نشریه علمی
پژوهشهای علوم دامی ایران

جلد۱۲ شماره ۲
سال ۱۳۹۹

(شماره پیاپی: ٤٢)

شاپا: ۳۱۰۶-۲۰۰۸

عنوان مقالات

تغذیه نشخوارکنندگان

اثر تزریق شکمبه‌ای عصاره آبی محصولات فرعی پسته بر توازن نیتروژن و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه در گوسفندان نر بلوچی ۱۳۵
حمید تقوی، عباسعلی ناصریان، رضا ولی زاده، احمد آسوده و غیرضا حق پرست

تعیین ارزش غذایی، قابلیت هضم دانه، غلاف و پوسته دانه باقلا با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی ۱۳۵
سلیمان بدرزاده اورنج، جمال سیف دواتی، فرزاد میرزائی آقجه قشلاق، حسین عبدی بنمار و رضا سیدشریفی

بررسی ترکیب شیمیایی و اثر سطوح مختلف سرشاخه هویج در جیره غذایی بر کینتیک هضم و تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی ۱۳۵
ایوب عزیزی، مظاهر هاشمی، افروز شریفی و اکبر ابرغانی

اثر منبع کاتیونی و DCAD جیره گاو شیری بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه در شرایط برون تنی ۱۸۱
یاسر فیض‌دار برآبادی، سید احسان غیاثی و محمد باقر منتظر تربتی

تغذیه طیور

اثر تراکم انرژی و مواد مغذی جیره غذایی بر عملکرد و کیفیت تخم‌مرغ در دوره پس از تولک بری مرغ‌های تخم‌گذار ۱۹۷
سعید باقری، ابوالقاسم گلیان، حسن نصیری مقدم و حیدر زرقی

تاثیر گیاهان دارویی شبدر زرد، موشکورک و آلوئه‌ورا بر بازده تولید، خصوصیات بیوشیمیایی و بار میکروبی گوشت بلدرچین ژاپنی ۲۱۱
حسن حبیبی و نجمه قحطان

ژنتیک و اصلاح

مقایسه‌ی برخی مدل‌های غیرخطی در توصیف منحنی رشد گوسفندان ماکویی ۲۲۳
مبثم لطیفی و صادق علیجانی

بازسازی شبکه ژن‌های هم‌بیان مرتبط با رشد و تکامل فولیکول‌های الیاف در جنین بز کرکی ۲۳۱
ارسلان براژنده، مرتضی مختاری، الهام بهدانی و زهرا رودباری

مقایسه روش‌های GBLUP و بیزی در برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی با معماری‌های مختلف ژنتیکی ۲٤۱
رضا سید شریفی ، فاطمه علاء نوشهر ، نعمت هدایت ایوریق و جمال سیف دواتی

سایر

شناسایی ژن‌های میتوکندریایی تأثیرگذار بر تکامل سلول تخم تحت هورمون FSH با استفاده از داده‌های ریز آرایه در گاو ۲٤۱
هدایت الله روشنفکر، گلزار فرهادی، جمال فیاضی،محمود نظری و الهام بهدانی

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Iranian Journal of Animal Science Research
جلد۱۲ شماره ۲ سال ۱۳۹۹

Ferdowsi University of Mashhad
Vol. 12 No. 2
2020

Iranian Journal of Animal Science Research

ISSN:2008-3106

Contents

Ruminant Nutrition

Influence of Ruminal Pistachio By-products Aqueous Extract infusion on Nitrogen Balance and Rumen Fermentation Parameters in Baluchi male Sheep 148
H. Taghavi, A.A. Naserian, R. Valizadeh, A. Asoodeh and A.R. Haghparast

The Determination of Chemical Characteristics, Rumen Fermentation and Digestibility of Faba Bean (*Vicia faba* L.) Seeds, Pods and Seed Hulls by *In Vitro* Methods 166
S. Badrzadeh Orange, J. Seifdavati, F. Mirzaei Aghjeh Qeshlagh, H. Abdi Benemar and R. Seyed Sharifi

Investigating Chemical Composition and Effects of Different Dietary Levels of Whole Carrot Tops on Ruminal Digestion and Fermentation Kinetics *in vitro* 178
A. Azizi, M. Hashemi, A. Sharifi and A. Abarghani

Effect of dairy cow dietary cation source and DCAD on invitro rumen fermentation parameters 194
Y. Feizdar barabady, S. E. ghiasi and M. Bagher montazer torbati

Poultry Nutrition

Effect of dietary energy and nutrients density on performance and egg quality in the 2nd production cycle in laying hens 208
S. Bagheri,A. Golian, H. Nasiri Moghaddam and H. Zarghi

Effect of *Melilotus officinalis, Oliveria decumbens* Vent and *Aloe vera* L on production performance, biochemistry characteristics and meat microbial count in Japanese quail 221
H. Habibi and N. Ghahtan

Genetic and Breeding

Comparison of some non-linear models for describing the growth curve in Makooei sheep 229
M. Latifi and S. Alijani

Reconstruction of genes co-expression network related to the growth and development of fiber follicle in Cashmere goat fetus 239
A. Barazandeh, M. Mokhtari, E. Behdani and Z. Roudbari

A Comparison of GBLUP and Bayesian Methods in Prediction of Genomic Breeding Values under Different Genetic Architectures 249
R. Seyed Sharifi, F. Ala Noshahr, N. Hedayat evrigh and J. Seifdavati

Other

Identification Of Mitochondrial Genes Affecting The Development Of Oocyte Under FSH Hormone By Using A Microarray Data In Cow 263
H. Roshanfekr, G. Farhadi, J. Fayazi, M. Nazari and E. Behdani

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 ۲ تابستان ۱۳۹۹

صاحب امتیاز : دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول : دکتر حسن نصیری مقدم

سردبیر : دکتر رضا ولی زاده

اعضای هیئت تحریریه :

دکتر رضا ولی زاده	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر محسن دانش مسگران	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر غلامرضا قربانی	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر سید محمد مهدی طباطبایی	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه بوعلی سینا همدان
دکتر 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 گوئلف، کانادا

ناشر: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

چاپ: چاپخانه دانشگاه فردوسی مشهد

نشانی: مشهد، میدان آزادی، پردیس دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، دبیرخانه نشریات علمی، دفتر نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران. صندوق پستی ۱۱۶۳- ۹۱۷۷۵

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 می‌شود

بسم الله الرحمن الرحیم

مندرجات

تغذیه نشخوارکنندگان — **صفحه**

اثر تزریق شکمبه‌ای عصاره آبی محصولات فرعی پسته بر توازن نیتروژن و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه در گوسفندان نر بلوچی — **۱۳۵**
حمید تقوی، عباسعلی ناصریان، رضا ولی زاده، احمد آسوده و علیرضا حق پرست

تعیین ارزش غذایی، قابلیت هضم دانه، غلاف و پوسته دانه باقلا با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی — **۱۵۱**
سلیمان بدرزاده اورنج، جمال سیف دواتی، فرزاد میرزائی آقچه قشلاق، حسین عبدی بنمار و رضا سیدشریفی

بررسی ترکیب شیمیایی و اثر سطوح مختلف سرشاخه هویج در جیره غذایی بر کینتیک هضم و تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی — **۱۶۹**
ایوب عزیزی، مظاهر هاشمی، افروز شریفی و اکبر ابرغانی

اثر منبع کاتیونی و DCAD جیره گاو شیری بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه در شرایط برون تنی — **۱۸۱**
یاسر فیض‌دار برآبادی، سید احسان غیاثی و محمد باقر منتظر تربتی

تغذیه طیور

اثر تراکم انرژی و مواد مغذی جیره غذایی بر عملکرد و کیفیت تخم‌مرغ در دوره پس از تولک‌بری مرغ‌های تخم‌گذار — **۱۹۷**
سعید باقری، ابوالقاسم گلیان، حسن نصیری مقدم و حیدر زرقی

تاثیر گیاهان دارویی شبدر زرد، موشکورک و آلوئه‌ورا بر بازده تولید، خصوصیات بیوشیمیایی و بار میکروبی گوشت بلدرچین ژاپنی — **۲۱۱**
حسن حبیبی و نجمه قحطان

ژنتیک و اصلاح

مقایسه‌ی برخی مدل‌های غیرخطی در توصیف منحنی رشد گوسفندان ماکویی — **۲۲۳**
میثم لطیفی و صادق علیجانی

بازسازی شبکه ژن‌های هم‌بیان مرتبط با رشد و تکامل فولیکول‌های الیاف در جنین بز کرکی — **۲۳۱**
ارسلان برازنده، مرتضی مختاری، الهام بهدانی و زهرا رودباری

مقایسه روش‌های GBLUP و بیزی در برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی با معماری‌های مختلف ژنتیکی — **۲۴۱**
رضا سید شریفی ، فاطمه علاء نوشهر ، نعمت هدایت ایوریق و جمال سیف دواتی

سایر

شناسایی ژن‌های میتوکندریایی تأثیرگذار بر تکامل سلول تخم تحت هورمون FSH با استفاده از داده‌های ریز آرایه در گاو — **۲۵۱**
هدایت الله روشنفکر، گلزار فرهادی، جمال فیاضی،محمود نظری و الهام بهدانی

اسامی ارزیابان جلد ۱۲ شماره ۲ (تابستان ۱۳۹۹) نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران (به ترتیب الفبا)

دکتر سید هادی ابراهیمی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مهدی الهی ترشیزی	دانشگاه آزاد اسلامی گلبهار
دکترفرزاد باقرزاده کاسمانی	دانشگاه زابل
دکتر عطیه بهلولی قائن	دانشگاه پیام نور مشهد
دکتر علی جوادمنش	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر آرش جوانمرد	دانشگاه تبریز
دکتر مرتضی چاجی	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
دکتر احمد حسن آبادی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مجتبی حسین پور مشهدی	دانشیار دانشگاه ازاد اسلامی واحد مشهد
دکتر غلامرضا داشاب	دانشگاه زابل
دکتر عطیه رحیمی	دانش آموخته دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر علی رزاقی	مرکز رشد دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر محمدهادی سخاوتی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر محمدمهدی شریعتی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر محمدرضا شیخلو	دانشگاه تبریز
دکتر آیه سادات صدر	واحد بین الملل دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر امیرحسین علیزاده قمصری	موسسه تحقیقات علوم دامی کشور
دکتر سمانه قاسمی	دانشکده فنی و کشاورزی شهریار
دکتر مرضیه قدمی کوهستانی	شرکت کیمیا آنزیم
دکتر سیدحسن مرعشی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر سید علی میرقلنج	دانشگاه تبریز
دکتر علی نوبخت	دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه
دکتر مجتبی یاری	دانشگاه ملایر

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 گردهمائی‌های علمی یا چاپ بصورت چکیده در مجلات علمی بلامانع است. **توجه به شیوه نامه ذیل کاملا ضروری است:**

- ✓ مقاله‌ای که بر اساس دستورالعمل نشریه تهیه نشده باشد، در جلسه هیئت تحریریه مطرح نمی‌شود.
- ✓ مقاله‌ها 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 می‌گردد. نویسنده مسئول باید اصلاحات خواسته شده را ظرف مدت ۳ روز با نرم افزارMicrosoft 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 نمی‌باشد.
- ✓ عدم رعایت شیوه نامه فوق موجب تأخیر در پذیرش و رفت و برگشت‌های مکرر و زمان‌بر 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 وPDF در قسمت فایلهای اصلی و فایلهای صفحه مشخصات نویسندگان و تعهدنامه در قسمت فایلهای مکمل بارگذاری شود.در هنگام ارسال مقاله عنوان مقاله به طور صحیح و اسامی کلیه نویسندگان مقاله به ترتیب باید در سایت وارد شود. توجه شود که کلیه مراحل (ارسال، ارزیابی، اصلاحات، پذیرش و یا عدم پذیرش) از طریق سایت نشریه انجام می گیرد، همچنین کلیه نویسندگان مقاله باید فرم ارسال مقاله را تأیید و فقط از طریق سایت روند پیشروی مقاله خود را پیگیری نمایند. نویسنده مسئول می تواند از طریق ایمیل نشریه به آدرس ijasr@um.ac.ir ، ijasr@fum.ac یا ijasr@ferdowsi.um.ac.ir نیز از روند پیشرفت مقاله خود مطلع گردد.

الف) فرم صفحه مشخصات مقاله

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

ب) فرم تعهد نامه

فرم تعهدنامه که در سایت بارگذاری شده است باید توسط نویسندگان تکمیل و پس از اینکه **به امضای تمام نویسنده (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، ویرگول و ... به درستی استفاده شود.
- ✓ رعایت نیم فاصله در کلمات ترکیبی و جمع مانند اندازه‌گیری، شده‌اند، می‌شود، می‌توان، نکته‌ها و ... ضروری است.
- ✓ معادله‌ها در متن مقاله باید به ترتیب از ابتدا تا انتها شماره‌گذاری شوند.
- ✓ واحدهای مورد استفاده در متن مقاله باید بر اساس سیستم بین‌المللی متریک (SI) باشد.
- ✓ تعداد پاورقی ها به حداقل برسد و شماره پاورقی‌ها در هر صفحه از عدد یک آغاز شود.

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 وچکیده مبسوط انگلیسی می باشند. بخشهای پیشنهادات و سپاسگزاری بصورت اختیاری و کاملاً خلاصه شده می توانند به متن مقاله پس از بخش نتیجه گیری کلی اضافه شوند.

۱- عنوان

عنوان مقاله در ابتدا و وسط صفحه اول و به صورت پررنگ نوشته شود. عنوان باید روان، بیانگر محتوای مقاله و مختصر (حداکثر حاوی ۱۵ کلمه) باشد. عنوان فارسی، چکیده فارسی و واژه‌های کلیدی (بدون ذکر نام نویسندگان) باید در صفحه نخست ذکر شوند.

۲- چکیده فارسی

چکیده فارسی باید حداکثر در ۲۵۰ کلمه تهیه شود. در این بخش مقاله اهداف عمده، مواد و روشها، نتایج و کاربردهای شاخص بصورت خلاصه و گویا ذکر شوند. از ذکر علائم آماری چون ($P<۰/۰۵$) 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.

٤- 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.

٥- 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. درصورت لزوم جهت معرفی تیمارها و یا روشهای خاص آزمایش می توان از جدول یا شکل استفاده کرد.

٦- 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.

٦-۱- نحوه تهیه جدول ها و شکل ها

٦-۱-۱- جدول

- ✓ **الگوی جدول باید دقیقا 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 Ruman با اندازه ۱۰ باشد. زیرنویس با اندازه فونت ۹ نوشته شود.
- ✓ عنوان جدول در بالا و با فرمت وسط چین نوشته و گویای نتایج مندرج در آن باشد. عنوان از شماره جدول با خط تیره جدا شود. در کل جدول **فقط عبارت جدول و شماره آن** پررنگ گردد و از ارائه پررنگ سایر قسمت‌های جدول خودداری شود. (**جدول ۱**– تأثیر .....)
- ✓ هر جدول با یک خط افقی از عنوان آن و سر جدول با یک خط افقی از متن جدول جدا و در زیر متن جدول نیز یک خط افقی کشیده شود. در صورت لزوم می‌توان برای تقسیم سر جدول از خطوط افقی در داخل کادر سر جدول استفاده کرد.
- ✓ تیمارها در ردیف اول، سر جدول و به صورت وسط چین، اما متغیرها در سمت چپ جدول و به صورت چپ چین ارائه گردد.
- ✓ از کشیدن هر گونه خط عمودی در جدول خودداری شود.
- ✓ توضیحات اضافی عنوان و متن جدول باید بصورت زیر نویس ارائه شوند و ارتباط آنها با جدول و عنوان با استفاده از علامت های عددی در بالا و سمت راست جمله ها، اعداد و غیره به صورت توان و اندازه کوچکتر مشخص شود. برای نوشتن زیر نویس یک سطر به جدول اضافه و آن سطر را Merge کرده و زیر نویس ها را در آن بنویسید تا خطوط شروع جدول و زیر نویس همراستا باشند.
- ✓ توضیحات زیرنویس درصورتی که به زبان فارسی است، راست چین و درصورتی 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-productsin dietaryon plasma metabolites (mg/dl)

متابولیتهای پلاسما 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
نیتروژن اوره ای خون BUN (%)[2]	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
آسپارتات آمینو ترانسفراز AST (U/L)[3]	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
آلانین آمینو ترانسفراز ALT (U/L)[4]	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
لیپوپروتئین با دانسیته پایین LDL (mol/L)[6]	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002

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

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

[1]By-Products were used instead of alfalfa in 5 and 10 % based on dry matter intake.

[2]Blood urea nitrogen

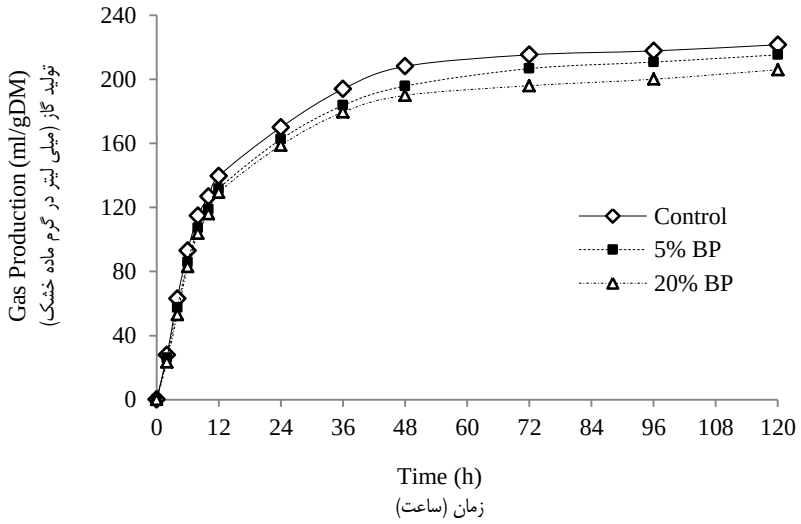
[3]Aspartate Aminotransferase

[4]Alanine Aminotransferase

[5]Low density lipoprotein

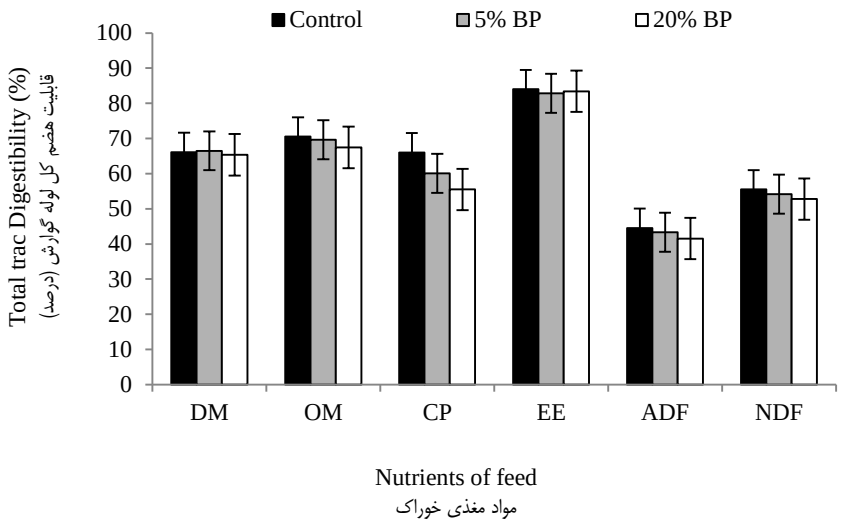
۶-۱-۲- شکل

- ✓ **الگوی شکل باید دقیقا 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 Ruman 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 می توان از علائمی نظیر (♦, ◊, ▲, △, + ●, ○, ■, □) استفاده کرد.
- ✓ از آوردن کادر دور شکل و خطوط طولی در شکل خودداری شود.
- ✓ سعی شود با نرم افزار Excle روی شکلها به خوبی کار شود تا بالاترین کیفیت برای شکلها بدست آید.



شکل ۱– تأثیر سطوح مختلف محصولات فرعی در جیره بر میزان تولید گاز در شرایط *in vitro*

Figure 1- Effects of different levels of by-productsin 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-productsin 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 بـر آمـده از تحقیـق بـرای 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 نویسـنده (گـان) در کلیـه 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. درصورتی که یک جملـه 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، ٤، ۱۸). خبیری 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 نظـر باشـد. فهرسـت منـابع بـه ترتیـب حـروف الفبـای نـام خـانوادگی نویسنده(گان) مقاله مرتب و شماره‌گذاری شود. وقتی از چند اثر مختلف یک نویسنده استفاده می‌شود، ترتیب شماره‌گذاری این مقاله‌ها بـر حسب سال انتشار آنها (از قدیم به جدید) انجام گیرد **(توجه شود که تمام منابع فارسی و انگلیسی مورد استفاده در قسـمت منابع باید به انگلیسی نوشته شوند. سال‌های شمسی به میلادی تبدیل شوند. در برگردان اسامی افـراد اطمینـان حاصل شود که املاء آن‌ها و سال انتشار درست باشد. ضروری است در انتهای منـابع فارسـی کـه بـه انگلیسـی برگردان شده است عبارت In Persian در انتهای منبع داخل پرانتز ذکر شود).**

۹-۱- نکات مهم درمورد 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 distinfections published since 1980. Pages 82-92 in Natl. Mastitis Council Regional Meeting proceeding, Harrisburg, PA. Natl. Mastitis counc, Inc., Madison. WI.

۹-۱-٤- درگاه الکترونیکی (Web Site)

12. Buch, L. H., A. C. Sorensen, J. Lassen, P. Berg, J. A. Eriksson, J. H. Jakobsen, and M. K. Sorensen. 2011. Hygiene-related and feed-related hoof diseases show different patterns of genetic correlations to clinical mastitis and female fertility. Journal of Dairy Science, 94:1540–1551. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2010-3137.
13. Mathieu R., H. M. Richards, S. J. Brooks, W. Stewart, and M. Sbins. 2004. Relationships between Milk production and heritability in Holstein dairy cattle. International Journal of Animal Science, 24(2):65–81. Available at http://www.informaworld.com/contentUa/V.24-2.

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

۱۰- چکیده انگلیسی

بر اساس رویکرد دانشگاه فردوسی مشهد مبنی بر لزوم توجه به نظام‌های رتبه‌بندی و علم سنجی رسمی، از ارایه‌دهندگان مقاله‌ها درخواست می‌گردد که چکیده انگلیسی مقاله را به صورت چکیده مبسوط (Extended Abstract) با فرمت زیر تهیه و در انتهای مقاله حداکثر در یک صفحه بعد از منابع نوشته و سپس مقاله را در سایت بارگذاری نمایند. چکیده مبسوط باید دارای **حداقل ۷۰۰ و حداکثر ۱۰۰۰ کلمه** باشد. بخشهای تشکیل دهنده چکیده مبسوط و مشخصات آنها باید به شرح ذیل باشد.

- ✓ ابتدای واژه‌های اصلی عنوان انگلیسی مقاله و کلمات کلیدی با حروف بزرگ نوشته شود.
- ✓ از ذکر اسامی و آدرس نویسندگان به انگلیسی در بخش چکیده مبسوط خودداری گردد.

The Title Should Be Times New Roman, Font Size 12, Bold and Center. The Scientific Name in Title and in Text Should Be *Italic*.

Introduction Text type here. Text type here.Text type here.Text type here.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 135-149

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۱۴۹-۱۳۵

مقاله علمی- پژوهشی

اثر تزریق شکمبه‌ای عصاره آبی محصولات فرعی پسته بر توازن نیتروژن و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه در گوسفندان نر بلوچی

حمید تقوی[1*]، عباسعلی ناصریان[2]، رضا ولی زاده[2]، احمد آسوده[3]، علیرضا حق پرست[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۱۷

چکیده

مهم‌ترین عامل بازدارنده در استفاده از محصولات فرعی پسته در تغذیه دام، میزان بالای ترکیبات فنلی و تانن آن می‌باشد. این مطالعه جهت بررسی اثرات عصاره حاوی تانن محصولات فرعی پسته بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی، توازن نیتروژن و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه در نشخوارکنندگان انجام شد. تعداد ۴ راس گوسفند نر بلوچی بالغ دارای فیستولای شکمبه‌ای در قفس‌های متابولیسمی انفرادی نگهداری شدند. عصاره آبی محصولات فرعی پسته پس از تغلیظ در ۳ سطح برآورد شده جهت تأمین ۲، ۴ و ۶ درصد تانن کل در جیره به داخل شکمبه تزریق شد. نتایج نشان داد که تزریق عصاره تاثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک، وزن بدن و قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و پروتئین خام نداشت، اما سبب کاهش معنی‌دار قابلیت هضم ظاهری ماده آلی، NDF و ADF، و افزایش زمان مصرف خوراک شد. با افزایش غلظت عصاره، pH و نسبت استات به پروپیونات مایع شکمبه به طور معنی‌داری افزایش، و مقادیر نیتروژن آمونیاکی، پروپیونات، والرات و ایزو والرات مایع شکمبه به طور معنی‌داری کاهش یافت. با تزریق عصاره، دفع نیترژن از طریق ادرار کاهش، ولی از طریق مدفوع و همچنین نیتروژن ابقا شده افزایش یافت. به‌طور کلی نتایج آزمایش نشان داد که تزریق شکمبه‌ای عصاره جهت تأمین ۴ درصد جیره تانن کل ضمن حفظ قابلیت هضم ظاهری پروتئین خام، سبب بهبود توازن نیتروژن و ویژگی‌های تخمیر شکمبه‌ای گوسفندان شد.

واژه‌های کلیدی: تانن، تخمیر شکمبه‌ای، قابلیت هضم ظاهری، نشخوارکنندگان.

مقدمه

تانن‌ها پلیمرهای پلی‌فنولیک محلول در آب با وزن ملکولی بالا می‌باشند که با داشتن تعداد زیادی گروه‌های هیدروکسیل فنولی ظرفیت تشکیل مجموعه‌های پیچیده و منظم، به‌ویژه با پروتئین‌ها و به مقدار کمتر با کربوهیدرات‌ها، یون‌های فلزی و آمینو اسیدها را دارند (۲۵ و ۳۸). در گذشته به علت اثرات نامناسب تانن‌ها بر مصرف خوراک و استفاده از مواد مغذی، تانن‌ها در ابتدا به عنوان ترکیبات ضد تغذیه‌ای مورد توجه قرار گرفتند، اما در سال‌های اخیر به عنوان مواد فعال شیمیایی گیاهی[5] مفید جهت تنظیم تخمیر میکروبی معرفی شده‌اند که دارای اثراتی همچون کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه، جلوگیری از نفخ و پیشگیری از فعالیت متانوژن‌ها می‌باشند (۳۸). وجود تانن در جیره سبب بهبود وزن بدن، رشد پشم، بازدهی تولیدمثلی و عملکرد تولیدی می‌شود (۳۸). با این وجود اثرات تانن بر روی تنظیم شکمبه‌ای و عملکرد حیوانی به طور کامل شناسایی نشده‌است (۳۸). تانن‌ها ترکیبات ثانویه گیاهی هستند که با پروتئین‌ها واکنش داده و آن‌ها را در مقابل پروتئازهای موجود در شکمبه حفظ می‌کند (۳۰ و ۴۳). بعد از بلع، تانن‌ها در pH شکمبه می‌توانند با پروتئین‌ها باند شده، از تجزیه باکتریایی پروتئین‌ها جلوگیری شده و پروتئین‌ها در شیردان آزاد شوند. از طرف دیگر تانن‌ها در سطوح بالاتر از ۵ درصد ماده خشک جیره، نقش ضد تغذیه‌ای برای حیوانات دارند (۲۵).

در سال‌های اخیر استفاده از محصولات فرعی کشاورزی در تغذیه حیوانات، راه موفقی برای کاهش هزینه‌های خوراک، کاهش آلودگی محیط زیست و همچنین بازگشت سریع و کم هزینه این مواد به چرخه

۱-استادیار دانشگاه جامع علمی کاربردی، واحد استانی سیستان و بلوچستان زاهدان، ایران.
۲-استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۳-استاد گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۴-دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
(*- ایمیل نویسنده مسئول: hamid.taghavi2007@gmail.com)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.73231

5- Phytochemical

طبیعت بوده‌است (۲۰ و ۵۴). ضایعات حاصل از پوست گیری پسته از جمله این محصولات فرعی است. نسبت تولید فرآورده فرعی پسته به پسته خشک به طور میانگین ۱/۶ برابر گزارش شده‌است (۴۴). با توجه به اینکه در سال ۱۳۹۲ میزان تولید پسته در ایران ۴۷۲۰۹۷ تن بوده‌است (۱۵)، مقدار محصولات فرعی حاصل از برداشت پسته در ایران بیش از ۷۵۵ هزار تن تخمین زده می‌شود. فراورده فرعی پسته شامل پوسته نرم خارجی پسته[1]، ساقه خوشه (دم خوشه)[2]، برگ و مقادیر اندکی پسته‌های پوک و نیمه مغز و پوسته چوبی می‌باشد (۸ و ۴۶). محصول فرعی پسته حاوی سطوح بالایی از ترکیبات فنلی و تانن می‌باشد که مصرف آن بوسیله‌ی حیوانات را تحت تأثیر قرار می‌دهد زیرا ترکیبات فنولی موجود در آن می‌توانند بر فعالیت میکروب های شکمبه مؤثر باشند (۲۴). طبق آخرین گزارش موجود (۴۶) این فرآورده به‌طور میانگین حاوی ۹۳/۹۱ درصد ماده خشک، ۸۳/۸۴ درصد ماده آلی، ۱۱/۸۱ درصد پروتئین خام[3] (CP)، ۳۰/۲۷ درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی[4] (NDF)، ۲۲/۱۲ درصد الیاف نامحلول در شوینده اسیدی[5] (ADF)، ۱۰/۳۸ درصد ترکیبات فنلی و ۶/۱۶ درصد تانن در ماده خشک می‌باشد. نتایج تحقیقات متعدد نشان می‌دهد که محصول فرعی پسته از ارزش قابل توجهی برخوردار است و دارای پتانسیل مناسبی برای استفاده به صورت خشک و سیلو شده در جیره نشخوارکنندگان می‌باشد (۱۸، ۳۲ و ۴۵). به‌نظر می‌رسد مهمترین عامل بازدارنده استفاده از محصولات فرعی پسته در تغذیه دام، میزان بالای ترکیبات فنلی و تانن آن می‌باشد. در اغلب مطالعات صورت گرفته، محصولات فرعی پسته بدون توجه به ترکیب شیمیایی، غلظت ترکیبات فنلی و تانن آن جهت انجام آزمایش مورد استفاده قرار گرفته‌اند که تفاوت ترکیب شیمیایی و غلظت تانن محصولات فرعی پسته سبب تفاوت در نتایج آزمایشات گردیده‌است. از طرف دیگر با توجه به غلظت پایین تانن محصولات فرعی پسته امکان استفاده از محصولات فرعی پسته به صورت خشک یا سیلو شده جهت تامین سطوح بالای تانن در جیره امکان‌پذیر نمی باشد. لذا هدف تحقیق حاضر بررسی اثرات عصاره آبی حاوی تانن محصولات فرعی پسته بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی، توازن نیتروژن و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه در نشخوارکنندگان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

محل و روش اجرای طرح و انتخاب دام‌های آزمایشی

این آزمایش در محل ایستگاه دامپروری دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. تعداد ۴ راس گوسفند نر بلوچی بالغ (با میانگین وزن ۱/۰۰±۳۶/۸۲ کیلوگرم) فیستولاگذاری شکمبه‌ای شده و در قفس‌های متابولیسمی انفرادی (۰/۸×۱/۵متر) نگهداری شدند و حیوانات در طول مدت شبانه‌روز آزادانه به آب دسترسی داشتند.

تهیه عصاره محصولات فرعی پسته

محصولات فرعی پسته آفتاب خشکی که از منطقه فیض‌آباد استان خراسان رضوی با عرض جغرافیایی ۳۵/۰۱ درجه شمالی و طول جغرافیایی ۵۸/۷۸ درجه شرقی تهیه شده‌بودند، در مقیاس وسیع با نسبت ۱ به ۵ (وزن به حجم) در آب در دمای محیط به مدت ۱۲ ساعت خیسانده شدند. سپس با استفاده از ۴ لایه پارچه کتان صاف شدند (۳۳). میزان کل ترکیبات فنولی[6] (TPh) و کل تانن[7] (TT) و تانن متراکم[8] (CT) قابل استخراج عصاره به ترتیب برابر ۱۱/۹۲±/۲۰، ۴/۳۵±/۰۱ و ۰/۲۶±۰/۰۱میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. در مجموع حدود ۱۵۰۰ لیتر عصاره به‌دست آمد که به‌منظور افزایش غلظت تانن عصاره، جهت تزریق نمودن سطوح مورد نظر تانن به حیوان، در آون در دمای پایین (۴۰ درجه سانتی‌گراد) تغلیظ شدند (۲۶). میزان کل ترکیبات فنلی، کل تانن و تانن متراکم قابل استخراج عصاره تغلیظ شده به ترتیب برابر ۷۱/۴۳±۰/۱۷، ۲۶/۰۳±/۰۱ و ۱/۵۴±۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.

تیمارهای آزمایشی و نحوه تزریق عصاره

حیوانات در طول طرح با یک جیره پایه شامل ۷۰ درصد علوفه (۵۰ درصد یونجه و ۲۰ درصد کاه جو) و ۳۰ درصد کنسانتره بر حسب ماده خشک در سطح نگهداری تغذیه شدند. کنسانتره بر حسب ماده خشک شامل ۵۲ درصد دانه جو، ۱۷ درصد کنجاله کانولا، ۲۳ درصد سبوس گندم، ۳ درصد کربنات کلسیم، ۱ درصد نمک و ۴ درصد مکمل مواد معدنی و ویتامینی بود. جیره پایه بر اساس جداول احتیاجات غذایی NRC (۲۰۰۷) و توسط نرم‌افزار SRNS[9] (۲۰۱۰) برای تأمین انرژی متابولیسمی و پروتئین مورد نیاز در سطح احتیاجات نگهداری گوسفندان تنظیم شد که ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی آن در جدول ۱ ارائه شده‌است. میزان ماده خشک مصرفی[10] دام ۸۳۰ گرم در روز بود که پس از وزن کشی دقیق اجزای جیره در ظرف های مجزا برای هر حیوان در هر روز، به صورت جیره کاملاً مخلوط[11] (TMR) یک بار در روز ساعت ۹ صبح در اختیار دام قرار می‌گرفت.

1- Hull
2- Peduncle
3- Crud Protein (CP)
4- Neutral Detergent Fiber (NDF)
5- Acid Detergent Fiber (ADF)
6- Total Phenolics (TPh)
7- Total Tannins (TT)
8- Condensed Tannins (CT)
9- Small ruminant nutrition system
10- Dry Matter Intake (DMI)
11- Total Mixed Ration

جدول ۱- ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی جیره پایه (درصد ماده خشک جیره)

Table 1-The composition of ingredients and nutrients of the base diet (%DM)

اجزاء جیره Diet ingredients	ترکیب جیره Diet composition (% DMI)	ماده خشک مصرفی DMI (Kg/d)	ماده آلی OM (% DM)	پروتئین خام CP (% DM)	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF (% DM)	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF (% DM)	چربی خام EE (% DM)	کلسیم Ca (% DM)	فسفر P (% DM)
یونجه Alfalfa	50	0.415	90.83	15.92	33.4	27.1	3.18	1.22	0.23
کاه جو Barley straw	20	0.165	93.56	2.94	75.4	53.7	1.89	0.25	0.07
کنسانتره Concentrate	30	0.250	91.03	16.26	23.3	13.3	2.67	1.16	0.77
جیره Diet	100	0.830	92.44	13.06	42.5	31.6	2.77	1.01	0.36

جدول ۲- ترکیب عصاره محصولات فرعی پسته در دوره‌های مختلف تزریق عصاره

Table 2- The composition of pistachio by products extract in the different design periods

دوره period	pH	چگالی Density (g/ml)	ماده خشک Dry matter (g/ml)	پروتئین خام Crude protein (g/ml)	خاکستر Ash (g/ml)	کل ترکیبات فنلی TPh (mg/ml)	کل تانن TT (mg/ml)	تانن متراکم CT (mg/ml)
دوره دوم Second period	0.08±5.52	0.017±1.004	0.005±0.033	0.003±0.014	0.002±0.010	0.65±22.75	0.25±8.29	0.08±0.49
دوره سوم Third period	0.05±5.45	0.020±1.005	0.006±0.065	0.003±0.017	0.003±0.035	0.80±45.49	0.24±16.56	0.07±0.98
دوره چهارم Fourth period	0.06±5.39	0.018±1.006	0.004±0.100	0.002±0.020	0.002±0.062	0.75±68.01	0.29±24.71	0.09±1.43

عصاره محصولات فرعی پسته در ۳ سطح برآورد شده جهت تأمین ۲، ۴ و ۶ درصد تانن کل در جیره، پس از حل کردن در میزان آب مناسب، به مقدار برابر ۲ لیتر در روز همزمان با مصرف خوراک با سرعت ثابت ۳۵ rpm[1] در مدت زمان ۲ ساعت توسط پمپ Watson Marlow (مدل Sci-Q 323 ساخت انگلیس) از طریق فیستولا به داخل شکمبه تزریق شد (۱و۱۳). ترکیب شیمیایی عصاره محصولات فرعی پسته مورد استفاده در دوره‌های مختلف طرح در جدول ۲ آورده شده‌است.

مدت اجرای طرح و نحوه اعمال تیمارها

آزمایش در پنج دوره ۲۱ روزه (۱۴ روز عادت پذیری و ۷ روز رکورد برداری) انجام شد. در دوره اول که به عنوان دوره شاهد اول (CON1) نامیده‌شد حیوانات فقط جیره پایه را دریافت نمودند. در دوره دوم، سوم و چهارم حیوانات جیره پایه و غلظت‌های متفاوت عصاره به ترتیب جهت تأمین ۲، ۴ و ۶ درصد تانن کل در جیره دریافت کردند. در دوره پنجم طرح که به عنوان دوره شاهد دوم (CON2) نامیده‌شد تزریق عصاره متوقف و حیوانات دوباره فقط جیره پایه را دریافت نمودند.

این آزمایش به علت اثرات تجمعی یا اثرات باقیمانده تزریق غلظت‌های قبلی عصاره، قابل اجرا به روش چرخشی نبود (۱ و ۱۳). به هر حال اثر دوره در آزمایش غیر محتمل است چون اول اینکه تمامی خوراک‌ها و عصاره‌ها قبل از شروع آزمایش آماده شدند و ترکیب شیمیایی آن‌ها در طول دوره‌های آزمایش تغییر نکرد. دوم، گوسفندان نر بالغ جهت انجام طرح انتخاب شدند که با مصرف ماده خشک یکسان و ثابت در سطح انرژی و پروتئین نگهداری، در طول تمامی دوره‌ها تغذیه شدند. سوم، مدیریت تغذیه‌ای و حیوانی و شرایط آب و هوایی (اوایل شهریورماه تا اواسط آذرماه) در بین دوره‌ها بسیار مشابه بود. علاوه بر این، به علت نرخ تغییر و تبدیل[2] بالای اکثر جمعیت میکروبی، انتظار می‌رود اکوسیستم میکروبی و الگوی تجزیه کربوهیدرات و پروتئین پس از ۱۴ روز دوره عادت پذیری نسبت به غلظت جدید عصاره، به یک وضعیت ثابت برسد (۱ و ۱۳). دما و رطوبت نسبی هوا در سالن نگهداری قفس‌های متابولیسمی نیز

1- Revolutions per minute

2-Turnover rates

پیوسته اندازه‌گیری و ثبت شد. در مواقعی‌که تغییرات ناگهانی هوا وجود داشت توسط تهویه بیشتر یا کمتر و گرم و سرد کردن سالن شرایط آب و هوایی تا حد ممکن ثابت نگه‌داشته شد که نتایج در جدول ۳ ارائه شده‌است. همان طور که مشاهده می‌شود تفاوت معنی‌داری از نظر درجه حرارت و رطوبت نسبی میان دوره‌های آزمایشی وجود نداشت که نشان دهنده یکسان بودن شرایط نگهداری دام‌ها در طول آزمایش بود.

جدول ۳- درجه حرارت و رطوبت نسبی هوا در دوره‌های مختلف طرح[1]

Table 3- Ambient air temperatures and relative air humidity during the different design periods[1]

دوره های آزمایشی Experimental Periods	غلظت تانن کل عصاره (درصد در ماده خشک مصرفی روزانه) Total tannin dosage of extract (% of daily DMI)	درجه حرارت (درجه سانتیگراد) Temperature (°C)			رطوبت نسبی (٪) Relative humidity (%)		
		حداقل Min	حداکثر Max	میانگین Mean	حداقل min	حداکثر Max	میانگین Mean
دوره اول First period	(CON1)0	16.5	27.5	22.7	35.5	69.7	51.2
دوره دوم second period	2	16.5	27.0	21.5	38.1	72.3	53.4
دوره سوم Third period	4	16.0	26.0	20.8	39.7	74.2	54.6
دوره چهارم Fourth period	6	16.0	26.0	19.7	40.2	76.1	55.3
دوره پنجم Fifth period	(CON2) 0	15.8	26.2	19.4	41.1	78.6	56.1
Average standard error		0.65	1.12	0.90	4.02	4.17	3.39
P value		0.43	0.54	0.46	0.28	0.39	0.35

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می باشند (P < ۰/۰۵).

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

نمونه برداری

در طول طرح، علوفه (یونجه و کاه جو) و کنسانتره مصرفی هر هفته برای تعیین میزان ماده خشک آن نمونه برداری شدند تا تغییرات احتمالی ماده خشک برای تنظیم جیره اصلاح شود. برای اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی و توازن نیتروژن در هر دوره در طی ۷ روز کل مدفوع و ادرار به صورت جداگانه جمع آوری شد. وزن مدفوع و حجم ادرار هر حیوان به صورت روزانه اندازه‌گیری شد. در طول این مدت هر روز پس از مخلوط نمودن مدفوع جمع آوری شده، نمونه‌ای برداشته و در کیسه های پلاستیکی در فریزر با برودت ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد. هر روز نمونه ای از ادرار نیز برداشته و به منظور جلوگیری از اتلاف نیتروژن، pH نمونه های ادرار با اسید سولفوریک ۴ نرمال به ۳ رسانده می‌شد (۵۲). در پایان هر دوره نمونه‌گیری، نمونه‌های ادرار و مدفوع جمع آوری شده، جداگانه مخلوط و نمونه‌ای از آن جهت آنالیز شیمیایی برداشته شد.

در روز ۱۸ هر دوره، در زمان‌های ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ ساعت پس از تغذیه نمونه برداری از شیرابه شکمبه از طریق فیستولا صورت گرفته و pH آن بلافاصله توسط pH متر دیجیتال (WinLab, Data Line pH-meter, Windaus Labortechnik, Germany) ثبت گردید.

در مرحله بعد برای تهیه نمونه جهت تعیین نیتروژن آمونیاکی، شیرابه شکمبه توسط ۴ لایه پارچه کتان صاف شد و ۵ میلی لیتر از آن به نسبت ۱ به ۱ با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط و با سرعت g × ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس محلول بالایی برداشته شده و در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد (۵۵). برای تهیه نمونه جهت تعیین اسیدهای چرب فرار شکمبه، ۵ میلی لیتر از شیرابه شکمبه صاف شده با ۰/۱ میلی لیتر اسید سولفوریک ۵۰ ٪ مخلوط و پس از سانتریفیوژ با سرعت g × ۴۰۰۰، محلول بالایی برداشته شده و در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. در آخرین روز هر دوره آزمایشی، قبل از خوراک‌دهی، حیوانات توزین و سپس دوره جدید آغاز شد.

آنالیز شیمیایی نمونه ها

جهت آنالیز تقریبی، تمامی نمونه‌های مورد آزمایش پس از خشک شدن به وسیله آسیاب چرخشی (مدل ۱۰۹۳ ساخت کشور آلمان)، با استفاده از توری ۱ میلی‌متر آسیاب و مورد استفاده قرار گرفتند. اندازه‌گیری ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام و ADF بر اساس روش های استاندارد AOAC (۲۰۰۵)، NDF بر اساس روش

ون سوست و همکاران (۵۳) و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بر اساس روش ویدربورن (۵۹) انجام پذیرفت. تعیین میزان کل ترکیبات فنولی و کل تانن بر اساس روش ماکار و استفاده از معرف فولین-شیکالتو (۲۶) و میزان تانن متراکم بر اساس روش اسید کلریدریک-بوتانول (۲۶ و ۳۹) انجام شد. اسیدهای چرب فرار نیز در آزمایشگاه گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران با استفاده از کروماتوگرافی گازی با ستون شیشه‌ای (۱/۶۵ متر × ۴/۶ میلی‌متر) به روش اوتنستین و باتلر (۳۷) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های مربوط به هر بخش آزمایش با استفاده از رویه GLM[1] نرم افزار SAS ویرایش ۹/۱ و در قالب مدل آماری زیر مورد بررسی قرار گرفت و در صورت معنی دار بودن اثر تیمار، از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار [2] (LSD) برای مقایسه میانگین تیمارها استفاده شد.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + a_j + e_{ij} \qquad (۱)$$

که دراین معادله: Y_{ij} = مشاهده عمومی؛ μ = میانگین کل؛ T_i = اثر تیمار؛ a_j = اثر حیوان و e_{ij} = خطای باقیمانده می باشد.

نتایج و بحث

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی

داده‌های مربوط به قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در جدول ۴ ارائه شده‌است. همان‌طور که مشاهده می‌شود بین دوره‌های شاهد ۱ و ۲ تفاوتی در قابلیت هضم مواد مغذی مشاهده نشد ($P<۰/۰۵$) که نشان دهنده شرایط یکسان دام و محیط در طول آزمایش بود. در قابلیت هضم ماده خشک اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در مقایسه با دو گروه شاهد وجود نداشت. قابلیت هضم ماده آلی تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت ($P<۰/۰۵$) و با افزایش غلظت تانن عصاره تا سطح ۶ درصد تانن کل در DMI، هضم ماده آلی کاهش یافت. با افزایش غلظت تانن عصاره قابلیت هضم پروتئین خام تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت ($P<۰/۰۵$)، اگرچه در تیمار ۶ درصد کمترین مقدار قابلیت هضم پروتئین خام مشاهده شد. در بین تیمارها قابلیت هضم NDF و ADF تحت تاثیر تیمارها قرار گرفت و یک روند کاهشی را با افزایش غلظت تانن عصاره نشان داد.

در تحقیقی مشابه تحقیق حاضر آهنرت و همکاران (۱) در تزریق عصاره تاننی Quebracho به شکمبه تلیسه‌ها، کاهش قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، NDF و ADF را در سطوح مصرف بالاتر از ۴ درصد تانن متراکم در ماده خشک مصرفی روزانه گزارش کردند که مشابه نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. کارولا و همکاران (۱۲) گزارش کردند که اضافه کردن تانن متراکم در سطح ۲/۵ درصد ماده خشک به جیره گوسفندان باعث کاهش قابلیت هضم ماده آلی، پروتئین خام، NDF و ADF شد. در مطالعه تیمن و همکاران (۴۹) نیز، جایگزینی لگوم *Vigna Unguiculata* (بدون تانن) با علوفه حاوی تانن قابلیت هضم ماده آلی و فیبر را کاهش داد. در مقابل بنکار و همکاران (۶) تاثیری را بر قابلیت هضم ماده خشک و مواد مغذی (ماده آلی، پروتئین خام و ADF) با اضافه کردن، ۰/۶۴ درصد ماده خشک تانن Quebracho مشاهده نکردند. همچنین دیشاک و همکاران (۱۴) گزارش کردند که اگرچه ماده خشک مصرفی در گاوهای تغذیه شده با ۳درصد تانن، کاهش یافت ولی قابلیت هضم مواد مغذی تحت تاثیر تانن قرار نگرفت.

در مطالعات صورت‌گرفته نتایج متناقضی در مورد قابلیت هضم مواد مغذی در جیره‌های حاوی محصولات فرعی پسته گزارش شده-است. بهلولی و همکاران (۹) بیان نمودند که مصرف ۱۵ درصد محصول فرعی پسته (حاوی ۴/۱ درصد تانن) در جیره گاوهای شیری سبب کاهش قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، NDF و ADF نسبت به گروه شاهد گردید که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. همچنین استفاده از سطوح ۵ و ۱۰ درصد محصول فرعی پسته در جیره گوسفند بلوچی سبب کاهش قابلیت هضم پروتئین خام در دو سطح مصرف گردید در حالیکه قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، چربی خام، NDF و ADF تحت تاثیر قرار نگرفت (۴۰). در مقابل در برخی مطالعات صورت‌گرفته، استفاده از محصول فرعی پسته تاثیر نامطلوبی بر قابلیت هضم مواد مغذی نداشته‌است. برای مثال استفاده از محصول فرعی پسته (حاوی ۵/۵ درصد تانن) تا سطح ۶ درصد در جیره گاوهای شیری تغییری در قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و NDF ایجاد نکرد (۵۱). به طور مشابه با استفاده از ۱۰ درصد محصول فرعی پسته (حاوی ۴/۵ درصد تانن) در تغذیه گاوهای شیری تغییری در قابلیت هضم هیچ یک از مواد مغذی ایجاد نشد (۱۹).

در مورد مکانیسم اثر تانن‌ها بر کاهش تجزیه شکمبه‌ای ترکیبات مختلف اتفاق نظر وجود ندارد اما عواملی مانند محدودیت سوبسترا (۴۲)، بازدارندگی آنزیم‌ها (۲۱) و تاثیر مستقیم بر میکروارگانیسم‌های شکمبه از عوامل موثر می‌باشند. کاهش قابلیت هضم NDF و ADF با افزایش غلظت عصاره می‌تواند به این علت باشد که باکتری‌های سلولایتیک در مقایسه با سایر میکروارگانیسم‌های شکمبه نسبت به سطوح بالای تانن در جیره حساسیت بیشتری دارند و از طرف دیگر ممکن است تانن‌ها با کربوهیدرات‌های دیواره سلول گیاهی تشکیل کمپلکس دهند (۲۹) و در نتیجه سبب افزایش مقاومت آن‌ها به هیدرولیز توسط آنزیم‌های میکروبی شوند.

1- General Linear Model
2- Least Significance Difference

جدول ٤- قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی، وزن بدن و مدت زمان مصرف خوراک در سطوح مختلف تزریق شکمبه‌ای عصاره محصولات فرعی پسته[1]

Table 4- Nutrients apparent digestibility, body weight and feed intake duration at different dosages of intraruminal pistachio by products extract infusion[1]

مورد Item	سطح عصاره محصولات فرعی پسته (درصد تانن کل در ماده خشک مصرفی روزانه) Dosage of pistachio by products extract (% total tannin of daily DMI)					Average standard error	P- value
	(CON1)[2] 0	2	4	6	(CON2)[3] 0		
ماده خشک (درصد) Dry matter (%)	67.16	66.56	65.78	65.18	66.67	1.09	0.72
ماده آلی (درصد) Organic matter (%)	69.13[a]	67.93[a]	66.98[a]	63.13[b]	68.94[a]	1.10	0.01
پروتئین خام (درصد) Crud protein (%)	75.89	77.58	76.41	68.87	76.69	2.26	0.09
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) NDF [4] (%)	55.53[a]	51.04[bc]	47.57[c]	43.39[d]	53.24[ab]	1.36	<0.01
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد) ADF [5] (%)	53.40[a]	51.92[ab]	47.45[bc]	44.80[c]	53.24[ab]	1.96	0.02
وزن بدن (کیلوگرم) Body weight (kg)	36.94	37.18	37.69	38.71	38.85	0.67	0.20
مصرف خوراک (گرم ماده خشک در روز) Food intake (gDM/d)	830	830	830	830	830	-	-
مدت زمان مصرف خوراک (دقیقه) Duration of food intake (minutes)	105[c]	248[b]	285[b]	424[a]	105[c]	24	<0.01

[1]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می باشند (P < ۰/۰۵). ۱- دوره شاهد اول (بدون تزریق عصاره)؛ ۲- دوره شاهد دوم (بدون تزریق عصاره).

[1]Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).
[2]Control period 1 (Without extract infusion)
[3]Control period 2 (Without extract infusion)
[4] Neutral Detergent Fiber
[5] Acid Detergent Fiber

از این رو به نظر می رسد تزریق عصاره حاوی تانن محصولات فرعی پسته به طور مستقیم یا غیر مستقیم سبب کاهش تجزیه‌پذیری کربوهیدرات‌های ساختمانی شده‌است. باکتری‌های فیبرولایتیک جهت فعالیت معمولاً به سوبسترا متصل می‌شوند که در حضور تانن ممکن است برخی فرآیندهای اتصال میکروبی به علت اثر متقابل ترکیبات پروتئینی با تانن مختل شده که در نتیجه سبب تاخیر اتصال میکروارگانیسم‌ها به ذرات غذایی و کاهش هضم فیبر شود (۳۶). همچنین تغییر در نفوذپذیری دیواره روده به دلیل وجود واکنش بین تانن و پروتئین‌های غشای سلول‌های موکوسی روده و در نتیجه کاهش جذب روده‌ای می‌تواند از عوامل موثر در کاهش قابلیت هضم مواد مغذی باشد (۴۷). بهرحال، تاثیر گیاهان حاوی تانن و یا عصاره آن‌ها بر قابلیت هضم مواد مغذی به ساختار فیزیکی و شیمیایی تانن و غلظت آن در جیره بستگی دارد که می تواند دلیلی بر تفاوت در نتایج مذکور باشد.

مصرف خوراک و تغییرات وزن بدن

در مقایسه با دو گروه شاهد مقدار مصرف خوراک حیوانات و میانگین وزن بدن آن‌ها در هیچ یک از غلظت‌های عصاره کاهش نیافت (جدول ۴). اما با تزریق عصاره و افزایش غلظت آن، مدت زمان مصرف خوراک افزایش یافت (جدول ۴) که احتمالاً ناشی از انباشتگی شکمبه با عصاره، کاهش چرخش مواد و نرخ عبور در شکمبه می‌باشد (۵۸). آهنرت و همکاران (۱) نیز در تزریق عصاره تاننی Quebracho به شکمبه تلیسه‌ها، هیچ گونه کاهشی در مصرف خوراک گزارش نکردند که مشابه نتایج تحقیق حاضر می‌باشد.

فراسنجه‌های تخمیری شکمبه

pH

تغییرات pH شکمبه گوسفندان در جدول ۵ نشان داده شده‌است. همان‌طور که مشاهده می‌شود مقادیر pH شکمبه در دوره‌های شاهد و تمامی سطوح عصاره روند یکسانی را قبل از خوراک‌دهی تا ۸ ساعت پس از خوراک‌دهی داشتند. مقدار pH شکمبه در زمان قبل از خوراک‌دهی در دامنه ۶/۹۹ تا ۷/۱۲ قرار داشت که پس از خوراک-

دهی روند کاهشی یافته و در زمان ۲ تا ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی به حداقل مقدار خود می‌رسید. در زمان‌های ۲، ۴، ۶ و ۸ ساعت پس از خوراک‌دهی اختلاف معنی داری (P<۰/۰۵) میان مقادیر pH شکمبه در سطوح مختلف تزریق عصاره مشاهده شد به نحوی که علی رغم pH پایین عصاره (۵/۵۲ تا ۵/۳۹ در غلظت های ۲ تا ۶ درصد تانن کل در DMI روزانه) با تزریق عصاره، مقادیر pH شکمبه افزایش یافت که می‌تواند به علت کاهش غلظت برخی از اسیدهای چرب فرار از قبیل پروپیونات، والرات و ایزووالرات در شکمبه باشد (جدول ۶).

قاسمی و همکاران (۱۷) گزارش نمودند که افزایش سطح استفاده از محصولات فرعی پسته در جیره گوسفند بلوچی (از۲۰ به ۴۰ درصد ماده خشک) سبب افزایش معنی‌دار pH شکمبه از ۶/۰۳ به ۶/۳۵ شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. قاسمی و همکاران (۱۸) در مطالعه دیگری نیز نشان دادند که استفاده از مقادیر مختلف محصول فرعی پسته (حاوی ۳/۷ درصد تانن) سبب افزایش pH شکمبه گوسفندان بلوچی نسبت به تیمار شاهد شد. بهاتا و همکاران (۷) با استفاده از دو سطح مصرف تانن متراکم (۱۲/۳ و ۲۱/۱۲ درصد ماده خشک جیره)، تفاوت معنی‌داری را بین pH شکمبه گوسفندان مشاهده نکردند و گزارش کردند که افزودن تانن به جیره pH را به مقدار ناچیزی افزایش داد. در مقابل در تحقیقی مشابه تحقیق حاضر دیکوفر و همکاران (۱۳) در تزریق عصاره تاننی Quebracho به شکمبه تلیسه‌ها، کاهش pH شکمبه را با افزایش غلظت عصاره گزارش کردند که بر خلاف نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. آن‌ها بیان نمودند که کاهش pH شکمبه ممکن است به علت pH اسیدی عصاره (۶/۷ تا ۵/۵ در غلظت های ۱ تا ۶ درصد تانن متراکم در DMI روزانه) باشد.

جدول ۵- تغییرات pH مایع شکمبه در سطوح مختلف تزریق شکمبه‌ای عصاره محصولات فرعی پسته[1]

Table 5- Changes of rumen fluid pH at different dosages of intraruminal pistachio by products extract infusion[1]

زمان Time	سطح عصاره محصولات فرعی پسته (درصد تانن کل در ماده خشک مصرفی روزانه) Dosage of pistachio by products extract (% total tannin of daily DMI)					Average standard error	P- value
	(CON1)[2] 0	2	4	6	(CON2)[3] 0		
قبل خوراکدهی Before feeding	7.12	7.12	7.08	7.17	6.99	0.06	0.35
۲ ساعت پس از خوراکدهی 2 hours after feeding	6.30[c]	6.38[bc]	6.48[ab]	6.63[a]	6.02[d]	0.06	<0.01
۴ ساعت پس از خوراکدهی 4 hours after feeding	5.92[b]	6.47[a]	6.40[a]	6.64[a]	5.95[b]	0.08	<0.01
۶ ساعت پس از خوراکدهی 6 hours after feeding	6.19[bc]	6.52[ab]	6.24[bc]	6.72[a]	6.08[c]	0.11	<0.01
۸ ساعت پس از خوراکدهی 8 hours after feeding	6.29[b]	6.76[a]	6.55[ab]	6.52[ab]	6.40[b]	0.10	0.05
pH عصاره تزریقی pH of infused extract	-	5.52	5.45	5.39	–	–	–

[1]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می باشند (P < ۰/۰۵).

[2] دوره شاهد اول (بدون تزریق عصاره)؛

[3] دوره شاهد دوم (بدون تزریق عصاره).

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

[2]Control period 1 (Without extract infusion)

[3]Control period 2 (Without extract infusion)

نیتروژن آمونیاکی

تغییرات غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه گوسفندان دوساعت پس از خوراک‌دهی در جدول ۶ ارائه شده‌است. همان‌طور که مشاهده می‌شود اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) میان مقادیر نیتروژن آمونیاکی شکمبه در دوره‌های شاهد و سطوح مختلف تزریق عصاره وجود دارد، به نحوی که با تزریق و افزایش غلظت عصاره، مقادیر نیتروژن آمونیاکی شکمبه کاهش یافت (جدول ۶).

اسلیوینسکی و همکاران (۴۸) گزارش کردند که اضافه کردن عصاره چوب فندق (حاوی ۲۵ درصد تانن قابل هیدرولیز در ماده خشک) به جیره گاوهای شیری، میزان نیتروژن آمونیاکی در شکمبه را نسبت به تیمار شاهد کاهش داد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. همچنین غلظت نیتروژن آمونیاکی در گاوهای شیری تغذیه شده با ۳ درصد ماده خشک عصاره تانن متراکم Quebracho تمایل به کاهش داشت (۱۴).

جدول ٦- غلظت نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب مایع شکمبه در سطوح مختلف تزریق شکمبه‌ای عصاره محصولات فرعی پسته[1]

Table 6- The concentration of ammonia nitrogen and volatile fatty acids in the rumen fluid at different dosages of intraruminal pistachio by products extract infusion[1]

متغیر Variable	سطح عصاره محصولات فرعی پسته (درصد تانن کل در ماده خشک مصرفی روزانه) Dosage of pistachio by products extract (% total tannin of daily DMI)					Average standard error	P- value
	(CON1)[1] 0	2	4	6	(CON2)[2] 0		
نیتروژن آمونیاکی شکمبه (میلی گرم در دسی لیتر) Ruminal NH3-N (mg/dl)	23.25[a]	18.17[b]	17.87[b]	17.47[b]	24.16[a]	0.90	<0.01
کل اسیدهای چرب فرار (میلی مول در لیتر) Total VFA (mmol/l)	67.82	66.58	61.10	63.95	68.42	3.25	0.50
استات (میلی مول در لیتر) Acetate (mmol/l)	42.05	42.95	40.12	42.55	42.85	1.94	0.84
پروپیونات (میلی مول در لیتر) Propionate	15.12[a]	13.65[ab]	12.02[b]	11.62[b]	15.00[a]	0.74	0.01
بوتیرات (میلی مول در لیتر) Butyrate	10.65	9.98	8.95	9.78	10.58	0.89	0.67
والرات (میلی مول در لیتر) Valerate	1.52[a]	1.25[ab]	1.12[b]	0.92[b]	1.52[a]	0.12	0.01
ایزووالرات (میلی مول در لیتر) Isovalerate	1.92[a]	0.95[b]	0.90[bc]	0.60[c]	1.88[a]	0.10	<0.01
نسبت استات به پروپیونات Acetate/Propionate	2.78[c]	3.16[bc]	3.37[ab]	3.66[a]	2.86[c]	0.13	<0.01

[1]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می باشند (P < ۰/۰۵).

[2] دوره شاهد اول (بدون تزریق عصاره)؛

[3] دوره شاهد دوم (بدون تزریق عصاره).

