روش مهار هم‌آگلوتیناسیون (HI) انجام شد.

73). فواید گوناگونی به این مواد شیمیایی گیاهی نسبت داده می‌شود که شامل ویژگی‌های ضدباکتریایی، استروژنی، پاداکسیدانی و همچنین تنظیم سوخت و ساز چربی است (54، 75). در جوجه‌های گوشتی، تأثیر منفی آفاتوکسین بر اندام‌های داخلی بدن، پاسخ ایمنی و عملکرد تولیدی (46) و در مرغ‌های تخم‌گذار تأثیر منفی تنش گرمایی بر نسبت هتروفیل به لنفوسیت و نرخ مرگ و میر به وسیله چای ترش کاهش یافت (45). هیچ گزارشی درباره مکمل کردن کاسبرگ و به ویژه برگ چای ترش در جیره مرغ‌های تخم‌گذار مسن در شرایط پرورش طبیعی مثل دوره‌های تولد و پس از تولد منتشر نشده است. از آنجا که تنش باعث افزایش نیاز به پاداکسیدان‌ها (15)، کاهش تولید (60) و افت عملکرد ایمنی بدن (42) می‌شود، این پژوهش، به منظور بررسی اثر عصاره آبی-الکلی کاسبرگ و برگ چای ترش، به عنوان پاداکسیدان‌های طبیعی، بر فراسنجه‌های عملکردی و بیوشیمیایی خون، کلسترول و تری‌گلیسرید زرده تخم-مرغ، تعادل اکسیدانی، کل ظرفیت پاداکسیدانی پلاسما و سامانه ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار مسن در دوره‌های تولد و پس از تولد طراحی شد.

مواد و روش‌ها

کاسبرگ و برگ چای ترش از جهاد کشاورزی شهرستان دلگان واقع در استان سیستان و بلوچستان خریداری شده و در مجاورت هوا و در سایه خشک و سپس آسیاب شد. برای تهیه عصاره آبی-الکلی، 10 گرم از ماده مورد نظر با 70 میلی‌لیتر آب مقطر استریل و 30 میلی‌لیتر الکل (اتانول 96 درصد) به مدت 24 ساعت توسط دستگاه همزن مخلوط شده و در نهایت توسط کاغذ صافی صاف گردید (5). در مرحله پیش آزمایش، مقدار کل ترکیبات فنولیک با استفاده از روش اسید گالیک و معرف فولین سیکالتو (17)، آنتوسیانین با استفاده از روش تغییرات pH (67)، پاداکسیدان کل با استفاده از روش DPPH (70) و ویتامین C با استفاده از روش تیتراسیون (64) در کاسبرگ و برگ چای ترش اندازه‌گیری شد. هر یک از آزمایش‌های اصلی، به صورت جداگانه، در سالن 40 هزار قطعه‌ای پرورش تجاری مرغ تخم‌گذار سویه "های لاین W-36" واقع در استان خراسان جنوبی (شهرستان سربیشه)، مجتمع کشت و صنعت بیدمشک، در قالب طرح کاملاً تصادفی با 5 تیمار، 4 تکرار و 10 پرنده در هر تکرار انجام شد. 5 تیمار آزمایشی به ترتیب شامل جیره شاهد (جیره پایه)، جیره پایه به همراه 300 و 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ چای ترش و جیره پایه با 300 و 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره کاسبرگ چای ترش انجام شد. جیره شاهد بر پایه ذرت-سویا بر اساس یک جیره تجاری آماده شد. مدت آزمایش، در دوره تولد 4 هفته (80 تا 84 هفتگی) و در دوره تولید پس از تولد 6 هفته (84 تا

جدول 1- اجزای مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه
Table 1- The ingredients and chemical composition of basal diet

مواد خوراکی (درصد) Ingredients(%)	پس از تولک Post molting		تولک Molting	
	50 درصد تا پیک تولید 50 % to production peak		جیره 2 Diet 2	جیره 1 Diet 1
	5 تا 50 درصد تولید 5 to 50% production			
ذرت Corn	47.00	50.40	55.35	-
سبوس گندم Wheat bran	-	-	-	50.00
سویا Soybean	25.40	24.50	22.30	-
جو Barley	11.00	8.50	10.00	-
سبزینه ¹ Organic herbal powder ¹	1.00	1.50	1.50	-
روغن سویا Soybean oil	2.20	1.80	1.50	-
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.90	1.72	1.75	-
کلسیم کربنات (پودر صدف) Calcium carbonate	9.20	9.00	5.00	50.00
نمک Salt	0.20	0.20	0.20	-
جوش شیرین Sodium bicarbonate	0.15	0.20	0.20	-
بنتونیت Bentonite	0.81	1.01	1.00	-
متیونین Methionine	0.12	0.12	0.15	-
لیزین Lysine	0.10	0.05	0.05	-
ترئونین Threonine	0.075	0.10	0.10	-
کولین Choline	0.05	0.05	0.05	-
مکمل ویتامینه و مینراله ² Vitamin and mineral supplements ²	0.60	0.60	0.60	-
تک ویتامین ها (A,D ₃ ,E,K,B _{complex}) Vitamins (A,E,D ₃ ,K,B _{complex})	0.20	0.25	0.25	-
ترکیب شیمیایی (درصد) Chemical composition (%)				
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم) Energy (kcal/kg)	2675.59	2676.25	2809.27	650.00
پروتئین Protein	16.84	16.48	16.13	7.85
فیبر Fiber	3.58	3.58	3.61	5.50
لیزین lysine	0.91	0.83	0.80	0.22

متیونین + سیستین Methionine + Cysteine	0.77	0.75	0.73	0.19
کلسیم Calcium	4.10	3.99	2.43	19.57
فسفر Phosphorus	0.46	0.42	0.43	0.10
سدیم Sodium	0.134	0.148	0.149	0.025

¹ هر کیلوگرم سبزینه حاوی: 2440 kcal/kg انرژی، 10/9 % پروتئین، 3/3 % چربی و 22/4 % فیبر است.

² هر کیلوگرم مکمل مینراله و ویتامینه حاوی: منگنز 36000 mg/kg، روی 32000 mg/kg، مس 3200 mg/kg، ید 480 mg/kg، سلنیوم 88 mg/kg، آهن 8000 mg/kg، B2 2200 mg/kg، B1 1000 mg/kg، K3 1000 mg/kg، E 8000 Iu/kg، D3 1320000 Iu/kg، A 3200000 Iu/kg، B9 360 mg/kg، B6 12000 mg/kg، B12 9 mg/kg، بیوتین 30 mg/kg، کولین 44000 mg/kg، پاد اکسیدان 3000 mg/kg است.

¹ Each kg of herbal organic powder contains: Energy 2440 Kcal/kg, Protein 10.9%, Fat 3.3%, Fiber 22.4%.

² Each kg of minerals and vitamins supplement contains: Manganese 36000 mg/kg, Zinc 32000 mg/kg, Copper 3200 mg/kg, Iodine 480 mg/kg, Selenium 88 mg/kg, Iron 16000 mg/kg, 3200000 Iu/kg vitamin A, 1320000 Iu/kg vitamin D₃, 1000 mg/kg vitamin K₃, 8000 Iu/kg vitamin E, 1600 mg/kg vitamin B₆, 12000 mg/kg Niacin, 3200 mg/kg Calpan, 1000 mg/kg vitamin B₁, 2200 mg/kg vitamin B₂, 360 mg/kg vitamin B₉, 9 mg/kg vitamin B₁₂, 30 mg/kg Biotin, 3000 mg/kg Antioxidant, 44000 mg/kg Choline.

رویه MIXED مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌داری پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به خواص پاداکسیدانی کاسبرگ و برگ چای ترش در جدول 2 گزارش شده است. اگر چه ویتامین C بیشتری در برگ (2/55 mg/100g) در مقایسه با کاسبرگ (1/40 mg/100g) وجود دارد، اما فعالیت پاداکسیدانی شامل پاداکسیدان کل، فنول و آنتوسیانین در کاسبرگ از برگ بیشتر بود که با یافته‌های موهد-ایسا و همکاران (47) هماهنگ است. در دوره پس از تولد، اثر عصاره کاسبرگ و برگ چای ترش بر MDA پلاسما و زرده تخم‌مرغ معنی‌دار نبود، اما سطح MDA به وسیله همه تیمارهای آزمایشی کاهش یافت (جدول 3) که احتمالاً به دلیل خواص پاداکسیدانی چای ترش می‌باشد (51). در این دوره، پایین‌ترین سطح MDA در پلاسما و زرده به ترتیب با مکمل شدن سطوح 300 و 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره کاسبرگ چای ترش به دست آمد که پاسخی غیر وابسته به دوز بود. اثرات مستقل از دوز عصاره کاسبرگ شاید به علت نرخ شدید متابولیسم و دفع آنتوسیانین‌ها (72) باشد که مهم‌ترین پلی-فنول‌های موجود در کاسبرگ چای ترش می‌باشد. اشباع شدن مکانیزم‌های حمل و نقل خاص به دلیل وجود غلظت‌های بالایی از چندین پلی‌فنول در عصاره نیز می‌تواند سبب نفوذپذیری پایین مخلوط پلی‌فنول‌های پیچیده چای ترش از راه سد روده شده باشد (27). کاهش بیشتر MDA به وسیله کاسبرگ در مقایسه با برگ را می‌توان به مقدار بالاتر آنتوسیانین، فنول کل و پاداکسیدان کل در کاسبرگ نسبت داد (جدول 2). در دوره تولد، تلاش برای افزایش پایداری

گلوکز و لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL)¹ در پایان دوره هر آزمایش، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اتوانالایزر (Chem Gesan 200, Italy) و کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون ایران اندازه گیری شد. لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL)² با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد که در آن TC بیانگر کلسترول تام خون است (19).

$$LDL = 3/4 (TC - HDL)$$

در مرحله پس از تولد، تخم‌مرغ‌های تولیدی هر تکرار به طور روزانه جمع‌آوری و تعداد آن‌ها در طی 6 هفته ثبت گردید. سپس، درصد تخم‌گذاری در کل دوره محاسبه شد. توده تخم‌مرغ تولیدی از حاصلضرب درصد تولید در میانگین وزن تخم‌مرغ واحد آزمایشی و ضریب تبدیل خوراک هفتگی از تقسیم خوراک مصرفی هفتگی یک واحد آزمایشی به توده تخم‌مرغ تولیدی آن واحد در همان هفته، محاسبه گردید (50). به منظور اندازه‌گیری سطح کلسترول و تری-گلیسرید زرده در انتهای هفته‌های 3 و 6 آزمایش، از هر تیمار به طور تصادفی 8 نمونه انتخاب و پس از جدا کردن زرده و مخلوط نمودن آن‌ها، 2 نمونه از هر تکرار جدا و به وسیله کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون ایران با روش آنزیمی لوهمن (39)، غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید زرده تعیین شد. در این روش، ابتدا دقیقاً 1/00 گرم زرده با 50 میلی‌لیتر سود (NaOH با مولاریته 0/05) مخلوط و سپس این مخلوط توسط 50 میلی‌لیتر اسید کلریدریک (HCl با نرمالیه 0/25) خنثی شد. در مرحله بعد، حدود یک میلی‌لیتر از محلول را برداشته و به دستگاه اسپکتروفتومتر اتوانالایزر (Gesam Chem 200, Italy) تزریق گردید. داده‌های آزمایش پس از ورود به برنامه اکسل، به وسیله نرم افزار SAS نسخه 9.4 (62) و

1- High Density Lipoprotein (HDL)

2- Low Density Lipoprotein (LDL)

یکدیگر عمل می‌کند، به طوری که، تقویت پاسخ ایمنی هومورال موجب تضعیف پاسخ ایمنی سلولی می‌شود. لنفوسیت‌های T نیز، در اثر برخورد با یک عامل عفونی به دو دسته اصلی تبدیل می‌شود که به صورت دو طرفه عمل می‌کند، یعنی تقویت یکی موجب تضعیف دیگری می‌شود. لنفوسیت‌های دسته اول موجب ایجاد پاسخ‌های سلولی شده و در دفاع در برابر ویروس‌ها و باکتری‌های داخل سلولی، تومورها و عفونت‌های التهابی نقش اساسی بازی می‌کند، در حالی که، پاسخ‌های دسته دوم عمدتاً به لنفوسیت‌های B برای تولید آنتی‌بادی کمک می‌کند (1). در این پژوهش، چای ترش سبب افزایش آنتی-بادی‌ها در مقابل ویروس نیوکاسل شد، در نتیجه تقویت سامانه ایمنی هومورال را به دنبال داشت. اما، با افزایش تکثیر هتروفیل‌ها و کاهش تعداد لنفوسیت‌ها سبب تضعیف سامانه ایمنی سلولی شد. شاید بتوان گفت کاهش لنفوسیتی مشاهده شده مربوط به سلول‌های دسته اول می‌باشد.

در هر دو آزمایش، سطح 300 میلی گرم در کیلوگرم عصاره برگ چای ترش، بهترین تیتراژ آنتی‌بادی را در برابر ویروس نیوکاسل ایجاد کرد. سایر تیمارها نیز بهبود عددی تیتراژ آنتی‌بادی را در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند، اگرچه سطوح پایین‌تر مؤثرتر بودند. در همه تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد، نسبت هتروفیل به لنفوسیت به طور عددی افزایش یافت. افزایش نسبی تیتراژ آنتی‌بادی و نسبت هتروفیل به لنفوسیت با این حقیقت سازگار است که چای ترش علاوه بر پاداکسیدان‌هایی مانند پلی فنول‌ها، دارای ویتامین C (74) است، در حالی که سنتز ویتامین C در پرندگان بالغ دچار استرس ناکافی است (31). علاوه بر تنظیم ایمنی به وسیله پاداکسیدان‌ها (57)، ویتامین C نیز می‌تواند نقش مهمی در بهبود عملکرد سامانه ایمنی بدن ایفا کند (9) و اثرات نامطلوب تنش بر سیستم ایمنی را کنترل کند (24). پایداری غشای لوکوسیت‌ها و بهبود فعالیت فاگوسیتوزی هتروفیل‌ها نیز از فعالیت‌های ویتامین C است (31). در یک پژوهش، عصاره اتانولی کاسبرگ چای ترش کاهش سطح ویتامین C ناشی از مصرف سدیم-آرسنیک را در سرم موش مهار کرد (71). مشابه با این نتایج، خدادادی و رنجبر (32) گزارش کردند که جیره حاوی چای سبز به علت وجود ویتامین C که برای عملکرد صحیح هتروفیل‌ها مورد نیاز است، سبب افزایش میزان هتروفیل در ماهی کپور شد. علاوه بر ویتامین C، بهبود ایمنی هومورال و افزایش هتروفیل می‌تواند به علت تحریک اندام‌های لنفاوی توسط ترکیباتی مانند آلکالوئیدها، ساپونین-ها، تانن‌ها، گلیکوزیدها، فلاونوئیدها، فنول‌ها، استروئیدها و دیگر ویتامین‌هایی که در چای ترش یافت می‌شوند، باشد (40، 48). اوکوکو و اری (52) چای ترش را به عنوان یک گیاه دارای اثرات ایمنی محافظت‌کننده مهم معرفی کرد که می‌تواند مزایای دارویی قابل توجهی داشته باشد. به همین ترتیب، فکی (22) نیز، گزارش کرد عصاره چای ترش در سطوح 50 تا 100 میلی گرم در کیلوگرم، می-

اکسیداتیو پلاسما به وسیله مکمل کردن چای ترش به طور معنی-داری موفقیت آمیز بود که احتمالاً به دلیل تنش بیشتر پرندگان در این دوره، نقص سیستم دفاع پاداکسیدانی و آسیب‌پذیری بیشتر در برابر تنش اکسیداتیو به دنبال مصرف پایین خوراک است. سطح 300 و 700 میلی گرم در کیلوگرم عصاره آبی-الکلی کاسبرگ چای ترش، در دوره تولک، به طور معنی‌داری ظرفیت پاداکسیدانی کل پلاسما را افزایش و سطح MDA پلاسمای خون را کاهش داد ($p<0/05$). اولوگاندودو و همکاران (53) گزارش کردند که افزودن عصاره آنتوسیانین چای ترش به میزان 100 میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، کاهش غلظت MDA را به میزان 22/5، 9/2 و 27/2 درصد، به ترتیب، در پلاسما، کبد و مغز خرگوش به دنبال داشت. به طور مشابه، در موش، افزودن چای ترش به جیره غنی از چربی، باعث کاهش MDA شد (68). تجویز عصاره اتانولی کاسبرگ چای ترش به میزان 200 و 300 میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، باعث کاهش MDA کبد موش تا 37 درصد شد (71). علاوه بر MDA، چای ترش به دلیل ویژگی‌های پاداکسیدانی، تشکیل TBARS را در زرده تخم مرغ و پلاسمای خون مرغ تخم‌گذار (66)، پلاسمای خون موش (14) و شرایط برون تنی (28) مهار کرد که با نتایج این مطالعه هم‌خوانی دارد.

جدول 2- فعالیت پاداکسیدانی چای ترش
Table 2-Antioxidant activity of *Hibiscus sabdariffa*

صفت Traits	چای ترش <i>Hibiscus sabdariffa</i>	
	گاسبرگ Calyx	برگ Leaf
پاداکسیدان کل (درصد) Total antioxidants (%)	61.71	61.21
فنول (میلی گرم در صد گرم) Phenol (mg/100g)	0.80	0.64
آنتوسیانین (میلی گرم در لیتر) Anthocyanin (Mg/l)	183.63	18.33
ویتامین C (میلی گرم در صد گرم) Vitamin C (mg/100g)	1.40	2.55

در هر دو آزمایش، اثر عصاره چای ترش بر سامانه ایمنی معنی‌دار نبود ($p>0/05$) که ممکن است نیاز به افزایش طول مدت مصرف عصاره باشد. از آن‌جا که یک دوره زمانی مشخص برای تأثیر ترکیبات موجود در چای ترش بر سامانه ایمنی لازم است، این احتمال وجود دارد که مصرف عصاره به مدت طولانی‌تر از 6 هفته بتواند در تحریک پاسخ ایمنی مؤثرتر واقع شود. پاسخ‌های ایمنی اکتسابی که به وسیله لنفوسیت‌های T و B ایجاد می‌شود، عمدتاً به صورت دو بازوی متقابل

تواند توانایی تحریک سامانه ایمنی موش را داشته باشد که با یافته‌های این پژوهش هم‌خوانی دارد. از طرف دیگر، در هر دو آزمایش، بهبود نسبی سامانه ایمنی، مشابه وضعیت پاداکسیدانی مرغ‌های تخم‌گذار، غیر وابسته به دوز بود. افزایش فعالیت عصاره‌ها در دوز کم (300 میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با دوز بالا (700 میلی‌گرم بر کیلوگرم) را می‌توان به افزایش قطبیت ناشی از بخش مولکولی آب

نسبت داد که سبب افزایش حلالیت ترکیبات در عصاره و جذب مؤثر عصاره در غلظت رقیق از دستگاه گوارش می‌شود (37). همچنین، در مورد عصاره‌های گیاهی، پاسخ ایمنی همیشه به طور مستقیم با غلظت تنظیم‌کنندگان ایمنی مرتبط نیست و نبود فعالیت وابسته به دوز برای تنظیم ایمنی در تعدادی از پژوهش‌ها گزارش شده است (58) و (69).

جدول 3- اثر عصاره گیاه چای ترش بر وضعیت پاداکسیدانی پلاسما و تعادل اکسیدانی مرغ‌های تخم‌گذار مسن

Table 3- Effect of *Hibiscus sabdariffa* plant extract on plasma antioxidant status and oxidant balance of old laying hens

صفت Traits	واحد Units	دوره	شاهد Control	برگ چای ترش (میلی گرم/کیلوگرم) <i>Hibiscus sabdariffa</i> leaf (mg/kg)		کاسبرگ چای ترش (میلی گرم/کیلوگرم) <i>Hibiscus sabdariffa</i> calyx (mg/kg)		SEM	¹ P- value
				300	700	300	700		
پاداکسیدان کل پلاسما Plasma total antioxidant	Mmol/l	تولک	0.375 ^b	0.490 ^{ab}	0.462 ^{ab}	0.757 ^a	0.735 ^a	0.0811	0.0140
² MDA خون Blood ² MDA	µg/l		1.198 ^a	0.751 ^{ab}	0.813 ^{ab}	0.633 ^b	0.640 ^b	0.1277	0.0402
پاداکسیدان کل پلاسما Plasma total antioxidant	Mmol/l	پس از تولک	0.365	0.442	0.420	0.570	0.520	0.0959	0.5902
MDA خون Blood MDA	µg/l		0.809	0.769	0.797	0.725	0.737	0.0485	0.6945
MDA زرده Yolk MDA	µg/g		2.04	1.93	2.03	1.84	1.85	0.119	0.6597

¹ تفاوت میانگین‌ها^{a-b} با حروف غیرمشترک در هر ردیف سطح معنی‌داری است ($P < 0/05$).

² Means ^{a-b} with different letters in a row differ significantly ($P < 0.05$).

² Malondialdehyde

مرغ‌های تخم‌گذار نیز سبب افزایش تولید تخم‌مرغ شد (49). همچنین، اسیدهای آلی موجود در چای ترش می‌تواند با کاهش pH دستگاه گوارش، سبب مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا، افزایش رشد باکتری‌های مطلوب و در نهایت کاهش نیازهای متابولیکی پرنده شود (3). خواص پاداکسیدانی چای نیز ممکن است به بهبود عملکرد پرندگان کمک کرده باشد. ضمن این‌که، مطالعات زیادی در زمینه استفاده از چای ترش در جیره مرغ تخم‌گذار گزارش نشده است. در مورد مصرف خوراک و میانگین وزن تخم‌مرغ، پرندگان تیمار سه که با جیره دارای 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ چای ترش تغذیه شده بودند، بیشترین کاهش را در مصرف خوراک و وزن تخم-مرغ نسبت به تیمار شاهد نشان داد.

اثر عصاره‌های آبی-الکلی چای ترش بر صفات عملکردی مرغ-های تخم‌گذار در دوره پس از تولک در جدول 5 گزارش شده است. چای ترش بر شاخص‌های عملکردی تأثیر معنی‌داری نداشت ($p > 0/05$). کمترین ضریب تبدیل خوراک، بیشترین توده تخم‌مرغ تولیدی و بالاترین درصد تخم‌گذاری در پرندگان تیمار 5 که با 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره کاسبرگ چای ترش تغذیه شده بودند، مشاهده شد. افزایش درصد تخم‌گذاری ممکن است به دلیل وجود فیتواستروژن‌های موجود در چای ترش (54) باشد که توانایی اتصال به گیرنده‌های استروژن را دارد و از این راه می‌تواند سبب افزایش بیوسنتز ویتلوژنین (پیش‌ساز زرده) در کبد و در نتیجه افزایش تولید تخم مرغ شود (20). گزارش شده است مکمل دیدزین که یکی از فیتواستروژن‌های مهم موجود در چای ترش است، عملکرد تخم‌گذاری اردک‌ها را در مرحله بعد از اوج تولید بهبود داد (78) و در

جدول 4- اثر عصاره گیاه چای ترش بر سیستم ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار مسن

Table 4- Effect of *Hibiscus sabdariffa* plant extract on immune system of old laying hens

Table 1. Effect of <i>Hibiscus sabdariffa</i> plant extract on immune system of growing rats								
صفت Traits	دوره	شاهد	برگ چای ترش (میلی گرم/کیلوگرم)		کاسبرگ چای ترش (میلی گرم/کیلوگرم)		SEM	¹ P-value
		Control	<i>Hibiscus sabdariffa</i> leaf (mg/kg)		<i>Hibiscus sabdariffa</i> calyx (mg/kg)			
			300	700	300	700		
تیتراآنتی بادی Antibody titer		8.00	8.75	8.50	8.25	8.12	0.307	0.4596
هتروفیل Heterophile	تولک	18.12	19.37	20.75	17.50	27.25	2.970	0.1932
لنفوسیت Lymphocyte		81.87	80.62	79.25	82.50	72.50	2.982	0.1769
تیتراآنتی بادی Antibody titer		7.12	8.50	7.87	7.87	7.25	0.595	0.5064
هتروفیل Heterophile	پس از تولک	23.00	25.25	27.50	28.75	28.75	1.587	0.0902
لنفوسیت Lymphocyte		75.75	71.00	62.25	66.75	53.50	5.022	0.0591

¹ تفاوت میانگین‌ها^{a-b} با حروف غیرمشترک در هر ردیف سطح معنی‌داری است ($P < 0/05$).¹Means ^{a-b} with different letters in a row differ significantly ($P < 0.05$).

دار کلسترول و تری‌گلیسرید خون در دوره تولک به وسیله سطح 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ چای ترش مشاهده شد (جدول‌های 6 و 7). دلیل کاهش سطح پروتئین خون، احتمالاً اتصال ترکیبات پلی فنولی چای ترش به هر دو پروتئین‌های غذایی و درون‌زا¹ مانند آنزیم‌های گوارشی و پروتئین‌های واقع در قسمت لومینال مجرای روده‌ای است که می‌تواند سبب کاهش گوارش ظاهری پروتئین شود. پلی‌فنول‌ها می‌تواند به وسیله برهمکنش گروه‌های هیدروکسیل فعال خود با گروه کربونیل پروتئین، کمپلکس‌هایی با پروتئین تشکیل دهد و از این راه گوارش‌پذیری پروتئین و اسیدآمین را کاهش دهد (55). کاهش سطح پروتئین تام خون ممکن است ناشی از تحریک گلوکونوژنز به دنبال کاهش مصرف خوراک و کاهش گلوکز خون نیز باشد (35). در بیشتر پژوهش‌های منتشر شده، کاهش گلوکز خون را به اثر مهارکنندگی چای ترش بر آنزیم‌های هیدرولیزکننده کربوهیدرات (آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز) نسبت داده‌اند (2، 4، 26، 41). از طرف دیگر، کوبایاشی و همکاران (34) گزارش کردند که اسید کلروژنیک (یکی از پلی‌فنول‌های مهم برگ چای ترش) به وسیله مهار انتقال‌دهنده‌های گلوکز وابسته به سدیم سبب کاهش جذب گلوکز از روده شد. در دوره تولک، احتمالاً به دلیل مصرف کمتر خوراک و به دنبال آن ترشح کمتر آنزیم‌های گوارشی، اثر کاهندگی چای ترش بر سطح گلوکز خون، برخلاف دوره پس از تولک، معنی‌دار نبود.