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

[2]Control period 1 (Without extract infusion)

[3]Control period 2 (Without extract infusion)

قاسمی و همکاران (۱۷) گزارش نمودند که افزایش سطح استفاده از محصولات فرعی پسته در جیره گوسفند بلوچی (از۲۰ به ۴۰ درصد ماده خشک) سبب کاهش معنی‌دار غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. قاسمی و همکاران (۱۸) در مطالعه دیگری نیز نشان دادند که استفاده از مقادیر مختلف محصول فرعی پسته (حاوی ۳/۷ درصد تانن) سبب کاهش معنی‌دار غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه گوسفندان بلوچی نسبت به تیمار شاهد شد. در مقابل دیکوفر و همکاران (۱۳) گزارش کردند در تزریق عصاره تاننی Quberaco به شکمبه تلیسه‌ها، تفاوت معنی داری در غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه میان سطوح مختلف غلظت عصاره وجود ندارد. قلی زاده و همکاران (۱۹) با استفاده از محصولات فرعی پسته در سطح ۱۰ درصد ماده خشک در جیره گاوهای شیری هلشتاین تغییری را در میزان نیتروژن آمونیاکی شکمبه نسبت به گروه شاهد مشاهده نکردند. علت این اختلافات می تواند تفاوت گونه حیوانات آزمایشی، اجزای تشکیل دهنده جیره و همچنین ساختار پروتئین‌های به‌کار رفته در جیره‌های آزمایشی مختلف باشد (۴۶).

کاردوزو و همکاران (۱۰) ثابت کردند که تجزیه سریع پروتئین در شکمبه باعث تجمع سریع پپتیدها و آمینواسیدها در دو ساعت اول بعد از خوراک‌دهی می‌گردد و پیشنهاد کردند که نرخ تجزیه پروتئین و دآمیناسیون نقش مهمی را در کنترل تجزیه پروتئین ایفا می‌کنند. کومار و سینگ (۲۳) پیشنهاد کردند تانن‌ها به وسیله تشکیل کمپلکس با پروتئین‌ها، باعث کاهش تجزیه آن‌ها در شکمبه شده که در بعضی مواقع با کاهش میزان آمونیاک شکمبه همراه است. نورتن و آن (۳۵) پیشنهاد کردند تانن‌ها علاوه بر کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین، به وسیله مهار آنزیم‌های پروتئولیتیک نیز می‌توانند باعث کاهش میزان آمونیاک شکمبه شوند. تانن‌ها از طریق مهار آنزیم دآمیناز میکروبی و مهار فعالیت آنزیم اوره‌آز نیز می‌توانند سبب کاهش مقدار آمونیاک شکمبه شوند (۲۷).

اسیدهای چرب فرار

تغییرات غلظت اسیدهای چرب مایع شکمبه گوسفندان در دوساعت پس از خوراک‌دهی در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج این آزمایش نشان داد که مقادیر پروپیونات، والرات و ایزو والرات شکمبه با افزایش غلظت عصاره، کاهش یافت (جدول ۶) اما تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) بین تیمارهای آزمایشی از لحاظ مقدار کل اسیدهای چرب

فرار، استات و بوتیرات وجود نداشت که احتمالاً به علت اثرات متفاوت تانن عصاره بر جمعیت‌های میکروبی شکمبه بود. جمعیت پروتوزوآیی مسئول تغییر نسبت اسیدهای چرب فرار به سمت اسید استیک و اسید بوتیریک در شکمبه است (۵۶) که عدم تفاوت مقدار استات و بوتیرات می‌تواند بیانگر عدم تاثیر عصاره بر جمعیت پروتوزوآیی شکمبه باشد.

کاهش غلظت اسیدهای چرب فرار در شکمبه با افزایش غلظت عصاره، بیانگر اثرات منفی غلظت‌های متوسط و بالای تانن بر تجزیه شکمبه ای کربوهیدرات‌ها می‌باشد که در آزمایشات درون‌تنی و برون تنی مشاهده شده‌است (۳، ۵ و ۲۵). کاهش غلظت اسیدهای چرب شاخه دار (والرات و ایزووالرات) که از دآمیناسیون اسیدهای آمینه در شکمبه حاصل می‌شوند نیز تأیید کننده محافظت پروتئین‌ها توسط تانن‌ها در شکمبه می‌باشد (۵۰). تزریق عصاره، ساختار اسیدهای چرب فرار را به سمت افزایش نسبت استات به پروپیونات سوق داد (جدول ۶) که ناشی از کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) غلظت پروپیونات شکمبه با افزایش غلظت عصاره است که متناقض با نتایج حاصل از تزریق عصاره بر قابلیت هضم فیبر (جدول ۴) می‌باشد. اثرات تزریق عصاره بر مقادیر مطلق اسیدهای چرب کوتاه زنجیر ممکن است اندکی با نتایج غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در مایع شکمبه حیوان متفاوت باشد زیرا بوتیرات و پروپیونات سریع‌تر از استات توسط اپیتلیوم شکمبه جذب می‌شوند (۱۱). علاوه بر این افزایش فشار اسمزی در مایع شکمبه به علت تزریق عصاره ممکن است بر عملکرد، ترکیب جمعیت میکروبی، مسیرهای تخمیر و جذب محصولات تجزیه شده از طریق دیواره شکمبه تاثیر بگذارد (۱۱).

دیکوفر و همکاران (۱۳) گزارش کردند تزریق عصاره تاننی Quebracho به شکمبه تلیسه‌ها، سبب افزایش غلظت کل اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، پروپیونات و بوتیرات، و کاهش غلظت استات، ایزوبوتیرات، ایزووالرات و نسبت استات به پروپیونات در شکمبه شد که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت دارد. آن‌ها بیان نمودند کاهش مصرف آب توسط حیوان با افزایش غلظت عصاره و درنتیجه کاهش سطح رقیق سازی فاز مایع شکمبه، سبب افزایش غلظت کل اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در شکمبه شده‌است. تورال و همکاران (۵۰) در تغذیه میش‌های شیری با تانن Quebracho تفاوتی در غلظت کل اسیدهای چرب، استات، پروپیونات، لاکتات و بوتیرات در شکمبه مشاهده نکردند، اما غلظت اسیدهای چرب شاخه دار (ایزوبوتیرات، ایزووالرات، والرات و کاپروات) به طور معنی‌داری کاهش یافت که در تایید نتایج تحقیق حاضر می باشد. قاسمی و همکاران (۱۷) گزارش نمودند که افزایش سطح استفاده از محصولات فرعی پسته در جیره گوسفند بلوچی (از۲۰ به ۴۰ درصد ماده خشک) سبب کاهش معنی‌دار مقدار کل اسیدهای چرب فرار شکمبه و غلظت مولاری استات شد. این محققین علت کاهش میزان اسیدهای چرب فرار شکمبه را کاهش فعالیت باکتری‌های شکمبه در حضور تانن پیشنهاد کردند (۱۷). جدا از غلظت تانن، اثرات تانن به مقدار زیادی به نوع و منبع تانن و همچنین ترکیب جیره حیوان بستگی دارد (۳۱ و ۵۷).

توازن نیتروژن

مقدار نیتروژن مصرفی، دفعی و ابقا شده در سطوح مختلف تزریق شکمبه‌ای عصاره در جدول ۷ نشان داده شده‌است. با افزایش غلظت عصاره، مقدار نیترژن دفعی از طریق ادار و مدفوع و همچنین مقدار نیتروژن ابقا شده نسبت به دوره‌های شاهد ۱ و ۲ افزایش یافت (P<۰/۰۱) که احتمالاً به علت افزایش دریافت نیتروژن از طریق عصاره می‌باشد. به علت تفاوت در مصرف نیتروژن در سطوح مختلف تزریق عصاره، جهت تصحیح نتایج، نسبت نیتروژن دفعی و ابقا شده به نیتروژن مصرفی محاسبه شد (جدول ۷). همان طور که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت عصاره، نسبت نیترژن دفعی از طریق ادرار به نیتروژن مصرفی کاهش، ولی نسبت نیترژن دفعی از طریق مدفوع به نیتروژن مصرفی و همچنین نسبت نیتروژن ابقا شده به نیتروژن مصرفی افزایش یافت (P<۰/۰۱).

تزریق عصاره سبب انتقال نیتروژن دفعی از ادرار به مدفوع شد که مشابه اکثر مطالعات انجام شده بر روی عصاره‌های حاوی تانن می‌باشد (۲ و ۲۲). کاهش دفع نیتروژن از طریق ادرار می‌تواند مربوط به ویژگی باندشوندگی تانن عصاره با پروتئین و در نتیجه کاهش تجزیه شکمبه‌ای پروتئین و آزاد سازی نیتروژن باشد (۱۴ و ۱۶). افزایش دفع نیتروژن از طریق مدفوع نیز احتمالاً مربوط به افزایش فرار پروتئین از تجزیه شکمبه‌ای و جریان آن به روده باشد. البته این موضوع هنوز به طور کامل مشخص نشده‌است که آیا کمپلکس تانن–پروتئین به طور کامل در pH پایین شیردان جدا شده و یا نه هنوز جزئی از نیتروژن مدفوعی باقی می‌ماند (۵۷). علاوه بر این شواهدی وجود دارد که مولکول‌های تانن آزاد که به روده باریک می‌رسند ممکن است فعالیت آنزیم‌های روده‌ای را کاهش دهند و یا پس از عبور از شیردان دوباره با اجزای خوراک و پروتئین‌های اندوژنوس ترکیب شوند (۲۸) و در نتیجه باعث کاهش جذب پس شکمبه‌ای اسیدهای آمینه شوند (۵۷). صرف نظر از غلظت عصاره، با تزریق عصاره ابقای نیتروژن نسبت به دوره‌های شاهد ۱ و ۲ بیشتر بود. با توجه به عدم تاثیر معنی‌دار تزریق عصاره بر قابلیت هضم پروتئین خام (جدول ۴)، افزایش ابقای نیتروژن می‌تواند بیانگر افزایش راندمان جذب پروتئین خام با تزریق عصاره باشد. وقتی تانن، خوراک مصرفی و قابلیت هضم را تحت تأثیر قرار ندهد، عملکرد بهتر حیوان هنگام استفاده از تانن می‌تواند به دلیل فرار پروتئین از تجزیه شدن در شکمبه باشد و در نتیجه جریان اسیدهای آمینه ضروری به روده کوچک بیشتر و جذب آن ها به خون نیز بیشتر خواهد شد (۳۸).

جدول ۷- توازن نیتروژن در گوسفندان نر بلوچی دریافت کننده سطوح مختلف تزریق شکمبه‌ای عصاره محصولات فرعی پسته[۱]

Table 7- Nitrogen balance in Baluchi male sheep at different dosages of intraruminal pistachio by products extract infusion[1]

	سطح عصاره محصولات فرعی پسته (درصد تانن کل در ماده خشک مصرفی روزانه) Dosage of pistachio by products extract (% total tannin of daily DMI)					Average standard error	P- value
	(CON1)[1] 0	2	4	6	(CON2)[2] 0		
نیتروژن مصرفی (گرم در روز) N intake (g/d)							
خوراک Feed	17.77	17.77	17.77	17.77	17.77	-	-
عصاره Extract	-	4.48	5.44	6.40	-	-	-
نیتروژن دفعی (گرم در روز) N excretion (g/d)							
مدفوع Fecal	4.28[d]	4.99[c]	5.47[b]	6.44[a]	4.38[d]	0.08	<0.01
ادرار Urinary	10.43[b]	12.35[a]	12.17[a]	12.17[a]	10.21[b]	0.11	<0.01
ابقا نیتروژن (گرم در روز) N retention (g/d)	3.05[c]	4.91[b]	5.56[a]	5.55[a]	3.17[c]	0.17	<0.01
نیتروژن دفعی بر نیتروژن مصرفی (درصد) N excretion/ N intake (%)							
مدفوع Fecal	24.11[b]	22.42[c]	23.59[bc]	26.66[a]	24.66[b]	0.45	<0.01
ادرار Urinary	58.72[a]	55.52[b]	52.45[c]	50.37[d]	57.48[b]	0.54	<0.01
ابقا نیتروژن بر نیتروژن مصرفی (درصد) N retention / N intake (%)	17.17[b]	22.05[a]	23.96[a]	22.97[a]	17.86[b]	0.86	<0.01

[۱]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می باشند (P < ۰/۰۵).

[۲] دوره شاهد اول (بدون تزریق عصاره)؛

[۳] دوره شاهد دوم (بدون تزریق عصاره).

[1]Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).
[2]Control period 1 (Without extract infusion)
[3]Control period 2 (Without extract infusion)

آهنرت و همکاران (۱) در تزریق عصاره تـاننی Quebracho بـه شکمبه تلیسه‌ها گزارش کردند که افزایش غلظت عصاره سبب کاهش قابلیت هضم پروتئین خام، افزایش دفـع نیتـروژن از طریـق مـدفوع، کاهش دفع نیتروژن از طریق ادرار و افزایش ابقای نیتروژن شد. ایـن محققین بیان کردند که با توجه به اینکه حیوانـات در دسـت مطالعـه کاملاً رشد یافته بودند و فقط در سـطح احتیاجـات انـرژی نگهـداری تغذیه می‌شدند و همچنین تزریق عصاره سبب کاهش قابلیت هضـم مواد مغذی گردید، افزایش ابقای نیتروژن با افزایش غلظـت عصـاره احتمالاً به این دلیل است که حیوانات این پـروتئین را بـرای جبـران مکانیسم‌هایی مانند محافظت اپیتلیوم روده در مقابل تـانن، افـزایش ترشح پروتئین‌های اندوژنوس مانند گلیکوپروتئین‌های بـزاق و آنـزیم های هضمی و تولید موکوس بیشتر مورد استفاده قرار می‌دهند (۱). به خوبی مشخص شده‌است که علاوه بر غلظت و ساختار تانن‌هـا (۲۵)، کمیت و کیفیت پروتئین خوراک می‌تواند بر پاسخ حیوان به تانن اثـر بگذارد (۳۸).

نتیجه گیری کلی

به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشـان داد کـه تزریـق شـکمبه‌ای عصاره حاوی تانن محصولات فرعی پسته صرف نظر از سطح عصاره، ضمن حفظ قابلیت هضم ظاهری پروتئین خام، سـبب بهبـود تـوازن نیتروژن و افزایش ابقای نیتروژن در گوسفندان شـد کـه مـی توانـد بیانگر افزایش راندمان جذب پروتئین خام با تزریق عصاره باشـد. با توجه به کاهش قابلیت هضم ظاهری ماده آلی، NDF و ADF با افزایش سطح عصاره تزریقی از یک طرف و عدم وجود تفـاوت معنی‌دار در غلظـت نیتـروژن آمونیـاکی و اسـیدهای چـرب فـرار شکمبه بین سطوح ۴ و ۶ درصد عصاره تزریقـی از طـرف دیگـر،

استفاده از عصاره محصولات فرعی پسته در سطح تأمین ۴ درصد تانن کل در جیره گوسفندان بلوچی پیشنهاد می‌گردد.

منابع

1- Ahnert, S., U. Dickhoefer, F. Schulz, and A. Susenbeth. 2015. Influence of ruminal quebracho tannin extract infusion on apparent nutrient digestibility, nitrogen balance, and urinary purine derivatives excretion in heifers. Livestock Science, 177:63-70.

2- Al-Dobaib, S. N. 2009. Effect of different levels of quebracho tannin on nitrogen utilization and growth performance of Najdi sheep fed alfalfa (*Medicago sativa*) hay as a sole diet. Animal Science Journal, 80:532–541.

3- Animut, G., A. L. Goetsch, R. Puchala, A. K. Patra, T. Sahlu, and V. H. Varel. 2008. Methane emission by goats consuming different sources of condensed tannins. Animal Feed Science and Technology, 144:228–241.

4- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2005. Official Methods of Analysis, 18th ed. AOAC international, Gaithersburg, Maryland, USA.

5- Beauchemin, K. A., S. M. McGinn, T. F. Martinez, and T. A. McAllister. 2007. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. Journal of Animal Science, 85:1990–1996.

6- Benchaar, C., T. A. McAllister, and P. Y. Chouinard. 2008. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or Yucca schidigera saponin extracts. Journal of Dairy Science, 91:4765-4777.

7- Bhatta, R., A. K. Shinde, D. L. Verma, S. K. Sankhyan, and S. Vaithiyanathan. 2004. Effect of supplementation containing polyethylene glycol (PEG)-6000 on intake, rumen fermentation pattern and growth in kids fed foliage of Prosopis cineraria. Small Ruminant Research, 52:45–52.

8- Bohluli, A., A. A. Naserian, R. Valizadeh, and F. E. Shahroodi. 2007. The chemical composition and *in vitro* digestibility of pistachio by-product. 'In Proceedings of British Society of Animal Science'. p. 224. (BSAS:Scarborough, UK).

9- Bohluli, A., A. A. Naserian, R. Valizadeh, and F. E. Shahroodi. 2009. The Effect of Pistachio by-Product on Nutrient Apparent Digestibility, Rumination Activity and Performance of Holstein Dairy Cows in Early Lactation. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, 13:167-179. (In Persian).

10- Cardozo, P. W., S. Calsamiglia, A. Ferret, and C.Kamel. 2004. Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. Journal of Animal Science, 82:3230-3236.

11- Carter, R. R., and W. L. Grovum. 1990. A review of the physiological significance of hypertonic body fluids on feed intake and ruminal function: Salivation, motility and microbes. Journal of Animal Science, 68:2811–2832.

12- Carulla, J. E., M. Kreuzer, A. Machmüller, and H. D. Hess. Supplementation of Acacia mearnsii tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Australian Journal of Agricultural Research, 56: 961–970.*

13- Dickhoefer, U., S. Ahnert, and A. Susenbeth. 2016. Effects of quebracho tannin extract on rumen fermentation and yield and composition of microbial mass in heifers. Journal of Animal Science, 94.

14- Dschaak, C. M., C. M. Williams, M. S. Holt, J. S. Eun, A. J. Young, and B. R. Min. 2011. Effects of supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production of lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 94:2508–2519.

15- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2015. Website: http://www.faostat.fao.org.

16- Frutos, P., G. Hervás, F. J. Giráldez, M. Fernández, and A. R. Mantecón. 2000. Digestive utilization of quebracho-treated soya bean meals in sheep. Journal of Agricultural Science, 134:101-108.

17- Ghasemi, S., A. A. Naserian, R. Valizadeh, A. R. Vakili, A. M. Tahmasebi, and S. Ghovvati. 2012a. Partial and total substitution of alfalfa hay by pistachio byproduct modulated the counts of selected cellulolytic ruminal bacteria attached to alfalfa hay in sheep. Livestock Science, 150:342-348.

18- Ghasemi, S., A. A. Naserian, R. Valizadeh, A. M. Tahmasebi, A. R. Vakili, and M. Behgar. 2012b. Effects of pistachio by-product in replacement of lucerne hay on microbial protein synthesis and fermentative parameters in the rumen of sheep. Animal Production Science. 52: 1052–1057.

19- Gholizadeh, H., A. A. Naserian, , R. Valizadeh, and A. M. Tahmasbi. 2010. Effect of feeding pistachio by product on performance and blood metabolites in Holstein dairy cows. International journal of agriculture & biology, 12:867–870.

20- Grasser, L. A., J. Garneit, and E. J. Depeters. 1995. Quantity and Economic Importance of Nine Selected By-products Used in California Dairy Rations. Journal of Dairy Science, 78:962-971.

21- Jones, G. A., T. A. McAllister, A. D. Muir, and K. J. Cheng. 1994. Effects of sainfoin (Onobrychis viciifolia Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacterium. Applied Environment Microbiology, 60:1374–1378.

22- Komolong, M. K., D. G. Barber, and D. M. McNeill. 2001. Post-ruminal protein supply and N retention of weaner sheep fed on a basal diet of lucerne hay (*Medicago sativa*) with increasing levels of quebracho tannins. Animal

Feed Science and Technology, 92:59–72.
23- Kumar, R., and M. Singh. 1984. Tannins: Their adverse role in ruminant nutrition. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 32:447-453.
24- Labavitch, J. M., C. M. Heintz, H. L. Rae, and A. A. Kader. 1982. Physiological and compositional changes associated with maturation of Kerman pistachio. Journal of the American Society for Horticultural Science, 107:688-692.
25- Makkar, H. P. S. 2003a. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small Ruminant Research, 49:241–256.
26- Makkar, H. P. S. 2003b. Quantification of tannins in tree and shrubs foliages – a laboratory manual. Kluwer Academic. Press Dordrecht, The Netherland, p.102.
27- Makkar, H. P. S., B. Singh, and R. K. Dawra. 1988. Effect of tannin-rich leaves of oak (*Quercus incana*) on various microbial enzyme activities of the bovine rumen. British Journaf of Nutrition, 60:287-296.
28- McNabb, W. C., J. S. Peters, L. Yeap Foo, G. C. Waghorn, and F. S. Jackson. 1998. Effect of condensed tannins prepared from several forages on the *in vitro* precipitation of ribulose-1,5- *bis*phosphate carboxylase (Rubisco) protein and its digestion by trypsin (EC 2.4.21.4) and chymotrypsin (EC 2.4.21.1). Journal of the Science of Food and Agriculture, 77:201-212.
29- McSweeny, C. S., B. Palmer, D. M. McNeill, and D. O. Krause. 2001. Microbial interaction with tannin: nutritional consequences for ruminants. Animal Feed Science and Technology, 91:83-93.
30- Messman, M. A., W. Weiss, and K. A. Albrecht. 1996. In situ disappearance of individual proteins and nitrogen from legume forages containing varying amounts of tannins. Journal of Dairy Science, 79:1430– 1435.
31- Min, B. R., T. N. Barry, G. T. Attwood, and W. C. McNabb. 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. Animal Feed Science and Technology, 106:3–19.
32- Mokhtarpour, A., A. A. Naserian, A. M. Tahmasbi, and R. Valizadeh. 2012. Effect of feeding pistachio by-products silage supplemented with polyethylene glycol and urea on Holstein dairy cows performance in early lactation. Livestock Science, 148:208–213.
33- Mokhtarpour, A., A. A. Naserian, R. Valizadeh, M. Danesh Mesgaran, and F. Pourmollae. 2014. Extraction of Phenolic Compounds and Tannins from Pistachio By-products. Annual Research & Review in Biology, 4:1330-1338.
34- National Research Council (NRC). 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants. National Academy Press, Washington, DC.
35- Norton, B. W., and J. H. Ahn. 1997. A comparison of fresh and dried *Calliandra calothyrsus* supplements for sheep given a basal diet of barley straw. Journal of Agricultural Science, 129:485-494.
36- Nsahlai, I. V., F. N. Fon, and N. A. D. Basha. 2011. The effect of tannin with and without polyethylene glycol on *in vitro* gas production and microbial enzyme activity. South African Journal of Animal Science, 41:337-344.
37- Ottenstein, D. M., and D. A. Batler. 1971. Imoroved gas chromatography separation of free acids C2-C5 in dilute solution. Analytical Chemistry, 43:952-955.
38- Patra, A. K., and J. Saxena. 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. Journal of Science Food and Agriculture, 91: 24–37.
39- Porter, L. J., L. N. Hrstich, and B. G. Chan. 1986. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. Phytochemistry, 25:223–230.
40- Rahimi, A., A. A. Naserian, R. Valizadeh, A. M. Tahmasebi, and A. shahdadi. 2013. Effect of replacing hay by different levels of pistachio shells on feed consumption, nutrients digestibility, rumen fermentation parameters, blood metabolites and nitrogen balance in Baluchi male sheep. Iranian Journal of Animal Science, 5(3):190-200. (In Persian).
41- SAS Institute Inc. 2001. SAS/STAT User's Guide: Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
42- Scalbert, A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry, 30:3875-3883.
43- Schofild, P., D. M. Mbugua, and A. N. Pell. 2001. Analysis of condensed tannins: a review. Animal Feed Science and Technology, 91:21–40.
44- Seyd momen, S. M. 2003. The effects of residual levels of pistachio peeling and its tannin on body growth and hair production in Rayini goats. Animal Science Master's thesis. Islamic Azad University of Karaj. (In Persian).
45- Shakeri, P., A. Riasi, M. Alikhani, H. Fazaeli, and G. R. Ghorbani. 2013. Effects of feeding pistachio by-products silage on growth performance, serum metabolites and urine characteristics in Holstein male calves. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 97:1022–1029.
46- Shakeri, P., M. H. Ghaffari, and H. Fazaeli. 2017. Pistachio by-product as a forage feed in ruminants feeding - overview article. Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 112:129-144. (In Persian).
47- Silanikove, N., A. Perevolotsky, and F. D. Provenza. 2001. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative post-ingestive effects in ruminants. Animal Feed Science and Technology, 91:69–81.
48- Sliwinski, B. J., C. R. Soliva, A. Machmu¨ ller, and M. Kreuzer. 2002. Efficacy of plant extracts in secondary constituents to modify rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology, 101:101–104.

49- Tiemann, T. T., C. E. Lascano, H. R. Wettstein, A. C. Mayer, M. Kreuzer, and H. D. Hess. 2008. Effectof thetropical tannin-richshrublegumesCalliandra calothyrsus and Flemingia macrophylla on methane emission and nitrogen and energy balance in growing lambs. Animal, 2:790–799.
50- Toral P. G., G. Hervás, A. Belenguer, E. Bichi, and P. Frutos. 2013. Effect of the inclusion of quebracho tannins in a diet rich in linoleic acid on milk fatty acid composition in dairy ewes. Journal of Dairy Science, 96:431-439.
51- Vahmani, P., A. A. Naserian, R. Valizadea, and H. Nasiri Moghadam. 2006. Nutritive value of Pistachio by-products and their effects on Holstein cows in mid lactation. Agricultural Science and Technology, 20:201-210.
52- Valkeners, D., A. Théwis, S. Amant, and Y. Beckers. 2006. Effect of various levels of imbalance between energy and nitrogen release in the rumen on microbial protein synthesis and nitrogen metabolism in growing double-muscled Belgian Blue bulls fed a corn silage-based diet. Journal of Animal Science, 84:877–885.
53- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74:3583–3597.
54- Vasta, V., A. Nudda, A. Cannas, M. Lanza, and A. Priolo. 2008. Alternative feed resources and small ruminants meat and milk quality. A review. Animal Feed Scince and Technology, 147:223–246.
55- Voelker, J. A., and M. S. Allen. 2003. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 2. Effects on digestion and ruminal digestion kinetics in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 86:3553-3561.
56- Vogels G. D., W. F. Hoppe, and C. K. Stumm. 1980. Association of methanogenic bacteria with rumen. Applied and Environmental Microbiology, 40(3):608-612
57- Waghorn, G. C. 2008. Beneficial and detrimental effects of dietary condense tannins for sustainable sheep and goat production – progress and challenges. Anialm Feed Science and Technology, 147:116–139.
58- Waghorn, G. C., I. D. Shelton, W. C. McNabb, and S. N. McCutcheon. 1994. Effects of condensed tannin in *Lotus pedunculatus* on nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. Journal of Agricultural Science (Cambridge), 123:109–119.
59- Weatherburn, M. W. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. Analytical Chemistry, 39:971–974.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 135-149

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۱۴۹-۱۳۵

Influence of Ruminal Pistachio By-products Aqueous Extract infusion on Nitrogen Balance and Rumen Fermentation Parameters in Baluchi male Sheep

H. Taghavi[۳*], A.A. Naserian[2], R. Valizadeh[2], A. Asoodeh[3] and A.R. Haghparast[4]

Submitted: 02-06-2018
Accepted: 09-10-2018

Introduction According to the Food and Agriculture Organization (FAO), Iran is the largest pistachio (*Pistachio vera*) producer in the world. Nevertheless, pistachio byproducts (PBs) contain a high level of phenolic compounds and tannins, which can affect their utilization by animals. Tannins (hydrolysable and condensed tannin) are polyphenolic polymers of relatively high molecular weight with the capacity to form complexes mainly with proteins due to the presence of a large number of phenolic hydroxyl groups. They are considered as anti-nutritional compounds due to their adverse effects on intake and animal performance. However, tannins have been recognized to modulate rumen fermentation favourably such as reducing protein degradation in the rumen, prevention of bloat, inhibition of methanogenesis and increasing conjugated linoleic acid concentrations in ruminant-derived foods. The inclusion of tannins in diets has been shown to improve body weight and wool growth, milk yields and reproductive performance. Pistachio byproducts (PBs) contain a high level of phenolic compounds and tannins, which can affect their utilization by animals. The present study was conducted to evaluate the effects of PBs extract on nutrients apparent digestibility, nitrogen balance and ruminal fermentation characteristics in ruminants.

Materials and Methods PBs were completely dried under sun and were ground to pass a 1 mm sieve by cyclic mill. PBs were soaked in water at 1 to 5 ratio in ambient temperature for 12 h and then were smoothed with the 4 layer cotton cloth. The extract was concentrated in an oven at a temperature below 40°C. Four mature Baluchi male sheep (36.82 kg body weight, standard deviation 1) were fitted with ruminal cannula and were placed in individual metabolic cages with free access to fresh drinking water. The basal diet comprised 0.415 kg/d alfalfa, 0,165 kg/d barley straw and 0.250 kg/d concentrate feed (as-DM basis) that met their energy and crude protein (CP) requirements for maintenance according to the NRC (2007), and was offered in one meals. The concentrated PBs extract was infused in rumen at the levels that were administered to supply 0 (CON 1), 2, 4, or 6 % total tannin in the daily DM intake. All animals simultaneously received the same PBs extract dosage. Every period comprised 14 d of adaptation and 7 d of total urine and feces collection. Subsequent to highest PBs extract dosage, infusion was ceased and after 14 d of adaptation, urine and feces were collected again for 7 d (CON 2). Also in the end of every period rumen sampling was taken and animals were weighted.

Results and Discussion Feed intake of animals were not affected by ruminal infusion of the different levels of PBs extract due to the restricted feeding level, but duration of feed intake was significantly increase when the concentration of PBs extract was increased. It seems, the intraruminal PBs extract application might not have interfered with diet palatability. The ruminal PBs extract infusion had no significant effect on body weight gain, DM and CP apparent digestibility but OM, NDF and ADF apparent digestibility were significantly reduced. Besides, the pronounced ability of tannins to form complexes with feed proteins; they may impair microbial degradation of other polymers such as cellulose, hemicellulose, pectin, and starch. The increasing of PBs extract concentration significantly increased rumen pH and acetate/propionate ratio and decreased rumen ammonia nitrogen, propionate, valerate and isovalerate. Lower ruminal ammonia nitrogen concentration may have resulted from a greater concentration of tannins that bound to proteins and decreased proteolysis resulting in a reduction of ammonia nitrogen release in rumen. Depression in VFA concentrations might be related to lower microbial activity of rumen in the presence of tannins. Iso-acids are derived from amino acids catabolism by cellulolytic bacteria in the rumen, that reductions their concentrations can indicate the protection of protein from bacterial

1- Assistant Professor of University of Applied Science and Technology, Zahedan, Iran.,
2- Professor, Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.,
3- Professor, Dept. of Chemistry, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.,
4- Associate Prof., Dept. of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
(*- Corresponding Author Email: hamid.taghavi2007@gmail.com)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.73231

deamination. Higher ruminal pH may have resulted from lower ammonia nitrogen and VFA concentrations in the rumen. The urine nitrogen excretion was reduced by increasing of PBs extract concentration, while the feces nitrogen excretion and retained nitrogen were increased. Infusion of incremental PBs extract dosages greatly shifted partitioning in nitrogen from urine to feces and could contribute to lower ammonia emissions from manure in ruminant production. The decrease in urinary nitrogen excretion can be attributed to the protein-binding property of PBs extract and the consequently lower ruminal protein degradation and ammonia nitrogen release. Besides of the tannin level, the effects of tannins differ greatly by the type and source of tannin as well as the composition of the animals' diet.

Conclusion Generally results of this experiment indicated that while the ruminal PBs extract infusion at the level that was administered to supply 4 % total tannin in the daily DM intake preserved CP apparent digestibility, it improved nitrogen balance and rumen fermentation characteristic of sheep.

Keywords: Apparent digestibility, Tannin, Rumen fermentation, Ruminants.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 151-167

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۱۶۷-۱۵۱

مقاله علمی- پژوهشی

تعیین ارزش غذایی، قابلیت هضم دانه، غلاف و پوسته دانه باقلا با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی

سلیمان بدرزاده اورنج[۱]، جمال سیف دواتی*[۲]، فرزاد میرزائی آقچه قشلاق[۳]، حسین عبدی بنمار[۲]، رضا سیدشریفی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۱۶

چکیده

لازمه استفاده بهینه از اجزای و پسماند باقلا در تغذیه دام آگاهی از کیفیت و ترکیبات مغذی آن می باشد. هدف از این تحقیق تعیین ارزش غذایی، انرژی متابولیسمی، قابلیت هضم شکمبه ای و بعد از شکمبه ای در اجزای مختلف باقلا *Vicia faba* L. به صورت خام و فرآوری شده با اوره و ملاس با استفاده از روش‌های *in situ* و *in vitro* بود. نتایج نشان داد که ترکیبات شیمیایی، پتانسیل و نرخ تولید گاز، ماده آلی قابل هضم، انرژی متابولیسمی، و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بین اجزای مختلف باقلا دارای اختلاف معنی‌دار هستند. همچنین نتایج نشان داد که فرآوری غلاف باقلا با ۳ درصد ملاس و ۱/۵ درصد اوره به دلیل فراهمی همزمان و مناسب اسکلت کربنی و منبع نیتروژن موجب کاهش میزان الیاف نامحلول در شوینده‌ی اسیدی آن و به عبارتی افزایش قابلیت هضمی آن شد. براساس نتایج حاصل، بیشترین میزان قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک و انرژی متابولیسمی در اثر عمل‌آوری غلاف باقلا با ۴/۵٪ ملاس و ۱/۵٪ اوره (۴/۵ + ۱/۵ درصد ماده خشک) مشاهده گردید. با افزایش سطح ملاس قابلیت هضم ماده خشک در غلاف باقلا در کل دستگاه گوارش افزایش یافت. دانه باقلا دارای ارزش غذایی بیشتری نسبت به سایر اجزای آن بوده و مقدار فیبر در پوسته دانه بیشتر بود. به طور کلی دانه باقلا با پروتئین حدود ۲۴/۷۱ درصد و انرژی قابل متابولیسم ۸/۹۴ مگاژول برکیلوگرم دارای ارزش غذایی خوبی برای تغذیه دام است. لیکن غلاف باقلا نیز ارزش تغذیه‌ای مناسبی به عنوان منبع فیبر غیرعلوفه‌ای برای نشخوارکنندگان دارد.

واژه‌های کلیدی: ارزش غذایی، باقلا، ترکیب شیمیایی، تولید گاز، قابلیت هضم.

مقدمه

حبوبات نقش مهمی در تأمین نیازهای غذایی جامعه بشری به ویژه در کشورهای درحال توسعه ایفاء می‌کنند. باقلا در میان حبوبات جایگاه مهمی دارد که در بیش از ۵۰ کشور جهان کشت می‌شود (۱۴). ایران با تولید سالانه بیش از ۴۶ هزار تن باقلا در سطح زیرکشت ۳۶ هزار هکتار، مقام دوازدهم تولید این محصول را در جهان دارد (۳). همانند دیگر دانه های خام حبوبات، اغلب بخش نیتروژنی باقلا از نیتروژن محلول تشکیل شده که به آسانی در شکمبه قابل تجزیه است (۹). برای نشخوارکنندگان ارزش انرژی‌زایی باقلا در مقایسه با غلات بالا است. تحقیقات نشان داده که استفاده از باقلا به جای کنجاله سویا در بخش کنسانتره جیره بره‌ها اثر منفی بر عملکرد رشد حیوان نداشته است (۱۳). بیش از ۴۰ درصد غلاف باقلا را فیبر تشکیل می‌دهد، بنابراین می‌تواند به عنوان منبع فیبر جیره غذایی در نظر گرفته شود (۲۷). رحیمی و همکاران (۴۰) گزارش کردند که تولید گاز به ترتیب از زیاد به کم در پوسته، مغز، کل میوه، غلاف و دانه باقلا وجود داشت و بیشترین نرخ تولید گاز در دانه باقلا و کمترین آن در مغز بوده و به طوری که ماده آلی قابل هضم، انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص، پروتئین میکروبی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر به ترتیب از زیاد به کم در پوسته، مغز، کل میوه، غلاف و دانه باقلا وجود داشتند. در تحقیقی نشان داده شده که با افزودن ۶ درصد ملاس به سیلاژ بقایای زراعت باقلا می‌توان سیلوی خوبی از بقایای زراعت باقلا تهیه نموده و به مصرف دام رساند (۳۸). پسماند لپه باقلا که دارای پروتئین بالایی است نیز می‌تواند برای کاهش هزینه‌های تغذیه دام در پرواربندی حائز اهمیت باشد (۱۱). در گزارشی نشان داده شد که جایگزینی ۲۰ درصد از سهم علوفه بره‌های در حال رشد با

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۲- دانشیاران گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی، ، اردبیل، ایران.
۳- استاد گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی، ، اردبیل، ایران.
(*- ایمیل نویسنده مسئول: jseifdavati@uma.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.77137

سیلاژ ساقه و برگ باقلا تاثیر منفی بر عملکرد رشد آن‌ها نداشت (۳۷).

کربوهیدرات محلول اندک بقایای باقلا موجب شده که فرآوری و غنی سازی آن با ملاس مورد توجه قرار گیرد (۳۷ و ۳۸). به منظوراستفاده بهینه از مواد خوراکی، به اطلاعات کافی در زمینه مواد مغذی موجود در آن‌ها و قابلیت دسترسی به این مواد مغذی نیاز است. ارزش غذایی اجزای مختلف باقلا (غلاف فرآوری شده، پوسته دانه و دانه) جهت تغذیه دام به خوبی روشن نیست. بنابراین هدف از این تحقیق تعیین ترکیبات شیمیایی (پروتئین خام، فیبر خام و...)، بررسی قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام شکمبه‌ای و بعد از شکمبه‌ای غلاف، پوسته و دانه باقلا و فراسنجه‌های تخمیر غلاف باقلای فرآوری نشده و فرآوری شده با اوره و ملاس با استفاده از روش تولید گاز بود.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد و تیمارهای آزمایشی

برای تهیه محصول باقلای خام از مرکز خرید باقلا در شمال کشور شرکت luxbeanslands اقدام شد. پس از تهیه‌ی باقلا، غلاف آن از دانه جداسازی و دانه، غلاف و پوسته دانه‌های جداسازی شده در مجاورت هوا خشک شد. این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و ۳ تکرار در هر تیمار در دو اجرا شامل: ۱ – غلاف باقلای فرآوری نشده (شاهد، به صورت خام بدون افزودن اوره یا ملاس به عنوان شاهد سیلو شده است)، ۲ – غلاف باقلای فرآوری شده با ملاس (۱/۵ درصد ماده خشک غلاف)، ۳ – غلاف باقلای فرآوری شده با ملاس (۳ درصد ماده خشک)، ۴ – غلاف باقلای فرآوری شده با ملاس (۴/۵ درصد ماده خشک)، ۵ – غلاف باقلای فرآوری شده با اوره (۱/۵ درصد ماده خشک)، ۶ – غلاف باقلای فرآوری شده با ملاس + اوره (به ترتیب ۱/۵ و ۱/۵درصد ماده خشک)، ۷ – غلاف باقلای فرآوری شده با ملاس + اوره (به ترتیب ۳ و ۱/۵ درصد ماده خشک)، ۸ – غلاف باقلای فرآوری شده با ملاس + اوره (به ترتیب ۴/۵ و ۱/۵ درصد ماده خشک)، ۹ – پوسته دانه و ۱۰ – دانه باقلا انجام شد. فرآوری غلاف باقلا با اوره و با ملاس طبق روش چودوری (۸) و فرآوری غلاف باقلا با اوره + ملاس مطابق روش هاو (۲۱) انجام شد. در ابتدا مقدار ۷۰ گرم اوره یا ملاس تنها در ۰/۵ لیتر آب حل شد. مقدار ۲ کیلوگرم غلاف باقلای خرد شده با ۴/۵ لیتر آب در یک ظرف به وسیله دست کاملاً مخلوط شد و در حین مخلوط کردن محلول اوره یا ملاس تنها نیز به آن اضافه شد. این مخلوط طبق روش چودوری (۸) در پلاستیک های دو لایه ریخته و به خوبی هواگیری و فشرده سازی شد. برای فرآوری غلاف باقلا با مخلوط اوره و ملاس ۷۰ گرم اوره با ۵۷ گرم ملاس با ماده خشک ۷۰ در صد در ۰/۵ لیتر آب حل شده و طبق روش گفته شده برای اوره یا ملاس تنها به ۲ کیلوگرم غلاف باقلا که با ۴/۵ لیتر آب مخلوط شده بود اضافه شد (۲۱).

همه‌ی فرآوری‌ها به مدت ۲۸ روز در کیسه‌های پلاستیکی در دمای اتاق (۲۱ تا ۲۶ درجه سلسیوس) به صورت سیلو نگهداری شدند. سپس درب آن‌ها باز و ارزیابی ظاهری سیلاژ انجام شد. ابتدا لایه‌های بالایی سیلاژ خارج گردید، سپس از قسمت‌های میانی آن جهت اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی، تعیین قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام شکمبه‌ای و بعد شکمبه‌ای و اندازه‌گیری میزان تولید گاز نمونه‌برداری شد.

تعیین ترکیب شیمیایی

جهت تعیین تجزیه شیمیایی نمونه‌های آزمایشی برای ماده خشک توسط آون و با روش ۱۵–۹۳۰ از پروتکل (۴)، برای پروتئین خام توسط دستگاه کلدال و با روش ۰۵–۹۸۸ از پروتکل (۴) و برای چربی با دستگاه سوکسیله و با روش ۳۹–۹۲۰ از پروتکل (۴) و برای خاکستر خام با دستگاه کوره الکتریکی و با روش ۰۳–۹۲۳ از پروتکل (۴) صورت گرفت و میزان ADF و NDF با سیستم آنکوم (۲) تعیین شد.

تعیین قابلیت هضم به روش دیزی (هولدن ۱۹۹۹)

قابلیت هضم شکمبه‌ای به روش آزمایشگاهی هولدن (۲۰) انجام شد. بدین ترتیب که پس از نمونه‌برداری، مواد خوراکی با استفاده از آسیاب مخصوص دارای غربال با منافذ ۲ میلی‌متری آسیاب گردید. سپس با استفاده از الک ۵۰ میکرون غربال شدند تا ذرات کوچک‌تر از ۵۰ میکرومتر از آن خارج شود. سپس از هر ماده خوراکی مقدار ۱ گرم نمونه در داخل کیسه‌های نایلونی توزین شد (۳۴). پس از آن درب کیسه‌های نایلونی حاوی مواد خوراکی، به وسیله دستگاه دوخت پلاست بسته شد. برای انجام این آزمایش از دستگاه شبیه ساز هضم (DAISY^{II} Incubator، مدل دستگاه D200I ساخت شرکت انکوم) استفاده گردید. در مرحله اول آزمایش هولدن به منظور انجام فرایند هضم شکمبه‌ای، ۱۴۴۰ میلی‌لیتر از محلول بافری (بزاق مصنوعی) به همراه ۳۶۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه (در مجموع ۱۸۰۰ میلی‌لیتر) به داخل هر کدام از بطری‌های هضمی ۲ لیتری که از قبل در دمای ۳۹ درجه سلسیوس گرم شده بودند، ریخته شده و سپس کیسه‌های حاوی مواد خوراکی داخل آن‌ها قرار داده شدند (۲۰). با استفاده از گاز دی‌اکسیدکربن، گازدهی انجام گردید و سپس به داخل هر بطری دو لیتری دستگاه هضم شکمبه‌ای تعداد ۲۵ کیسه قرار داده شد و درب بطری‌ها به طور محکم بسته شدند و به مدت ۴۸ ساعت در دستگاه، ضمن چرخش آهسته بطری‌ها انکوبه شدند. در مرحله دوم آزمایش، ۳۶ میلی‌لیتر HCl ۶ نرمال به همراه ۲/۷ گرم پپسین به هر بطری اضافه شد و درب بطری‌ها محکم بسته شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه ضمن چرخش آهسته بطری‌ها انکوبه شدند. در پایان کیسه‌ها

از بطری‌ها بیرون آورده شدند و به وسیله ماشین لباس‌شویی به مدت ۲۱ دقیقه (در۳ مرحله ۷ دقیقه‌ای) با آب سرد شستشو داده شد. پس از آن کیسه‌ها جهت خشک شدن به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۵ درجه سلسیوس قرار داده شد. نمونه‌ها جهت تعیین خاکستر آن به مدت چهار ساعت در دمای ۵۶۰-۵۵۰ درجه سلسیوس در کوره قرار گرفتند. بعداً از کوره در آورده به مدت ۲۰ دقیقه در دسیکاتور قرار داده و توزین شدند. با این روش قابلیت هضم ماده آلی و ماده آلی در ماده خشک طبق روابط (شماره ۱، ۲، ۳ و۴) زیر محاسبه شد.

رابطه (۱)

DMD(%) = وزن نمونه اولیه − (وزن خشک بقایای هضم شاهد − وزن خشک بقایای نمونه) / وزن نمونه اولیه × 100

رابطه (۲)

ME=۰/۰۱۵۷×DOMD

رابطه (۳)

OM× ODM= (DOMD)

رابطه (۴)

ODM= قابلیت هضم × وزن نمونه اولیه

که در این روابط ME انرژی قابل متابولیسم برحسب مگاژول بر کیلوگرم، DOMD قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک با استفاده از روش هولدن، ODM قابلیت هضم ماده آلی و OM ماده آلی می‌باشد (۲۹).

تعیین قابلیت هضم به روش آنزیمی سه مرحله‌ای (مک نیون و همکاران،۲۰۰۲)

برای تعیین قابلیت هضم با روش آنزیمی مک‌نیون (۲۹)، نمونه‌های آزمایشی خشک شده با اندازه ذرات ۲ میلی متر آسیاب شد . سپس یک گرم نمونه آزمایشی به داخل کیسه‌های انکوم (F_{57}، با اندازه منافذ ۵۰ میکرون) از هر نمونه خوراک چهار تکرار ریخته شده و پس از آن با دستگاه دوخت پلاست دوخته شدند. حداکثر ۳۰ کیسه در هر بطری ۲ لیتری قرار داده شد. در این مرحله ۱/۶ لیتر بافر بورات (۰/۰۳۴۵ مول) فسفات (۰/۰۵۵۱ مول) با pH برابر ۸- ۷/۵ به داخل هر بطری ریخته شد. سپس به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۹ درجه سلسیوس ضمن چرخش آهسته انکوباسیون شدند. سپس ۴۰۰ میلی‌لیتر محلول پروتئاز (Sigma p -5147) ۶۶ واحد پروتئاز به ازای هر گرم خوراک به بافر بورات فسفات اضافه شد و به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۹ درجه سلسیوس انکوبه شد. بعد از انکوباسیون تمام مایعات از بطری‌ها خارج شده و کیسه‌ها ۳ بار با آب سرد، کاملاً شسته شدند. سپس ۲ سری از کیسه‌ها برای انجام مراحل بعدی آزمایش داخل بطری دیگری قرار داده شد. بقیه کیسه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سلسیوس در آون قرار داده شد. پس از خارج کردن از آون و قرار دادن در دسیکاتور به دقت توزین شدند. در این مرحله از آزمایش۸۰۰ میلی لیتر محلول پپسین (Sigma p-7000) به بطری‌های حاوی کیسه‌ها اضافه شد. (۲میلی‌گرم در لیتر HCL ۰/۱ نرمال) برای تهیه HCL ۰/۱ نرمال از اسید غلیظ ۱۱/۶۵ نرمال مقدار ۸/۵۸ میلی لیتر برداشته شد و با آب مقطر به حجم ۱ لیتر رسانده شد. سپس از این محلول ۰/۱ نرمال ۸۰۰ میلی‌لیتر برداشته شد و به آن ۳/۴ گرم پپسین اضافه شد و پس از آن به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۹ درجه سلسیوس انکوباسیون شد. بعد از اتمام این زمان درب بطری‌ها باز شد و ۴۰ میلی‌لیتر سود ۰/۱ نرمال و یک لیتر محلول پانکراتین (۶ گرم در لیتر پانکراتین (Sigma p-7545)، ۶۷/۵ گرم در لیتر فسفات دی هیدروژن پتاسیم ۰/۵ نرمال و ۰/۵ میلی گرم در لیتر تیمول۷/۸=pH) به بطری‌ها اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۹ درجه سلسیوس انکوباسیون و بعد از اتمام این مدت درب بطری‌ها باز شد و محتوای بطری‌ها به بیرون ریخته شد و کیسه‌ها ۶ بار با آب سرد کاملاً شسته شد، و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سلسیوس در آون قرار داده شد. پس از خارج کردن از آون و قرار دادن در دسیکاتور به دقت توزین شدند. مقدار هضم با پپسین و پانکراتین از مقدار نیتروژن نمونه‌ها (بعد از انکوباسیون شکمبه‌ای) منهای نیتروژن باقیمانده بعد از انکوباسیون در پپسین- پانکراتین تقسیم بر مقدار نیتروژن نمونه‌ها محاسبه گردید (۳۰). میانگین قابلیت هضم شکمبه‌ای، پس از شکمبه‌ای و کل دستگاه گوارش ماده خشک بر اساس درصد طبق رابطه‌های شماره (۵ ، ۶ و۷) زیر محاسبه شد.

رابطه (۵)

٪ هضم شکمبه‌ای ماده‌ی خشک = (وزن پس از هضم شکمبه‌ای − وزن نمونه قبل هضم شکمبه‌ای) / وزن نمونه قبل از هضم شکمبه‌ای × ۱۰۰

رابطه (۶)

٪ هضم پس از شکمبه‌ای ماده‌ی خشک = (وزن پس از هضم رودهای − وزن نمونه پس از هضم شکمبه) / وزن نمونه پس از شکمبه‌ای × ۱۰۰ رابطه (۷)

٪ هضم کل دستگاه گوارش = (وزن نمونه پس از هضم رودهای − وزن نمونه قبل هضم شکمبه‌ای) / وزن نمونه قبل هضم شکمبه‌ای × ۱۰۰

تعیین فرآسنجه‌های تخمیری به روش تولید گاز

برای اندازه‌گیری میزان گاز تولیدی از روش منک و همکاران (۳۱) استفاده شد. بعد از آسیاب یا غربال ۱ میلی‌متری، مقدار (±۵) ۲۱۵ میلی گرم از هر نمونه در داخل سرنگ‌های شیشه‌ای مدرج مخصوص با حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر قرار داده شد. برای هر نمونه ماده خوراکی ۳ تکرار (سرنگ) و دو اجرا در نظر گرفته شد. مایع شکمبه صاف شده با محیط کشت تهیه شده مطابق روش منک و همکاران (۳۱) و روش تصحیح شده منک و استینگاس (۳۰) به نسبت‌های ۱ (مایع شکمبه) به ۲ (محیط کشت) مخلوط شد. در حالی که جریان گاز

کربنیک به داخل مخلوط ادامه دا شت. با ا ستفاده از پیپت مخ صوص مقدار ۳۰ گرم از مخلوط مایع شـــکمبه و محیط کشـــت در داخل هر سرنگ حاوی نمونه ریخته شد و سپس سرنگ‌ها در دستگاه انکوباتور (۳۹ درجه سـلسـیوس) که با سـرعت یک دور در دقیقه برای مخلوط کردن مداوم محتویات سرنگ‌ها می‌چرخید، قرار داده شد. برای حذف خطای ناشـی از گاز تولیدی در اثر عمل میکروارگانیسـم‌ها روی مواد خوراکی موجود در مایع شکمبه از نمونه‌های شاهد (بدون اضافه کردن ماده خوراکی و حاوی ۳۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع شـــکمبه و بزاق مصـنوعی) اسـتفاده شـد. برای هر ۳ تکرار یک عدد سـرنگ شـاهد (Blank) قرار داده شد و گاز تولیدی سرنگ‌های ا صلی حاوی نمونه خوراکی تصـحیح گردید. در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از قرار دادن سرنگ‌ها در انکوباتور، موقعیت پیستون و میزان گاز تولیدی قرائت و ثبت گردید. حجم گاز تولیدی بر اســاس وزن نمونه خوراک در هر زمان با اســتفاده از رابطه‌ی شــماره (۸) به صورت زیر تصحیح گردید:

$$V = (V_t - (200 \times V_b)) / W$$ (رابطه ۸)

که در این رابطه، V حجم گاز تصـحیح شـده (میلی‌لیتر) به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشـــک نمونه خوراک، V_t حجم گاز تولیدی در سـرنگ‌های حاوی نمونه خوراک (میلی‌لیتر)، V_b حجم گاز تولیدی در سرنگ‌های فاقد نمونه خوراک (میلی‌لیتر)، W وزن ماده خشک نمونه خوراک (میلی‌گرم) می‌با شد. برای تعیین فرا سنجه‌های تخمیر یا تولید گاز نمونه‌ها از معادله یا رابطه شـماره (۹) ارسـکوف و مکدونالد (۳۶) استفاده شد:

$$P = a + b\,(1 - e^{-c(t - Lt)})$$ رابطه (۹)

که در آن، P تجزیه‌پذیری (گاز تولیدی در زمان t)، a میزان تولید گاز بخش محلول (میلی‌لیتر)، b بخش نامحلول ولی قا بل تخمیر (میلی‌لیتر)، c نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر بر ساعت) و t زمان انکوبا سیون (ساعت) است.

مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر طبق رابطه شماره (۱۰) گتاچیو و همکاران (۱۵) و قابلیت هضـم ماده خشـک، ماده آلی، ماده آلی در ماده خشک و نیز انرژی قابل متابولیسم از رابطه‌های شماره (۱۱، ۱۲ و ۱۳) ذیل (۳۰ و ۳۹) و میزان سـنتز پروتئین میکروبی با معادله‌ی یا رابطه شماره (۱۴) چرکاوسکی (۱۰) برآورد گردید:

$$SCFA = ۰/۰۲۲۲\ Gas_{24} - ۰/۰۰۴۲۵$$ رابطه (۱۰)

رابطه (۱۱)

$$ME = ۲/۲ + ۰/۱۳۶\ Gas_{24} + ۰/۰۰۵۷\ CP - ۰/۰۰۲۸۶\ EE$$

رابطه (۱۲)

$$DOM(\%) = ۱۶/۴۶ + ۰/۹۰۴۲\ Gas_{24} + ۰/۰۴۹۲\ CP - ۰/۰۳۸۷\ Ash$$

$$DOMD(\%) = ۱۶/۴۶ + ۰/۹۰۴۲\ Gas_{24} + ۰/۰۴۹۲\ CP - ۰/۰۳۸۷\ Ash$$ رابطه (۱۳)

$$MP\ (g/kg\ DOM) = ۱۹/۳\ (DOM) \times$$ رابطه (۱۴)

که در این روابط SCFA برابر اســیدهای چرب کوتاه زنجیر بر اســاس میلی‌مول، ME برابر انرژی قابل متابولیســم (مگاژول بر کیلوگرم)، DOMD قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک با ا ستفاده از روش آزمون گاز (بر اساس درصد)، DOM ماده آلی قابل هضم (بر ا ساس در صد)، MP برابر با پروتئین میکروبی بر ا ساس گرم به ازای هر کیلوگرم ماده آلی قابل هضـــم، CP برابر پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشـــک)، OM برابر ماده آلی (گرم در کیلوگرم ماده خشـک)، Ash برابر (گرم در کیلوگرم ماده خشـک)، EE برابر چربی خام (گرم در کیلوگرم ماده خشـک) و Gas_{24} برابر تولید گاز (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک در ۲۴ ساعت تخمیر پایه) (۳۰).

تجزیه و تحلیل آماری داده ها

داده‌های حاصل از روش تولید گاز در قالب طرح کاملا تصادفی به روش اندازه گیری تکرار شده در زمان و قابلیت هضم هولدنی و مک نیون در قالب طرح کاملا تصـــادفی با اســـتفاده از نرم افزار SAS با رویه Mixed تجزیه و تحلیل گردید (۴۲). مدل مورد اسـتفاده در این رویه یک مدل مختلط شـــامل اثر تیمار (ماده خوراکی)، اثر زمان انکوباســیون و اثر متقابل بین تیمار و زمان به عنوان اثرات ثابت و اثر تکرار درون هر تیمار به عنوان اثر تصـــادفی بود. مدل‌های آماری به صورت رابطه‌های شماره (۱۵ و ۱۶) زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_{\beta ij} + e_{k(i)} + e_{ijk}$$ رابطه (۱۵)

$$Y_i = \mu + \alpha_i + e_{ij}$$ رابطه (۱۶)

که در آن μ = میانگین، α_i = اثر تیمار iام، β_j= اثر زمان jام، $\alpha_{\beta ij}$= اثر متقابل تیمار و زمان، خطای تصـــادفی حاصـــل از تکرار در داخل تیمار، $e_{k(i)}$ و e_{ij} خطای باقیمانده می باشد.

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی

جدول ۱ ترکیبات شـیمیایی مواد خوراکی را نشـان می‌دهد. نتایج این پژوهش نشـــان داد که دانه خام باقلا دارای درصـــد پروتئین خام بیشتری نسبت به بقیه اجزای باقلا ا ست ($P<۰/۰۵$). همچنین نتایج نشان داد که فرآوری غلاف باقلا با ۳ درصد ملاس و ۱/۵ درصد اوره به دلیل فراهمی همزمان و مناســب اســکلت کربنی و منبع نیتروژن موجب کاهش میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی آن و به عبارتی افزایش قابلیت هضمی شد. کاهش محتوی NDF و ADF سیلاژ به دو عامل مهم افزایش فعالیت لاکتوباســیل‌ها و باکتریوم‌ها در ترکیب ســیلاژ و عامل دوم به خود ملاس که فاقدNDF و ADF اســت، برمی‌گردد (۲۲). در واقع میزان کربوهیدرات محلول قابل دســترس برای عملکرد باکترهای تخمیر کننده در سیلو بیشتر می شود. در این پژوهش نیز با افزایش سـطح ملاس، درصـد ماده خشـک افزایش و

محتوی ADF سیلاژ غلاف باقلا کاهش یافته‌است. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که از نظر میزان ماده خشک، پوسته دانه و دانه باقلا که اختلاف معنی‌داری باهم ندا شتند (P>۰/۰۵)، لیکن از نظر پروتئین خام محتوی ماده خشک دانه باقلا از ارزش بالایی برخوردار بوده و در مقابل، غلاف باقلای فرآوری شده با ۱/۵ درصد ملاس کمترین ارزش را از این لحاظ داشت. محققین مختلف (۱۴، ۴۰ و۴۱) مقادیر متفاوتی از میزان پروتئین خام (به ترتیب ۲۵/۷، ۲۵/۲ و ۳۱/۰۷ درصد) و ماده خشک (به ترتیب ۹۰/۶، ۸۸/۸ و ۹۳/۱۶ درصد) و پروتئین خام (به ترتیب ۲۵/۷، ۲۵/۲ و ۳۱/۰۷ درصد) را برای دا نه باقلا گزارش نموده‌اند که نتیجه به دست آمده از این آزمایش به جز گزارش رحیمی و همکاران (۴۰) با نتایج سایر پژوهشگران نظیر راموس مورالس و همکاران (۴۱)، دیگ سون و ها سکینگ (۱۴) و دالوند و همکاران (۱۱) مطابقت داشت. به طورکلی تفاوت‌های بین ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی مشابه به خصوص در میزان ماده خشک و پروتئین خام ممکن است به دلیل عوامل زراعی مانند کاربرد سطوح مختلف کودهای نیتروژنی، شرایط آب و هوایی، زمان برداشت، شرایط انبارداری، وجود شرایط خشکی در مزرعه و فرایندهای پس از برداشت باشد (۲۳ و ۲۶).

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی غلاف، پوسته دانه و دانه باقلا[1] فرآوری نشده و فرآوری شده با اوره و ملاس[1]

Table 1- Chemical composition of untreated and treated pods, seed hulls and seeds of Faba bean with urea and molasses[1]

مواد خوراکی Feeds	ماده خشک Dry matter	پروتئین خام Crude protein	عصاره اتری Ether extract	خاکستر Ash	دیواره سلولی NDF[2]	دیواره سلولی بدون همی سلولز ADF[3]
غلاف باقلا خام Raw bean pods	10.34[cd]	13.60[c]	3.47[b]	18.82[bc]	31.27[b]	22.00[b]
غلاف باقلا فرآوری با ملاس Processed bean pods with Molasses						
۱/۵٪ ماده خشک با ملاس (1.5 % DM with Molasses)	10.15[d]	15.11[c]	4.21[b]	21.16[a]	33.53[b]	22.07[b]
۳٪ ماده خشک با ملاس (3% DM with Molasses)	11.66[bcd]	15.03[c]	3.31[b]	15.16[bc]	37.53[b]	21.73[b]
۴/۵٪ ماده خشک با ملاس (4.5% DM with Molasses)	11.67[bcd]	16.54[c]	3.60[b]	21.00[bc]	35.93[b]	19.67[b]
غلاف باقلا فرآوری با اوره (۱/۵ درصد ماده خشک) Processed with Urea (1.5 % DM)	11.31[bcd]	15.90[c]	5.66[ab]	20.75[bc]	30.73[b]	23.40[b]
غلاف باقلا فرآوری با ملاس+ اوره Processed bean pods with Molasses+ Urea						
۱/۵٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 1.5 % Molasses +1.5%with Urea (DM basis)	12.61[b]	14.16[c]	5.40[ab]	16.64[bc]	38.33[b]	23.00[b]
۳٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 3 % Molasses +1.5%with Urea (DM basis)	11.00[bcd]	15.19[c]	8.90[a]	17.41[bc]	31.33[b]	14.53[c]
۴/۵٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 4.5 % Molasses +1.5%with Urea (DM basis)	12.49[bc]	18.21[b]	3.56[b]	12.40[c]	34.67[b]	18.67[bc]
پوسته خام دانه باقلا Bean seed raw hulls	89.84[a]	15.75[c]	4.88[b]	20.95[bc]	64.67[a]	48.67[a]
دانه خام باقلا Bean raw seeds	89.57[a]	24.71[a]	3.43[b]	25.70[b]	34.00[b]	0.67[d]
سطح معنی داری P- Value	0.01	0.01	0.04	0.01	0.01	0.01
میانگین خطای استاندارد SEM	1.074	1.875	1.464	2.586	2.956	1.627

[1] میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد(P<۰/۰۵).