پس از تیمار سه، کمترین مصرف خوراک و وزن تخم‌مرغ مربوط به پرندگانی بود که با 300 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره کاسبرگ چای ترش تغذیه شدند (تیمار 4). کاهش مصرف خوراک ممکن است به دلیل جذب پایین برخی از پلی‌فنول‌های موجود در چای ترش مثل آلکالوئیدها و تانن‌ها از دستگاه گوارش و در نتیجه اثر مهارکنندگی آن‌ها بر آنزیم‌های گوارشی باشد که سبب کاهش گوارش‌پذیری پروتئین، کربوهیدرات و چربی می‌شود (30). کاهش وزن تخم‌مرغ نیز احتمالاً به دلیل رابطه مثبت بین وزن تخم‌مرغ و سطح پروتئین دریافتی (10) است. افزایش نسبی درصد تخم‌گذاری همزمان با کاهش نسبی مصرف خوراک و وزن تخم‌مرغ که در سایر تیمارهای آزمایشی نیز در مقایسه با تیمار شاهد، مشاهده شد ($p > 0/05$)، بهبود عددی توده تخم‌مرغ تولیدی و در نتیجه بهبود نسبی ضریب تبدیل خوراک را به دنبال داشت ($p > 0/05$). هماهنگ با یافته‌های این پژوهش، فیزل و همکاران (23) کاهش گوارش‌پذیری پروتئین و فیبر و همزمان بهبود ضریب تبدیل خوراک را در خوک‌های تغذیه شده با جیره دارای منابع غنی از پلی‌فنول‌های طبیعی (دانه انگور، عصاره انگور)، گزارش کردند. به طور کلی، پلی‌فنول‌ها اثرات مبهمی بر گوارش‌پذیری مواد مغذی و عملکرد دارند. به نظر می‌رسد برخی ترکیبات موجود در چای ترش از جمله فیتواستروژن‌ها، پاداکسیدان‌ها و اسیدهای آلی اثر منفی برخی اجزای دیگر چای مثل آلکالوئیدها، تانن‌ها و پلی‌فنول‌ها را بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار کاهش داده‌اند.

در میان فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، کاهش سطح پروتئین و LDL و افزایش سطح HDL در هر دو آزمایش، در مقایسه با تیمار شاهد، مشاهده شد ($p > 0/05$). همچنین، کاهش معنی‌دار گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید خون در دوره پس از تولک و کاهش معنی-

جدول 5- اثر عصاره گیاه چای ترش بر فراسنجه‌های عملکردی مرغ تخم‌گذار در مرحله دوم تخم‌گذاری

Table 5- Effect of *Hibiscus sabdariffa* plant extract on functional parameters of laying hens in postmolting period

صفت Traits	شاهد	برگ چای ترش (میلی گرم/کیلوگرم)		کاسبرگ چای ترش (میلی گرم/کیلوگرم)		SEM	¹ P-value
	Control	<i>Hibiscus sabdariffa</i> leaf (mg/kg)		<i>Hibiscus sabdariffa</i> calyx (mg/kg)			
		300	700	300	700		
درصد تولید تخم مرغ Egg production (%)	63.03	64.13	66.60	65.64	67.00	1.540	0.3597
میانگین وزن تخم مرغ (گرم) Egg weight (g)	66.56	65.48	64.00	64.49	65.60	0.651	0.0981
توده تخم‌مرغ تولیدی Egg mass (g/day)	42.02	42.17	42.81	42.44	44.18	1.030	0.6008
مصرف خوراک (گرم در روز) Feed intake (g/day)	98.02	97.88	96.43	97.47	97.96	0.780	0.5897
ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	2.47	2.42	2.38	2.41	2.37	0.072	0.8999

¹ تفاوت میانگین‌ها^{a-b} با حروف غیرمشترک در هر ردیف سطح معنی‌داری است ($P < 0/05$).¹Means ^{a-b} with different letters in a row differ significantly ($P < 0.05$).

جدول 6- اثر عصاره گیاه چای ترش بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و چربی زرده تخم‌مرغ تخم‌گذار در مرحله دوم تخم‌گذاری

Table 6- Effect of *Hibiscus sabdariffa* plant extract on blood biochemical parameters and yolk lipid of laying hens in postmolting period

صفت	واحد	شاهد	برگ چای ترش (میلی گرم/کیلوگرم)				SEM	1P-value
Traits	Units	Control	<i>Hibiscus sabdariffa</i> leaf (mg/kg)		<i>Hibiscus sabdariffa</i> calyx (mg/kg)			
			300	700	300	700		
کلسترول	mg/dl	188.01 ^a	178.80 ^{ab}	155.50 ^b	169.56 ^{ab}	186.50 ^{ab}	7.441	0.0409
Cholesterol								
تری گلیسرید	mg/dl	1867.76 ^a	1825.07 ^{ab}	1556.25 ^b	1674.73 ^{ab}	1940.51 ^a	68.599	0.0084
Triglyceride								
گلوکز	mg/dl	204.96 ^a	166.85 ^{ab}	126.42 ^b	166.74 ^{ab}	197.81 ^a	14.503	0.0125
Glucose								
پروتئین تام	mg/dl	6.17	5.55	4.42	5.13	6.13	0.602	0.2592
Total protein								
LDL	mg/dl	90.43	82.62	62.60	74.50	88.60	8.046	0.1437
HDL	mg/dl	67.43	68.63	72.02	70.22	68.36	8.966	0.9965
کلسترول زرده	mg/g	16.86 ^a	15.40 ^{ab}	15.03 ^b	16.77 ^{ab}	16.64 ^{ab}	0.414	0.0165
Yolk cholesterol								
تری گلیسرید زرده	mg/g	184.56	162.57	154.24	172.93	170.50	8.702	0.1993
Yolk triglyceride								

¹ تفاوت میانگین‌ها^{a-b} با حروف غیرمشترک در هر ردیف سطح معنی‌داری است ($P < 0/05$).¹Means ^{a-b} with different letters in a row differ significantly ($P < 0.05$).

لیپیدهای سرم داشت، به طوری که، اسید هیبیسکاس موجود در چای ترش با تولید ماده‌ای در دستگاه گوارش که مهارکننده رقابتی سیترات لیز است، ساخت تری‌اسیل گلیسرول را مهار کرد. لین و همکاران (36) گزارش کردند، احتمالاً ترکیباتی در عصاره چای ترش وجود دارد که هورمون‌های آدرینوکورتیکال را فعال می‌کند و از این راه مسیر متابولیکی کلسترول را به وسیله تبدیل به ترکیبات دیگر تحریک می‌کند.

همزمان با کاهش معنی‌دار کلسترول و تری‌گلیسرید خون، سطح کلسترول و تری‌گلیسرید زرده نیز کاهش نشان داد که با یافته‌های اچانی و میلو (51) هماهنگ بود. در پژوهش مشابهی، بعد از چهار هفته مصرف عصاره برگ چای ترش در موش‌های با چربی خون بالا، کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون کاهش یافت (80). کارواجال - زرابال و همکاران (11) نشان دادند که افزودن عصاره الکلی چای ترش در جیره موش به میزان 5 درصد، بهترین نتیجه را در کاهش

جدول 7- اثر عصاره گیاه چای ترش بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون مرغ تخم‌گذار در مرحله تولک (میلی گرم در دسی لیتر)

Table 7- Effect of *Hibiscus sabdariffa* plant extract on blood biochemical parameters of laying hens in molting period (mg/dl)

صفت Traits	شاهد Control	برگ چای ترش (میلی گرم/کیلوگرم) <i>Hibiscus sabdariffa</i> leaf (mg/kg)		کاسبرگ چای ترش (میلی گرم/کیلوگرم) <i>Hibiscus sabdariffa</i> calyx (mg/kg)		SEM	1P-value
		300	700	300	700		
کلسترول Cholesterol	179.95 ^a	173.02 ^{ab}	143.83 ^b	167.50 ^{ab}	178.36 ^{ab}	8.254	0.0457
تری گلیسرید Triglyceride	609.70 ^a	525.78 ^{ab}	446.70 ^b	510.77 ^{ab}	544.72 ^{ab}	31.003	0.0299
گلوکز Glucose	177.67	177.03	172.79	175.11	177.43	16.220	0.9994
پروتئین تام Total protein	6.05	5.88	5.67	5.79	6.00	0.704	0.9948
LDL	81.84	76.23	50.98	69.56	80.61	8.128	0.0952
HDL	70.82	71.37	75.85	74.75	70.87	6.908	0.9736

¹ تفاوت میانگین‌ها^{a-b} با حروف غیرمشترک در هر ردیف سطح معنی‌داری است (P< 0/05).¹Means ^{a-b} with different letters in a row differ significantly (P<0.05).

زرد تخم‌مرغ از کلسترول خون نشأت می‌گیرد (21). به همین دلیل، کاهش کلسترول موجود در تخم‌مرغ می‌تواند به دلیل کاهش غلظت کلسترول خون باشد. از طرف دیگر، کاهش کلسترول تخم‌مرغ را شاید بتوان به افزایش تعداد فولیکول‌های در حال رشد نسبت داد که سبب می‌شود کلسترول و چربی، به عنوان جزء اصلی زرده، در تعداد بیشتری از فولیکول‌ها توزیع شود و در نتیجه، مقدار کلسترول و چربی در هر تخم‌مرغ کاهش یابد (61).

نتیجه‌گیری کلی

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد عصاره آبی-الکلی چای ترش، به ویژه برگ آن که در ایران دور ریخته شده و مصرف انسانی ندارد، می‌تواند با کمترین هزینه، اثرات مفید قابل توجهی مثل اثر ضدلیپیدی، بهبود وضعیت پاداکسیدانی کل پلاسما و بهبود تعادل اکسیدانی را در مرغ‌های تخم‌گذار مسن داشته باشد، بدون اینکه اثر منفی قابل توجهی بر فراسنجه‌های عملکردی و ایمنی نشان دهد.

کیم و همکاران (33) مهار سنتز چربی توسط چای ترش را نه به هورمون‌ها، بلکه با مهار عوامل رونویسی سنتزکننده کلسترول و تری-گلیسرید مرتبط دانستند. هیرانینچ و همکاران (29) کاهش چربی توسط چای ترش را به بتاسیتوسترول موجود در گیاه نسبت دادند. عمل استرول‌های گیاهی در کاهش چربی به وسیله افزایش دفع متابولیت‌های استرول از مدفوع و نیز افزایش میزان دفع و ترن‌اور¹ کلسترول از راه صفر است (63). کاهش در میزان بازسازی اسیدهای صفراوی، کاهش غلظت کلسترول سرم را به دنبال دارد زیرا کلسترول صرف سنتز اسیدهای صفراوی می‌شود (65). دلیل دیگر کاهش کلسترول خون، می‌تواند کاهش LDL خون به وسیله پلی‌فنول‌های موجود در چای ترش باشد. گزارش شده است عصاره پلی‌فنول‌های چای ترش بیان mRNA گیرنده‌های LDL روی سطح سلول‌های کبد را افزایش داد و در نتیجه، سبب افزایش تعداد این گیرنده‌ها شده باشد تا به وسیله انتقال LDL از پلاسما به کبد، جذب بیشتر LDL را انجام دهد و در نهایت سبب کاهش غلظت کلسترول LDL پلاسما گردد (76).

مشابه کلسترول خون، کمترین سطح کلسترول زرده نیز به وسیله سطح 700 میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ چای ترش مشاهده شد. به طور کلی، مقدار اندکی از کلسترول ساخته شده در تخمدان، صرف رشد تخمک‌ها می‌شود و سهم تخمدان در سطح کلسترول تخم‌مرغ کم است. در مقابل، کلسترول به آسانی از خون به درون غشای تخمدان برای رشد تخمک منتقل می‌شود. بنابراین بیشتر کلسترول

منابع

- 1- Abbas, A. K., A. H. Lichtman, and S. Pillai. 2014. Pages 213-493 in Cellular and molecular immunology. Elsevier Health Sciences, Amsterdam.
- 2- Ademiluyi, A. O., and G. Oboh. 2013. Aqueous extracts of roselle (*hibiscus sabdariffa* linn.) varieties inhibit α -amylase and α -glucosidase activities in vitro. *Journal of Medicinal Food*, 16(1):88-93.
- 3- Adil, S., T. Banday, G. A. Bhat, M. S. Mir, and M. Rehman. 2010. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. *Veterinary Medicine International*, 2010: 1-7.
- 4- Agoreyo, F., B. Agoreyo, and M. Onuorah. 2008. Effect of aqueous extracts of *hibiscus sabdariffa* and *zingiber officinale* on blood cholesterol and glucose levels of rats. *African Journal of Biotechnology*, 7(21): 3949-3951.
- 5- Ahmadian-Baghbadorani, N., H. Azhdari-Zarmehri, S. Puzesh, F. S. Mousavi, and F. Rajaei. 2014. Antinociceptive effect of hydroalcoholic extract of green tea in male mice. *KAUMS Journal (FEYZ)*, 17(6):528-536.
- 6- Al-Batshan, H., S. Scheideler, B. Black, J. Garlich, and K. Anderson. 1994. Duodenal calcium uptake, femur ash, and eggshell quality decline with age and increase following molt. *Poultry Science*, 73(10):1590-1596.
- 7- Allan, W., and R. Gough. 1974. A standard haemagglutination inhibition test for newcastle disease. (1). A comparison of macro and micro methods. *Veterinary Record*, 95(6):120-123.
- 8- Anwar, H., Z. Rahman, I. Javed, and F. Muhammad. 2012. Effect of protein, probiotic, and symbiotic supplementation on serum biological health markers of molted layers. *Poultry Science*, 91(10):2606-2613.
- 9- Bendich, A. 1990. Antioxidant vitamins and their functions in immune responses. Pages 35-55 in *Antioxidant nutrients and immune functions*. Springer, Boston, MA.
- 10- Calderon, V. M., and L. S. Jensen. 1990. The requirement for sulfur amino acid by laying hens as influenced by the protein concentration. *Poultry Science*, 69(6):934-944.
- 11- Carvajal-Zarrabal, O., S. M. Waliszewski, D. M. Barradas-Dermitz, Z. Orta-Flores, P. M. Hayward-Jones, C. Nolasco-Hipólito, O. Angulo-Guerrero, R. Sánchez-Ricaño, R. M. Infanzón, and P. R. Trujillo. 2005. The consumption of *hibiscus sabdariffa* dried calyx ethanolic extract reduced lipid profile in rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60(4): 153-159.
- 12- Cason, J., N. Cox, and J. Bailey. 1994. Transmission of salmonella typhimurium during hatching of broiler chicks. *Avian Diseases*, 583-88.
- 13- Cetin, E., S. Silici, N. Cetin, and B. Güçlü. 2010. Effects of diets containing different concentrations of propolis on hematological and immunological variables in laying hens. *Poultry science*, 89(8):1703-1708.
- 14- Chen, C. C., F. P. Chou, Y. C. Ho, W. L. Lin, C. P. Wang, E. S. Kao, A. C. Huang, and C. J. Wang. 2004. Inhibitory effects of *hibiscus sabdariffa* l extract on low-density lipoprotein oxidation and anti-hyperlipidemia in fructose-fed and cholesterol-fed rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(15):1989-1996.
- 15- Cheng, T. K., C. N. Coon, and M. L. Hamre. 1990. Effect of environmental stress on the ascorbic acid requirement of laying hens. *Poultry Science*, 69(5):774-780.
- 16- Cherian, G., F. Wolfe, and J. Sim. 1996. Dietary oils with added tocopherols: Effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids, and oxidative stability. *Poultry Science*, 75(3):423-431.
- 17- Chuah, A. M., Y.-C. Lee, T. Yamaguchi, H. Takamura, L.-J. Yin, and T. Matoba. 2008. Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. *Food Chemistry*, 111(1):20-28.
- 18- Davis, G., K. Anderson, and A. Carroll. 2000. The effects of long-term caging and molt of single comb white leghorn hens on heterophil to lymphocyte ratios, corticosterone and thyroid hormones. *Poultry Science*, 79(4):514-518.
- 19- de Cordova, C. M. M., and M. M. de Cordova. 2013. A new accurate, simple formula for ldl-cholesterol estimation based on directly measured blood lipids from a large cohort. *Annals of Clinical Biochemistry*, 50(1):13-19.
- 20- El-Ghalid, O. 2009. Exogenous estradiol: Blood profile, productive and reproductive performance of female japanese quails at different stages of production. *Asian Journal of Poultry Science*, 3(1):1-8.
- 21- Elkin, R. G., Z. Yan, Y. Zhong, S. S. Donkin, K. K. Buhman, J. A. Story, J. J. Turek, R. E. Jr. Porter, M. Anderson, R. Homan, and R. S. Newton. 1999. Select 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors vary in their ability to reduce egg yolk cholesterol levels in laying hens through alteration of hepatic cholesterol biosynthesis and plasma VLDL composition. *Journal of Nutrition*, 129(5): 1010-1019.
- 22- Fakaye, T. 2008. Toxicity and immunomodulatory activity of fractions of *hibiscus sabdariffa* linn (family malvaceae) in animal models. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 5(4):394-398.
- 23- Fiesel, A., D. K. Gessner, E. Most, and K. Eder. 2014. Effects of dietary polyphenol-rich plant products from

- grape or hop on pro-inflammatory gene expression in the intestine, nutrient digestibility and faecal microbiota of weaned pigs. BMC Veterinary Research, 10(1): 196-206.
- 24- Gous, R., and T. Morris. 2005. Nutritional interventions in alleviating the effects of high temperatures in broiler production. World's Poultry Science Journal, 61(3):463-475.
- 25- Gross, W., and H. Siegel. 1983. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. Avian Diseases, 972-979.
- 26- Hansawasdi, C., J. Kawabata, and T. Kasai. 2000. A-amylase inhibitors from roselle (hibiscus sabdariffa linn.) tea. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 64(5):1041-1043.
- 27- Herranz -Lopez, M., M. Olivares-Vicente, J. Encinar, E. Barrajón-Catalán, A. Segura-Carretero, J. Joven, and V. Micol. 2017. Multi-targeted molecular effects of Hibiscus sabdariffa polyphenols: an opportunity for a global approach to obesity. Nutrients, 9(8): 907-933.
- 28- Hirunpanich, V., A. Utaipat, N. P. Morales, N. Bunyapraphatsara, H. Sato, A. Herunsalee, and C. Suthisisang. 2005. Antioxidant effects of aqueous extracts from dried calyx of hibiscus sabdariffa linn.(roselle) in vitro using rat low-density lipoprotein (ldl). Biological and Pharmaceutical Bulletin, 28(3):481-484.
- 29- Hirunpanich, V., A. Utaipat, N. P. Morales, N. Bunyapraphatsara, H. Sato, A. Herunsalee, and C. Suthisisang. 2006. Hypocholesterolemic and antioxidant effects of aqueous extracts from the dried calyx of hibiscus sabdariffa l. In hypercholesterolemic rats. Journal of Ethnopharmacology, 103(2):252-260.
- 30- Karaś, M., A. Jakubczyk, U. Szymanowska, U. Złotek, and E. Zielińska. 2017. Digestion and bioavailability of bioactive phytochemicals. International Journal of Food Science & Technology, 52(2):291-305.
- 31- Khan, R., S. Naz, Z. Nikousefat, M. Selvaggi, V. Laudadio, and V. Tufarelli. 2012. Effect of ascorbic acid in heat-stressed poultry. World's Poultry Science Journal, 68(3):477-490.
- 32- Khodadadi, M., and S. Rangbar. 2016. Effect of adding green tea powder (Camellia sinensis) to some immune factors and serum proteins in *Cyprinus carpio*. Iran Veterinary Journal, 12(2): 43-54. (In Persian).
- 33- Kim, J.-K., H. So, M.-J. Youn, H.-J. Kim, Y. Kim, C. Park, S.-J. Kim, Y.-A. Ha, K.-Y. Chai, and S.-M. Kim. 2007. Hibiscus sabdariffa l. Water extract inhibits the adipocyte differentiation through the pi3-k and mapk pathway. Journal of Ethnopharmacology, 114(2):260-267.
- 34- Kobayashi, Y., M. Suzuki, H. Satsu, S. Arai, Y. Hara, K. Suzuki, Y. Miyamoto, and M. Shimizu. 2000. Green tea polyphenols inhibit the sodium-dependent glucose transporter of intestinal epithelial cells by a competitive mechanism. Journal of agricultural and food chemistry, 48(11):5618-5623.
- 35- Leresche, R., U. Seal, and P. Karns. 1974. Review of blood chemistry of moose and other cervidae with emphasis on nutritional assessment. Naturaliste Canadien, 101: 263-290.
- 36- Lin, H.-H., J.-H. Chen, and C.-J. Wang. 2011. Chemopreventive properties and molecular mechanisms of the bioactive compounds in hibiscus sabdariffa linne. Current Medicinal Chemistry, 18(8):1245-1254.
- 37- Lubega, A. M., G. S. Bbosa, N. Musisi, J. Erume, and J. Ogwal-Okeng. 2013. Effect of the total crude extracts of Hibiscus sabdariffa on the immune system in the Wistar albino rats. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 7:1942-1949.
- 38- Lucas, A. M., and P. R. Stettenheim. 1972. Avian Anatomy Integument, Part 1. US Government Printing Office, Washington, DC.
- 39- Luhman, C. M., B. G. Miller, and D. C. Beitz. 1990. Research note: The effect of feeding lovastatin and colestipol on production and cholesterol content of eggs. Poultry Science, 69(5):852-855.
- 40- Manivasagam, T. T., K. Dakshayani, S. S. Subash, and R. R. Sivaperumal. 2006. Protective influence of hibiscus sabdariffa, an edible medicinal plant, on tissue lipid peroxidation and antioxidant status in hyperammonemic rats. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 3(3):10-21.
- 41- Mantruad, A., P. Pannangpetch, B. Kongyingoes, U. Kukongviriyapan, S. Chuanta, S. Nakmareong, and A. Itharat. 2010. Roselle extract and gallic acid improve vascular reactivity of diabetic rats. Srinagarind Medical Journal, 257-261.
- 42- McFarlane, J. M., and S. E. Curtis. 1989. Multiple concurrent stressors in chicks. 3. Effects on plasma corticosterone and the heterophil: Lymphocyte ratio. Poultry Science, 68(4):522-527.
- 43- McReynolds, J., K. Genovese, H. He, C. Swaggerty, J. Byrd, S. Ricke, D. Nisbet, and M. Kogut. 2009. Alfalfa as a nutritive modulator in maintaining the innate immune response during the molting process. Journal of Applied Poultry Research, 18(3):410-417.
- 44- Miller, N. J., C. Rice-Evans, M. J. Davies, V. Gopinathan, and A. Milner. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical Science, 84:407-412.
- 45- Minka, N., A. Fayomi, and J. Ayo. 2007. Protective influence calyces of hibiscus sabdariffa against heat stress in laying hens during the hot-dry season. Research Journal of Poultry Science, 1(1):7-11.
- 46- Mohammadi, F., F. Bagherzadeh Kasmani, K. Shojaeian, M. Mehri, and M. A. Karimi Torshizi. 2015. Effect of *Hibiscus sabdariffa* on performance, immune response, and biochemical parameters in broiler chickens fed normal or aflatoxin contaminated diets. Animal Production, 17(2):301-309. (In Persian).