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

[2] NDF: Neutral dtergent fiber.

[3] ADF: Acid dtergent fiber.

قابلیت هضم به روش دیزی (هولدن ۱۹۹۹)

نتایج قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، ماده آلی در ماده خشک و انرژی قابل متابولیسم غلاف، پو سته و دانه باقلا به روش هولدن یا

تیلی و تری ا صلاح شده (۲۰) در جدول ۲ ارایه شده ا ست. برا ساس نتایج حا صل، بیشترین میزان قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک و انرژی قابل متابولیـ سم در اثر عمل‌آوری غلاف باقلا با ۴/۵٪ ملاس و ۱/۵٪ اوره مشـــاهده گردید. بنابراین قابلیت هضـــم ماده آلی در ماده خشـــک و انرژی قابل متابولیســـم غلاف باقلا به روش آزمایشـــگاهی هولدن (۲۰) با فرآوری بهبود یافت. این درحالی اســـت که بیشـــترین میزان DMD و OMD در بین تیمارها، مربوط به دانه باقلا بود. قابلیت هضم خوراک در درجه اول به ترکیبات آن به ویژه الیاف بستگی دارد و پوســـته دانه باقلا به دلیل داشـــتن میزان NDF بیشـــتر، انرژی قابل متابولیسم کمتری را نشان داد (۱و ۴۵). تفاوت در میزان تجزیه‌پذیری یا قابلیت هضـــم بین گونه‌های مختلف گیاهی می‌تواند از تفاوت در ترکیبات شیمیایی آن‌ها ناشی شود (۳۹). تجزیه‌پذیری علوفه در درجه اول توســـط میزان محتویات ســـلولی (مواد محلول و قابل تجزیه) و در درجه دوم توسط ساختار و میزان دیواره سلولی (NDF) تعیین می‌شود (۹).

جدول ۲- میانگین قابلیت هضم و میزان انرژی قابل متابولیسم غلاف، پوسته دانه و دانه باقلا فرآوری نشده و فرآوری شده با اوره و ملاس[۱]

Table 2- The means of digestible and values of metabolisable energy of untreated and treated pods, seed hulls and seeds Faba bean[1]

مواد خوراکی Feeds	قابلیت هضم ماده‌خشک (درصد) DMD[2] (%)	قابلیت هضم ماده آلی (درصد) OMD[3] (%)	قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک (درصد) DOMD[4] (%)	انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم ماده‌خشک) ME[5] (MJ/Kg DM)
غلاف باقلا خام Raw bean pods	78.03[b]	74.91[b]	60.81 [abc]	9.54 [abc]
غلاف باقلا فرآوری با ملاس Processed bean pods with Molasses ۱/۵٪ ماده خشک با ملاس (1.5 % DM with Molasses)	81.13 [ab]	75.78 [b]	52.52 [c]	8.24 [c]
۳٪ ماده خشک با ملاس (3% DM with Molasses)	77.63 [b]	74.43 [b]	63.30 [abc]	9.93 [abc]
۴/۵٪ ماده خشک با ملاس (4.5% DM with Molasses)	76.33 [b]	71.90 [b]	56.85 [bc]	8.92 [bc]
غلاف باقلا فرآوری با اوره (۱/۵ درصد ماده خشک) Processed with Urea (1.5 % DM)	75.96 [b]	71.31[b]	56.55 [bc]	8.87 [bc]
غلاف باقلا فرآوری با ملاس+اوره Processed bean pods with Molasses+ Urea ۱/۵٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 1.5 % Molasses +1.5% Urea (DM basis)	74.70 [b]	70.58 [b]	58.84 [abc]	9.23 [abc]
۳٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 3 % Molasses +1.5% Urea (DM basis)	73.30 [b]	68.75 [b]	56.79 [bc]	8.91[bc]
۴/۵٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 4.5 % Molasses +1.5% Urea (DM basis)	81.90 [ab]	79.89 [ab]	70.08 [a]	11.00 [a]
پوسته خام دانه باقلا Bean seed raw hulls	38.40[c]	23.92[c]	18.88[d]	2.96 [d]
دانه خام باقلا Bean raw seeds	90.20 [a]	88.91[a]	66.09 [ab]	10.37 [ab]
سطح معنی داری P- Value	0.01	0.01	0.01	0.01
میانگین خطای استاندارد SEM	2.30	2.51	2.56	1.01

[۱]میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

[1]Means within same column different superscripts differ (P< 0.05).
[2]DMD: Dry matter digestibility.
[3]OMD: Organic matter digestibility.
[4]DOMD: Digestibility organic matter in dry matter.
[5]ME: Metabolizable energy.

در اثر سیلوکردن، قابلیت هضم و گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی کاهش یافت. دلیل آن کاهش قندهای محلول در اثر سیلو شدن علوفه می‌با شد (۲۸). میانگین قابلیت ه ضم ماده خ شک، ماده آلی و ماده آلی در ماده خشک، تحت تأثیر سطوح مختلف ملاس قرار گرفت (P<۰/۰۵). با افزایش سطح ملاس، به دلیل جبران کاهش قندهای محلول مواد سیلویی از طریق کربوهیدرات سهل الهضم ملاس، قابلیت هضم ماده خشک مواد سیلو شده افزایش یافت (P<۰/۰۵)؛ به طوری‌که قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و ماده آلی در ماده خشک تیمار غلاف باقلای فرآوری شده با ۴/۵٪ ملاس+ ۱/۵٪ اوره بیشتر از تیمار های دیگر بود و اختلاف معنی داری با تیمار های دیگر داشت (P<۰/۰۵). همان‌طور که در این پژوهش مشاهده شد پوسته دانه با بالاترین میزان NDF دارای کمترین میزان قابلیت هضم بود. سلولز موجود در دیواره سلولی تا ۶۰ درصد می‌تواند هضم شود؛ با این شرط که در شکمبه باقی بماند. بنابراین عامل تأثیرگذار بر هضم سلولز، ماندگاری آن در شکمبه است (۴۵). در این پژوهش میزان قابلیت هضم ماده خشک (برحسب درصد) در دانه باقلا به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) از میزان به دست آمده برای بقیه تیمارهای آزمایشی بیشتر بود. در تیمارهای مربوط به غلاف باقلا، با افزایش سطح ملاس، قابلیت هضم ماده آلی کاهش یافت که برخلاف نتایج پژوهش گونای (۱۷) است ، در حالی که سی بل (۴۳) نتایج مشابهی را گزارش کردند. دیواره سلولی (NDF) یک شاخص مناسب جهت تعیین هضم، قابلیت هضم و مصرف گیاه توسط دام می‌با شد. بنابراین هرچقدر میزان دیواره سلولی (NDF) جیره غذایی بالا با شد، قابلیت هضم و میزان مصرف آن کاهش می‌یابد (۳۳). باتوجه به اینکه میزان دیواره سلولی و دیواره سلولی منهای همی‌سلولز در پوسته دانه بالاترین اندازه را داشت بنابراین دارای کمترین میزان قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک (برحسب درصد) و انرژی قابل متابولیسم (مگاژول **بر** کیلوگرم) بود. در بین تیمارهای مربوط به غلاف باقلا، در اثر فرآوری میزان قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک و انرژی قابل متابولیسم در غلاف باقلای فرآوری‌شده ۴/۵٪ ملاس و ۱/۵٪ اوره بیشتر از تیمار شاهد بوده و در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول۲). بنابراین نتیجه گرفته می‌شود که تیمار حاوی ۴/۵٪ ملاس و ۱/۵٪ اوره بهترین نسبت برای غنی‌سازی سیلاژ غلاف باقلا می‌با شد. از نظر میزان قابلیت هضم ماده خشک و قابلیت هضم ماده آلی بین تیمارهای غلاف باقلا اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). قابلیت هضم ماده خشک سیلاژ غلاف باقلا با افزایش سطح ملاس، مقدار آن کاهش یافت. همچنین نتایج این پژوهش از نظر میزان انرژی قابل متابولیسم با نتایج تحقیق برخی از پژوهشگران (۴۰) مطابقت داشت.

قابلیت هضم به روش آنزیمی سه مرحله‌ای (مک نیون و همکاران، ۲۰۰۲)

نتایج قابلیت ه ضم شکمبه‌ای، پس از شکمبه‌ای و کل د ستگاه گوارش ماده خ شک و پروتئین غلاف باقلای فرآوری نشده و فرآوری شده با اوره و ملاس، پوسته دانه و دانه باقلا در جداول ۳ و ۴ ارائه شده است. طبق نتایج حاصل مقادیر قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین شکمبه‌ای، بعد شکمبه‌ای و کل د ستگاه گوارش معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). از نظر قابلیت هضم ماده خشک بالاترین مقدار به ترتیب مربوط به دانه باقلا، غلاف باقلای فرآوری شده با ملاس و اوره (تیمار۳٪ملاس و ۱/۵٪ اوره و تیمار ۴/۵٪ ملاس و ۱/۵٪ اوره) بوده و کمترین میزان قابلیت هضم ماده خشک مربوط به پوسته دانه می‌با شد. با افزایش سطح ملاس قابلیت هضم ماده خشک در غلاف باقلا در کل دستگاه گوارش افزایش یافته‌است. قابلیت هضم بعد شکمبه‌ای بین تیمارهای آزمایشی سیلاژ غلاف باقلا به جز تیمار ۳٪ ملاس و ۱/۵٪ اوره و تیمار ۴/۵٪ ملاس و ۱/۵٪ اوره در مقایسه با شاهد، اختلاف معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵). مور و چرنی (۳۲) گزارش کردند که تفاوت در قابلیت هضم ماده خشک خوراک‌ها در شکمبه و روده به مقدار دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی‌سلولز و میزان لیگنینی شدن دیواره سلولی ارتباط دارد. همچنین بیان نمودندکه تفاوت در نسبت هضم شدن دیواره سلولی گیاهان می‌تواند ناشی از تنوع پیوندهای حلقه فنل بخش لیگنین با کربوهیدرات‌های همی سلولز می‌با شد. با توجه به این مو ضوع میزان ه ضم شکمبه و بعد شکمبه‌ای وابسته به ترکیبات شیمیایی (میزان پروتئین خام، میزان چربی، دیواره سلولی و ماده آلی) آن ماده خوراکی می‌باشد. در پژوهشی که توسط دلاور و دانش مسگران (۱۲) صورت پذیرفت، قابلیت هضم شکمبه‌ای و پس از شکمبه‌ای سیلاژ یونجه نسبت به شکل خشک آن بالاتر بود. این محققین نتیجه گرفتند که این اختلاف می تواند به دلیل تفاوت در ترکیب شیمیایی نمونه‌ها با شد، چرا که فرآیند تخمیر در حین سیلو کردن منجر به یک سری تغییرات در ترکیب شیمیایی علوفه می شود. در NRC (۳۵) گزارش شده‌ا ست که لگوم‌ها حاوی مقادیر بالایی از نیتروژن غیرپروتئینی هستند که به سرعت در شکمبه تجزیه می‌شوند. غلاف باقلا حاوی ۲۳/۶۰ درصد و دانه باقلا حاوی ۲۴/۷۱ در صد پروتئین خام ا ست که ممکن ا ست قابلیت د ستر سی بالایی دا شته‌با شند. با توجه به نتایج جداول ۳ و ۴ نسبت بالاتر بودن قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین در دانه باقلا و غلاف باقلای فرآوری شده با ۳٪ ملاس و ۱/۵٪ اوره احتمالاً دلیل افزایش و بالاتر بودن قابلیت هضم پروتئین در شکمبه، فراهمی بالای پروتئین و یا افزایش فعالیت باکتری‌های تجزیه‌کننده به دلیل حضور همزمان کربوهیدرات و پروتئین قابل دسترس باشد. بنابراین شاید غلاف، پوسته و دانه باقلا بتواند یک منبع پروتئینی با کیفیت تغذیه‌ای بالا برای نشخوارکنندگان باشد.

همان‌طور که ملاحظه می شود تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد (غلاف باقلای بدون فرآوری) با سایر تیمارهای باقلا مشاهده شد (P<۰/۰۵). تیمار غلاف باقلای فرآوری شده با ملاس ۴/۵ درصد و تیمار شاهد (غلاف باقلای بدون فرآوری) به ترتیب بیشترین و کمترین قابلیت هضم روده‌ای پروتئین را داشتند (P<۰/۰۵). بیشترین میانگین قابلیت هضم پروتئین در کل دستگاه گوارش در بین تمام تیمارهای آزمایشی در دانه باقلا (۹۳/۷۶ درصد) و کمترین مقدار در تیمار غلاف باقلای فرآوری شده با ۳٪ ملاس و ۱/۵٪ اوره (۷۵/۴۰ درصد) بود (P<۰/۰۵)

جدول ۳- قابلیت هضم (درصد) ماده خشک غلاف، پوسته دانه و دانه باقلا فرآوری نشده و فرآوری شده با اوره و ملاس به روش مک‌نیون (۲۰۰۲)[1]

Table 3- The dry matter digestibility (%) of untreated and treated pods, seed hulls and seeds Faba bean with urea and molasses by Mc Niven method[1](2002)

مواد خوراکی Feeds	قابلیت هضم شکمبه‌ای Ruminal digestibility	قابلیت هضم بعد شکمبه‌ای Intestinal digestibility	قابلیت هضم کل دستگاه گوارش Digestive tract total digestibility
غلاف باقلا خام Raw bean pods	45.55 ^{ef}	2.35 ^{b}	46.80 ^{e}
غلاف باقلا فرآوری با ملاس Processed bean pods with Molasses			
۱/۵٪ ماده خشک با ملاس 1.5 % DM with Molasses	46.45 ^{de}	10.17 ^{b}	51.90 ^{d}
۳٪ ماده خشک با ملاس 3% DM with Molasses	41.50 ^{ef}	29.64 ^{a}	59.30 ^{bc}
۴/۵٪ ماده خشک با ملاس 4.5% DM with Molasses	43.70 ^{ef}	29.75 ^{a}	60.45 ^{b}
غلاف باقلا فرآوری با اوره (۱/۵ درصد ماده خشک) Processed with Urea (1.5 % DM)	48.30 ^{cde}	13.14 ^{b}	55.40 ^{cd}
غلاف باقلا فرآوری با ملاس+اوره Processed bean pods with Molasses+ Urea			
۱/۵٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 1.5 % with Molasses +1.5%with Urea (DM basis)	50.85 ^{bcd}	9.14 ^{b}	55.40 ^{cd}
۳٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 3 % with Molasses +1.5%with Urea (DM basis)	53.95 ^{b}	7.47 ^{b}	57.40 ^{bc}
۴/۵٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 4.5 % with Molasses +1.5%with Urea (DM basis)	51.95 ^{bc}	11.92 ^{b}	57.70 ^{bc}
پوسته خام دانه باقلا Bean seed raw hulls	27.40 ^{g}	3.91 ^{b}	30.35 ^{f}
دانه خام باقلا Bean raw seeds	74.20 ^{a}	12.90 ^{b}	77.55 ^{a}
سطح معنی داری P- Value	0.01	0.01	0.01
میانگین خطای استاندارد SEM	1.06	2.38	1.44

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد(P<۰/۰۵).

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

که عمدتاً ناشی از بالا بودن در صد قابلیت هضم و گوارش‌پذیری پروتئین دانه باقلا در شکمبه (۹۳درصد در مقابل ۷۴/۴ درصد) در مقایسه غلاف باقلای فرآوری شده با ۳٪ ملاس و ۱/۵٪ اوره است. در ضمن بیشترین میانگین قابلیت هضم پروتئین در کل دستگاه گوارش مابین تیمارهای غلاف باقلا مربوط به تیمار۳ (غلاف باقلای فرآوری شده با ملاس ۳ در صد ماده خشک) به میزان ۹۱/۴۴ در صد بود.

فرآسنجه‌های تخمیری به روش تولید گاز

جدول ۵ میزان گاز تولیدی مواد خوراکی در زمان های مختلف پس از انکوباسیون در شکمبه را نشان می‌دهد، که میانگین الگوی

تخمیر و تولید گاز تولیدی در هر دو نوع فرآوری متفاوت است. در تمام زمان‌ها، به‌جز در ساعت ۲ و ۴ پس از انکوباسیون میزان گاز تولیدی نمونه های خوراک با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). مقایسه الگوی گاز تولید شده (میلی‌لیتر) به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک این مواد خوراکی نشان داد که بیشترین میزان گاز تولیدی در ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون در بین تیمارهای غلاف باقلا، در غلاف باقلای فرآوری شده با ملاس (۱/۵ درصد ماده خشک) بوده و در نتیجه انرژی قابل متابولیسم بیشتری را در مقایسه با تیمار شاهد داشت و در بین تمام تیمارهای مورد مطالعه در این پژوهش بالاترین میزان گاز تولیدی در ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون مربوط به دانه باقلا (۶۰/۳ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) بوده و در نتیجه انرژی قابل متابولیسم بیشتری داشته و کمترین میزان را پوسته دانه با ۲۰/۳ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک این مواد خوراکی، در بین تیمارهای آزمایشی داشت.

جدول ٤- میانگین قابلیت هضم (درصد) پروتئین غلاف، پوسته دانه و دانه باقلا فرآوری نشده و فرآوری شده با اوره و ملاس به روش مک‌نیون (۲۰۰۲)[۱]

Table 4-The means of digestible protein (%) of untreated and treated pods, seed hulls and seeds of Faba bean with urea and molasses by Mc Niven method[1](2002)

مواد خوراکی Feeds	قابلیت هضم شکمبه‌ای Ruminal digestibility	قابلیت هضم بعد شکمبه‌ای Intestinal digestibility	قابلیت هضم کل دستگاه گوارش Digestive tract total digestibility
غلاف باقلا خام Raw bean pods	87.13 [b]	1.50 [c]	87.06 [d]
غلاف باقلا فرآوری با ملاس Processed bean pods with Molasses			
۱/۵٪ ماده خشک با ملاس 1.5 % DM with Molasses	80.58 [f]	8.53 [bc]	82.23 [f]
۳٪ ماده خشک با ملاس 3% DM with Molasses	87.33 [b]	31.72 [a]	91.44 [b]
۴/۵٪ ماده خشک با ملاس 4.5% DM with Molasses	83.73 [d]	32.10 [a]	88.95 [c]
غلاف باقلا فرآوری با اوره (۱/۵ درصد ماده خشک) Processed with Urea (1.5 % DM)	83.42 [d]	10.41 [b]	85.25 [e]
غلاف باقلا فرآوری با ملاس+اوره Processed bean pods with Molasses+ Urea			
۱/۵٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 1.5 % with Molasses +1.5%with Urea (DM basis)	82.30 [e]	9.06 [bc]	82.92 [f]
۳٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 3 % with Molasses +1.5%with Urea (DM basis)	74.38 [g]	3.96 [bc]	75.40 [g]
۴/۵٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 4.5 % with Molasses +1.5%with Urea (DM basis)	85.27 [c]	10.99 [b]	85.17 [e]
پوسته خام دانه باقلا Bean seed raw hulls	85.29 [c]	5.73 [bc]	84.47 [e]
دانه خام باقلا Bean raw seeds	93.00 [a]	10.82 [b]	93.76 [a]
سطح معنی داری P- Value	0.01	0.01	0.01
میانگین خطای استاندارد SEM	0.79	2.04	0.85

[۱]میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

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

احتمالاً یکی از علل کمتر بودن میزان گاز تولیدی پوسته‌ی دانه در مقایسه با دانه باقلا به بالاتربودن میزان دیواره سلولی آن برمی‌گردد. بالاتربودن میزان گاز تولیدی دانه باقلا نسبت به پوسته و تیمارهای غلاف باقلا تقریباً در تمام زمان‌های انکوباسیون ناشی از کمتر بودن ADF و NDF آن می‌باشد که با گزارش برخی محققان(۲۵) مطابقت دارد؛ که گزارش نمودند در مقایسه گاز تولیدی برگ و دانه تعدادی از خوراک‌ها، مهمترین عامل مؤثر بر بیشتر بودن میزان گاز تولیدی دانه‌ها نسبت به برگ‌ها، کمتر بودن میزان ADF و

NDF آن‌ها می‌با شد. کمترین میزان گاز تولیدی در پایان ساعت ۹۶ انکوباسیون غلاف باقلای فرآوری شده با اوره (۱/۵ درصد ماده خشک) بود؛ که یکی از دلایل پایین بودن تولید گاز تغییر مسیر به سمت تولید توده میکروبی بیشتر در آن می‌باشد. تولید میزان تولید گاز در هر دو نوع فرآوری در زمان ۲ ساعت برابر صفر است، اما بعد از زمان ۲ تا ۲۴ ساعت، تولید گاز دارای دامنه بیشتر است که مربوط به بخش محلول (a) آن است. از زمان ساعت ۲۴ به بعد تولید گاز بیشتر می شود که مربوط به بخش تخمیری کند (b) می‌باشد. نرخ تولید گاز (c) مربوط به کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم است که سریعاً در دسترس میکروب‌ها قرار می‌گیرد (۴۴) نتایج تحقیق حا ضر با یافته‌های لوپز و همکاران (۲۴) مطابقت دارد.

جدول ۵- حجم گاز تولیدی (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم خوراک) غلاف، پوسته دانه و دانه باقلا[1] فرآوری نشده و فرآوری شده با اوره و ملاس[1]

Table 5- Volume of gas produced (mL /200 mgDM) of untreated and treated pods, seed hulls and seeds of Faba bean with urea and molasses[1]

مواد خوراکی Feeds	زمان (ساعت) Time (hour)								
	2	4	6	8	12	24	48	72	96
غلاف باقلا خام Raw bean pods	0	0.03	0.43^{b}	2.66^{b}	9.56^{b}	32.10^{b}	38.93^{bc}	48.46^{abc}	51.13^{ab}
غلاف باقلا فرآوری با ملاس Processed bean pods with Molasses									
۱/۵٪ ماده خشک با ملاس 1.5 % DM with Molasses	0.2	0.3	2.00^{a}	5.33^{a}	10.56^{b}	33.76^{b}	38.26^{bc}	44.13^{bc}	45.13^{bc}
۳٪ ماده خشک با ملاس 3% DM with Molasses	0.1	0.2	2.66^{a}	5^{a}	11.23^{b}	31.43^{b}	41.93^{ab}	54.13^{ab}	56.93^{a}
۴/۵٪ ماده خشک با ملاس 4.5% DM with Molasses	0	0.26	1.66^{a}	5.66^{a}	9.56^{b}	24.1^{c}	31.93^{bcd}	34.46^{cde}	36.3^{cde}
غلاف باقلا فرآوری با اوره (۱/۵ درصد ماده خشک) Processed with Urea (1.5 % DM)	0	0.03	0.13^{b}	0.33^{c}	0.43^{c}	1.90^{e}	17.93^{ef}	25.80^{def}	27.46^{ef}
غلاف باقلا فرآوری با ملاس+اوره Processed bean pods with Molasses+ Urea									
۱/۵٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 1.5 % Molasses +1.5% Urea (DM basis)	0	0	0.1^{b}	0.53^{c}	0.73^{c}	7.43^{e}	25.26^{de}	27.13^{cd}	40.63^{bcd}
۳٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 3 % Molasses +1.5% Urea (DM basis)	0	0.1	0.2^{b}	0.63^{c}	2.23^{c}	13.76^{d}	29.6^{cd}	42.46^{bc}	44.66^{bc}
۴/۵٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 4.5 % Molasses +1.5% Urea (DM basis)	0	0.06	0.13^{b}	0.36^{c}	0.6^{c}	4.23^{e}	17.26^{ef}	22.13^{ef}	30.3^{def}
پوسته خام دانه باقلا Bean seed raw hulls	0	0.13	0.26^{b}	0.6^{e}	0.8^{c}	3.76^{e}	10.26^{f}	16.8^{f}	20.3^{f}
دانه خام باقلا Bean raw seeds	0.1	0.2	2.13^{a}	4.66^{a}	13.56^{a}	46.1^{a}	50.6^{a}	58.8^{a}	60.3^{a}
سطح معنی داری P- Value	0.4	0.08	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
میانگین خطای استاندارد SEM	0.3	0.35	0.75	0.97	1.05	1.85	2.53	2.82	2.56

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

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

جدول۶ فراسنجه‌های تولید گاز ماده خشک را نشان می‌دهد. پتانسیل تولید گاز در غلاف باقلا فرآوری شده با ملاس (۳ درصد ماده خشک) و دانه باقلا به ترتیب با ۵۹/۴۴۸ و ۵۸/۰۳۵ میلی‌لیتر بیشترین مقدار را داشتند. از نظر فراسنجهA (گاز تولیدی از بخش محلول و بخش نامحلول برحسب میلی‌لیتر) اختلاف بین غلاف باقلای فرآوری شده با ۳٪ ملاس و ۱/۵٪ اوره با تیمار شاهد (غلاف باقلای بدون فرآوری) معنی‌دار نبود. همچنین نرخ ثابت تولید گاز در دانه باقلا با ۰۸۹/ میلی‌لیتر در ساعت، بیشترین مقدار را داشت. کمترین مقدار پتانسیل تولید گاز و نرخ ثابت تولید گاز در پوسته دانه می‌باشد. فراسنجه A (نرخ تجزیه‌پذیری سریع و نرخ (تجزیه‌پذیری کند) در بین تیمارهای عمل‌آوری شده غلاف باقلا به جز تیمار غلاف باقلای فرآوری شده با ملاس + اوره (۱/۵ + ۳ ماده خ شک) در مقایسه با تیمار شاهد، پوسته دانه و دانه باقلا اختلاف معنی‌داری نشان داد. بالا بودن مقدار فراسنجه A در تیمارهای ۳ و ۱۰ با میزان پروتئین خام آن

تیمارها مرتبط اســـت زیرا پروتئین موجود در لگوم‌ها تجزیه‌پذیری بالایی دارد (۱۴). بیشترین میزان تجزیه‌پذیری در تیمارهای آزمایشی در غلاف باقلا فرآوری شده با ملاس (۳درصد ماده خشک) با ۵۹/۴۵ میلی‌لیتر و کمترین مقدار تجزیه پذیری در پوســـته دانه (۲۸/۲۴ میلی‌لیتر) بود. بالاترین و پایین‌ترین نرخ ثابت تولید گاز (c) به ترتیب در دانه و پوسته دانه باقلا بود. در مقایسه با تیمار شاهد بین تیمارهای غلاف باقلا فرآوری شـــده با ۴/۵٪ ملاس و ۱/۵٪ اوره و غلاف باقلا فرآوری شده با اوره (۱/۵ درصد ماده خشک) اختلاف معنی‌داری وجود نداشـــت. همچنین زمان تأخیری (Lt) بین تیمارهای غلاف باقلای فرآوری شده با ملاس و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در این تیمارها به موازات افزایش ســـطح ملاس فاز تأخیری کاهش یافته‌است. بیشترین زمان تأخیری به ترتیب در تیمارهای آزمایشی ۶ و ۵ و کمترین زمان تأخیری در تیمار ۴ بود. فراســـنجه‌های تولید گاز در خوراک‌های مختلف، نشـــانگر تفاوت در ترکیبات شـــیمیایی، به ویژه؛ کربوهیدرات های قابل تخمیر، پروتئین خام، دیواره ســـلولی و غیره می‌باشد (۲۳). نرخ گاز تولیدی نسبت به مواد آلی تخمیر شده با طول زمان تخمیر متفاوت اســـت. در زمان‌های طولانی‌تر انکوباســـیون، ماده آلی کمتری برای تولید حجم مساوی گاز نسبت به زمان‌های کوتاه‌تر انکوباسیون، لازم است. کل گاز تولیدی صرف نظر از مدت انکوباسیون با اندازه‌گیری مقادیر اســـیدهای چرب آزاد تولید شـــده، قابل پیش بینی است (۵). ۵۰ درصد از کل گاز تولیدی، دی اکسید کربن و متان ناشی از تخمیر مستقیم است که با روش‌های استوکیومتری قابل محاسبه است و بقیه آن ناشی از آزاد شدن گاز دی‌اکسید کربن بافر است (۲۶).

جدول ٦– فراسنجه‌های تولید گاز ماده خشک غلاف، پوسته دانه و دانه باقلا[1] فرآوری نشده و فرآوری شده[1]

Table 6- Gas production parameters of untreated and treated pods, seed hulls and seeds of Faba bean with urea and molasses[1]

مواد خوراکی Feeds	فراسنجه‌های تولید گاز Gas production parameters پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر) A (a+b)[2] (mL)	نرخ ثابت تولید گاز (برحسب میلی‌لیتر بر ساعت) C[3] (mL/h)	فاز تاخیر (ساعت) Lag Time (h)
غلاف باقلا خام Raw bean pods	50.37^{abc}	0.04^{bcde}	6.79^{c}
غلاف باقلا فرآوری با ملاس Processed bean pods with Molasses			
۱/۵٪ ماده خشک با ملاس 1.5 % DM with Molasses	44.12^{bcd}	0.06^{abc}	6.63^{c}
۳٪ ماده خشک با ملاس 3% DM with Molasses	59.44^{a}	0.03^{cde}	5.61^{c}
۴/۵٪ ماده خشک با ملاس 4.5% DM with Molasses	35.91^{cde}	0.05^{abcd}	5.37^{c}
غلاف باقلا فرآوری با اوره (۱/۵ درصد ماده خشک) Processed with Urea (1.5 % DM)	29.61^{de}	0.04^{bcde}	24.42^{a}
غلاف باقلا فرآوری با ملاس+اوره Processed bean pods with Molasses+ Urea			
۱/۵٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 1.5 % Molasses +1.5% Urea (DM basis)	40.99^{cde}	0.07^{ab}	26.30^{a}
۳٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 3 % Molasses +1.5% Urea (DM basis)	50.69^{abc}	0.02^{de}	12.91^{bc}
۴/۵٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 4.5 % Molasses +1.5% Urea (DM basis)	33.42^{de}	0.04^{bcde}	18.76^{ab}
پوسته خام دانه باقلا Bean seed raw hulls	28.32^{e}	0.01^{e}	13.38^{bc}
دانه خام باقلا Bean raw seeds	58.03^{ab}	0.08^{a}	8.09^{c}
سطح معنی داری P- Value	0.01	0.01	0.01
میانگین خطای استاندارد SEM	2.83	0.13	2.31

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

[1]Means within same column different superscripts differ (P< 0.05).
[2] A (a+b): Potential degradability.
[3]C: Rate conctant.

نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج رحیمی و همکاران (۴۰) مطابقت ندارد. این عدم تطابق ممکن است به دلیل نوع آزمایش، خطای اندازه‌گیری، گونه و ارقام باقلا باشد. برآورد قابلیت هضم ماده آلی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، انرژی قابل متابولیسم و پروتئین میکروبی درجدول ۷ ارایه شده‌است. روند قابلیت هضم ماده آلی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، انرژی قابل متابولیسم و پروتئین میکروبی در بین تیمارهای مختلف معنی‌دار شده‌است (P<۰/۰۵). بیشترین میزان انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول) و قابلیت هضم ماده آلی (درصد) مربوط به دانه باقلا به ترتیب ۸/۹۴ ، ۱/۰۱۹ و ۵۸/۹۱ و کمترین میزان در تیمار ۵ به ترتیب ۲/۷۷، ۰/۰۳۷ و ۱۸/۷۴ مشاهده شد.

جدول ۷- فراسنجه‌های تغذیه‌ای برآوردی برای غلاف، پوسته دانه و دانه باقلا فرآوری نشده و فرآوری شده با استفاده از آزمون گاز[1]

Table 7- Estimated nutritional parameters for untreated and treated pods, seed hulls and seeds Faba bean using gas test[1]

مواد خوراکی Feeds	فراسنجه‌های تغذیه‌ای Nutritional parameter			
	قابلیت هضم ماده آلی (٪) DOM[2] (%)	اسیدهای چرب‌کوتاه زنجیر (میلی‌مول بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، SCFA[3] (mmol /200mgDM)	انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم)، ME[4](MJ/kg DM)	پروتئین میکروبی (گرم برکیلوگرم ماده آلی قابل هضم) MP[5](g/kg OMD)
غلاف باقلا خام Raw bean pods	46.145[b]	0.708[b]	7.017[b]	55.662[b]
غلاف باقلا فرآوری با ملاس Processed bean pods with Molasses				
۱/۵٪ ماده خشک با ملاس 1.5 % DM with Molasses	47.801[b]	0.745[b]	7.083[b]	57.659[b]
۳٪ ماده خشک با ملاس 3% DM with Molasses	45.518[b]	0.693[b]	6.954[b]	54.906[b]
۴/۵٪ ماده خشک با ملاس 4.5% DM with Molasses	38.823[c]	0.530[c]	5.795[b]	46.831[c]
غلاف باقلا فرآوری با اوره (۱/۵ درصد ماده خشک) Processed with Urea (1.5 % DM)	18.736[e]	0.037[e]	2.766[d]	22.601[e]
غلاف باقلا فرآوری با ملاس+اوره Processed bean pods with Molasses+ Urea				
۱/۵٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 1.5 % Molasses +1.5% Urea (DM basis)	23.658[e]	0.160[e]	3.485[cd]	28.538[e]
۳٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 3 % Molasses +1.5% Urea (DM basis)	29.411[d]	0.301[d]	4.369[c]	35.478[d]
۴/۵٪ با ملاس و ۱/۵٪ با اوره (برپایه ماده خشک) 4.5 % Molasses +1.5% Urea (DM basis)	20.776[e]	0.089[e]	3.125[cd]	25.061[e]
پوسته خام دانه باقلا Bean seed raw hulls	20.424[e]	0.079[e]	3.016[cd]	24.637[e]
دانه خام باقلا Bean raw seeds	58.910[a]	1.019[a]	8.942[a]	71.061[a]
سطح معنی داری P- Value	0.01	0.01	0.01	0.01
میانگین خطای استاندارد SEM	1.83	0.27	0.91	2.01

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

[1]Means within same column different superscripts differ (P< 0.05).
[2]DOM: Digestibtible organic matter.
[3]SCFA: Short-chain fatty acid.
[4]ME: Metabolizable energy.
[5]MP: Microbial protein.

هدایت هیلمن و همکاران (۱۹) گزارش کردند که تولید گاز با سنتز پروتئین میکروبی ارتباط مثبت دارد. در بررسی‌ها و آزمایش‌های انجام شده استفاده از اوره به عنوان تأمین کننده منبع نیتروژن غیرپروتئینی در تغذیه دام موجب کاهش قیمت تمام شده خوراک و

بهبود سنتز پروتئین میکروبی شده‌است. زمانی‌که منبع پروتئینی تجزیه‌پذیر در اختیار میکروب‌ها قرار گیرد، برداشت آمونیاک از شکمبه به میکروارگانیسم‌ها افزایش یافته و تولید پروتئین میکروبی را افزایش می‌دهد (۷). جیره دارای اوره ساده نسبت به سایر جیره‌ها در مهار آمونیاک و استفاده از آن در جهت ساخت پروتئین میکروبی قدرت کمتری دارد. همان طوری‌که در نتایج سنتز پروتئین میکروبی (گرم برکیلوگرم ماده آلی قابل هضم) مشاهده می‌شود در بین تیمارهای غلاف باقلا بیشترین مقدار تولید پروتئین میکروبی در تیمار شماره ۲ و کمترین میزان تولید پروتئین میکروبی مربوط به تیمار شماره ۵ می‌باشد.

این درحالی است که در بین تمام تیمارهای آزمایشی بیشترین مقدار پروتئین میکروبی برحسب گرم برکیلوگرم ماده آلی قابل هضم مربوط به دانه باقلا و کمترین آن مربوط به غلاف باقلا فرآوری شده با اوره (۱/۵ درصد ماده خشک) می‌باشد. چون سنتز پروتئین میکروبی برحسب گرم در کیلوگرم ماده آلی قابل هضم می‌باشد، در نتیجه تیمار آزمایشی که بیشترین میزان قابلیت هضم ماده آلی را دارد، میزان سنتز پروتئین میکروبی آن نیز بیشتر است. محققین زیادی (۱، ۱۵، ۱۸و۳۰) گزارش کردند که همبستگی بالایی بین میزان انرژی قابل متابولیسم و گاز تولید شده در ۲۴ ساعت و ترکیب شیمیایی مواد خوراکی وجود دارد که در این تحقیق نیز در بین تیمار های غلاف باقلا، تیمار ۲ (غلاف باقلای فرآوری شده با ملاس ۱/۵درصد ماده خشک) و در بین کل تیمارهای آزمایشی، دانه باقلا میزان گاز تولیدی در ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون و در نتیجه انرژی قابل متابولیسم بیشتری را در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی داشت.

به طور کلی وجود تفاوت معنی‌دار بین ترکیبات شیمیایی، قابلیت هضم و میزان تولید گاز غلاف، پوسته و دانه باقلا باعث اختلاف در فراسنجه های تجزیه پذیری، اسیدهای چرب فرار، انرژی قابل متابولیسم و در کل ارزش غذایی آن‌ها شد. نتایج این پژوهش از نظر میزان انرژی قابل متابولیسم غلاف باقلا مطابق با نتایج بعضی از پژوهش‌ها (۴۰) بود لیکن از نظر میزان قابلیت هضم ماده آلی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر غلاف و دانه باقلا هم خوانی نداشت (۱۱، ۱۴ و۴۱).

نتیجه‌گیری کلی

تنوع در نتایج پژوهش‌های مخالف با نتایج این آزمایش در مورد تأثیر مقدار ملاس و مقدار ثابت اوره بر ارزش غذایی و پارامترهای تغذیه ای اجزای مختلف باقلا، بستگی به سطح و کیفیت فرآوری و فرآهمی کربوهیدرات سهل الهضم برای همزمانی ماده مغذی تامینی دارد. در این آزمایش مقدار ترکیبات شیمیایی، پتانسیل و نرخ تولید گاز، ماده آلی قابل هضم، انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و پروتئین میکروبی بین اجزای مختلف باقلا اختلاف معنی‌دار داشتند. هرچند که مطالعات بیشتری در خصوص تعیین بهترین درصد افزودن ملاس با سطوح متفاوت اوره و یا استفاده از سایر ترکیباتی که قادر به ایجاد پیوند با ترکیبات ضد تغذیه ای احتمالی هستند ضروری به نظر می رسد لیکن فرآوری غلاف باقلا با ۳٪ ملاس و ۱/۵٪ اوره به دلیل فراهمی همزمان و مناسب اسکلت کربنی و مواد نیتروژنه موجب کاهش میزان الیاف نامحلول در شوینده‌ی اسیدی آن و به عبارتی افزایش قابلیت هضم آن شد. همچنین دانه باقلا با پروتئین حدود ۲۴/۷۱ درصد و انرژی قابل متابولیسم ۸/۹۴ مگاژول برکیلوگرم دارای ارزش غذایی خوبی برای تغذیه دام است. لیکن غلاف باقلا با توجه به بهبود قابلیت هضم با فرآوری نیز ارزش تغذیه‌ای مناسبی به عنوان منبع فیبر غیرعلوفه‌ای برای نشخوارکنندگان دارد.

منابع

1- Ammar, H., S. Lopez, and J. S. Gonzalez. 2005. Assessment of the digestibility of some Mediterranean shrubs by *in vitro* techniques. Journal of Animal Feed Science and Technology, 119(3-4): 323 –331.

2- ANKOM Technology. 2008. Procedures for fiber and in vitro analysis. Available at http://www.ankom. com. Accessed November 2018.

3- Anonymous. 2012. Iranian Agricultural Statistics. General Department of Statistics and Information of the Ministry of Agriculture. Available at http://www. iana.ir/ keshavarzi /itemlist/tag.

4- AOAC International. 2000. Official methods of analysis. 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.

5- 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(1-5): 24 -34.

6- Boda, K. 1990. Non convention feedstuff in the nutrition of farm animals. Elsevier Applied Science Publisher Co, New York.

7- Broderick, G. A., N. D. Luchini, S. M. Reynal, G. A. Varga, and V. A. Ishler. 2008. Effect on production of replacing dietary starch with sucrose in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 91(12): 4801 -4810.

8- Chaudhry, A. S. 2000. Rumen degradation *in sacco* in sheep of wheat straw treated with calcium oxide, sodium hydroxide and sodium hydroxide plus hydrogen peroxide. Journal of Animal Feed Science and Technology, 83(3-4): 313 -323.

9- Crepon, K., P. Marget, C. Peyronnet, B. Carrouee, P. Arese, and G. Duc. 2010. Nutritional value of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds for feed and food. Field Crops Research, 115(3): 329-339.
10- Czerkawski, J. W. 1986. An introduction to rumen studies. Pergamon Press, Oxford, UK
11- Dalvand, M., M. H. Beiranvand, and B. Yarahmadi. 2016. The use of faba bean spilt waste on livestock performance. The 6th Iranian Pulse Crops Symposium. Agricultural and Natural Research and Education Center of Lorestan Province. Khorramabad. Iran. (In Persian).
12- Delavar, M, and M. Danesh Mesgaran. 2003. Determination of chemical and digestive (ruminal and intestinal) parameters of alfalfa treated with urea and sulfuric acid and its effect on the production and composition of milk in lactating cows. Journal of Agricultural Science and Technology, 17(2): 219-231 (In Persian).
13- Di Grigoli, A., G. Tornambe, A. Bonanno, and G. Di Miceli. 2005. Effects of protein concentrate different from soya bean on growth performances and meat quality of 130 days lambs. Rencontre Recherche Ruminants, 12(1): 392-398.
14- Dixon, R. M, and B. J. Hosking. 1992. Nutritional value of grain legumes for ruminants. Nutrition Research Reviews, 5(1): 19 -43.
15- Getachew, G., E. J. DePeters, P. H. Robinson, and J. G. Fadel. 2005. Use of an in vitro rumen gas production technique to evaluate microbial fermentation of ruminant feeds and its impact on fermentation products. Journal of Animal Feed Science and Technology, 123–124: 547 -559.
16- Getachew, G., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 1998. The in vitro gas coupled with ammonia measurement for evaluation of nitrogen degradability in low quality roughages using incubation medium of different buffering capacity. Journal of the Science of Food and Agriculture, 77(1): 87-95.
17- Guney, M., M. Demirel, S. Celik, Y. Bakici, and T. Levendoglu. 2007. Effects of urea, molasses and urea plus molasses supplementation to sorghum silage on the silage quality, in vitro organic matter digestibility and metabolic energy contents. Journal of Biological Sciences, 7(2): 401 - 404.
18- Gurbaz, Y. 2007. Determination of nutritive value of leaves of several *Vitis vinifera* varietieties as a source of alternative feedstuff for sheep using in vitro and in situ measurements. Small Ruminant Research, 71(1-3): 59 -66.
19- Hidayat, Hillman, K., C. J. Newbold, and C. S. Stewart. 1993. The contribution of bacteria and protozoa to ruminal forage fermentation in vitro as determined by microbial gas production. Journal of Animal Feed Science and Technology, 42(3-4): 193 -208.
20- Holden, I. A. 1999. Comparison of method of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. Journal of Dairy Science, 82(8): 1791-1794.
21- Hue, Kh. T., D. T. Thanh, and I. Ledin. 2008. Effect of supplementing urea treated rice straw and molasses with different forage species on the performance of lambs. Small Ruminant Research, 78(1-3): 134 –143.
22- Keskun, B, and Ü. H. Yilmaz. 2005. Effects of urea or urea plus molasses supplementation to silages with different sorghum varieties harvested at the milk stage on the quality and *in vitro* dry matter digestibility of silages. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 29(5): 1143 -147.
23- Khanum, S. A., T.Yaqoob, S. Sadaf, M. Hussain, M. A. Jabbar, H. N. Hussain, R. Kausar, and S. Rehman. 2007. Nutritional evaluation of various feedstuffs for livestock production using in vitro gas method. The Pakistan Veterinary Journal, 27(3): 129-133.
24- Lopez, S., M. S. Dhanoa, J. Dijkstra, A. Bannink, E. Kebreab, and J. France. 2007. Some methodological and analytical considerations regarding application of the gas production technique. Journal of Animal Feed Science and Technology, 135(1): 139 - 156.
25- Mahala, A. G, and A. N. F. Elseed. 2007. Chemical composition and *in vitro* gas production characteristics of six fodder trees leaves and seeds. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 3(1): 983 -986.
26- 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.
27- Mateos-Aparicio, I., A. Redondo-Cuenca, M. J. Villanueva-Suarez, and M. A. Zapata-Revilla. 2010. Pea pod, broad bean pod and okara, potential sources of functional compounds. LWT - Food Science and Technology, 43(9): 1467-1470.
28- McDonald, P., A. R. Henderson, and S. J. E. Heron. 1991. The Biochemistry of Silage. 2nd ed. Chalcombe Publications, Marlow, Bucks, UK.
29- McNiven, M. A., E. Prestløkken, L. T. Mydland, and A. W. Mitchell. 2002. Laboratory procedure to determine protein digestibility of heat-treated feedstuffs for dairy cattle. Journal of Animal Feed Science and Technology, 96(1): 1 -13.
30- Menke, K, and H. Steinggass. 1988. Estimation of the energetic feed value from chemical analyses and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research and Development, 28(1):7-55.
31- Menke, K.., L. Raa, H. Steingass, D. Fritz, and W. Scheider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production technique when they are incubated with rumen liquor in vitro. Journal of Agricultural Science Cambridge, 93(1): 217 -222.
32- Moore, K. J, and J. H. Cherney. 1986. Digestion kinetics of sequentially extracted cell components of forages.

Journal of Crop Science, 26(6): 1230 -1235.
33- Navid Shad, B, and A. R. Jafari Saiyadi. 2006. Animal Nutrition. Haghshenas Press, Rasht, Iran. (In Persian).
34- Nocek, J. E. 1988. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: A Review. Journal of Dairy Science, 71(8): 2051 -2069.
35- National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
36- Ørskov, E. R, and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agricultural Science Cambridge, 92(2):499 - 503.
37- Pasandi, M. 2014. Determination of digestibility and utilization of ensiled broad bean stover on performance of fattening Dalagh lambs. Animal Science (Pajouhesh & Sazandegi), 27(104): 17-24. (In Persian).
38- Pasandi, M., N. M. Torbatinejad, H. Golam, and M. H. Okhovvat. 2009. Effects of wheat straw and molasses addition silage characteristics of broad bean residues. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 16(1):76-81. (In Persian).
39- Paya, H., A. Taghizadeh, H. Janmohammadi, and G. A. Moghadam. 2007. Nutrient digestibility and gas production of some tropical feeds used in ruminant diets estimated by the in vivo and in vitro gas production techniques . American Journal Animal and Veterinary Science, 2 (4): 108-113.
40- Rahimi, A., A. Naserian., S. H. Ebrahimi, Z. Zarnegar, M. R. Amini, M, Jorian, and S. Roshandel. 2016. Determination of the nutritional value of different parts of *Vicia faba* and shell of different kinds of citrus using *in vitro* gas production technique. Page 1-5 in Proc. 7th Iranian Congress of Animal Sciences, Collage of Agriculture and Natural Resources University of Tehran, Karaj, Iran. (In Persian).
41- Romos Morales, E., M. R. Sanz Sampelayo, and E. Molina Alcaide. 2010. Nutritive evaluation of legume seeds for ruminant feeding. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 94(1): 55-64.
42- SAS Institute Inc., 2003. Statistical Analysis System (SAS) User's Guide, SAS Institute, Cary, NC, USA.
43- Sibel, C., C. Budag, M. Demirel, Y. Bakici, and S. Celik. 2009. The Effects of Adding urea and molasses to corn harvested at dough stage on silage fermentation quality, in vitro organic matter digestibility and metabolic energy contents. Journal of Animal and Veterinary Advances, 8(10): 1921 -1924.
44- Songsak, C., C. Anut, and C. Piyante. 2007. Chemical compositions and nutritional evaluation of energy feeds for ruminant using in vitro gas production technique. Pakistan Journal of Nutrition, 6(6): 607-612.
45- Vakili, S. A., M. Danesh Mesgaran, and A. M. Tahmasbi. 2008. Digestion and Metabolism in Ruminants. Ferdowsi University of Mashhad press, Mashhad, Iran. (In Persian).

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 151-167

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۱۶۷-۱۵۱

The Determination of Chemical Characteristics, Rumen Fermentation and Digestibility of Faba Bean (*Vicia faba* L.) Seeds, Pods and Seed Hulls by *In Vitro* Methods

S. Badrzadeh Orange[1], J. Seifdavati[2*], F. Mirzaei Aghjeh Qeshlagh[3], H. Abdi Benemar[2], R. Seyed Sharifi[2]
Submitted: 10-12-2018
Accepted: 07-07-2019

Introduction Pulses are important crops belonging to the Leguminosae family. Faba bean (*Vicia faba* L.) production has a long history of numerous and valuable uses in feed and food. Faba beans have been successfully used as a substitute for soybean meal or rapeseed meal in dairy cow rations. Faba bean pods can be used as feed for ruminants. Good quality silage can be made from faba bean plants. Technological treatments may have an impact on the degradability of nitrogen of faba bean. Molasses-urea mixed is a liquid feed supplement suitable for adding into the dry part of the diet or any other component during the processing of complete mashes or feeds. The purpose of the study was the determination of nutritional value of pods, seed hulls and seeds of faba bean *(vicia faba* L.) and survey the effect of different levels of urea and molasses on nutritional value faba bean pods silage using *in vitro* methods.

Materials and Methods In order to determine the chemical composition and in vitro ruminal degradability pods, seed hulls and seeds of faba bean cell wall, nylon bag and test gas technique were applied. After preparation of faba bean and isolating pods, seed hulls and seeds and drying, chemical composition analysis for dry matter, crude protein, ether extract, organic matter, ash, neutral detergent fibre (NDF) and acid detergent fibre (ADF) were done as AOAC. This research was carried out in a completely randomized design with 10 treatments and 3 replicates per treatment in two runs including: 1- faba bean pods of untreated (control), 2- faba bean pods of processed molasses (1.5% DM), 3- faba bean pods processed with molasses (3% DM), 4 - faba bean pods of processed molasses (4.5% DM), 5 - pods processed with urea (1.5% DM), 6- faba bean pods processed with molasses + urea (1.5% and 1.5% DM), 7 - faba bean pods of processed caraway with molasses + urea (3 and 1.5% DM, respectively), 8 - faba bean pods of processed with molasses + urea (4. 5% and 1.5% DM), 9- seeds hulls of faba bean and 10- faba bean seeds. Faba bean pod processing with urea and molasses was performed according to Chaudhry method (2000a) and Hue et al (2008) method. The digestibility of rumen according to Holden (1999) method and digestibility of intestinal according to Mc Niven method were investigated inside the simulator's (Diasy[II] Incubator) digestive tract incubated. Amount and rate of gas production were estimated according to Orskov and McDonald model. The amount of DMD, OMD, DOMD (in percentage terms) and ME (in MJ/kg) for the amount of gas production at 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72, and 96 hours after incubation were recorded and the average parameters of fermentation with gas production (ml /200 mg DM), in vitro OMD (percent), ME (MJ/kg DM) and short-chain fatty acids (mmol) were calculated. This experiment was conducted in a completely randomized design with 10 treatments and 3 replicates by 2 run in each treatment and analyzed using Mixed procedure of SAS.

Results and Discussion There was a significant difference between treatments in the chemical composition of different parts of faba bean. Treatment compounds 5, 6 and treatment compound 7 were the highest and the lowest ADF, respectively. Processing faba bean pods with 3% of DM molasses +1.5% of DM urea reduced ADF due to at the same time the provision and suitable carbon skeleton and nitrogen materials and in the other words lead to increasing digestibility faba bean pods. Also results in this experiment showed that the ruminal DM and CP digestibility of treatments were significant. The highest DM digestibility was related to faba bean seeds and pods of processed with molasses and urea (3-1.5) and (4.5-1.5), respectively, and the lowest DM digestibility was related to seed hulls. With increased levels of molasses, total the digestive tract DM digestibility of bean pods had increased. The post ruminal digestibility was not significantly different between treatments of bean pod silage

1- MSC Graduated, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran,
2- Associates Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran,
3- Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
(*- Corresponding Author Email: jseifdavati@uma.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.77137

except for treatments 3 and 4 compared to control.

The comparison of the process gas produced (ml/200 mg DM) of showed that the highest amount of gas produced was in the 24 hours after incubation in faba bean pod treatments in molasses (1.5% dry matter) resulting in more ME compared to control treatment. Among all treatments, the highest produced gas in the 96 hours after incubation was related to faba bean seeds due to (60.3 ml/200 mg DM), and therefore, the ME was higher, and the lowest amount was related to faba seed hulls (20.3 ml/200 mg DM). Probably one of the reasons for lowering the amount of gas produced in the faba seed hulls compared to the bean seeds is related to the highest cell wall of hulls.

Conclusion The variation in the results of opposite studies with the results of this experiment on the nutritional value of the different faba bean components depends on the level and quality of the processing and the amounts of rapidly digested carbohydrate for facilitating the synergy of nutrient supply. In this experiment, the chemical composition, potential and rate of gas production, OMD, ME, SCFA and MP were significantly different between different bean components. Although more studies are needed to determine the best percentage of addition of molasses to different levels of urea or the use of other compounds that are able to bind to possible anti-nutritional compounds, but bean pod processing with 3% molasses and 1.5% urea caused a decrease in the amount of ADF, in other words, its digestibility, due to its coherent and suitable synchronicity with the carbon frames and nitrogenous materials. The seed of faba bean had the heist nutritional value than other parts of faba bean and amount of NDF was the highest in seed hulls. Totally seed of faba bean with 24.71% CP and 8.94 Mj/kg ME is a valuable nutritional source for feeding of animal. But the bean pods also have a good nutritional value as a non-forage fiber source for ruminants.

Keywords: Chemical composition, Digestibility, Faba bean, Gas production, Nutritional value.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 169-179

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۱۷۹-۱۶۹

مقاله علمی- پژوهشی

بررسی ترکیب شیمیایی و اثر سطوح مختلف سرشاخه هویج در جیره غذایی بر کینتیک هضم و تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی

ایوب عزیزی[1*]، مظاهر هاشمی[2]، افروز شریفی[3]، اکبر ابرغانی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۰۲

چکیده

این آزمایش با هدف تعیین ترکیب شیمیایی و ارزش تغذیه‌ای سرشاخه هویج در تغذیه نشخوارکنندگان در شرایط برون‌تنی انجام شد. در مرحله اول، ترکیب شیمیایی سرشاخه هویج تعیین گردیده، سپس فراسنجه‌های هضم و تخمیر آن با استفاده از روش‌های تولید گاز و هضم دو مرحله‌ای در مقایسه با یونجه و کاه گندم بررسی گردید. در مرحله دوم، اثر جایگزینی بخش علوفه‌ای جیره غذایی با سطوح صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ گرم از سرشاخه هویج در شرایط برون‌تنی بررسی شد. بر اساس نتایج به دست آمده، میزان پروتئین خام سرشاخه هویج بیشتر از کاه گندم بوده و با یونجه قابل مقایسه بود. در ساعت ۱۶ انکوباسیون، بیشترین و کمترین حجم گاز تولیدی با انکوباسیون سرشاخه هویج و کاه گندم به دست آمد. اما، بیشترین حجم گاز تولیدی در سایر زمان‌های انکوباسیون، و پتانسیل (b) و نرخ (c) تولید گاز با انکوباسیون یونجه و کمترین میزان آن‌ها در کاه گندم مشاهده گردید. به جز سنتز پروتئین میکروبی که بیشترین میزان آن با انکوباسیون سرشاخه هویج و کمترین میزان آن در کاه گندم به دست آمد، در سایر فراسنجه‌های تخمیر بیشترین میزان مربوط به یونجه و کمترین در کاه گندم بود. با افزودن سرشاخه هویج به جای بخش علوفه‌ای جیره تا سطح ۲۰ درصد، به جز سنتز پروتئین میکروبی که به طور معنی‌داری افزایش نشان داد، سایر فراسنجه‌های تولید گاز و تخمیر و هضم مواد مغذی تحت تأثیر قرار نگرفت. در کل، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سرشاخه هویج دارای ارزش تغذیه‌ای مطلوبی بوده، و استفاده از آن به عنوان خوراک در تغذیه نشخوارکنندگان نیازمند انجام مطالعات بیشتر به خصوص روی دام زنده است.

واژه‌های کلیدی: ارزش تغذیه‌ای، تخمیر، تولید گاز، سرشاخه هویج، گوارش‌پذیری.

مقدمه

یکی از مهمترین زیر بخش‌های کشاورزی پرورش دام و تولید پروتئین حیوانی بوده، و با افزایش جمعیت، تقاضا برای مصرف محصولات مذکور رو به افزایش است. در حال حاضر، با توجه به کمبود منابع آبی، افزایش هزینه سوخت‌های فسیلی و رقابت برای غذا تولید خوراک دام دارای محدودیت قابل ملاحظه‌ای است. طی دهه اخیر نیز قیمت جهانی اقلام خوراکی، مانند ذرت، گندم، پودر ماهی و کنجاله سویا به ترتیب ۱۶۰، ۱۱۸، ۱۸۶ و ۱۰۸ درصد افزایش پیدا کرده است (۱۳). بنابراین، در شرایط حاضر استفاده صحیح از ضایعات بخش کشاورزی در تغذیه حیوانات به منظور متوازن نمودن قیمت جیره‌های غذایی، و از این طریق بهبود تولیدات دامی امری ضروری به نظر می‌رسد (۱۴). بر اساس آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴، نزدیک به ۸۳ میلیون محصول زراعی تولید شده است که حدود ۲۰/۵ درصد آن به تولید سبزیجات اختصاص یافته است (۱). در ایران ضایعات میوه و سبزیجات حدود ۲۵ تا ۴۰ است و در حال حاضر سالانه بین ۳ تا ۵ میلیون تن میوه و سبزی از بین می‌رود (۲۴). سالانه هزینه بسیار زیادی جهت دفع و انهدام این پسماندها صرف می‌شود و از طرفی آلودگی زیست محیطی و تجمع حشرات و حیوانات موذی در محل‌های دفع را نیز به دنبال دارد. کلیه این مواد منشاء گیاهی دارند و میزان پروتئین و سایر مواد مغذی آن‌ها نسبتاً بالا است (۲۴).

۱ و ۲- به ترتیب استادیار و دانشجوی دکترای تغذیه دام گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.
۳- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.
۴- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل، ایران.
(*- ایمیل نویسنده مسئول: azizi.ay@lu.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.78541

هویج[1] از جمله سبزیجات ریشه‌ای و زراعی است که سهم آن در تولید سبزیجات جهانی بیش از ۳ درصد است و تقریباً در سراسر ایران تولید می‌شود (۱۳). هویج محصول باغی مهمی است که دارای مقادیر زیادی ترکیبات مفید تغذیه‌ای از جمله کاروتنوئیدها، قندهای محلول و فیبرهای خوراکی در تغذیه انسان است. پس از آبگیری، مقادیر قابل توجهی از این ترکیبات مفید به همراه تفاله هدر می‌رود. هویج تازه بر اساس ماده خشک محتوی ۱۰ درصد پروتئین خام، ۱/۴ درصد چربی خام و بیش از ۶۰ درصد قند (عمدتاً ساکارز) است. علاوه بر این، هویج منبعی غنی از نظر ویتامین C (۳۰۰-۷۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) و کاروتن است (۴). از جمله فرآورده‌های هویج که قابلیت استفاده در تغذیه دام را دارند می‌توان به تفاله هویج[2] حاصل از آبگیری هویج و سرشاخه هویج[3] را اشاره کرد. سرشاخه که همان شاخ برگ یا بوته هویج است، پس از برداشت از ریشه جدا شده و در مزارع رهاسازی می‌شود. این پسماند پس از برداشت میوه، به دلیل ارزش تغذیه‌ای مطلوب می‌تواند به عنوان خوراک به صورت خشک شده یا سیلو شده در تغذیه دام مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعه‌ای میزان پروتئین خام، چربی خام، فیبر خام، خاکستر خام، عصاره عاری از ازت، کلسیم و فسفر سرشاخه هویج به ترتیب ۱۴۴، ۲۵/۱، ۱۵۱، ۱۸۹، ۴۹۳، ۲۴/۳ و ۷/۷ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شده است (۲۶). برگ‌ها در مقایسه با ساقه محتوای نیتروژن و خاکستر بیشتری داشته اما فیبر کمتری دارند (۱۱، ۲۳). به دلیل وجود مقادیر اندکی ترکیبات فنولیک و به خصوص تانن در سرشاخه هویج (۲۶)، و اثر این ترکیبات که اخیراً از آن‌ها به عنوان افزودنی‌های خوراکی جهت کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه نام برده می‌شود، خصوصیات تغذیه‌ای این پسماند را جذاب‌تر خواهد نمود. تاکنون مطالعات اندکی در خصوص بررسی ارزش تغذیه‌ای سرشاخه هویج به عنوان یک پسماند کشاورزی جدید در تغذیه نشخوارکنندگان انجام شده است. لذا در پژوهش حاضر ابتدا، ترکیب شیمیایی و ارزش تغذیه‌ای سرشاخه هویج توسط آزمون‌های برون‌تنی در مقایسه با کاه گندم و یونجه تعیین گردید. سپس، اثر سطوح مختلف پسماند مذکور بر فراسنجه‌های تولید گاز و تخمیر و گوارش‌پذیری مواد مغذی در جیره بره‌های پرواری در شرایط برون‌تنی تعیین گردید.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌های آزمایشی و تعیین ترکیبات شیمیایی

این آزمایش در پاییز ۱۳۹۶ در آزمایشگاه تغذیه دام تکمیلی دانشگاه لرستان انجام گرفت. در این مطالعه ابتدا ترکیب شیمیایی و ارزش تغذیه‌ای سرشاخه هویج با دو ماده خوراکی دیگر یعنی کاه گندم و یونجه مقایسه گردید. سپس، بر اساس نتایج حاصله، سطوح مختلف سرشاخه هویج جایگزین بخش علوفه‌ای جیره غذایی (شامل کاه گندم و یونجه) گردید. بدین منظور، میزان مورد نیاز سرشاخه هویج از مزارع تجاری کشت هویج شهرکرد واقع در استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری شده و در آون با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شد. سپس نمونه‌ها با آسیاب دارای قطر منافذ الک یک میلی‌متری آسیاب شدند. ترکیب شیمیایی سرشاخه هویج، کاه گندم و یونجه در جدول ۲ ارائه شده است.

آزمون تولید گاز و فراسنجه‌های تخمیر

از دو رأس گوسفند فیستولاگذاری شده به عنوان دهنده مایع شکمبه برای انجام آزمون تولید گاز استفاده گردید. محتویات شکمبه از دام‌های مذکور که حداقل به مدت دو هفته با جیره غذایی حاوی ۶۰ درصد علوفه و ۴۰ درصد کنسانتره تغذیه شده بودند، قبل از خوراک‌دهی وعده صبح توسط پمپ خلاء جمع‌آوری گردید. جیره آزمایشی گوسفندان محتوی ۴۰ درصد کاه گندم، ۱۰ درصد سیلاژ ذرت، ۱۰ درصد یونجه خشک، ۲۷ درصد بلغور ذرت،۱۱ درصد سبوس گندم، ۰/۹ درصد اوره، ۰/۵۵ درصد کربنات کلسیم، ۰/۲۵ درصد مواد معدنی و ویتامینه و ۰/۲۵ درصد نمک بر حسب ماده خشک بود که بر اساس جداول احتیاجات تغذیه‌ای تهیه گردید (۲۲). محتویات شکمبه اخذ شده در هر مرحله در یک فلاسک عایق که از قبل توسط گاز دی اکسید کربن بی‌هوازی شده بود، در دمای ۳۹ درجه سانتی گراد سریعاً (در کمتر از ۲۰ دقیقه) به آزمایشگاه منتقل گردید. قبل از تزریق به داخل ویال‌های آزمایشی، محتویات شکمبه توسط چهار لایه پارچه پنیر صاف گردید. دو مرحله آزمون تولید گاز برون‌تنی و هر کدام در سه دوره[4] مجزا انجام شد.

در مرحله اول، ارزش تغذیه‌ای سرشاخه هویج با کاه گندم و یونجه (۳ تیمار آزمایشی، ۱۰ تکرار در هر تیمار) مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور میزان ۲۵۰ میلی‌گرم نمونه علوفه‌ای خشک آسیاب شده با اندازه ذرات ۱ میلی‌متر به داخل هر ویال برای تعیین پارامترهای آزمون تولید گاز قرار داده شد. سپس، هر ویال که از قبل دمای آن با قرار دادن در بن‌ماری به ۳۹ درجه‌سانتی‌گراد رسیده بود، با ۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه صاف شده و ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی تلقیح گردید (۱۹). جهت حصول اطمینان از شرایط بی‌هوازی، گاز دی اکسید کربن به شیرابه شکمبه صاف شده و بزاق مصنوعی قبل و پس از تزریق به داخل ویال‌ها نیز تزریق گردید. سه ویال نیز به عنوان بلانک (تنها محتوی مایع شکمبه و بزاق مصنوعی) در نظر گرفته شد. سپس درب ویال‌ها بسته شد و در بن‌ماری با دمای حدود ۳۹ درجه

1- Carrot
2- Carrot pulp
3- Carrot tops
4- Run

سانتی‌گراد انکوبه شدند. میزان گاز تولیدی در ویال‌ها (۵ تکرار در هر تیمار) توسط دستگاه فشارسنج در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون اندازه‌گیری شد. برای تعیین پارامترهای‌های تولید گاز از معادله $P = b(1 - e^{-ct})$ استفاده گردید (۹). در معادله مذکور b گاز تولیدی از بخش تخمیرپذیر (میلی‌لیتر)، c نرخ تولید گاز در ساعت، t زمان انکوباسیون بر حسب ساعت و P میزان گاز تولیدی (میلی‌لیتر) در زمان مورد نظر می‌باشد.

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی (گرم در کیلوگرم ماده خشک یا واحد ذکر شده) جیره‌های آزمایشی بره پرواری حاوی سطوح مختلف سرشاخه هویج جهت انکوباسیون آزمایشگاهی

Table 1– Ingredients and chemical composition (g/kg diet DM or as stated) of fattening lambs diet containing different levels of carrot tops for *in vitro* incubation

	سطح سرشاخه هویج در جیره (گرم در کیلوگرم ماده خشک) Level of carrot tops in the diet (g/kg DM)				
اقلام خوراکی Ingredients	0	50	100	150	200
یونجه خشک Alfalfa hay (dried)	150	110	70	20	0
کاه گندم Wheat straw	100	90	80	80	50
سرشاخه هویج Carrot tops	0	50	100	150	200
ذرت آسیاب شده Corn grain, ground	140	140	140	140	140
جو آسیاب شده Barley grain, ground	350	350	350	350	350
کنجاله سویا Soybean meal	80	80	80	80	80
سبوس گندم Wheat bran	150	150	150	150	150
مکمل معدنی-ویتامینه Vitamin-mineral premix	10	10	10	10	10
نمک Salt	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	10	10	10	10	10
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
ترکیب شیمیایی Chemical composition					
ماده خشک (وزن تر) Dry matter (fresh weight)	921	882	843	804	765
ماده آلی Organic matter	920	918	915	912	910
پروتئین خام Crude protein	135	135	136	135	138
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber (NDF)	337	328	318	312	296
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber (ADF)	162	155	149	144	134
انرژی قابل متابولیسم Metabolizable energy (MJ/kg DM)	10.7	10.7	10.6	10.6	10.6

پنج تکرار (ویال) باقیمانده دیگر به ازای هر تیمار آزمایشی در این مرحله، به منظور تعیین فراسنجه‌های تخمیر شامل گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم نمونه‌های آزمایشی و فراسنجه‌های تخمیر شامل pH، نیتروژن آمونیاکی، سنتز پروتئین میکروبی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در نظر گرفته شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (۲۷)، ابتدا میزان گاز تولیدی هر ویال ثبت گردید. سپس درب ویال‌ها باز گردیده و pH آن‌ها به وسیله دستگاه pH متر (مدل ۷۴۴؛ شرکت Metrohm سوئیس) ثبت گردید. محتوای هر ویال با ۲۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. بقایای هر ویال جمع‌آوری و خشک گردید. میزان گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک از اختلاف وزن سوبسترای اولیه و وزن بقایا پس از انکوباسیون محاسبه گردید. جهت تعیین میزان نیتروژن آمونیاکی، نمونه‌های سوپرناتانت (۵ میلی‌لیتر) سریعاً با یک میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

میزان گوارش‌پذری شکمبه‌ای ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم جیره‌های آزمایشی به ترتیب بر اساس معادلات زیر (روابط ۱ و ۲) تخمین زده شد (۲۱):

$$IVOMD\ (g/kg\ OM) = 148.8 + 8.89\ GAS + 4.50\ CP + 6.51\ XA$$ رابطه (۱)

$$ME\ (MJ/kg\ DM) = 2.20 + 0.136\ GAS + 0.057\ CP + 0.0029\ CP^2$$ رابطه (۲)

که در این معادلات IVOMD[1] میزان گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده آلی؛ GAS میزان گاز خالص تولیدی برای ۲۰۰ میلی گرم سوبسترا پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (۲۱)، CP میزان پروتئین خام به صورت گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک؛ XA خاکستر به صورت گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک و ME انرژی قابل متابولیسم می‌باشد.

تولید پروتئین میکروبی (MPS) به صورت زیر (رابطه ۳) محاسبه گردید (۹):

$$MP\ (mg/g\ DM) = mg\ ADS - (ml\ gas \times 2.2\ mg/ml)$$ رابطه (۳)

که ADS[2] سوبسترای هضم شده ظاهری شکمبه‌ای و ۲/۲ عامل استوکیومتری بر حسب میلی‌گرم کربن، هیدروژن و اکسیژن مورد نیاز برای سنتز اسیدهای چرب کوتاه زنجیر است.

اسیدهای چرب کوتاه زنجیر با استفاده از معادله زیر (رابطه ۴) محاسبه شد (۱۵):

رابطه (۴)

$$SCFA\ (mmol/200\ mg\ DM) = 0.0222GP - 0.0042$$

که در آن GP حجم گاز تولیدی پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون می‌باشد.

با توجه به خصوصیات تغذیه‌ای سرشاخه هویج بر اساس نتایج مرحله اول آزمایش (محتوای فیبر بالا و پروتئین خام متوسط)، در سری دوم آزمون تولید گاز اثر سطوح صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ گرم از آن در کیلوگرم ماده خشک که جایگزین بخش علوفه‌ای (کاه گندم و یونجه) جیره غذایی بره پرواری گردیده بود، مورد بررسی قرار گرفت. اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف سرشاخه هویج در جدول ۱ ارائه شده است. در مرحله دوم آزمون تولید گاز، به دلیل کنسانتره‌ای بودن جیره‌ها، فراسنجه‌های تخمیر (مشابه مرحله اول) در زمان ۱۶ ساعت پس از انکوباسیون تعیین شدند (۲۷).

تجزیه شیمیایی نمونه‌ها

میزان ماده خشک نمونه‌ها در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۸ ساعت تعیین گردید (۵). میزان خاکستر خام در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد تعیین شد و میزان ماده آلی از اختلاف بین وزن ماده خشک نمونه اولیه با وزن خاکستر محاسبه گردید (۵). میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) (۲۵) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) محاسبه شدند (۵). میزان نیتروژن آمونیاکی با استفاده از معرف‌های فنول و هیپوکلریت اندازه‌گیری شد (۱۰).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تولید گاز، تخمیر و گوارش‌پذیری نمونه‌ها با استفاده از رویه مختلط و توسط نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۵) با استفاده از مدل آماری زیر (رابطه ۵) صورت گرفت:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + R_j + e_{ijk}$$ رابطه (۵)

در این مدل Y_{ijk}، μ، T_i، R_j و e_{ijk} به ترتیب رکورد مشاهده شده، میانگین کل، اثر تیمار آزمایشی iام، اثر دوره آزمایش jام و اثر خطای آزمایشی بود. مقایسه میانگین‌های صفات آزمایشی با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده گردید.

نتایج و بحث

در جدول ۲ نتایج ترکیب شیمیایی سرشاخه هویج، یونجه و کاه گندم نشان داده شده است. همان طوری که قبل انتظار است، سرشاخه هویج دارای ماده خشک و ماده آلی کمتری نسبت به دو ماده خوراکی دیگر یعنی یونجه و کاه گندم بود ($P<0/05$). میزان پروتئین خام سرشاخه هویج (۱۳۲ گرم در کیلوگرم ماده خشک) به طور قابل توجهی بیشتر از کاه گندم (۳۲/۲ گرم در کیلوگرم) بوده ($P<0/05$) و نیز قابل مقایسه با یونجه (۱۴۶ گرم در کیلوگرم) بود. سرشاخه هویج میزان لیگنین کمتری نسبت به کاه گندم و یونجه را

1- *In vitro* Organic Matter Disappearance
2- Apparently Digested Substrate

به خود اختصاص داد (P<۰/۰۵). همچنین، میزان NDF و ADF این پسماند در مقایسه با دیگر خوراک‌های آزمایشی کمتر بود (P<۰/۰۵).

در تحقیق حاضر محتوای پروتئین خام مطلوب و قابل توجه سرشاخه هویج و نیز میزان لیگنین کمتر این پسماند در مقایسه با گاه گندم و یونجه، ترکیب شیمیایی قابل قبول (جدول ۲) آن را جهت استفاده در جیره غذایی نشخوارکنندگان نشان داد. در مطالعه‌ای میزان پروتئین خام سرشاخه هویج ۱۴۴ گرم در کیلوگرم ماده خشک بیان گردید (۲۶) که مطابق با نتایج پژوهش حاضر است. همچنین، در تحقیق دیگری میزان پروتئین خام سرشاخه هویج ۱۵۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش گردید (۲۳). باید بیان نمود که نشان داده شده است که میزان پروتئین خام برگ‌های سرشاخه هویج بیش از میزان کل سرشاخه آن (۱۵۰ نسبت به ۲۲۲ گرم در کیلوگرم ماده خشک) است (۲۳). در کل، نتایج مربوط به پروتئین خام سرشاخه هویج در مطالعه حاضر تأیید کننده نتایج سازمان فائو (۱۳) است که میزان پروتئین خام این پسماند را در حدود ۱۲-۱۱ درصد گزارش کرده است. محتوای چربی خام، فیبر خام، عصاره عاری از ازت و خاکستر خام سرشاخه هویج در پژوهشی به ترتیب ۲۵/۱، ۱۵۱، ۴۹۴ و ۱۸۹ گرم در کیلوگرم ماده خشک به دست آمده است (۲۶)، که نشان دهنده بیشتر بودن خاکستر خام و کمتر بودن محتوای ماده آلی سرشاخه هویج مورد استفاده در مطالعه حاضر است. سرشاخه هویج در مقایسه با علوفه برسیم دارای عصاره عاری از ازت بیشتر اما میزان پروتئین خام و فیبر خام کمتری بوده است (۸). به هر حال، وجود اختلاف در ترکیب شیمیایی پسماند مذکور در مطالعات مختلف احتمالاً به دلیل نوع واریته هویج، منطقه جغرافیایی، نوع خاک، زمان برداشت گیاه و نسبت برگ به ساقه باشد (۲۳).

جدول ۲- اقلام خوراکی مورد استفاده و ترکیب شیمیایی آن‌ها (گرم در کیلوگرم ماده خشک یا واحد ذکر شده)[۱]

Table 2- Ingredient used and their chemical composition (g/kg DM or as stated)[1]

ترکیب شیمیایی Chemical composition	نوع ماده خوراکی Type of feed ingredient				
	سرشاخه هویج Carrot tops	یونجه Alfalfa	کاه گندم Wheat straw	SEM[2]	P-value[1]
ماده خشک (وزن تر) Dry Matter (fresh weight)	160[b]	936[a]	946[a]	9.55	<0.01
ماده آلی Organic matter	850[b]	902[a]	904[a]	9.76	0.04
پروتئین خام Crude Protein	132[a]	146[a]	32.2[b]	5.97	0.03
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral Detergent Fiber (NDF)	280[c]	408[b]	717[a]	7.87	<0.01
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid Detergent Fiber (ADF)	230[c]	334[b]	463[a]	8.56	<0.01
لیگنین Lignin	65.4[c]	78.6[ab]	86.5[a]	2.72	0.02

[۱] در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

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

[2]Standard error of the means

همانطوری که در جدول ۳ نشان داده شده است از نظر تولید گاز در زمان‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌داری بین خوراک‌های آزمایشی وجود داشت. در زمان‌های اولیه انکوباسیون (زمان ۱۶ ساعت)، بیشترین حجم گاز تولیدی با انکوباسیون سرشاخه هویج به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با یونجه نداشت، اما به طور قابل توجهی بیشتر از کاه گندم بود (P<۰/۰۵).

در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون، بیشترین میزان تولید گاز با انکوباسیون یونجه و کمترین میزان آن در کاه گندم حاصل گردید (P<۰/۰۵). بیشترین میزان تولید گاز در سایر زمان‌های انکوباسیون یعنی ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت (پایان انکوباسیون)، و نیز پتانسیل (b) و نرخ (c) تولید گاز با انکوباسیون یونجه و کمترین میزان صفات مذکور در کاه گندم مشاهده گردید (P<۰/۰۵). هرچند، در صفات فوق‌الذکر اختلاف معنی‌داری بین یونجه و سرشاخه هویج وجود نداشت. بیشترین میزان گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی، تخمین انرژی قابل متابولیسم، غلظت آمونیاک و اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر با انکوباسیون یونجه و کمترین میزان آن‌ها در کاه گندم حاصل گردید (P<۰/۰۵). هرچند، بیشترین میزان سنتز پروتئین میکروبی با انکوباسیون سرشاخه هویج و کمترین میزان آن در کاه گندم به دست آمد (P<۰/۰۵). میزان pH تحت تاثیر نوع ماده خوراکی قرار نگرفت.

جدول ۳- فراسنجه‌های تخمیر خوراک‌های آزمایشی با استفاده از آزمون تولید گاز

Table 3- Fermentation parameters of experimental diets using *in vitro* gas production technique

فراسنجه‌های تخمیر Fermentation parameters	نوع ماد خوراکی Type of feed ingredient سرشاخه هویج Carrot tops	یونجه Alfalfa	کاه گندم Wheat straw	SEM[2]	P-value[1]
فراسنجه‌های تولید گاز Gas Production (GP) Parameters (ml)					
گاز تولیدی ۱۶ ساعت GP at 16 h	27.7[a]	26.9[a]	10.4[b]	0.97	<0.01
گاز تولیدی ۲۴ ساعت GP at 24 h	46.6[b]	53.5[a]	21.4[c]	1.76	<0.01
گاز تولیدی ۴۸ ساعت GP at 48 h	58.3[a]	58.6[a]	32.3[b]	2.33	<0.01
گاز تولیدی ۷۲ ساعت GP at 72 h	60.1[a]	63.6[a]	35.5[b]	2.31	<0.01
کل گاز تولیدی Total GP	62.9[a]	65.3[a]	39.4[b]	2.39	<0.01
پتانسیل تولید گاز Potential of GP (b)	63.4[a]	66.8[a]	42.2[b]	2.42	<0.01
نرخ تولید گاز Rate of GP (c)	0.06[a]	0.07[a]	0.04[b]	0.002	<0.01
فراسنجه‌های تخمیر Fermentation Parameters					
IVDMD[3]	61.1[a]	63.9[a]	36.7[b]	2.22	<0.01
IVOMD[4]	64.1[a]	65.8[a]	38.4[b]	2.44	<0.01
انرژی قابل متابولیسم Metablizable Energy (MJ/kg DM)	7.38[b]	7.94[a]	5.63[c]	0.013	<0.01
pH	6.13	6.23	6.31	0.09	0.26
نیتروژن آمونیاکی Ammonia-N (mg/dl)	15.5[a]	16.1[a]	11.2[b]	0.43	<0.01
اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر Short Chain Fatty Acids (mmol/g DM)	1.89[a]	2.02a	0.69[b]	0.07	<0.01
پروتئین میکروبی Microbial Protein (mg/g DM)	133[a]	114[a]	95.7[b]	5.51	<0.01

[1]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند (P<۰/۰۵).

[1]Means within a row with different superscript letters are different (P<0.05).

[2]Standard error of the means

[3]*In vitro* dry matter disappearance

[4]*In vitro* organic matter disappearance

افزایش تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون و نیز گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی با انکوباسیون سرشاخه هویج و یونجه نسبت به کاه گندم (جدول ۳) احتمالاً به دلیل محتوی کربوهیدرات محلول بیشتر و دیواره سلولی و لیگنین کمتر (جدول ۲) آن‌ها بوده است. زیرا نشان داده شده است که محتوی فیبر به ویژه لیگنین اثر منفی بر تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی دارد (۲۰). این همبستگی منفی بین گاز تولیدی و دیواره سلولی ممکن است به دلیل کاهش فعالیت میکروبی در طول زمان انکوباسیون باشد. با این که میزان پروتئین خام سرشاخه هویج و یونجه با هم قابل مقایسه است، اما غلظت آمونیاک شکمبه با انکوباسیون یونجه به طور قابل توجهی بیشتر از سرشاخه بود. علت این امر احتمالاً وجود ترکیبات فنولیک موجود در سرشاخه هویج بوده است که با کند نمودن روند آزادسازی نیتروژن سبب حداکثر استفاده از آمونیاک جهت سنتز پروتئین میکروبی شده است. اثرات مثبت ترکیبات فنولیک بر متابولیسم نیتروژن در مطالعات بسیاری نشان داده شده است (۳، ۱۸). همچنین، می‌توان از غلظت آمونیاک شکمبه به عنوان یک شاخص جهت سنتز

پروتئین میکروبی استفاده نمود (۶، ۷)، که در مطالعه حاضر نیز کاهش غلظت آمونیاک شکمبه با انکوباسیون سرشاخه هـویج در مقایسـه بـا یونجه احتمالاً نشان دهنده استفاده از آن جهت حداکثر سنتز پروتئین میکروبی بوده است.

در جدول ۴ نتایج مربوط به اثر جایگزینی سطوح مختلف سرشاخه هویج در جیره بره پرواری بر فراسنجه‌های تخمیـر نشـان داده شـده است. افزودن سرشاخه هویج به جای بخش علوفه‌ای جیره غذایی تـا سطح ۲۰ درصد ماده خشک سبب افـزایش معنـی‌دار سـنتز پـروتئین میکروبی شد (P<۰/۰۵)، هرچند از لحاظ عددی غلظت آمونیاک مایع شکمبه را کاهش داد (P>۰/۰۵). سایر فراسـنجه‌هـای تولیـد گـاز و تخمیر و گوارش‌پذیری مواد مغذی تحت تأثیر سطح سرشاخه هـویج در جیره غذایی قرار نگرفتند.

بر اساس نتایج جدول ۴، تمام فراسنجه‌های تولید گـاز و تخمیـر جیره‌های حاوی سطوح مختلف سرشاخه هویج مشابه با جیره شـاهد عمل نموده، هرچند سنتز پروتئین میکروبی با افزایش میزان سرشاخه افزایش یافت (P<۰/۰۵). علت بهبود توده توده میکروبی بـا افـزایش سطح سرشاخه هویج احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات فنولیک آن و به ویژه تانن بوده است که سبب ایجاد کمپلکسهای تانن-پروتئین شده و از این طریق سبب حداکثر استفاده از آمونیاک تولیدی در شکمبه شده است.

جدول ٤- فراسنجه‌های تخمیر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف سرشاخه هویج

Table 4- Fermentation parameters of experimental diets containing different levels of carrot tops

فراسنجه‌های تخمیر Fermentation parameters	سطح سرشاخه هویج در جیره (گرم در کیلوگرم ماده خشک) Level of carrot tops in the diet (g/kg diet)					SEM[2]	P-value[1]
	0	50	100	150	200		
فراسنجه‌های تولید گاز Gas production (GP) parameters (ml)							
گاز تولیدی ۱۶ ساعت GP at 16 h	38.3	35.3	37.5	39.4	37.3	1.97	0.34
گاز تولید ۲۴ ساعت GP at 24 h	58.4	60.5	59.5	60.2	59.4	2.04	0.43
گاز تولیدی ۴۸ ساعت GP at 48 h	75.6	76.6	75.4	74.4	77.6	2.11	0.41
گاز تولیدی ۷۲ ساعت GP at 72 h	84.6	83.8	85.5	82.9	84.7	2.43	0.53
کل گاز تولیدی Total GP	89.5	88.7	86.5	89.7	88.6	3.33	0.56
پتانسیل تولید گاز Potential of GP	92.2	92.1	89.8	91.2	90.8	3.45	0.34
نرخ تولید گاز Rate of GP	0.07	0.06	0.08	0.065	0.06	0.003	0.26
فراسنجه‌های تخمیر Fermentation parameters							
IVDMD	64.6	65.5	65.7	66.1	66.3	1.67	0.32
IVOMD	67.5	67.8	67.9	68.1	68.3	1.88	0.38
انرژی قابل متابولیسم Metabolizable energy	8.77	8.80	8.79	8.81	8.85	0.287	0.54
pH	6.26	6.28	6.17	6.22	6.14	0.087	0.28
نیتروژن آمونیاکی Ammonia-N	17.8	17.5	17.1	17.2	16.5	0.98	0.46
اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر Short chain fatty acids	3.56	3.52	3.49	3.55	3.44	0.22	0.23
پروتئین میکروبی Microbial protein	345[b]	351[b]	361[ab]	365[ab]	375[a]	7.67	0.03
ضریب تفکیک Partitioning factor	3.56	3.48	3.55	3.61	3.59	0.067	0.28

[1]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند (P<۰/۰۵).

[1]Means within a row with different superscript letters are different (P<0.05).

[2]Standard error of the means

[3]*In vitro* dry matter disappearance

[4]*In vitro* organic matter disappearance

مطابق با این نتایج، در مطالعه‌ای نیز مکمل نمودن منابع پروتئینی جیره غذایی گاوهای نر پرواری با مکمل تاننی سبب کاهش غلظت آمونیاک مایع شکمبه و به تبع، افزایش عملکرد شکمبه آنها شده است (۱۸). نتایج حاصله نشان می‌دهد که در شرایط کشور ایران که کمبود مواد خوراکی مشهود می‌باشد، استفاده از سرشاخه هویج به عنوان یک منبع خوراکی جایگزین جدید تا سطح ۲۰ درصد ماده خشک جیره غذایی نشخوارکنندگان امیدوارکننده بوده و نتایج مطلوبی را نیز به دنبال دارد.

در ارتباط با اثر سرشاخه هویج بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه اطلاعات اندکی وجود دارد. هرچند مطالعات کمی روی دام زنده صورت گرفته است. به عنوان مثال، در آزمایشی استفاده از سرشاخه هویج تا سطح ۵۰ درصد ماده خشک به جای بخش علوفه‌ای جیره گوسفندان نژاد رحمانی[1] سبب افزایش گوارش‌پذیری مواد مغذی گردید (۸). همچنین، افزودن ۲۰ درصد سرشاخه هویج به جای علوفه *تریفولیوم الکساندریوم*[2] در جیره خرگوش سبب بهبود عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک شده است (۱۲). هرچند، استفاده از سطوح بیشتر از آن در جیره عملکرد رشد را کاهش داده است (۱۶). در مطالعه دیگری استفاده از سرشاخه هویج به میزان ۵ درصد ماده خشک جیره غذایی مرغان تخمگذار سبب افزایش غلظت بتا کاروتن تخم مرغ شده است، بدون آن که اثر منفی بر وزن تخم مرغ داشته باشد (۱۷).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سرشاخه هویج دارای ارزش تغذیه‌ای قابل توجهی بوده، و استفاده از آن به عنوان یک منبع خوراکی جایگزین جدید تا سطح ۲۰ درصد ماده خشک به جای بخش علوفه‌ای جیره غذایی در شرایط برون‌تنی قابل توصیه است. هرچند، جهت تأیید یافته‌های پژوهش حاضر بررسی اثرات سرشاخه هویج در شرایط دام زنده ضروری به نظر می‌رسد. انجام مطالعات بیشتر به خصوص تعیین ترکیبات فنولی و مواد ضد مغذی، و نیز تعیین پروفیل مواد معدنی این پسماند کمک ارزنده‌ای جهت استفاده بهینه از آن در تغذیه نشخوارکنندگان خواهد بود.

سپاسگزاری

در اینجا لازم می‌داند از معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان، به خاطر فراهم نمودن امکانات لازم و آزمایشگاه جهت انجام پژوهش حاضر تشکر و قدردانی به عمل آید.

منابع

1- Agriculturure Statistics of Iran. 2016. Volume I: Report on the production of crops in the crop year of 2015-2016. P. 4-5 (In Persian).
2- Agricultural and Food Research Council. 1992. Technical committee on responses of nutrients, Report No 9. Nutritive requirements of ruminant animal: Protein. Nutrition Abstract and Review., Series b, CAB International, Wallingford, Oxon.
3- Alipour, D., and Y. Rouzbehan. 2010. Effects of several levels of extracted tannin from grape pomace on intestinal digestibility of soybean meal. Livestock Science, 128: 87–91.
4- ANSES. 2008. French Food Composition Table. Agence nationale de securite sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du travail.
5- AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
6- Azizi-Shotorkhoft, A., J. Rezaei, and H. Fazaeli. 2013. The effect of different levels of molasses on the digestibility, rumen parameters and blood metabolites in sheep fed processed broiler litter. Animal Feed Science and Technology, 179: 69–76.
7- Azizi-Shotorkhoft, A., Y. Rouzbehan, and H. Fazaeli. 2012. The influence of the different carbohydrate sources on utilization efficiency of processed broiler litter in sheep. Livestock Science, 148: 249–254.
8- Bassiouni, M. I., N. M. Eweedah, and M. K. Mohsen. 1999. Nutritional value of carrot-tops in ruminant rations. Egyptian Journal of Nutrition and Feeds. 2: 131-141.
9- Blümmel, M., H. Steingss, and K. Becker. 1997. The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and ^{15}N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. British Journal of Nutrition. 77: 911–921.
10- Broderick, G., and J. H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in

1- Rahmani Sheep
2- *Trifolium alexandrium*

ruminal fluid and *in vitro* media. Journal of Dairy Science, 63: 64–75.
11- Carlsson, R., and P. Hanczakowski. 1989. Waste green parts of plants as raw material for leaf protein concentrate production. Biological Wastes, 28: 83-90.
12- Eleraky, W. A. 1996. Utilization of some untraditional feedstuffs in nutrition of rabbits. Egyptian Journal of Rabbit Science, 6: 109−119.
13- Food and Agriculture Organization. 2013. Utilization of fruit and vegetable wastes as livestock feed and as substrates for generation of other value-added products. RAP Publication, Rome, Italy.
14- Fazaeli, H., and N. Frough Ameri. 2006. Utilization of pistachio by product in the diet of finishing calves. In: Proceeding of the EAAP annual meeting, Antalya, Turkey, C33: 51p.
15- Getachew, G., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 2002. Tropical browses: contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. Journal of Agricultural Science, 139: 341–352.
16- Ibrahim, M. R. M. 2000. Efficiency of using peanut hay and carrot-tops hay for feeding growing rabbits. Egyptian Journal of Rabbit Science, 10: 147−156.
17- Ishikawa, S., H. Murakami, M. Yamazaki, M. Tachikawa, and M. Takemasa. 1999. Effect of carrot leaf supplementation on egg yolk beta-carotene content and egg quality. Japanese Poultry Science, 36: 275−283.
18- Jolazadeh, A. R., M. Dehghan-banadaky, and K. Rezayazdi. 2015. Effects of soybean meal treated with tannins extracted from pistachio hulls on performance, ruminal fermentation, blood metabolites and nutrient digestion of Holstein bulls. Animal Feed Science and Technology, 203: 33-40.
19- Marten, G. C., and R. F. Barnes. 1980. Prediction of energy digestibility of forages with *in vitro* rumen fermentation and fungal enzymes systems. In: Pidgen, W. J., C. C. Balch, and M. Graham, (Eds), Standardization of analytical methodology for feeds. (pp 61-71.) International Development Research Center, Ottawa.
20- Melaku, S., K. J. Peters, and A. Tegegne. 2003. *In vitro* and *in situ* evaluation of selected multipurpose trees, wheat bran and *Lablab purpureus* as potential feed supplements of tef (*Eragrostistef*) straw. Animal Feed Science and Technology, 108: 159-179.
21- Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. Animal Research and Development, 28: 7–55.
22- National Research Council. 2007. National Research Council, Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Washington (DC, USA): National Academy of Sciences.
23- Phillips, D. 2005. Carrot nutrition and irrigation. Government of Western Australia. Farm Note No. 94/90.
24- Teymournezhad, N., M. Zahedifar, A. Nikkhah, and H. Fazaeli. 2007. Nutritive value of fruit and vegetable wastes in ruminants. Pajuhesh and Sazandegi, 76: 168-173 (In Persian).
25- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583–3597.
26- Venkataramanan, R., S. Gunasekaran, C. Sreekumar, R. Anikumar, and M. Iyue. 2015. Nutritional value and suitability of carrot whole top as green fodder. Indian Journal of Veterinary and Animal Science Research, 44(1): 49-52.
27- Vercoe, P. E., H. P. S. Makkar, and A. C. Schlink. 2010. *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies. Springer Verlag Gmbh.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 169-179

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۱۷۹-۱۶۹

Investigating Chemical Composition and Effects of Different Dietary Levels of Whole Carrot Tops on Ruminal Digestion and Fermentation Kinetics *in vitro*

A. Azizi[1*]- M. Hashemi[2]- A. Sharifi[3]- A. Abarghani[4]

Submitted: 16-01-2019
Accepted: 24-07-2019

Introduction° Animal husbandry is one of the most important agriculture sectors, and with increasing population; demand for animal products has been increased. Currently, due to shortage of water and feed resources as well as increased compete for production of food between human and animals, cost of animal feeds has been enhanced considerably. The global price of feed ingredients such as corn, wheat, fish meal and soybean meal has increased by 160, 118, 186 and 108%, respectively in the previous years. Thus, in this situation, using agro-industrial by-products in the ruminant diets could reduce feed production costs and also improve profitability. Whole carrot tops (WCT) are one of such agricultural byproducts. It remains after harvesting the main product (carrot) and could be used as silage for animal nutrition. Crude protein (CP), crude fiber, ash, nitrogen free extract, Ca and P contents of WCT has been reported 144, 25.1, 151, 189, 493, 24.3 and 7.7 g/kg DM respectively. In another study, WCT contained 11−12% CP, 17% crude fiber and up to 18% ash due to residual dirt. Leaves in WCT have more nitrogen and ash but lower fiber content compared to stems. Due to phenolic content of WCT, using it in ruminant nutrition may be improves rumen protein metabolism via binding dietary CP content. WCT replacing 50% of berseem hay in the diet of Rahmani sheep increased nutrient digestibility. Adding WCT up to 20−30% at the expense of *Trifolium alexandrium* hay in growing rabbit rations improved growth performance and feed conversion efficiency. However, higher levels (67 to 100%), replacing clover hay in the diet, depressed the performance of growing rabbits. There are a few reports about investigating the nutrition value of WCT as a new by-product in animal nutrition. Therefore, this study was conducted to evaluate chemical composition, *in vitro* gas production (IVGP), fermentation parameters and nutrient digestibility of WCT compared to alfalfa and wheat straw (WS) using IVGP technique. Effects of different dietary levels of WCT at the expense of forage potion up to 20 % of dry matter (DM) were also investigated using IVGP technique.

Material and Methods This study was conducted in animal house and laboratories of Lorestan University. Two Lori sheep (about two years old) with permanent rumen fistula were used as rumen liquor donor in present work. A two-week diet adaptation period was followed by collection of the rumen contents from each sheep before the morning feeding. Four complete carrot plants were collected during October 2017 from commercial carrot field in Share-Kord city (Iran). At the first part, chemical composition, IVGP and fermentation parameters of WCT were determined compared to alfalfa and WS (totally three treatments). After that, different levels of WCT including 0, 5, 10, 15 and 20 % of DM (five treatments) were replaced with forage (alfalfa hay and WS) portion of diet and incubated *in vitro* using IVGP technique. Dry matter, CP, ash, neutral detergent fiber, acid detergent fiber and lignin were measured.

Results and Discussion Results showed that CP content of WCT was significantly higher than WS, but it was comparable with alfalfa. At 16 h of incubation, highest and lowest volume of GP was observed by WCT and WS, respectively ($P<0.05$). However, highest and lowest GP at other incubation times, potential (b) and rate (c) of GP, DM, organic matter (OM), estimated metabolizable energy (ME), ammonia-N concentration and short chain fatty acid (SCFA) production were noted by incubation of alfalfa and WS respectively ($P<0.05$). Highest microbial protein synthesis (MPS) was observed by incubation of WCT and lowest amount was for WS ($P<0.05$). By inclusion of WCT up to 20 % of diet, except for MPS which was increased significantly ($P<0.05$),

1 and 2- Assistant Professor and PhD student of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad, Iran
3- Assistant Professor, Animal Science Research Department, Khuzestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ahvaz, Iran
4- Assistant Professor, Animal Science Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center AREEO, Ardabil, Iran
(*- Corresponding Author Email: azizi.ay@lu.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.78541

other IVGP and fermentation parameters were unchanged among dietary treatments (P>0.05).

Conclusion In conclusion, results from the present study indicate that WCT has potential nutritional value to be used in ruminant diets at up to 20% DM without the risk of digestive disturbances. Its nutritive value was also higher that wheat straw while it had a comparable CP content to alfalfa. However, further *in vivo* studies are needed to validate the benefits of introducing such a by-product in ruminant nutrition. Further studies such as determining potential anti-nutritional factors, as well as the mineral profiles of WCT, will be of great help for optimizing their incorporation in animal nutrition.

Keywords: Carrot tops, Digestibility, Fermentation, Gas production, Nutritive value.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 181-195

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۱۹۵-۱۸۱

مقاله علمی- پژوهشی

اثر منبع کاتیونی و DCAD جیره گاو شیری بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه در شرایط برون تنی

یاسر فیض‌دار برآبادی[۱]، سید احسان غیاثی[۲*]، محمد باقر منتظر تربتی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۰۲

چکیده

برای بررسی اثرات منبع کاتیون و سطح اختلاف کاتیون - آنیون (DCAD) جیره گاو شیری بر ویژگی‌های تخمیر میکروبی از آزمایش تولید گاز و کشت ثابت استفاده شد. فراسنجه‌های تولید گاز، زمان متناظر با نصف حداکثر گاز تولیدی($t_{0/5}$)، اسیدیته شکمبه و تجزیه‌پذیری ماده خشک (DMD) در قالب آزمایش فاکتوریل ۲×۲×۳ اندازه گیری شد. عوامل مؤثر شامل DCAD (meq/kgDM ۱۵۰+، ۲۵۰+ و ۳۵۰+)، منابع پتاسیمی (کربنات پتاسیم بدون آب(KC) و کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات (KCS)) و منابع منیزیمی (اکسید منیزیم (MO) و کربنات منیزیم (MC)) بود. نتایج تفاوت معنی داری در فراسنجه‌های تولید گاز، $t_{0/5}$، pH مایع شکمبه و DMD، بین تیمارها نشان داد. تیمار با DCAD ۱۵۰+ حاوی دو منبع KC و MC بیشترین حجم گاز تولیدی در ۱۲۰ ساعت انکوباسیون، بیشترین پتانسیل تولید گاز و بیشترین مقدار c را نشان داد. در این تیمار از آنجایی که نرخ تخمیر بالاتر بود، زمان $t_{0/5}$ کاهش یافت. تفاوت تابعیت گاز تولیدی از تجزیه‌پذیری ماده خشک بین سطوح مختلف DCAD نیز به لحاظ آماری معنی‌دار بود، بطوریکه DCAD ۲۵۰+ و ۳۵۰+ میلی‌اکی‌والان احتمالاً از طریق بهبود شرایط محیط کشت به نفع جمعیت میکروبی شکمبه باعث افزایش تجزیه‌پذیری ماده خشک و درنتیجه افزایش گاز تولیدی شد. استفاده از منبع KCS باعث کاهش نرخ تخمیر و افزایش تداوم تخمیر شد که این تداوم قابلیت هضم ماده خشک را افزایش داد. به طور کلی می‌توان گفت که استفاده از منابع KC وMC با سطح DCAD ۲۵۰+، باعث بهبود شرایط تخمیر شکمبه می‌شود، ولی استفاده از منبع KCS به طور خاص باعث افزایش DMD میگردد.

واژه‌های کلیدی : تخمیر شکمبه، تجزیه پذیری، اختلاف کاتیون - آنیون جیره، تولید گاز، منابع کاتیون.

مقدمه

هزینه خوراک در گاو شیری بیش از ۷۰ درصد هزینه‌های تولید شیر را به خود اختصاص می‌دهد. بنابراین در بین تولیدکنندگان علاقه‌مندی زیادی به بهبود ضریب تبدیل و افزایش بازدهی هضم شکمبه ای وجود دارد. اختلاف کاتیون - آنیون جیره (DCAD[۳]) یک موضوع قابل توجه در تغذیه گاو شیری در دو دهه اخیر بوده است چراکه تنظیم این فراسنجه در جیره در بهبود عملکرد حیوان نقش مهمی ایفا می‌کند (۲۶). مواد معدنی علاوه بر نقش ساختاری و تنظیم‌کنندگی، بر تعادل اسید و باز مایعات بدن و واکنش‌های بیوشیمیایی اثر بارزی دارند. اختلاف کاتیون - آنیون جیره می‌تواند در پیشگیری از تب شیر در گاو شیری، رشد مناسب گوساله‌های شیری، رشد بره‌ها و طیور اثرات معنی‌داری داشته باشد (۲۱). مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهد که اختلاف کاتیون - آنیون اثرات بارزی بر روی تعادل اسید و باز مایعات بدن، عملکرد و تولید دام‌ها دارد (۲۱و۲۵).

در دهه اخیر تحقیقات متعددی در زمینه استفاده از مواد معدنی در جیره و اثرات متقابل آنها بر روی افزایش مصرف ماده خشک انجام شده است. اثرات متقابل بین آنیون‌ها و کاتیون‌های خاص خوراک، توجه متخصصین گاو شیری را به خاطر اثرات سودمند آن بر تولید حیوان جلب نموده و اهمیت کنترل اختلاف کاتیون - آنیون جیره در جیره نویسی گاو شیری به خوبی مشخص شده است (۲۲). دستکاری اختلاف کاتیون - آنیون جیره، با تقویت بی‌کربنات خون و سیستم بافری بدن در خنثی نمودن اسید حاصل از سوخت و ساز مواد غذایی مؤثر بوده و افزایش تولید شیر را بدنبال خواهد داشت (۱۳). قدرت نما و همکاران (۱۰) بیان کردند که تغییرات DCAD از ۱۵۰+ تا ۷۵۰+ میلی اکی والان در کیلوگرم ماده خشک، ضمن افزایش pH شکمبه، سبب افزایش غلظت استات و کاهش غلظت پروپیونات می گردد.

۱- دانشجوی دکترای تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
(*- ایمیل نویسنده مسئول: Email:s.e.ghiasi@birjand.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.79409
3- Dietary Cation – Anion Difference

مهمترین منابع پتاسیم مورد استفاده در جیره دام در حال حاضر کربنات و بی‌کربنات پتاسیم ۱/۵ آبه می‌باشد (۲۰). افزودن کربنات پتاسیم آبدار به جیره گاو شیری مصرف ماده خشک، چربی شیر و تولید شیر به ازای هر واحد ماده خشک مصرفی را بالا می برد (۱۲). آلفونس – اویلا و همکاران (۱) نشان دادند که با افزایش کربنات پتاسیم به جیره غلظت پتاسیم در شکمبه افزایش می‌یابد و نتیجه گرفتند که متابولیسم مواد معدنی در شکمبه وجود دارد. ایوانیوک و همکاران (۱۵) نشان دادند که افزایش DCAD از ۲۵۷+ به ۶۰۳+ میلی‌اکی‌والان، مصرف ماده خشک را از۲۲/۳+ به ۲۳/۶+ کیلوگرم در روز افزایش می‌دهد. افزایش DCAD باعث افزایش pH و ظرفیت بافری شکمبه شده که خود منجر به افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار تولیدی در شکمبه و بهبود عملکرد شکمبه و سرعت عبور بالاتر مواد هضمی می‌شود که این خالی شدن شکمبه منجر به افزایش مصرف ماده خشک می‌گردد (۱۲). تحقیقات نشان می‌دهد بی‌کربنات سدیم، اکسید منیزیم، کربنات منیزیم و دیگر مکمل‌های معدنی، بافرهای مؤثری در تغذیه دام هستند (۹). گاو شیری به عرضه جیره‌ای منیزیم قابل جذب برای حفظ غلظت مطلوب منیزیم و هموستازی در خون و مایعات خارج سلولی نیاز دارند (۲۰). بیده (۵) بیان کرد که کربنات منیزیم از سنگ‌های معدنی و یا در موارد نادر به طور مستقیم از زمین استخراج می‌شود. کربنات منیزیم از طریق حرارت منجر به تولید اکسید منیزیم شده که این فرآیند سبب افزایش ظرفیت بافری و بدنبال آن سبب افزایش pH شکمبه می‌گردد. افزودن اکسید منیزیم در مقابل بیکربنات سدیم به جیره باعث افزایش pH شد ولی زمان ماندگاری pH در سطح بالا در منبع اکسید منیزیم نسبت به کربنات منیزیم کمتر بود (۱). به طور کلی در مورد اثرات متقابل منبع و اختلاف کاتیون – آنیون بر متابولیسم شکمبه و بهینه سازی منابع با توجه به اثری که بر متابولیسم میکروبی می گذارند، اطلاعات اندکی در دست است. بنابراین هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر منبع و اختلاف کاتیون – آنیون بر پایه جیره گاو شیری بر تغییرات pH و ویژگی های تخمیر میکروبی شکمبه و تجزیه پذیری ماده خشک در شرایط برون‌تنی می‌باشد.

مواد و روش ها

جیره‌های آزمایشی برای استفاده در روش تولید گاز بر اساس تأمین نیازهای متابولیکی گاو شیری با استفاده از نرم افزار جیره نویسی برای گاو شیری در اوایل شیردهی با میانگین۵۸۰ کیلوگرم وزن بدن، سن ۲۵ ماهگی و تولید روزانه ۳۵ کیلوگرم تنظیم شد (۲۰) (جدول ۱). سپس نمونه‌های آزمایشی با آسیاب و غربال یک میلی‌متری پودر شده و ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام، خاکستر، NDF و ADF آنها مطابق با توصیه‌های AOAC (۲) تعیین شد. در مرحله بعد غلظت عناصر کلسیم، سدیم، پتاسیم و منیزیم با استفاده از روش جذب اتمی (مدل analytik jena- contraa 700) و فسفر و گوگرد با روش رنگ سنجی و دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل SHIMADZU- Biospec- 1601) و کلر با روش گراویمتری تعیین شد. بدین منظور ۵ گرم نمونه با ۲۰ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ ٪ داخل کروزه ریخته شد. پس از خشک شدن کروزه‌ها در کوره الکتریکی با دمای ۴۵۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۸ ساعت قرار گرفت تا خاکستر سفید شود. پس از سرد شدن محتوای کروزه‌ها در آب داغ حل شد و با کاغذ صافی بدون خاکستر صاف شد (محلول۱). باقیمانده روی کاغذ صافی دوباره به کروزه انتقال داده شد تا درکوره خاکستر شود. خاکستر بدست آمده در اسید نیتریک (۱+۴) حل شده وصاف شد(محلول۲) . محلول ۱ و ۲ با هم ترکیب شده و به حجم۱۰۰ میلی‌لیتر رسید. به محلول فوق نیترات نقره ۱۰ ٪ اضافه شد تا لخته تشکیل شود. لخته با کاغذ صافی صاف شد و در دمای ۱۵۰ – ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شده و وزن گردید. در مرحله آخر درصد کلر در رسوب کلرید نقره محاسبه شد (AOAC متود ۹۲۸/۰۴). سپس اختلاف کاتیون – آنیون جیره پایه بر اساس معادله گاف و همکاران (۱۱) تعیین شد. به منظور بررسی اثر منبع مکمل کاتیونی و سطوح مختلف اختلاف کاتیون – آنیون جیره گاو شیری بر کنتیک تولید گاز و تجزیه‌پذیری ظاهری ماده خشک از آزمایش تولید گاز به روش نیمه اتوماتیک با ۱۵ تکرار و ۲ اجرا استفاده شد (۶). در این روش ابتدا مایع شکمبه قبل از تغذیه صبح از ۳ رأس گاو هلشتاین دارای فیستولای شکمبه ای واقع در واحد دامپروری دانشکده کشاورزی بیرجند با میانگین وزن ۳۰ ±۶۰۰ کیلوگرم، که با نسبت کنسانتره به علوفه ۶۰ به ۴۰ تغذیه می‌شدند، به وسیله پمپ جمع آوری شد. محتویات شکمبه به وسیله چهار لایه پارچه متقال صاف شد و سپس به صورت بی‌هوازی درون بطری، داخل فلاسک عایق حاوی آب گرم ۳۹ درجه قرار داده شد و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید. جهت اطمینان از بی‌هوازی بودن مایع شکمبه صاف شده گاز دی اکسید کربن به داخل شیشه‌ها تزریق گردید و قبل از استفاده جهت انکوباسیون در حمام آب گرم (۳۹ درجه) قرار گرفت. نمک‌های کاتیونی (کربنات پتاسیم بدون آب (حاوی۵۶/۵۸ درصد پتاسیم) (KC[1])، کربنات پتاسیم سسکویی هیدرات (حاوی۴۷/۳۲ درصد پتاسیم) (KCS[2])، اکسید منیزیم (حاوی ۶۰/۳ درصد منیزیم) (MO[3]) و کربنات منیزیم (حاوی ۲۵/۰۲ درصد منیزیم) (MC[4])) به عنوان درصدی از جیره و بر مبنای معادله تنظیم DCAD جهت رسیدن به

1- potassium carbonate
2- potassium carbonate 1.5 H2O
3- Magnesium oxide
4- Magnesium carbonate

توازن های مورد نظر و محتوای ماده معدنی جیره پایه به شکل محلول‌های میکرولیتری با سمپلر به محیط کشت اضافه شد، سپس۵۰۰ میلی گرم نمونه ماده خشک و۵۰ میلی لیتر مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی (به نسبت ۱: ۲) در شیشه‌های ۱۲۰ میلی لیتری بی‌هوازی مخلوط شده و در دستگاه انکوباتور قرار داده شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی با منشاء مایع شکمبه تعداد ۳ عدد شیشه بدون ماده غذایی و فقط دارای مخلوط مایع شکمبه و بافر برای هر زمان به عنوان بلنک در نظر گرفته شد. فشار گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲، ۹۶و ۱۲۰ ساعت از آغاز انکوباسیون بر اساس کیلو پاسکال و با تخلیه در نقطه قرائت توسط فشار سنج کمی (CPG 2400, Sensor) اندازه گیری شد و به معادل حجمی در شرایط فشار و دمای استاندارد (فشار ۱ اتمسفر و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) تبدیل شد. برای اندازه‌گیری ماده خشک هضم شده حقیقی از محیط کشت و شرایط روش تولید گاز به شیوه کشت ثابت با سه تکرار برای هر فراسنجه استفاده شد. جهت توقف فعالیت میکروبی و اندازه‌گیری pH و قابلیت هضم ماده خشک ویال‌ها به داخل آب سرد منتقل گردید. اندازه‌گیری pH محیط کشت در زمان-های ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از انکوباسیون توسط pHمتر دیجیتال مدل Metrohm 727 pH lab انجام شد. تجزیه‌پذیری ظاهری ماده خشک در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت اندازه‌گیری شد (۹).

تیمار های آزمایشی

ترکیب تیمارهای آزمایشی در قالب طرح فاکتوریل به شرح زیر بود:

۱- جیره پایه، DCAD ۱۵۰، منبع کاتیون KC و MO
۲- جیره پایه، DCAD ۱۵۰، منبع کاتیون KC و MC
۳- جیره پایه، DCAD ۱۵۰، منبع کاتیون KCS و MO
۴- جیره پایه، DCAD ۱۵۰، منبع کاتیون KCS و MC
۵- جیره پایه، DCAD ۲۵۰، منبع کاتیون KC و MO
۶- جیره پایه، DCAD ۲۵۰، منبع کاتیون KC و MC
۷- جیره پایه، DCAD ۲۵۰، منبع کاتیون KCS و MO
۸- جیره پایه، DCAD ۲۵۰، منبع کاتیون KCS و MC
۹- جیره پایه، DCAD ۳۵۰، منبع کاتیون KC و MO
۱۰- جیره پایه، DCAD ۳۵۰، منبع کاتیون KC و MC
۱۱- جیره پایه، DCAD ۳۵۰، منبع کاتیون KCS و MO
۱۲- جیره پایه، DCAD ۳۵۰، منبع کاتیون KCS و MC

معادلات و روش های آماری

از مدل نمایی شفولد ($P=v(1-exp(-k(t)))$ (۲۴) برای برازش داده‌های تولید گاز با به کارگیری رویه NLIN نرم افزار آماری SAS به شیوه رگرسیون غیر خطی (۲۳) استفاده گردید. در این مدل p گاز تولیدی،v گاز مرتبط با سوبسترای دارای پتانسیل تخمیر و k نرخ تولید گاز در زمان t است. داده‌های به دست آمده از آزمون تولید گاز در قالب آزمایش فاکتوریل با سه سطح DCAD، دو نوع منبع مکمل پتاسیمی و دو نوع منبع مکمل منیزیمی با ۱۲ تیمار و ۱۵تکرار برای هرتیمار با استفاده از نرم افزار SAS (۲۳) رویه مدل خطی عمومی (GLM) تجزیه و تحلیل آماری شده و برای مقایسه میانگین ها از آزمون توکی کرامر در سطح ۵٪ خطا استفاده شد. مدل آماری مورد استفاده به صورت زیر می‌باشد. برای تحلیل داده‌های تکرار دار در زمان از روش Repeated measure و رویه آماری GLM استفاده شد.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + C_k + AB_{ij} + AC_{ik} + BC_{jk} + ABC_{ijk} + e_{ijkl}$$

مقدار هر مشاهدهY_{ijk} :

: میانگین کلμ

A_i: اثر سطح i ام عامل A

B_j: اثر سطح j ام عامل B

C_k: اثر سطح k ام عامل C

AB_{ij}: اثر متقابل سطح i ام از عامل A با سطح j ام از عامل B

AC_{ik}: اثر متقابل سطح i ام از عامل A با سطح k ام از عامل C

BC_{jk} :اثر متقابل سطح j ام از عامل B با سطح k ام از عامل C

ABC_{ijk} : اثر متقابل سطح i ام از عامل A با سطح j ام از عامل B با سطح k ام از عامل C

e_{ijkl} : اثر خطای آزمایشی

نتایج و بحث

فراسنجه‌های تخمیری مدل شفولد بر اساس داده های بدست آمده از آزمایش تولید گاز و فراسنجه‌های محاسباتی مرتبط در زمان $t_{0/5}$ در جدول (۲) گزارش شده است. براساس این نتایج تفاوت الگوی تخمیر از دیدگاه نرخ و پتانسیل تولید بین تیمارها معنی‌دار بود ($P<0.05$). نتایج نشان می‌دهد که کل گاز تولیدی (میلی‌لیتر) در زمان‌های مختلف انکوباسیون بین تیمارها تفاوت معنی‌دار دارد ($P<0.05$).

جدول ۱- ترکیب اجزاء تشکیل دهنده و مواد مغذی جیره های آزمایشی (بر اساس درصد ماده خشک)

Table 1- Composition and ingredients of experimental diets (basis of % DM)

محتویات Ingredients	تیمارهای آزمایشی[1] Treatments[1]											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
یونجه Alfalfa	7.41	7.41	7.41	7.41	7.41	7.41	7.41	7.41	7.41	7.41	7.41	7.41
سیلاژ ذرت Corn silage	17.37	17.37	17.37	17.37	17.37	17.37	17.37	17.37	17.37	17.37	17.37	17.37
دانه جو Barley grain	34.27	34.27	34.27	34.27	34.27	34.27	34.27	34.27	34.27	34.27	34.27	34.27
دانه ذرت Corn grain	18.29	18.29	18.29	18.29	18.29	18.29	18.29	18.29	18.29	18.29	18.29	18.29
کنجاله سویا Soybean meal	9.73	9.73	9.73	9.73	9.73	9.73	9.73	9.73	9.73	9.73	9.73	9.73
کنجاله تخم پنبه Cotton seed meal	3.94	3.94	3.94	3.94	3.94	3.94	3.94	3.94	3.94	3.94	3.94	3.94
سبوس گندم Wheat bran	2.062	2.062	2.062	2.062	2.062	2.062	2.062	2.062	2.062	2.062	2.062	2.062
کنجاله کانوا Canola meal	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37
پودر ماهی Fish meal	4.68	4.68	4.68	4.68	4.68	4.68	4.68	4.68	4.68	4.68	4.68	4.68
نمک Salt	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32
ویتامین پرمیکس[2] vit.permix[2]	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52
کربنات کلسیم Calcium carbonate	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02
کربنات پتاسیم بدون آب KC[3]	0.0056	0.0055	-	-	0.0118	0.0118	-	-	0.018	0.018	-	-
کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات KCS[4]	-	-	0.0067	0.0066	-	-	0.0141	0.0141	-	-	0.0215	0.0215
اکسید منیزیم MO[5]	0.00125	-	0.0012	-	0.0026	-	0.0026	-	0.004	-	0.004	-
کربنات منیزیم MC[6]	-	0.0029	-	0.00295	-	0.0061	-	0.0062	-	0.0095	-	0.0096
ترکیب شیمیایی محاسبه شده (٪) Calculated composition (%)												
انرژی خالص شیردهی (Mcal/kg) NE_L	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59
انرژی قابل متابولیسم ME (Mcal/kg)	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51	2.51
پروتئین خام CP	18.3	18.3	18.3	18.3	18.3	18.3	18.3	18.3	18.3	18.3	18.3	18.3
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ADF	13.7	13.7	13.7	13.7	13.7	13.7	13.7	13.7	13.7	13.7	13.7	13.7
فیبر نامحلول در شوینده خنثی NDF	35.1	35.1	35.1	35.1	35.1	35.1	35.1	35.1	35.1	35.1	35.1	35.1

کربوهیدرات غیر الیافی NFC	36.5	36.5	36.5	36.5	36.5	36.5	36.5	36.5	36.5	36.5	36.5	36.5
کلسیم Ca	1.206	1.206	1.206	1.206	1.206	1.206	1.206	1.206	1.206	1.206	1.206	1.206
سدیم Na	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192	0.192
پتاسیم K	1.308	1.303	1.307	1.300	1.651	1.647	1.648	1.644	1.994	1.988	1.989	1.984
منیزیم Mg	0.418	0.414	0.417	0.415	0.496	0.491	0.496	0.493	0.578	0.573	0.577	0.574
کلر Cl	0.795	0.795	0.795	0.795	0.795	0.795	0.795	0.795	0.795	0.795	0.795	0.770
فسفر P	0.801	0.801	0.801	0.801	0.801	0.801	0.801	0.801	0.801	0.801	0.801	0.801
گوگرد S	0.345	0.345	0.345	0.345	0.345	0.345	0.345	0.345	0.345	0.345	0.345	0.345
اختلاف آنیون - کاتیون جیره[۳] DCAD [3] (MEq/kg)	150	150	150	150	250	250	250	250	350	350	350	350

[۱]هر تیمار از ۱ تا ۱۲ شامل دو منبع پتاسیم و منیزیم، یک سطح اختلاف آنیون-کاتیون جیره است در همه تیمارها نسبت پتاسیم به منیزیم ۴/۲ ثابت در نظر گرفته شده است.

[1]Each treatment from 1 to 12 containing two sources of potassium and magnesium, and one level of DCAD in all treatment the ratio of K to Mg was fixed to 4.2 (NRC,2001).
[2]permix including: standard commercial mix of Fe, Mn, Zn, Se, Cu, I, and Vitamins of A, D_3,H_2, B_1, B_2, B_3, B_5, B_6, B_9, B_{12}, K_3, and Antioxidant.
[3]DCAD (MEq/KgDM) = (Na+K+0.15Ca+0.15Mg) - (Cl+0.2S+0.3P) (Goff et al. 1997).

تیمار حاوی سطح DCAD ۱۵۰ میلی‌اکی والان با دو منبع کربنات پتاسیم بدون آب و کربنات منیزیم بیشترین حجم گاز تولیدی در ۱۲۰ ساعت انکوباسیون، بیشترین پتانسیل تولید گاز (v)، و بیشترین نرخ تولید گاز(k) را به خود اختصاص داده است. طبق انتظار تیمار حاوی DCAD ۱۵۰+ میلی‌اکی والان با دو منبع کربنات پتاسیم بدون آب و کربنات منیزیم بیشترین گاز تولیدی در زمان $t_{0/5}$ (نیمه عمر انکوباسیون یا زمانی که نرخ تجزیه میکروارگانیسم‌ها در حداقل مقدار خود می‌باشد) را نیز به خود اختصاص داده است. ولی در این تیمار از آنجایی که نرخ تخمیر بالاتر بوده، زمان رسیدن به نصف پتانسیل تولید گاز پایین‌تر می‌باشد. بنابراین این تیمار باعث بهبود شرایط تخمیر در ساعات اولیه می‌شود و در نتیجه فاز سکون سریع‌تر شروع می‌شود. برای همین منابع کربنات پتاسیم بدون آب و کربنات منیزیم هنگامی که DCAD از ۱۵۰+ به ۲۵۰+ میلی‌اکی‌والان افزایش می‌یابد، پتانسیل تولید گاز، کل گاز تولیدی در ۱۲۰ ساعت وگاز تولیدی در زمان $t_{0/5}$ در کمترین مقدار خود می باشد اما زمان رسیدن به نصف پتانسیل تولید گاز بین این دو سطح DCAD اختلاف معناداری نداشت. بیشترین زمان $t_{0/5}$ مربوط به تیمار حاوی سطح اختلاف کاتیون – آنیون ۲۵۰+ میلی‌اکی‌والان بود که از دو منبع کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات و اکسید منیزیم استفاده شده بود. این افزایش می‌تواند معنای حفظ شرایط بهینه محیط کشت به لحاظ بافری به مدت طولانی‌تری نسبت به سایر تیمارها باشد.

نتایج نشان می‌دهد که اثرات اصلی دو منبع پتاسیم اختلاف معنادار آماری دارد به طوری که کربنات پتاسیم نسبت به کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات پتانسل تولید گاز و نرخ تخمیر بالاتری دارد. بنابراین انتظار می‌رود منبع کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات که نرخ تخمیر پایین‌تری دارد، تداوم تخمیر بالاتری داشته که افزایش تداوم تخمیر باعث افزایش قابلیت هضم و همچنین افزایش قابلیت هضم NDF می‌گردد. وست و همکاران (۲۸) بیان کردند که کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات ظرفیت بافری و پاسخ تولیدی بالاتری در مقایسه با بی‌کربنات پتاسیم دارد. منابع منیزیم مورد استفاده در این تحقیق از دیدگاه نرخ تخمیر و زمان $t_{0/5}$ با یکدیگراختلاف معنادار آماری نداشتند؛ ولی از نظر تولید گاز با یکدیگر اختلاف داشتند و به نظر می‌رسد که اکسید منیزیم باعث بهبود شرایط تخمیر شده است. اردمان و همکاران (۷) بیان کردند اکسید منیزیم محتوای چربی شیر گاوهایی که جیره‌های حاوی کنسانتره بالا را دریافت کردند را از طریق بهبود شرایط شکمبه حفظ می‌کنند.