- 47- Mohd-Esa, N., F. S. Hern, A. Ismail, and C. L. Yee. 2010. Antioxidant activity in different parts of roselle (*hibiscus sabdariffa* l.) extracts and potential exploitation of the seeds. *Food Chemistry*, 122(4):1055-1060.
- 48- Mungole, A., and A. Chaturvedi. 2011. *Hibiscus sabdariffa* l a rich source of secondary metabolites. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 6(1):83-87.
- 49- Ni, Y., Q. Zhu, Z. Zhou, R. Grossmann, J. Chen, and R. Zhao. 2007. Effect of dietary daidzein on egg production, shell quality, and gene expression of $er-\alpha$, $gh-r$, and $igf-ir$ in shell glands of laying hens. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(17):6997-7001.
- 50- North, M. O. 1984. Pages 270-292 in *Commercial chicken production manual*. Third Edition. The Avi Publishing Company, Inc., Dawsonville, Georgia, USA.
- 51- Ochani, P. C., and P. D'Mello. 2009. Antioxidant and antihyperlipidemic activity of *hibiscus sabdariffa* linn. Leaves and calyces extracts in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47(4):276-282.
- 52- Okoko, T., and D. Ere. 2012. *Hibiscus sabdariffa* extractivities on cadmium—mediated alterations of human u937 cell viability and activation. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5(1):33-36.
- 53- Ologundudu, A., A. Ologundudu, O. Oluba, I. Omotuyi, and F. Obi. 2010. Effect of *hibiscus sabdariffa* anthocyanins on 2, 4-dinitrophenylhydrazine-induced tissue damage in rabbits. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*, 2(1):1-6.
- 54- Omotuyi, I., A. Ologundudu, V. Onwubiko, M. Wogu, and F. Obi. 2010. *Hibiscus sabdariffa* linn. Anthocyanins alter circulating reproductive hormones in rabbits (*oryctolagus cuniculus*). *Journal of Diabetes and Endocrinology*, 1(3):36-45.
- 55- Ortiz, L., C. Centeno, and J. Trevino. 1993. Tannins in faba bean seeds: Effects on the digestion of protein and amino acids in growing chicks. *Animal Feed Science and Technology*, 41(4):271-278.
- 56- Perek, M., and F. Sulman. 1945. The basal metabolic rate in molting and laying hens. *Endocrinology*, 36:240-243.
- 57- Qureshi, M., and A. Gore. 1997. Vitamin e exposure modulates prostaglandin and thromboxane production by avian cells of the mononuclear phagocytic system. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 19(4):473-487.
- 58- Rezaeipoor, R., S. Saeidnia, and M. Kamalinejad. 2000. The effect of *plantago ovata* on humoral immune responses in experimental animals. *Journal of ethnopharmacology*, 72(1-2):283-286.
- 59- Saeed, I. A., L. Ali, A. Jabeen, M. Khasawneh, T. A. Rizvi, and S. S. Ashraf. 2012. Estrogenic activities of ten medicinal herbs from the middle east. *Journal of Chromatographic Science*, 51(1):33-39.
- 60- Sahin, K., C. Orhan, M. Tuzcu, S. Ali, N. Sahin, and A. Hayirli. 2010. Epigallocatechin-3-gallate prevents lipid peroxidation and enhances antioxidant defense system via modulating hepatic nuclear transcription factors in heat-stressed quails. *Poultry Science*, 89(10):2251-2258.
- 61- Saraswati, T. R., W. Manalu, D. R. Ekastuti, and N. Kusumorini. 2013. Increased egg production of Japanese quail (*Cortunix japonica*) by improving liver function through turmeric powder supplementation. *International Journal of Poultry Science*, 12(10): 601-614.
- 62- SAS Institute. 2015. *SAS Users Guide: Statistics*. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- 63- Sim, J., W. Kitts, and D. Bragg. 1980. Influence of dietary oil, cholesterol, and soysterols on the fecal neutral and acidic steroid excretion in laying hens. *Poultry science*, 59(2):325-327.
- 64- Smith, W. S., C. Green, and M. Jerry. 2003. Determination of ascorbic acid (vitamin C) in commerical tablets by iodometric titration, Department of Chemistry, Stevens Institute of Technology.
- 65- St-Onge, M.-P., E. R. Farnworth, and P. J. Jones. 2000. Consumption of fermented and nonfermented dairy products: effects on cholesterol concentrations and metabolism. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(3):674-681.
- 66- Sukkhavanit, P., K. Angkanaporn, and S. Kijparkorn. 2011. Effect of roselle (*hibiscus sabdariffa* linn.) calyx in laying hen diet on egg production performance, egg quality and tbars value in plasma and yolk. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 41(3):337.
- 67- Swain, T. 1965. Page 541 in *Analytical methods for flavonoids*. Academic Press, London, UK.
- 68- Tee, P.-L., S. Yusof, S. Mohamed, N. Aimi Umar, and N. Mohamed Mustapha. 2002. Effect of roselle (*hibiscus sabdariffa* l.) on serum lipids of sprague dawley rats. *Nutrition & Food Science*, 32(5):190-196.
- 69- Tiwari, U., B. Rastogi, P. Singh, D. K. Saraf, and S. P. Vyas. 2004. Immunomodulatory effects of aqueous extract of *tridax procumbens* in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 92(1):113-119.
- 70- Turkmen, N., F. Sari, and Y. S. Velioglu. 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, 93(4):713-718.
- 71- Usoh, I., E. Akpan, E. Etim, and E. Farombi. 2005. Antioxidant actions of dried flower extracts of *hibiscus sabdariffa* l. On sodium arsenite-induced oxidative stress in rats. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4(3):135-141.
- 72- Vanzo, A., M. Terdoslavich, A. Brandoni, A. M. Torres, U. Vrhovsek, and S. Passamonti. 2008. Uptake of grape anthocyanins into the rat kidney and the involvement of biliranslocase. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52(10):1106-1116.
- 73- Wang, J., X. Cao, H. Jiang, Y. Qi, K. L. Chin, and Y. Yue. 2014. Antioxidant activity of leaf extracts from different *hibiscus sabdariffa* accessions and simultaneous determination five major antioxidant compounds by lc-

- q-tof-ms. *Molecules*, 19(12):21226-21238.
- 74- Wong, P.-K., S. Yusof, H. Ghazali, and Y. Che Man. 2002. Physico-chemical characteristics of roselle (*hibiscus sabdariffa* l.). *Nutrition & Food Science*, 32(2):68-73.
- 75- Xu, X., Y. Hu, W. Xiao, J. a. Huang, X. He, J. Wu, E. P. Ryan, and T. L. Weir. 2012. Effects of fermented camilla sinensis, fuzhuan tea, on egg cholesterol and production performance in laying hens. *Agriculture and Food Science*, 1:006-010.
- 76- Yang, M. Y., C. H. Peng, K. C. Chan, Y. S. Yang, C. N. Huang, and C. J. Wang. 2010. The hypolipidemic effect of *Hibiscus sabdariffa* polyphenols via inhibiting lipogenesis and promoting hepatic lipid clearance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2): 850-859.
- 77- Yoshioka, T., K. Kawada, T. Shimada, and M. Mori. 1979. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 135(3):372-376.
- 78- Zhao, R., Y. Zhou, Y. Ni, L. Lu, Z. Tao, W. Chen, and J. Chen. 2005. Effect of daidzein on egg-laying performance in shaoxing duck breeders during different stages of the egg production cycle. *British poultry science*, 46(2):175-181.
- 79- Zhao, X., Z. Yang, W. Yang, Y. Wang, S. Jiang, and G. Zhang. 2011. Effects of ginger root (*zingiber officinale*) on laying performance and antioxidant status of laying hens and on dietary oxidation stability. *Poultry science*, 90(8):1720-1727.
- 80- Zhen, J., T. S. Villani, Y. Guo, Y. Qi, K. Chin, M.-H. Pan, C.-T. Ho, J. E. Simon, and Q. Wu. 2016. Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of *hibiscus sabdariffa* leaves. *Food Chemistry*, 190:673-680.



The Effect of Sour Tea (*Hibiscus sabdariffa*) Plant Extract on Immune System, Plasma Antioxidant Status, Oxidant Balance and Blood Biochemical and Functional Parameters of Old Laying Hens

Sh. Sabet Sarvestani¹ - S. M. Hosseini^{2*} - S. H. Farhangfar³

Received: 22-12-2018

Accepted: 24-06-2019

Introduction: Stress increases the need for antioxidants, decreases eggs production and weakens immune system of laying hens. Since there is insufficient knowledge about overcoming natural stress conditions with minimal cost and side effects in old laying hens, the medicinal herb contained flavonoid and polyphenolic compounds are concerned. Apart from estrogenic, antibacterial effects and cholesterol reduction property that will result to lower cholesterol deposition in poultry products and where calyx and leaf of *Hibiscus sabdariffa* are known as potent antioxidant. Therefore, these experiments were designed to investigate the effect of *Hibiscus sabdariffa* extract as natural antioxidants on the immune system, blood biochemical parameters, plasma antioxidant status and the antioxidant balance of laying hens during molting and post-molting periods, also, laying performance and egg yolk cholesterol in the second phase of laying hen egg production.

Materials and Methods: In these experiments, aqueous-alcoholic extract of calyx and leaf of *Hibiscus sabdariffa* were prepared and sprayed on feed at levels of 300 and 700 mg/kg. One liter of %96 ethanol/distilled water mixture (30:70) were used to infuse 100 g each of the plant material (calyx or leaf) for 24 h. During the pre-experimental stage, minerals composition and antioxidant properties of *Hibiscus sabdariffa* were measured. Each of the main experiments, were conducted with 200 laying hens in a completely randomized design. In both experiments, five treatments consisted of control diet (basal diet), basal diet with 300 and 700 mg/kg of leaf extract of *Hibiscus sabdariffa* and basal diet with 300 and 700 mg/kg *Hibiscus sabdariffa* calyx extract. In both experiments, the blood cholesterol, total protein, triglyceride, LDL, HDL, glucose and malondialdehyde were evaluated by Spectrophotometer auto analyzer. In the end of each experiment, immune system and plasma antioxidant status for 2 samples from each replicate were determined. The egg production, egg weight, egg mass, feed intake and feed conversion ratio were recorded weekly. The egg malondialdehyde was determined during post molting period. In order to measure the level of yolk cholesterol and triglyceride, in the end of the experimental period, 2 samples were randomly taken from each replicate and after separating the yolks and mixing them, were analyzed by Spectrophotometer auto-analyzer with enzymatic method. The data were statistically analyzed with the general linear model by SAS software. The mean differences between treatments were studied by Tukey's test.

Results and Discussion: Although there was more vitamin C in the leaf compared to calyx, the antioxidant activity including total antioxidants, phenols and anthocyanins in calyx were higher than leaf. In both experiments, plasma antioxidant status of laying hens in a dose-independent manner were improved. During post molt period, attempt to increase oxidative stability of plasma and egg yolk also, improving plasma antioxidant status by dietary supplementation of *Hibiscus sabdariffa* extract was not significant, however, the *Hibiscus sabdariffa* calyx at 300 and 700 mg/kg levels, significantly affected plasma MDA and total antioxidant capability during molting period. In both experiments, the relative increase in antibody titers and the ratio of heterophil to lymphocyte were observed by all treatments as compared to the Control treatments. *Hibiscus sabdariffa* showed to have no significant effect on performance parameters. Probably, the negative effect of polyphenol compounds found in *Hibiscus sabdariffa* on digestive enzymes decreased lipid, protein and carbohydrates digestibility, thus reduced feed intake, egg weight

1 - Ph.D. Graduate, Department of Animal Science, University of Birjand, Birjand, Iran

2- Associate Professor, Department of Animal Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran

3 - Professor, Department of Animal Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran

(* - Corresponding Email: shosseini@birjand.ac.ir)

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.77717

and total blood protein, insignificantly, blood glucose and cholesterol, significantly. Also, the *Hibiscus sabdariffa*, especially leaf, decreased the yolk cholesterol and triglyceride. On the other hand, supplementation of *Hibiscus sabdariffa* at 700 mg/kg, improved production performance following feed conversion ratio compared with Control treatment that's probably due to quercetin and daidzein phytoestrogens found in *Hibiscus sabdariffa*. It seems that some compounds in *Hibiscus sabdariffa*, including phytoestrogens and organic acids that has been reduced the negative effect of other *Hibiscus sabdariffa* components on the performance of laying hens.

Conclusion: It can be concluded that *Hibiscus sabdariffa*, especially its leaves, which are discarded in most countries, including Iran, have the significant beneficial effects, such as anti-lipid effects, improvement of total plasma antioxidant and oxidative balance of old laying hens, with minimal cost and no significant negative effect on functional and immune parameters. It seems that finding of effective dose of *Hibiscus sabdariffa* is important to achieve layer hens' maximum efficacy according to the test conditions and can economically be extended the range of its usage.

Keywords: Antibody titer, Malondialdehyde, Molting, Sour tea.



بررسی چند شکلی ژن پومس (پرواپیوملانوکورتین) و ارتباط آن با صفات رشد در جوجه‌های گوشتی

حجت جعفری زاده¹، محمد باقر منتظر تربتی^{2*}، سید همایون فرهنگ³

تاریخ دریافت: 1396/02/08

تاریخ پذیرش: 1398/03/21

چکیده

پرواپیوملانوکورتین (پومس) یک پروتئین پیش ساز در جوجه‌های گوشتی است که از 251 اسید آمینه تشکیل شده است و در تنظیم غذای مصرفی و تعادل مصرف انرژی نقش دارد. هدف از انجام این پژوهش، تعیین چند شکلی ژن پرواپیوملانوکورتین و بررسی ارتباط آن با صفات رشد (که شامل وزن زنده، وزن لاشه، وزن سینه، وزن ران، وزن پشت و گردن، بال، کبد، قلب، بورس، طحال، پانکراس، پیش معده + سنگدان و چربی محوطه بطنی) در جوجه‌های گوشتی سویه راس و کاب بود. بدین منظور از تعداد 100 قطعه جوجه گوشتی سویه راس و 60 قطعه جوجه گوشتی سویه کاب نمونه خون تهیه و استخراج DNA به وسیله روش نمکی بهینه یافته صورت گرفت. پس از استخراج dDNA، قطعه‌ای به اندازه 444bp از ناحیه اگزون دوم ژن پرواپیوملانوکورتین با استفاده از تکنیک PCR تکثیر گردید. جهت تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها، از روش چند شکلی فرم فضایی رشته‌های منفرد (SSCP) و الکتروفورز محصولات تک رشته‌ای بر روی ژل پلی اکریل آمید و رنگ آمیزی توسط نیترات نقره انجام شد. برای ژن پرواپیوملانوکورتین در جوجه‌های گوشتی سویه راس دو الگو بنام E و F و در جمعیت جوجه‌های گوشتی سویه کاب نیز چهار الگوی A، B، C و D مشاهده شد. ارتباط چند شکلی این ژن با صفات رشد به وسیله رویه‌ی GLM نرم افزار SAS آنالیز شد و نتایج نشان داد که در جوجه‌های گوشتی سویه راس و کاب، قطعه 444 جفت بازی ژن پرواپیوملانوکورتین در جایگاه اگزون دوم دارای چند شکلی است. و هیچ یک از الگوهای مشاهده شده در ناحیه مورد مطالعه از ژن پرواپیوملانوکورتین، در هیچ کدام از دو جمعیت ارتباط معنی داری با صفات رشد ندارند.

واژه‌های کلیدی: صفات رشد، ژن پرواپیوملانوکورتین، جوجه گوشتی، چند شکلی، PCR-SSCP.

مقدمه

هم از طریق دریا قرار داشت. جنگ‌های زیادی در حوالی ایران و کشورهای همسایه در طی این دوره‌ها نیز توسعه و گسترش جمعیت‌های ماکیان را تسهیل کرد. حفاری‌های باستان شناسی حضور ماکیان را در ایران در زمان‌های باستان تأیید کرده است (13). براساس تحقیقات West and Zhou استخوان‌های یافت شده در ایران در سه منطقه وجود داشته‌اند: دو کشف در تپه یحیی (جنوب شرقی ایران) به ترتیب متعلق به 3800 تا 3900 قبل از میلاد و 1000 قبل از میلاد و دیگری در تخت سلیمان (شمال غربی ایران) متعلق به 1000 قبل از میلاد (13). از طرفی نیاز روز افزون جامعه به فرآورده‌های پروتئینی با منشا حیوانی، استفاده از روش‌های نوین تولید و افزایش محصول را ضروری کرده است. در میان این فرآورده‌ها، گوشت مرغ در تغذیه بشر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به همین دلیل در چند دهه گذشته تولید گوشت مرغ در بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران رشد روز افزونی داشته است و پیش بینی می‌شود که در آینده نیز ادامه یابد. برای افزایش تولید عمودی علاوه بر روش‌های نوین مدیریت،

پرورش ماکیان در ایران و انتشار آن از طریق این کشور تاریخی بسیار کهن دارد. ایران (پرشیا) یک امپراطوری بزرگ از قرن 5 قبل از میلاد تا تقریباً قرن 7 میلادی بود و از هند (دهلی) تا دریاهای سیاه و مدیترانه گسترده بود. در آن زمان و بعد از آن، در قرون وسطی ایران در محل تقاطع راه‌ها برای حمل و نقل محصولات، از قبیل ماکیان از شرق به غرب، هم از طریق خشکی و

- 1- دانش آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام - دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند.
- 2- دکتری زیست شناسی سلولی مولکولی، استادیار بخش علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند
- 3- دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام، استاد بخش علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

(*)-نویسنده مسئول: (Email: montazer.torbati@birjand.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i1.64015

جداسازی شده و مشخص گردید که ژنوم مرغ‌ها تنها یک نسخه از ژن پومس را دارا می‌باشند. مقدار زیادی از mRNA ژن پومس مرغ در مغز، فوق کلیه، تخمدان، و بافت چربی کشف شده است. اما، میزان بیان mRNA ژن پومس در هیپوتالاموس براساس سن و گونه متفاوت است (2). ژن پومس در مرغ 251 آمینواسید پروتئین را کدگذاری کرده، و همچنین توالی آن با 817 جفت باز جداسازی شده است. در جوجه گوشتی ژن پومس بر روی کروموزوم 3 قرار داشته و شامل 756 نوکلئوتید و 2 اگزون می‌باشد (16). اینترون آن از GT شروع و به AG خاتمه می‌یابد. تمامی ژن‌های پومس کشف شده در سایر گونه‌ها شامل سه اگزون می‌باشد و تمامی اطلاعات ژنومی DNA برای ژن پومس همگی در اگزون سوم می‌باشد (22). اینترون ژن پومس در مرغ در مقایسه با سایر گونه‌ها از نظر اندازه کوچکتر است. با توجه به تحقیقات انجام شده به اثبات رسیده که بافت‌های بیان کننده ژن پومس در واقع بیان کننده گیرنده‌های ملانوکورتین در مرغ می‌باشند و به گونه‌ای که اشاره شد عمل ملانوکورتین‌ها به شیوه پاراکرین و یا اتوکرین برخی از اعمال این بافت‌ها را در مرغ‌ها کنترل می‌کند (22). در پژوهشی که شارما و همکاران (20)، بر روی چند شکلی ژن پرواپیوملانوکورتین بر روی جوجه‌های تجاری با استفاده از تکنیک PCR-RFLP انجام دادند پس از مشاهده چندشکلی‌های بدست آمده هیچ گونه ارتباط معناداری بین چندشکلی‌ها با راندمان مصرف خوراک در هیچ یک از دو جنس (نر و ماده) مشاهده نکردند (20). اگر چه مطالعات ملکولی متعددی روی طیور در ایران انجام شده است (10، 11، 14، 19، 26)، اما تا کنون در رابطه با چندشکلی ژن پومس در جوجه‌های گوشتی سویه‌های راس و کاب مورد مطالعه قرار نگرفته است. لذا، هدف از انجام این تحقیق، شناسایی چند شکلی در ناحیه اگزون دوم ژن پومس در جمعیت جوجه‌های گوشتی سویه‌های راس و کاب با استفاده از روش تفاوت آرایش فرم فضایی رشته‌های منفرد مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR-SSCP) و ارتباط آن با صفات رشد و ترکیبات لاشه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تعداد 160 قطعه جوجه گوشتی مورد مطالعه که به طور تصادفی از محل پرورش که همگی در سن 6 هفتگی انتخاب شده بودند، جمع آوری شد. و وزن بدن در پایان 6 هفتگی (زمان کشتار) اندازه گیری شده و همه جوجه‌ها کشتار و پس از تجزیه لاشه، صفات وزن کل لاشه بدون محتویات شکمی، وزن پشت بدن (گردن، سینه و محوطه لگنی)، وزن عضله سینه، وزن عضله ران، وزن و درصد چربی حفره بطنی اندازه گیری و ثبت گردیدند. در زمان کشتار، از تمام جوجه‌ها به مقدار 6 میلی لیتر خون گرفته شد و برای جلوگیری از انعقاد نمونه-های خون از EDTA استفاده و نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA

بهداشت و تغذیه، استفاده از روش‌های علمی اصلاح نژاد به همراه تکنیک‌های مولکولی ضروری می‌باشد. در صنعت اصلاح نژاد طیور میزان رشد به دلیل ارزش اقتصادی‌اش یکی از مهمترین زمینه‌های پژوهش می‌باشد، و به شکل چشمگیری در گذشته از طریق انتخاب براساس توده بدنی که وراثت متوسط به بالا را نوید می‌دهد، بهبود یافته است. بنابراین ممکن است که با به کارگیری نشانگرهای ژنتیکی جهت ارزیابی مستقیم ژنوم برای حذف آلل‌های ناخواسته و افزایش درجه هموزیگوتی یا هتروزیگوتی برای آلل‌های مطلوب قدم‌های اساسی در جهت بهبود ژنتیکی در طیور برداشت (5 و 6)، همچنین در حوزه ژنتیک و اصلاح، اطلاع از ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها می‌تواند کمک بزرگی برای برنامه ریزی برای طرح‌های اصلاح نژادی و از همه مهمتر، حفظ ذخایر ژنتیکی باشد. روش‌های مولکولی و استفاده از نشانگرهای مولکولی در این زمینه یکی از بهترین گزینه‌ها به حساب می‌آید، زیرا با توجه به اطلاعات زیادی که به دست می‌دهد می‌تواند نتایجی که از تجزیه و تحلیل رکوردها با روش‌های آماری به دست آمده است را تأیید و تکمیل نموده و حتی ممکن است که آنها را رد کند (1). به علاوه، استفاده از ژنتیک ملکولی فواید زیادی دارد که یکی از این فواید معنی دار تعیین ژنوتیپ افراد برای جایگاه خاصی است (15) همچنین استفاده از نشانگرهای ژنتیکی در انتخاب و اصلاح نژاد حیوانات ممکن است به طور مهبجی پیشرفت ژنتیکی را تسریع کند (8). همچنین مطالعه تنوع ژنتیکی نژادهای بومی برای حفاظت از منابع ژنتیکی ذخایر بومی لازم و ضروری است (12). حفاظت باید بر اساس دانش عمیقی از منابع ژنتیکی نژادهای خاص باشد، لذا تلاش برای شناسایی و تعیین خصوصیات ژنتیکی نژادهای بومی و محلی بسیار اهمیت دارد (21 و 25). اهمیت پرواپیوملانوکورتین (پومس) ($POMC^1$) در رابطه با اشتها، به عنوان یک ژن کاندید مهم برای چاقی در انسان و صفات مربوط به لاشه شناخته شده است. نقش ژن POMC و پپتیدهای مشتق شده از آن در تنظیم غذای مصرفی برای اولین بار با بررسی بر روی دو کودک که نقص‌هایی در ژن POMC داشتند مشخص گردید (24). در پژوهشی که بر روی موش‌ها انجام گرفته، نقش ژن POMC در تنظیم خوراک مصرفی و وزن بدن به اثبات رسیده است (24). ژن پرواپیوملانوکورتین (پومس) یک پروهورمون را رمزگذاری می‌کند که در سطوح معناداری از سه گروه مجزا از سلول‌های عصبی لایه پهن اکتودرمال بیان می‌شود که در هریک از سلول‌های درون ریز هیپوفیز یا نورون‌های مغز توسعه می‌یابد (18). سلول‌های خاص پس از فرآیند ترجمه پروهورمون پومس، پپتیدهای فعال بیولوژیکی گوناگونی را تولید می‌کند که در پستانداران در پاسخ به تنش‌ها نقش غیرمستقیمی را ایفا می‌کند (17). ژن پومس در طیور برای اولین بار از ژنوم مرغ

با ولتاژ 80 ولت به مدت یک ساعت الکتروفورز شدند. رنگ آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید انجام گرفت. قطعه تکثیر شده با اشعه ماورابنفش (UV) عکسبرداری و مشاهده شد.

برای تجزیه محصولات PCR به کمک روش SSCP از ژل آکریل امید استفاده شد. برای این منظور 4 میکرولیتر از محصول PCR با 4 میکرولیتر dye SSCP- (شامل 9/5 میلی لیتر فرمامید+400 میکرولیتر EDTA نیم مولار+0/03 گرم بروموفنل بلو 10 درصد) و نیز 3 میکرولیتر گلیسرول مخلوط گردید و به مدت 10 دقیقه در ترموسایکلر با دمای 94 درجه سانتی گراد قرار داده شد و سپس نمونه‌ها به سرعت به داخل یخ منتقل شدند تا از بهم چسبیدن دوباره رشته‌های مکمل ممانعت به عمل آید. نمونه‌ها در ژل پلی آکریل امید 10 درصد با ولتاژ 200 و به مدت 8 ساعت جهت مشاهده تفاوت موجود در نمونه‌ها الکتروفورز شدند. بعد از پایان الکتروفورز ژل پلی آکریل امید با استفاده از نیترا ت نقره جهت دیدن چندشکلی‌های ایجاد شده رنگ آمیزی شد (3).

برای برآورد فراوانی الگوها از نرم افزار POPGEN نسخه 31 استفاده گردید (4). اطلاعات بدست آمده با استفاده از مدل آماری زیر و با روش GLM در نرم افزار آماری SAS آنالیز و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت:

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + G_j + b(W_i - W) + e_{ijk}$$

در این مدل؛ Y_{ijk} : ارزش فنوتیپی صفات مورد مطالعه، μ ، میانگین ارزش‌های فنوتیپی صفات و e_{ijk} : اثر باقی مانده می‌باشد. عوامل جنس (S_i) و ژنوتیپ (G_j) به عنوان اثرات ثابت و $b(W_i - W)$ به عنوان ضرایب رگرسیون وزن اندام‌ها به کوواریت وزن زنده یا وزن لاشه (آنالیز اندام‌ها) در مدل وارد گردیدند.

نتایج و بحث

کیفیت محصولات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با الکتروفورز ژل آگارز 1% با مارکر 100 جفت باز سنجیده شد، که نتایج الکتروفورز محصولات در آگزون دوم ژن پومس در شکل (1) مشاهده می‌شود.

ژنومی در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج DNA از نمونه‌های خون به روش بهینه شده و تغییر یافته استخراج نمکی انجام گردید (7). سپس کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA استخراج شده به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر-نانودراپ (Nano-Drop2000) بررسی گردید.

در این پژوهش برای بررسی چندشکلی ژن پومس از یک جفت آغازگر براساس توالی ژنومی موجود در جوجه برای تکثیر آگزون دوم ژن پومس استفاده شد، آغازگرهای مورد نظر از چینش ثبت شده با شماره دسترسی AB019555 ژن پومس مرغ از بانک ژن استفاده شد. این آغازگرها یک قطعه 444 جفت بازی را از ناحیه آگزون دوم ژن پومس را تکثیر می‌نمایند.

PomcF: 5'-GAGGTCTTCCCTAAGCTGACTG-3'

PomcR: 5'-CATCTCCCTCCGGAAGTCCAT-3'

واکنش PCR با استفاده از کیت Master PCR (Cinnagen, Iran)

و مطابق دستورالعمل کیت انجام گرفت. انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز به حجم نهایی 25 میکرولیتر که ترکیب آن عبارت است از: 0/2 میکرولیتر آنزیم Taq پلیمرز (با غلظت 1U/reaction)،

0/5 میکرولیتر از هر dNTP (با غلظت 10mM)، 1/25 میکرولیتر MgCl2 (با غلظت 2/5mM)، 1 میکرولیتر پرایمر رفت با غلظت 10

پیکومول، 1 میکرولیتر پرایمر برگشت با غلظت 10 پیکومول،

1 میکرولیتر DNA (با غلظت 100 نانوگرم)، 2/5 میکرولیتر بافر

PCR (10X) و در نهایت 17/4 میکرولیتر از آب دیونیزه استفاده

کردیم تا حجم نهایی به 25 میکرولیتر برسد. تکثیر قطعه مورد نظر با

استفاده از یک مرحله ابتدایی واسرشته سازی، 94 درجه سانتی گراد

به مدت 5 دقیقه و سپس مرحله اصلی تکثیر به تعداد 35 مرحله

دمایی در دستگاه ترموسایکلر که شامل مرحله واسرشته سازی در

دمای 94 درجه سانتی گراد به مدت 30 ثانیه، مرحله اتصال آغازگرها

در دمای 58 درجه سانتی گراد به مدت 60 ثانیه، و مرحله گسترش در

دمای 72 درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه انجام گرفت و در

پایان یک مرحله گسترش نهایی در دمای 72 درجه سانتی گراد به

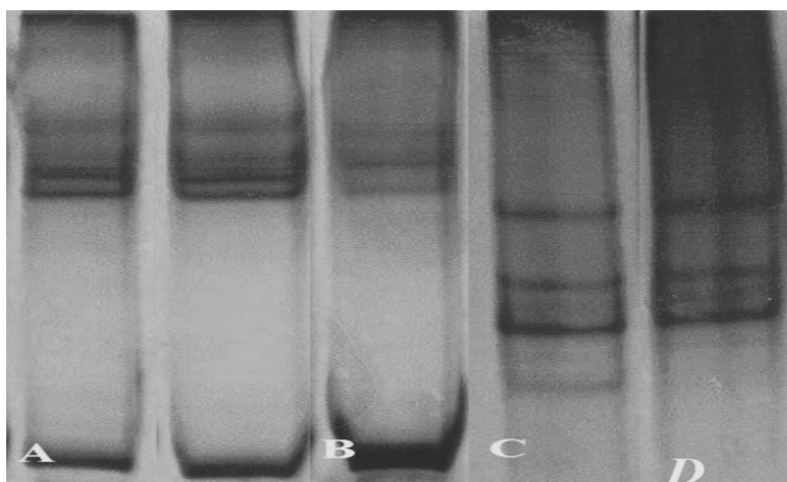
مدت 10 دقیقه استفاده شد. محصولات PCR روی ژل آگارز 1 درصد



شکل 1- الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگارز 1 درصد

Figure 1- Electrophoresis of PCR products on 1% agarose gel

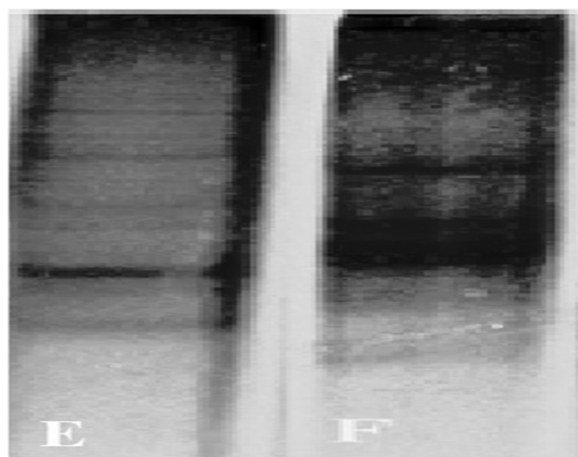
قطعه 444 جفت بازی ژن پومس در جوجه‌های گوشتی سویه کاب چهار الگوی باندی متفاوت مشاهده شد، که این چهار الگو با حروف A، B، C و D نامگذاری شده‌اند (شکل 2).



شکل 2- الگوهای باندی ژن پومس جوجه‌های گوشتی سویه کاب، حاصل از ژل آکریل‌آمید و رنگ آمیزی با نیترات نقره
Figure 2- Band patterns of Pomc gene in Cobb broiler, obtained from acrylamide gel and stained with silver nitrate

نتایج این تحقیق در ارتباط با سویه کاب با نتایج بای و همکاران (2)، که بر روی چند شکلی ژن پومس در جوجه‌های گوشتی انجام دادند مطابقت داشت زیرا در تحقیق بای و همکاران که بر روی (اگزون 1 و 2) انجام شده بود دو نوکلئوتید C و T و سه نوع ژنوتیپ CC، CT و TT شناسایی شده است، که ژنوتیپ‌های شناسایی شده با صفات مرتبط با رشد یعنی میزان عمق سینه در 12 هفتگی، عرض لگن در 4 هفتگی و همچنین وزن بدن در 2 هفتگی ارتباط معنی‌داری داشته است (2).

در جوجه‌های گوشتی سویه راس همانند جوجه‌های گوشتی سویه کاب از نشانگر SSCP استفاده شد. که نتایج الکتروفورز محصولات تکثیر شده قطعه 444 جفت بازی ژن پومس بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید در جوجه‌های گوشتی سویه راس دو الگوی باندی متفاوت نشان داد، که این دو الگو با حروف E و F نامگذاری شدند (شکل 3). فراوانی الگوها در درون جمعیت‌ها و هم بین جمعیت‌ها توسط نرم افزار PopGene32 صورت گرفت که در جدول (1) آورده شده است.



شکل 3- الگوهای باندی ژن پومس جوجه‌های گوشتی سویه راس، حاصل از ژل آکریل‌آمید و رنگ آمیزی با نیترات نقره
Figure 3- Band patterns of Pomc gene in Ross broiler, obtained from acrylamide gel and stained with silver nitrate

جدول 1- فراوانی الگوها در دو جمعیت و بین جمعیت‌ها

Table 1- Frequency of patterns in two populations and between populations

patterns	الگوها	Cobb	Ross	Ross&Cobb
A		0.6286	0	0.3099
B		0.0857	0	0.0423
C		0.1429	0	0.0704
D		0.1429	0	0.0704
E		0	0.5556	0.2817
F		0	0.4444	0.2254

رابطه بین الگوهای مشاهده شده در ژن پرواپیوملانوکورتین با صفات رشد در جوجه‌های گوشتی سویه راس و کاب مورد آزمون قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که الگوهای مشاهده شده در سطح قطعه 444 جفت بازی تکثیر شده از آگزون دوم ژن پرواپیوملانوکورتین در هر دو سویه اثر معنی‌داری بر روی صفات رشد و صفت وزن بدن نداشت.

آنالیز آماری مربوط به اثر معنی‌داری الگوهای ژن پرواپیوملانوکورتین بر صفات رشد در جوجه‌های گوشتی سویه کاب و سویه راس در جدول (2 و 3) نشان داده شده است.

در تحقیق دیگری نیز که بر روی چند شکلی ژن پرواپیوملانوکورتین بر روی آگزون سوم دو نژاد گوسفند با استفاده از روش RFLP انجام دادند دو نوکلئوتید C و T و سه نوع ژنوتیپ CT.CC و TT شناسایی شده بود که با نتایج SSCP محصولات PCR ژن پومس در جایگاه آگزون دو جوجه‌های گوشتی سویه‌های راس و کاب از نظر چند شکلی‌های بدست آمده مطابقت داشت (23).

ارتباط چندشکلی ژن پرواپیوملانوکورتین (پومس) با صفات رشد

جدول 2- حداقل میانگین و خطای استاندارد صفات رشد براساس الگوهای ژن پومس در جوجه‌های گوشتی سویه کاب

Table 2- Minimum mean and standard error based on growth traits in broilers Cobb Pomc gene patterns

صفات Traits	A	B	C	D	P-Value
وزن زنده Live weight	1812.3±50.7	1943.06 ±133.5	1905.83±101.09	1865.83±101.09	0.6881 ^{ns}
وزن لاشه Carcass weight	1602.1±46.22	1706.66±121.73	1681.99±92.16	1621.99±92.16	0.7586 ^{ns}
وزن سینه Breast weight	400.13±10.95	432.3±28.84	449.38±21.84	411.38±21.84	0.1929 ^{ns}
وزن ران thigh weight	345.15±10.24	388.63±26.98	371.72±20.43	355.51±20.43	0.3447 ^{ns}
پشت + گردن Back + Neck	334.60±12.86	361.12±33.86	348.67±25.64	344.60±25.64	0.8535 ^{ns}
بال Wing	134.82±4.07	142.33±10.71	142.93±8.11	134.67±8.11	0.7441 ^{ns}
کبد Liver	54.92±2.03	53.62±5.36	55.76±4.06	55.85±4.06	0.9836 ^{ns}
قلب Heart	10.6±0.36	11.46±0.96	10.92±0.73	11.23±0.73	0.7462 ^{ns}
بورس Bursa	1.15±0.07	1.55±0.2	1.13±0.15	1.19±0.15	0.3253 ^{ns}
طحال Spleen	2.24±0.16	1.99±0.44	2.38±0.33	2.09±0.33	0.8643 ^{ns}
پانکراس Pancreas	5.04±0.19	4.5±0.5	4.7±0.38	4.96±0.38	0.6838 ^{ns}
پیش معده + سنگدان Proventriculus+Gizzard	43.9±1.87	49.2±4.95	46.11±3.74	42.06±3.74	0.63 ^{ns}
چربی محوطه بطنی Abdominal fat	20.99±1.9	23.52±5.02	20.73±3.8	16.06±3.8	0.5888 ^{ns}

ns: non-significant

ns: عدم وجود رابطه معنی‌دار

جدول 3- حناقل میانگین و خطای استاندارد صفات رشد براساس الگوهای ژن پومس در جوجه‌های گوشتی سویه راس

Table 3- Minimum mean and standard error based on growth traits in broilers Ross Pomc gene patterns

صفات Traits	E	F	P-Value
وزن زنده Live weight	2349.25±61.55	2555.93±68.81	0.0618 ^{ns}
وزن لاشه Carcass weight	1618.65±43.19	1786.81±48.29	0.0546 ^{ns}
وزن سینه Breast weight	549.25±19.52	605.93±21.82	0.0612 ^{ns}
وزن ران thigh weight	478.8±11.74	519.56±13.12	0.0768 ^{ns}
پشت + گردن Back + Neck	403.4±15.64	475.06±17.48	0.0938 ^{ns}
بال Wing	172.2±3.81	183.5±4.26	0.0565 ^{ns}
کبد Liver	58.48±2.36	64.04±2.64	0.1261 ^{ns}
قلب Heart	14.75±0.512	14.81±0.57	0.9419 ^{ns}
بورس Bursa	3.96±0.27	4.77±0.31	0.06 ^{ns}
طحال Spleen	2.71±0.202	2.54±0.22	0.5713 ^{ns}
پانکراس Pancreas	5.77±0.308	6.61±0.34	0.0781 ^{ns}
پیش معده + سنگدان Proventriculus+Gizzard	46.11±1.51	48.24±1.68	0.3549 ^{ns}
چربی محوطه بطنی Abdominal fat	31.38±1.93	33.97±2.15	0.3758 ^{ns}

ns: عدم وجود رابطه معنی‌دار

ns: non-significant

رشد بر روی آگزون سوم این ژن در دو نژاد گوسفند چینی با استفاده از روش RFLP انجام شده است، سه ژنوتیپ TT، TC، TT را در نژاد HU و دو ژنوتیپ TT، TC را در دو رگه Friesian× HU مشاهده نمودند. بررسی‌ها نشان داد که آگزون سوم ژن پرواپیوملانو کورتین گوسفند با صفات رشد ارتباط داشته و آلل C با صفات افزایش وزن بدن و اندازه بدن گوسفند ارتباط داشته است (23). اما در پژوهشی که شارما و همکاران (20)، بر روی چند شکلی ژن پرواپیوملانو کورتین بر روی جوجه‌های تجاری با استفاده از تکنیک PCR-RFLP انجام دادند پس از مقایسه توالی‌های بدست آمده با توالی ژن پرواپیوملانو کورتین مرغی، شاهد دوازده چند شکلی تک نوکلئوتیدی و یک تغییر دو نوکلئوتیدی بودند که شش چند شکلی تک نوکلئوتیدی و یک تغییر دو نوکلئوتیدی در اینترون یک و شش چند شکلی تک نوکلئوتیدی در آگزون دوم مشخص شد، پس از مشاهده چند شکلی‌های بدست آمده هیچ گونه ارتباط معناداری بین چند شکلی‌ها با راندمان مصرف خوراک در هیچ یک از دو جنس (نر-

علاوه بر این محققان چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی متفاوتی را در ژن پرواپیوملانو کورتین کشف کرده‌اند که برخی از چند شکلی‌ها با صفات مرتبط به رشد و وزن ارتباط دارند. در پژوهشی که لئو یانگ و همکاران (9)، در رابطه با چند شکلی پرواپیوملانو کورتین و ارتباط آن با صفات مرتبط با تولید گوشت انجام دادند به این نتیجه رسیدند که چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی موجود در آگزون سوم ژن پرواپیوملانو کورتین گاوهای چینی ارتباط معنی‌داری با ضخامت چربی پشت و ماهیچه ناحیه کمر داشتند (9). همچنین در تحقیق دیگری که با استفاده از روش PCR-SSCP بر روی چند شکلی ژن پرواپیوملانو کورتین و ارتباط آن با صفات رشد بر روی گاوهای نژاد نانیانگ انجام شد، سه چند شکلی تک نوکلئوتیدی و دو ژنوتیپ AA و BB در آگزون سوم ژن پرواپیوملانو کورتین گاوی مشاهده نمودند که وزن بدن در شش ماهگی و میزان افزایش وزن روزانه در گاوهای با ژنوتیپ BB از ژنوتیپ AA بیشتر بود (27). همچنین در پژوهشی که بر روی چند شکلی ژن پرواپیوملانو کورتین و ارتباط آن با صفات

استفاده نمود. اعتقاد بر این است که پرواپیوملانوکورتین عمده‌ترین کنترل کننده اشتها، متابولیسم انرژی، بلوغ، باروری، ایمنی و افزایش وزن بدن است.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به شرایط موجود به نظر می‌رسد جوجه‌هایی که دارای دو الگوی B و F بودند ضریب تبدیل غذایی بالاتری نسبت به سایر الگوها داشته و به همین نسبت دو الگوی فوق دارای وزن چربی شکمی بالاتری نسبت به سایر الگوها می‌باشند. علاوه بر موارد فوق جوجه‌های دارای دو الگوی B و F دارای وزن اعضا و احشا کمتری نسبت به سایر الگوها بوده و این مورد در زمان کشتار یک مزیت مهم تلقی شده که میزان افت وزن کشتار را به حداقل رسانده و از نظر اقتصادی برای تولید کننده امری مهم بشمار آمده و میزان سوددهی را بیشتر می‌نماید از این رو به نظر می‌رسد انتخاب جوجه‌هایی که دارای دو الگوی فوق باشند به منظور والدین نسل بعد از نظر اقتصادی به صرفه تر بوده و توجیه پذیرتر می‌باشد.

وماده) مشاهده نکردند (20). با توجه به نقش مهم ژن پرواپیوملانوکورتین در اعمال فیزیولوژیکی بدن و تاثیر هورمون‌های مشتق شده از پرواپیوملانوکورتین بر رشد غدد فوق کلیوی و تولید هورمون‌های استروئیدی، پخش و توزیع دانه‌های ملانین، قدرت یادگیری، تنظیم حرارت بدن، فشار خون، فعالیت‌های جنسی و تنظیم انرژی هموستازی و میزان خوراک مصرفی در انسان و دام شناخت جنبه‌های ژنتیکی آن در پیشبرد برنامه‌های اصلاح نژاد و بهبود تولیدات دامی با اهمیت است. مطالعات زیادی روی ژن پرواپیوملانوکورتین و ارتباط آن با صفات مختلف در انسان و دام انجام شده است. مطالعه در مورد تشخیص چندشکلی‌های ژن پرواپیوملانوکورتین و ارتباط آن با صفات مختلف اقتصادی در گونه‌های اهلی (گاو، گوسفند، طیور) در سال‌های اخیر مورد توجه محققین اصلاح نژاد دام قرار گرفته و انجام شده است، چرا که این ژن در بسیاری از صفات اثر معنی داری را از خود نشان داده‌اند (24). البته نتایج بدست آمده در مطالعات صورت گرفته بر روی جمعیت‌های گونه‌های مختلف با یکدیگر متفاوت است به همین دلیل نیاز به مطالعات بیشتری در مورد این ژن می‌باشد تا بتوان در آینده نزدیک از نتایج تحقیقات به عمل آمده در برنامه‌های اصلاح نژادی و انتخاب

منابع

1. Alinaghizadeh, H., M.R. Mohammad Abadi, and S. Zakizadeh. 2010. Exon 2 of BMP15 gene polymorphism in Jabal Barez Red Goat. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2 (1): 69-80. (In Persian).
2. Bai, Y., G. Sun., X. Kang., R. Han., Y. Tian., H. Li, and S. Zhu. 2012. Polymorphisms of the pro-opiomelanocortin and agouti-related protein genes and their association with chicken production traits. *Journal of Molecular biology*, 39(7): 7533-7539.
3. Benbouza, H., M. Jacquemin., J. Baudoin, and G. Mergeai. 2006. Optimization of a reliable fast cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gel. *Journal of Biotechnology Agronomy Society and Environment*, 10: 77-81.
4. Cary, N.C. SAS Institute Inc. version 9.1.3: Administrator Guide for SAS 9.1.3 Foundation for Microsoft Windows 2003.
5. Dunnington, E.A., O. Gal, and Y. Plotsky. 1990. DNA fingerprints of chickens selected for high and low body weight for 31 generations. *Journal of Animal Genetics*, 21: 247-257.
6. Gu, Z., D. Zhu., N. Li., H. Li., X. Deng, and C. Wu. 2004. The single nucleotide polymorphisms of the chicken myostatin gene are associated with skeletal muscle and adipose growth. *Journal of Science in China Life Science*, 47: 26-31.
7. Iranpur, V, and M. A. K. Esmailzadeh. 2010. Rapid Extraction of High-Quality DNA from Whole Blood Stored at 4°C for Long Period. *Protocol Online*. <http://www.protocol-online.org>.
8. Javanmard, A., M.R. Mohammadabadi., G.E. Zarrigabayi., A.A. Gharahedaghi., M.R. Nassiry., A. Javadmansh, and N. Asadzadeh. 2008. Polymorphism within the intron region of the bovine leptin gene in Iranian Sarabi cattle (Iranian *Bos taurus*). *Russian Journal of Genetics*, 44 (4): 495-497.
9. Liu, Y., L. Zan., L. Li, and Y. Xin. 2013. Proopiomelanocortin gene polymorphisms and its association with meat quality traits by ultrasound measurement in Chinese cattle. *Journal of Research Gate Gene*, 529(1): 138-143.
10. Moazeni, S., M.R. Mohammadabadi., M. Sadeghi., H. Shahrbabak., A. Koshkoieh, and F. Bordbar. 2016. Association between UCP Gene Polymorphisms and Growth, Breeding Value of Growth and Reproductive Traits in Mazandaran Indigenous Chicken. *Journal of Animal Sciences*, 6 (1): 1-8.
11. Moazeni, S.M., M.R. Mohammadabadi., M. Sadeghi., H. Moradi Shahrbabak, and A.K. Esmailzadeh. 2016. Association of the melanocortin-3(MC3R) receptor gene with growth and reproductive traits in Mazandaran indigenous chicken. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 4 (2): 51-56.
12. Mohammadi, A., M.R. Nassiry., J. Mosafer., M.R. Mohammadabadi, and G.E. Sulimova. 2009. Distribution of

- BoLA-DRB3 allelic frequencies and identification of a new allele in the Iranian cattle breed Sistani (*Bos indicus*). *Russian journal of genetics*, 45(2): 198-202.
13. Mohammadabadi, M.R., M. Nikbakhti., H. R. Mirzaee., A. Shandi., D. A. Saghi., M.N. Romanov, and I. G. Moiseyeva. 2010. Genetic variability in three native Iranian chicken populations of the Khorasan province based on microsatellite markers. *Russian journal of genetics*, 46 (4): 505-509.
14. Mohammadifar, A, and M.R. Mohammadabadi. 2011. Application of microsatellite markers for a study of Kermani sheep genome. *Iranian journal of Animal Science*, 42(4): 337-344. (In Persian).
15. Mousavizadeh, A., M.R. Mohammad Abadi., A. Torabi., M. R. Nassiry., H. Ghiasi, and A.K. Esmailizadeh. 2009. Genetic polymorphism at the growth hormone locus in Iranian Talli goats by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). *Iranian Journal of Biotechnology*, 7 (1): 51-53.
16. Pavlidis, H. O. 2006. Do Gene Polymorphisms Associated with Feed Efficiency Influence Production Traits and Ascites Incidence in Broiler Crosses. ProQuest Information and Learning Company, 157-160.
17. Raffin-Sanson, M. L., Y. DeKeyser, and X. Bertagna. 2003. Proopiomelanocortin a polypeptide precursor with multiple functions from physiology to pathological conditions. *European Journal of Endocrinology*, 149(2): 79-90.
18. Scully, K. M, and M. G. Rosenfeld. 2002. Pituitary development regulatory codes in mammalian organogenesis. *Journal of Science Animal*, 295(5563): 2231-2235.
19. Shahdadnejad, N., M.R. Mohammadabadi, and M. Shamsadini. 2016. Typing of *Clostridium Perfringens* Isolated from Broiler Chickens Using Multiplex PCR. *Journal of Genetics in the 3rd millennium*, 14 (4): 4368-4374.
20. Sharma, P., W. Bottje, and R. Okimoto. 2008. Polymorphisms in uncoupling protein, melanocortin 3 receptor, melanocortin 4 receptor, and pro-opiomelanocortin genes and association with production traits in a commercial broiler line. *Journal of Poultry Science*, 87(10): 2073-2086.
21. Shojaei, M., M.R. Mohammad Abadi., M. Asadi Foz., O. Dayani., A. Khezri, and M. Akhondi. 2010. Association of growth trait and Leptin gene polymorphism in Kermani sheep. *Journal of Cell and Molecular Research*, 2: 67-73.
22. Takeuchi, S., K. Teshigawara, and S. Takahashi. 1999. Molecular cloning and characterization of the chicken pro-opiomelanocortin (POMC) gene. *Journal of Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Molecular Cell Research*, 1450 (3): 452-459.
23. Wang, C. L., C. L. Meng., S. X. Cao., J. Zhang., C. H. Meng., H. L. Wang, and D. G. Mao. 2013. Single nuclear polymorphisms in exon 3 of POMC gene and the association with growth traits in Hu sheep and East Friesian x Hu crossbred sheep. *journal of Yi chuan Hereditas Zhongguo yi chuan xue hui bian*, 35(9):1095-1100.
24. Yang, Y. K, and C. M. Harmon. 2003. Recent developments in our understanding of melanocortin system in the regulation of food intake. *Journal of Obesity reviews*, 4 (4): 239-248.
25. Zamani, P., M. Akhondi., M.R. Mohammadabadi., A.A. Saki., A. Ershadi., M.H. Banabazi, and A.R. Abdolmohammadi. 2013. Genetic variation of Mehraban sheep using two intersimple sequence repeat (ISSR) markers. *African Journal of Biotechnology*, 10: 1812-1817.
26. Zandi, E., M.R. Mohammadabadi., M. Ezzatkah, and A.K. Esmailizadeh. 2014. Typing of Toxigenic Isolates of *Clostridium Perfringens* by Multiplex PCR in Ostrich. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 4: 509-514. (In Persian).
27. Zhang, C. L., Y. H. Wang., H. Chen., C. Z. Lei., X. T. Fang., J. Q. Wang, and J. Xiao. 2009. The polymorphism of bovine POMC gene and its association with the growth traits of Nanyang cattle. *journal of Yi chuan Hereditas Zhongguo yi chuan xue hui bian*, 31(12): 1221-1225.



Study of *POMC* (Pro-Opiomelanocortin) Gene Polymorphism and its Association with Growth Traits of Broiler Chicks

H. Jafarizadeh¹ - M. B. Montazertorbat^{2*} - S. H. Farhangfar³

Received: 28-04-2017

Accepted: 11-06-2019

Introduction: The central melanocortin system appears to be an important mediator of the actions of both leptin and insulin, which are key elements in the control of energy balance. Proopiomelanocortin (POMC) is a complex precursor protein that is proteolytically cleaved to a variety of biologically active and important neuroendocrine peptides. The POMC gene is expressed mainly in the anterior and intermediate lobes of the pituitary and in the arcuate nucleus of the hypothalamus, and at a lower level also in a wide variety of peripheral tissues and of brain regions in mammals. It produces many biologically active peptides via a series of enzymatic steps in tissue-specific manners, which have important roles in the regulation of appetite, sexual behavior, the movement of melanin produced from melanocytes in skin and the production of endogenous opioid peptides with widespread actions in the brain. In chicken, the POMC gene consisted of three exons and two introns and its protein has 251 amino acid residues with nine proteolytic cleavage sites, suggesting that it could be processed to give rise to all members of the melanocortin family, including adrenocorticotrophic hormone and alpha-, beta- and gamma-melanocyte-stimulating hormones, as well as the other POMC-derived peptides. Considerable evidence has been collected indicating that POMC mutations are associated with obesity.

Materials and method: Blood samples were collected in EDTA vials from one hundred Ross and sixty Cobb broiler chicks, stored at -20 and their DNA was extracted using the modified salting-out chloroform method. Polymerase chain reaction (PCR) was carried out by specific primer pairs to amplify a 444bp fragment from a part of exon two of the Pro-Opiomelanocortin gene. The pattern of all samples was determined through single stranded conformation polymorphism (SSCP) analyses by Acrylamide gel using silver nitrate staining. The associations between polymorphisms (patterns) and the growth traits (live and carcass weight, and the weight of breast, thigh, back and neck, wings, liver, heart, bursa of Fabricius, pancreas, paraventricular, gizzard and spleen) were evaluated using the GLM procedure of the SAS software.

Results and Discussion: The extraction or genomic DNA and amplification of 444bp fragment of Pro-Opiomelanocortin gene were successfully done and it was polymorph in both strains. Two different patterns were found in Ross strain, E and F patterns with the frequencies of 0.56 and 0.44, respectively. Four different patterns were found in Cobb strain, A, B, C and D patterns with the frequencies of 0.63, 0.09, 0.14 and 0.14, respectively. There was no significant association between the patterns and the growth traits. In Ross strain, the effect of genotype (pattern) tend to be significant for carcass weight (p value = 0.054) and the chickens with F pattern have more carcass weight than those with pattern E. In Cobb strain, chickens with B pattern tend to have better slaughter yields compared to other patterns. Our results revealed that Cobb strain has more diversity in the studied fragment of POMC gene than Ross strain.