جدول ۲- تأثیر اثرات متقابل و اصلی سطوح مختلف DCAD و منابع کاتیونی بر فراسنجه‌های تولید گاز بر پایه جیره گاو شیری

Table 2- Gas production kinetics of experimental diets containing different DCAD value and K and Mg sources

اثرات Effects	نوع منبع کاتیون یا سطح DCAD Type of cation source or DCAD level	V[2]	K[3]	$T_{0.5}$[4]	$G_{0.5}$[5]	Gas[6]
منبع پتاسیم × منبع منیزیم × DCAD PS[7]× MS[8] × DCAD[9]	150 × mc× kcs	102.026 ^{d}	0.050^{c}	13.832^{c}	50.513^{d}	61.193^{fg}
	250 × mc× kcs	101.053 ^{d}	0.048^{de}	14.331^{b}	50.526^{d}	60.409^{efghfg}
	350 × mc× kcs	100.146 ^{d}	0.047^{e}	14.760^{a}	50.073^{d}	59.328^{ghijkg}
	150 × mo× kcs	105.154 ^{c}	0.052^{b}	13.419^{d}	52.577^{c}	64.405^{c}
	250 × mo× kcs	104.477^{c}	0.046^{e}	14.958^{a}	52.238^{c}	61.539^{def}
	350 × mo× kcs	101.263^{d}	0.047^{e}	14.741^{a}	50.631^{d}	60.102^{fg}
	150 × mc× kc	116.616^{a}	0.054^{a}	12.858^{e}	58.308^{a}	72.741^{a}
	250 × mc × kc	95.134^{e}	0.050^{c}	14.009^{bc}	47.567^{e}	57.273^{h}
	350 × mc× kc	104.580^{c}	0.047^{e}	14.952^{a}	52.290^{c}	61.687^{def}
	150 × mo × kc	110.194^{b}	0.053^{ab}	13.117^{de}	55.097^{b}	68.166^{b}
	250 × mo × kc	99.514^{c}	0.049^{cd}	14.172^{bc}	49.757^{d}	59.663^{fg}
	350 × mo × kc	106.629^{c}	0.049^{de}	14.696^{a}	53.314^{c}	63.556^{cde}
	SEM	0.515	0.0002	0.077	0.257	0.440
سطح معنی‌داری P-value	MS	0.0001	0.896	0.180	0.0001	0.0017
	PS	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
	DCAD	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
	PS× MS	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002
	PS × DCAD	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
	MS × DCAD	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
	PS× MS × DCAD	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

[1]میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).
[2]گاز مربوط به سوبسترای دارای پتانسیل تخمیر بر حسب میلی‌لیتر
[3]نرخ تولید گاز در زمان
[4] زمان رسیدن به نصف پتانسل تولید گاز برحسب ساعت
[5] پتانسیل تولید گاز در زمانی که نرخ تجزیه میکروارگانیسم‌ها در حداقل مقدار می باشد
[6] حجم گاز تولیدی در ۱۲۰ ساعت انکوباسیون
[7] منبع پتاسیم
[8] منبع منیزیم
[9] تعادل آنیون و کاتیون جیره

[1]Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).
[2]Gas related to the substrate with fermentation potential in milliliters
[3]The rate of gas production in time
[4]The time (h) to reach half of the gas production potential
[5]The potential of producing gas at the time rate of microorganism degradation is minimal
[6]The volume of produced gas in 120 hours Incubation
[7]Potassium source
[8]Magnesium Source
[9]Dietary Cation – Anion Difference.

آلکس بچ و همکاران (۴) بیان کردند کردند که اکسید منیزیم نسبت به کربنات سدیم افزایش بالاتری دارد ولی زمان ماندگاری در محدوده بالا در منبع اکسید منیزیم پایین‌تر می باشد. اثرات اصلی DCAD نیز بر روی پارامترهای تخمیر شکمبه‌ای معنادار می‌باشد (P<0.05). اختلاف کاتیون – آنیون ۱۵۰+ میلی‌اکی‌والان نرخ تخمیر و در نتیجه تولید گاز بالاتری دارد. تبی و همکاران (۲۷) بیان کردند که اکسید منیزیم نسبت به سولفات منیزیم هنگامی که مقدار منیزیم جیره یکسان باشد، منبع مناسب‌تری برای گاو شیری هست. لنو و همکاران (۱۹) بیان کردند که زیست فراهمی اکسید منیزیم از سنگ آهک دولومیت بیشتر است. مطالعات قبلی نشان داده که جذب

ظاهری منیزیم در شکمبه به حلالیت منیزیم در شکمبه بر می‌گردد.

تأثیر سطوح مختلف DCAD و منابع کاتیونی بر روی pH محیط کشت batch culture

بر اساس نتایج بدست آمده به طور کلی اثرات متقابل DCAD، منابع منیزیمی و پتاسیمی بر روی pH محیط کشت و سطح زیر منحنی pH معنی‌دار نبود. سطح زیر منحنی pH تابعی از pH کل می‌باشد. ولی بیشترین pH تولیدی در تیمار حاوی تعادل آنیون – کاتیون ۱۵۰ میلی‌اکی والان تأمین شده از دو منبع کربنات پتاسیم و اکسید منیزیم در زمان ۷۲ ساعت بوده که از نظر آماری معنادار می‌باشد (P<0.05). همانطور که در بالا اشاره شد این تیمار به لحاظ تخمیر نیز شرایط مطلوب‌تری را دارا می‌باشد. نتایج شاخص اسیدیته شکمبه نشان داد که در دو منبع مشابه کربنات پتاسیم و اکسید منیزیم افزایش DCAD، شاخص اسیدیته شکمبه را کاهش می‌دهد. اکسید منیزیم سبب تحریک مصرف خوراک و قابلیت هضم ماده خشک و افزایش چربی شیر در طی دوره شیردهی می‌شود. اکسید منیزیم همچنین به واسطه خاصیت بافری که دارد سبب افزایش شاخص اسیدیته شکمبه شده و از بروز اسیدوز در شکمبه جلوگیری می‌کند. آلکس بچ و همکاران (۴) بیان کردند کردند که اکسید منیزیم نسبت به کربنات سدیم افزایش pH بالاتری دارد ولی زمان ماندگاری pH در محدوده بالا در منبع اکسید منیزیم پایین‌تر می باشد. در بین اثرات اصلی اثر منبع منیزیم بر روی pH محیط کشت معنی‌دار نبود؛ ولی منبع پتاسیم اثر معنی‌داری بر روی pH محیط کشت و سطح زیر منحنی pH دارد (P<0.05). منبع کربنات پتاسیم pH شکمبه بالاتری نسبت به کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات دارد.

جدول ۳- تأثیر اثرات اصلی سطوح مختلف DCAD و منابع کاتیونی بر روی pH کل، pH در زمان‌های مختلف انکوباسیون و سطح زیر منحنی pH (سانتی‌متر مربع)

Table 3- In vitro ruminal pH related parameters of experimental diets containing different DCAD value and K and Mg sources

اثرات Effects	نوع منبع کاتیون یا سطح DCAD Type of cation source or DCAD level	زمان Time 12	24	48	72	pH کل[۲] Total[2]	سطح زیر منحنی pH Area under the curve of rumen pH
منبع پتاسیم Potassium source	kcs	6.744	6.573	6.590	6.565[b]	6.618[b]	2.206[b]
	kc	6.775	6.580	6.595	6.600[a]	6.637[a]	2.211[a]
	p-value	0.153	0.573	0.689	0.001	0.015	0.044
	SEM	0.015	0.009	0.0088	0.0075	0.005	0.0018
منبع منیزیم Magnesium Source	mc	6.775	6.579	6.590	6.583	6.632	2.210
	mo	6.745	6.574	6.595	6.581	6.624	2.207
	p-value	0.160	0.729	0.722	0.796	0.302	0.283
	SEM	0.015	0.009	0.0088	0.0075	0.005	0.0018
تعادل آنیون و کاتیون جیره DCAD	150	6.785	6.546	6.601	6.854[ab]	6.629	2.208
	250	6.740	6.586	6.587	6.562[b]	6.619	2.207
	350	6.754	6.597	6.590	6.600[a]	6.635	2.211
	p-value	0.223	0.004	0.645	0.018	0.252	0.371
	SEM	0.0184	0.011	0.0108	0.009	0.006	0.0022

[۱]میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

[۲] pH کل: تغییرات اسیدیته پس از حذف اثر زمان در کل مدت انکوباسیون در اثر فاکتورهای آزمایشی

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

[2] Total pH: Acidity changes after removal of the effect of time over the whole incubation time due to experimental factors

هاریسون و همکاران (۱۲) گزارش کردند که افزودن کربنات پتاسیم به جیره باعث بهبود اسیدیته شکمبه و وضعیت اسید و باز حیوان از طریق افزایش غلظت یون پتاسیم، افزایش DCAD و افزایش ظرفیت بافری شده و اثرات منفی جیره‌های حاوی کنسانتره بالا بر روی سنتز چربی شیر را خنثی می‌کند. اثرات سطوح مختلف تعادل آنیون – کاتیون جیره بر روی pH در زمان‌های ۲۴ و ۷۲ اختلاف معنی‌داری دارد (P<0.05). با افزایش سطح DCAD جیره در زمان ۱۲ انکوباسیون اختلاف معنی داری بر روی شاخص اسیدیته شکمبه مشاهده نشد. ولی در زمان‌های ۲۴ و ۷۲ با افزایش DCAD، شاخص اسیدیته افزایش یافت.

راش و همکاران (۲۲) بیان کردند که با افزایش DCAD شاخص اسیدیته شکمبه افزایش می‌یابد. با توجه به این که افزایش اختلاف آنیون – کاتیون جیره باعث افزایش ظرفیت بافری شکمبه و خون می‌شود، می‌توان با افزایش تفاوت آنیون – کاتیون جیره در محدوده منطقی از طریق افزایش pH شکمبه و خون، ابتلا به بیماری‌هایی از قبیل اسیدوز را کاهش و مصرف خوراک را افزایش داد

تا در نهایت سلامت دام بهبود و تولید شیر و راندمان تولید مثل افزایش یابد (۲۶). بر اساس نتایج بدست آمده در زمان ۲۴ بیشترین pH شکمبه مربوط به DCAD، ۳۵۰ میلی‌اکی والان و کمترین pH مربوط به DCAD، ۱۵۰ میل‌اکی‌والان می‌باشد. ولی در این زمان بین دو DCAD، ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌اکی‌والان اختلاف معناداری مشاهده نشد. از طرفی اثرات متقابل دوتایی DCAD و منبع پتاسیم سطح زیر منحنی pH وکل pH در کل ۷۲ ساعت انکوباسیون را تحت تأثیر قرار داد که احتمالاً استفاده از منابع پتاسیمی باعث بهبود شرایط شکمبه‌ای از قبیل تأمین مواد معدنی برای میکروارگانیسم‌ها، تبادل آنیون‌ها و کاتیون‌ها بین میکروارگانیسم‌ها با محیط شکمبه و بهبود pH و در نتیجه افزایش تخمیر شکمبه شده است. ولی اثر متقابل دوتایی منبع منیزیم و DCAD بر روی pH اختلاف معنی‌داری نداشت. کاواس و همکاران (۱۸) بیان کردند که با افزایش کربنات پتاسیم به جیره غلظت آمونیاک شکمبه به صورت خطی کاهش و pH شکمبه به صورت خطی افزایش می‌یابد.

جدول ٤- تأثیر اثرات متقابل دوتایی سطوح مختلف DCAD و منابع کاتیونی بر روی pH کل، pH در زمان‌های مختلف انکوباسیون و سطح زیر منحنی pH (سانتی‌متر مربع)

Table 4- The effect of Two way interaction of different levels of DCAD and cation sources on total pH, pH at different times and area under the pH curve (cm2)

اثرات Effects	نوع منبع کاتیون یا سطح DCAD Type of cation source or DCAD level	زمان Time 12	24	48	72	pH کل[۲] Total[2]	سطح زیر منحنی pH Area under the curve of rumen pH
منبع پتاسیم × منبع منیزیم	mc× kcs	6.768	6.571	6.578	6.566	6.621	2.207
	mo× kcs	6.721	6.575	6.602	6.653	6.615	2.205
Potassium source × Magnesium Source	mc× kc	6.782	6.587	6.603	6.601	6.643	2.213
	mo× kc	6.768	6.573	6.587	6.598	6.632	2.209
	p-value	0.429	0.0489	0.114	0.958	0.722	0.608
	SEM	0.0213	0.012	0.0124	0.0107	0.007	0.0026
منبع پتاسیم × تعادل آنیون و کاتیون جیره	Kcs*150	6.740	6.532[b]	6.605	6.535[d]	6.603[b]	2.201[b]
	Kcs*250	6.755	6.580[ab]	6.584	6.564[bcd]	6.620[ab]	2.207[ab]
	Kcs*350	6.739	6.607[a]	6.581	6.595[abc]	6.630[ab]	2.210[ab]
Potassium source × DCAD	Kc*150	6.830	6.560[ab]	6.596	6.632[a]	6.655[a]	2.215[a]
	Kc*250	6.726	6.593[ab]	6.591	6.560[bcd]	6.618[ab]	2.207[ab]
	Kc*350	6.769	6.587[ab]	6.598	6.606[ab]	6.640[ab]	2.212[ab]
	p-value	0.0824	0.0151	0.694	0.0006	0.0154	0.0268
	SEM	0.0261	0.0156	0.0152	0.0131	0.009	0.0031
منبع منیزیم × تعادل آنیون و کاتیون جیره	mc*150	6.777	6.559	6.623	6.575	6.633	2.210
	mc*250	6.761	6.580	6.582	6.572	6.624	2.208
	mc*352	6.786	6.597	6.566	6.604	6.638	2.212
	mo*150	6.793	6.534	6.579	6.593	6.625	2.205
	Mo*250	6.720	6.592	6.593	6.552	6.614	2.206
Source Magnesium × DCAD	Mo*350	6.721	6.597	6.613	6.597	6.632	2.210
	p-value	0.288	0.492	0.0154	0.339	0.982	0.875
	SEM	0.0261	0.0156	0.0152	0.0131	0.009	0.0031

[۱]میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

[۲] pH کل: تغییرات اسیدیته پس از حذف اثر زمان در کل مدت انکوباسیون در اثر فاکتورهای آزمایشی

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

[2] Total pH: Acidity changes after removal of the effect of time over the whole incubation time due to experimental factors

جدول ۵- تأثیر اثرات متقابل سه تایی سطوح مختلف DCAD و منابع کاتیونی بر روی pH کل، pH در زمان‌های مختلف انکوباسیون و سطح زیر منحنی pH (سانتی‌متر مربع)

Table 5- The effect of three way interaction of different levels of DCAD and cation sources on total pH, pH at different times and area under the pH curve (cm2)

اثرات Effects	نوع منبع کاتیون یا سطح DCAD Type of cation source or DCAD level	زمان Time				pH	
		12	24	48	72	کل[۲] Total[2]	سطح زیر منحنی pH Area under the curve of rumen pH
پتاسیم × منبع منیزیم × DCAD	150 ×mc × kcs	6.730	6.540	6.611	6.535[b]	6.604	2.201
	250 ×mc × kcs	6.815	6.560	6.568	6.561[ab]	6.626	2.208
	350 ×mc × kcs	6.760	6.613	6.555	6.603[ab]	6.632	2.211
	150 × mo× kcs	6.750	6.525	6.600	6.536[b]	6.602	2.200
	250 ×mo × kcs	6.695	6.600	6.600	6.566[ab]	6.615	2.206
	350 ×mo × kcs	6.718	6.601	6.608	6.586[ab]	6.628	2.210
Potassium source × Magnesium Source × DCAD	150 ×mc × kc	6.825	6.578	6.635	6.615[ab]	6.663	2.219
	250 × mc × kc	6.708	6.601	6.596	6.583[ab]	6.622	2.208
	350 ×mc × kc	6.813	6.581	6.578	6.605[ab]	6.644	2.213
	150 × mo × kc	6.836	6.543	6.558	6.650[a]	6.647	2.211
	250 × mo × kc	6.745	6.585	6.586	6.538[b]	6.613	2.206
	350 × mo × kc	6.725	6.593	6.618	6.608[ab]	6.636	2.211
	p-value	0.126	0.445	0.700	0.0026	0.907	0.821
	SEM	0.036	0.022	0.0216	0.0185	0.013	0.0045

[۱]میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

[۲] pH کل: تغییرات اسیدیته پس از حذف اثر زمان در کل مدت انکوباسیون در اثر فاکتورهای آزمایشی

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

[2] Total pH: Acidity changes after removal of the effect of time over the whole incubation time due to experimental factors

جدول (۶) نشان می‌دهد که تجزیه‌پذیری ماده خشک تحت تأثیر تیمارهای مختلف آزمایشی قرار گرفته است. به طور کلی در تیمارهای مختلف با افزایش سطح اختلاف آنیون – کاتیون جیره قابلیت هضم ظاهری ماده خشک به صورت خطی افزایش یافته است. افزایش DCAD باعث افزایش pH و ظرفیت بافری شکمبه شده که خود منجر به افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار تولیدی در شکمبه و بهبود عملکرد شکمبه و افزایش سرعت تجزیه‌پذیری و سرعت عبور بالای تخلیه شکمبه می‌شود. که این خالی شدن شکمبه منجر به افزایش مصرف ماده خشک می‌شود (۱۲). لنو و همکاران (۱۹) بیان کردند که منابع معدنی مختلف با ساختار شیمیایی متفاوت دارای ظرفیت بافری متنوع بوده که تخمیر شکمبه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. همچنین نشان دادند که کاهش مقدار منیزیم در جیره مصرف ماده خشک را هم در شرایط درون‌تنی و هم برون‌تنی کاهش می‌دهد. هیو و همکاران (۱۴) با افزایش DCAD جیره افزایش ۰/۴ کیلوگرم ماده خشک را گزارش کردند. اوانیوک و همکاران (۱۵) نشان دادند که افزایش DCAD از ۲۵۷ به ۶۰۳ میلی‌اکی‌والان، مصرف ماده خشک را از ۲۲/۳ به ۲۳/۶ کیلوگرم در روز افزایش می‌دهد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. آپربوسارد و همکاران (۳) بیان کردند که افزایش DCAD با استفاده از منابع کاتیونی از قبیل کربنات پتاسیم مصرف ماده خشک را به صورت خطی افزایش می‌دهد. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر روی قابلیت هضم ماده خشک در جدول (۸) نشان داده شده است. بر اساس نتایج بدست آمده با افزایش زمان انکوباسیون قابلیت هضم ماده خشک به صورت خطی افزایش یافته است. در زمان ۱۲ انکوباسیون بیشترین قابلیت هضم ماده خشک مربوط به تیمار حاوی DCAD، ۳۵۰ میلی‌اکی‌والان که از دو منبع کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات و کربنات منیزیم تأمین شده می‌باشد. در همین تیمار با افزایش زمان انکوباسیون به ۷۲ ساعت قابلیت هضم ماده خشک افزایش یافته است. کمترین قابلیت هضم در کل زمان انکوباسیون مربوط به تیمار با اختلاف آنیون – کاتیون ۱۵۰ میلی‌اکی‌والان بود که از منابع کربنات پتاسیم و کربنات منیزیم تأمین شده بود. اثرات اصلی نشان دهنده این می‌باشند که در بین منابع پتاسیمی، کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات به طور قابل توجهی قابلیت هضم ماده خشک را افزایش داده است. البته این افزایش تا زمان ۴۸ ادامه داشته و سپس متوقف شده است.

جدول ٦- تأثیر اثرات اصلی سطوح مختلف DCAD و منابع کاتیونی بر روی قابلیت هضم ظاهری ماده خشک در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Table 6- The main effects of different levels of DCAD and cationic sources on the invitro DM digestibility during the ancobation times

اثرات Effects	نوع منبع کاتیون یا سطح DCAD Type of cation source or DCAD level	زمان Time					
		صفر	12	24	48	72	120
منبع پتاسیم Potassium source	kcs	0.185	0.611a	0.747[a]	0.841[a]	0.868	0.869
	kc	0.185	0.573b	0.707[b]	0.798[b]	0.858	0.859
	p-value	1.000	0.005	0.033	0.0019	0.282	0.865
	SEM	0.002	0.009	0.012	0.009	0.005	0.008
منبع منیزیم magnesium Source	mc	0.185	0.601	0.727	0.824	0.859	0.859
	mo	0.185	0.583	0.727	0.815	0.868	0.869
	p-value	1.000	0.199	1.000	0.47	0.258	0.805
	SEM	0.002	0.009	0.012	0.009	0.005	0.008
تعادل آنیون و کاتیون جیره DCAD	150	0.185	0.558[c]	0.690[b]	0.779[c]	0.853	0.856
	250	0.185	0.602[ab]	0.737[ab]	0.841[a]	0.868	0.869
	350	0.185	0.616[a]	0.754[a]	0.838[ab]	0.869	0.875
	p-value	1.000	0.0022	0.0153	0.0003	0.172	0.128
	SEM	0.003	0.011	0.015	0.011	0.006	0.009

[1]میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

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

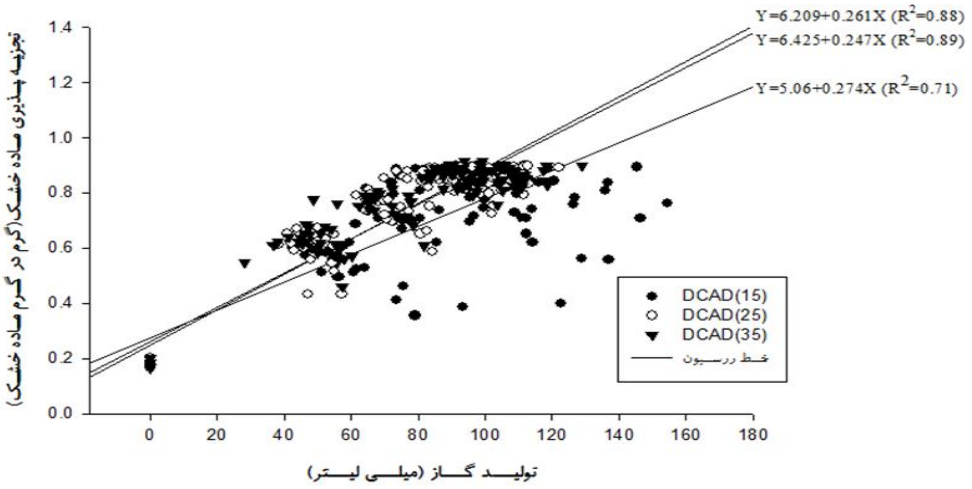
جدول ۷- تأثیر اثرات متقابل دوتایی سطوح مختلف DCAD و منابع کاتیونی بر روی قابلیت هضم ظاهری ماده خشک در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Table 7- The effect of dual interactions DCAD of different levels and cationic sources on the apparent digestibility of dry matter at different incubation times

اثرات Effects	نوع منبع کاتیون یا سطح DCAD Type of cation source or DCAD level	زمان Time					
		صفر	12	24	48	72	120
منبع پتاسیم × منبع منیزیم Potassium source × Source magnesium	mc× kcs	0.185	0.628[a]	0.758	0.839[ab]	0.865	0.866
	mo× kcs	0.185	0.594[ab]	0.737	0.844[a]	0.871	0.872
	mc× kc	0.185	0.573[b]	0.697	0.810[ab]	0.853	0.857
	mo× kc	0.185	0.572[b]	0.718	0.786[b]	0.866	0.867
	p-value	1.000	0.0212	0.251	0.0165	0.653	0.903
	SEM	0.003	0.013	0.018	0.013	0.007	0.011
DCAD × منبع پتاسیم Potassium source × DCAD	Kcs*150	0.185	0.599[ab]	0.724[abc]	0.823[ab]	0.873	0.875
	Kcs*250	0.185	0.608[ab]	0.752[ab]	0.852[a]	0.864	0.866
	Kcs*350	0.185	0.627[a]	0.765[a]	0.848[ab]	0.867	0.874
	Kc*150	0.185	0.518[b]	0.656[c]	0.753[b]	0.834	0.837
	Kc*250	0.185	0.596[ab]	0.723[abc]	0.830[ab]	0.874	0.876
	Kc*350	0.185	0.604[ab]	0.744[abc]	0.829[ab]	0.871	0.879
	p-value	1.000	0.0002	0.0120	0.0001	0.028	0.579
	SEM	0.004	0.016	0.022	0.016	0.009	0.013
DCAD × منبع منیزیم Source magnesium × DCAD	mc*150	0.185	0.559[b]	0.681	0.788	0.841	0.841
	mc*250	0.185	0.631[a]	0.745	0.845	0.864	0.867
	mc*352	0.185	0.611[ab]	0.756	0.840	0.873	0.879
	mo*150	0.185	0.557b	0.699	0.771	0.865	0.866
	Mo*250	0.185	0.573[ab]	0.730	0.837	0.875	0.876
	Mo*350	0.185	0.620[ab]	0.752	0.837	0.865	0.870
	p-value	1.000	0.0237	0.756	0.919	0.271	0.767
	SEM	0.004	0.016	0.022	0.016	0.009	0.013

[1]میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

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



شکل ۱- رابطه رگرسیون خطی بین تولید از و تجزیه‌پذیری ماده خشک در سطوح مختلف تعادل آنیون – کاتیون جیره گاو شیری

Figure 1- Linear regression between gas production and dry matter degradability in different levels of DCAD in dairy cow's diet

جدول ۸- تأثیر اثرات متقابل سه تایی سطوح مختلف DCAD و منابع کاتیونی بر روی قابلیت هضم ظاهری ماده خشک در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Table 8- The effect of triple interactions DCAD of different levels and cationic sources on the apparent digestibility of dry matter at different incubation times

اثرات Effects	نوع منبع کاتیون یا سطح DCAD Type of cation source or DCAD level	زمان Time					
		صفر	12	24	48	72	120
منبع پتاسیم × منبع منیزیم × DCAD	150 ×mc × kcs	0.185	0.614[ab]	0.741[ab]	0.819[ab]	0.873[ab]	0.875
	250 ×mc × kcs	0.185	0.632[ab]	0.759[ab]	0.845[ab]	0.859[ab]	0.862
	350 ×mc × kcs	0.185	0.639[a]	0.773[a]	0.852[ab]	0.864[ab]	0.876
	150 × mo× kcs	0.185	0.584[ab]	0.708[ab]	0.828[ab]	0.872[ab]	0.875
	250 ×mo × kcs	0.185	0.584[ab]	0.745[ab]	0.860[a]	0.870[ab]	0.870
	350 ×mo × kcs	0.185	0.615[ab]	0.757[ab]	0.844[ab]	0.870[ab]	0.872
Potassium source × Magnesium Source × DCAD	150 ×mc × kc	0.185	0.505[b]	0.621[b]	0.756[ab]	0.810[b]	0.827
	250 × mc × kc	0.185	0.631[ab]	0.730[ab]	0.846[ab]	0.868[ab]	0.869
	350 ×mc × kc	0.185	0.583[ab]	0.740[ab]	0.829[ab]	0.882[a]	0.883
	150 × mo × kc	0.185	0.531[ab]	0.691[ab]	0.715[b]	0.858[ab]	0.859
	250 × mo × kc	0.185	0.561[ab]	0.715[ab]	0.814[ab]	0.880[ab]	0.881
	350 × mo × kc	0.185	0.625[ab]	0.748[ab]	0.830[ab]	0.860[ab]	0.869
	p-value	1.000	0.0059	0.047	0.0042	0.0191	0.853
	SEM	0.006	0.022	0.031	0.022	0.013	0.019

[1]میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

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

بنابراین می‌توان اینگونه پیشنهاد نمود که از آنجایی که حلالیت کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات در شکمبه بالاتر است بنابراین احتمالاً اضافه نمودن کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات باعث بهبود شرایط بافری شکمبه می‌شود و منبع فراهم‌تری برای تأمین پتاسیم برای جمعیت میکروبی می‌باشد، قابلیت هضم ماده خشک را افزایش داده است که با نتایج وست و همکاران (۲۸) که گزارش کردند کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات ظرفیت بافری و پاسخ تولیدی بالاتری در مقایسه با بی‌کربنات پتاسیم و بی کربنات سدیم دارد مطابقت دارد. هاریسون و همکاران (۱۲) افزودن کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات به جیره، تولید اسید چرب trans-10 را کاهش

می‌دهد. مطالعات آزمایشگاهی نشان داد که افزودن کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات به جیره باعث توسعه مسیر غالب بیوهیدروژناسیون اسید چرب شده که به وسیله تشکیل بیشتر اسید چرب trans-11 18:1 مشخص می‌شود. علاوه بر این استفاده از مکمل کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات میزان ایزومرهای نامطلوب CLA نظیر(trans-10,cis-12 CLA) را که تغییر دهنده مسیرهای زیست هیدروژناسیون شکمبه‌اند و باعث سندروم افت چربی شیر می‌شوند را کاهش می‌دهد (۱۶).

شکل (۱) تابعیت گاز تولیدی از تجزیه‌پذیری ماده خشک بین سطوح مختلف DCAD را نشان می‌دهد. بر اساس این نمودار DCAD، ۲۵۰+، ۳۵۰+ میلی‌اکی‌والان بالاترین همبستگی و DCAD، ۱۵۰ میلی‌اکی‌والان کمترین همبستگی را با تجزیه‌پذیری کل ماده خشک دارد. این نتایج نشان می‌دهد که DCAD، ۲۵۰+ و ۳۵۰+ میلی‌اکی‌والان از طریق بهبود شرایط بهینه محیط کشت به نفع جمعیت میکروبی شکمبه باعث افزایش تجزیه‌پذیری ماده خشک و درنتیجه افزایش گاز تولیدی حاصل از تخمیر مواد آلی می‌شود.

نتیجه گیری کلی

از آنجایی که گاز تولیدی ممکن است منشأ بافری داشته و یا گاز متان حاصل از تخمیر باشد، بنابراین نمی‌توان به طور قطعی بیان کرد که گاز تولیدی تابع تجزیه‌پذیری ماده خشک می‌باشد و پارامترهای pH و قابلیت هضم ماده خشک شاخص بهتری جهت بررسی اثرات جیره بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد. بر این اساس به نظر می‌رسد کربنات پتاسیم سسکوئی هیدرات و اکسید منیزیم به همراه DCAD ۲۵۰+ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم ماده خشک مکمل مناسبی درجیره گاو شیری هستند. پیشنهاد می‌شود که تحقیقات بیشتری بر روی اثرات DCAD و منابع کاتیونی بر مصرف ماده خشک و pH در حالت اسیدوز، آنزیم‌های شکمبه‌ای، اسیدهای چرب فرار تولیدی و اکوسیستم میکروبی شکمبه انجام شود.

منابع

1- Alfonso-Avila, A. R., E. Charbonneau, P. Y. Chouinard, G. F. Tremblay, and R. Gervais. 2017. Potassium carbonate as a cation source for early-lactation dairy cows fed high-concentrate diets. Journal of Dairy Science, 100(3): 1751-1765.

2- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. Vol. I. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.

3- Apper-Bossard, E., P. Faverdin, F. Meschy, and J. L. Peyraud. 2010. Effects of dietary cation-anion difference on ruminal metabolism and blood acid-base regulation in dairy cows receiving 2 contrasting levels of concentrate in diets. Journal of Dairy Science, 93(9): 4196-4210.

4- Bach, A., I. Guasch, G. Elcoso, J. Duclos, and H. Khelil-Arfa. 2018. Modulation of rumen pH by sodium bicarbonate and a blend of different sources of magnesium oxide in lactating dairy cows submitted to a concentrate challenge. Journal of Dairy Science, 101(11): 9777-9788.

5- Beede. D. 2017. Can we differentiate supplemental magnesium sources nutritionally? In Proc. Tri-State Dairy Nutrition Conference. Fort Wayne, IN : 99-107.

6- Blümmel, M., H. P. S. Makkar., and K. Becker. 1997. In vitro gas production: a technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 77(1-5): 24-34.

7- Erdman, R. A. 1988. Dietary Buffering Requirements of the Lactating Dairy Cow: A Review1. Journal of Dairy Science, 71(12): 3246-3266.

8- Erdman, R. A., R. L. Botts, R. W. Hemken, and L. S. Bull. 1980. Effect of dietary sodium bicarbonate and magnesium oxide on production and physiology in early lactation. Journal of Dairy Science, 63(6): 923-930.

9- Ghiasi, S. E., R. Valizadeh., and A. Naserian. 2015. Effect of oxidized soybean oil against the antioxidant role of pomegranate nucieus on rumen fermentation parameters in laboratory. Iranian Journal of Animal Science Research, 7(3): 244-256. (In Persian)

10- Ghodratnama, A., S. L. Scott, R. J. Seoaneand, and G. S. T. Laurent. 1999. Effect of cation-anion differences and EDTA on performance, ruminal fermentation, blood acid-base Status and Fe availability in grain fed calves. EAAP. 50th Annual Meeting, Zurich.

11- Goff J. P., R. L. Horst, T. A. Reinhardt, and D. R. Buxton. 1997. Preventing milk fever in dairy cattle. Proc. Tri State Dairy Nutrition Conference, Fort Wayne, IN, p. 41.

12- Harrison, J., R. White, R. Kincaid, E. Block, T. Jenkins, and N. St-Pierre. 2012. Effectiveness of potassium carbonate sesquihydrate to increase dietary cation-anion difference in early lactation cows. Journal of Dairy Science, 95(7): 3919-3925.

13- Hu, W., and M. R. Murphy. 2004. Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of lactating dairy cows: A meta-analysis. Journal of Dairy Science, 87(7): 2222-2229.

14- Hu, W., L. Kung, and M. R. Murphy. 2007. Relationships between dry matter intake and acid–base status of lactating dairy cows as manipulated by dietary cation–anion difference. Animal Feed Science and Technology, 136(3): 216-225.

15- Iwaniuk, M. E., A. E. Weidman, and R. A. Erdman. 2015. The effect of dietary cation-anion difference concentration and cation source on milk production and feed efficiency in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 98(3): 1950-1960.

16- Jenkins, T. C., W. C. Bridges, J. H. Harrison, and K. M. Young. 2014. Addition of potassium carbonate to continuous cultures of mixed ruminal bacteria shifts volatile fatty acids and daily production of biohydrogenation intermediates. Journal of Dairy Science, 97(2): 975-984.

17- Jenkins, T. C., P. H. Morris, and E. Block. 2012. Role of K on rumen fermentation and milk fat synthesis. In 23rd Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, University of Florida, 175-189.

18- Kawas, J. R., R. García-Castillo, H. Fimbres-Durazo, F. Garza-Cazares, J. F. G. Hernández-Vidal, E. Olivares-Sáenz, and C. D. Lu. 2007. Effects of sodium bicarbonate, and yeast on nutrient intake, digestibility, and ruminal fermentation of lightweight lambs fed finishing diets. Small Ruminant Research, 67(2): 149-156.

19- Leno, B. M., LaCount, S. E., Ryan, C. M., Briggs, D., Crombie, M, and Overton, T. R. 2017. The effect of source of supplemental dietary calcium and magnesium in the peripartum period, and level of dietary magnesium postpartum, on mineral status, performance, and energy metabolites in multiparous Holstein cows. Journal of Dairy Science, 100(9): 7183-7197.

20- National Research Council. NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. National Academy Press.

21- Razzaghi, A., H. Aliarabi., M. M. Tabatabaei., A. A. Saki., R. Valizadeh, and P. Zamani. 2012. Effect of Dietary Cation-Anion Difference during Prepartum and Postpartum Periods on Performance, Blood and Urine Minerals Status of Holstein Dairy Cow. Asian-Australian Journal of Animal Science. 25(4): 486-495.

22- Roch, J. R., S. Peth, and J. L. Kay. 2005. Manipulating the dietary cation anion difference via drenching to early lactating dairy cows grazing pasture. Journal of Dairy Science, 88: 264.

23- SAS Institute. 2009. SAS User's Guide. Version 9.2. SAS Inst. Inc.,Cary , NC.

24- Schofield, P., R. E. Pitt, and A. N. Pell. 1994. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. Journal of Animal Science, 72(11): 2980-2991.

25- Shahzad, M. A., and M. Sarwar. 2007. Nutrient intake, acid base status and growth performance of growing male buffalo calves fed varying level of dietary cation anion difference. Livestock Science, 111(1): 136-143.

26- Siadati, A., Y. Chashnidel, and E. Dirandeh. 2016. Considering dietary cation – anion changes on lactation performance, milk fatty acids profile and mineral concentration of serum in lactating dairy cows during heat stress. Iranian Journal of Animal Science, 113: 3-16.(In Persian)

27- Tebbe, A. W., D. J. Wyatt, and W. P. Weiss. 2017. Effects of magnesium source and monensin on nutrient digestibility and mineral balance in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 101(2): 1152-1163.

28- West, J. W., C. E. Coppock, D. H. Nave, J. M. Labore, L. W. Greene, and T. W. Odom. 1987. Effects of Potassium Carbonate and Sodium Bicarbonate on Rumen Function in Lactating Holstein Cows1. Journal of Dairy Science, 70(1): 81-90.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 181-195

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۱۹۵-۱۸۱

Effect of dairy cow dietary cation source and DCAD on invitro rumen fermentation parameters

Y. Feizdar barabady[1], S. E. ghiasi[2], M. Bagher montazer torbati[2]
Submitted: 25-02-2019
Accepted: 24-08-2019

Introduction Minerals are an essential component of all biochemical reactions of the animal's body and microorganisms. The difference between specific anions and cations has a greater contribution to the physiological performance of the livestock than their individual effects. In the last decade, several studies have conducted on the use of diet minerals and their interaction on increasing dry matter intake. Recent studies have shown that high-yielding cows in early lactation respond well to raising the level of dietary anion-cation difference in order to increase milk production. Published results are much fluctuated regarding to mineral source and the changes scouring in rumen ecosystem. The aim of this study was to evaluate the effect of DCAD level and cation source on rumen digestion kinetics.

Materials and methods In order to investigate the effects of cation source and dairy cow diet's DCAD level on microbial fermentation properties, the gas production and batch culture experiments were used. The experimental diets were prepared for use in the gas production method based on the metabolic needs of dairy cows using NRC system software. Then, the samples were milled and screened by one-millimeter mesh, and dry matter, crude protein, crude fat, ash, NDF and ADF were determined according to AOAC methods. In addition, the concentration of calcium, sodium, potassium and magnesium elements was determined by atomic absorption spectroscopy method, phosphorus, and sulfur were determined by colorimetric method and chlorine by gravimetry. Finally, the dietary cation-anion difference (DCAD) was calculated based on the Goff equation. The gas production parameters, the time corresponding to half of the maximum produced gas ($t_{0.5}$), rumen acidity and dry matter degradability were measured in a 2 × 2 × 3 factorial experiment. Main factors were included of DCAD (+150, +250 and +350 meq/kg DM), potassium sources (Potassium carbonate (KC)) and Potassium carbonate sesquihydrate (KCS)) and magnesium sources (magnesium oxide (MO) and magnesium carbonate (MC)).

Results and discussion Based on the results, there was a significant difference between treatments in gas production parameters, $t_{0.5}$, ruminal pH and dry matter degradability. Treatment with DCAD of +150 with two sources of KC and MC showed the highest amount of gas produced during 120 hours of incubation, with the highest potential for gas production and the highest gas production rate. In this treatment, since the fermentation rate was higher, $t_{0.5}$ was reduced. The main effects of two sources of potassium have a statistically significant difference, so that potassium carbonate has higher gas production and fermentation rates than potassium carbonate sesquihydrate. The interactions of DCAD, magnesium and potassium sources on the pH of the culture medium and the surface under the pH curve were not significant. Among the main effects, the effect of magnesium source on pH of culture medium was not significant, but the potassium source had a significant effect on pH and the surface under the pH curve, so that the potassium carbonate source had higher ruminal pH than the Potassium carbonate sesquihydrate. There was no significant difference in ruminal acidity with increasing DCAD level during 12 hours of incubation. However, at time 24 and 72, the acidity index increased with increasing DCAD. Dry matter degradation was influenced by different experimental treatments. In general, in different treatments, the apparent digestibility of dry matter has increased linearly with increasing levels of DCAD. The increase in DCAD results in an increase in rumen pH and rumen buffering capacity, which leads to an increase in the concentration of rumen-derived volatile fatty acids and improved rumen function, and increases the degradability. The difference in gas production from dry matter degradation between different levels of DCAD was also statistically significant, So that DCAD +250 and +350 may increase the degradability

1- PhD student of ruminant nutrition, Department of Animal Science, University of Birjand, Birjand, Iran,
2- Assistant Professor of ruminant nutrition, Department of Animal Science, University of Birjand, Birjand, Iran.
(*- Corresponding Author Email: s.e.ghiasi@birjand.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.79409

of dry matter and consequently, increased gas production by improving the culture medium status. The use of the KCS source reduced the fermentation rate and increased the fermentation time, which increased the digestibility of dry matter.

Conclusion Generally, it can be concluded that DCAD increases the rumen pH and buffering capacity, and therefore the use of KC and MC sources with DCAD +250 levels improves rumen fermentation, But the use of the KCS source specifically increases dry matter intake by supplying potassium for the microbial population and increasing digestibility. Based on this, potassium carbonate sesquihydrate and magnesium oxide with DCAD +250 seems to be an appropriate supplement to dairy cow.

Key words: Anion-cation balance, cationic sources, rumen fermentation, gas production, degradability.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 197-209

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۰۹-۱۹۷

مقاله علمی- پژوهشی

اثر تراکم انرژی و مواد مغذی جیره غذایی بر عملکرد و کیفیت تخم‌مرغ در دوره پس از تولک-بری مرغ‌های تخم‌گذار

سعید باقری[۱]، ابوالقاسم گلیان[۲*]، حسن نصیری مقدم[۲]، حیدر زرقی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۰۴

چکیده

به‌منظور بررسی اثر تراکم انرژی و مواد مغذی جیره غذایی در دوره پس از تولک‌بری بر عملکرد و کیفیت تخم‌مرغ، آزمایشی با استفاده از تعداد ۳۲۰ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه های‌لاین W-36 به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار، ۸ تکرار و ۸ قطعه پرنده در هر تکرار در دوره سنی ۱۰۳-۹۲ هفتگی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل جیره‌های غذایی با تراکم انرژی و مواد مغذی در سطوح ۹۱، ۹۴، ۹۷، ۱۰۰ و ۱۰۳ درصد مقادیر توصیه سویه بودند. در کل دوره آزمایش با افزایش تراکم انرژی و مواد مغذی جیره درصد تخم‌گذاری و گرم تخم‌مرغ تولیدی به ازای هر قطعه مرغ به-طور خطی و معنی‌دار افزایش و ضریب تبدیل خوراک به‌طور خطی و معنی‌دار بهبود یافت. تراکم انرژی و مواد مغذی جیره‌ها تأثیر معنی‌داری بر میزان مصرف خوراک، هزینه خوراک به ازای یک کیلوگرم تولید، وزن تخم‌مرغ، وزن نسبی اجزای تخم‌مرغ، واحد هاو، شاخص شکل تخم‌مرغ، وزن ویژه تخم‌مرغ و ضخامت پوسته تخم‌مرغ نداشتند. میزان نیاز به انرژی و مواد مغذی در مرغ‌های تخم‌گذار در دوره پس از تولک‌بری به‌منظور بهینه‌سازی شاخص‌های گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه و ضریب تبدیل غذایی با استفاده از مدل رگرسیونی خط شکسته خطی به ترتیب ۹۴/۹۶ و ۹۷/۰۲ درصد و با استفاده از مدل رگرسیونی خط شکسته درجه‌دو به ترتیب ۹۵/۷۱ و ۹۵/۹۵ درصد احتیاجات سویه برآورد شد. نتیجه کلی اینکه، در دوره پس از تولک-بری، استفاده از جیره‌هایی با تراکم انرژی و مواد مغذی در سطح ۹۷-۹۵ درصد توصیه سویه های‌لاین W-36 دارای مناسب‌ترین عملکرد تولیدی است.

واژه‌های کلیدی: تراکم انرژی و مواد مغذی، عملکرد، کیفیت تخم‌مرغ، مرغ‌های تخم‌گذار.

مقدمه

دستیابی به توان بالقوه ژنتیکی نیازمند فراهم کردن تمامی نیازهای طیور به‌ویژه نیاز مواد مغذی است (۲۱). انرژی و پروتئین حدود ۸۵ درصد از هزینه‌های خوراک را به خود اختصاص می‌دهند (۱۱). تنظیم صحیح پروتئین و اسیدهای آمینه جیره نقش مهمی در بهبود تولید تخم‌مرغ، رفاه پرنده و کاهش هزینه‌های تولید ایفا می‌کند (۱۴). افزایش کارایی خوراک از راه کاهش دفع مواد مغذی می‌تواند علاوه بر بهبود عملکرد تولیدی، موجب کاهش دفع نیتروژن شده که در راستای سیاست‌های کاهش آلودگی محیط‌زیست است. بنابراین، شناخت فراهمی مواد مغذی جیره و تعریف دقیق از نیازهای پرنده دو کلید مهم در بهبود کارآیی غذایی است (۲۷). علاوه بر این افزایش پیوسته هزینه‌های خوراک و نگرانی از تأثیر منفی سامانه‌های پرورش فشرده طیور بر روی محیط زیست، کارشناسان دانش تغذیه را وادار ساخته تا همواره سطح انرژی و مواد مغذی موردنیاز در جیره طیور را برآورد نمایند (۲۴).

با افزایش قیمت نهاده‌های دامی در سطح جهانی تنظیم جیره‌های متراکم باعث افزایش شدید بهای خوراک مصرفی می‌شود. اگرچه استفاده از جیره‌های کم‌تراکم باعث کاهش هزینه می‌شود، ولی چنانچه پرنده نتواند میزان مصرف خوراک خود را به‌منظور تأمین نیاز به انرژی و مواد مغذی جیره تنظیم کند، تولید کاهش خواهد یافت (۱۸). نتایج برخی پژوهش‌ها نشان داده است که مرغ‌های تخم‌گذار می‌توانند میزان مصرف خوراک خود را برای حفظ انرژی دریافتی تنظیم کنند (۱۲، ۱۹، ۲۹ و ۳۰) بنابراین، از جیره‌های غذایی رقیق در

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاو رزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۳-استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
(*-ایمیل نویسنده مسئول: (Email: Golian-a@um.ac.ir
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.73162

مقایسه با جیره‌های متراکم میزان بیشتری مصرف می‌کنند. البته برخلاف پژوهش‌های فوق، نشان داده است که مرغ‌ها در تنظیم مصرف خوراک آن‌گونه که فکر می‌شود، دقیق نیستند. یکی از دلایل اصلی این عدم توانایی، کاهش گنجایش دستگاه گوارش در سویه‌های نوین مرغ‌های تخم‌گذار است (۱۳).

به‌طور طبیعی گله‌های مرغ‌های تخم‌گذار را در سنین ۸۰-۷۰ هفتگی (حدود ۱۲-۱۰ ماهگی تولید) تولک می‌برند. ازآنجایی‌که درصد تولید تخم‌مرغ در دوره دوم تخم‌گذاری نسبت به دوره نخست تخم‌گذاری پایین‌تر است. بنابراین، نیاز به مواد مغذی این مرغ‌ها به علت پایین بودن تولید، کمتر خواهد بود. با توجه به اینکه در رابطه با نیازهای مرغ‌های تخم‌گذار در دوره پس از تولک‌بری بررسی‌های کمی انجام‌شده است، این آزمایش به‌منظور بررسی اثر تراکم انرژی و مواد مغذی جیره بر شاخص‌های عملکرد تولیدی، صفات کیفی تخم‌مرغ و عملکرد اقتصادی مرغ‌های تخم‌گذار سویه های لاین W-36 در دوره پس از تولک‌بری انجام شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۲۰ قطعه مرغ تخم‌گذار لگهورن سویه های‌لاین W-36 در دوره پس از تولک‌بری (پرندگان مورد آزمایش طبق برنامه غذایی توصیه‌شده در راهنمای سویه تولک برده شده بودند)، در سن ۹۰ هفتگی با شرایط ظاهری سالم و حتی‌الامکان یکنواخت، انتخاب شدند. هر دو قفس مجاور هم به‌عنوان یک واحد آزمایشی (۸ قطعه مرغ) در نظر گرفته شدند. دان‌خوری و محل استقرار تخم‌مرغ مربوط به هر واحد آزمایشی به‌وسیله حائل‌هایی از هم جدا شدند به‌گونه‌ای که خوراک و تخم‌مرغ تولیدی هر واحد با واحد آزمایشی مجاور مخلوط نگردد. پرندگان انتخاب‌شده به‌طور تصادفی بین واحدهای آزمایشی (هشت قطعه) با وزن گروهی یکسان تقسیم شدند. میانگین وزن زنده پرندگان قبل از شروع آزمایش ۷۰±۱۵۹۰ گرم بود. آزمایش در فصل بهار سال ۱۳۹۵ در دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. در طول دوره آزمایش، شرایط محیطی یکسانی برای همه گروه‌های آزمایشی تأمین شد. تمامی مرغ‌ها به‌صورت آزاد به آب آشامیدنی و خوراک دسترسی داشتند. در طول دوره آزمایش دمای سالن در محدوده ۲۰-۱۸ درجه سانتی‌گراد تنظیم و توسط دماسنج کنترل می‌شد. برنامه نوری شامل ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت خاموشی در شبانه‌روز اعمال شد.

این پژوهش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار، ۸ تکرار و تعداد ۸ قطعه مرغ در هر تکرار انجام شد. تیمارهای مورد آزمایش شامل تغییر تراکم انرژی و مواد مغذی جیره در سطوح ۹۱، ۹۴، ۹۷، ۱۰۰ و ۱۰۳ درصد نسبت به احتیاجات راهنمای سویه‌ی های لاین W-36 (۲۰۱۵) بود. جیره‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار UFFDA تنظیم شدند (جدول ۱). طول دوره آزمایش شامل دو هفته (۹۱-۹۰ هفتگی) دوره عادت‌پذیری و سه دوره ۲۸ روزه (۹۵-۹۲، ۹۹-۹۶، ۱۰۳-۱۰۰ هفتگی) دوره‌های رکورد برداری بودند.

جدول ۱- اجزاء تشکیل‌دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره‌های آزمایشی

Table 1- Ingredients and nutrients composition of the experimental diets

اجزاء جیره (٪) Ingredient (%)	نسبت تراکم انرژی و مواد مغذی جیره به احتیاجات سویه (درصد) Dietary energy and nutrient density ratio to strain recommendation (%)				
	91	94	97	100	103
ذرت Corn (ME=3373, CP=7.5%)	58.98	58.33	57.67	57.04	56.42
سبوس گندم Wheat brain (ME=1300, CP=14.8)	14.00	11.00	8.00	5.00	2.00
روغن سویا Soy oil (ME=8800)	0.88	2.00	3.14	4.25	5.34
کنجاله سویا Soybean meal (ME=2240, CP= 44)	14.65	16.83	18.97	21.11	23.25
دی‌کلسیم‌فسفات Di-calcium Phosphate	1.63	1.75	1.89	2.02	2.14
کربنات کلسیم Calcium carbonate	8.81	9.06	9.31	9.55	9.81
نمک طعام Common salt	0.31	0.32	0.32	0.35	0.38
دی‌ال-متیونین DL-Methionine	0.12	0.13	0.14	0.15	0.15

ال-لیزین هیدرو کلراید L-Lysine HCL	0.09	0.06	0.04	0.02	-
ال-ترئونین L-Threonine	0.03	0.02	0.02	0.01	0.01
مکمل ویتامینه[1] Vitamin premix[1]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی[2] Mineral Premix[2]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
ترکیب مواد مغذی (محاسبه‌شده) Nutrient composition (calculated)					
انرژی قابل متابولیسم (کیلوگرم/کیلوکالری) ME (kcal/kg)	2588	2673	2760	2845	2928
پروتئین خام (درصد) CP (%)	13.12	13.55	13.99	14.42	14.85
کلسیم (درصد) Ca (%)	3.77	3.89	4.02	4.14	4.27
فسفر قابل‌دسترس (درصد) Available P (%)	0.44	0.45	0.47	0.48	0.50
سدیم (درصد) Na (%)	0.15	0.16	0.16	0.17	0.18
متیونین قابل‌هضم (درصد) Digestible methionine (%)	0.31	0.33	0.34	0.36	0.36
متیونین+ سیستین قابل‌هضم (درصد) Digestible methionine + cystine (%)	0.51	0.52	0.54	0.56	0.57
ترئونین قابل‌هضم (درصد) Digestible threonine (%)	0.43	0.44	0.46	0.47	0.49
لیزین قابل‌هضم (درصد) Digestible lysine (%)	0.61	0.63	0.65	0.67	0.69
بهای جیره‌های آزمایشی (کیلوگرم/ریال) Experimental diet cost (Rial/kg)	9464	9908	10352	10796	11241

[1] در هر کیلوگرم جیره مواد زیر را تأمین می‌کرد: ویتامین A (رتینول) ۸۸۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین D_3 (کوله‌کلسیفرول)، ۳۳۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E (دی-ال- الفاتوکوفرول استات)، ۱۸/۵ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K_3 (منادیون)، ۲/۲ میلی‌گرم؛ ویتامین B_1 (تیامین)، ۱/۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B_2 (ریبوفلاوین) ۴/۰ میلی‌گرم؛ ویتامین B3 (نیاسین)، ۸ میلی‌گرم؛ ویتامین B_5 (اسید پانتوتنیک)،۳۵/۰ میلی‌گرم؛ ویتامین B_6 (پیرویدکسین)، ۲/۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B_9 (اسیدفولیک) ۰/۵ میلی‌گرم، ویتامین B_{12} (سیانوکوبالامین)، ۱۰ میکروگرم، ویتامین H (بیوتین)، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ کولین‌کلراید، ۵۰ میلی‌گرم.

[2] در هر کیلوگرم جیره مواد زیر را تأمین می‌کرد: روی (سولفات روی)، ۶۴/۰ میلی‌گرم؛ منگنز (سولفات منگنز)، ۸۰/۰ میلی‌گرم؛ سلنیوم (سلنیت سدیم)، ۰/۳ میلی‌گرم؛ ید، ۱ میلی‌گرم؛ مس (سولفات مس)، ۶/۰ میلی‌گرم؛ آهن (سولفات آهن)، ۷۵/۰ میلی‌گرم.

[3] در زمان اجرای آزمایش بهای خرید هر کیلوگرم ذرت، سبوس‌گندم، کنجاله سویا، کلسیم کربنات (سنگ‌آهک)، روغن سویا، دی‌کلسیم فسفات، نمک، مکمل ویتامینه، مکمل معدنی، متیونین، ترئونین، لیزین و بهای فروش هر کیلو گرم تخم‌مرغ به ترتیب: ۸۵۰۰، ۷۰۰۰، ۱۶۰۰۰، ۳۰۰، ۳۳۰۰۰، ۲۰۰۰۰، ۱۵۰۰، ۳۷۵۰۰، ۳۷۵۰۰، ۱۶۵۰۰۰، ۹۵۰۰۰، ۹۵۰۰۰ و ۲۸۵۰۰ ریال بود.

[1]Provides per kg of diet: vitamin A (retinol), 8800 IU; vitamin D3 (cholecalciferol), 3300 IU; vitamin E (DL-α-tocopheryl acetate), 18.5 IU; vitamin K_3 (menadione), 2.2 mg; vitamin B1 (thiamin), 1.5 mg; vitamin B_2 (riboflavin), 4.0 mg; vitamin B3 (niacin), 8.0 mg; vitamin B_5 (pantothenic acid), 35.0 mg; vitamin B6 (pyridoxine), 2.5 mg; vitamin B_9 (folic acid), 0.5 mg; vitamin B12 (cyanocobalamin), 10 µg; vitamin H_2 (biotin), 0.15 mg; choline, 468.7 mg.

[2]Provides (mg/kg of diet): Mn (manganese sulphate) 80.0, Fe (iron sulphate) 75.0, Zn (zinc sulphate) 64.0, Cu (copper sulphate) 6.0, Se (sodium selenite) 0.3.

Ingredients price: 8500, 7000, 16000, 300, 33000, 20000, 1500, 37500, 37500, 165000, 95000, 95000 and 28500 Rials per kg of corn, wheat brain, soy meal, calcium carbonate, vegetable oil, Di-calcium Phosphate, sodium chloride, vitamin premix, mineral premix, D-L-Met, L-Thr, Lys-HCL and egg, respectively.

در طول دوره آزمایش میزان تولید تخم‌مرغ هر واحد آزمایشی به‌صورت روزانه (تعداد و وزن) رکورد برداری و میزان تخم‌گذاری (درصد) و گرم تخم‌مرغ تولیدی (گرم به ازای هر پرنده در روز) محاسبه شد. میزان مصرف خوراک هر واحد آزمایشی در دوره آزمایش ثبت و پس از تصحیح بر اساس تلفات، میزان مصرف خوراک (گرم به ازای هر پرنده در روز) محاسبه شد. ضریب تبدیل خوراک هر واحد آزمایشی از تقسیم گرم مصرف خوراک به گرم تولید تخم‌مرغ محاسبه شد. میزان انرژی قابل متابولیسم و پروتئین دریافتی به ازای هر قطعه

پرنده در روز از ضرب میزان مصرف خوراک روزانه در مقدار انـرژی و یا پروتئین جیره‌های آزمایشی به دست آمد. به‌منظور بررسی عملکرد اقتصادی بهای اقلام خوراکی و تخم‌مرغ در فروردین‌ماه ۱۳۹۵ زمان اجرای طرح در نظر گرفته شد و هزینه خـوراک بـه ازای تولیـد یـک کیلوگرم تخم‌مرغ با استفاده از رابطه ۱ به دست آمد.

رابطه ۱) قیمت یک کیلوگرم خوراک × ضریب تبدیل خوراک =هزینه خوراک به ازای تولید یک کیلوگرم تخم‌مرغ

در سه روز پایانی سنین ۹۵، ۹۹ و ۱۰۳ هفتگی به‌منظور ارزیـابی شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ، دو عدد تخم‌مرغ (۴۸ عدد بـه ازای هـر تیمار) به‌طور تصادفی از تخم‌مرغ‌های تولیدی هر واحد آزمایشی کـه دارای وزنی معادل میانگین وزن تخـم‌مـرغ‌هـای تولیـدی آن واحـد آزمایشی بودند، جمع‌آوری شدند. تخم‌مرغ‌های جمع‌آوری‌شـده بـرای سنجش شاخص‌های میانگین وزن تخم‌مـرغ، وزن مخصـوص، وزن اجزای تخم‌مرغ (سفیده، زرده، پوسته)، واحد هـاو و ضـخامت پوسـته تخم‌مرغ به آزمایشگاه منتقل شدند. به‌منظـور تعیـین نسـبت اجـزای تخم‌مرغ پس از شکستن تخـم‌مـرغ، سـفیده از زرده جـدا، سـپس بـا غلطاندن زرده روی گاز مرطوب، آلبومن چسبیده به آن به‌طور کامـل زدوده و سپس وزن زرده تعیین شد. وزن پوسته پس از تمیـز کـردن محتویات و خشک‌کردن آن در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد بـه مدت دو ساعت با استفاده از ترازوی دیجیتـالی بـا دقـت ۰/۰۱ گـرم تعیین شد، وزن سفیده با کسر وزن زرده و پوسته از وزن کل تخم‌مرغ به طریق محاسباتی تعیین شد (۲۳).

اندازه‌گیـری ارتفـاع سـفیده بـا اسـتفاده از دسـتگاه ارتفـاع‌سـنج (مدل CE 300، ساخت کشور آلمان) به‌منظور برآورد واحد هاو انجام و با استفاده از رابطه ۲، واحد هاو محاسـبه شـد (۲۳). وزن مخصـوص تخم‌مرغ‌ها (گرم وزن تخم‌مرغ به ازای هر سانتی‌متر مکعب از حجـم آن) با استفاده از روش اسموندسون و بیکر (۵) تعیـین شـد. بـه ایـن منظور وزن تخم‌مرغ‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال بـا دقـت ۰/۰۱ گرم داخل و خارج از آب اندازه‌گیـری و بـا اسـتفاده از رابطـه ۳، وزن مخصوص تخم‌مرغ محاسبه شد. ضخامت پوسـته تخـم‌مـرغ در سـه ناحیه (کیسه هوایی، قطر و انتهای نوک‌تیز تخـم‌مـرغ) پـس از جـدا نمودن غشاها اندازه‌گیری و میانگین سه ناحیـه بـه‌عنـوان ضـخامت نهایی پوسته در نظر گرفته شد (۲۳).

رابطـــــــه ۲) واحد هاو = 100 × log(ارتفاع سفیده + 7.57) − 1.7 × وزن تخم مرغ$^{0.37}$)

رابطه ۳) وزن مخصوص تخم مرغ = $\frac{\text{وزن تخم مرغ خارج از آب}}{\text{تفاوت وزن تخم مرغ داخل و خارج از آب}}$

نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی، با استفاده از رویه مدل‌های خطی عمومی (GLM) نـرم‌افـزار آمـاری SAS ویـرایش ۹/۱ مـورد تجزیـه و تحلیـل قـرار گرفتنـد. مقایسـه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی (P<۰/۰۵) انجام شد. داده‌هـایی که به‌صورت نسبی (درصد) بودند، پس از تبدیل به استفاده از رابطه ۴ مورد تجزیه آمـاری قـرار گرفتنـد. مـدل آمـاری طـرح مورداسـتفاده به‌صورت رابطه ۵ بود.

رابطه ۴) $X = arcSin \sqrt{\frac{x}{100}}$

رابطه ۵) $Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + \varepsilon_{ij}$

که در این رابطه: Y_{ijk}، مقدار هر مشاهده؛ T_i، اثـر تیمـار؛ Bj، اثـر بلوک و ε_{ij}، اثر خطای آزمایش است.

مدل رگرسیونی خط شکسـته خطـی (رابطـه ۶) و خـط شکسـته درجه‌دو (رابطه ۷) برای برآورد احتیاجات بـا اسـتفاده از رویـه NLIN نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ برازش شد (۱). به‌منظور تعیین مناسب‌ترین مدل برازش شده از ضریب تعیین (مربـع ضـریب همبسـتگی "R^2") استفاده شد (رابطه ۸).

رابطه ۶) $Y = L + U(R-X) \text{ for } X<R \text{ or } Y=L \text{ for } X \geq R$

رابطه ۷)

$$Y = L + U(R-X)\,(R-X) \text{ for } X<R \text{ or } Y=L \text{ for } X \geq R$$

که در این رابطه‌ها: Y= پاسخ، L= حداکثر پاسخ، R= مقدار نیاز، X= دز و a, b, c and U = پارامترهـای تخمـین زده‌شـده مـدل‌هـا هستند.

رابطه ۸)

$$R^2 = \frac{(SST - SSE)}{SST}$$

نتایج و بحث

اثر سطح انرژی و مواد مغذی جیـره بـر شـاخص‌هـای سـنجش عملکرد تولیدی همچون مصرف خوراک، درصـد تخـم‌گـذاری، گـرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه، ضریب تبدیل خوراک، انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام دریافتی، هزینه تمام‌شده خوراک برای یـک کیلـوگرم تخم‌مرغ تولیدی و تغییرات وزن بدن مرغ‌ها تحت تیمارهای آزمایشی در دوره سـنی ۱۰۳-۹۲ هفتگـی (پـس از تولـک‌بـری) در جـدول ۲ گزارش‌شده است. اثر تراکم انـرژی و مـواد مغـذی جیـره بـر میـزان مصرف خوراک در کلیه دوره‌های سنی معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

جدول ۲- اثر تراکم انرژی و مواد مغذی بر عملکرد تولیدی، انرژی و پروتئین دریافتی و تغییرات وزن بدن در دوره پس از تولک‌بری تولید مرغ‌های تخم‌گذار سویه های- W36لاین

Table 2- Effects of dietary energy and nutrient density on performance, energy and protein intake and live body weight difference of "Hy-Line W36" laying hens in the 2nd production-cycle

سن (هفته) Age (week)	نسبت تراکم انرژی و مواد مغذی جیره به احتیاجات سویه (درصد) Dietary energy and nutrient density ratio to strain recommendation					SEM	P-Value		
	91	94	97	100	103		ANOVA	Liner equation	Quadratic equation
				مصرف خوراک (روز/ پرنده/ گرم) Feed intake (g/b/d)					
92-95	84.00	85.05	84.81	84.89	84.27	1.852	0.96	0.94	0.65
96-99	85.75	86.53	86.18	86.93	84.69	1.729	0.90	0.74	0.43
100-103	83.76	83.48	83.14	83.01	82.90	3.156	0.96	0.82	0.96
92-103	84.50	85.02	84.71	84.94	83.95	1.706	0.94	0.80	0.69
				تخم‌گذاری (درصد) Egg production (%)					
92-95	51.89	51.32	53.79	53.85	56.08	2.533	0.69	0.16	0.73
96-99	49.19	52.61	52.21	53.23	55.23	2.612	0.59	0.11	0.88
100-103	42.91^{b}	53.15^{a}	52.07^{a}	57.65^{a}	54.45^{a}	3.038	0.02	0.01	0.08
92-103	48.00^{b}	52.36^{ab}	52.69^{ab}	54.91^{a}	55.25^{a}	2.166	0.04	0.01	0.44
				تولید تخم‌مرغ (روز/ پرنده/ گرم) Egg production (g/b/d)					
92-95	31.49	31.85	32.66	32.47	33.77	1.582	0.87	0.28	0.87
96-99	29.83	32.62	31.98	32.75	33.91	1.631	0.50	0.11	0.75
100-103	25.52^{b}	32.59^{a}	32.07^{a}	33.19^{a}	33.07^{a}	1.716	0.01	0.01	0.06
92-103	28.95^{b}	32.36^{ab}	32.24^{ab}	32.80^{ab}	33.59^{a}	1.370	0.04	0.03	0.37
				ضریب تبدیل غذایی (گرم تولید تخم‌مرغ/ گرم مصرف خوراک) Feed conversion ratio (g FI/g EP)					
92-95	2.724	2.682	2.615	2.664	2.534	0.115	0.80	0.26	0.87
96-99	2.906^{a}	2.715^{ab}	2.726^{ab}	2.707^{ab}	2.506^{b}	0.120	0.04	0.04	0.91
100-103	3.340^{a}	2.621^{b}	2.604^{b}	2.641^{b}	2.533^{b}	0.160	0.01	0.01	0.15
92-103	2.990^{a}	2.673^{ab}	2.647^{ab}	2.671^{ab}	2.524^{b}	0.100	0.03	0.01	0.30
				انرژی قابل سوخت‌وساز دریافتی (روز/ پرنده/ کیلوکالری) Metabolizable energy intake (kcal/b/d)					
92-95	217.40^{c}	227.34^{bc}	234.07^{ab}	241.52^{ab}	246.75^{a}	5.147	<0.01	<0.01	0.64
96-99	221.93^{c}	231.30^{bc}	237.86^{ab}	247.30^{a}	247.97^{a}	4.786	<0.01	<0.01	0.41
100-103	216.76	223.14	229.46	236.18	242.72	9.063	0.29	0.02	0.98
92-103	218.70^{c}	227.26^{bc}	233.80^{ab}	241.67^{ab}	245.81^{a}	4.816	<0.01	<0.01	0.67
				پروتئین خام دریافتی (روز/ پرنده/ گرم) Crude protein intake (g/b/d)					
92-95	11.02^{c}	11.52^{bc}	11.86^{ab}	12.24^{ab}	12.51^{a}	0.261	<0.01	<0.01	0.65
96-99	11.25^{c}	11.73^{bc}	12.06^{ab}	12.53^{a}	12.58^{a}	0.443	<0.01	<0.01	0.42
100-103	10.99	11.31	11.63	11.97	12.31	0.459	0.29	0.02	0.97
92-103	11.09^{c}	11.52^{bc}	11.85^{ab}	12.25^{ab}	12.47^{a}	0.244	<0.01	<0.01	0.68
				هزینه خوراک برای تولید یک کیلوگرم تخم‌مرغ (کیلوگرم/ ریال) Feed cost for 1 kg egg production (Rial/kg)					
92-95	25783	26574	27072	28691	28485	1180	0.36	0.04	0.84
96-99	27504	26895	28236	29149	28167	1233	0.75	0.34	0.79
100-103	31613^{a}	25977^{b}	26948^{ab}	28448^{ab}	28472^{ab}	1685	0.19	0.49	0.07
92-103	28300	26482	27419	28763	28375	1017	0.25	0.45	0.39
				تغییرات وزن زنده (گرم) Live body weight difference (g)					
92-103	-154^{b}	-115^{ab}	-77^{a}	-58^{a}	-94^{a}	19.27	0.04	0.06	0.12

$^{a-b}$ میانگین در هر ردیف که حروف مشترک ندارند اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

$^{a–d}$ Values in a row with no common superscript letter are significantly different (P < 0.05).

با افزایش تراکم انرژی و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی درصد تخم‌گذاری، گرم تخم‌مرغ تولیدی در دوره سنی ۱۰۳-۱۰۰ هفتگی و کل دوره آزمایش به‌طور خطی افزایش و ضریب تبدیل غذایی در دوره‌های سنی ۹۹-۹۶، ۱۰۳-۱۰۰ هفتگی و کل دوره آزمایش به‌طور خطی کاهش یافت. با افزایش تراکم انرژی و مواد مغذی جیره‌ها میزان انرژی و پروتئین مصرفی در دوره سنی ۹۵-۹۲، ۹۹-۹۶ و کل دوره آزمایش به‌طور خطی افزایش یافت (P<۰/۰۱). اگرچه اثر تراکم انرژی و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی بر هزینه خوراک برای تولید هر کیلوگرم تخم‌مرغ در کلیه دوره‌های سنی معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) ولی مرغ‌های تغذیه شده با جیره با تراکم انرژی و مواد مغذی در سطح ۹۴ درصد توصیه سویه کمترین هزینه خوراک برای تولید یک کیلوگرم تخم مرغ را داشتند. اثر تراکم انرژی و مواد مغذی بر تغییرات وزن بدن در طول دوره آزمایش (اختلاف وزن زنده مرغ‌ها در ابتدا با انتهای دوره آزمایش) معنی‌دار شد (P<۰/۰۴). به‌طوری‌که مرغ‌های تغذیه‌شده با جیره با رقت ۹۱ درصد در مقایسه با مرغ‌های تغذیه‌شده با جیره با تراکم انرژی و مواد مغذی در سطح ۹۷، ۱۰۰ و ۱۰۳ درصد به‌طور معنی‌داری افت وزن بیشتری داشتند.

عدم بروز اثر معنی‌دار تراکم انرژی و مواد مغذی جیره بر میزان مصرف خوراک در این آزمایش با گزارش مطالعه اثر تغذیه مرغ‌های تخم‌گذار های‌لاین W36 با جیره‌های دارای تراکم مختلف انرژی و مواد مغذی در دوره سنی ۷۰-۱۹ هفتگی مطابقت دارد (۸). این محققین گزارش کردند اثر تغییر تراکم انرژی و مواد مغذی جیره بر میزان مصرف خوراک در دوره‌های سنی ۷۰-۳۳ هفتگی و کل دوره پرورش (۷۰-۱۹ هفتگی) معنی‌دار نبود، اگرچه در سنین جوان‌تر (۳۲-۲۷ هفتگی) با افزایش سطح انرژی و مواد مغذی جیره میزان مصرف خوراک به‌طور خطی و معنی‌دار کاهش یافت. در تضاد با نتایج فوق بر پایه گزارش‌های برخی محققین مرغ‌ها خوراک دریافتی خود را در پاسخ به تراکم انرژی و مواد مغذی تغییر می‌دهند (۱۲، ۲۴، ۲۹ و ۳۰). در مرغ‌های دکالب سفید هنگامی‌که تراکم انرژی از ۲۷۱۹ به ۲۹۵۶ (کیلوکالری) افزایش یافت، پرنده خوراک دریافتی خود را تنظیم و آن را از ۱۰۷/۶ به ۱۰۱/۱ (گرم/پرنده/روز) کاهش داد (۳۰). آزمایش بر روی مرغ‌های سویه های‌لاین W-36 نشان داد که این مرغ‌ها با افزایش یا کاهش انرژی به‌طور معنی‌داری خوراک دریافتی خود را متناسب با تغییر تراکم انرژی تغییر دادند (۱۲). کاهش ۱۰ درصدی تراکم انرژی و مواد مغذی در مرغ‌های تخم‌گذار سویه شیور (۶۷-۱۹ هفتگی) باعث ۲۰ درصد افزایش در خوراک دریافتی (از ۱۰۰ به ۱۲۰ گرم در روز و بالاترین میزان خوراک دریافتی روزانه ۱۳۰ گرم در روز) شد (۱۹). آن‌ها از نتایج حاصله چنین برداشت کردند که تا هنگامی‌که تعادل انرژی و مواد مغذی در جیره‌های کم تراکم حفظ شود حتی جیره‌ای با کمترین انرژی قابل سوخت‌وساز ۲۴۶۵ کیلوکالری/کیلوگرم و پروتئین خام ۱۵/۲ درصد می‌تواند برای پشتیبانی یک دوره کامل تولید مناسب باشد.

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد با افزایش تراکم انرژی و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی از سطح ۹۱ درصد تا سطح ۱۰۰ درصد توصیه سویه درصد تخم‌گذاری، گرم تخم‌مرغ تولیدی در کل دوره آزمایش به‌طور خطی افزایش و ضریب تبدیل غذایی به‌طور خطی کاهش یافت (P<۰/۰۵). نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش با گزارش دی‌پرشیو و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت دارد با این تفاوت که این پژوهشگران در دوره نخست تخم‌گذاری (۷۰-۱۹ هفتگی) مطالعه خود را انجام دادند. آن‌ها نشان دادند که با افزایش تراکم انرژی و مواد مغذی جیره‌های دریافتی در دامنه ۸۵ تا ۱۰۵ درصد سطح توصیه‌ی راهنمای پرورش مرغ تخم‌گذار سویه های‌لاین W-36 میزان تولید (درصد تخم‌گذاری و گرم تخم‌مرغ تولیدی) و راندمان تبدیل در دوره‌های سنی ۲۶-۱۹، ۳۲-۲۷، ۷۰-۳۳ هفتگی و کل دوره تولید (۷۰-۱۹ هفتگی) به‌طور خطی و معنی‌دار افزایش یافت (۸). در آزمایشی بر روی دو سویه دکالب و بووان سفید در فاز نخست و در ۳۶-۲۱ هفتگی تیمارهای با چهار تراکم انرژی قابل سوخت‌وساز ۲۷۱۹، ۲۷۹۸، ۲۸۷۷ و ۲۹۵۶ (کیلوگرم/کیلوکالری) بررسی شد و نتایج نشان داد که اثرات اصلی سویه و تراکم انرژی بر ضریب تبدیل خوراک معنی‌دار شد ولی اثرات متقابل سویه و تراکم انرژی غیر معنی‌دار شد (۳۰). در آزمایش دیگری نیز با بررسی اثر سطوح مختلف انرژی قابل سوخت‌وساز ۲۸۵۰، ۲۹۵۰، ۳۰۵۰ (کیلوگرم/کیلوکالری) و پروتئین خام ۱۶، ۱۸ و ۲۰ (درصد) جیره در فاز دوم تولید، اثر سطح انرژی و پروتئین جیره بر ضریب تبدیل خوراک معنی‌دار گزارش‌شده است (۱۵).

در آزمایش حاضر با افزایش تراکم انرژی و مواد مغذی جیره‌ها میزان انرژی و پروتئین مصرفی به‌طور خطی افزایش یافت (P<۰/۰۵). نتایج به دست آمد با گزارش‌های حاصل از تحقیقات پیشین مطابقت دارد (۶، ۸، ۱۶، ۱۹ و ۲۰). در این مطالعات نشان داده‌شده است که با افزایش تراکم انرژی و مواد مغذی جیره مرغ‌های تخم‌گذار، مقدار انرژی و مواد مغذی دریافتی به‌طور خطی و معنی‌دار افزایش می‌یابد. البته برخی پژوهشگران نیز گزارش کرده‌اند که افزایش تراکم انرژی جیره بر میزان انرژی مصرف‌شده توسط پرنده تأثیر معنی‌داری نداشت (۷ و ۲۸). در جیره‌های کم انرژی ممکن است حجیم بودن جیره‌ها به‌صورت یک عامل محدودکننده مصرف خوراک برای به دست آوردن پروتئین بیشتر عمل کرده باشد. در پرندگان تخم‌گذار استفاده از جیره‌ی پرانرژی نسبت به کم انرژی باعث کاهش ۱۴ درصدی در دریافت پروتئین شده است (۱۸). اثر تراکم انرژی و مواد مغذی جیره بر هزینه خوراک به ازای واحد وزن تولید در دوره‌های سنی ۹۵-۹۲، ۹۹-۹۶ و کل دوره آزمایش ۱۰۳-۹۲ هفتگی

معنی‌داری نبود. ولی در دوره سنی ۱۰۳–۱۰۰ هفتگی اثر تراکم انرژی و مواد مغذی بر هزینه خوراک به ازای یک کیلوگرم تولید معنی‌دار شد. در مرغ‌های تغذیه شده با جیره با تراکم انرژی و مواد مغذی در سطح ۹۴ درصد توصیه سویه هزینه خوراک به ازای تولید یک کیلوگرم تخم‌مرغ در دوره‌های سنی ۹۵–۹۲، ۹۹–۹۶، ۱۰۳–۱۰۰ و کل دوره آزمایش کمترین مقدار بود. گزارش‌شده است با توجه به تغییرات بهای تخم‌مرغ و مواد خوراکی نمی‌توان به‌طور ثابت سطح ایده‌آلی از تراکم انرژی قابل سوخت‌وساز و مواد مغذی جیره را که موجب سوددهی بهینه شود را مشخص نمود (۱۱، ۲۹ و ۳۰). در این پژوهش، مرغ‌های تغذیه‌شده با جیره دارای تراکم انرژی و مواد مغذی در سطح توصیه سویه، دارای کمترین کاهش وزن بودند و پرندگانی که خوراک رقیق‌شده دریافت کردند (تراکم انرژی و مواد مغذی در سطح ۹۱ درصد نسبت به توصیه‌ی راهنمای پرورش مرغ تخم‌گذار سویه های‌لاین W-36) دارای بیشترین کاهش وزن بودند.

اثر تراکم انرژی و مواد مغذی بر شاخص‌های سنجش کیفیت تخم‌مرغ در جدول ۳ نشان داده‌شده است. تراکم انرژی و مواد مغذی، اثر معنی‌داری بر شاخص‌های سنجش کیفیت تخم‌مرغ همچون وزن تخم‌مرغ، وزن نسبی اجزای تخم‌مرغ، واحد هاو، شاخص شکل تخم‌مرغ، وزن ویژه تخم‌مرغ و ضخامت پوسته تخم‌مرغ نداشت.

مطابق با نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش، در پژوهش‌های لیسون و سامرز (۲۰۰۱) اثر تراکم مواد مغذی اعمال‌شده بر وزن تخم‌مرغ دارای تفاوت معنی‌دار نبود (۱۹) در مقابل دی‌پرشیو و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که با افزایش تراکم انرژی و مواد مغذی جیره وزن تخم‌مرغ به‌طور خطی ($P < ۰/۰۵$) در همه دوره‌ها (۲۶–۱۹، ۳۲–۲۷، ۷۰–۳۳ هفتگی) و کل دوره (۷۰–۱۹ هفتگی) افزایش یافت (۸). دی‌پرشیو و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که تراکم انرژی و مواد مغذی خوراک مرغ‌ها تخم‌گذار سویه های‌لاین W-36 در همه‌ی دوره‌ها (۲۶–۱۹، ۳۲–۲۷، ۷۰–۳۳ هفتگی) و کل دوره (۷۰–۱۹ هفتگی) اثر معنی‌داری بر درصد وزن نسبی اجزای تخم‌مرغ (سفیده، زرده و پوسته) نداشت (۸). اپل‌گیت و همکاران (۲۰۰۹) نیز اثر افزایش غلظت اسیدهای آمینه لیزین، متیونین، ترئونین و ایزولوسین را بر اجزای داخلی تخم‌مرغ غیر معنی‌دار گزارش کردند (۴). آمیفول و همکاران (۲۰۰۴) نیز گزارش کردند که افزودن ۰/۱ درصد مکمل متیونین به جیره‌ی دارای ۱۶/۱ درصد پروتئین تأثیری بر صفات داخلی تخم‌مرغ (درصد آلبومین و زرده) ندارد (۳)، همچنین گارسیا و همکاران (۲۰۰۵) تغییر سطح پروتئین و اسیدهای آمینه گوگرددار جیره را بر درصد آلبومین تخم‌مرغ معنی‌دار ندانستند (۱۰). البته نواک و همکاران (۲۰۰۴) در آزمایشی که بر روی سویه دکالب–دلتا در سن ۲۰ تا ۶۳ هفتگی انجام دادند (۲۲)، اثر لیزین کل بر روی درصد سفیده و زرده را معنی‌دار گزارش کردند ($P<۰/۰۵$).

گزارش‌شده است که تغییر سطح پروتئین خام (۱۳ تا ۱۷/۴ درصد) جیره تأثیری بر وزن نسبی پوسته ندارد (۱۰ و ۲۹). درحالی‌که نواک و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که با افزایش سطح پروتئین (۱۴، ۱۶ و ۱۸ درصد) جیره در سن ۴۳–۲۰ هفتگی، وزن نسبی پوسته کاهش می‌یابد (۲۲). آمیفول و همکاران (۲۰۰۴) نیز گزارش کردند که افزودن ۰/۱ درصد مکمل متیونین به جیره دارای ۱۶/۱ درصد پروتئین تأثیری بر وزن پوسته تخم‌مرغ ندارد (۳). همچنین گارسیا و همکاران (۲۰۰۵) و صفا و همکاران (۲۰۰۸) افزایش سطح متیونین جیره را بر درصد پوسته تخم‌مرغ معنی‌دار ندانستند (۱۰ و ۲۶). درحالی‌که نواک و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که با افزایش سطح متیونین (۰/۲۹ تا ۰/۴۸ درصد) جیره در سن ۴۳–۲۰ هفتگی، درصد پوسته افزایش می‌یابد (۲۲).

تراکم انرژی و مواد مغذی خوراک دریافتی مرغ‌های تخم‌گذار سویه های‌لاین W-36 در همه دوره‌ها (۲۶–۱۹، ۳۲–۲۷، ۷۰–۳۳ هفتگی) و کل دوره (۷۰–۱۹ هفتگی) اثر معنی‌داری بر واحد هاو نداشت (۸). در مطالعه‌ای بررسی اثر تراکم سه سطح انرژی قابل سوخت‌وساز ۳۰۵۰، ۳۱۵۰ و ۳۲۵۰ (کیلوگرم /کیلوکالری) و سه سطح پروتئینی (۱۵، ۱۷ و ۱۹ درصد) در فاز نخست تولید بر شاخص شکل تخم‌مرغ، اثر اصلی تراکم انرژی غیر معنی‌دار و اثر اصلی تراکم پروتئین و همچنین اثرات متقابل پروتئین و انرژی در سطح یک درصد به‌صورت معنی‌دار و افزایشی گزارش شده است (۲۵). فیگیوردئو و همکاران (۲۰۱۲) در آزمایش بر روی مرغ‌های تخم‌گذار سویه های‌لاین W-36 در سن ۴۲ تا ۵۸ هفتگی گزارش کردند با افزایش غلظت لیزین قابل‌هضم جیره در دامنه ۰/۵۴۲ تا ۰/۸۷۹ درصد، واحد هاو به‌صورت معادله درجه دوم تغییر کرد (۹)، این پژوهشگران بیان کردند که غلظت‌های بالای لیزین قابل‌هضم در جیره دارای مقادیر کافی پروتئین به دلیل بر هم زدن تعادل اسیدهای آمینه جیره، می‌تواند عامل کاهنده واحد هاو باشد. در آزمایش اکبری مقدم کاخکی (۲۰۱۶) اثر سطوح مختلف لیزین (۱) و سطوح مختلف متیونین (۲) بر شاخص شکل تخم‌مرغ صورت غیر معنی‌دار شد.

وزن ویژه و ضخامت پوسته تخم‌مرغ (جدول ۳) نیز مانند دیگر صفات کیفی تخم‌مرغ به‌صورت معنی‌دار در هیچ‌کدام از دوره‌ها تحت تأثیر تراکم انرژی و مواد مغذی قرار نگرفت. با توجه به این‌که ترکیب اصلی پوسته تخم‌مرغ، کربنات کلسیم است، عوامل تغذیه‌ای اصلی مؤثر بر کیفیت پوسته تخم‌مرغ؛ کلسیم، فسفر و ویتامین D_3 جیره هستند. همچنین سطح پروتئین، متیونین و اسیدهای آمینه گوگرددار جیره نیز روی کیفیت پوسته تخم‌مرغ نقش دارند. جلال و همکاران (۲۰۰۷) در آزمایش بررسی اثر تراکم سه سطح انرژی (۲۹۰۰، ۲۸۰۰ و ۲۸۰۰) با و بدون مکمل آویزایم بر روی چهار سویه باب کوک B-300، های لاین W-36، شیور سفید و های‌لاین قهوه‌ای در سنین ۲۲ تا ۵۰ هفتگی، گزارش کردند اثرات سویه بر وزن ویژه تخم‌مرغ

دارای تفاوت معنی‌دار بود به‌گونه‌ای کـه سـویه بـاب کـوک B-300 بیشترین میزان وزن ویژه را داشت ولی اثرات اصلی تـراکم انـرژی و اثرات متقابل انرژی و سویه بر وزن ویژه معنی‌دار نبود (۱۳).

جدول ۳- اثر تراکم انرژی و مواد مغذی بر کیفیت تخم‌مرغ در دوره پس از تولک‌بری مرغ‌های تخم‌گذار سویه های لاین W-36

Table 3- Effect of dietary energy and nutrient density effect on egg quality of "Hy-Line W36" laying hens in the 2nd production-cycle

سن (هفته) Age (week)	نسبت تراکم انرژی و مواد مغذی جیره به احتیاجات سویه (درصد) Dietary energy and nutrient density ratio to strain recommendation					SEM	P-Value		
	91	94	97	100	103		ANOVA	Liner equation	Quadratic equation
					میانگین وزن تخم‌مرغ (گرم) Average egg weight (g)				
95	61.91	61.35	62.01	60.22	61.55	0.961	0.70	0.54	0.71
99	61.60	60.64	62.04	60.85	62.62	1.071	0.65	0.39	0.38
103	60.28	61.69	61.20	61.30	60.84	0.997	0.88	0.69	0.68
					وزن نسبی سفیده (درصد) Albumin relative weight (%)				
95	59.940	58.940	59.720	59.100	60.260	0.675	0.12	0.16	0.16
99	56.980	56.580	56.990	57.630	57.630	0.405	0.37	0.27	0.27
103	58.360	59.390	58.690	57.810	58.170	0.615	0.27	0.78	0.77
					وزن نسبی زرده (درصد) Yolk relative weight (%)				
95	30.76	31.56	30.87	31.40	30.57	0.522	0.60	0.30	0.30
99	30.86	31.39	30.74	30.46	30.50	0.564	0.78	0.77	0.76
103	29.80	29.14	29.88	30.90	30.20	0.578	0.35	0.88	0.88
					وزن نسبی پوسته (درصد) Shell relative weight (%)				
95	9.30	9.50	9.41	9.50	9.17	0.134	0.33	0.07	0.07
99	12.16	12.03	12.27	11.91	11.87	0.195	0.58	0.03	0.04
103	11.84	11.47	11.43	11.29	11.63	0.278	0.22	0.65	0.62
					واحد هاو Hugh unit				
95	67.61	66.71	66.60	68.10	67.13	1.233	0.87	0.74	0.73
99	77.90	77.29	76.03	76.79	76.29	1.505	0.89	0.60	0.62
103	85.99	86.76	87.36	87.36	86.32	1.718	0.97	0.49	0.49
					شاخص شکل تخم‌مرغ Egg shape index				
95	76.78	77.03	76.24	75.84	76.79	0.447	0.33	0.31	0.32
99	76.54	76.84	75.95	76.56	76.65	0.487	0.67	0.52	0.53
103	76.29	77.31	76.36	77.11	76.55	0.356	0.46	0.42	0.43
					وزن ویژه تخم‌مرغ (سانتی‌متر مکعب/گرم) Egg special weight (g/cm^3)				
95	1.074	1.074	1.073	1.074	1.072	0.001	0.28	0.30	0.28
99	1.082	1.082	1.082	1.081	1.081	0.001	0.91	0.88	0.78
103	1.084	1.081	1.084	1.082	1.082	0.001	0.16	0.90	0.92
					ضخامت پوسته تخم‌مرغ (میلی‌متر) Egg shell thickness (mm)				
95	0.382	0.382	0.377	0.382	0.374	0.001	0.59	0.69	0.67
99	0.386	0.380	0.390	0.379	0.387	0.001	0.63	0.81	0.81
103	0.365	0.363	0.370	0.363	0.375	0.001	0.35	0.45	0.43

میزان احتیاجات مرغ‌های تخم‌گذار سویه های‌لاین W-36 در دوره پس از تولک‌بری به‌منظور بهینه‌سازی شاخص‌های عملکردی شامل گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه و ضریب تبدیل غذایی با استفاده از مدل رگرسیونی خط شکسته خطی به ترتیب ۹۴/۹۶ و ۹۷/۰۲ درصد و با استفاده از مدل رگرسیونی خط شکسته درجه‌دو به ترتیب ۹۵/۷۱ و ۹۵/۹۵ درصد احتیاجات توصیه سویه به‌دست آمد (جدول ۴). میزان احتیاجات برآورد شده برای دوره پس از تولک‌بری ۱۰۳-۹۲ هفتگی برای شاخص‌های عملکردی توسط مدل‌های رگرسیونی خط شکسته خطی و درجه‌دو تقریباً نزدیک به هم برآورد شدند.

جدول ٤- جمع‌بندی برآورد سطح تراکم انرژی و مواد مغذی جیره نسبت به توصیه سویه های‌لاین W-36 برای بهینه‌سازی شاخص‌های عملکردی با معادلات رگرسیون خط شکسته خطی و درجه دو

Table 4- Summary of estimated dietary energy and nutrient density ratio to strain recommendation for optimization of performance by liner and quadratic broken-line regression fit models

فراسنجه/مدل Parameter/Model	نسبت برآورد شده Estimated ratio	دامنه ۹۵٪ تخمین Approximate 95% confidence limits		P-Value	R^2	معادله Equation
		پایین Lowe	بالا High			
		تولید تخم‌مرغ (روز/ پرنده/ گرم) Egg production (g/b/d)				
خط شکسته خطی Linear broken-line	94.46	91.27	97.64	0.04	0.93	Y= -1.1371X+32.88
خط شکسته درجه دو Quadratic broken-line	95.71	87.55	103.90	0.03	0.92	Y=-0.1769X2+32.87
		ضریب تبدیل غذایی (گرم تولید تخم‌مرغ/ گرم مصرف خوراک) Feed conversion ratio (g FI/g EP)				
خط شکسته خطی Linear broken-line	97.02	92.72	101.30	0.02	0.83	Y=0.0571X+2.60
خط شکسته درجه دو Quadratic broken-line	95.95	89.48	102.4	0.01	0.89	Y=0.0153X2+2.61

نتیجه‌گیری کلی

افزایش تراکم انرژی و مواد مغذی جیره باعث افزایش خطی و معنی‌دار درصد تولید تخم‌مرغ و گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه و کاهش ضریب تبدیل خوراک در دوره پس از تولک‌بری (۱۰۳-۹۲ هفتگی) شد. تراکم انرژی و مواد مغذی جیره اثر معنی‌داری بر شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ مانند وزن کل و وزن نسبی زرده، سفیده و پوسته، واحد هاو، شاخص شکل، وزن ویژه و ضخامت پوسته تخم‌مرغ نداشت. با استفاده از معادله‌های خط شکسته خطی و درجه دوم این نتیجه حاصل شده که در دوره پس از تولک‌بری استفاده از جیره‌هایی با تراکم انرژی و مواد مغذی در سطح ۹۷-۹۵ درصد توصیه سویه های لاین W-36 دارای مناسب‌ترین عملکرد تولیدی است.

منابع

1- Akbari Moghaddam Kakhki, R., A. Golian, and H. Zarghi. 2016a. Effect of dietary digestible lysine concentration on performance, egg quality, and blood metabolites in laying hens. Journal of Applied Poultry Research, 25(4):506-517.

2- Akbari Moghaddam Kakhki, R., A. Golian, and H. Zarghi. 2016b. Effect of digestible methionine+cystine concentration on performance, egg quality and blood metabolites in laying hens. British Poultry Science, 57(3):403-414.

3- Amaefule, K. U., G. S. Ojewola, and E. C. Uchegbu. 2004. The effect of methionine, lysine and/or vitamin C (ascorbic acid) supplementation on egg production and egg quality characteristics of layers in the humid tropics. Livestock Research for Rural Development 16(9): http://www.lrrd.org/lrrd16/9/cont1609.htm.

4- Applegate, T. J., E. M. Onyango, R. Angel, and W. J. Powers. 2009. Effect of amino acid formulation and dietary direct-fed microbial supplementation on egg production and egg characteristics in laying hens. Journal of Applied Poultry Research, 18(3):552-561.

5- Asmundson, V. S. and G. A. Baker. 1940. Percentage shell as a function of shell thickness, egg volume, and egg

shape. Poultry Science, 19(4):227-232.
6- Cheng, T. K., A. Peguri, M. L. Hamre, and C. N. Coon. 1991. Effect of rearing regimens on pullet growth and subsequent laying performance. Poultry Science, 70(4):907-916.
7- Cunningham, D. C. and W. D. Morrison. 1976. Dietary energy and fat content as factors in the nutrition of developing egg strain pullets and young hens: 1. Effect on several parameters and body composition at sexual maturity. Poultry Science, 55(1):85-97.
8- DePersio, S., P. L. Utterback, C. W. Utterback, S. J. Rochell, N. O'Sullivan, K. Bregendahl, J. Arango, C. M. Parsons, and K. W. Koelkebeck. 2015. Effects of feeding diets varying in energy and nutrient density to Hy-Line W-36 laying hens on production performance and economics. Poultry Science, 94(2):195-206.
9- Figueiredo, G. O., A. G. Bertechini, E. J. Fassani, P. B. Rodrigues, J. Á. Brito, and S. F. Castro. 2012. Performance and egg quality of laying hens fed with dietary levels of digestible lysine and threonine. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 64(3):743-750.
10- Garcia, E. A., A. A. Mendes, C. C. Pizzolante, E. S. P. B. Saldanha, J. Moreira, C. Mori, and A. C. Pavan. 2005. Protein, methionine+ cystine and lysine levels for Japanese quails during the production phase. Revista Brasileira de Ciência Avícola, 7(1):11-18.
11- Gunawardana, P., D. A. Roland Sr, and M. M. Bryant. 2008. Effect of energy and protein on performance, egg components, egg solids, egg quality, and profits in molted Hy-Line W-36 hens. Journal of Applied Poultry Research, 17(4):432-439.
12- Harms, R. H., G. B. Russell, and D. R. Sloan. 2000. Performance of four strains of commercial layers with major changes in dietary energy. Journal of Applied Poultry Research, 9(4):535-541.
13- Jalal, M. A., S. E. Scheideler, and E. M. Pierson. 2007. Strain response of laying hens to varying dietary energy levels with and without Avizyme supplementation. Journal of Applied Poultry Research, 16(3):289-295.
14- Ji, F., S. Y. Fu, B. Ren, S. G. Wu, H. J. Zhang, H. Y. Yue, J. Gao, A. Helmbrecht, and G. H. Qi. 2014. Evaluation of amino-acid supplemented diets varying in protein levels for laying hens. Journal of Applied Poultry Research, 23(3):384-392.
15- Junqueira, O. M., A. C. De Laurentiz, R. da Silva Filardi, E. A. Rodrigues, and E. M. C. Casartelli. 2006. Effects of energy and protein levels on egg quality and performance of laying hens at early second production cycle. Journal of Applied Poultry Research, 15(1):110-115.
16- Leeson, S. and J. D. Summers. 1984. Influence of nutrient density on growth and carcass composition of weight-segregated leghorn pullets. Poultry Science, 63(9):1764-1772.
17- Leeson, S. and J. D. Summers. 1989. Response of Leghorn pullets to protein and energy in the diet when reared in regular or hot-cyclic environments. Poultry Science, 68(4):546-557.
18- Leeson, S. and J. D. Summers. 2005. Commercial poultry nutrition. 3rd edition, Nottingham University Press.
19- Leeson, S., J. D. Summers, and L. J. Caston. 2001. Response of layers to low nutrient density diets. Journal of Applied Poultry Research, 10(1):46-52.
20- Morris, T. R. 1968. The effect of dietary energy level on the voluntary calorie intake of laying birds. British Poultry Science, 9(3):285-295.
21- Narváez-Solarte, W., H. S. Rostagno, P. R. Soares, M. A. Silva, and L. F. U. Velasquez. 2005. Nutritional requirements in methionine+ cystine for white-egg laying hens during the first cycle of production. International Journal of Poultry Science, 4(12):965-968.
22- Novak, C., H. Yakout, and S. E. Scheideler. 2004. The combined effects of dietary lysine and total sulfur amino acid level on egg production parameters and egg components in Dekalb Delta laying hens. Poultry Science, 83(6):977-984.
23- Peebles, E. D. and C. D. McDaniel. 2004. Practical manual for understanding the shell structure of broiler hatching eggs and measurements of their quality. Mississipi: State University.
24- Rama Rao, S. V., V. Ravindran, M. Raju, T. Srilatha, and A. K. Panda. 2014. Effect of different concentrations of metabolisable energy and protein on performance of White Leghorn layers in a tropical climate. British Poultry Science, 55(4):532-539.
25- Rama Rao, S. V., V. Ravindran, T. Srilatha, A. K. Panda, and M. Raju. 2011. Effect of dietary concentrations of energy, crude protein, lysine, and methionine on the performance of White Leghorn layers in the tropics. Journal of Applied Poultry Research, 20(4):528-541.
26- Safaa, H. M., M. P. Serrano, D. G. Valencia, X. Arbe, J.-M. E., R. Lázaro, and G. G. Mateos. 2008. Effects of the levels of methionine, linoleic acid, and added fat in the diet on productive performance and egg quality of brown laying hens in the late phase of production. Poultry Science, 87(8):1595-1602.
27- Silva, E. P., E. B. Malheiros, N. K. Sakomura, K. S. Venturini, L. Hauschild, J. C. P. Dorigam, and J. B. K. Fernandes. 2015. Lysine requirements of laying hens. Livestock Science, 173:69-77.
28- Summers, J. and S. Leeson. 1993. Influence of diets varying in nutrient density on the development and reproductive performance of White Leghorn pullets. Poultry Science, 72(8):1500-1509.
29- Wu, G., M. Bryant, P. Gunawardana, and D. Roland Sr. 2007. Effect of nutrient density on performance, egg

components, egg solids, egg quality, and profits in eight commercial leghorn strains during phase one. Poultry Science, 86(4):691-697.

30- Wu, G., M. Bryant, R. Voitle, and D. Roland Sr. 2005. Effect of dietary energy on performance and egg composition of Bovans White and Dekalb White hens during phase I. Poultry Science, 84(10):1610-1615.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 197-209

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۰۹-۱۹۷

Effect of dietary energy and nutrients density on performance and egg quality in the 2nd production cycle in laying hens

S. Bagheri[1*]-A. Golian[2]- H. Nasiri Moghaddam[2]- H. Zarghi[3]

Submitted: 02-06-2018
Accepted: 26-08-2019

Introduction Increasing feed costs are significant issues in the poultry industry. Therefore, poultry producers often interested to feed low energy and nutrient dense diets to reduce production cost, while low energy and nutrients dense diets may not appear to supply sufficient energy for laying hens. Hens can regulate their feed intake to maintain energy and nutrient intake in accordance with their requirements. In this way, hens will consume more of a low energy and nutrients dense diet than of a high energy and nutrients dense diet, ensuring the calories and nutrient consumed be sufficient. However, some studies have shown that hens especially the modern ones are not precise in adjusting their feed intakes, such as the Hy-Line W-36, since they only have a limited capability to increase their feed intake to ensure adequate energy and nutrients intake. While low energy and nutrient dense diets are less expensive to purchase, they may not ensure optimal egg production if hens are unable to adjust their feed intake. On the other hand, the purchase price of low energy and nutrient dense diets can be substantially lower than high-density diets, if they are effective in maintaining long-term egg production performance, so that can result in increased returns for the producer. Thus, feeding low energy and nutrient dense diets to laying hens may result to improve returns due to a lower cost of diets. However, it has been shown that the increased efficiency of birds fed on high energy and nutrient dense diets can offset the higher cost of feed. The hypothesis of this study was to investigate how Hy-Line W-36 laying hens in post molting period can respond to lower energy and nutrients dense diets, through their increase in feed intake to maintain energy and nutrient consumption to support egg production.

Materials and methods The birds that used for this experiment were molted at the 70wk of age on a non-fasting feeding program according to the molting recommendation by Hy-line W36 laying hens guide. Three hundred twenty 78wk Hy-Line W36 hens were individually weighed and randomly assigned to 80 cages of four birds each. Eight replicate groups of 8 hens each (two adjacent cages) were randomly assigned to each of the 5 treatment diets with location within house as blocking criteria. The pre-experimental period was two weeks for acclimatization, and the experimental period was from 92-103 weeks of age (three 28d periods; 92-95, 96-99, 100-103wk of age). Experimental diets were formulated according to the guidelines in the Hy-Line W-36 Commercial Management Guide (2015) for 104g feed intake according to the average pre-experimental period egg production and feed intake data. Thus the control diet (100% of recommendation) was formulated to contain 2845 kcal/kg AMEn; 14.42% CP; 4.14% calcium; 0.48% available phosphorus; 0.17% sodium; 0.67% digestible lysine; 0.36 digestible methionine; 0.56 digestible methionine + cysteine; and 0.47 digestible threonine. Four other dietary concentrations of energy and nutrients density were formulated to provide 91, 94, 97, and 103% and one diet with the 100% of recommendations stated in the 2015 Hy-Line W36 commercial management guide. Egg production (number and weight) and mortality were recorded daily, whereas feed consumption was measured every 4wks as feed disappearance. Six eggs/replicate (48 eggs/treatment) laid in the last 72 h of each 28d period were collected and transported to Egg Quality Laboratory at the Ferdowsi University for of egg weight, albumen, yolk and shell relative weight, Haugh units, egg shape index, egg special gravity, and shell thickness determination. The feed cost/kg egg production was calculated by feed costs time feed conversion ratio. Data were analyzed by ANOVA using the GLM procedure of SAS 9.1 (2003), with dietary treatment and block as independent variables. Diet effects were evaluated using linear and quadratic orthogonal polynomial contrasts. The linear broken-line (LBL) and quadratic-broken line (QBL) regression models were used to

1- M.Sc., Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2-Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
3-Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
(*- Corresponding Author Email: Golian-a@um.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.73162

estimate the dietary energy and nutrient density ratios for optimization of egg mass and feed conversion ratio.

Results and discussion Previous research showed that hens would linearly adjust their feed intake in response to diet nutrient density by eating significantly more feed that was low in energy and less feed that was high in energy. These changes in feed intake were not in agreement with the results of the current study showed that egg production, and egg mass were increased and feed conversion ratio (FCR) decreased significantly and linearly, with the increase in dietary energy and nutrients density. There was not any significant difference in the egg production, egg mass and feed conversion ratio in birds fed diet containing three percent (103%) more nutrient density than that of strain recommendation. Whereas, feed intake, egg weight, white yolk and shell relative weight, egg shape index, specific gravity, egg shell thickness as well as Haugh unit were not significantly affected by dietary energy and nutrients density. Significant linear increase due to increase in energy and nutrients density were observed for most measured parameters, including hen-day egg production, egg weight, egg mass, feed efficiency, energy intake, and body weight gain. The hen-day egg production showed that hens fed diets containing 91% of control diet laid fewer eggs than those fed diets with 100 or 103% of nutrients recommendation. The energy and nutrient requirement for optimal egg mass (g/b/d) and FCR during the post molting period (92-103Wk) by LBL model were 94.96 and 97.02%, and by QBL model 95.71 and 95.95% of strain recommended, respectively.

Conclusion In summary, the increase in energy and nutrients density in diet of Hy-Line W-36 laying hens increased egg production, egg weight, egg mass, energy intake as well as decreased body weight losses and feed conversion ratio. The regression analyses of data showed that, laying hens diet formulated at the 95-97% of nutrients recommendation had the optimal egg production and economic performance during the second egg production cycle. Furthermore, hens were unable to adjust their feed intakes since the lowest energy and nutrients density diet deteriorate egg production performance.

Keywords: Egg quality, Energy and nutrient density, Laying hen, Performance

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 211-222

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۲۲-۲۱۱

مقاله علمی- پژوهشی

تاثیر گیاهان دارویی شبدر زرد، موشکورک و آلوئه‌ورا بر بازده تولید، خصوصیات بیوشیمیایی و بار میکروبی گوشت بلدرچین ژاپنی

حسن حبیبی[1*]، نجمه قحطان[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۱۰

چکیده

این مطالعه به منظور تاثیر گیاهان دارویی شبدر زرد، موشکورک و آلوئه‌ورا بر عملکرد رشد، فاکتورهای بیوشیمیایی، عوامل کیفی فیزیکی (ظرفیت نگهداری آب، رطوبت، خاکستر و ماده خشک)، بار میکروبی گوشت و فاکتورهای حسی در بلدرچین نژاد ژاپنی (نر و ماده) انجام شد. این آزمایش در قالب طرح پایه‌ای کاملاً تصادفی با چهار تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ قطعه جوجه انجام شدد. تیمارهای این آزمایش شامل دو سطح نیم و دو درصد گیاه دارویی (شبدر زرد، موشکورک و آلوئه‌ورا) و یک گروه شاهد بود. نتایج این تحقیق نشان داد که بیش‌ترین افزایش وزن متعلق به تیمار آلوئه‌ورا ۲ درصد با میانگین افزایش وزن ۶۴/۶۳ (در طول دوره آزمایش) بود. گیاه دارویی شبدر زرد در سطح ۰/۵ درصد باعث کاهش تری گلیسرید و کلسترول خون نسبت به گروه شاهد شد. در این آزمایش میزان HDL خون در تیمار ۰/۵ درصد آلوئه‌ورا بیش‌ترین میزان (۹۴/۳۳ میلی گرم در دسی لیتر) و در گروه شاهد دارای کمترین میزان (۷۸/۲۵ میلی گرم در دسی لیتر) بود. بیشترین میزان pH گوشت ده روز پس از کشتار متعلق به گروه شاهد و کمترین میزان متعلق به تیمار دو درصد شبدر زرد و نیم درصد آلوئه‌ورا بود. شبدر زرد در سطح دو درصد باعث افزایش کیفیت فاکتورهای حسی (طعم، رنگ، تردی و بو) گوشت شد و کمترین میزان باکتری کل و کلی فرم گوشت، ده روز پس از کشتار در تیمار موشکورک دو درصد مشاهده شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده می‌توان پیشنهاد کرد که برای بهبود عملکرد بلدرچین از دو درصد آلوئه‌ورا و برای افزایش ماندگاری گوشت از موشکورک و شبدر زرد به میزان ۲ درصد در جیره استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: بلدرچین ژاپنی، بار میکروبی، کلسترول، فاکتورهای بیوشیمیایی.

مقدمه

گوشت بلدرچین جزء گروه گوشت‌های سفید بوده و تقاضا برای مصرف آن نیز در حال افزایش است. پرورش بلدرچین در ایران از دو دهه گذشته آغاز شده و در سال‌های اخیر رشد زیادی داشته است. با توجه به شرایط اقلیمی ایران و سازگاری خوب بلدرچین با آب و هوای گرم، پرورش آن نسبت به پرورش سایر طیور ساده‌تر است (۲۲). اگر چه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در تغذیه طیور سبب بهبود رشد، مصرف خوراک، ضریب تبدیل و کاهش مرگ و میر ناشی از بیماری‌های عفونی می‌شود ولی به‌دلیل باقی ماندن اثرات آن‌ها و افزایش مقاومت دارویی در باکتری‌های بیماری‌زا و انتقال باکتری‌های مقاوم از طریق زنجیره غذایی به انسان، اتحادیه اروپا استفاده از آن‌ها را منع کرده است (۸). لذا محققین و پرورش دهندگان طیور به دنبال استفاده از ترکیبات دیگری به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند که هم دارای عوارض کمتری برای انسان باشد و هم باعث بهبود کیفیت و افزایش راندمان تولید در طیور صنعتی باشد (۱۵). در این میان ترکیبات گیاهی به خصوص گیاهان دارویی به دلایلی نظیر در دسترس بودن، راحتی کاربرد، نداشتن اثرات سوء جانبی برای انسان و حیوان، خواص ضدباکتریایی و ضداکسیداسیونی قوی از دیرباز جهت درمان بسیاری از بیماری‌ها در انسان و دام وطیور مورد استفاده قرار گرفته است (۱ و ۲۴). لذا در این تحقیق از سطوح مختلف سه گیاه دارویی شبدر زرد، موشکورک و

۱- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.
۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.
(*-ایمیل نویسنده مسئول: h.habibi@pgu.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.78238

آلوئه ورا در جیره غذایی بلدرچین ژاپنی استفاده شده است.

شبدر زرد (*Melilotus officinalis*)، موشکورک (*Oliveria decumbens* Vent) و آلوئه‌ورا (*Aloe vera* L) به ترتیب متعلق به خانواده Leguminosae، Umbelliferae و Asphodelaceae می‌باشند (۹، ۱۳ و ۲۸).

مواد موثره موجود در شبدر زرد عبارت‌انداز: ملیلوتین، کومارین، تری‌ترپن و فلاونوئید که بیشترین مواد موثره اسانس آن کومارین (۳۵ درصد) و سیس-۳-هگزان-۱-ال (۲۵/۹ درصد) می‌باشد (۱۶).این گیاه معطر، ملین‌دار، ضدنفخ و ضدالتهاب می‌باشد (۱۸). کومارین موجود در ناخنک دارای خواص ضدالتهابی و ضددرد می‌باشد (۱۸). حبیبی و همکاران در سال ۱۳۹۶ طی مطالعه‌ی به این نتیجه رسیدند که استفاده از شبدر زرد باعث بهبود عملکرد بلدرچین تخم‌گذار می‌گردد (۷).

عمده ترکیبات موجود در اندام هوایی موشکورک، تیمول (۴۷/۱)، کارواکرول (۲۳/۳)، گاما ترپینن (۱۸/۹) و پارا سیمن (۸/۷) می‌باشد (۲). در طب سنتی ایران از این گیاه جهت درمان سوءهاضمه، اسهال و دردهای شکمی و رفع تب استفاده می‌شود (۱۷). دلیل اصلی کاهش کلسترول وجود ترکیباتی مانند تیمول و کارواکرول می‌باشد. احتمالا استفاده از موشکورک در جیره بلدرچین تاثیر قابل توجهی بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون داشته باشد (۷).

آلوئه‌ورا حاوی برخی ویتامین‌های مهم (ویتامین ث، تیامین، نیاسین، ریبوفلاوین، کولین و اسید فولیک)، مواد معدنی، آنزیم، قندها، ترکیبات فنولی، لیگنین، ساپونین و استرول می‌باشد (۲۶). یکی از مهم‌ترین مواد موثره آلوئه‌ورا آسمانان[1] که باعث کاهش کلسترول خون در جوجه‌های گوشتی می‌گردد (۳۰). محققان خاصیت آنتی اکسیدانی پودر ژله آلوئه‌ورا به خاطر وجود ترکیبات فنولیک آن می‌دانند که موجب خنثی شدن رادیکال‌های آزاد می‌گردد و تاثیر محافظتی بر سلول بافت دارد و از این طریق احتمالا می‌تواند بر کیفیت گوشت طیور تاثیر مثبتی داشته باشد (۶، ۱۰). از آلوئه‌ورا برای التیام زخم‌ها، ضد التهاب، تحریک سیستم ایمنی، ضدتومور، در لوازم آرایشی و بهداشتی برای حفاظت از پوست، ضدعفونی کننده، ضد دیابت، ضد انسداد، فعالیت ضدقارچی، ضدمیکروبی و ضدویروس استفاده می‌شود (۲۱).

هدف از این آزمایش، بررسی تاثیر اضافه نمودن سطوح مختلف پودر خشک شده شبدر زرد، موشکورک و آلوئه ورا به جیره غذایی بلدرچین ژاپنی در طول دوره‌ی پایانی پرورش (به دلیل گران بودن گیاهان دارویی، این گیاهان در دوره‌ای پایانی رشد به جیره غذایی افزوده شد تا بتوانیم عملکرد طیور را در دوره‌ی پایانی رشد با جیره‌ی غذایی غنی شده با گیاهان دارویی بررسی کنیم. تا اگر تولید کنندگان در مزرعه مایل به استفاده از گیاهان دارویی در جیره هستند برای آن‌ها هزینه بردار نباشد) و در نهایت ارزیابی عملکرد و بازده رشد، فاکتورهای بیوشیمیایی، عوامل کیفی، کمی و بار میکروبی گوشت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سالن تحقیقاتی پرورش طیور دانشکده کشاورزی دانشگاه خلیج فارس بوشهر در فصل بهار و تابستان سال ۱۳۹۶ انجام شد. در این آزمایش تعداد ۲۸۰ قطعه جوجه یک‌روزه بلدرچین ژاپنی از بیست و هفت تا چهل و دو روزگی با دو سطح گیاه دارویی موشکورک (۰/۵ و ۲ درصد)، دو سطح شبدر زرد (۰/۵ و ۲ درصد)، دو سطح آلوئه‌ورا (۰/۵ و ۲ درصد) و یک گروه شاهد و در قالب طرح پایه‌ای کاملا تصادفی با چهار تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ قطعه جمعا شامل ۲۸ واحد آزمایشی (گروه بندی به وسیله قفس بندی توری) صورت گرفت. جیره‌های آزمایشی بر پایه‌ی ذرت و کنجاله سویا در دوره‌ی آغازین، میانی و پایانی به صورت آردی تنظیم شد. سطح مواد مغذی جیره بر اساس جدول احتیاجات طیور NRS ۱۹۹۴ تنظیم گردید (جدول ۱). در طول دوره‌ی آزمایش، بلدرچین‌ها به صورت آزاد به آب آشامیدنی دسترسی داشتند ولی میزان غذای مصرفی هر گروه روزانه اندازه‌گیری گردید. نوردهی سالن در تمام دوره پرورش به صورت ۲۴ ساعته انجام گردید.

نمونه گیری

برای بررسی عمکرد، میانگین مصرف خوراک و وزن‌گیری در پایان دوره آزمایش (۴۲ روزگی انجام گردید. در روز ۴۲ پرورش تعداد سه پرنده از هر تکرار (جمعا ۱۲ پرنده) به طور تصادفی انتخاب و کشتار گردید تا خصوصیات لاشه هم چون وزن قسمت‌های مختلف لاشه، pH، ظرفیت نگه‌داری آب (WHC)، رطوبت گوشت، خاکستر، ماده خشک، بار میکروبی (شمارش مجموع باکتری‌ها و تعداد باکتری های کلی فرم) و در نهایت تست چشایی مرطوب به مزه تعیین گردد.

وزن کشی

وزن زنده پرنده در ۲۷ و ۴۲ روزگی و مصرف خوراک در پایان آزمایش اندازه‌گیری شد. وزن قطعات لاشه (ران‌ها و سینه) و همچنین اندام‌های داخلی (از جمله کبد، سنگدان و چربی محوطه بطنی) جداسازی و توزین شد.

1- Acemanan

جدول ۱- آنالیز جیره پایه مربوط به گروه های ۷ گانه (به غیر از انرژی، سایر اعداد بر حسب درصد می باشد).

Table 1- Nutritional composition of the diet (except energy, the rest of components are in %)

Ingredient	
ذرت (٪) Yellow corn (%)	52.56
کنجاله سویا (٪) Soybean meal	38.47
گلوتن گندم (٪) Gluten (%)	4.26
روغن سویا (٪) Soybean oil (%)	1.45
دی کلسیم فسفات (٪) Dicalcium phosphate (%)	0.81
پوسته صدف (٪) Oyster shell (%)	1.56
نمک (٪) Salt (%)	0.16
دی ال-متیونین (٪) DL- Methionine (%)	0.11
ال- لیزین هیدروکلراید (٪) L- Lysine Hydrochloride (%)	0.12
ویتامین و مواد معدنی (٪)[1] Vitamin and minerals[1] (%)	0.50
کل (٪) Total (%)	100
مواد مغذی(٪) Calculated composition (%)	
انرژی (کیلو کالری/کیلوگرم) Metabolizable energy (Kcal/kg)	2900
پروتئین خام (٪) Crude protein (%)	24.00
کلسیم (٪) Calcium %	0.80
فسفر قابل دسترس (٪) Available phosphorous (%)	0.30
سدیم (٪) Sodium (%)	0.15
کلرید (٪) Chloride(٪)	0.14
لیزین (٪) Lysine(٪)	1.30
متیونین (٪) Methionine(٪)	0.50
متیونین+سیستئین (٪) Methionine + Cysteine(٪)	0.88
ترئونین (٪) Threonine(٪)	0.99

[1]مقادیر تأمین شده در هر کیلوگرم جیره: ویتامین A: ۱۲۰۰۰۰IU، ویتامین D_3: ۲۰۰۰۰IU، ویتامین E: ۱۰۰mg، ویتامین K: ۲۰mg، ویتامین B_1: ۱۰mg، ویتامین B_2: ۵۰mg، ویتامین B_6: ۱۵mg، ویتامین B_{12}: ۱۰۰µg، ویتامین بیوتین: ۰/۱IU و کولین کلراید: ۵۰۰mg ید ۱۰ میلی گرم، مس ۱۰۰ میلی‌گرم، سلنیوم ۱ میلی‌گرم، زینک ۵۰۰ میلی‌گرم و ۱۲۰۰ میلی‌گرم آنتی-اکسیدان.

[1]Vit. A 120000 IU, Vit. D3 20000 IU, Vit.E, I00 mg, Vit.K, 20mg, Vit. B1, 10 mg, Vit. B2, 50mg, Vit. B6, 15 mg, Vit. B12, 100 µg, Pantothenic acid 100 mg, Niacin 300 mg, Folic acid 10mg, Biotin 500 IJg, Iron. 300mg, Manganese 600 mg, Choline chlorite 500 mg,. Iodine 10 mg, Copper 100 mg, Selenium 1 mg, Zinc 500 mg and 1200

گیاهان مورد آزمایش از مزرعه گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس جمع آوری گردید و در اتاق تاریک خشک و سپس پودر خشک این گیاهان از ۲۷ تا ۴۲ روزگی دوره پرورش به میزان نیم و دو درصد به جیره گروه‌های مختلف

اضافه گردید.

اندازه گیری تری گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین کم‌چگالی (LDL)، لیپوپروتئین پرچگالی (HDL)، کلسیم و فسفر

مقادیر کلسترول و تری گلیسرید سرم خون به روش آنزیمی با استفاده از کیت‌های ساخت شرکت پارس آزمون و توسط دستگاه اتوآنالیزر (MIRA Roche COBAS) اندازه‌گیری گردید. مقادیر c-HDL به روش رسوبی با استفاده از کیت‌های کمی رسوبی ساخت شرکت پارس آزمون و به وسیله دستگاه اتوآنالیزر اندازه‌گیری گردید (۲۵).

$$LDL\text{-}c = TC - (TG/5 + HDL\text{-}c)$$

میزان کلسیم و فسفر در سرم خون، به روش رنگ‌سنجی و با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی تجاری اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری pH نمونه‌ها

به این منظور، ۵ گرم از نمونه گوشت سینه به مدت یک دقیقه با ۴۵ میلی لیتر آب مقطر همگن شده و میزان pH آن با دستگاه pH متر در روز کشتار، ۲۴ ساعت بعد از کشتار، ۳ روز و ۱۰ روز بعد از کشتار اندازه‌گیری شد (۳۲).

ارزیابی حسی

ارزیابی نمونه‌ها توسط ۷ نفر که قبل از تست نمونه‌ها آموزش دیده بودند و با ارزیابی ۵ امتیاز انجام شد. امتیاز هر یک از نمونه‌ها به صورت جدول ۳ انجام گردید (۱۷).

اندازه‌گیری رطوبت، ماده خشک، خاکستر و ظرفیت

.

نگهداری آب گوشت

از هر سینه ۱۰ گرم گوشت برداشته و به قطعه‌های کوچک تقسیم نموده و آن را در فویل آلومینیومی قرار دادیم و سپس آن را در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی گراد قرار داده و بعد از ۲۴ ساعت وزن آن برای تعیین ماده خشک و رطوبت گوشت اندازه‌گیری شد. بعد از اندازه گیری مقدار گوشت خشک شده آن را در کوره با دمای ۷۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴ ساعت جهت تعیین میزان خاکستر قرار داده شد. برای ظرفیت نگهداری آب ابتدا یک گرم گوشت درون کاغذ صافی قرار گرفت و به مدت ۷ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. نمونه گوشت بعداز سانتریفیوژ به مدت ۲۴ ساعت در آون درون دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. ظرفیت نگه‌داری آب با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۴).

$$WHC = \frac{(WAC - WAO)}{WBC} \times 100$$

WHC ظرفیت نگهداری آب، WAC وزن بعد از سانتریفیوژ و WAO وزن پس از خشک کردن و WBC وزن اولیه گوشت.

اندازه گیری بار میکروبی گوشت

یک گرم گوشت سینه را برداشته و تا ۹ برابر با سرم رقیق سازی کردیم و برای شمارش باکتری‌های کلی‌فرم و بار میکروبی کل به ترتیب از دو محیط Mac Conkey و PCA استفاده کردیم. بعد از کشت سطحی محلول گوشت و سرم بر روی محیط‌های کشت، پلت-ها به انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد منتقل گردید و پس از ۲۴ ساعت تعداد کلونی‌ها بر اساس واحد cfu/gr گزارش شد.