Conclusion: Energy homeostasis and body weight (BW) are regulated by coordinated actions of multiple genes. For significant economically traits, improvements in BW can be achieved through mass selection whereas feed conversion is relatively more difficult to improve. Gene polymorphisms can be used for improvement of the production traits by genetic selection, if the allelic association with the traits be determined. The variable associations of the identified polymorphisms may be a result of the differences in the population characteristics, sex, or both, indicating that the selection criteria may influence the production trait associations. This should be

1- MSc graduated student in genetics and animal breeding- Faculty of Agriculture, University of Birjand.

2- Assistant Professor in molecular and cellular biology, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand

3-Professor in genetics and Animal breeding, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand

(*- Corresponding Author Email: montazer.torbat@birjand.ac.ir)

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.64015

taken into consideration while selecting for the desired production traits. Additional studies are required to expand the genetic and physiological aspects involved in feed intake, digestion, and metabolism. The genomic diversity also has important implications in the evolutionary dynamics of species. Investigations of polymorphisms are useful for better understanding of the gene function, and those associated with commercially significant production traits have a potential for usage as molecular markers for selection programs. In summary, the identified polymorphisms and their associations with the traits of economic importance in the present study provides greater insight into the role POMC gene involved in energy balance in poultry and points toward the potential application of the findings for the enhancement of production traits by marker assisted selection.

Keywords: Broiler chicks, Growth traits, PCR-SSCP, Polymorphism, Pro-Opiomelanocortin gene.

بهینه‌سازی پارامترهای روش‌های یادگیری ماشین بر ارزیابی ژنومی صفات گسسته دودویی با در نظر گرفتن ساختار جمعیت و توزیع‌های متفاوت فنوتیپ در جمعیت مرجع

یوسف نادری*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۲۰

چکیده

تنظیم اولیه و بهینه‌سازی پارامترهای ورودی روش‌های یادگیری ماشین گامی اساسی جهت دستیابی به حداکثر صحت پیش‌بینی ژنومی می‌باشد. در این تحقیق، جمعیت‌های ژنومی برای سطوح مختلف وراثت‌پذیری (۰/۵ و ۰/۲)، عدم تعادل پیوستگی (پایین و بالا) و تعداد متفاوت جایگاه صفات کمی (۲۰۰ و ۶۰۰) بر روی ۲۹ کروموزوم شبیه‌سازی شد. جهت ایجاد نسبت‌های مختلف فنوتیپ آستانه‌ای دودویی، فنوتیپ افراد جمعیت مرجع وابسته به اینکه باقی‌مانده آنها کمتر از $\bar{e}-1SD$ (رویکرد اول) یا ۵۰ درصد افراد جمعیت (رویکرد دوم) باشد کد یک (فنوتیپ نامطلوب) و سایر حیوانات کد صفر (فنوتیپ مطلوب) اختصاص داده شد. برای بهینه‌سازی پارامترهای ورودی مدل، سطوح مختلف تعداد SNP نمونه‌گیری‌شده (۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰)، تعداد بوت استرپ (۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰)، عمق درخت (۱، ۵ و ۱۰)، نرخ یادگیری (۰/۱ و ۰/۰۵) و lc برای Boosting در نظر گرفته شد. کمترین میزان خطای خارج از کیسه برای $mtry$ برابر با ۲۰۰۰، $ntree$ برابر با ۱۰۰۰ و $node\ size$ برابر با ۱ و کمترین خطای اعتبارسنجی در روش Boosting برای $ntree$ ، tc و lr به ترتیب ۱۰۰۰، ۱۰ و ۰/۰۵ مشاهده شد. صحت پیش‌بینی ژنومی روش‌های جنگل تصادفی و Boosting با کاهش فنوتیپ نامطلوب (رویکرد اول) افزایش یافت. بطور کلی در تمام سناریوها روش Boosting عملکرد بهتری نسبت به روش جنگل تصادفی داشت که دلیل این امر را می‌توان لحاظ کردن اثرات متقابل بین نشانگرها، خود ترمیمی و قدرت بالای این روش در کاهش خطای مدل دانست.

واژه‌های کلیدی: اعتبارسنجی، صفات آستانه‌ای، عدم تعادل پیوستگی، وراثت‌پذیری، یادگیری ماشین

مقدمه

توجه در افزایش سوددهی اقتصادی در برنامه‌های اصلاح نژادی مدرن نیازمند فهم بهتر و ورود مستقیم به صفات با بروز فنوتیپی گسسته دارد (۹، ۴۰) که این امر اهمیت پرداختن به این صفات را در تحقیق حاضر دو چندان می‌کند.

ماهیت آستانه‌ای این نوع صفات، اثر پذیری بوسیله ژن‌های متعدد و عدم تطابق با توزیع نرمال و وراثت مندلی چالش جدیدی را از منظر آماری در این نوع صفات مطرح کرده است (۳۶). در نتیجه، استفاده بهتر از انتخاب ژنومی و کاربرد آن در اصلاح نژاد دام به فهم بالای روش‌های آماری مورد استفاده در انتخاب ژنومی وابسته است. روش‌های آماری متعددی برای تخمین اثرات نشانگرها ارائه شده است. در دو دهه اخیر مویسن و همکاران (۲۲) با معرفی برخی الگوهای آماری انقلاب شگرفی در جهت ارزیابی ژنومی ایجاد نمودند. با این حال در سال‌های اخیر روش‌های یادگیری ماشین (۵) به طور گسترده‌ای جهت حل چالش‌های ارزیابی ژنومی صفات آستانه‌ای مطرح شده‌اند (۳۷). جنگل تصادفی (۲۴) و Boosting (۱۱) از جمله

در سالهای اخیر، به کارگیری انتخاب ژنومی همراه با توسعه تکنولوژی فن آوری تعیین ژنوتیپ منجر به تسهیل پیشرفت ژنتیکی در برنامه‌های اصلاح نژادی شده است. در حقیقت صحت پیش‌بینی ژنومی از طریق انتخاب ژنومی افزایش و به سرعت در برنامه‌های اصلاح نژادی و خصوصاً برای صفات کمی گسترش یافته است. از دیدگاه اصلاح نژادی پرداختن محض به این نوع صفات به علت همبستگی منفی با برخی صفات آستانه‌ای از جمله مقاومت به بیماری‌ها، درجه سختی زایش و صفات رفتاری منجر به کاهش شایستگی ژنتیکی حیوان خواهد شد (۸). در نتیجه، پیشرفت قابل

استادیار، گروه علوم دامی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آستارا، آستارا، ایران

(yousefnaderi@gmail.com)

(*)-ایمیل نویسنده مسئول:

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.78810

گسسته با توزیع متفاوت فنوتیپ آستانه‌ای، به عنوان یک نوآوری در تحقیق حاضر مورد بررسی قرار گرفت.

لذا پژوهش حاضر با هدف مطالعه اینکه آیا روش‌های ناپارامتری یادگیری ماشین مانند جنگل تصادفی و Boosting با در نظر گرفتن ساختار ژنتیکی و توزیع متفاوت فنوتیپ در جمعیت مرجع می‌توانند سیگنال‌های ژنتیکی را جهت رسیدن به صحت پیش‌بینی ژنومی قابل قبولی میسر سازند یا خیر؟ در این مسیر اهمیت تنظیم و بهینه‌سازی فاکتورهای اولیه بر عملکرد هریک از این روش‌ها نیز به تفکیک مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

شبیه‌سازی سناریوها در تحقیق حاضر با استفاده از نرم افزار QMSim انجام گرفت (۳۴). نخست، برای شبیه‌سازی جمعیتی با عدم تعادل پیوستگی پایین، یک جمعیت پایه ۲۰۹۰ راسی برای ۱۰۰۰ نسل شبیه‌سازی شد. برای تولید جمعیتی با عدم تعادل پیوستگی بالاتر تعداد افراد جمعیت از طریق ایجاد یک گلوگاه ژنتیکی (Bottleneck) به ۲۰۹ راس در نسل ۱۱۰۰ کاهش یافت. در نهایت در آخرین جمعیت پایه، بعد از ۱۰۰ نسل (در نسل ۱۲۰۰) تعداد افراد جمعیت به ۲۰۹۰ راس افزایش داده شد. برای ایجاد جمعیت مرجع و تایید، همه افراد (۲۰۹۰ راس) آخرین نسل جمعیت پایه برای تولیدمثل در جمعیت حاضر مورد استفاده قرار گرفتند که در این بین ۶۰ راس نر در نظر گرفته شد تا منعکس کننده‌ی نسبت نر به ماده‌ی (حدود ۳ صدم و اندازه مؤثر جمعیت ۲۳۳) موجود در گله‌های گاو شیری باشد و بتوان اثر روش تلقیح مصنوعی بر نسبت نر به ماده را تقلید کرد (۴۲). نوع سیستم آمیزشی تصادفی بود و برای ۱۰ نسل دیگر (تا نسل ۱۲۱۰) جمعیت تکثیر شد. شانس آمیزش در همه‌ی حیوانات برابر (در هر دو جنس) و یک فرزند برای هر زایش در نظر گرفته شد. درصد جایگزینی برای نر و ماده به ترتیب ۵۰ و ۲۰ درصد در نظر گرفته شد. در جمعیت اخیر، انتخاب حیوانات برتر برای نسل بعد بر اساس ارزش اصلاحی بالا و معیار حذف بر اساس ارزش اصلاحی پایین و سن صورت گرفت. نشانگرها به صورت دو آللی و به صورت تصادفی برای هر یک از کروموزوم‌ها (۲۹ کروموزوم در دامنه‌ی ۴۲ تا ۱۵۸ سانتی مورگان) توزیع شدند. به ازای هر کروموزوم تعداد متفاوت نشانگر (دامنه‌ی ۱۸۰ تا ۶۵۳ با توجه به نوع کروموزوم) جهت تولید پل‌های K ۱۰ شبیه‌سازی شد. در مجموع دو سطح مختلف QTL ۲۰۰ (با دامنه QTL ۴-۱۳ با توجه به نوع کروموزوم) و QTL ۶۰۰ (دامنه QTL ۹-۳۲ با توجه به نوع کروموزوم) در طول کروموزوم‌ها توزیع شدند. نرخ جهش برای نشانگرها و QTL ها در هر جایگاه و در هر نسل $10^{-5} \times 2/5$ فرض شد (۳۰). دو سطح مختلف وراثت‌پذیری (۰/۵ و ۰/۲) برای هر صفت در نظر گرفته شد. در طراحی جمعیت

روش‌های قدرتمند یادگیری ماشین هستند که علاوه بر قدرت بالا در برآورد ارزیابی ژنومی (۱۱، ۱۴)، در تشخیص ژن-ژن، پروتئین-پروتئین، اثر متقابل ژن-محیط، ژن‌های مرتبط با بیماری، مدل‌سازی جهت ارتباط میان ترکیب نشانگرها، انتخاب ژن‌های در ارتباط با صفت هدف، شناسایی فاکتورهای تنظیمی در توالی آمینو اسیدها و DNA نقش برجسته‌ای دارند (۴۱). تحقیقات در مورد استفاده از روش‌های یادگیری ماشین در ارزیابی ژنومی نشان از برتری این روش‌ها (Boosting و جنگل تصادفی) نسبت به روش‌های بیز داشت (۱۴). مطالعات دیگر از قابل مقایسه بودن قدرت ارزیابی ژنومی جنگل تصادفی (۲۵) و Boosting (۱۱) در مقایسه با GBLUP سخن به میان آورده‌اند. با این حال، تفاوت عمده روش‌های یادگیری ماشین در مقایسه با روش‌ها مرسوم عدم نیاز به نحوه توارث، توانایی بالا در به کارگیری اثرات غیرافزایشی، فرضیات در نظر گرفته شده برای مدل ژنتیکی پشت صحنه آن‌ها و تنظیم و بهینه‌سازی پارامترهای اصلی آنها است که به عنوان مهمترین عوامل مؤثر جهت دستیابی به حداکثر صحت پیش‌بینی ژنومی شناخته می‌شود می‌باشد (۱۰، ۲۶).

علاوه بر تاثیر عواملی از جمله مدل آماری و نوع صفت مورد مطالعه، عوامل مختلفی می‌توانند صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی و ارزیابی ژنومی را تحت تاثیر قرار دهد، این عوامل شامل تعداد QTL (۳۹)، سطح عدم تعادل پیوستگی (۲۸، ۴۲)، تراکم نشانگرها (۳۸)، وراثت‌پذیری صفت (۲۷)، تعداد داده‌های فنوتیپی در جمعیت مرجع (۲۲) می‌باشند. با توجه به این که در انتخاب ژنومی ارزش‌های اصلاحی حیوانات جمعیت کاندیدا (دارای ژنوتیپ) از طریق برآورد میزان اثر هر کدام از نشانگرها بر صفت در جمعیت مرجع (دارای ژنوتیپ و فنوتیپ) برآورد می‌شود، با این حال برای صفات آستانه‌ای علاوه بر عوامل فوق الذکر، نسبت فنوتیپی جمعیت مرجع یکی از عوامل تاثیرگذار در برآورد ارزش‌های اصلاحی حیوانات جمعیت کاندیدا است (۳۰). تحقیقات در این زمینه نشان دادند که ترکیب جمعیت مرجع از عوامل مؤثر بر صحت پیش‌بینی ژنومی بوده (۲۱) و روش‌های یادگیری ماشین به شدت تحت تاثیر نرخ توزیع فنوتیپ جمعیت مرجع در برآورد صحت پیش‌بینی ژنومی قرار می‌گیرند (۲۴، ۲۵).

به طور کلی، بررسی جنبه‌های مختلف هر کدام از این عوامل بر صحت پیش‌بینی ژنومی علاوه بر هزینه‌بر بودن از نظر جنبه‌های اقتصادی، به صورت تجمعی و همزمان در داده‌های واقعی میسر نبوده، از این رو مطالعات شبیه‌سازی ابزاری ارزشمند برای ارزیابی و سنجش اعتبار روش‌های پیشنهادی در انتخاب ژنومی با هزینه‌ای خیلی کم می‌باشد که امکان پیش‌بینی تغییرات پارامترهای ژنتیکی بصورت همزمان را نیز فراهم می‌آورد. در این راستا و با توجه به تحقیقات محدود در زمینه تنظیم و بهینه‌سازی روش‌های بوستینگ و جنگل تصادفی و عدم مطالعه این فاکتور در ارزیابی ژنومی صفات

در این فرمول، $D=f(AB)-f(A)(B)$ بوده و $f(a)$ ، $f(A)$ ، $f(AB)$ و $f(b)$ به ترتیب، فراوانی‌های مشاهده شده هاپلوتایپ AB و آل‌های A، a، B و b می‌باشند. نرم‌افزار PLINK 1.9 برای برآورد LD بین جفت نشانگرهای مختلف در ژنوم همه حیوانات موجود در آخرین نسل مورد استفاده قرار گرفت (۳۱).

مدل آماری

جنگل تصادفی

جنگل تصادفی با استفاده از نمونه‌برداری پیاپی از جمعیت و به دست آوردن تقریبی از توزیع واریانس صفت انجام می‌شود. در داده‌های اعتبار سنجی، درختان طبقه‌بندی توسط بوت استرپینگ در آنالیز جنگل تصادفی ساخته می‌شوند. از طریق استراتژی بگینگ و انتخاب متغیر تصادفی، جنگل تصادفی باعث کاهش خطای پیش‌بینی ژنومی می‌شود. مدل کلی جنگل تصادفی به صورت زیر است.

$$\hat{f}_{rf}^p(x) = \frac{1}{p} \sum_{p=1}^p T(x; \Psi_p)$$

در اینجا Ψ_p ، p آمین درخت و برای هر مشاهده $\hat{f}_{rf}^p(x)$ از طریق میانگین پیش‌بینی‌های هر درخت محاسبه می‌شود. $T(x; \Psi_p)$ دربرگیرنده مشاهدات خارج از درخت می‌باشد. سایر حیواناتی که جز این نمونه‌گیری نیستند به عنوان خارج از مجموعه شناخته شده و در اعتبارسنجی هر درخت گریش می‌شوند (۲۶).

جنگل تصادفی از مجموعه‌ای از درختان و با استفاده از تعداد زیادی نمونه از اطلاعات افراد جمعیت مرجع ایجاد می‌شود. سپس مدل ایجاد شده در جمعیت مرجع بر جمعیت تأیید اعمال می‌شود. در ابتدا یکی از نمونه‌ها وارد هر گره از هر درخت شده و از این نمونه اطلاعات یک نشانگر برای تقسیم بندی افراد مورد استفاده قرار می‌گیرد و در نهایت افراد بر اساس اطلاعات ژنوتیپی خود برای نشانگر انتخاب شده دسته‌بندی می‌شوند. این عمل در گره‌های متوالی انجام می‌شود تا در نهایت به گره‌های پایانی رسیده که در آنها حداکثر یکنواختی وجود خواهد داشت (۱۰). داده‌های ژنومی شبیه‌سازی شده از طریق بسته‌ی RanFoG (۱۴) و نرم افزار R مورد آنالیز قرار گرفتند.

روش‌های جنگل تصادفی جهت دستیابی به حداکثر صحت پیش‌بینی ژنومی نیازمند بهینه‌سازی و تنظیم پارامترهای اصلی خود هستند سه پارامتر اصلی و مهمی که در جنگل تصادفی در مورد کلاسه‌بندی بایستی تنظیم شود عبارت‌اند از: mtry، تعداد SNP نمونه برداری شده در هر بار نمونه‌گیری تصادفی، ntree یا تعداد بوت استرپ و یا تعداد درختانی که بایستی رشد کنند و معیاری برای انتخاب بهترین SNP برای تقسیم شدن هر گره است، nodesize، حداقل اندازه گره پایانی و که نشان دهنده‌ی تعداد مشاهدات در هر شاخه درخت است (۲۶). در این تحقیق بهترین ترکیب این سه پارامتر

نهایی، افراد آخرین نسل (نسل ۱۲۱۰) به عنوان جمعیت تأیید (۲۰۹۰ راس) در نظر گرفته شد که این افراد اطلاعات ژنوتیپی داشته اما فاقد اطلاعات فنوتیپی بودند. همچنین افراد ۴ نسل ما قبل جمعیت تأیید (نسل ۱۲۰۶ تا ۱۲۰۹) در گروه جمعیت‌های مرجع (۸۳۶۰ راس) که این افراد هم اطلاعات ژنوتیپی داشته و هم ارزش‌های اصلاحی ژنومی آنها مشخص می‌باشد طبقه‌بندی شدند. با توجه به این که از دیدگاه آماری توزیع احتمال QTL‌های صفات مهم اقتصادی توسط شمار اندک ژن‌های دارای اثر عمده و درصد بالایی از ژن‌ها کوچک اثر هستند و این فرضیه به توزیع گاما نزدیکتر است (۱۷)، توزیع احتمال QTL‌ها، گاما فرض شد. همچنین فراوانی آللی اولیه برای نشانگرها ۰/۵ در نظر گرفته شد. در هر نسل و هر جایگاه کل میزان واریانس افزایشی توسط QTL توجیه شد. در مجموع ۴ سناریو (سناریو اول: وراثت‌پذیری صفت ۰/۲، QTL ۶۰۰ و عدم تعادل پیوستگی ۰/۲۰۵ (در فاصله ۰/۰۵ سانتی مورگان)؛ سناریو دوم: وراثت‌پذیری صفت ۰/۲، QTL ۲۰۰ و عدم تعادل پیوستگی ۰/۲۰۵؛ سناریو سوم: وراثت‌پذیری صفت ۰/۰۵، QTL ۲۰۰ و عدم تعادل پیوستگی ۰/۲۰۵؛ جمعیت چهارم: وراثت‌پذیری صفت ۰/۰۵، QTL ۲۰۰ و عدم تعادل پیوستگی ۰/۳۲۱) در تحقیق حاضر شبیه‌سازی شد.

برای ایجاد نسبت‌های مختلف فنوتیپ آستانه‌ای دودویی تغییراتی در فایل فنوتیپ خروجی QMSim ایجاد شد. به طوریکه فنوتیپ پیوسته حیوانات به عنوان متغیر پاسخ (y) از طریق عوامل ثابت یا مستقل (اثر نسل = x1 و اثر جنسیت = x2) آنالیز واریانس شد تا اثر عوامل ثابت و تأثیرگذار بر فنوتیپ تصحیح شود و در نهایت مقادیر باقی‌مانده برای هر حیوان محاسبه شدند. در نتیجه برای شبیه‌سازی فنوتیپ آستانه‌ای دودویی در جمعیت مرجع، ابتدا باقی‌مانده‌ها از بیشترین به کمترین مرتب شدند. در مرحله بعد با توجه نرخ توزیع فنوتیپ، باقی‌مانده‌های پیوسته از طریق دو رویکرد به فنوتیپ آستانه‌ای تبدیل شدند. در رویکرد اول: حیواناتی از جمعیت مرجع که مقادیر باقی‌مانده‌ی آنها از $-1SD_e$ کمتر بود، کد یک (یا فنوتیپ غیر مطلوب: حدود ۱۶ درصد) و سایر حیوانات کد صفر (یا فنوتیپ مطلوب: حدود ۸۴ درصد) اختصاص داده شد. در رویکرد دوم: تعدادی (۳۴ درصد تعداد اولیه) از حیوانات سالم رویکرد اول بطور تصادفی کد ۱ و بیمار در نظر گرفته شدند تا نسبت حیوانات سالم به بیمار به نسبت برابر ۵۰:۵۰ اختصاص داده شد. در این تحقیق نشانگرهای با فراوانی آللی کمیاب کمتر از ۰/۰۱ حذف شدند. برای ارزیابی صحت مدل‌ها ۱۰ تکرار برای هر سناریو در نظر گرفته شد.

سطح عدم تعادل پیوستگی برای سناریوهای مختلف شبیه سازی شده با استفاده از محاسبه‌ی توان دوم ضریب همبستگی (r^2) بین همهی جفت نشانگرهای ممکن ارزیابی گردد (۱۸).

$$r^2 = D^2 / f(A)f(a)f(B)f(b)$$

ژنومی از طریق همبستگی پیرسون بین ارزش‌های اصلاحی پیش‌بینی‌شده و ارزش‌های اصلاحی واقعی محاسبه شد (۲۶).

نتایج

نتایج تنظیم و بهینه‌سازی پارامترهای مهم مدل‌های جنگل تصادفی و Boosting در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج برای مدل جنگل تصادفی نشان داد که کمترین میزان خطای OOB برای mtry برابر با ۲۰۰۰، ntree برابر با ۱۰۰۰ و nodesize برابر با ۱ ایجاد شده است. این در حالی بود که در Boosting جهت دستیابی به کمترین میزان خطایا اعتبارسنجی (CV) مقادیر بهینه ntree، tc و lr به ترتیب ۱۰۰۰، ۱۰ و ۰/۰۵ بودند.

پژوهش‌ها در مورد مطالعه هم‌خوانی سراسر ژنوم جهت بهینه‌سازی پارامترهای مهم جنگل تصادفی نشان داد که تعداد SNP نمونه برداری شده در هر بار نمونه‌گیری تصادفی (mtry) باید همواره بیش از ۱۰ درصد تعداد کل نشانگرها باشد (۱۳). این در حالی است که در مورد مدل‌های پیوسته و گسسته مقدار mtry به ترتیب یک سوم تعداد نشانگرها و مجذور تعداد نشانگرها گزارش شده است (۵). با این حال هنگامی که داده‌ها دارای اطلاعات پرت باشند این مقادیر بیشتر در نظر گرفته می‌شوند، زیرا با افزایش تعداد mtry دقت پیش‌بینی ژنومی در داده‌های واقعی کمتر تحت تاثیر داده‌های پرت قرار می‌گیرد (۴). این میزان به‌علت کاهش داده‌های پرت در داده‌های شبیه‌سازی شده کمتر به وقوع می‌پیوندد. همچنین مقدار mtry وابسته به دو مقدار ntree و nodesize متغیر خواهد بود. پارامتر تعداد درخت (ntree) رابطه تقریباً خطی با افزایش تعداد نشانگر دارد به طوری که با افزایش تعداد نشانگرها تعداد درخت افزایش می‌یابد. با افزایش تعداد درخت احتمال نمونه‌گیری نشانگرهایی که در ارزیابی ژنومی مشارکت دارند بیشتر شده و شانس نمونه‌گیری هر نشانگر برای حداقل یک بار نمونه‌گیری بالا می‌رود. در نتیجه همواره باید تعداد ntree بالا در نظر گرفته شود اما این افزایش (در پارامترهای mtry و ntree) تاوان محاسباتی بالایی را به همراه خواهد داشت. از دیدگاه دیگر کاهش تعداد درخت اگرچه در برخی موارد صحتی برابر با تعداد بالای درخت داشته باشد اما قابلیت اطمینان و تکرار پذیری آن پایین باشد (۴). همچنین همواره افزایش تعداد درخت تضمین‌کننده‌ی صحت بالا نبوده و تنظیم همزمان آن با دو پارامتر دیگر مهمترین اصل در بهینه‌سازی می‌باشد. حداقل تعداد مشاهدات در گره پایانی (nodesize) نشان می‌دهد چه تعداد حیوان در گره پایانی تجمع داشته باشند و افزایش این پارامتر منجر به تولید درختانی کوچک و کاهش زمان محاسباتی به دلیل عدم انشعاب گره برای نشانگرها می‌شود. در نتیجه در مطالعات ژنومی و خصوصاً صفات آستانه‌ای این پارامتر پایین‌تر در نظر گرفته می‌شود (۱۱، ۲۶). تحقیقات در مورد بهینه‌سازی

از طریق محاسبه پارامتر خطای خارج از کیسه (OBB error) و به عنوان یکی از اهداف این تحقیق محاسبه گردید. در ارتباط با داده‌های گسسته مقدار پیش فرض برای mtry، ntree و nodesize به ترتیب ۱۰۰، ۵۰۰، ۱ بود که در تحقیق حاضر مقادیر ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ برای mtry، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ برای ntree و ۱ و ۵ برای nodesize لحاظ گردید و برای هر ترکیب مقدار پارامتر خطای خارج از کیسه محاسبه شد. در نهایت بهترین ترکیب از این سه پارامتر جهت آنالیز نهایی جنگل تصادفی مورد استفاده قرار گرفت.