جدول۲- امتیازات ارزیابی حسی

Table 2- Sensory evaluation scores

کیفیت Quality	امتیاز Score
بسیارخوب Very well	5
خوب Well	4
قابل قبول Acceptable	3
ضعیف Weak	2
خیلی ضعیف Very weak	1

نتیجه و بحث

صفات عملکردی و خصوصیات لاشه

نتایج صفات عملکردی شامل وزن زنده، افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و مصرف خوراک در جدول شماره ۳ گزارش شده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بیش‌ترین و کم‌ترین افزایش وزن به‌ترتیب متعلق به آلوئه‌ورا ۲ درصد (۶۴/۶۳ گرم) و موشکورک ۲ درصد (۵۱/۸۱ گرم) بود. درابیگانا و همکاران در سال ۲۰۱۷ نتایجی مشابه‌ی این مطالعه به‌دست آوردند. آن‌ها بیان کردند که ده گرم بر کیلو گرم آلوئه‌ورا اثر معنی‌داری بر عملکرد، مصرف خوراک و ضریب تبدیل مرغ گوشتی داشت به این صورت که جیره بالانس شده با آلوئه‌ورا باعث افزایش وزن گردید (۵). اما در مطالعه دیگری نتایج مخالف داده‌های این مطالعه بود به گونه‌ای که ژل آلوئه‌ورا تاثیر معنی‌داری بر عملکرد جوجه‌های گوشتی نداشت (۳۰). گیاهان دارویی آلوئه‌ورا و نعنا فلفلی با از بین بردن عوامل پاتوژن، تقویت میکروفلور دستگاه گوارش، تحریک و رشد لاکتوباسیل‌ها، هم‌چنین افزایش ترشح آنزیم‌های گوارشی مانند آمیلاز و کیموترپسین سبب افزایش جذب مواد غذایی و بهبود ضریب تبدیل غذایی می‌شود (۵، ۲۵). نتایج مربوط به وزن نسبی بازده‌ی سینه، ران، سنگدان، کبد، روده و چربی حفره‌ی بطنی در جدول شماره ۴ گزارش شده است. در وزن ران، روده، سنگدان و چربی محوطه بطنی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها دیده شد. بیش‌ترین وزن روده و کبد متعلق به موشکورک ۰/۵ درصد بود و کم‌ترین وزن روده و کبد به‌ترتیب متعلق به گروه آلوئه‌ورا ۰/۵ درصد و موشکورک ۲ درصد بود. بیش‌ترین وزن سنگدان و ران و چربی محوطه بطنی متعلق به گروه شاهد و کم‌ترین وزن ران متعلق به موشکورک ۲ درصد و کم‌ترین وزن سنگدان و چربی محوطه بطنی متعلق به آلوئه ورا ۰/۵ درصد می‌باشد. آسمانان پلی ساکارید موجود در ژل آلوئه‌ورا دارای خاصیت ضد باکتریایی می‌باشد و به دلیل این خاصیت باعث بهبود میکروفلور روده ، باعث تحریم سیستم ایمنی و مقاومت بدن در برابر باکتری‌ها و ویروس‌ها شده و در نتیجه باعث افزایش عملکرد و رشد پرندگان می‌گردد (۳۰).

فاکتورهای بیوشیمیایی و pH گوشت

کاهش pH گوشت طیور پس از کشتار عامل مهمی در ممانعت از فعالیت‌های میکروبی، افزایش ماندگاری و بهبود خصوصیات ارگانولپتیک آن می باشد (۲۷). این کاهش pH طی دوره نگه‌داری پس از کشتار ناشی از تجمع اسید لاکتیک در فرایند گلیکولیز می‌باشد که به‌دلیل کاهش محتوای گلیکوژن، سرعت کاهش pH از زمان خون‌گیری تا حصول مقدار نهایی آن کاهش می‌یابد (۳). در این میان استفاده از برخی گیاهان دارویی در تغذیه طیور باعث کاهش pH گوشت در ۲۴ ساعت اول می‌گردد که بسیار حائز اهمیت می‌باشد. نتایج حاصل از این آزمایش در رابطه با فاکتورهای بیوشیمیایی و pH پس از کشتار در جدول شماره ۵ و ۶ گزارش شده است. در این آزمایش سه گیاه دارویی ناخنک، موشکورک و آلوئه‌ورا در دو سطح نیم و دو درصد باعث افزایش pH در لحظه کشتار شدند و تیمار نیم درصد شبدر زرد در این آزمایش باعث کاهش pH نسبت به گروه کنترل و سایر تیمارها در ۲۴ ساعت اول گشت. گیاه دارویی شبدر زرد در سطح ۰/۵ درصد با عث کاهش تری گلیسرید (۹۰/۶۶ میلی گرم در دسی لیتر) نسبت به گروه شاهد (۱۴۳ میلی گرم در دسی لیتر) و نیز کاهش کلسترول (۱۴۶/۲۵ میلس گرم در دسی لیتر) نسبت به گروه شاهد شده است. در این آزمایش میزان HDL در تیمار ۰/۵ درصد آلوئه‌ورا بیشترین میزان (۹۴/۳۳ میلی گرم در دسی لیتر) و در گروه شاهد دارای کمترین میزان (۷۸/۲۵ میلی گرم در دسی لیتر) بود.

تست حسی و عوامل کیفی گوشت

در جدول‌های شماره ۷ و ۸ نتایج مربوط به تست حسی و عوامل کیفی گوشت نشان داده شده‌است. در تست حسی بین بو، طعم، تردی و مقبولیت کلی تفاوت‌های معنی‌داری مشاهده گردید. گروه شاهد در همه صفات مورد ارزیابی، نتیجه ضعیف‌تری نسبت به سایر تیمارها نشان داد. گیاه دارویی شبدر زرد در سطح نیم درصد باعث بهبود طعم، تردی، بو و رنگ گوشت گردید. بعد از شبدر زرد آلوئه‌ورا تاثیری بهتری بر کیفیت گوشت بلدرچین داشت. جبلی جوان و همکاران نشان دادند که ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره متانولی آلوئه‌ورا باعث افزایش کیفیت حسی گوشت مرغ گردید (۱۱). ژل آلوئه ورا به دلیل داشتن ترکیبات فنولیک و ویتامین های توکوفرول و اسید اسکوربیک به عنوان آنتی اکسیدان عمل می کند و باعث به تاخیر انداختن اکسیداسیون لیپید، رنگ پریدگی و رشد میکروبی شده در نتیجه موجب افزایش کیفیت گوشت می شود (۳۱). گیاه دارویی شبدر زرد علاوه بر این‌که بر کیفیت حسی تاثیر بسیار خوبی داشت بر عوامل فیزیکی حسی مانند خاکستر، ظرفیت نگه‌داری آب و رطوبت گوشت نیز تاثیر خوبی نسبت به سایر تیمارها و گروه کنترل داشت.

بار میکروبی گوشت

نتایج حاصل از این آزمایش در جدول شماره ۹ نشان داده شده است. کمترین میزان باکتری کل و کلی فرم، ده روز پس از کشتار در تیمار موشکورک دو درصد می‌باشد. مکانیسم اثر ترکیبات گیاهی بر جلوگیری از رشد باکتری شامل ایجاد اثر مخرب مواد فعال آن‌ها بر دیواره سلولی و تخریب و شکستگی آن است که باعث جدا شدگی، اجزاء دیواره و در معرض قرار گرفتن محتویات سلول و در نهایت مرگ سلول می‌شود (۲۹). موشکورک و شبدر زرد حاوی مقادیر قابل توجهی تیمول و کارواکرول می‌باشند که این ترکیبات می‌توانند به

غشاء بیرونی باکتری‌ها آسیب برساند و قابلیت نفوذپذیری غشای سلولی را افزایش دهند در نتیجه منجر به تراوش ای‌تی‌پی‌ایز می‌شوند. کارواکرول در باکتری E. Coli $O_{157}H_7$ تولید پروتئین شوک حرارتی-۶۰ را القاء می‌نماید و از سنتز فلاژین ممانعت می‌کند (۱). در نتیجه تحرک باکتری دچار اختلال شده و باعث مرگ باکتری می‌شود و می‌توان کاهش بار باکتریایی گوشت بلدرچین‌های موجود در تیمارهای تغذیه شده با شبدر زرد و موشکورک را به این دلیل دانست.

جدول ۳- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر میانگین وزن زنده و ضریب تبدیل (وزن بر حسب گرم± انحراف معیار)[۱]

Table 3- effect of different treatment on live mean weight ± SD (gr) and FCR[1]

تیمار Treatment[2]	وزن زنده ۲۷ روزگی LW27d	وزن زنده ۴۲ روزگی LW42d	مصرف خوراک ۴۲-۲۷ روزگی feed intake (27-42d)	افزایش وزن Body weight gain (gr/bird)	ضریب تبدیل غذا FCR
کنترل CON	117.70±8.19	180.48±18.30	658±2.82	62.78±2.82[ab]	3.69±0.09[c]
شبدر زرد-۰/۵ MO-0.5%	112.77±10.15	176.64±18.66	665.00±1.41	63.87±5.65[a]	3.77±0.02[bc]
شبدر زرد-۲ MO-2%	111.17±9.83	173.31±19.71	667.00±7.07	62.14±32.1[ab]	3.85±0.07[abc]
موشکورک-۰/۵ OD-0.5%	115.30±8.00	169.48±26.50	664.00±5.65	54.18±6.05[ab]	3.92±0.04[ab]
موشکورک-۲ OD-2%	115.70±10.00	167.31±29.62	665.00±2.82	51.81±3.46[b]	3.98±0.11[a]
آلوئه‌ورا-۰/۵ AV-0.5%	114.67±6.94	176.82±25.66	664.00±7.07	62.15±5.35[ab]	3.76±0.08[bc]
آلوئه‌ورا-۲ AV-2%	113.07±12.09	177.65±24.90	666.00±12.72	64.63±5.40[a]	3.75±0.05[bc]

[۱]حروف متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد می‌باشد.

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

[2]MO-0.5: *Melilotus officinalis*-0.5%, MO-2%: *Melilotus officinalis*-2%, OD-0.5: *Oliveria decumbens*-0.5%, OD-2%: *Oliveria decumbens*-2%, AV-0.5: *Aloe vera*-0.5, AV-2%: *Aloe vera*-2%.

جدول ٤- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر میانگین وزن اجزای لاشه (درصد±انحراف معیار)[۱]

Table 4- effect of different treatment on carcass organs mean weight ±SD[1]

تیمار[۲] Treatment[2]	چربی محوطه بطنی Abdominal fat	کبد Liver	سینه Breast	ران Leg	روده Gut	سنگدان Gizzard
کنترل CON	4.75±0.33	3.24±0.17	32.79±0.55	19.27±0.17	6.03±1.18[bc]	3.54±0.30[bc]
شبدر زرد-۰/۵ MO-0.5%	3.48±0.55	2.83±0.69	31.29±2.42	18.03±1.64	4.60±0.34[a]	3.16±0.38[abc]
شبدر زرد-۲ MO-2%	3.07±0.16	2.87±0.31	30.76±1.81	18.10±1.56	5.48±0.79[abc]	3.39±0.16[abc]
موشکورک-۰/۵ OD-0.5%	3.33±±0.21	3.39±0.56	31.77±2.14	18.34±2.56	6.69±0.82[c]	3.60±0.38[c]
موشکورک-۲ OD-2%	3.59±0.52	2.72±0.59	30.15±0.65	18.74±0.99	5.35±0.29[ab]	2.98±0.19[ab]
آلوئه‌ورا-۰/۵ AV-0.5%	2.83±0.39	3.24±0.09	31.89±0.61	18.84±0.70	5.04±0.57[ab]	2.84±0.28[a]
آلوئه‌ورا-۲ AV-2%	3.37±0.12	3.15±0.31	31.80±2.24	18.63±0.37	5.43±0.17[abc]	3.12±0.07[abc]

[۱]حروف متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد می‌باشد.

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

[2]MO-0.5: *Melilotus officinalis*-0.5%, MO-2%: *Melilotus officinalis*-2%, OD-0.5: *Oliveria decumbens*-0.5%, OD-2%: *Oliveria decumbens*-2%, AV-0.5: *Aloe vera*-0.5, AV-2%: *Aloe vera*-2%.

در این مطالعه بیشترین میزان کلسترول در تیمار آلوئه‌ورای دو درصد بود در صورتی که در مطالعه‌ای توسط حبیبی و همکاران گزارش گردید که آلوئه‌ورا در سطح نیم و دو درصد باعث کاهش کلسترول تخم بلدرچین می‌گردد (۷).

جدول۵- تاثیر تیمارهای مختلف بر میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی گوشت بلدرچین (mg/dl±SD)[۱]

Table ۵- Effect of different treatment on Meat biochemical of Japanese quails (SD±mg/dl)[1]

تیمار[۲] Treatment[2]	TG	Cho	LDL	HDL	Pho	Ca
کنترل CON	143±26.78[a]	146.25±18.51[a]	49.75±8.84	78.25±24.90	7.52±1.47	13.42±1.17
شبدر زرد-۰/۵ MO-0.5%	90.66±6.02[c]	98.66±17.38[b]	53.66±4.04	92.33±9.20	7.00±0.43	12.63±0.51
شبدر زرد-۲ MO-2%	99.50±29.24[bc]	107.00±10.39[b]	57.50±11.47	86.00±31.19	7.27±0.22	12.37±1.17
موشکورک-۰/۵ OD-0.5%	115.66±19.62[abc]	110.66±17.09[b]	52.00±5.00	91.66±12.58	6.36±0.66	12.76±0.37
موشکورک-۲ OD-2%	133.00±10.80[ab]	115.00±9.76[b]	59.25±10.99	79.75±22.96	6.37±1.04	13.10±0.39
آلوئه‌ورا-۰/۵ AV-0.5%	115.66±16.44[abc]	124.66±23.27[ab]	52.66±3.21	94.33±11.50	6.30±0.20	12.80±0.36
آلوئه‌ورا-۲ AV-2%	133.00±20.34[ab]	149.75±13.20[a]	61.75±14.66	91.50±33.19	6.15±0.74	12.65±1.22

[۱]حروف متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد می‌باشد.

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

[2]MO-0.5: *Melilotus officinalis*-0.5%, MO-2%: *Melilotus officinalis*-2%, OD-0.5: *Oliveria decumbens*-0.5%, OD-2%: *Oliveria decumbens*-2%, AV-0.5: *Aloe vera*-0.5, AV-2%: *Aloe vera*-2%.

جدول ٦- تاثیر گیاهان دارویی بر pH گوشت در تیمارهای مختلف (pH±SD)[1]

Table ٦- Effect of experimental treatments on meat pH (%) in days 0, 1, 3 and 10 after slaughtering (pH ±SD)[1]

تیمار[۲] Treatment[2]	pH_0	pH_1	pH_3	pH_{10}
کنترل CON	6.08±0.10	5.67±0.01[a]	5.93±0.07	6.30±0.03
شبدر زرد-۰/۵ MO-0.5%	6.26±0.47	5.51±0.08[b]	6.05±0.04	6.19±0.01
شبدر زرد-۲ MO-2%	6.07±0.13	5.53±0.12[ab]	6.09±0.10	6.14±0.08
موشکورک-۰/۵ OD-0.5%	6.18±0.02	5.69±0.04[a]	5.99±0.10	6.16±0.07
موشکورک-۲ OD-2%	6.13±0.07	5.62±0.12[ab]	5.98±0.11	6.17±0.09
آلوئه‌ورا-۰/۵ AV-0.5%	6.27±0.03	5.67±0.01[a]	6.05±0.13	6.14±0.15
آلوئه‌ورا-۲ AV-2%	6.20±0.07	5.63±0.95[ab]	6.09±0.10	6.18±0.10

[۱]حروف متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد می‌باشد.

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

[2]MO-0.5: *Melilotus officinalis*-0.5%, MO-2%: *Melilotus officinalis*-2%, OD-0.5: *Oliveria decumbens*-0.5%, OD-2%: *Oliveria decumbens*-2%, AV-0.5: *Aloe vera*-0.5, AV-2%: *Aloe vera*-2%.

جدول ۷- تاثیر گیاهان دارویی مورد آزمایش بر روی فاکتورهای حسی گوشت بلدرچین±انحراف معیار[۱]

Table 7- Effect of different treatment on meat sensory factor ±SD[1]

تیمار[۲] Treatment[2]	بو Odor	تردی Frangibility	رنگ Color	طعم Flavor	مقبولیت Admissibility
کنترل CON	2.85±1.06[b]	2.71±1.11[b]	3.57±0.78	2.85±1.21[c]	3.07±0.13[g]
شبدر زرد-۰/۵ MO-0.5%	4.21±0.56[a]	4.50±0.76[a]	3.92±0.60	4.57±0.53[ab]	4.50±0.07[a]
شبدر زرد-۲ MO-2%	4.28±0.75[a]	4.71±0.75[a]	4.42±0.53	4.85±0.37[a]	3.82±0.15[d]
موشکورک-۰/۵ OD-0.5%	3.28±1.70[ab]	3.75±1.26[ab]	3.92±0.60	3.64±1.18[abc]	4.03±0.10[c]
موشکورک-۲ OD-2%	3.71±0.95[ab]	3.85±1.34[ab]	4.00±0.81	3.57±1.27[bc]	3.40±0.14[f]
آلوئه‌ورا-۰/۵ AV-0.5%	3.78±0.90[ab]	4.14±1.21[a]	3.64±0.47	3.71±1.11[abc]	4.26±0.09[b]
آلوئه‌ورا-۲ AV-2%	3.57±1.13[ab]	4.00±1.29[ab]	3.71±1.38	3.85±1.21[abc]	3.62±0.12[e]

[۱]حروف متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد می‌باشد.

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

[2]MO-0.5: *Melilotus officinalis*-0.5%, MO-2%: *Melilotus officinalis*-2%, OD-0.5: *Oliveria decumbens*-0.5%, OD-2%: *Oliveria decumbens*-2%, AV-0.5: *Aloe vera*-0.5, AV-2%: *Aloe vera*-2%.

جدول۸- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر عوامل کیفی گوشت بر حسب درصد±انحراف معیار[۱]

Table 8- Effect of experimental treatments on meat quality factors in % ±SD[1]

تیمار[۲] Treatment[2]	ظرفیت نگه‌داری آب WHC	خاکستر ASH	رطوبت WET	ماده خشک Dry matter
کنترل CON	62.90±0.45[c]	4.36±0.15[bc]	72.83±0.50[c]	27.16±0.50[a]
شبدر زرد-۰/۵ MO-0.5%	64.73±0.23[ab]	4.66±0.37[ab]	74.13±0.51[ab]	25.86±0.51[bc]
شبدر زرد-۲ MO-2%	64.96±0.65[a]	4.96±0.30[a]	74.33±0.90[a]	25.66±0.90[c]
موشکورک-۰/۵ OD-0.5%	64.23±1.15[abc]	4.16±0.20[c]	73.40±0.51[abc]	26.60±0.51[abc]
موشکورک-۲ OD-2%	64.10±1.20[abc]	4.16±0.20[bc]	73.33±0.32[bc]	26.66±0.32[ab]
آلوئه‌ورا-۰/۵ AV-0.5%	63.46±0.55[bc]	4.23±0.11[bc]	73.13±0.32[c]	26.86±0.32[a]
آلوئه‌ورا-۲ AV-2%	63.10±0.65[c]	4.13±0.20[c]	72.90±0.30[c]	27.10±0.30[a]

[۱]حروف متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد می‌باشد.

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

[2]MO-0.5: *Melilotus officinalis*-0.5%, MO-2%: *Melilotus officinalis*-2%, OD-0.5: *Oliveria decumbens*-0.5%, OD-2%: *Oliveria decumbens*-2%, AV-0.5: *Aloe vera*-0.5, AV-2%: *Aloe vera*-2%.

جدول ۹- تاثیر گیاهان دارویی بر تعداد باکتری‌های کل و کلی‌فرم گوشت روز ۱ و ۱۰ پس از کشتار (Log cfu/g±SD)[۱]

Table 9- Effect of experimental treatments on total count and coliform count of meat bacteria, 1 and 10 days after slaughtering (Log cfu/g±SD)[1]

تیمار[۲] Treatment[2]	$Total_1$	$Total_{10}$	$Coliform_1$	$Coliform_{10}$
کنترل CON	4.40±0.23[a]	7.32±0.2[a]	1.96±0.69	5.13±0.55[a]
شبدر زرد-۰/۵ MO-0.5%	4.41±0.49[a]	6.69±0.04[ab]	2.24±0.76	4.28±0.37[b]
شبدر زرد-۲ MO-2%	4.33±0.42[ab]	6.60±0.34[b]	2.18±0.71	4.20±0.23[b]
موشکورک-۰/۵ OD-0.5%	3.59±0.24[c]	5.89±0.51[c]	2.19±0.60	3.73±0.16[b]
موشکورک-۲ OD-2%	3.62±0.11[c]	5.71±0.35[c]	2.15±0.56	3.67±0.23[b]
آلوئه‌ورا-۰/۵ AV-0.5%	3.82±0.12[bc]	6.34±0.45[bc]	2.15±0.74	4.00±0.39[b]
آلوئه‌ورا-۲ AV-2%	3.67±0.15[c]	6.22±0.41[bc]	2.02±0.64	3.88±0.18[b]

[۱]حروف متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد می‌باشد.

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

[2]MO-0.5: Melilotus officinalis-0.5%, MO-2%: Melilotus officinalis-2%, OD-0.5: Oliveria decumbens-0.5%, OD-2%: Oliveria decumbens-2%, AV-0.5: Aloe vera-0.5, AV-2%: *Aloe vera*-2%.

نتیجه‌گیری کلی

در پایان این تحقیق بر اساس نتایج به‌دست آمده این گیاهان تاثیر معنی‌داری بر عملکرد و ضریب تبدیل نداشتند. اما بر عوامل کیفی، اجزای لاشه، بار میکروبی گوشت، فاکتورهای بیوشیمیایی و pH گوشت تاثیر معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ از خود نشان دادند. لذا پس از انجام آزمایشات تکمیلی می‌توان استفاده از این سه گیاه دارویی (شبدر زرد، موشکورک و آلوئه‌ورا) در تغذیه بلدرچین توصیه کرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از اساتید و کارشناسان آزمایشگاه مرکزی و میکروبیولوژی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس بوشهر برای همکاری در اجرای تحقیق حاضر قدردانی می‌گردد.

منابع

1- Abbaspour, B., and S. D. Sharifi. 2015. A Study on the Antioxidants and Hypolipidemic Effects of Gracilariopsis Persica Seaweed in Japanese Quai. Research on Animal Production, 6(12): 12-19. (In Persian)

2- Amiri, H., H. Lari Yazdi, B. Dosti. and F. Samsamnia. 2011. Essential oil composition and anatomical study of *Oliveria decumbens* Vent. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(4): 513-520. (In Persian)

3- Bertram, H. C., A.K. Whittaker, W.R. Shorthose, H.J. Andersen, and A.H Karlsson. 2004. Water characteristics in cooked beef as influenced by ageing and high pressure treatment-an NMR micro imaging study. Meat Science, 66: 301-306.

4- Bouton, P.E., P.V.Harris. and S.Shorthose. 1971. Effect of Ultimate pH upon the Water-Holding Capacity and Tenderness of Mutton. Journal Of Food Science, 36: 435–39.

5- Darabighane, B., F.M. Aghjeh Gheshlagh, B. Navidshad, A. Mahdavi, A. Zarei, and S. Nahashon. 2017. Effects of Peppermint (*Mentha Piperita*) and Aloe Vera (*Aloe Barbadensi*) on Ileum Microflora Population and Growth Performance of Broiler Chickens in Comparison with Antibiotic Growth Promoter. Iranian Journal of Applied Animal Science, 7 (1): 101–8.

6- Donhof Ivan, E. 2000. Aloe vera, the wole leaf advantage. Journal of General Practice, 15: 112-124.

7- Habibi, H., N. Ghahtan and MA. kohanmoo. 2017. Effect of Dietary Supplementation of Three Powdered Melilotus officinalis, Oliveria decumbens Vent, Aloe vera L on Quantitative, Qualitative and Biochemical Properties of Japanese Quails' Eggs. Livestock Research, 6 (12): 27-36. (In Persian).

8- Hajipour dehbalaei, Sh., M. Afsharmanesh, and M. Sami. 2016. Effect of essential oils of thyme, oregano and their combination on quality of quail meat in comparison with virginiamycin. Journal of Food Hygiene, 5(20): 45-54. (In Persian)

9- Irshad, S., M. Butt, and H. Younus. 2011. In-Vitro Antibacterial Activity of *Aloe Barbadensis Miller* (Aloe Vera).

International Research Journal of Pharmaceutical, 1 (2): 59–64.
10- Jafarzadeh, A., H. Darmani Kuhi, N. Ghavi Hossein-Zadeh. and M. Roostaei-Ali Mehr. 2014. Effect of dietary Aloe vera gel powder supplementation on performance, lymphoid organ weights and immune response of Japanese quails. Animal Production Research, 3(1): 31-41. (In Persian).
11- Jebelli Javan, A., M. Saberi, A. Javaheri Vayeghan, S. Ghaffari Khaligh, H. Rezaian and N. Nejabat. 2013. The effect of dietary Aloe vera gel extract supplementation on lipid peroxidation of broiler breast fillets during frozen storage. Journal of Veterinary Research, 68 (3): 233-240.
12- Klaver, F.A.M. and R.V.D. Meer. 1993. The Assumed Assimilation of Cholesterol by Lactobacilli and Bifidobacterium Bifidum Is Due to Their Bile Salt-Deconjugating Activity. Applied And Environmental Microbiolog, 59 (4): 1120–24.
13- Khosravinezhad. M., E. Talebi, Shivakumar, Z. Nemati. and I. Nasrollahi. 2017. Essential Oil Composition and Antimicrobial , Antioxidant Activities of *Oliveria Decumbens* Vent. International Journal of Herbal Medicine, 5 (2): 102–6.
14- Lin, D. and M.T. Morrissey. 2014. Iced Storage Characteristics of Northern Squawfish (Ptychocheilus Oregonensis). Journal of Aquatic Food Product Technology, 8: 37–41.
15- Luna, A., M. C Lábaque, J. A. Zygadlo. and R. H. Marin. 2010. Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. Poultry Science, 89: 366-370.
16- Martino, E., I. Ramaiola, M. Urbano, F. Bracco. and S. Collina. 2006. Microwave-Assisted Extraction of Coumarin and Related Compounds from *Melilotus Officinalis* (L.) Pallas as an Alternative to Soxhlet and Ultrasound-Assisted Extraction. Journal of Chromatography, 1125: 147–51.
17- Mahboubi, M., M. M. Feizabadi, G. Haghi. and H. Hosseini. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil from *Oliveria decumbens* Vent. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 24(1): 56-65. (In Persian)
18- Plesca-Manea, L., A. E. Parvu, M. Parvu, M. Taamas, R. Buia, and M. Puia. 2002. Effects of *Melilotus Officinalis* on Acute Inflammation. Phytotherapy *Research,* 16: 316–19.
19- Quijano-Celis, C. E., A. P. Jorge. and M. Gustavo. 2010. Chemical Composition of the Leaves Essential Oil of *Melilotus Officinalis* (L.) Pallas from Colombia. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 13 (3): 313–15.
20- Rouzmehr, F., Y. Chashnidel, M. Rezaei, M. Mohiti Asli, and M. Mottaghi Talab. 2017. The Effect of Thyme and Cinnamon Microencapsulated Essential Oils on Performance, Some Blood Parameters and Carcass Characteristic in Boiler Chicks. Research on Animal Production, 8(17): 34-42. (In Persian)
21- Sahu, P. K., D. Dayal Giri, R. Singh, P. Pandey, S. Gupta, A. K. Shrivastava, A. Kumar, and K. D. Pandey. 2013. Therapeutic and Medicinal Uses of Aloe Vera : A Review. Pharmacology & Pharmacy, 4: 599–610.
22- Sedaghat, A., M. A. Karimi Torshizi, and Sh, Rahimi. 2016. Effect of different levels of camphor on performance and serum concentration of thyroid hormones and testosterone in Japanese quail. Animal Production, 18(2): 273-286. (In Persian)
23- Shaeri, M., A. Mohti, Z. Ansari Pirsaraei, and M. Taghizadeh. 2012. The Effect of Anethum graveolensEssential Oil on Some Blood Parameters, Egg Yolk Cholesterol Concentration, Hatchability and Chick Quality in Broiler Breeder Hens. Research on Animal Production, 3 (6): 15-24. (In Persian)
24- Suganya, T., S, Senthilkumar, K. Deepa, J. Muralidharan, G. Gomathi, and S. Gobiraju. 2016. Herbal feed additives in poultry. International Journal of Science, Environment and Technology, 5 (3): 1137–45.
25- Talazadeh, F., M. Mayahi, S. M. Jalali, and V. Asgari. 2016. The effect of thyme extract (*Thymus vulgaris*) on feed intake, weight gain, feed conversion ratio and blood serum lipids profile of broiler chickens. Iranian Veterinary Journal, 12(3): 51-57. (In Persian)
26- Thiruppathi, S., V. Ramasubramanian, T. Sivakumar, and V. Thirumalai arasu. 2010. Antimicrobial Activity of Aloe Vera (L.) Burm. F. against Pathogenic Microorganisms. Journal Of Biosciences Research, 1 (4): 251–58.
27- Turner, T. T, and J. J. Lysiak. 2008. Oxidative stress: A common factor in testicular dysfunction. Journal of Andrology, 29: 488-498.
28- Van Riper, C. L, and D.L. Larson. 2009. Role of Invasive Melilotus Officinalis in Two Native Plant Communities Communities. Plant Ecology, 200: 129–139.
29- Windisch, W., K. Schedle, C. Plitzner, and A. Kroismayr. 2014. Use of Phytogenic Products as Feed Additives for Swine and Poultry. Journal of Animal Science, 86: 140–48.
30- Yazadani, S., Z. Ansari Pirsaraei, H. Deldar, S. A. Jafarpour, and S. Beheshti Moghadam. 2015. Effect of different levels of Aloe vera on performance, carcass characteristics, meat quality and blood paramerers of broiler chicks. Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 110: 67-80.
31- Yazadani, S., Z. Ansari Pirsaraei, H. Deldar, and S. A. Jafarpour. 2015. Effect of different levels of Aloe Vera gel and neomycin on performance, some carcass characteristics, and physical and chemical meat quality of broiler chicks. Poultry Science Researche. 2 (1): 9-20.
32- Yingyuad, S., S. Ruamsin, D. Reekprkhon, S. Reekprkhon, S. Pongamphai, and U. Siripatrawan. 2006. Effect of Chitosan Coating and Vacuum Packaging on the Quality of Refrigerated and Science. Packaging Technology and Science, 19: 149–57.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 211-222

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۲۲-۲۱۱

Effect of *Melilotus officinalis, Oliveria decumbens* Vent and *Aloe vera* L on production performance, biochemistry characteristics and meat microbial count in Japanese quail

H. Habibi[1*], N. Ghahtan[2]
Submitted: 02-01-2019
Accepted: 02-10-2019

Introduction Development of poultry production causes increasing demand for feed ingredients and also ways of manipulating poultry diets in order to increase feed conversion ratios for maximum production. In this regard, use of feed additives and growth promoters has been increased. Antibiotic growth promoters have been successfully used at sub therapeutic doses in poultry production to promote growth and protect health of the birds. The use of antibiotics as growth promoters has been prohibited by many countries as they have different side effects on both bird and human health. There has been an increasing trend towards using natural feed additives to improve the performance, increase the dietary protein, energy utilization and to maintain health of birds. Herbs, botanicals, essential oils, oleoresins and algae are alternatives for antibiotics and which have not been found to causes antibiotic-like side effects on consumers. The beneficial effects of herbal plants additives in poultry (broilers, layers, broiler breeders, layer breeders and quail) may arise from their having positive effect on feed intake, digestive secretions, immune stimulation, antibacterial, antibacterial, coccidiostatic, antiviral or anti-inflammatory activity. In plant tissues, pH values are dependent on the presence of poly-carboxylic acids, phosphate salts, fiber and proteins. In this study, we partly replaced quail meal with very low amounts of *Melilotus officinalis, Oliveria decumbens* vent and *Aloe Vera* L meal to evaluate the medicinal plants as a Quail meal supplement and to assess the effects of this dietary change on growth performance, Biochemical factors, Qualitative agent and microbial load in Japanese quail meat.

Materials and methods A total of 280 Japanese Quail hatchlings (one-day-old at test inception) were used in the study. Treatment protocol used four replicates each of eight different tests either of two levels (0.5 or 2% of total food mass) of tested medicinal plant material and one control group that received a diet free of medical plant supplements. Each treatment had four replicates, thus there was a total of 28 groups of 10 birds. The hatchling birds were maintained and adapted for 15 days under lab conditions: 16-h lighting, 8 h darkness, at temperature of 25 °C ± 2. Feed (mash form) and water were provided ad libitum throughout the whole trial. Body weight gain per hen were evaluated at 27 and 42 d. Feed intake and feed conversion ratio were determined and calculated during each phase of whole period. At the end of the experimental period, 4 Quail from each replicate of different groups were randomly selected and sacrificed to calculate the carcass. Serum triglycerides (TG), cholesterol (Cho), High Density Lipoprotein (HDL) and Low Density Lipoprotein (LDL) cholesterol levels were determined. The meat samples were dried for 24h in an oven at 70 ˚C and the meat moisture was calculated. The meat samples were placed after centrifugation for 24h in an oven at 70 ˚C and the meat water holding capacity was calculated. The ash content was determined by charring followed by ashing the samples at 720°C to a white ash. The pH of the meat samples was determined by homogenizing 10 g of meat with 50 mL of distilled water. The homogenates were filtered, and the pH of each sample was measured with a pH meter at room temperature. The samples were analyzed for the total bacterial and coliforms load using plate count agar by PCA and Mac Conkey technique. The subjective evaluations of product quality were carried out by an experienced panel composed of 7 people.

Results and Discussion The results showed that the addition of dietary supplements *of M. officinalis, O. decumbens vent* and *A. Vera* L at the level of 0.5 or 2% ratio had no significant effect on LW 27d, LW 42d and feed conversion ratio of quail. However, the highest Carcass weight was recorded in group fed with *A. Vera* L-

1- Assistant Professor of Animal Sciences Department, Faculty of Agricultural and Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr, Iran.
2- Former MSc. Student of Horticultural Sciences Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University Bushehr, Iran.
(*- Corresponding Author Email: h.habibi@pgu.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.78238

2% and the least Carcass weight was recorded in group fed with *M. officinalis*-2%. Qualitative factors, carcass components, microbial community, biochemical factors and meat pH significantly affected by levels of herbal plants powder ($p \leq 0.05$). *M. officinalis*-0.5% reduced cholesterol and triglyceride. We also recorded evidence that *O.decumbens*-2% Vent powders reduced the total bacterial and coliforms. It was concluded that addition of 2% of *A. vera* to the diet can improve performance and addition of 2% of *M. officinalis*, *O. decumbens* a to the diet can improve meat shelf life in Japanese quails.

Key word: Biochemical factors, Cholesterol, Japanese quail, Microbial count.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 223-229

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۲۹-۲۲۳

مقاله علمی- پژوهشی

مقایسه‌ی برخی مدل‌های غیرخطی در توصیف منحنی رشد گوسفندان ماکویی

میثم لطیفی[1*]، صادق علیجانی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۱۲

چکیده

هدف از این تحقیق مقایسه مدل‌های غیرخطی نمایی منفی، لجستیک، ون برتالانفی، برودی و گمپرتز برای برازش منحنی رشد در گوسفند ماکویی بود. داده‌های مورد استفاده شامل۵۹۱۳ رکورد وزن بدن از ۱۹۶۶ بره نر و ۷۰۹۲ رکورد از ۲۳۵۴ بره ماده بود (از تولد تا ۲۲۵ روزگی)، که طی سال‌های ۱۳۷۳ الی ۱۳۹۰ در ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند نژاد ماکویی شهرستان ماکو جمع آوری شده بود. برازش مدل‌های غیرخطی با استفاده از رویه‌ی حداقل مربعات غیرخطی (NLIN) نرم افزار SAS انجام شد. به منظور تعیین بهترین مدل از ضریب تبیین اصلاح شده (R^2_{adj})، جذر میانگین مربعات خطا (RMSE)، معیار اطلاعات آکائیک (AIC) و معیار اطلاعات بیزی (BIC) استفاده شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مدل برودی با داشتن بالاترین R^2_{adj} و کمترین RMSE، AIC و BIC بهتر از دیگر مدل‌ها، منحنی رشد گوسفند نژاد ماکویی را برازش کرد. به ترتیب کمترین و بیشترین همبستگی منفی بین دو پارامتر A و k برای کل بره‌ها در مدل لجستیک (۰/۵۹-) و برودی (۰/۹۷-) بدست آمد. نتایج این مطالعه نشان داد که مدل برودی برای تعیین برخی از راهبردهای مدیریتی مانند تعیین برنامه‌های تغذیه‌ای و سن مناسب کشتار گوسفندان ماکویی مفید می‌باشد.

کلمات کلیدی: گوسفند ماکویی، مدل‌های غیرخطی، منحنی رشد، وزن بدن.

مقدمه

از مهمترین ویژگی‌های حیوانات مزرعه‌ای داشتن رشد مطلوب می‌باشد، زیرا کاهش در نرخ رشد، موجب کاهش وزن هنگام فروش و کاهش سود دهی می‌شود (۱). تغییر در وزن زنده در یک دوره زمانی با منحنی رشد توصیف می‌گردد (۱۰). منحنی رشد، توصیف نموداری تغییرات رشد در یک دوره زمانی خاص می‌باشد که تغییرات تدریجی وزن بدن حیوان را در گذر زمان با دقت توصیف می‌کند و اغلب به صورت سیگموئیدی می‌باشد (۲۱). آنالیز عملکرد رشد حیوانات در دوره زندگی برای روش‌های تغذیه مناسب و انتخاب بهترین سن جهت کشتار از اهمیت خاصی برخوردار است. علاوه بر این به تعیین طرح‌های مدیریتی و طرح‌ریزی راهکارهای اصلاح نژادی به منظور بهبود پروسه‌ی رشد کمک می‌کند (۱۲).

مدل‌های ریاضی مختلفی برای توصیف ارتباط رشد به صورت تابع از زمان، مورد استفاده واقع شده است. دلیل استفاده از مدل‌های غیرخطی این است که اطلاعات زیادی از لحاظ بیولوژیکی، در مجموعه‌ی کوچکی از پارامترها تفسیر شود (۱۸). از این مدل‌ها می‌توان به مدل‌های غیرخطی مانند نمایی منفی، لجستیک، ون برتالانفی، برودی، گمپرتز و ریچارد اشاره کرد. از مهمترین ویژگی‌های مدل‌های نامبرده می‌توان به توانایی آن‌ها برای توصیف افزایش وزن و ارزیابی برخی از پارامترهای مهم مانند وزن بلوغ، نرخ رشد و نرخ بلوغ اشاره کرد. این پارامترها ابزاری مناسب برای تخمین نیازهای تغذیه‌ای روزانه یا تاثیر شرایط محیطی در افزایش وزن حیوان می‌باشند (۱۹). در مقایسه‌ی مدل‌های مختلف در برازش منحنی رشد، مدل برودی برای گوسفند کوتوله آفریقایی، مدل لجستیک برای گوسفند Santa Ines و مدل گمپرتز برای گوسفند سافوک به عنوان بهترین مدل انتخاب شده است (۸، ۶ و ۱۳). با توجه به اینکه، یک تابع رشد نتایج متفاوتی بر حسب نژاد و جمعیت مورد بررسی ارائه می‌دهد لذا مدل‌سازی رشد برای هر گله می‌بایست به طور جداگانه انجام گیرد (۲). گوسفند ماکوئی نژادی پشمی-گوشتی می‌باشد که در شمال غرب آذربایجان زیست می‌کند. پراکندگی و گستردگی این گوسفند در کشور ایران، شوروی و ترکیه می‌باشد و در ترکیه کارامان سفید نامیده می‌شود. تاکنون هیچ پژوهشی در مورد بررسی منحنی

۱-محقق مستقل، همدان، ایران (دانش آموخته دکترای ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشگاه کردستان)
۲-دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
(*- ایمیل نویسنده مسئول: mlganjnameh@gmail.com)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.78389

رشد در گوسفند ماکوئی صورت نگرفته است. هدف از این مطالعه برآورد پارامترهای منحنی رشد با استفاده از مدل‌های غیرخطی نمایی منفی، لجستیک، ون برتالانفی، برودی و گمپرتز و انتخاب بهترین مدل برای توصیف منحنی رشد در گوسفند ماکویی بود.

مواد و روش ها

در این پژوهش به منظور مقایسه‌ی مدل‌های مختلف منحنی رشد از داده‌های ایستگاه اصلاح نژاد گوسفند ماکویی واقع در آذربایجان غربی، شهرستان ماکو که طی سال های ۱۳۷۳ الی ۱۳۹۰ جمع آوری شده بود، استفاده شد. داده‌های مورد استفاده شامل ۵۹۱۳ رکورد وزن روزانه از ۱۹۶۶ بره نر و ۷۰۹۲ رکورد وزن روزانه از ۲۳۵۴ بره ماده بود (از تولد تا ۲۲۵ روزگی). در این ایستگاه میش‌های جوان در سن ۱/۵ سالگی آمیزش داده می‌شوند و به ازای ۱۵-۱۰ میش، یک قوچ در نظر گرفته می‌شود. بره‌زایی نیز از اوایل دی ماه شروع شده و تا اواخر فروردین ادامه می‌یابد. در هنگام تولد اطلاعات مربوط به بره شامل وزن بره، جنسیت، شماره پدر و مادر و تاریخ زایش ثبت می‌شود. بره‌ها تقریبا در سن سه ماهگی از شیر گرفته می‌شوند. بعد از شیرگیری بره‌ها و میش‌ها به صورت گله‌های جداگانه در مرتع نگهداری می‌شوند. پنج مدل غیرخطی به منظور بررسی منحنی رشد در گوسفند ماکویی برازش داده شد (جدول ۱). در این معادلات، Y وزن مشاهده شده در سن tام (به روز)، A وزن مجانبی یا وزن بلوغ، B ثابت انتگرال گیری یا نرخ رشد، k نرخ بلوغ، t سن به روز و e عدد نپر می‌باشند. برازش مدل‌های غیرخطی با استفاده از نرم افزار SAS 8.2 و رویهٔ حداقل مربعات غیرخطی (NLIN) و روش تکرار گاوس-نیوتن انجام شد.

جدول ۱- مدل های غیرخطی در نظر گرفته شده در این مطالعه برای توصیف منحنی رشد در گوسفند ماکویی

Table 1- Non-linear models considered in this study to describe growth curve in Makooei sheep

Model	Formula	Reference
Negative exponential	$Y = A[1-\exp^{(-kt)}]$	(۵)
Brody	$Y = A[1-B \exp^{(-kt)}]$	(۴)
Gompertz	$Y = A \exp[-B \exp^{(-kt)}]$	(۱۱)
Logistic	$Y = A/[1 + B \exp^{(-kt)}]$	(۱۷)
Von Bertalanffy	$Y = A[1 - B \exp^{(-kt)}]^3$	(۲۰)

Y: وزن مشاهده شده در سن tام؛ A: وزن بلوغ؛ B: نرخ رشد؛ k: نرخ بلوغ؛e: عدد نپر

Y: the animal weight at a given age (t); A: the asymptotic weight; B: the integration constant; K: the maturity rate; e = Eluer's number.

به منظور تعیین بهترین مدل از ضریب تبیین اصلاح شده (Adjusted Coefficient of Determination = R^2_{adj})، جذر میانگین مربعات خطا (Root Mean Square Error = RMSE) معیار انحراف آکائیک (Akaike's Information Criterion = AIC) و معیار انحراف بیزی (Bayesian Information Criterion = BIC) استفاده شد. در نهایت هر مدلی که بیشترین مقدار R^2_{adj} و کمترین مقدار RMSE، AIC و BIC را داشت، به عنوان بهترین مدل انتخاب شد. AIC و BIC نیز از معادلات ذیل محاسبه شدند:

$$AIC = n \times \ln (RSS) + 2p \quad (۱)$$

$$BIC = n \times \ln (RSS/n) + p \times \ln (n) \quad (۲)$$

که در این معادلات n: تعداد مشاهدات، RSS: جمع مربعات خطا و p تعداد پارامترهای آزاد در مدل می‌باشند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از برآورد پارامترهای A، B، k، همبستگی بین پارامترهای A، B و k و مقادیر R^2_{adj} ، RMSE، AIC و BIC برای کل بره‌ها، بره‌های نر و ماده در جدول (۲) آمده است. منحنی رشد برازش شده با مدل‌های مختلف برای بره‌های نر و ماده در شکل‌های ۱ و ۲ ترسیم شده است. همینطور که در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است یک روند افزاییشی برای وزن با افزایش سن دیده می‌شود که این نتایج با گزارشات سایر محققین همخوانی دارد (۹ و ۱۸). ضریب تبیین تصحیح شده برای همه مدل‌ها بیشتر از ۰/۸۴ بدست آمد. بیشترین مقدار R^2_{adj} برای کل بره‌ها، در مدل برودی و کمترین مقدار در مدل نمایی منفی بدست آمد. برای بره های نر و ماده نیز به ترتیب بر اساس مقدار R^2_{adj} مدل ون برتالانفی و برودی به عنوان بهترین مدل انتخاب شدند. بر اساس معیار RMSE، AIC و BIC برای کل بره‌ها، بره های نر و ماده مدل برودی بهترین بود. بنابراین با نتایج بدست آمده مدل برودی به عنوان بهترین مدل انتخاب شد. برای کل بره‌ها، بره های نر و ماده به ترتیب کمترین و بیشترین مقادیر برای پارامتر A که بیانگر وزن بلوغ می‌باشد، در مدل‌های لجستیک و برودی برآورد گردید. با توجه به اینکه وزن بلوغ تابعی از گونه، نژاد، روش انتخاب، سیستم مدیریت و شرایط محیطی می‌باشد،

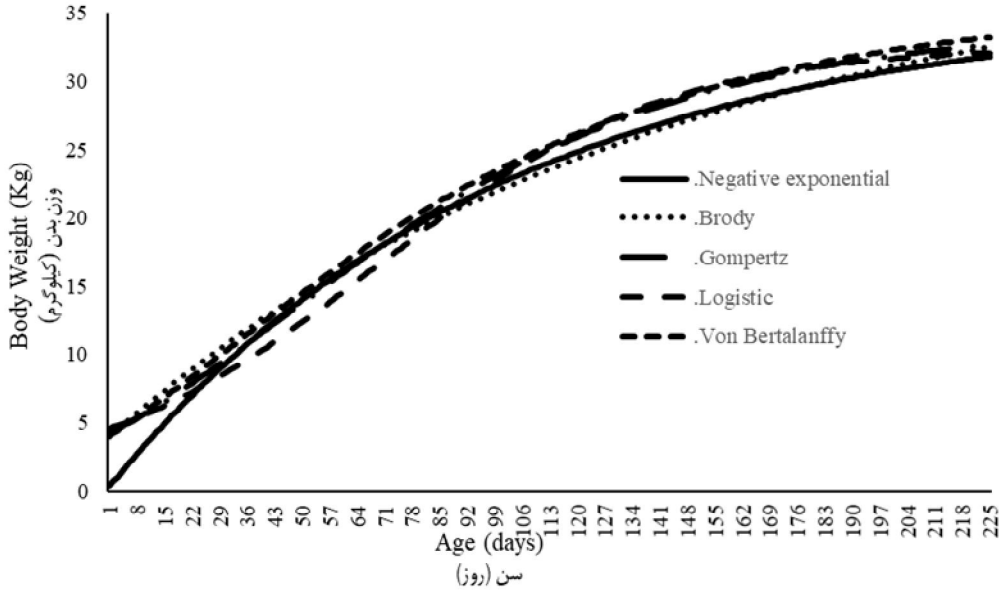
تعیین مقدار مناسب برای پارامتر A بحث برانگیز می‌باشد (۱۴). در مورد پارامتر B، برای کل بره‌ها، بره‌های نر و ماده، کمترین و بیشترین برآورد به ترتیب برای مدل‌های ون برتالانفی و لجستیک مشاهده گردید. پارامتر k که بیانگر نرخ بلوغ است نشان‌دهنده‌ی سرعت رشد برای رسیدن به وزن تقریبی می‌باشد. به ترتیب کمترین و بیشترین برآورد نرخ بلوغ (k) در مدل برودی (برای کل بره‌ها و بره‌های نر مقدار ۰/۰۰۷) و مدل لجستیک (برای بره‌ها ماده مقدار ۰/۰۲۸) بود. دفاطیما و همکاران (۷) با مقایسه‌ی مدل‌های مختلف در گوسفند Texel، با دو معیار میانگین مربعات خطا و ضریب تبیین، مدل برودی را به عنوان بهترین مدل، و مقادیر A، B و k را به ترتیب ۴۹/۴۷، ۰/۹۱ و ۰/۰۰۸ گزارش کردند. تاریگ و همکاران (۱۸) با مقایسه‌ی مدل‌های مختلف در گوسفند Mengali، بر اساس معیارهای مختلف مانند RMSE و معیار اطلاعات آکائیک، مدل Morgan-Mercer-Flodin را به عنوان بهترین مدل و مقادیر A، B، k و δ (پارامتری که نقطه عطف را کنترل می‌کند) را به ترتیب ۵۷/۰۶، ۳/۵۹، ۰/۰۰۴ و ۱/۱۰ گزارش کردند. دسیلوا و همکاران (۶) با مقایسه‌ی مدل‌های مختلف در نژاد Santa Inês، مدل لجستیک را به عنوان بهترین مدل انتخاب کردند. حسین پور مشهدی و همکاران (۹) به توصیف منحنی رشد در بره‌های نر و ماده نژاد بلوچی با مدل‌های غیرخطی رشد پرداختند و بر اساس معیار R^2، جذر میانگین مربعات خطا و میانگین قدرمطلق خطا در بره‌های نر، مدل برودی و در بره‌های ماده مدل ون برتالانفی را به عنوان بهترین مدل گزارش کردند. این محققین مقادیر A ، B و k را به ترتیب بر اساس بهترین مدل برای نرها ۳۹/۳۸، ۰/۸۴ و ۰/۰۱ و برای ماده ها ۳۵/۸۶، ۰/۵ و ۰/۰۱ گزارش کردند.

جدول ۲- پارامترهای تخمین شده، همبستگی بین A، B و k، ضریب تبیین تصحیح شده (R^2_{adj})، جذر میانگین مربعات خطا (RMSE)، معیار اطلاعات آکائیک (AIC) و معیار اطلاعات بیزی (BIC) برای منحنی‌های رشد مختلف در گوسفند ماکویی

Table 2- Estimated Parameters, correlation coefficient between A, B and k, Adjusted Determination Coefficient (R^2_{adj}), Root Mean Square Error (RMSE), Average Information Criteria (AIC) and Bayesian Information Criteria (BIC) for different growth curves in Makooei sheep

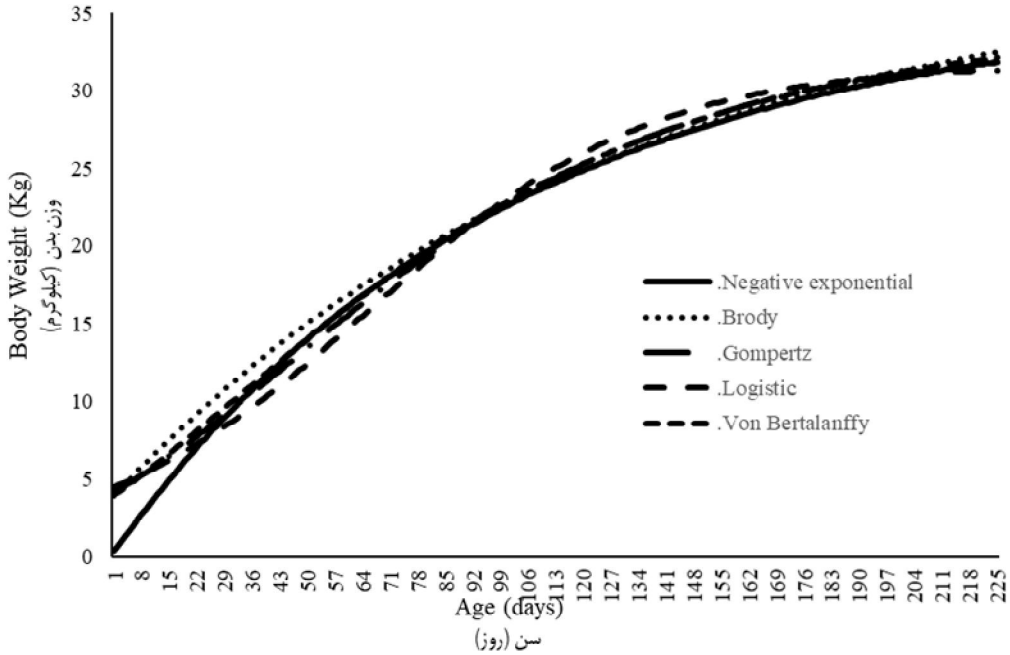
	Parameters پارامترها	Gompertz	Brody	Von Bertalanffy	Logistic	Negative Exponential
All Lambs کل بره‌ها	A	33.80	39.04	34.90	32.08	36.27
	B	2.13	0.91	0.52	6.28	-
	k	0.017	0.007	0.013	0.027	0.010
	r_{AB}	-0.03	0.26	0.03	-0.08	-
	r_{AK}	-0.83	-0.97	-0.89	-0.59	-0.96
	r_{BK}	0.43	-0.15	0.25	0.72	-
	R^2_{adj}	0.8769	0.8799	0.8781	0.8717	0.8505
	RMSE	4.25	4.20	4.23	4.33	4.69
	AIC	160845.10	160521.50	160710.90	161372.70	163369.30
	BIC	37670.04	37346.39	47535.84	38197.58	40186.69
Male Lambs بره‌های نر	A	34.24	40.04	35.57	32.57	37.04
	B	2.13	0.91	0.52	6.31	-
	k	0.017	0.007	0.014	0.027	0.010
	r_{AB}	-0.028	0.28	0.037	-0.082	-
	r_{AK}	-0.83	-0.97	-0.89	-0.60	-0.95
	r_{BK}	0.42	-0.17	0.25	0.72	-
	R^2_{adj}	0.8388	0.8666	0.8850	0.8790	0.8575
	RMSE	4.16	4.12	4.14	4.25	4.63
	AIC	68235.60	68091.57	68175.32	68476.24	69482.00
	BIC	16901.79	16757.75	16841.51	17142.43	18141.51
Female Lambs بره‌های ماده	A	33.29	38.18	34.33	31.66	35.59
	B	2.12	0.91	0.52	6.26	-
	k	0.017	0.008	0.014	0.028	0.010
	r_{AB}	-0.027	0.24	0.032	-0.073	-
	r_{AK}	-0.82	-0.97	-0.89	-0.59	-0.95
	r_{BK}	0.42	-0.13	0.26	0.72	-
	R^2_{adj}	0.8714	0.8746	0.8727	0.8661	0.8453
	RMSE	4.31	4.23	4.29	4.39	4.72
	AIC	83612.43	83433.39	0.83538.58	83899.89	84900.37
	BIC	20753.23	20571.43	20676.38	21037.69	22031.31

در این مطالعه، مدل برودی براساس معیار R^2_{adj}، RMSE، AIC و BIC برای کل بره‌ها به عنوان بهترین مدل انتخاب شد و مقادیر A، B و k به ترتیب ۳۹/۰۴، ۰/۹۱ و ۰/۰۰۷ برآورد گردید. همچنین مقادیر A، B و k بر اساس بهترین مدل (برودی) به ترتیب برای بره‌های نر ۴۰/۰۴، ۰/۹۱ و ۰/۰۰۷ و برای بره‌های ماده ۳۸/۱۸، ۰/۹۱ و ۰/۰۰۸ برآورد شد که با گزارشات محققین همخوانی دارد (۹). در این مطالعه مقدار پارامتر A در بره‌های نر بیشتر از بره‌های ماده بود. این نتایج بیانگر این است که که وزن بره‌های نر در هنگام بلوغ بیشتر از وزن بره‌های ماده می باشد. نئشولم و دنل (۱۶) علت بالا بودن وزن بره‌های نر در مقایسه با وزن بره‌های ماده را، تفاوت‌های هورمونی و فیزیولوژیکی در دو جنس بیان کردند. مهمترین رابطه بیولوژیکی در منحنی رشد بین پارامترهای A و k می‌باشد (۱۵). در این مطالعه کمترین مقدار همبستگی بین این دو پارامتر در مدل لجستیک (۰/۵۹-) و بیشترین مقدار در مدل برودی (۰/۹۷-) بدست آمد. رابطه منفی بین این دو پارامتر بیانگر این است، حیواناتی که زودتر به بلوغ می‌رسند با احتمال کمتری در هنگام بلوغ وزن بالایی دارند، یا به عبارت دیگر حیواناتی که وزن بلوغ بالایی دارند، در مقایسه با حیواناتی که وزن بلوغ کمتری دارند دارای سرعت رشد کمتری می‌باشند (۶). بحرینی بهزادی و همکاران (۳) مقدار همبستگی بین دو پارامتر A و k را در مدل لجستیک ۰/۶۳- و در مدل برودی ۰/۹۲- گزارش کردند که با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی دارد. مقدار همبستگی بین دو پارامتر وزن بلوغ (A) و نرخ رشد (B) در این مطالعه در دامنه‌ی ۰/۲۸ و ۰/۰۸- بدست آمد. همبستگی منفی بین پارامترهای A و B نشان دهنده‌ی این است که سرعت رشد سریعتر می‌تواند سبب بروز وزن بلوغ کمتر شود (۹). در جدول (۳) میانگین وزنی پیش‌بینی شده و مشاهده شده در سنین مختلف (روز) آمده است. در سن ۹۰ روزگی مقادیر وزن پیش‌بینی شده در همه‌ی مدل‌های برازش شده از مقدار وزن مشاهده شده کمتر است. در روز تولد، سن ۱۸۰ روزگی و ۲۲۵ روزگی مقادیر وزنی پیش‌بینی شده با توجه به مدل‌های برازش شده، از مقدار وزن مشاهده شده کمتر یا بیشتر می‌باشد. برای وزن تولد، ۹۰ روزگی، ۱۸۰ روزگی و ۲۲۵ روزگی، کمترین تفاضل از میانگین وزنی پیش‌بینی شده و مشاهده شده به ترتیب از مدل‌های گمپرتز، نمایی منفی، گمپرتز و لجستیک حاصل شد.



شکل ۱- وزن‌های پیش‌بینی شده (کیلوگرم) با استفاده از مدل‌های مختلف رشد برای بره های نر در گوسفند ماکویی

Figure 1- Predicted body weights (kg) obtained from different growth models for male lambs in Makooei sheep



شکل ۲- وزن‌های پیش‌بینی شده (کیلوگرم) با استفاده از مدل‌های مختلف رشد برای بره های ماده در گوسفند ماکویی

Figure 2– Predicted body weights (kg) obtained from different growth models for female lambs in Makooei sheep

جدول ۳- میانگین مقادیر وزن پیش‌بینی شده و مشاهده شده برای همه‌ی بره‌ها از تولد تا ۲۲۵ روزگی بوسیله‌ی مدل‌های غیرخطی مختلف در گوسفند ماکویی

Table 3- Observed and predicted mean weight values for all lambs in Makooei sheep from birth to 225 days by different nonlinear model

وزن پیش‌بینی شده (Kg) Predicted weight (kg)	Age (day) سن (روز)			
	Birth تولد	90	180	225
Negative Exponential	0.0	21.53	30.27	32.34
Logistic	3.51	19.29	31.34	36.24
Von Bertalanffy	4.47	17.51	32.15	37.81
Brody	5.89	17.90	34.63	40.69
Gompertz	4.08	18.17	32.11	37.52
وزن مشاهده شده (Kg) Observed weight (kg)	3.89	21.86	31.77	35.78

نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه به منظور تعیین بهترین مدل غیرخطی در توصیف منحنی رشد گوسفندان ماکویی، به مقایسه‌ی مدل‌های نمایی منفی، لجستیک، ون برتالانفی، برودی وگمپرتز پرداخته شد. مدل برودی بر مبنای معیار R^2_{adj}، RMSE، AIC و BIC به عنوان بهترین مدل در مقایسه با مدل‌های دیگر انتخاب شد. با توجه بـه ایـن نتـایج، مـدل برودی به منظور تعیین راهبردهای مدیریتی مانند تعیین برنامه‌هـای تغذیه‌ای و سن مناسب کشتار گوسفندان ماکویی پیشـنهاد مـی‌شـود. بنابراین می‌توان با استفاده از رسم منحنی رشد با مدل برودی در مورد حذف حیوانات کم تولید و انتخاب حیوانات پرتولید اقدام کرد.

منابع

1- Abegaz, S., J. B. Vanwyk and J. J. Olivier. 2010. Estimation of genetic and phenotypic parameters of growth curve and their relationship with early growth and productivity in Horro sheep. Archiv Tierzucht, 53: 85–94.

2- Bahreini Behzadi, M. R. 2015. Comparison of different growth models and artificial neural network to fit the growth curve of Lori-Bakhtiari sheep. Journal of Ruminant Research, 3: 125-148. (In Persian).