Boosting

در الگوریتم Boosting توابع پایه مورد استفاده شامل یادگیرنده‌های ضعیف مانند درخت رگرسیونی می‌باشند. در این الگوریتم سعی می‌شود تعدادی یادگیر پایه ضعیف (یادگیرنده‌های بهتر از حالت تصادفی) که مکمل همدیگر هستند تولید شود و از طریق آموزش با استفاده از یادگیرنده‌های قبلی، یادگیرنده‌های جدید قوی‌تری ایجاد شود. در این الگوریتم توابع پایه مانند درختان رگرسیونی به صورت سریالی هر یک روی باقی‌مانده درخت قبلی اضافه می‌شوند در نتیجه اشتباه دسته‌بندی در درخت قبلی باعث کاهش مقدار خطا در درخت بعدی می‌شود (۱۱). این الگوریتم تا زمانی ادامه می‌یابد که خطای آخرین درخت به حداقل برسد. مدل کلی الگوریتم Boosting به صورت زیر می‌باشد.

$$f(x) = \sum_{m=1}^M \beta_m b(x; \gamma_m)$$

در این جا β_m ($m=1, 2, \dots, M$) ضرایب توزیع و $b(x; \gamma_m)$ توابع ساده با چند متغیره x به همراه یک سری از پارامترها γ می‌باشد. در این روش درختان رگرسیونی به عنوان یادگیرنده‌های پایه استفاده می‌شود. همچنین به‌علت توزیع داده‌های گسسته از توزیع برنولی برای حداقل کردن تابع خطا استفاده شد (۱۱). نتیجه‌گیری نهایی از طریق میانگین تصحیح شده (به هر درخت یک وزنه داده می‌شود) مجموعه درخت‌ها انجام شد. این الگوریتم از طریق بسته‌ی gbm در نرم افزار R مورد آنالیز قرار گرفت (۳۲).

در روش Boosting پارامترهای بهینه‌سازی شامل تعداد درخت (ntree)، عمق درخت (tree complexity) و پارامتر انقباضی یا نرخ یادگیری (learning rate) می‌باشند. در این تحقیق جهت دستیابی به بیشینه عملکرد و بهترین ترکیب این پارامترها مقدار خطای اعتبارسنجی (cross validation error) محاسبه شد. در ارتباط با داده‌های گسسته مقدار پیش فرض برای ntree، tc و lr به ترتیب ۱۰۰، ۱، ۰/۱ بود که در تحقیق حاضر مقادیر ۱۰۰ و ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ برای ntree؛ ۵ و ۱۰ برای tc؛ و ۰/۱ و ۰/۰۵ برای lr لحاظ گردید. در نهایت بهترین ترکیب از این سه پارامتر جهت آنالیز نهایی Boosting مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت صحت پیش‌بینی

پارامترهای جنگل تصادفی برای پنل ۱۰k نشان داد که مقدار بهینه این پارامترها ۱۰۰ برای mtry، ۲۰۰۰ برای ntree و ۱ برای nodesize در صفات آستانه‌ای (۲۶) و ۶۰۰۰ برای mtry، ۱۰۰۰ برای ntree و ۵ برای nodesize در صفات پیوسته بود (۱۱). نتایج مطالعات شبیه‌سازی نشان داد که بهینه‌سازی و دانش در مورد رابطه داخلی بین متغیرهای تنظیمی از مهمترین فاکتورهای مؤثر بر صحت پیش‌بینی ژنومی روش‌های یادگیری ماشین هستند (۱۴).

با توجه به اینکه در روش Boosting درختان به صورت سریالی روی باقی‌مانده درخت قبلی و با تاکید بر داده‌های به اشتباه دسته‌بندی رشد می‌کنند لذا با افزایش تعداد ntree قدرت مدل افزایش و خطای آن کاهش می‌یابد که نتایج تحقیق حاضر مؤکد این موضوع است. با این حال افزایش ntree هزینه سنگین محاسباتی را به همراه خواهد داشت. دو پارامتر tc و lr تعیین کننده تعداد ntree می‌باشند به طوری که افزایش هر کدام از این پارامترها نیاز به ntree بالا را کاهش می‌دهد. نرخ یادگیری (lr) میزان مشارکت هر درخت در مدل را نشان می‌دهد و مقدار آن با تعداد درخت رابطه عکس دارد (۱۱) و معمولاً

مقادیر پایین نرخ یادگیری به همراه تعداد بالای درخت مطلوبیت بیش تری در کاهش خطای CV دارد. مقادیر بالای نرخ یادگیری وقوع بیش‌برآورد را بالا برده و تعمیم پذیری مدل را کاهش می‌دهد. در نتیجه مدل نمی‌تواند به خوبی داده‌ها را دسته‌بندی کند. عمق درخت (tc) از مهمترین فاکتورهای Boosting جهت مطالعات ژنومی بوده و اثرات متقابل بین نشانگرها را کنترل می‌کند. در تحقیق حاضر همواره افزایش اثرات متقابل نشانگرها در شرایط ثبات دو فاکتور دیگر منجر به کاهش میزان خطای CV شده که با نتایج سایر محققین مطابقت داشت (۱۱). لازم به ذکر است که اهمیت این پارامتر در حجم بالای اطلاعات مشهودتر است. با افزایش تعداد tc برهم کنش بین نشانگرها در مدل بیشتر لحاظ می‌گردد و نیاز به ntree و lr کاهش می‌یابد. تحقیقات جهت بررسی ترکیب بهینه پارامترهای Boosting نشان داده شد که مقادیر ntree برابر با ۱۵۰۰، tc برابر با ۷ و lr برابر با ۰/۰۲ کمترین میزان خطای CV و بیشترین میزان صحت پیش‌بینی ژنومی را به همراه خواهند داشت (۱۱).

جدول ۱- مقادیر خطای OOB و CV برای ترکیب‌های مختلف پارامترهای تنظیمی در مدل‌های جنگل تصادفی و Boosting

Table 1- The OOB and CV error values for different combinations of tuning parameters in random forest and Boosting models

بوستینگ Boosting				جنگل تصادفی Random forest			
Ntree ¹	Tc ²	Lr ³	CV error ⁴	Mtry ⁵	Ntree	Nodesize ⁶	OOB error ⁷
100	1	0.1	119.481	100	500	1	269.41
100	1	0.05	118.37	100	500	5	269.58
100	5	0.1	115.45	100	1000	1	267.32
100	5	0.05	101.54	100	1000	5	268.28
100	10	0.1	108.92	100	2000	1	266.52
100	10	0.05	94.14	100	2000	5	266.98
1000	1	0.1	97.24	1000	500	1	258.40
1000	1	0.05	106.82	1000	500	5	264.37
1000	5	0.1	100.30	1000	1000	1	255.94
1000	5	0.05	79.23	1000	1000	5	262.56
1000	10	0.1	85.19	1000	2000	1	255.25
1000	10	0.05	71.11	1000	2000	5	260.45
2000	1	0.1	99.42	2000	500	1	257.33
2000	1	0.05	83.82	2000	500	5	261.21
2000	5	0.1	88.56	2000	1000	1	251.15
2000	5	0.05	73.42	2000	1000	5	259.34
2000	10	0.1	92.15	2000	2000	1	253.54
2000	10	0.05	71.32	2000	2000	5	260.22

¹ The number of trees to grow

² Tree depth or tree complexity

³ Shrinkage rate or learning rate

⁴ Cross validation error

⁵ The number of SNP randomly selected at each tree node

⁶ The minimum size of terminal nodes of trees

⁷ Out-of-bag error

صحت پیش‌بینی ژنومی اثر نرخ توزیع فنوتیپ آستانه‌ای

در جمعیت مرجع بر صحت ژنومی

جدول ۲ میانگین صحت پیش‌بینی ژنومی روش‌های Boosting و جنگل تصادفی برای نسبت‌های مختلف فنوتیپ آستانه‌ای جمعیت مرجع در هریک از جمعیت‌های شبیه‌سازی شده را نشان می‌دهد. به طور کلی در همه‌ی سناریوها با کاهش فنوتیپ نامطلوب (رویکرد اول)

صحت پیش‌بینی ژنومی افزایش یافت. همچنین برای هر دو رویکرد همواره صحت پیش‌بینی ژنومی روش Boosting نسبت به روش جنگل تصادفی بیشتر بود. به طور کلی کمترین و بیشترین صحت پیش‌بینی ژنومی به ترتیب در روش جنگل تصادفی برای رویکرد دوم و روش Boosting برای رویکرد اول مشاهده شد.

جدول ۲- صحت پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی (SD) با استفاده از روش جنگل تصادفی و Boosting برای نسبت‌های مختلف نرخ فنوتیپ آستانه‌ای در جمعیت مرجع
Table 2- Accuracy (SD) of estimated GEBVs using of Random Forest (RF) and Boosting for different proportions of the threshold phenotypes rate in training set

مدل Method	نسبت‌های متفاوت فنوتیپ آستانه در جمعیت مرجع Different proportion of threshold phenotype in training set	سناریو Scenario			
		I ¹	II ²	III ³	IV ⁴
بوستینگ Boosting	50:50	0.560 ^a (0.04)	0.526 ^a (0.04)	0.400 ^{fg} (0.04)	0.467 ^{bcd} (0.04)
	$\bar{e} - 1SD_e$	0.580 ^a (0.05)	0.575 ^a (0.03)	0.435 ^{def} (0.04)	0.488 ^{bc} (0.04)
	50:50	0.520 ^{ab} (0.03)	0.416 ^{efg} (0.03)	0.287 ⁱ (0.05)	0.382 ^{gh} (0.04)
	$\bar{e} - 1SD_e$	0.570 ^a (0.04)	0.461 ^{cde} (0.04)	0.336 ^{hi} (0.03)	0.413 ^{efg} (0.04)
جنگل تصادفی Random forest	50:50	0.560 ^a (0.04)	0.526 ^a (0.04)	0.400 ^{fg} (0.04)	0.467 ^{bcd} (0.04)
	$\bar{e} - 1SD_e$	0.580 ^a (0.05)	0.575 ^a (0.03)	0.435 ^{def} (0.04)	0.488 ^{bc} (0.04)
	50:50	0.520 ^{ab} (0.03)	0.416 ^{efg} (0.03)	0.287 ⁱ (0.05)	0.382 ^{gh} (0.04)
	$\bar{e} - 1SD_e$	0.570 ^a (0.04)	0.461 ^{cde} (0.04)	0.336 ^{hi} (0.03)	0.413 ^{efg} (0.04)

بین تمام سناریوها، مقادیر صحت با حروف لاتین غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

Amounts of accuracy without common superscript within all scenarios are significantly different ($P < 0.05$).

¹h² = 0.2, LD = low and 600 QTL

²h² = 0.2, LD = low and 200 QTL

³h² = 0.05, LD = low and 200 QTL

⁴h² = 0.05, LD = high and 200 QTL.

تحقیقات محدودی در زمینه اثر نرخ فنوتیپ آستانه‌ای جمعیت مرجع بر صحت پیش‌بینی ژنومی انجام شده است که اکثر این تحقیقات یک نوع نرخ آستانه فنوتیپ مورد ارزیابی قرار گرفت. در یک مطالعه شبیه‌سازی (۱۴)، جمعیت ژنومی با ۲۵۰۰ حیوان برای یک صفت گسسته دودویی با نرخ آستانه ۵۰ درصد در جمعیت مرجع نشان داد از برتری مدل L_h-Boosting (۰/۴۱ - ۰/۳۴) نسبت به جنگل تصادفی (۰/۳۲ - ۰/۲۶) داشت. در مطالعات شبیه‌سازی و همچنین ارزیابی ژنومی صفات آستانه‌ای گاوهای هلشتاین آلمان صفات باروری و ناهنجاری‌های سم و ورم پستان کلینیکی نسبت‌های مختلف شیوع بیماری در جمعیت مرجع شبیه‌سازی شد و نشان داده شد که صحت پیش‌بینی ژنومی با افزایش نرخ آستانه در جمعیت مرجع (از ۵ به ۲۰ درصد افزایش و پس روندی نزولی داشت و عملکرد GBLUP بهتر از جنگل تصادفی بود (۲۴). نادری (۲۷) جمعیت‌های مختلف ژنومی را برای نرخ آستانه ۵۰ درصدی در جمعیت مرجع برای صفات آستانه‌ای شبیه‌سازی کرد و نشان داد که علیرغم صحت قابل قبول در برخی سناریوها، روش جنگل تصادفی نسبت به روش‌های بیزی بهتر نبود.

نتایج تحقیق حاضر نشان از برتری روش Boosting نسبت به جنگل تصادفی در نسبت‌های مختلف نرخ فنوتیپ آستانه‌ای در جمعیت مرجع برای سناریوهای مختلف ژنومی داشت. بطور کلی افزایش نسبت آستانه اثر منفی بر صحت پیش‌بینی ژنومی داشت. تحقیقات نشان داد که هرچه نرخ آستانه شبیه‌سازی شده به شیوع یا آستانه‌ای واقعی جامعه نزدیک‌تر باشد صحت پیش‌بینی ژنومی افزایش می‌یابد. در این راستا مطالعات نشان داد که افزایش شیوع یا آستانه نامطلوب از ۵ به ۲۵ درصد موجب افزایش صحت پیش‌بینی ژنومی و مقادیر بالاتر آن (نرخ شیوع آستانه نامطلوب) افت صحت پیش‌بینی ژنومی را به همراه خواهد داشت (۲۴) که تاییدی بر نتایج حاصل از این تحقیق دارد. از طرفی دیگر، در تحقیق حاضر نرخ آستانه صفت از طریق کد گذاری فنوتیپ پیوسته (باقیمانده) اعمال شد که این عمل به نوبه خود موجب افزایش خطای آستانه‌سازی در رویکرد دوم نسبت به رویکرد اول شد. دلیل این امر این است که برای رویکرد دوم، تعداد افراد بیشتری (۳۴ درصد جمعیت رویکرد اول) بدون در نظر گرفتن شایستگی‌شان و تنها با استفاده از انتخاب تصادفی دسته بندی می‌شوند که این امر منجر به افزایش بیشتر خطای دسته بندی در رویکرد دوم (نسبت به اول) و کاهش صحت پیش‌بینی ژنومی می‌شود.

چنین گرگانی فیروزجاه و همکاران (۱۵) نشان دادند که با افزایش تعداد QTL از ۴۰۰ به ۶۰۰ میانگین صحت پیش‌بینی ژنومی از ۴۲/۷ به ۴۳/۳ افزایش می‌یابد. در مجموع گزارشات ضد و نقیض در مورد اثر بخشی تعداد QTL بر صحت پیش‌بینی ژنومی مطالعات مختلف را می‌توان به عوامل مختلفی (علاوه بر روش آماری) از جمله تعداد کروموزوم (۶)، اندازه مؤثر جمعیت (۲)، معماری ژنتیکی صفت (۲۷)، طبیعت افزایشی سناریوهای شبیه‌سازی شده و تعامل پیچیده بین ژن‌ها و مسیرهای بیولوژیکی در داده‌های واقعی مرتبط دانست (۲۶).

اثر وراثت‌پذیری بر صحت پیش‌بینی ژنومی در جمعیت‌های با نرخ متفاوت فنوتیپ آستانه‌ای

برای بررسی اثر وراثت‌پذیری بر صحت پیش‌بینی ژنومی در جمعیت‌های با نرخ متفاوت فنوتیپ آستانه‌ای، سناریو ۲ ($h^2=0/2$) و ۳ ($h^2=0/05$) مورد ارزیابی قرار گرفت. بیشترین میزان صحت پیش‌بینی ژنومی برای روش Boosting (۰/۵۷۵) در سناریو با وراثت‌پذیری بالا- رویکرد اول و کمترین میزان صحت پیش‌بینی ژنومی برای جنگل تصادفی (۰/۲۸۷) در سناریو با وراثت‌پذیری پایین - رویکرد دوم مشاهده شد. به طور کلی صحت پیش‌بینی ژنومی ناشی از روش های Boosting و جنگل تصادفی در هر دو رویکرد با افزایش وراثت‌پذیری افزایش یافت که این نتایج با تئوری بو و همکاران (۳) در مورد ارتباط مستقیم بین وراثت‌پذیری و صحت پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی مطابق بود. در روش‌های رایج انتخاب، روند بهبود صفات با وراثت‌پذیری پایین به آرامی صورت می‌گیرد، به دلیل این که صحت به میزان زیادی به وراثت‌پذیری صفت بستگی دارد (۲۳). به طور کلی دلیل افزایش صحت پیش‌بینی ژنومی با افزایش وراثت‌پذیری را می‌توان این گونه عنوان کرد که هر چه وراثت‌پذیری صفت بیشتر باشد، فنوتیپ فرد به ارزش ژنتیکی فرد نزدیک‌تر بوده و اثر نشانگرها و به دنبال آن ارزش‌های اصلاحی ژنومی افراد به طور صحیح‌تر پیش‌بینی می‌شود (۱۷، ۲۷).

در سالهای اخیر مطالعات زیادی جهت بررسی اثر وراثت‌پذیری بر صحت پیش‌بینی ژنومی انجام شده است که نشان می‌دهد وراثت‌پذیری از مهمترین فاکتورهای مؤثر بر صحت پیش‌بینی ژنومی است (۲۷، ۲۸). در مطالعه‌ای شبیه‌سازی اثر مثبت وراثت‌پذیری بر صحت پیش‌بینی ژنومی روش‌های Boosting و جنگل تصادفی به اثبات رسید به طوری که افزایش وراثت‌پذیری از ۰/۱ به ۰/۵ افزایش ۷۲/۴ و ۷۵/۵ درصدی را در صحت روش‌های Boosting و جنگل تصادفی به همراه داشت (۱۱). با این حال در بررسی اثر سطوح مختلف وراثت‌پذیری بر صحت پیش‌بینی ژنومی جمعیت موش تفاوت محسوسی در صحت پیش‌بینی ژنومی روش‌های یادگیری ماشین از جمله جنگل تصادفی و SVM مشاهده نشد (۲۹). مطالعات دیتویلر و

اثر تعداد QTL بر صحت پیش‌بینی ژنومی در جمعیت‌های با نرخ متفاوت فنوتیپ آستانه‌ای

برای ارزیابی اثر تعداد QTL بر صحت ژنومی، سناریو ۱ (QTL ۲۰۰) و ۲ (QTL ۶۰۰) برای نسبت‌های مختلف فنوتیپ آستانه‌ای با هم مقایسه شدند (جدول ۲). بیشترین میزان صحت پیش‌بینی ژنومی (۰/۵۸) برای جمعیت ۱ (تعداد زیاد QTL) با استفاده از Boosting در رویکرد اول و کمترین مقدار صحت (۰/۴۱۶) برای جمعیت ۱ (با تعداد کم QTL) با استفاده از جنگل تصادفی در رویکرد دوم مشاهده شد. علیرغم عملکرد بهتر روش Boosting نسبت به جنگل تصادفی، هر دو روش عملکرد بهتری در سطوح بالای QTL نسبت به سطوح پایین QTL نشان دادند. مطالعات نشان داد که اثر تعداد QTL بر صحت پیش‌بینی ژنومی شدیداً به نوع مدل آماری وابسته است (۳۳). برای مثال در رویکرد دوم، تغییرات تعداد QTL به ترتیب منجر به تغییرات ۰/۰۳۴ و ۰/۱۰۴ واحدی در صحت پیش‌بینی ژنومی روش های Boosting و جنگل تصادفی شد که نشان می‌دهد روش جنگل تصادفی نسبت به Boosting به تغییرات QTL حساسیت بالاتری دارد. مطالعات نشان داد افزایش تعداد QTL می‌تواند منجر به افزایش صحت پیش‌بینی ژنومی شود هنگامی که به طور موازی با افزایش تعداد QTL‌ها، تعداد نشانگرها نیز افزایش یابد، شانس به دام انداختن اثرات QTL‌ها افزایش می‌یابد (۱۶). در روش‌های باز نمونه‌گیری از جمله Boosting و جنگل تصادفی، افزایش تعداد QTL، منجر به تولید عدم پیوستگی قوی بین برخی نشانگرها با QTL‌های کنترل‌کننده صفت، نزدیک‌تر شدن فاصله نشانگرها با QTL‌ها و افزایش شانس نمونه‌گیری شده، در نتیجه افزایش صحت پیش‌بینی ژنومی را به همراه دارد (۲۶)، که این اثر مثبت در نتایج تحقیق حاضر صادق بود. از منظر دیگر، عبدالمی و همکاران (۱) بیان کردند که در تعداد QTL پایین، احتمال شکل‌گیری توزیع اثرات ژنی کم بوده و توزیع آماری مورد نظر با تعداد ژن‌های بزرگ اثر و کوچک اثر به خوبی بیان و نمایان نمی‌شود که می‌تواند محتمل‌ترین دلیل برای نتایج به دست آمده باشد. هم چنین به خاطر اینکه توزیع اثرات نشانگرها در این تحقیق گاما بود و این مطلب در تحقیقات مختلف اذعان شده است که این توزیع در مقایسه با توزیع نرمال اثرات نشانگرها به پیش فرض‌های روش یادگیری ماشین سازگاری کمتری دارد در نتیجه در تعداد اندک QTL، روش‌های یادگیری ماشین عملکرد بالایی نخواهند داشت (۲۶).

غفوری کسبی (۱۱) در یک مطالعه شبیه‌سازی نشان داد که روش جنگل تصادفی عملکرد بهتری در تعداد بالای QTL (۱۰۰۰) نسبت به تعداد پایین QTL (۱۰۰) برای صفات با وراثت‌پذیری پایین از خود نشان می‌دهند. ژانگ و همکاران (۴۳) بیان کردند که صحت پیش‌بینی ژنومی به آرامی با افزایش تعداد QTL افزایش می‌یابد. هم

تصادفی می‌شود (۲۵، ۲۶). به عنوان یک اصل کلی، وجود LD بین نشانگر و QTL منبع اصلی اطلاعات است و نقش عمده‌ای در صحت پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی ایفا می‌کنند (۲۰، ۳۵). جوناس و همکاران (۱۹) وجود LD در بین نشانگرها را عاملی تأثیرگذار در بهبود صحت پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی عنوان کردند.

نتیجه گیری

تنظیم روش‌ها و استفاده از ترکیب بهینه‌ی پارامترهای روش‌های Boosting و جنگل تصادفی از ملزومات استفاده از این روش‌های در ارزیابی ژنومی می‌باشد. نرخ فنوتیپ در جمعیت مرجع یکی از مهم ترین عوامل مؤثر بر صحت پیش‌بینی ژنومی با استفاده از روش‌های Boosting و جنگل تصادفی بود. صحت پیش‌بینی ژنومی هنگام بیشینه بود که فنوتیپ نامطلوب صفت مورد نظر درصد کمی (۱۶ درصد) و نزدیک به جمعیت واقعی را داشته باشد. به طور کلی در تمام سناریوها روش Boosting عملکرد پیش‌بینی بهتری نسبت به روش جنگل تصادفی داشت که دلیل این امر را می‌توان لحاظ کردن اثرات متقابل بین نشانگرها، خود ترمیمی و تمرکز بالای این روش بر کاهش خطای مدل دانست به طوری که اشتباه دسته بندی در یک درخت توسط درختان دیگر به صورت رشد سریالی ترمیم و دسته‌بندی صحیح شده تا جایی که خطای مدل به حداقل برسد. علاوه بر نرخ آستانه صفت، نوع معماری ژنومی از عوامل مهم و مؤثر بر صحت پیش‌بینی ژنومی حاصل از روش‌های یادگیری ماشین بود. در این راستا اثر بخشی وراثت‌پذیری نسبت به تعداد QTL و میزان LD بر صحت پیش‌بینی ژنومی بیشتر بود. با وجود صحت پیش‌بینی ژنومی بالاتر روش Boosting در معماری‌های مختلف، هنگامی که صفات با وراثت‌پذیری بالا توسط تعداد زیادی QTL کنترل می‌شوند روش جنگل تصادفی برآورد قابل قبولی از صحت پیش‌بینی ژنومی ارائه داد.

همکاران (۷) در برآورد صحت پیش‌بینی ژنومی از طریق فرمول $r = \sqrt{N_p h^2 / N_p h^2 + M_e}$ (که در اینجا N_p : تعداد افراد جمعیت مرجع، M_e : تعداد سیگمنت‌های کروموزوم مستقل و h^2 : وراثت‌پذیری) نشان داد که صحت پیش‌بینی ژنومی ارتباطی مستقیمی با وراثت‌پذیری دارد. در چندین مطالعه اثر مطلوب افزایش وراثت‌پذیری بر صحت پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی ناشی از مدل‌های یادگیری ماشین به اثبات رسیده است. این تأثیر مثبت و مطلوب وراثت‌پذیری منجر به تغییرات بالای ژنتیکی و در نتیجه کمک به پیش‌بینی بهتر اثرات نشانگری شد (۲۶، ۲۷).

اثر عدم تعادل پیوستگی بر صحت پیش‌بینی ژنومی در جمعیت‌های با نرخ متفاوت فنوتیپ آستانه‌ای

برای ارزیابی اثر عدم تعادل پیوستگی بر صحت پیش‌بینی ژنومی در جمعیت‌های با نرخ متفاوت فنوتیپ آستانه‌ای، سناریوهای ۳ LD (پایین) و ۴ LD (بالا) با هم مقایسه شدند (جدول ۲). میانگین LD برای جمعیت‌های ۳ و ۴ در فاصله ۰/۰۵ سانتی مورگان به ترتیب ۰/۲۰۵ و ۰/۳۲۱ بود. بیشترین میزان صحت پیش‌بینی ژنومی برای روش Boosting (۰/۴۸۸) در سناریو با عدم تعادل پیوستگی بالا-رویکرد اول و کمترین میزان صحت پیش‌بینی ژنومی برای جنگل تصادفی (۰/۲۸۷) در سناریو با عدم تعادل پیوستگی پایین-رویکرد دوم مشاهده شد. به طور کلی صحت پیش‌بینی ژنومی ناشی از روش‌های Boosting و جنگل تصادفی در هر دو رویکرد با افزایش سطح عدم تعادل پیوستگی افزایش یافت. سطح بالای LD میان QTL‌ها و نشانگرها نشان می‌دهد نشانگرها سهم بالایی از واریانس ژنتیکی را به خود اختصاص می‌دهند (۱۲). در نتیجه هرچه میزان عدم تعادل پیوستگی بین QTL‌ها و نشانگرها بیشتر باشد شانس قرار گرفتن نشانگرهای با عدم تعادل پیوستگی بالا در کنار هم برای روش‌های باز نمونه‌گیری بیشتر شده که این امر منجر به عملکرد مثبت و افزایش صحت پیش‌بینی ژنومی روش‌های Boosting و جنگل

منابع

1. Abdollahi-Arpanahi, R., A. Pakdel, A. Nejati-Javaremi, and M. M. Shahrababak. 2013. Comparison of genomic evaluation methods in complex traits with different genetic architecture. *Journal of Animal Production*, 15:65-77.
2. Andonov, S., D. Lourenco, B. Fragomeni, Y. Masuda, I. Pocrnic, S. Tsuruta, and I. Misztal. 2017. Accuracy of breeding values in small genotyped populations using different sources of external information—A simulation study. *Journal of Dairy Science*, 100(1):395-401.
3. Bo, Z., J.-J. Zhang, N. Hong, G. Long, G. Peng, L.-Y. Xu, C. Yan, L.-P. Zhang, H.-J. Gao, and G. Xue. 2017. Effects of marker density and minor allele frequency on genomic prediction for growth traits in Chinese Simmental beef cattle. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(4):911-920.
4. Boulesteix, A. L., S. Janitza, J. Kruppa, and I. R. König. 2012. Overview of random forest methodology and practical guidance with emphasis on computational biology and bioinformatics. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Data Mining and Knowledge Discovery*, 2(6):493-507.
5. Breiman, L. 2001. Random forests. *Machine Learning*, 45(1):5-32.
6. Daetwyler, H., J. Hickey, J. Henshall, S. Dominik, B. Gredler, J. Van der Werf, and B. Hayes. 2010. Accuracy of

- estimated genomic breeding values for wool and meat traits in a multi-breed sheep population. *Animal Production Science*, 50(12):1004-1010.
7. Daetwyler, H. D., M. P. Calus, R. Pong-Wong, G. de los Campos, and J. M. Hickey. 2013. Genomic prediction in animals and plants: simulation of data, validation, reporting, and benchmarking. *Genetics*, 193(2):347-365.
8. Egger-Danner, C., J. Cole, J. Pryce, N. Gengler, B. Heringstad, A. Bradley, and K. F. Stock. 2015. Invited review: overview of new traits and phenotyping strategies in dairy cattle with a focus on functional traits. *Animal*, 9(2):191-207.
9. Garrick, D. 2017. The role of genomics in pig improvement. *Animal Production Science*, 57(12):2360-2365.
10. Ghafouri-Kesbi, F., G. Rahimi-Mianji, M. Honarvar, and A. Nejati-Javaremi. 2016. Tuning and application of random forest algorithm in genomic evaluation. *Research on Animal Production*, 7(13):178-185 (In Persian).
11. Ghafouri-Kesbi, F., G. Rahimi-Mianji, M. Honarvar, and A. Nejati-Javaremi. 2017. Predictive ability of Random Forests, Boosting, Support Vector Machines and Genomic BestLinear Unbiased Prediction in different scenarios of genomic evaluation. *Animal Production Science*, 57(2):229-236.
12. Goddard, M. 2009. Genomic selection: prediction of accuracy and maximisation of long term response. *Genetica*, 136(2):245-257.
13. Goldstein, B.A., A. E. Hubbard, A. Cutler, and L. F. Barcellos. 2010. An application of Random Forests to a genome-wide association dataset: methodological considerations & new findings. *BMC Genetics*, 11(1):49.
14. González-Recio, O., and S. Forni. 2011. Genome-wide prediction of discrete traits using Bayesian regressions and machine learning. *Genetics Selection Evolution*, 43(1):7.
15. Gorgani Firozjah, N., H. Atashi, M. Dadpasand, and M. Zamiri. 2014. Effect of marker density and trait heritability on the accuracy of genomic prediction over three generations. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 2(2):53-58.
16. Habier, D., R. L. Fernando, and J. C. Dekkers. 2009. Genomic selection using low-density marker panels. *Genetics*, 182(1):343-353.
17. Hayes, B., and M. E. Goddard. 2001. The distribution of the effects of genes affecting quantitative traits in livestock. *Genetics Selection Evolution*, 33(3):209.
18. Hill, W., and A. Robertson. 1968. Linkage disequilibrium in finite populations. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 38(6): 226-231.
19. Jónás, D., V. Ducrocq, and P. Croiseau. 2017. The combined use of linkage disequilibrium-based haploblocks and allele frequency-based haplotype selection methods enhances genomic evaluation accuracy in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 10(4): 2905-2908.
20. Ke, X., S. Hunt, W. Tapper, R. Lawrence, G. Stavrides, J. Ghori, P. Whittaker, A. Collins, A. P. Morris, and D. Bentley. 2004. The impact of SNP density on fine-scale patterns of linkage disequilibrium. *Human Molecular Genetics*, 13(6):577-588.
21. Mc Hugh, N., T. Meuwissen, A. Cromie, and A. Sonesson. 2011. Use of female information in dairy cattle genomic breeding programs. *Journal of Dairy Science*, 94(8):4109-4118.
22. Meuwissen, T., B. Hayes, and M. Goddard. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157(4):1819-1829.
23. Muir, W. 2007. Comparison of genomic and traditional BLUP-estimated breeding value accuracy and selection response under alternative trait and genomic parameters. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124(6):342-355.
24. Naderi, S., M. Bohlouli, T. Yin, and S. König. 2018. Genomic breeding values, SNP effects and gene identification for disease traits in cow training sets. *Animal Genetics*, 49(3):178-192.
25. Naderi, S., T. Yin, and S. König. 2016. Random forest estimation of genomic breeding values for diseasesusceptibility over different disease incidences and genomic architectures in simulated cow calibration groups. *Journal of Dairy Science*, 99(9):7261-7273.
26. Naderi, Y. 2018. Evaluation of genomic prediction accuracy in different genomic architectures of quantitative and threshold traits with the imputation of simulated genomic data using random forest method. *Research on Animal Production*, 9(20):129-138 (In Persian).
27. Naderi, Y. 2018. Impact of genotype imputation and different genomic architectures on the performance of random forest and threshold Bayes A methods for genomic prediction. *Iranian Journal of Animal Science*, 49(1):145-157 (In Persian).
28. Naderi, Y. 2018. Investigation of genotype× environment interaction with considering imputation in simulated genomic data via different animal models. *Animal Production*, 20(3):375-387 (In Persian).
29. Neves, H. H., R. Carvalheiro, and S. A. Queiroz. 2012. A comparison of statistical methods for genomic selection in a mice population. *BMC Genetics*, 13(1):100.
30. Pimentel, E. C., M. Wensch-Dorendorf, S. König, and H. H. Swalve. 2013. Enlarging a training set for genomic selection by imputation of un-genotyped animals in populations of varying genetic architecture. *Genetics Selection Evolution*, 45(1):12.

31. Purcell, S., B. Neale, K. Todd-Brown, L. Thomas, M. A. Ferreira, D. Bender, J. Maller, P. Sklar, P. I. De Bakker, and M. J. Daly. 2007. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81(3):559-575.
32. Ridgeway, G. 2017. Package 'gbm', the R project for statistical computing.
33. Sadeghi, S., S. A. Rafat, and S. Alijani. 2018. Evaluation of imputed genomic data in discrete traits using Random forest and Bayesian threshold methods. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 40: e39007.
34. Sargolzaei, M., and F. S. Schenkel. 2009. QMSim: a large-scale genome simulator for livestock. *Bioinformatics*, 25(5):680-681.
35. Sun, X., R. Fernando, and J. Dekkers. 2016. Contributions of linkage disequilibrium and co-segregation information to the accuracy of genomic prediction. *Genetics Selection Evolution*, 48(1):77.
36. Wang, C., X. Ding, J. Wang, J. Liu, W. Fu, Z. Zhang, Z. Yin, and Q. Zhang. 2013. Bayesian methods for estimating GEBVs of threshold traits. *Heredity*, 110(3):213-219.
37. Wang, C., X. Li, R. Qian, G. Su, Q. Zhang, and X. Ding. 2017. Bayesian methods for jointly estimating genomic breeding values of one continuous and one threshold trait. *PloS One*, 12(4):e0175448.
38. Wang, Q., Y. Yu, J. Yuan, X. Zhang, H. Huang, F. Li, and J. Xiang. 2017. Effects of marker density and population structure on the genomic prediction accuracy for growth trait in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *BMC Genetics*, 18(1):45.
39. Wientjes, Y. C., M. P. Calus, M. E. Goddard, and B. J. Hayes. 2015. Impact of QTL properties on the accuracy of multi-breed genomic prediction. *Genetics Selection Evolution*, 47(1):42.
40. Yáñez, J. M., R. D. Houston, and S. Newman. 2014. Genetics and genomics of disease resistance in salmonid species. *Frontiers in Genetics*, 5:415.
41. Yang, P., Y. Hwa Yang, B. B. Zhou, and A. Y. Zomaya. 2010. A review of ensemble methods in bioinformatics. *Current Bioinformatics*, 5(4):296-308.
42. Yin, T., E. Pimentel, U. K. v. Borstel, and S. König. 2014. Strategy for the simulation and analysis of longitudinal phenotypic and genomic data in the context of a temperature humidity-dependent covariate. *Journal of Dairy Science*, 97(4):2444-2454.
43. Zhang, Z., Q. Zhang, and X. Ding. 2011. Advances in genomic selection in domestic animals. *Chinese Science Bulletin*, 56(26): 2655-2663.



The Effect of Parameters Tuning of Machine Learning Methods on Genomic Evaluation of Discrete Traits Considering Population Structure and Different Distributions of Phenotype in Training Set

Y. Naderi*

Received: 25-01-2019

Accepted: 10-06-2019

Introduction: The development of genotyping technologies has facilitated the genetic progress of breeding programs by implementing genomic selection (GS). In fact, the accuracy of genomic evaluations has been enhanced via GS and quickly spread in livestock breeding. For several decades, most phenotypic variation in dairy cattle populations had focused on continuous traits especially milk yield. From an animal breeding perspective, pay attention to this category of traits because of negative correlation with novel functional traits leads to reduction in genomic merit of these traits. Considerable advances along with increasing economic benefits in modern animal breeding programs requires better understanding and the direct inclusion of novel functional traits. Since many prominent traits in livestock including disease resistance and calving difficulty, present a binary distribution of phenotypes (and are often termed threshold traits), thus these traits are important in animal breeding due to importance of animal welfare and human tendency for healthy and high quality products. Threshold nature of most functional traits, affected by multiple genes, non-compliance from Mendelian inheritance and normal distribution are challenges for accurate prediction of GEBV using statistical methods in such kind of traits. Machine learning methodology as a non-parametric method commonly extended to solve the challenges of genomic selection for threshold traits. Random Forest (RF) and Boosting are powerful machine learning methods in order to recognize gene-gene, protein-protein and gene-environment interactions, to detect disease associated genes, to model the relationship among combinations of markers, to select genes associated with the target trait, to identify the regulatory factors in or protein and DNA sequences, to classify various samples in gene expression of microarrays data and to improve accuracy of genomic prediction. The objective of current study was to investigate the role of threshold phenotype rate of training set and different genomic architecture on performance of RF and Boosting methods. In this regard, per-determined and tuning input parameters of each method is a basic step to achieve maximum genomic accuracy.

Materials and Methods: A population of 2090 animals genotyped for 10,000 markers was simulated using QMSim software. In the first phase, over a time span of 1,000 generations, a historical population was provided from 1045 females and 1045 males. In the second phase, in order to produce a realistic level of LD, bottleneck was used. For this purpose, the population size decreased over 100 generations to 209 individuals. In the third phase, the population size increased over 100 generations (2030 females and 60 males). All 2090 individuals of the last historical generation served as founders and using a random mating design expanded the recent population by simulating an additional 10 generations. During these generations, replacement ratio was set at 0.2 and 0.50 for females and males, respectively and selection of candidate individuals were based on EBV and age. Each mating produced only one offspring with a same probability of being either male or female. Individuals of generations 6 to 9 was used as training set, while the whole generation 10 was considered as validation set. Genomic population were simulated to reflect variations in heritability (0.05 and 0.20), linkage disequilibrium (low and high) and number of QTL (200 and 600) for 29 chromosomes; therefore, four different scenarios including I (10K SNP, $h^2 = 0.20$, LD = low and 600 QTL), II (10K SNP, $h^2 = 0.2$, LD = low and 200 QTL), III (10K SNP, $h^2 = 0.05$, LD = low and 200 QTL) and IV (10K SNP, $h^2 = 0.05$, LD = high and 200 QTL) were simulated. In order to create different rates of discrete phenotype, the animals phenotype of training set was coded as 1 (inappropriate phenotype) depending on whether their phenotype residuals was less than the average of residuals ($\bar{e}$) or $\bar{e} - 1SD_e$ for the first and second approaches, respectively, and other individuals was defined ascode 0 (appropriate phenotype). In order to tuning input parameters of the model, different levels of *mtry*

Assistant Professor, Department of Animal Science, Young Resaerchers and Elite Club, Astara Branch, Islamic Azad University, Astara, Iran

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

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.78810

(100, 1000 and 2000), *ntree* (500, 1000, 2000) and *nodesize* (1 and 5) for RF and *ntree* (500, 1000, 2000), *tc* (1, 5 and 10) and *lc* (0.1 and 0.05) for Boosting were considered.

Results and Discussion: The least of out-of-bag (OOB) error was obtained for *mtry*= 2000, *ntree*= 1000 and *nodesize*= 1 in RF method while the least of cross validation (CV) error was observed for boosting method with *mtry*= 2000, *tc*= 10 and *lc*= 0.05. In all scenarios, RF algorithm was showed a wide range of genomic accuracy (0.287 to 0.57) compared to Boosting method (0.4 to 0.58). Accuracy of genomic predicted was decreased in RF and Boosting with increasing the inappropriate phenotype, because of more individuals are in the vicinity of the average normal population for the first approach ($\bar{e}$) compared to the second approach ($\bar{e} - 1SD_e$), therefore leads to more classification errors (coding) and decrease of the genomic prediction accuracy. RF and Boosting showed a high performance when high-heritability traits were controlled by a large number of QTLs. Increase in number of QTLs generally led to a major improvement in RF accuracies, while a negligible positive effects were found for Boosting.

Conclusion: The composition of training set and population genomic architecture were two basic factors affecting accuracy of genomic prediction in machine learning methods. Interactions among predictive variables (SNP), self-healing and high potency to decrease training error were considered in Boosting method resulting in more accurate estimation in this method compared to the other RF method under all scenarios.

Keywords: Cross validation, Heritability, Linkage disequilibrium, Machine learning, Threshold traits



بررسی اثر چند ریختی تک نوکلئوتیدی BIEC2-808543 ژن LCORL بر اندازه بدنی اسب عرب ایرانی

زیبا ابریشمی مقدم^۱، سید محسن میراسماعیلی^۲، مرتضی بیطرف ثانی^{۳*}، سید مرتضی سیفتی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۰۴

چکیده

اندازه بدنی یکی از ویژگی‌های مهم برای ارزیابی و دسته‌بندی اسب‌ها می‌باشد. تجزیه و تحلیل‌های انجام شده با مطالعات پویش کل ژنومی نشان داده است که اسنپ BIEC2-808543 (SNP) یکی از مهمترین چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی مرتبط با ارتفاع و اندازه بدن اسب‌ها است. در این مطالعه، تعیین ژنوتایپ BIEC2-808543 برای ۱۴۱ نمونه اسب اصیل عرب به وسیله PCR-RFLP صورت گرفت. پس از استخراج DNA، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز برای تکثیر قطعه ۲۸۴ جفت بازی در ژن LCORL انجام شد. محصول PCR تحت تأثیر آنزیم برشی Alu1 در واکنش PCR-RFLP برای تعیین ژنوتایپ نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که ال T در اسب عرب تثبیت شده است و بر این اساس فقط یک اسب با ژنوتایپ CT یافت شد و بقیه دارای ژنوتایپ TT بودند. میزان F_{ST} برآورد شده حاکی از این است که توزیع فراوانی آللی و ژنوتیپی اسنپ BIEC2-808543 در دو نوع اسب رده‌های کورس و زیبایی یکسان می‌باشد. مقایسه امتیازات دآوری، نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین امتیاز دست و پا و گردن در بین اسب‌های کورس و غیر کورس نمی‌باشد. در این مطالعه مشخص شد که اندازه دور قفسه سینه در اسب‌های کورس بیشتر از اسب‌های غیر کورس است و این اختلاف معنی‌دار بود.

واژه‌های کلیدی: اسب عرب، اندازه بدنی، BIEC2-808543، LCORL

مقدمه

به رمز در می‌آورد که چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی آن با اندازه چارچوب اسکلتی و ارتفاع بدن مرتبط هستند. اخیراً اسنپ BIEC2-808543 در جایگاه بالادست ژن LCORL شناسایی شده است که یک نشانگر تشخیصی ژنتیکی مرتبط با ارتفاع از جدوگاه و همچنین طول استخوان کانن (Cannon) در اسب‌های تروبرد^۴ است (۱۲). در بالادست جایگاه ژن LCORL در کروموزوم سه، مکان ژنی کنترل کننده (QTL)^۵ وجود دارد که با ارتفاع از جدوگاه، ترکیب پا، طول کپل، سر و فک اسب ارتباط دارند (۱۰).

ژن LCORL در اسب نقشه‌یابی شده است به طوری که روی کروموزوم شماره سه (ECA3) واقع شده و درفاصله حدود ۱۰۰ کیلوگفت بازی در بالادست این ژن، اسنپ BIEC2-808543 قرار دارد (۶). این اسنپ بر اتصال TFIID (فاکتور رونویسی) به TATA BOX اثرگذار است. در این اسنپ چنانچه، آلل C جایگزین ال T شود، تغییراتی در تمایل اتصال TFIID به TATA BOX ایجاد شده (شکل ۱) و این بر شناسایی TFIID توسط عنصر هسته‌ای

ارتفاع بدن یکی از صفات مهم پرورش حیوانات بوده و ارتفاع از جدوگاه شاخصی برای تفکیک درون گونه‌ای است (۴). مطالعات GWAS^۲ نشان می‌دهد که ژن LCORL^۳ یک فاکتور رونویسی را

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد زیست سلولی و مولکولی گرایش ژنتیک، دانشگاه علم و هنر، یزد

۲- استادیار گروه زیست شناسی، دکتری تخصصی ژنتیک مولکولی، دانشگاه علم و هنر، یزد

۳- استادیار پژوهشی بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، دکتری تخصصی اصلاح نژاد (ژنتیک کمی)، یزد، ایران

۴- استادیار گروه زیست شناسی، دکتری تخصصی ژنتیک، مرکز تحقیقات زیست فناوری پزشکی، واحد اشکذر، دانشگاه آزاد اسلامی، اشکذر، یزد
(*) ایمیل نویسنده مسئول: m.bitaraf@areeo.ac.ir

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.78988

2- Genome Wide Association Study

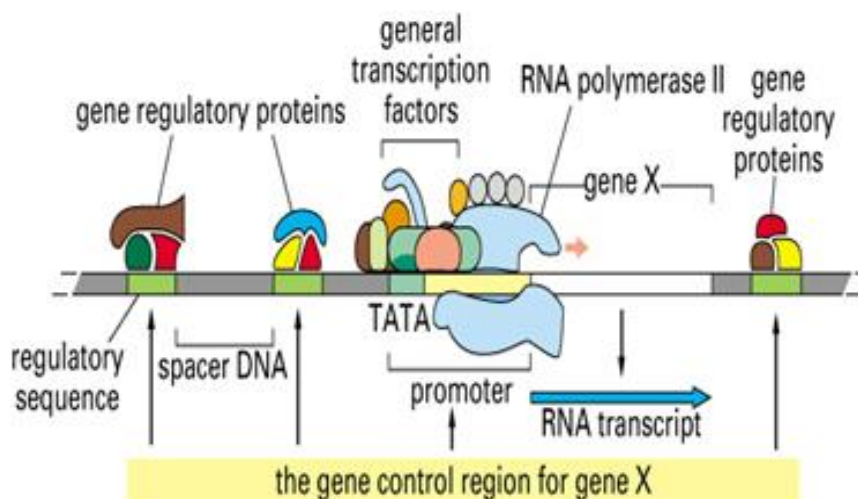
3- Ligand Dependent Nuclear Receptor Corepressor Like

4-Thoroughbred

5-Quantitative trait locus

تنظیم می‌شود که بر بیان ژن LCORL موثر است. آنالیز استخوان انسان نشان می‌دهد تعدادی از اعضای خانواده AP-1 روی این سلول ها اثر زیادی دارد. به طور کلی، فاکتورهای رونویسی، پروتئین‌های مهمی در پردازش‌های متنوع بیولوژیکی هستند (۷، ۱۲). هدف از این تحقیق بررسی توزیع فراوانی ژنوتیپی و آللی اسنیپ BIEC2-808543 و ارتباط آن با اندازه بدنی در اسب‌های اصیل عرب می‌باشد.

پروموتور که اولین قدم برای شروع رونویسی mRNA است، اثر می‌گذارد. در نتیجه عوامل دیگر رونویسی از استخوان همانند AP-1 یک کمپلکس رونویسی از mRNA است را تحت تاثیر قرار داده و فعال می‌نماید. در نتیجه رونویسی افزایش یافته و رشد استخوان‌ها توسط سه سلول استئوبلاست، استئوکلاست و کندروسیت توسعه می‌یابند. تفاوت و عملکردهای این سلول‌ها توسط چندین فاکتور خاص



شکل ۱-نواحی کنترلی موثر در بیان ژن LCORL(2)

Figure 1- Effect of controlling regions in LCORL gene expression (2)

تحقیق از کارشناسان با تجربه کانون اسب اصیل ایرانی مستقر در یزد بود.

مواد و روش‌ها

اسب اصیل عرب

نمونه مورد مطالعه شامل ۱۵۲ راس اسب اصیل عرب (۸۵ اسب نر و ۶۷ اسب ماده) بود. همه اسب‌ها بین سال‌های ۲۰۱۵-۱۹۹۰ متولد شده بودند و میانگین سن آنها ۷/۳ سال برآورد شد. اطلاعات اسب هادر تبارنامه اسب عرب ثبت شده بود که از کانون اسب اصیل ایرانی مستقر در یزد دریافت شد. زمان انجام این تحقیق سال ۱۳۹۶ بود و اطلاعات لازم از باشگاه‌های پرورش اسب شهرستان اشکذر گردآوری شد. شهرستان اشکذر کانون پرورش اسب اصیل عرب می‌باشد.

شاخص‌های اندازه بدنی

در این مطالعه ارتفاع از جدوگاه، دور قفسه سینه و طول پا به وسیله متر پارچه‌ای اندازه‌گیری شد. مرجع نحوه رکورد برداری و نحوه روش اندازه‌گیری مطابق استانداردهای فدراسیون سوارکاری و ترسیم اسکیج بود که توسط کارشناسان کانون اسب اصیل ایران در یزد پیشنهاد شد. همچنین هر اسب از نظر امتیاز دست و پا و سر و گردن نیز داوری گردید. امتیاز داوری بین صفر تا ۲۰ بود. داور این

تعیین ژنوتایپ اسنیپ BIEC2-808543

از بین ۱۵۲ اسب مورد مطالعه، ۱۴۱ رأس، خون‌گیری شدند. خون‌گیری پس از مقید کردن اسب با روش‌های رایج از سمت چپ و با استفاده از ونوجکت‌های وکیوم دارحاوی EDTA به میزان پنج سی سی از رگ گردن انجام گرفت. نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سلسیوس در آزمایشگاه ژنتیک مولکولی دانشگاه آزاد اسلامی اشکذر نگهداری شد. DNA از نمونه‌های خون به وسیله کیت Gene All (شرکت GeneAll، کره جنوبی) بر اساس پروتکل شرکت سازنده استخراج شد. در نهایت میزان غلظت و کیفیت DNA توسط دستگاه نانودراپ سنجیده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز و PCR-RFLP به منظور تکثیر قطعه ۲۸۴ جفت بازی از ژن LCORL در این تحقیق با استفاده از پرایمرهای Forward و Reverse (ساخت شرکت ماکروژن، کره جنوبی) که توسط نرم افزار Primer 3 طراحی شده بود، انجام گرفت. از دستگاه ترموسایکلر

یومان-ویتی انجام شد. به منظور بررسی تمایز ژنتیکی بین دو رده اسب کورس و زیبایی از آماره F_{ST} استفاده شد. میزان F_{ST} نیز به وسیله نرم افزار FSTAT برآورد گردید (۱۴).

نتایج و بحث

تکثیر قطعه ۲۸۴ جفت بازی ژن LCORL و تعیین ژنوتیپ نمونه‌های تحقیق

در این بررسی، الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز دو درصد نشان داد که قطعه ۲۸۴ جفت بازی از ژن LCORL به خوبی و بدون هیچ گونه قطعه غیر اختصاصی تکثیر شده است. شکل ۲ محصول PCR را در تعداد چهار نمونه در کنار نشانگر اندازه‌گیری ۵۰ جفت بازی نشان می‌دهد. در این تحقیق تکنیک PCR-RFLP برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. در هنگام فعالیت آنزیم محدودکننده اگر در توالی تشخیص آنزیم تغییری ایجاد شود، هضم محصول PCR توسط آنزیم محدودکننده در آن منطقه صورت نمی‌گیرد. وجود یا عدم وجود جهش در جایگاه تشخیص آنزیم محدودکننده را می‌توان از طریق ایجاد الگوهای قطعات مختلف تشخیص داد. در صورت عدم وقوع جهش بعد از بکارگیری آنزیم Alu1 قطعه ۲۸۴ جفت بازی حاصل از PCR برش نخورده و به طور کامل بر روی ژل ظاهر می‌شود که نشان دهنده ژنوتایپ TT است. در صورت وقوع جهش، قطعه ۲۸۴ جفت بازی توسط آنزیم Alu1 برش و بسته به این که ژنوتایپ CT باشد یا CC به ترتیب سه قطعه ۲۸۴ و ۱۶۹ و ۱۱۵ جفت بازی و دو قطعه ۲۸۴ و ۱۶۹ جفت بازی بر روی ژل ظاهر می‌شود. از ۱۴۱ راس اسبی که نمونه خون از آنها گرفته شد، تنها یک اسب دارای ژنوتایپ CT بود و بقیه اسب‌ها ژنوتایپ TT داشتند. ژنوتایپ CC در بین هیچ کدام از نمونه‌ها شناسایی نشد. در شکل ۳، ژنوتیپ‌های شناسایی شده در ۲۲ نمونه از نمونه‌های این تحقیق مشخص شده است.

تنها اسبی که دارای ژنوتایپ CT بود، سیلیمی (اسب نر مولد) با نام معراج مفیدیان بود که فرزند زلزله می‌باشد. در این تحقیق مشخص شد ۹۹/۲ درصد از اسب‌های مورد مطالعه، دارای ژنوتایپ TT می‌باشند. نتایج نشان دهنده تثبیت آلل T در چند ریختی تک نوکلئوتیدی BIEC2-808543 بر روی این ژن در اسب عرب ایرانی است.

نتایج بررسی تاثیر ژنوتیپ چندریختی تک نوکلئوتیدی BIEC2-808543 روی صفات مورد مطالعه در این تحقیق مطابق جدول ۲ می‌باشد که با توجه به تنها یک اسب دارای ژنوتیپ هتروزیگوت، اثر نشانگر مذکور روی هیچ دام از صفات معنی دار نشد.

سیلیمی‌های مبارک و برفین بیشترین نتایج در نمونه‌های این تحقیق داشتند. مبارک اسبی با بدن جمع و جور، پاهای مناسب و حرکت فوق العاده‌ای است که برنده جوایز بسیاری حتی در زمان کره-

(ساخت شرکت انالایتیک آلمان) برای تکثیر قطعات و انجام PCR استفاده گردید. حجم واکنش برای PCR، ۲۵ میکرولیتر بود که شامل ۱۴ میکرولیتر مسترمیکس^۱ (از شرکت امپلیکون)، یک میکرولیتر از پرایمر Forward با توالی:

5'-TGGAGTCAGTTGGGTTTAATG-3'

و یک میکرولیتر از پرایمر Reverse با توالی:

5'-GACCGGATAGCATAGAGAGAG-3'

و نه میکرولیتر آب استریل بود. چرخه‌های برنامه‌ی دمایی استفاده شده برای واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز شامل ۹۴ درجه سلسیوس جهت واسرشت^۲ سازی اولیه به مدت پنج دقیقه به تعداد یک سیکل، ۹۵ درجه سلسیوس جهت واسرشت سازی ثانویه به مدت ۳۰ ثانیه و به تعداد ۳۰ سیکل، ۵۷ درجه سلسیوس جهت اتصال^۳ پرایمرها به مدت ۳۰ ثانیه و به تعداد ۳۰ سیکل، ۷۲ درجه سلسیوس برای طول^۴ سازی اولیه به مدت ۳۰ ثانیه به تعداد ۳۰ سیکل و در نهایت ۷۲ درجه سلسیوس برای طول شدن نهایی در مدت پنج دقیقه به تعداد یک سیکل بود.

برای آزمون صحت قطعه بدست آمده و همچنین تعیین کیفیت محصول PCR از ژل آگارز دو درصد به همراه نشانگر با طول ۵۰ جفت بازی استفاده گردید. تعیین ژنوتایپ BIEC2-808543 توسط PCR-RFLP به همراه آنزیم محدود کننده Alu1 (شرکت سینا کلون) انجام گرفت. واکنش هضم آنزیمی در این تحقیق حجمی برابر ۲۱ میکرولیتر داشت که شامل چهار میکرولیتر محصول PCR، یک میکرولیتر آنزیم Alu1، دو میکرولیتر بافر و ۱۴ میکرولیتر آب استریل بود. ویال‌ها را داخل دستگاه انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد و بعد از اتمام زمان انکوباسیون، نمونه‌ها در دمای ۶۵ درجه سلسیوس که باعث غیر فعال شدن آنزیم می‌شود گذاشته شد. در نهایت برای بررسی نتیجه واکنش، نمونه‌ها روی ژل آگارز دو درصد و با شاخص طول ۵۰ جفت بازی بررسی شد. برای تعیین آنزیم محدود-کننده مورد استفاده برای PCR-RFLP از نرم افزار Restriction Mapper (از سایت انالاین استفاده شد) استفاده شد.

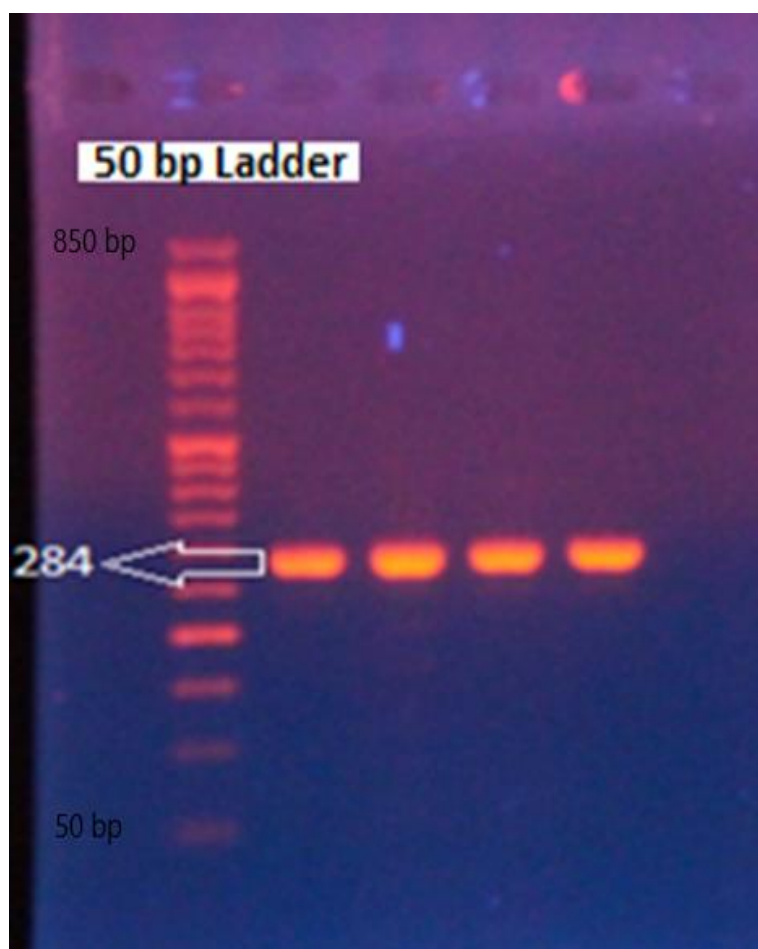
آنالیز آماری

به منظور بررسی ارتباط ژنتیکی اسنپ BIEC2-808543 با ارتفاع از جدوگاه، دور قفسه سینه و طول پا از مدل آماری رگرسیون خطی تعمیم یافته استفاده شد. با استفاده از نرم افزار R پکیج SNPassoc آنالیزهای آماری انجام شد. مقایسه میانگین شاخص‌ها بین دو دسته اسب کورس و غیر کورس با استفاده از آزمون ناپارامتری

- 1-Master Mix
- 2-Denaturation
- 3-Annealing
- 4-Extention

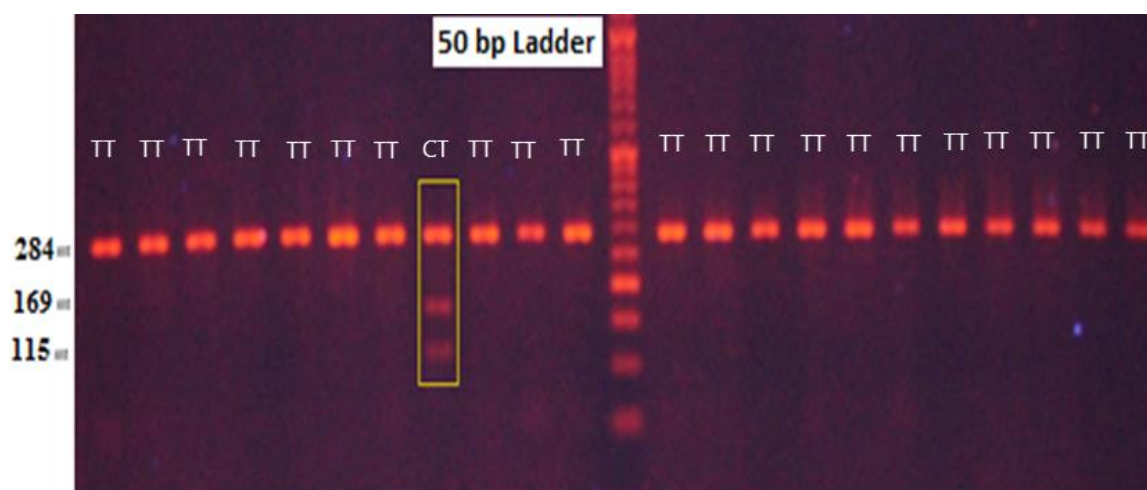
که برنده جایزه WAHO 2011 شده است. آمیزش‌های نژاد اصیل عرب اکثراً، درون نژادی می‌باشد.

گی در چندین مسابقات قهرمانی بود و به دلیل داشتن ویژگی‌های برتر نتایج زیادی از او گرفته شده است. یکی از این کره‌ها برفین است



شکل ۲- محصول واکنش زنجیره ای پلی‌مراز ژن LCORL در کنار نشانگر ۵۰ جفت بازی

Figure 2- The PCR Product of LCORL gene and 50 bp DNA ladder



شکل ۳- نتایج واکنش PCR-RFLP برای شناسایی ژنوتایپ‌های مختلف بر اساس آنزیم برشی Alu1 در کنار نشانگر ۵۰ جفت بازی

Figure 3- PCR-RFLP results for genotyping by restricted enzyme Alu1 and 50 bp DNA ladder

جدول ۱- توزیع فراوانی ژنوتیپی اسنپ BIEC2-808543 در بین اسب های مورد مطالعه
Table 1- Genotype frequency of BIEC 2-808543 SNP

جنسیت Gender	ژنوتایپ Genotype		
	TT	CT	CC
مادیان Female	59	0	0
سیلیمی Male	81	1	0

جدول ۲- اثر ژنوتیپ BIEC2-808543 روی اندازه دور سینه، ارتفاع بدن و طول پا
Table 2- Effect of BIEC2-808543 genotypes on chest circumference, withers height and leg length

ژنوتیپ genotype	تعداد number	میانگین (سانتی متر) Mean			P-value			AIC ¹		
		دور سینه chest circumference	ارتفاع بدن withers height	طول پا leg length	دور سینه chest circumference	ارتفاع بدن withers height	طول پا leg length	دور سینه chest circumference	ارتفاع بدن withers height	طول پا leg length
TT	149	168.10	156.6	140.7	0.69	1	1	1136	1210	968.9
CT	1	175.0	150	140						

¹Akaike information criterion

هموزیگوت TT دارند (12). اسب های هتروزیگوت CT نسبت هموزیگوت TT دارای ارتفاع جدوگاه و استخوان کانن بلندتری هستند. طی تحقیقات انجام شده روی اسب های ترابرد مشخص شد ارتفاع از جدوگاه در ژنوتایپ CT در مقایسه با TT بلندتر است (12). در این تحقیق ما از معیار اکاییک (AIC) استفاده کردیم که این معیاری برای سنجش نیکویی برازش است. کمترین مقدار این معیار برای مدلی بود که در آن طول پا ارزیابی شد.

تحقیقاتی بر روی نژادهای ترابرد (۱۲)، نژاد Franches-Mantages (۱۰)، Warmblood German (۱۳) و نژاد Hanoverian (۷)، Tennessee Walking Horses (۱۱)، Icelandic (۴) و نژاد Yili (۵) برای ارزیابی اثر BIEC2-808543 و ارتباط آن با اندازه بدنی شامل وزن، ارتفاع از جدوگاه، استخوان کانن (Cannon)، دور قفسه سینه صورت گرفته است. همچنین مشخص شد که اسب های دارای هموزیگوت CC ارتفاع جدوگاه و استخوان کانن بلندتری نسبت به هتروزیگوت CT و

جدول ۳- مقایسه توزیع فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم BIEC2-80543 بین نژادهای ترابرد، عرب، هانووین و Yili
Table 3- Genotype frequency of BIEC2-80543 SNP in Thoroughbred, Arab, Hanoverian, and Yili, breeds

نژاد Breed	جنسیت Gender	ژنوتیپ Genotype		
		CC	CT	TT
عرب (تحقیق حاضر) Arab (current study)	مادیان Female	0.0000	0.0000	1.0000
	سیلیمی Male	0.0000	0.0120	0.9880
ترابرد Thoroughbred	مادیان Female	0.0100	0.1800	0.8100
	سیلیمی Male	0.0000	0.1500	0.8500
ییلی Yili	-	0.0287	0.2866	0.6847
هانووین Hanoverian	-	0.2617	0.5748	0.1636

جدول ۴- مقایسه میانگین امتیازات زیبایی دست و پا، گردن و سر در بین اسب‌های مورد مطالعه

Table 4- The average score beauty of hand and legs, neck, and head in studied horses (centimeter)

نوع کاربری اسب Horse	تعداد Number	دست و پا Hand and Legs	گردن Neck	سر Head
غیر کورس (زیبایی) Show	97	16.79± 0.77	17.51± 0.83	16.96± 1.003
کورس Race	44	16.93± 1.17	16.79± 0.81	16.72± 1.03
Mann-Whitney U		2004.50	2266.00	2307.00
P value		0.12	0.70	0.83

جدول ۵- مقایسه میانگین دور سینه، طول پا و ارتفاع بدن در بین اسب‌های مورد مطالعه (سانتی متر)

Table 5- The average of withers height, chest circumference and leg length in studied horses (cm)

نوع کاربری اسب Horse	تعداد Number	دور سینه chest circumference	ارتفاع بدن withers height	طول پا leg length
غیر کورس (زیبایی) Show	97	166.74± 10.66	156.40±20.33	140.42± 5.90
کورس Race	44	171.62± 9.33	153.20± 8.98	141.40± 6.38
Mann-Whitney U		1573.000	1888.500	2036.000
P value		0.001	0.056	0.26

۱۸ است، اصل و نسب تروربرد به تعداد کمی از اسب‌های عرب و مهاجران بومی انگلیسی در حدود ۳۰۰ سال پیش می‌رسد (۹). تروربردها نسبت به اجدادشان بدن بزرگتری دارند. این ژن بر روی کروموزوم ۱۸ می‌باشد و با ویژگی‌های عضله و توانایی در مسابقات مرتبط است (۹). این ژن متعلق به ابر خانواده $TGF-B^1$ بوده که در میزان رشد ماهیچه‌ها در پستانداران نقش دارد و باعث افزایش وزن می‌گردد (۱). در این تحقیق بین امتیازات داوری مربوط به دست و پا، سر و گردن دو رده کورس و زیبایی اختلاف معنی داری وجود نداشت. در این تحقیق آماره تتا به منظور محاسبه F_{ST} بین اسب‌های کورس و زیبایی محاسبه شد که مقدار بسیار جزئی آن (۰/۰۰۵) حاکی از عدم تنوع ژنتیکی در دو گروه کورس و زیبایی در اسنپ می‌باشد.

دور قفسه سینه در اسب‌های کورس بیشتر از اسب‌های غیر کورس ($p < 0.01$) بود به طوری که دور قفسه سینه در اسب‌های کورس و غیر کورس به ترتیب ۱۷۷/۶۲ و ۱۶۶/۷۵ بود. تفاوت معنی داری بین ارتفاع از جدوگاه و طول پا بین دو گروه کورس و غیر کورس وجود نداشت. همچنین امتیازهای داوری بین دو گروه کورس

در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۱۶ نیز در نژاد تروربرد مشخص شد که به جز یک اسب ماده که دارای ژنوتایپ CC بود و تعداد اندکی از اسب‌ها که CT بودند بقیه اسب‌های دارای ژنوتایپ TT بودند (۱۲). فراوانی ال C در نژاد تروربرد بیشتر از نژاد عرب است که این موید اصلاح نژاد این اسب در خصوص ارتفاع قد و ژن LCORL می‌باشد. در اسب‌های تروربرد دارای ال C، میانگین ارتفاع بدن بیشتر از ژنوتایپ TT است. مطابق جدول ۲، یک درصد از اسب‌های نژاد تروربرد، دارای ژنوتایپ CC هستند. همچنین ۱۸ درصد از مادیان‌ها و ۱۵ درصد از سیلیمی‌ها هتروزیگوت هستند (۱۲). ولی در نژاد اسب عرب، فراوانی ال C بسیار کم بوده، به طوری که ژنوتایپ CC مشاهده نشد و تنها یکی از اسب‌ها، دارای ژنوتایپ CT بود. طبق بررسی‌های انجام شده میانگین قد اسب‌های عرب از نژاد تروربرد کوتاه‌تر است. به طور مثال، ارتفاع از جدوگاه در اسب‌های مسابقه‌ای قدیمی و همچنین دارلی عرب حدود ۱۵۲ سانتی‌متر در منابع گزارش شده است (۱۱) در حالی که برای تروربرد ارتفاع بدن حدود ۱۶۰/۵ سانتی‌متر است (۱۲). نتایج تحقیقات حاکی از تاثیر ژن LCORL بر اندازه و چارچوب اسکلتی بدن اسب است و از این رو به طور غیر مستقیم بر وزن بدن نیز موثر است. تروربرد نژادی توسعه یافته در قرن

و غیر کورس هم اختلاف معنی داری نداشت.

طی کردن مسافت‌های کوتاه دارای قفسه سینه بزرگتری هستند.

نتیجه گیری

سپاسگزاری

از کانون اسب اصیل ایرانی مستقر در یزد به دلیل هماهنگی برای گرفتن نمونه از اسب‌ها در این مطالعه تشکر می‌شود.

الل T در چند ریختی تک نوکلئوتیدی BIEC2-808543 در اسب‌های اصیل عرب ثبت شده است. اسب‌های رده کورس به دلیل

منابع

- 1- Baron, E., M. Lopes, D. Mendonca, and A. da Câmara Machado. 2012. SNP identification and polymorphism analysis in exon 2 of the horse myostatin gene. *Animal Genetics*, 43(2), 229-232.
- 2- Bruce, A., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walter. 2002. *Molecular Biology of the Cell*, 4th edition. New York: Garland Science. ISBN-10: 0-8153-3218-1 ISBN-10: 0-8153-4072-9.
- 3- Felt, V. 2016. Genetic analysis of conformation traits in Icelandic horses with a focus on head morphology and body length.
- 4- Frischknecht, M., V. Jagannathan, P. Platte, M. Neuditschko, H. Signer-Hasler, I. Bachmann, and C. Flury. 2015. A non-synonymous HMGA2 variant decreases height in Shetland ponies and other small horses. *PloS one*, 10(10), e0140749.
- 5- He, S., L. Zhang, W. Li, and M. Liu. 2015. BIEC2-808543 SNP in the LCORL gene is associated with body conformation in the Yili horse. *Animal biotechnology*. 26(4),289-291.
- 6- Makvandi-Nejad, S., et al. 2012. Four Loci Explain 83% of Size Variation in the Horse. *PLoS ONE*, 7(7): p. e39929.
- 7- Metzger, J., et al. 2013. Expression levels of LCORL are associated with body size in horses. *PLoS One*, 8(2): p. e56497.
- 8- Okuda, Y., H. H. Moe, K. K. Moe, Y. Shimizu, K. Nishioka, T. Shimogiri, and T. Kunieda. (2017). Genotype distribution and allele frequencies of the genes associated with body composition and locomotion traits in Myanmar native horses. *Animal Science Journal*, 88(8), 1198-1203.
- 9- Petersen, J. L., J. R. Mickelson, A. K. Rendahl, S. J. Valberg, L. S. Andersson, J. Axelsson, and A. S. Borges. 2013. Genome-wide analysis reveals selection for important traits in domestic horse breeds. *PLoS Genetics*, 9(1), e1003211.
- 10- Signer-Hasler, H., et al. 2013. A genome-wide association study reveals loci influencing height and other conformation traits in horses. *PLoS One*, 7(5): p. e37282.
- 11- Staiger, E. A., M. Al Abri, K. M. Pflug, S. Kalla, D. Ainsworth, D. Miller, and S. A. Brooks. 2016. Skeletal variation in Tennessee Walking Horses maps to the LCORL/NCAPG gene region. *Physiological Genomics*, 48(5), 325-335.
- 12- Tetens, J., P. Widmann, C. Kühn, and G. Thaller. 2013. A genome-wide association study indicates LCORL/NCAPG as a candidate locus for withers height in German Warmblood horses. *Animal Genetics*, 44(4), 467-471.
- 13- Tozaki, T., et al. 2016. Sequence variants of BIEC2-808543 near LCORL are associated with body composition in Thoroughbreds under training. *Journal of Equine Science*, 27(3): p. 107.
- 14- Weir, Bruce S., and C. Clark Cockerham. 1984. "Estimating F-statistics for the analysis of population structure." *Evolution*, 38(6):1358-1370.



Effect of BIEC2-808543 Near *LCORL* on Body Size of Iranian Arab horse

Z. Abrishami-Moghaddam¹, S. M. Miresmaeli², M. Bitaraf Sani^{3*} and S. M. Seifati⁴

Received: 02-02-2019

Accepted: 25-06-2019

Introduction:

Body size is one of the main features for the classification of horses. Among these features, the length of the body is one of the aspects that considered essential for animal's nutrition and height at withers applies for intra-species separating. Genome Wide Association Studies have demonstrated *LCORL* gene code a transcription factor that those polymorphisms are associated with skeletal frame size and body length. Recently, *BIEC2-808543* SNP located upstream of *LCORL* was identified as a genetic diagnostic marker associated with withers height and also the length of Cannon bone in Thoroughbred horses. *BIEC2-808543* is This SNP effect on TFIID binding site in TATA box. The substitution of C to T allele causes changes affinity of TFIID to TATA box. because of this is the effect on indicating TFIID by a pro-motor nuclear element which is the first step in mRNA transcription and in result effects on other transcription factors of bone-like AP-1, activator protein-1 transcription factor complex, AP-1 is activated as one complex of mRNA and subsequently transcription get higher. On the other words, skeletal bones are expanded by three chondrocytes, osteoblasts and osteoclasts cells. The difference and performances of these cells are regulated by some special factors that are effective on gene expression.

Near the *LCORL* gene in chromosome 3, there is a QTL which is associated with height at withers, composition of legs, length of horse's rump, head and jaw of the horse. The purpose of this research was studying of genotype and allele frequency of *BIEC2-808543* and its relationship with body size in Iranian Arab horse.

Materials and methods:

A total of 152 (85 males and 67 females) Iranian Arab horses were used in this study. All horses were born between 1990–2015, and the mean of age was 7.3 years. All horse's data were registered at WAHO and was get from Yazd Arabic Horseshoe. The time of this research was 1396 and the information was gathered from horse breeding clubs in the city of Ashkezar. The city of Ashkezar is the center of Arabic horse breeding. Measurements included withers height (cm), chest circumference (cm), and leg length. Also, each horse was judged as view of foot, head and neck and score of 0-20 was registered. The referee of this research was experienced experts in the Iranian horses' club located in Yazd. Blood samples were collected from 141 animals and in the molecular genetic laboratory of Islamic Azad University of Ashkezar stored at -20°C. Genomic DNA was extracted by Gene All kit (Company Gene All, South Korea) according to the manufacturer's protocol. We used Thermocycler for PCR and duplication fragments. The volume of the reaction was 25 µl including 14 µl master mix, 1 µl forward, 1 µl reverse, 9µl water. Genotyping for *BIEC2-808543* was performed using by PCR-RFLP by Alu1 (Company Sina Clone) restriction enzyme. primer designing was applied primer 3 software and the Restriction Mapper software (Online site was used) for PCR was used to distinct the used restriction enzyme. Forward primer sequence has TGGAGTCAGTTGGGTTTAATG and Reverse primer sequence has GACCGGATAGCATAGAGAGAG. Genetic association analysis for withers height, chest circumference, leg length, and judgment scores were performed using SNPassoc package (R software). compare mean between race and show horse was performed using Non-parametric mann-whitneyU. Weir&Cocker ham'sFst was estimated by FSTAT software.

1- Master science of Genetics, Science and Arts University, Yazd, Iran

2- Assistant Professor, Department of Biology, Science and Arts University, Yazd, Iran

3- Author corresponding: Assistant Professor, Animal Science Research Department, Yazd Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Yazd, Iran

4- Assistant Professor, Medical Biotechnology Research Center, Ashkezar Branch, Islamic Azad University, Ashkezar, Yazd, Iran

(*- Corresponding Author Email: m.bitaraf@areeo.ac.ir)

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.78988

Results and discussion:

Results of Genotyping of *BIEC2-808543* SNP showed that one of the horses with the name of Meraj Mofidian (father name: Zelzeleh) is CT. The others were TT genotype. In this study 99/2% of horses had the TT genotype. Results represent fixation of T allele of *BIEC2-808543* SNP on this gene in Iranian Arab horses. There was no significant difference between scores in three aspects, hands, legs, head and neck of show and race horses. Also, Genotype frequency of *BIEC2-80543* SNP of show and race horse was similar. Estimated FST between race and show horses was tiny amount (-0.005) and show no genetic difference of *LCORL* gene between two groups. Though there was no significant difference of withers height, and leg length and judgment scores between race and show groups.

Conclusion:

Allele T in *BIEC2-808543* polymorphism in Iranian Arab horse stabilization and approves endurance of this breed. Race Iranian Arab horse have bigger Chest circumference because of racing in short distances.

Keywords: Arab horse, *BIEC2_808543* SNP, Body size, *LCORL*

« Scientific Journal »
Iranian Journal of Animal Science Research

Vol. 12

No. 1

Spring 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>