3- Bahreini Behzadi, M. R., A. A. Aslaminejad, A. R. Sharifi, and H. Simianer. 2014. Comparison of mathematical models for describing the growth of Baluchi sheep. Journal of Agricultural Science and Technology, 14: 57-68.
4- Brody, S. 1945. Bioenergetic and Growth. Reinhold Publishing Co, New York, USA, 1023 pp.
5- Brown, J. E., H. A. Fitzhugh, and T. C. Cartwright. 1976. A comparison of nonlinear models for describing weight-age relationships in cattle. Journal of Animal Science, 42: 810–818.
6- da Silva, L. S. A., A. B. Fraga, F. D. L. Da Silva, P. M. G. Beelen, R. M. D. O. Silva, H. Tonhati, C. D. C. Barros. 2012. Growth curve in Santa Inês sheep. Small Ruminant Research, 105: 182–185.
7- De Fatima Sieklicki, M., V. Breno Pedrosa, C. Gomes Rocha, R. P. Moreira, P. Roberta Falcão, I. C. dos Santos, E. M. Ferreira, and A. de Souza Martins. 2016. Growth Curves of Texel Male Lambs. Acta Scientiae Veterinariae. 44, 1-6.
8- Gbangboche, A. B., R. Gleke-Kalai, L. G. Albuquerque, and P. Leroy. 2008. Comparison of nonlinear growth models to describe the growth curve in West African Dwarf sheep. Animal, 2(308): 1003-1012.
9- Hosseinpour Mashhadi, M., M. Elahi Torshizi, and S. Ehtesham Gharaee. 2017. Description of Growth Curve in Male and Female Lambs of Baluchi Breed by Application of Nonlinear Growth Models. Research on Animal Production, 15: 155-160. (In Persian).
10- Keskin, I., B. Dag, V. Sariyel, and M, Gokmen. 2010. Estimation of growth curve parameters in Konya Merino sheep. South African Journal of Animal Science, 39 (2): 163-168.
11- Laird, A. K. 1965. Dynamics of relative growth. Growth, 29: 249–263.
12- Lambe, N. R., E. A. Navajas, G. Simm, and L. Bunger. 2006. A genetic investigation of various growth models to describe growth of lambs of two contrasting breeds Journal of Animal Science, 84: 2642-2654.
13- Lewis, R. M., G. C. Emmans, and W. S. Dingwall. 2002. A description of the growth of sheep and its genetic analysis. Animal Science, 74: 51–62.
14- Malhado, C. H. M., P. L. S. Carneiro, P. R. A. M. Affonso, A. A. O. Jr Souza, and J. L. R. Sarmento. 2009. Growth curves in Dorper sheep crossed with the local Brazilian breeds, Morada Nova, Rabo Largo, and Santa Inês. Small Ruminant Research, 84(3):16–21.
15- McManus, C., C. Evangelista, L. A. C. Fernandes, R. M. Miranda, F. E. Moreno-Bernal, and N. R. Santos. 2003. Growth curves of Bergamácia Sheep raised in the Federal District. Revista Brasileira de Zootecnia, 32 (5): 1207–1212.
16- Naesholm, A, and O. Danell. 1996. Genetic relationships of lamb weight, maternal ability, and mature ewe weight in Swedish finewool sheep. Journal of Animal Science-Menasha then Albany then Champaign Illinois, 74: 329-339.
17- Nelder, J. A. 1961. The fitting of a generalization of the logistic curve. Biometrics, 17: 89–110.
18- Tariq, M., F. Iqbal, E. Eyduran, M.A. Bajwa, Z.E. Huma, and A. Waheed. 2013. Comparison of non-linear functions to describe the growth in Mengali sheep breed of Balochistan. Pakistan Journal of Zoology, 45 (3): 661-665.
19- Teleken, J. T, A. C. Galvao, and W. D. S. Robazza. 2017. Comparing non-Linear Mathematical models to describe growth of different animals. Acta Scientiarum. Animal Sciences, 39(1): 73-81.
20- Von Bertalanffy, L. 1957. Quantitative laws in metabolism and growth. Quarterly Review of Biology, 32: 217–230.
21- Waheed, A., M. Sajjad Khan, A. Safdar, and M, Sarwar. 2011. Estimation of growth curve parameters in Beetal goats. Archiv Tierzucht, 54: 288-296.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 223-229

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۲۹-۲۲۳

Comparison of some non-linear models for describing the growth curve in Makooei sheep

M. Latifi[1*], S. Alijani[2]
Submitted: 23-06-2018
Accepted: 03-07-2019

Introduction The Makooei sheep is a medium-sized, fat-tailed breed, carpet wool and white color breed. This breed dispreads mainly in the north west of the Iran in West Azerbaijan province. This sheep breed is called White Karaman in Turkey. Growth curve is the graph of weight as a function of age on time. The changes taking place in animal's body weight with the passage of time that is often sigmoid in shape. Further, information on the growth pattern helps determine feeding and management plans and planning breeding strategies to improve the efficacy of whole growth process. Using growth models is one of the ways that can be used to predict and measuring animal's performance, such as weight gain. In fact, growth models are linear or nonlinear regression functions that can predict growth at different ages of animal life. Non-linear mathematical functions, empirically developed by depicting body weight against age, have been appropriate to characterize the growth curve in different animal classes. Therefore, the objective of this study was to describe the growth curve of Makooei sheep using non-linear models. The Negative exponential, Brody, Gompertz, Logistic and von Bertalanffy models were used to evaluate their efficiency in describing the growth curve of Makooei sheep.

Material and method The used data included 5913 body weight records from 1966 male lambs and 7092 body weight records from 2354 female lambs (from birth to 225 days), collected during 1993 to 2011, at the Makooei Sheep Breeding station, in West Azerbaijan, Iran. In the station, each ram was randomly mated to 10-15 ewes. Lambing was in January and March and lambs were weaned until ~3 months of age. The lambs were weighed and ear tagged after birth. Data were checked several times, so defective and out of range records were deleted. The Negative exponential, Brody, Gompertz, Logistic, and Von Bertalanffy functions were fit to the data to model the relationship between weight and age. Each model was fitted separately to body weight records for all lambs, male and female lambs using the NLIN procedure in SAS 8.2. The non-linear mixed models were examined for goodness of fit using Adjusted Coefficient of Determination (R^2_{adj}), Root Mean Square Error (RMSE), Akaike's information criterion (AIC) and Bayesian information criterion (BIC). Finally, the best model was selected with the highest R^2_{adj} and the lowest RMSE, AIC and BIC.

Result and discussion All non-linear models showed good capacities of fitting for describing the growth curve in Makooei sheep**.** The R^2_{adj} for the Brody model was found the highest (0.8799) and the lowest for Logistic model (0.8505) for all lambs. The A parameter is an estimate of asymptotic weight which can be interpreted as the weight at maturity. For the studied dataset the highest and lowest values for the parameter A were obtained by Brody model (for all lambs = 39.04) and logistic model (for all lambs = 32.08), respectively. The parameter B represents an integration constant, related to the initial animal weight but lacking a clear biological interpretation. The highest and lowest values for the B parameter were obtained in Logistic model (for all lambs = 6.28) and Von Bertalanffy model (for all lambs = 0.52), respectively. The parameter k that defined the maturation rate is another important feature to be considered, since it indicates the growth speed to reach the asymptotic weight. Therefore, animals that have higher k values will reach puberty sooner. The estimate of k was highest in the Von Bertalanffy model (for all lambs = 0.10), while Brody (for all lambs = 0.01) and Negative exponential (for all lambs = 0.01) models showed lowest values. The results of this study showed that the Brody model with the highest R^2_{adj} and the lowest RMSE, AIC and BIC was able to describe the growth curve better than other growth models in Makooei sheep. In growth curve the most important biological relationship has been found between A and k. The lowest and highest correlation between the two parameters of A and k for all lambs was found for the logistic (-0.59) and Brody (-0.97) models, respectively.

Conclusion The results of this study suggest that the Brody model can be useful for set some management strategies such as determining nutritional programs and the appropriate age for slaughter of Makooei sheep.

Keywords: Body weight, Growth curve, Makooei sheep, Non-linear models.

1- Independent Researcher, Hamedan, Iran (PhD graduate of Animal Breeding and Genetics, University of Kordestan, Iran)
2- Associate Professor, Department of Animal Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran
(*- Corresponding Author Email: mlganjnameh@gmail.com)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.78389

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 231-240

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۴۰-۲۳۱

مقاله علمی- پژوهشی

بازسازی شبکه ژن‌های هم‌بیان مرتبط با رشد و تکامل فولیکول‌های الیاف در جنین بز کرکی

ارسلان برازنده[۱]، مرتضی مختاری[۱]، الهام بهدانی[۲]، زهرا رودباری[۱*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۲۰

چکیده

فولیکول مو قسمتی از پوست است که مو را تولید و چرخه رشد مو را کنترل می‌کند. فولیکول مو مرکزی برای رشد الیاف مهم از نظر اقتصادی در صنعت دامپروری است. مطالعات نشان داده‌اند که تغییرات در سطح بیان ژن ها در رشد و نمو فولیکول مو تاثیر دارد. با وجود پیشرفت های اخیر در شناسایی شبکه های هم بیانی ژن ها و سیگنال های مولکولی که بر توسعه پوست و رشد فولیکول مو حاکم است، مکانیسم های تنظیم کننده ساخت الیاف بز کرکی، هنوز شناسایی نشده است. از این‌رو، پژوهش کنونی برای بررسی مهمترین مولکول‌های کنترل کننده رشد و نمو فولیکول‌های الیاف در بز کرکی و رمزگشایی ژن های درگیر در رشد و نمو فولیکول‌های الیاف انجام شد. به این منظور، از داده‌های مربوط به توالی یابی رونوشت های پوست جنین بزهای کرکی شانبی در سه مرحله رشد استفاده شد. آنالیز بیان افتراقی رونوشت ها نشان داد که در تمام طول روند رشد فولیکول بیان ۱۴۵ ژن افزایش و بیان ۶۵۰ ژن کاهش داشته است. از بین ژن‌هایی با بیان افتراقی، ژن‌های تنظیمی هم بیان بر اساس نتایج واکاوی پارامترهای آماری شبکه و مستند سازی کارکردی شناسایی شدند که شامل: SHH، KLF4، MMP9،MSX1، KRT17، COL2A1 و VEGFA بودند. بر اساس نتایج حاصل از پژوهش کنونی ژن هایی با اثرات عمده شناسایی شدند که تنظیم کننده شبکه‌های بیانی ژن ها و سیگنال‌های مولکولی مرتبط با ساخت الیاف بز کرکی هستند. این ژن ها با توجه به مستند سازی عملکردی می توانند نقش قابل توجهی در بهبود اصلاح نژاد بز کرکی ایفا کنند.

کلمات کلیدی: آنالیز رونوشت، الیاف بز کرکی، بیان افتراقی، شبکه تنظیمی بیان

مقدمه

بز یکی از منابع مهم تامین کننده گوشت، شیر، کرک و مو برای بشر است و بنابراین نقش کلیدی در عرصه اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی بخصوص در کشورهای درحال توسعه ایفا می کند، زیرا ۹۵ درصد جمعیت بز دنیا در این کشورها پرورش می یابند(۲۳و ۲۷). بزهای کرکی از جمله مهمترین نژادهای بز در دنیا هستند که دارای دو پوشش کرک و مو می باشند. در ایران بزهای کرکی عمدتاً بومی مناطق خراسان جنوبی و کرمان هستند و بهترین نوع کشمیر را تولید می‌کنند (۲ و ۴). کرک و کلیه الیاف دامی به وسیله فولیکول‌های موجود در پوست به وجود می‌آیند. به طور کلی در پوست دو نوع فولیکول اولیه و ثانویه وجود دارد که از نظر بافت شناسی با یکدیگر متفاوتند. در بزهای کرکی الیاف مو توسط فولیکول‌های اولیه ساخته می‌شوند و الیاف کرک از فولیکول‌های ثانویه به وجود می‌آیند (۸ و ۳۲). عوامل متعددی بر نسبت این دو نوع فولیکول و فعالیت آنها نقش دارند. این عوامل به طور مستقیم می‌توانند بر میزان کرک تولیدی و کیفیت آن (طول و قطر الیاف) تأثیر گذارند. از جمله این عوامل می‌توان به سن دام، مدیریت تغذیه‌ای و ژنتیک آن اشاره داشت (۲).

در عرصه ژنتیک، پژوهش‌های مختلفی بر اساس ژنتیک کلاسیک و ژنتیک مولکولی انجام شده و ژن‌های مختلفی در رابطه با کیفیت و کیمّیت کرک تولیدی گزارش شده است. یکی از ژن‌هایی که بر خصوصیات الیاف تولیدی در بز کرکی به کمک تکنیک PCR-SSCP مؤثر شناسایی شده است، ژن KAP8.1[3] می‌باشد (۱۷) که به عنوان یک ژن نشانگر احتمالی مرتبط با وزن کرک در بزهای کرکی معرفی شده است. در مطالعه دیگری ژن‌های KAP[4] به عنوان مهمترین کنترل کننده‌های خصوصیات الیاف تولیدی در دام معرفی شده است و از این ژن‌ها به عنوان مهمترین نشانگرهای مولکولی

۱-استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران.
۲-دانش آموخته دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین ، خوزستان، ایران.
(*- ایمیل نویسنده مسئول: roudbari.zahra@ujiroft.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.81710

3- Keratin-associated protein 8.1
4- Keratin-associated protein

احتمالی مرتبط با ظرافت الیاف یاد شده است (۳).

در کنار ژنتیک مولکولی و ژنتیک کلاسیک، داده‌های امیکس به همراه نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی ابزار جدیدی را برای شناسایی مولکول‌های تنظیم کننده در فرآیندهای مختلف بیولوژیکی فرآهم آورده است. یک دسته مهم از داده های امیکس، داده‌های بیان ژن می‌باشند که با تحلیل این نوع داده‌ها می‌توان مهمترین سازوکارهای مولکولی و مولکول‌های تنظیم کننده در فرآیندهای فیزیولوژیکی را شناسایی کرد. در مطالعه ای در سال ۲۰۱۶ با بررسی ژن‌های متفاوت بیان شده در فولیکول‌های اولیه و ثانویه گزارش شد که ۶۱۷ ژن در دو نوع فولیکول ذکر شده به صورت متفاوتی بیان می‌شوند. این ژن‌ها به طور موثر در متابولیسم سیستئین و متیونین، پلیمریزاسیون مولکول RNA و مسیر سیگنالدهی MAPK در فولیکول اولیه نقش دارند. به کمک این مطالعه روند تکامل فولیکول‌های اولیه و تبدیل آنها به فولیکول‌های ثانویه بررسی شد (۲۲) در پژوهش دیگری نیز برای شناسایی سازوکارهای مولکولی مؤثر بر تکامل فولیکول‌های پوست، داده‌های بیان ژن از فولیکول‌های الیاف پوست در سه مرحله تکامل آناژن، کاتاژن و تلوژن بررسی شدند (۹). در مطالعه‌ای دیگر برای شناسایی مهمترین ژن‌های کنترل کننده تولید الیاف در گونه بز کرکی پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی با استفاده از داده‌های بیان ژن بررسی شدند (۳۱).

شبکه های ژنی یکی از مهمترین ابزارهای بیوانفورماتیکی در شناسایی ژن‌های کنترل کننده صفات و مسیرهای بیولوژیکی می‌باشند. در این شبکه‌ها به کمک الگوریتم‌های مختلفی روابط بین ژن‌ها بررسی می شود و به این ترتیب می‌توان ژن‌هایی که در بالا دست سایر ژن‌ها قرار دارند و بیان آنها را کنترل می‌کنند و یا تحت تأثیر قرار می‌دهند، را جستجو کرد. در این مطالعه با استفاده از شبکه‌های هم‌بیان و بررسی برهمکنش‌های پروتئینی سعی بر شناسایی مهمترین ژن‌های مؤثر بر روند تکامل فولیکول‌های الیاف در بز کرکی از دوران جنینی تا تولد، شده است.

مواد و روش‌ها

داده های مورد استفاده

داده های مربوط به توالی یابی رونوشت های پوست جنین بزهای کرکی با کد شناسایی SRP059481 از پایگاه داده NCBI در بخش SRA دانلود شدند. داده ها حاصل از آزمایش بر روی بز های کرکی شانبی بود. در این آزمایش تعداد ۹ بز در مرحله یکسان آبستنی انتخاب شده بودند و تعداد سه جنین در روز ۶۰ آبستنی (E60)، تعداد سه جنین در روز ۱۲۰ آبستنی(E120)از طریق سزارین بدست آمده و سه جنین نیز دو ساعت بعد از تولد (NB) کشته شده بودند. برای انجام آنالیزهای RNA-seq نمونه برداری از سمت راست پوست جنین‌ها و سه تکرار برای هر مرحله در نظر گرفته شده بود. توالی‌یابی با استفاده از ایلومینا HiSeq 2000 در شرکت ژن دنوو در شهر گوانگ جو در کشور چین انجام شده است. روز ۶۰ آبستنی بیانگر مرحله آغازین رشد، روز ۱۲۰ بیانگر مرحله نمو و نمونه های جنین متولد شده بیانگر مرحله بلوغ فولیکول های اولیه مو بودند (۸).

بررسی کیفیت خوانش ها

برای بررسی کیفیت خوانش‌ها از نسخه 11.7 نرم افزار FastQC (http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc) استفاده شد. به کمک این نرم‌افزار کیفیت بازها و خوانش‌ها، میزان آلودگی به آداپتور و غیره بررسی شد. داده های با کیفیت پایین با نسخه 0.39 نرم افزار Trimmomatic (۶) مورد ویرایش قرار گرفتند و مجدد خوانش‌های ویرایش شده برای تعیین کیفیت با نرم افزار FastQC بررسی شدند.

واکاوی تفاوت بیان ژن ها

پس از حذف خوانش‌های کم کیفیت و اطمینان از کیفیت خوانش‌ها عمل هم‌ردیفی[1] بر روی ژنوم مرجع بز (GCA_001704415.1)، دانلود شده از سایت ensemble با استفاده از نرم افزار Hisat2 نسخه 2.1.0 (۱۳) انجام شد. سپس از اندازه گیری میزان بیان ژن ها با استفاده از نسخه 10.0 نرم‌افزار(۱) Htseq2، تغییرات بیان ژن‌ها بین گروه های مورد مطالعه (روز ۶۰ آبستنی، روز ۱۲۰ آبستنی و دو ساعت بعد از تولد) با استفاده از نسخه 1.24 بسته Deseq2 موجود در نرم افزار R (۱۸) مشخص شدند. در این مرحله ژن‌ها در دو دسته قرار گرفتند: ۱- ژنهایی که بیان آنها در تمام طول روند رشد و نمو جنین افزایش یافت ۲- ژنهایی که بیان آنها در تمام طول روند رشد و نمو جنین کاهش یافت.

ساخت شبکه ژنی

در این مرحله شبکه برهمکنش پروتئین- پروتئین در ژن‌های کاهش بیان یافته و افزایش بیان یافته با استفاده از پایگاه اطلاعاتی STRING (نسخه 11.0) به آدرس اینترنتی https://string-db.org جستجو شد و شبکه‌های استخراجی با استفاده از نرم افزار Cytoscape نسخه 3.6.0 (۲۵) ترسیم شدند.

هستی شناسی ژنهای تنظیم کننده

پس از شناسایی و مشخص شدن ژن‌هایی با بیشترین نقش تنظیم کنندگی در شبکه بررسی اطلاعات بیولوژیکی و آنالیز عملکردی ژن‌های مرتبط با رشد و نمو فولیکول با استفاده از پایگاه

1- Alignment

داده‌ای DAVID (نسخه 6.8) انجام شد.

نتایج و بحث

در این مطالعه جهت بررسی مهمترین مولکول‌های کنترل کننده رشد و نمو فولیکول‌های الیاف در بز کرکی از داده‌های بیان ژن در سه مرحله رشد (روز ۶۰ آبستنی، روز ۱۲۰ آبستنی و دو ساعت بعد از تولد) استفاده شد. بعد از دانلود داده‌ها و ویرایش فایل داده، همردیفی آنها با ژنوم مرجع بز انجام گردید. نتایج حاصل از مراحل ویرایش فایل داده‌ها و همردیف کردن آنها با ژنوم مرجع بز در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول ۱- خلاصه آنالیز آماری داده های حاصل از توالی یابی نسل آینده

Table1- Summary of statistical analysis from high throughput next generation sequencing

شماره دسترسی فایل داده Accession number	تعداد خوانش قبل از ویرایش کیفیت خوانش ها Row read	تعداد خوانش بعد از ویرایش کیفیت خوانش ها Clean read	درصد خوانش نقشه یابی شده Mapping reads (%)
SRR2102018(E60-1)	10673004	9973683	94.73
SRR2102019(E60-2)	15915915	14855466	93.93
SRR2102020(E60-3)	12364725	11522771	94.53
SRR2102015(E120-1)	10700614	9891507	94.60
SRR2102016(E120-2)	12341735	11454000	93.57
SRR2102017(E120-3)	11613045	10731568	94.87
SRR2102021(NB-1)	10705689	9953187	93.59
SRR2102022(NB-2)	10527961	9832093	93.77
SRR2102023(NB-3)	15768217	14642573	93.79

E60- روز ۶۰ آبستنی با سه تکرار ، E120- روز ۱۲۰ آبستنی با سه تکرار و NB – دو ساعت بعد از تولد با سه تکرار

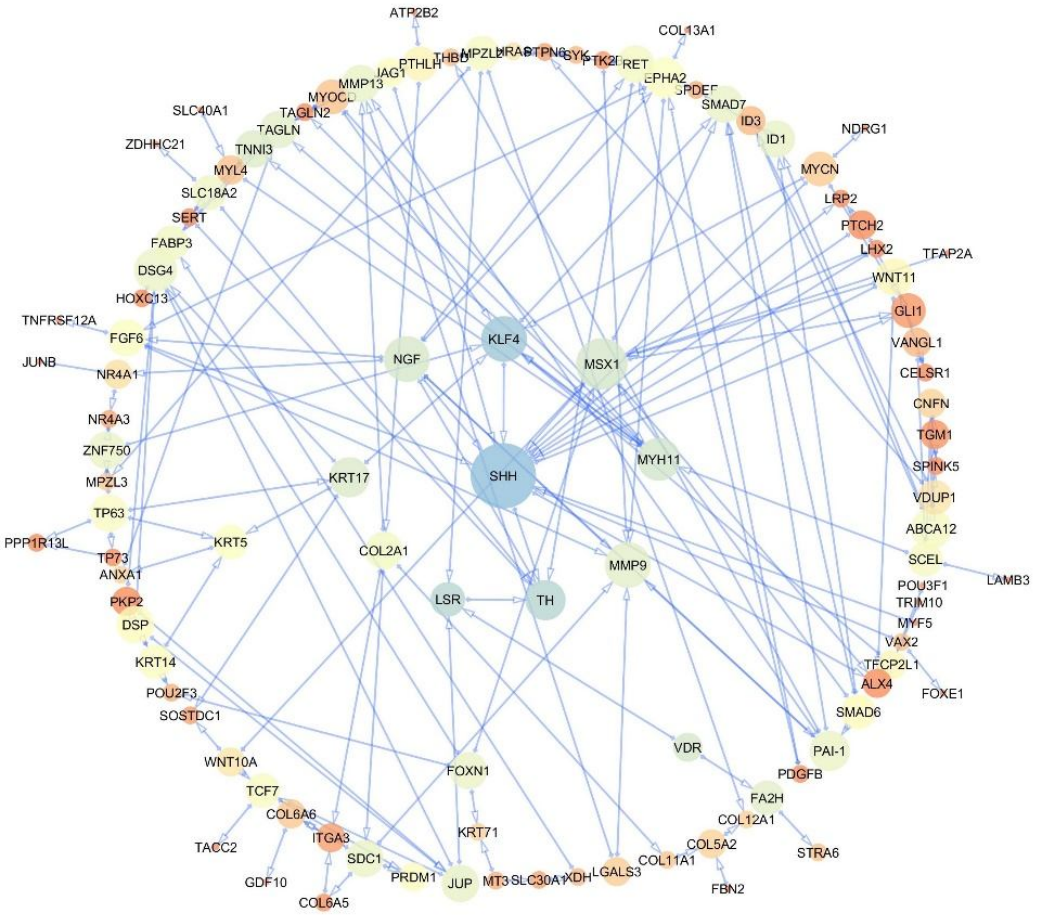
بعد از تعیین سطح بیان هر ژن و میزان سطح تغییرات بیان هر ژن در مقایسات مراحل مختلف رشد (مقایسه دو ساعت بعد از تولد با ۶۰ روز آبستنی، مقایسه بعد از تولد با ۱۲۰روز آبستنی و مقایسه روز۱۲۰ آبستنی با روز۶۰ آبستنی)، ژن‌هایی که در تمام مقایسات بیان آنها افزایش داشته به عنوان ژن‌هایی منظور شدند که با افزایش بیان خود، رشد و نمو فولیکول الیاف را کنترل می‌کنند. از طرفی آن دسته از ژن‌هایی که در تمام مقایسات مراحل رشد فولیکول بیانشان کاهش یافت، به عنوان ژن‌هایی منظور گردیدند که با کاهش بیان خود زمینه رشد و نمو فولیکول کرک را فراهم می‌کنند. در پایان این مرحله ۱۴۵ ژن در دسته ژن‌های افزایش بیان یافته و ۶۵۰ ژن در گروه ژن‌های کاهش بیان یافته قرار گرفتند.

روابط برهمکنش پروتئینی بین ژن‌های افزایش و کاهش بیان یافته به طور مجزا توسط STRING بررسی شد. در بین ژن‌های افزایش بیان یافته روابط بین ۱۴۵ ژن با ۲۰۳ کمان مورد تایید قرار گرفت (p-value<1.0 e -16). مجسم‌سازی این شبکه توسط نرم‌افزار Cytoscape انجام شد (تصویر ۱).

همانطور که در تصویر ۱ آمده است ژن‌های SHH[1]، KLF4[2]، MMP9[3]، MSX1[4] ، KRT17[5] و COL2A1[6] بیشترین تاثیر را بر بیان سایر ژن‌ها داشتند. این ژنها در پژوهش حاضر و سایر پژوهش های گزارش شده الگوی بیان مشابهی داشتند. بنابراین می توانند به عنوان نشانگر زیستی در القا فولیکول مو، پشم و پر به صورت محافظت شده باشند که مختصراً مورد بحث قرار گرفته‌اند.

ژن SHH، ژنی است که بر اساس برازش شبکه برهمکنش پروتئینی بالاترین درجه در شبکه و بیشترین نقش تنظیم کنندگی را نسبت به سایر ژن‌های تشکیل دهنده شبکه دارد و می‌تواند نقش مهم و مؤثرتری را در تکامل و نمو فولیکول الیاف کرک بازی کند. این ژن میتوژن و محرک تکثیر سلولی در بسیاری از بافت ها در دوران جنینی تا بلوغ است و در دوران بلوغ در روند رشد مو نقش دارد (۱۲). همچنین گزارش شده بیان ژن نام برده شده توسط سنتز ژن های Wnt و LEF1 کنترل می‌شود. سنتز E-Cathedrin با LEF1 نیز بیان ژن SHH را افزایش می‌دهد(۲۸). ژن SHH ژنی است که تقریبا همه مسیرهای مرتبط با مورفوژنز مو را کنترل می‌کند و به جوانه های مو کمک می‌کند تا در مرحله ارگانوژنز ایجاد شوند (۲۴). در مطالعه‌ای بیان شده است این ژن به همراه ژن Cyclin-D موجب کاهش رشد سلولهای اپیتلیال پوست به منظور شکل گیری مو بالغ قبل از تولد می‌شود و همچنین به همراه ژن Noggin سبب شروع بلوغ پاپیلا درمال جهت ساخت تارهای مو می‌شود (۳۰).

1- Sonic hedgehog
2- Kruppel-like factor 4
3- Matrix metallopeptidase 9
4- Homeobox protein 1
5- Keratin 17
6- Collagen type II alpha I chain



شکل ۱– شبکه برهمکنش پروتئینی در ژن‌های افزایش بیان داشته در روند رشد و نمو کرک. افزایش میزان مرکزیت میانی که با افزایش شدت رنگ از قرمز به آبی ( ) نشان داده شده است و اندازه بزرگتر گره¬ها نشان دهنده تنظیم کنندگی بیشتر آن¬ها می‌باشد.

Figure 1- The protein-protein interactions network has shown the up-regulated genes in the growth and development process. Increasing the amount of betweennes centrality shown by increasing the intensity of the color from red to blue ( ) and the larger size of the nodes indicate which is the most regulated.

ژن KLF4 نیز ژن دیگری است که بیان آن در تمامی مراحل رشد و نمو فولیکول الیاف در بز کرکی افزایش یافت، این ژن یک عامل رونویسی دخیل در پر توانی سلول های بنیادی جنینی است و به همراه فاکتورهای رونویسی c-myc، oct4 و Sox2 بیان چندین هزار ژن را کنترل می‌کند (۷). ژن KLF4 به عنوان عضوی از خانواده فاکتورهای رونویسی Kruppel، در دستگاه گوارش و دیگر بافت های اپیتلیال از جمله پوست بیان می‌شود(۱۴). در پژوهشی دیگر با هدف بررسی رشد سلول‌های بنیادی اپیتلیال پوست در موش هایی با ژن KLF4 نابود شده، گزارش شد در مقایسه با گروه کنترل، سلول های اپیتلیال موش های فاقد ژن KLF4 در تعداد سلولهای بنیادی مو و توانایی تشکیل کلنی کاهش داشتند و کمبود این ژن در سلولهای بنیادی سبب تاخیر در التیام زخم شد اما بیان این ژن با توجه به خاصیت پرتوانی سلول های بنیادی سبب مهاجرت سلولها به محل زخم شده و تسریع بهبود پوست آسیب دیده می‌شود (۱۴). از اینرو، این پژهشگران پیشنهاد دادند که بیان ژن KLF4 برای نگهداری سلولهای فولیکول مو ضروری است (۱۴). همچنین آنالیز داده های ترانسکریپتوم نشان داده است که بسیاری از ژن های خانواده کراتین بر روی القاء KLF4 تنظیم شده اند. به نظر می رسد که مشارکت مثبت ژن KLF4 در فرآیند توسعه پوست به واسطه افزایش در بیان ژن های خانواده کراتین صورت می پذیرد. علاوه بر این، گزارش شده است که KLF4 پروموتورهای ژن های اپیتلیال از جمله ژن CYP1A1 را فعال می‌کند (۱۰).

ژن MMP9 از دیگر ژن های کلیدی در پژوهش حاضر است که می تواند یکی از مولکول‌های کنترل کننده رشد و نمو فولیکول‌های

الیاف در بز کرکی باشد. همچنین، برخی مطالعات نقش ژن MMP9 را در بازسازی ماتریکس خارج سلولی در طی توسعه پوست و شکل گیری تارهای مو نشان داده اند (۲۰). محل این بیان ژن در قسمت مرکزی کانال مو که حاوی سلول های هسته ای کراتینیزه شده است که بعدها پوست را تشکیل می دهند و لومن اولیه تارهای مو را ایجاد می کنند. بنابراین کانال مو برای ظهور ساقه مو آماده می کند و دیواره های آن را از آسیب القاء شده توسط فیبر مو در حال رشد محافظت می کند (۲۶).

یکی دیگر از ژن های مطرح در شبکه ژن MSX1 می باشد و نقش این ژن به عنوان تنظیم کننده اصلی در فرآیند رشد و نمو فولیکول مو در انسان، موش و بز کشمیر به اثبات رسیده است (۲۶). همچنین، در انسان ژن MSX1 در اپیدرم و فولیکول مو بیان می شود و افزایش بیانش سبب سرکوب ژن های موثر در طاسی می شود (۲۹). در پژوهشی دیگر بیان شده، افزایش بیان این ژن به منظور ریخت زایی بسیاری از بافت های جنینی از جمله فولیکول مو، جوانه دندان و دم جنین نیاز است (۵). بنابراین با توجه به نتایج این پژوهش و نتایج گزارش شده در پژوهش‌های دیگر با احتمال زیاد ساز و کار مولکولی پایه برای این ژن بین گونه های مختلف بصورت حفظ شده است و این ژن نقش موثری در فرآیند رشد و نمو فولیکول الیاف بز کرکی دارد.

برازش شبکه ژنی در این مطالعه نشان داد دو عضو از خانواده ژنی KRT (KRT17 و KRT5) نقش مهمی در تکامل فولیکول‌های الیاف در بز کرکی دارند. خانواده ژنی KRT کد کننده پروتئین هایی با درصد گلایسین و تیروزین بالا هستند و به عنوان اصلی ترین پروتئین های ساختاری الیاف مو همراه با خانواده ژنی KAP می باشند (۳۰). ژن های خانواده KRT در ساختمان فولیکول های اولیه و ثانویه حضور دارند و معروف به کراتین مو هستند و در بسیاری پژوهش ها برای ارزیابی کیفیت کشمیر و پشم به عنوان نشانگر تعیین کیفیت مو سطح بیانشان اندازه گیری شده است (۳۰). در مطالعه ای از ژن های KRT31، KRT32، KRT33A، KRT34، KRT35، KRT36، KRT37، KRT38، KRT39 و KRT40 به عنوان نشانگرهای ژنی تعیین کیفیت الیاف مو بز یاد شده است. در مطالعه ای دیگر گزارش شده است که KRT17 و KRT5 همراه با ژن های KRT14، KRT25، KRT27، KAP13.1 و KAP9.2 در توسعه فولیکول مو موثرند و الگوی بیان متفاوتی در طول دوره رشد مو بز دارند (۱۶). همچنین بیان شده است که یکی از وظایف برجسته ژن KRT17 شرکت در مورفوژنز مو است و این ژن در الیاف مو نیز حضور دارد (۲۴). در این پژوهش با توجه به اینکه معیارهای شبکه‌ای ژن KRT5 کم بودند، اما با توجه به نقش حائز اهمیت آن در فرآیند مرتبط با رشد و نمو فولیکول مو و افزایش بیان آن در مراحل رشد تارهای مو می تواند بعنوان نشانگر زیستی نقش مهمی در اصلاح نژاد صفت اقتصادی تولید کرک ایفا کند.

ژن COL2A1 یکی دیگر از ژن هایی که در برازش شبکه ژنی از مقادیر بالای پارامترهای مرکزیت برخوردار بود. مشاهده افزایش بیان این ژن فقط در مرحله روز ۶۰ تا روز۱۲۰ جنینی ، به این معنی است که ژن COL2A1 احتمالاً به نمو فولیکول اولیه مو کمک می کند که با یافته های پژوهشگران دیگر هماهنگ می باشد (۱۹). این پژوهشگران بیان کردند که ژن COL2A1 همراه با تعامل شبکه ای که با رونوشت های SHH، KRT15،KRT4، KRT1 و COL17A1 دارد در توسعه تراکم پوست و نمو فولیکول های پشم گوسفند نقش مهمی دارد. در پژوهشی دیگر با استفاده از داده های ترانسکریپتوم پوست مرغ، گزارش گردید که بیان ژن COL2A1 همراه با سایر ژن های خانواده کلاژن فقط در دوره جنینی از روز ۶ تا ۸ افزایش یافته و بعد از آن سطح بیانشان تفاوت معنی دار ندارد. بنابراین خانواده ژن های کلاژن با توجه به نداشتن تغییرات بیانی ممتد در دوره جنینی فقط در مرحله مورفوژن فولیکول پر نقش دارند (۱۱).

شبکه برهمکنش بین ژن‌های کاهش بیان یافته نیز ارتباطات هم‌بیانی بین ۶۵۰ ژن با کمک ۱۳۰۲ کمان را تایید کرد (p-value<1.74 e -5). مجسم‌سازی این شبکه در تصویر ۲ نمایش داده شده است.

در میان ژن‌های کاهش بیان داشته نیز، ژن VEGFA [1] اهمیت بیولوژیکی بیشتری را از خود نشان داد. این ژن یک کلیگو پروتئین ۴۵ کیلو دالتونی است که به عنوان عضوی از خانواده فاکتورهای رشد پپتیدی در سلول های فولیکول مو در مرحله آناژن در اکثر پستانداران بیان می شود (۳۳). ژن VEGFA یکی از مهم ترین فاکتورهای رگ زایی است که به کمک دو رسپتور ویژه VEGFR1 و VEGFR2 ، که فقط در سلولهای اندوتلیالی بیان می شوند، مهاجرت سلول های اندوتلیالی و نیز تکثیر و نفوذ پذیری آن ها را تنظیم می کند (۲۱). این ژن همچنین یک فاکتور ضد مرگ برنامه ریزی شده سلولی در سلولهای اندوتلیالی نیز محسوب می شود. از آنجائیکه بازآرایی بافت به خصوص در هنگام نمو و تشکیل فولیکول اولیه مو نیاز به منبع خون مناسب دارد و تشکیل رگ های خونی پیش ساز اولیه باز آرایی می باشد (۲۱). در مطالعه ای گزارش شده که گیرنده VEGFR1 از این ژن در هنگام بازسازی فولیکول های موی بز کشمیری نقش دارد (۱۵). از اینرو این ژن می تواند نقش تنظیم کنندگی در مراحل تکامل و رشد فولیکول الیاف بز کرکی داشته باشد.

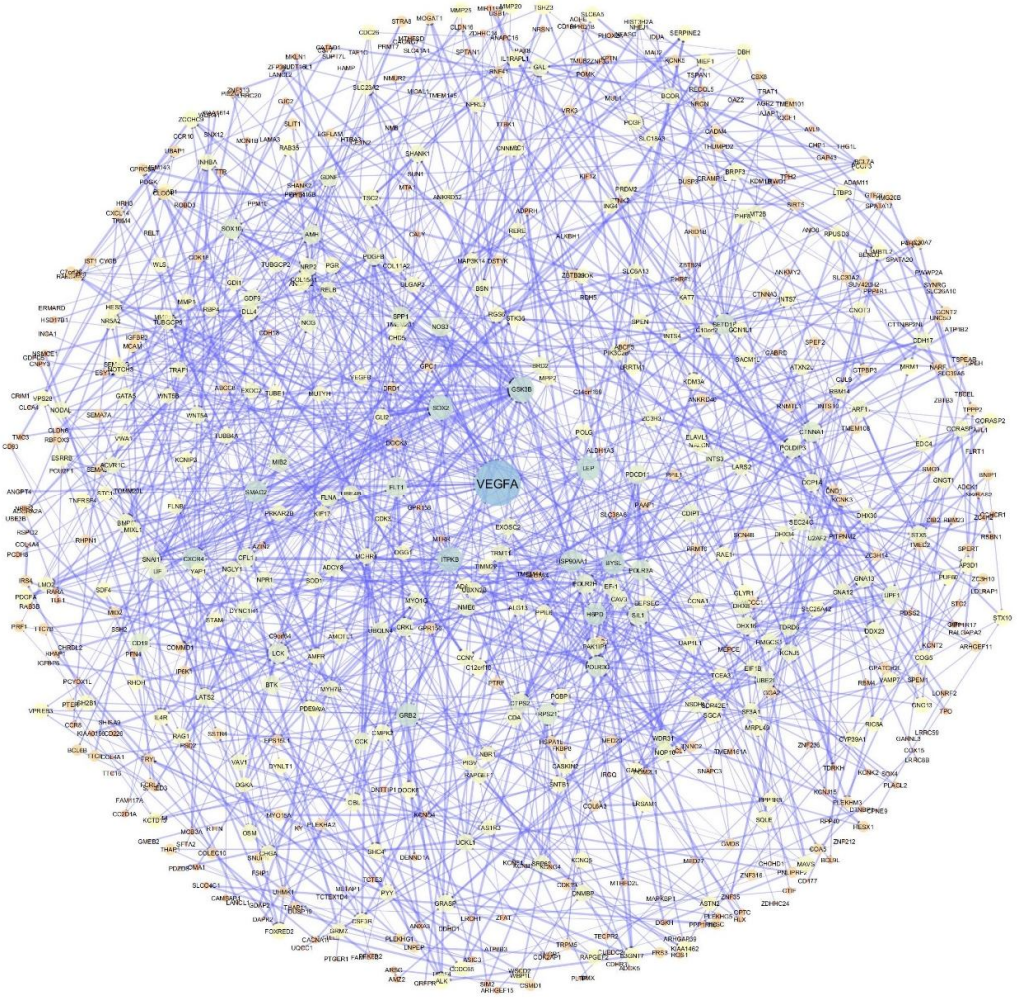
در این مطالعه پس از بررسی روابط برهمکنش پروتئینی بین

1- Vascular Endothelial Growth Factor

ژن‌های افزایش و کاهش بیان یافته، ژن‌های تنظیم کننده در روند تکامل فولیکول‌های الیاف در بز کرکی از دوران جنینی تا تولد، براساس نتایج واکاوی آماری مشخص شدند و براساس مستندسازی عملکردی نقش کلیدی این ژن‌ها بر روند تکامل فولیکول‌های الیاف در بز کرکی از دوران جنینی تایید شد و نتایج مستندسازی در جدول ۲ مشخص شده است.

نتیجه گیری کلی

در پژوهش حاضر، باز سازی شبکه هم بیانی ژن ها با استفاده از ژن‌های مؤثر بر روند تکامل فولیکول‌های الیاف در بز کرکی از دوران جنینی تا تولد، منجر به شناسایی ۱۴۵ ژن در دسته ژن‌های افزایش بیان یافته و ۶۵۰ ژن در گروه ژن‌های کاهش بیان یافته شد، با توجه به نتایج تجزیه و تحلیل عملکردی ژن‌ها انتظار می رود ژن های کلیدی دخیل در رشد و نمو فولیکول الیاف، ژن‌های SHH، KLF4، MMP9،MSX1، KRT17، COL2A1 و VEGFA باشند که دارای بیشترین اهمیت از نظر میزان تأثیرگذاری بر بیان سایر ژن‌ها بودند و این ژن ها در مسیرهای مرتبط با مورفوژنز و ساخت تارهای مو، بازسازی فولیکول های مو، بهبود کیفیت مو و توسعه و تراکم پوست تاثیر گذار بودند. با توجه به نقش حائز اهمیت این ژنها در فرآیند های مرتبط با رشد و نمو فولیکول مو می توانند بعنوان نشانگر زیستی در اصلاح نژاد صفات اقتصادی مربوط به بهبود کمیت و کیفیت کرک مورد بهره برداری قرار گیرند.



شکل ۲- شبکه برهمکنش پروتئینی در ژن‌های کاهش بیان داشته در روند رشد و نمو کرک. افزایش میزان مرکزیت میانی که با افزایش شدت رنگ از قرمز به آبی ( ) نشان داده شده است و اندازه بزرگتر گره¬ها نشان دهنده تنظیم کنندگی بیشتر آن¬ها می‌باشد.

Figure 2- The protein-protein interactions network has shown the down-regulated genes in the growth and development process.

Increasing the amount of betweennes centrality shown by increasing the intensity of the color from red to blue ( ) and the larger size of the nodes indicate which is the most regulated.

جدول۲- ژن‌های مؤثر بر روند تکامل فولیکول‌های الیاف در بز کرکی از دوران جنینی تا تولد

Table 2- Effective gene related to development stage of hair follicle in cashmere goat from fetal to birth

نام ژن Gene Name	میانگین میزان بیان در سه مرحله Gene Expression Average in 3 Stage	عبارات بیولوژیکی GO Terms
SHH	4.3	hair follicle development (GO:0001942)
KLF4	1.8	epidermal cell differentiation(GO:0009913)
MSX1	4.7	tissue development(GO:0009888)
MMP9	4.9	system development(GO:0048731)
KRT17	3.1	epidermis development(GO:0008544)
COL2A1	2.05	Collagen trimer(GO:0005581)
VEGFA	-3.4	Growth factor activity(GO:0008083)

منابع

1- Anders, S., P. T. Pyl, and W. Huber. 2015. HTSeq--a Python framework to work with high-throughput sequencing data. Bioinformatics (Oxford, England), 31 (2): 166–169.

2- Ansari-renani, H. R., Z. Ebadi, S. Moradi, H. R. Baghershah, M. Y. Ansari-renani, and S. H. Ameli. 2011. Determination of hair follicle characteristics , density and activity of Iranian cashmere goat breeds. Small Ruminant Research, 95 (2–3): 128–132.

3- Ayaz, A., Z. Iqbal, B. Ahmad, N. A. Ganai, N. Singh, A. Ali, T. Mumtaz, M. A. Dar, M. Shabir, and S. Shanaz. 2017. Impact of high glycine tyrosine KAP genes on Cashmere fibre trait characteristics. Biotechnology Journal International, 19 (3): 1–5.

4- Barazandeh, A., S. M. Moghbeli, N. G. Hossein-Zadeh, and M. Vatankhah. 2012. Genetic evaluation of growth in Raini goat using random regression models. Livestock Science, 145 (1–3): 1–6.

5- Blin-Wakkach, C., F. Lezot, S. Ghoul-Mazgar, D. Hotton, S. Monteiro, C. Teillaud, L. Pibouin, S. Orestes-Cardoso, P. Papagerakis, and M. Macdougall. 2001. Endogenous Msx1 antisense transcript: in vivo and in vitro evidences, structure, and potential involvement in skeleton development in mammals. Proceedings of the National Academy of Sciences, 98 (13): 7336–7341.

6- Bolger, A. M., M. Lohse, and B. Usadel. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. Bioinformatics (Oxford, England), 30 (15): 2114–2120.

7- Dosch, R. 2015. Next generation mothers: maternal control of germline development in zebrafish. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, 50 (1): 54–68.

8- Gao, Y., X. Wang, H. Yan, J. Zeng, S. Ma, Y. Niu, G. Zhou, Y. Jiang, and Y. Chen. 2016. Comparative transcriptome analysis of fetal skin reveals key genes related to hair follicle morphogenesis in cashmere goats. PLoS ONE, 11 (3): 1–20.

9- Geng, R., C. Yuan, and Y. Chen. 2013. Exploring differentially expressed genes by RNA-Seq in cashmere goat (Capra hircus) skin during hair follicle development and cycling. PloS One, 8 (4): e62704.

10- Georgantas, R. W., V. Tanadve, M. Malehorn, S. Heimfeld, C. Chen, L. Carr, F. Martinez-Murillo, G. Riggins, J. Kowalski, and C. I. Civin. 2004. Microarray and serial analysis of gene expression analyses identify known and novel transcripts overexpressed in hematopoietic stem cells. Cancer Research, 64 (13): 4434–4441.

11- Gong, H., H. Wang, Y. Wang, X. Bai, B. Liu, J. He, J. Wu, W. Qi, and W. Zhang. 2018. Skin transcriptome reveals the dynamic changes in the Wnt pathway during integument morphogenesis of chick embryos. PloS One, 13 (1): e0190933.

12- Jiang, J., and C. Hui. 2008. Hedgehog signaling in development and cancer. Developmental Cell, 15 (6): 801–812.

13- Kim, D., B. Langmead, and S. L. Salzberg. 2015. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. Nature Methods, 12 (4): 357–360.

14- Li, J., H. Zheng, J. Wang, F. Yu, R. J. Morris, T. C. Wang, S. Huang, and W. Ai. 2012. Expression of Kruppel-like factor KLF4 in mouse hair follicle stem cells contributes to cutaneous wound healing. PLoS ONE, 7 (6): e39663–e39663.

15- Liu, B., F. Gao, J. Guo, D. Wu, B. Hao, Y. Li, and C. Zhao. 2016. A microarray-based analysis reveals that a short

photoperiod promotes hair growth in the Arbas Cashmere goat. PloS One, 11 (1): e0147124–e0147124.

16- Liu, G., R. Liu, X. Tang, J. Cao, S. Zhao, and M. Yu. 2015. Expression profiling reveals genes involved in the regulation of wool follicle bulb regression and regeneration in sheep. International Journal of Molecular Sciences, 16 (5): 9152–9166.

17- Liu, H., C.-W. Yue, W. Zhang, X. Zhu, G. Yang, and Z. Jia. 2011. Association of the KAP 8.1 gene polymorphisms with fibre traits in inner mongolian cashmere goats. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 24 (10): 1341–1347.

18- Love, M. I., W. Huber, and S. Anders. 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. Genome Biology, 15 (12): 550.

19- Nie, Y., S. Li, X. Zheng, W. Chen, X. Li, Z. Liu, Y. Hu, H. Qiao, Q. Qi, and Q. Pei. 2018. Transcriptome reveals long non-coding RNAs and mRNAs involved in primary wool follicle induction in carpet sheep fetal skin. Frontiers in Physiology, 9 446.

20- Nothnick, W. B. 2008. Regulation of uterine matrix metalloproteinase-9 and the role of microRNAs. Seminars in Reproductive Medicine, 26 (6): 494–499.

21- Ozeki, M., and Y. Tabata. 2003. In vivo promoted growth of mice hair follicles by the controlled release of growth factors. Biomaterials, 24 (13): 2387–2394.

22- Qiao, X., J. H. Wu, R. B. Wu, R. Su, C. Li, Y. J. Zhang, R. J. Wang, Y. H. Zhao, Y. X. Fan, and W. G. Zhang. 2016. Discovery of differentially expressed genes in cashmere goat (Capra hircus) hair follicles by RNA sequencing. Genetics and Molecular Research, 15 (3): gmr.15038589.

23- Qu, B. O., Y. Qiu, Z. Zhen, and F. Zhao. 2016. Computational identification and characterization of novel microRNA in the mammary gland of dairy goat (Capra hircus). 95 (3): 1–31.

24- Sennett, R., and M. Rendl. 2012. Mesenchymal–epithelial interactions during hair follicle morphogenesis and cycling. Seminars in Cell and Developmental Biology Developmental Biology, 23 (8): 917–927.

25- Shannon, P., A. Markiel, O. Ozier, N. S. Baliga, J. T. Wang, D. Ramage, N. Amin, B. Schwikowski, and T. Ideker. 2003. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. Genome Research, 13 (11): 2498–2504.

26- Sharov, A. A., M. Schroeder, T. Y. Sharova, A. N. Mardaryev, E. M. J. Peters, D. J. Tobin, and V. A. Botchkarev. 2011. Matrix metalloproteinase-9 is involved in regulation of the hair canal formation. The Journal of Investigative Dermatology, 131 (1): 257.

27- Song, S., M. Yang, Y. Li, M. Rouzi, Q. Zhao, Y. Pu, X. He, J. M. Mwacharo, N. Yang, Y. Ma, and L. Jiang. 2018. Genome-wide discovery of lincRNAs with spatiotemporal expression patterns in the skin of goat during the cashmere growth cycle. BMC Genomics, 19 (1): 1–12.

28- St-Jacques, B., H. R. Dassule, I. Karavanova, V. A. Botchkarev, J. Li, P. S. Danielian, J. A. McMahon, P. M. Lewis, R. Paus, and A. P. McMahon. 1998. Sonic hedgehog signaling is essential for hair development. Current Biology, 8 (19): 1058–1069.

29- Stelnicki, E. J., M. R. Harrison, D. Holmes, N. S. Adzick, L. G. Kömüves, W. Clavin, and C. Largman. 1997. The human homeobox genes MSX-1, MSX-2, and MOX-1 are differentially expressed in the dermis and epidermis in fetal and adult skin. Differentiation, 62 (1): 33–41.

30- Temizkan, M. C., and A. G. Bayraktaroglu. 2017. Effective Gene on Hair Follicle Growth. Mae Vet Fak Derg, 2 (1): 61–73.

31- Wang, L., Y. Zhang, M. Zhao, R. Wang, R. Su, and J. Li. 2015. SNP discovery from transcriptome of cashmere goat skin. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 28 (9): 1235.

32- Yang, M., S. Song, K. Dong, X. Chen, X. Liu, M. Rouzi, Q. Zhao, X. He, Y. Pu, W. Guan, Y. Ma, and L. Jiang. 2017. Skin transcriptome reveals the intrinsic molecular mechanisms underlying hair follicle cycling in Cashmere goats under natural and shortened photoperiod conditions. Scientific Reports, 7 (1): 1–12.

33- Yano, K., L. F. Brown, and M. Detmar. 2001. Control of hair growth and follicle size by VEGF-mediated angiogenesis. The Journal of Clinical Investigation, 107 (4): 409–417.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 231-240

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۴۰-۲۳۱

Reconstruction of genes co-expression network related to the growth and development of fiber follicle in Cashmere goat fetus

A. Barazandeh[1], M. Mokhtari[1], E. Behdani[2], Z. Roudbari[1*]

Submitted: 04-07-2019
Accepted: 11-09-2019

Introduction In most mammals, each hair follicle is a mammalian skin organ that produces hair and controls the hair growth cycle. The hair follicle is central to most economically important fiber growth in livestock. Previous studies have shown that changes in the level of genes expression play a role in the development and growth of hair follicles. With the advent of high throughput, next-generation sequencing technology measuring the level of expression of thousands of genes was possible simultaneously. As a result, many regulatory conflicts between genes can be extracted from these data. Expression profiles are generated by combining expression levels resulting from experiments in various conditions or times. Similarities and differences between expression profiles reveal many of these regulatory relationships. Despite recent advances in the identification of the molecular signaling/co-expression networks that govern the development of the skin and hair follicle, the mechanisms controlling of fiber production in Cashmere goat still remains unclear. Therefore, the present study was conducted to investigate the most important molecules controlling the growth and development of hair follicles in cashmere goats in order to decode the genes involved in the growth and development of hair follicles in cashmere goats.

Materials and Methods Publicly available preprocessed transcript data (accession no. SRP059481) was downloaded from the NCBI database in the SRA section. In this investigation, nine goats were selected at the same stage of gestation. Three fetuses were obtained at 55-65 days' gestation (60-days old) and three fetuses were obtained at 105-125 days' gestation (120 –day- old) through cesarean operation and three fetuses were also sacrificed within two hours of birth (newborn). For analysis of RNA-seq data, a random sampling from the right mid-side of the fetal skin and each time point had three replicates. The 60 days (E60) of gestation represented the initiation stage of growth, and the 120 d (E120) represented the development stage, as well as the newborn samples, represented the primary hair follicle maturation stage. The FastQC software (Version 11.7) was used to check the quality of the readings. This software check the quality of the reads, in case of low-quality sequencing, the data were edited by Trimmomatic software (Version 0.39), and filtered reads were evaluated with FastQC software, After removing low-quality reads mapping was performed on the goat reference genome (GCA_001704415.1) downloaded from the ensemble site using the Hisat2 software(Version 2.1.0). The HTSeq2 (Version 10.0) was used to create the count matrix, changes in the expression of genes between the groups (E60, E120, and newborns) was identified using the software Deseq2 (Version 1.24). In this stage, the genes between the two groups were compared to give an expression difference 1- Genes that are expressed throughout the growth process of the follicle 2. Co-Expression networks of up and down genes were created using the STRING database (Version 11) at https://string-db.org. The PPI network was constructed by Cytoscape software (Version 3.6.0). Cytoscape is commonly used for analysis and visualization of biological networks. Gene ontology analysis of effective gene related to development stage of hair follicle in Cashmere goat from fetal to birth was done using DAVID database.

Results and Discussion After determining the level of expression of each gene at different stages of sampling, genes that increased expression in all comparisons were considered as up-regulated genes that, by increasing their expression, control the growth and development of hair follicle. On the other hand, those genes that have been shown to reduce expression in all of the follicle growth stages comparisons were considered as genes which by decreasing their

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran,
2- PhD Graduated, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources of Ramin University, Khozestan, Iran.
(*- Corresponding Author Email: roudbari.zahra@ujiroft.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.81710

expression, causes the growth and development of the hair follicle. The interaction relations were investigated between the increased and reduced genes expressed separately by STRING database. Among the up-regulated genes, the relationships between 145 genes with 203 edge were confirmed. Also, the interaction network between the down-regulated genes confirmed between 650 genes with 1302 edge. Among the genes with differential expression, the co-expression genes (genes with the most interacting) were identified based on the results of the analysis of the statistical parameters of the network using computational algorithms in Cytoscape software. These results led to the identification of seven unique genes that were SHH, KLF4, MMP9, MSX1, KRT17, COL2A1 and VEGFA, ontology analysis of these genes showed that involved the hair cycle process, hair follicle development, skin epidermis development, epidermis morphogenesis and epidermal cell differentiation that these pathways are activated in the cashmere production process. Therefore, these genes have been used as regulators of cashmere growth and development to better understand the cashmere production process and improve its quality.

Conclusion The results have been able to introduce genes with major effects that regulate the expression of genes and molecular signals associated with the production of fiber that including KLF4, MMP9, MSX1, KRT17, COL2A1 and VEGFA in Cashmere goats. Based on functional analysis, these genes can play a significant role in the improvement of cashmere goats breeding. We hope that the obtained results would be beneficial toward finding the smart strategies for Cashmere production improvement.

Keyword: Cashmere goat, Differential expression, Regulatory network, Transcriptome analysis.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 241-250

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۵۰-۲۴۱

مقاله علمی- پژوهشی

مقایسه روش‌های GBLUP و بیزی در برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی با معماری‌های مختلف ژنتیکی

رضا سید شریفی [1*]، فاطمه علاء نوشهر [2]، نعمت هدایت ایوریق[1]، جمال سیف دواتی[1]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۰۷

چکیده

انتخاب ژنومی با ا ستفاده از ن شانگرهای با تراکم بالا، بخ صوص SNPهایی که کل ژنوم را پو شش می‌دهند و اغلب در عدم تعادل پیو ستگی با QTLهای مجاور خود قرار دارند، ارزش ژنتیکی کل را پیش‌بینی می‌کند. این پژوهش با هدف برر سی تأثیر عواملی چون تراکم نشانگرها، تعداد QTL، وراثت‌پذیری صفت و نوع توزیع اثر QTL بر صحت برآورد ارزش‌های ا صلاحی ژنومی با ا ستفاده از داده‌های شبیه سازی در گو سفند انجام گرفت. به همین منظور ژنومی متشکل از سه کروموزوم، هر یک به طول ۱۰۰ سانتی‌مورگان با سه مقدار وراثت‌پذیری برای صفت مورد بررسی (۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵) و سه پنل ن شانگری (۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰) در سه سطح تعداد QTL (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰) با دو اثر توزیع یکنواخت و گاما برای QTL شبیه سازی شدند. صحت ارزش‌های ا صلاحی ژنومی برآورد شده با ا ستفاده از پنج روش GBLUP، بیزA، بیزB، بیزC و بیز LASSO مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج این تحقیق نشان داد که هر چه تراکم نشانگر و وراثت‌پذیری صفت افزایش یافته و تعداد QTL مؤثر بر صفت کمتر باشد، صحت ارزش اصلاحی برآورد شـده بالاتر خواهد بود. در بین روش‌های آماری زمانی که تعداد QTL مؤثر بر صـفت پایین اسـت و توزیع اثر QTL گاما در نظر گرفته شـد، پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی با روش بیزB عملکرد بهتری داشت.

واژه‌های کلیدی: GBLUP، بیزA، بیزB، بیزC، بیزLASSO، ارزش اصلاحی ژنومی.

مقدمه

در روش‌های کلاسیک اصلاح دام، انتخاب برای صفات مهم اقتصادی با استفاده از اطلاعات شجره‌ای به همراه رکوردهای فنوتیپی خود فرد، آیندگان (فرزندان و نوه‌ها) و گذشتگان (والدین و سایر افراد خویشاوند نسل‌های قبل) انجام گرفته و بهترین پیش‌بینی نااریب خطی از ارزش‌های اصلاحی (BLUP)[3] فرد حاصل می‌شود (۹). با پیشرفت ژنتیک مولکولی استفاده از اطلاعات نشانگرهای DNA در برنامه‌های اصلاح‌نژاد، تحت عنوان انتخاب به کمک نشانگر (MAS)[4] پیشنهاد شد (۳). بعد از آن شالوده انتخاب بر اساس کل ژنوم در مقاله‌ای که توسط موویسن و همکاران (۱۰) انتشار یافت، ارائه شد. در این روش می‌توان ارزش‌های اصلاحی ژنومی تمام افراد را با استفاده از یک مدل خطی به‌صورت تابعیت فنوتیپ‌ها از تمام نشانگرهای متراکم که کل ژنوم را پوشش می‌دهند با صحت بالا پیش‌بینی کرد. مهم‌ترین مرحله این روش برآورد اثرات آللی می‌باشد، زیرا هر چه اثرات QTL [5] به نحو صحیح‌تری برآورد شوند، ارزش‌های اصلاحی پیش‌بینی شده بیشتر معرف ظرفیت ژنتیکی حیوان بوده و رتبه‌بندی حیوانات به‌طور صحیح‌تری انجام خواهد شد و در نتیجه پیشرفت ژنتیکی و پاسخ به انتخاب بیشتری مورد انتظار خواهد بود.

عوامل مختلفی می‌توانند صـحت ارزش‌های اصـلاحی ژنومی را تحت تأثیر قرار دهند. این عوامل شـامل مدل آماری مورد اسـتفاده، توزیع اثرات QTL های مؤثر بر صـفت، مقدار عدم تعادل پیوسـتگی، تراکم نشـانگرها، وراثت‌پذیری صـفت، تعداد داده‌های فنوتیپی در جمعیت مرجع (گروهی که دارای اطلاعات فنوتیپی بوده و از اطلاعات آنها جهت برآورد اثرات نشانگری استفاده می‌شود)، فاصله زمانی (تعداد

۱-دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۲- دانش آموخته دکتری ژنتیک و اصلاح دام، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
(*-ایمیل نویسنده مسئول: reza_seyedsharifi@yahoo.com)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.80862

3 - Best Linear Unbiased Prediction
4 - Marker Assisted Selection
5 - Quantitative Trait Loci

نسل) بین جمعیت مرجع و جمعیت تأیید (گروهی که فاقد اطلاعات فنوتیپی بوده و ارزش اصلاحی ژنومی آنها تنها بر اساس اطلاعات ژنوتیپی برآورد می‌شود) می‌باشند (۱۸).

تحقیقات نشان داده است که با افزایش تراکم نشانگر در سطح ژنوم، برآوردهایی با صحت بالاتر حاصل خواهد شد. اصولاً افزایش تعداد نشانگرها در سطح ژنوم احتمال پیوستگی بین نشانگر و QTL را افزایش می‌دهد که این مسئله باعث افزایش صحت برآوردها می‌شود (۲). همچنین در وراثت‌پذیری بالاتر، ارزش‌های اصلاحی افراد سهم بیشتری در بروز رکوردهای فنوتیپ داشته و لذا در برآورد اثرات نشانگرها با استفاده از اطلاعات فنوتیپی صحت بیشتری مشاهده خواهد شد (۱۰).

امروزه تلاش پژوهشگران بر آن است تا با شناسایی عوامل مؤثر بر صحت برآوردهای ارزش‌های اصلاحی ژنومی بهترین بهره‌برداری از داده‌های موجود انجام شود. از آنجا که توالی‌یابی کل ژنوم و در اختیار داشتن ارزش ژنتیکی افراد به خصوص در گوسفند به دلیل نوع سیستم پرورش، بسیار سخت و هزینه‌بر است، انجام مطالعات با استفاده از شبیه‌سازی روشی منطقی برای چنین موضوعی خواهد بود. لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی صحت برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی صفات پیوسته در معماری‌های مختلف ژنتیکی شامل توزیع‌های آماری مختلف اثرات ژنی، تعداد متفاوت QTL، سطوح متفاوت وراثت‌پذیری و تراکم مختلف نشانگری با استفاده از روش‌های GBLUP و بیزی شامل بیزA، بیزB، بیز C و بیز LASSO انجام گرفت. تا علاوه بر مقایسه نحوه عملکرد روش‌های مختلف در معماری‌های مختلف ژنتیکی، بتوان میزان تراکم نشانگر و تعداد QTL کارآمدی را برای برنامه‌های شبیه سازی جمعیت‌های گوسفند معرفی کرد.

مواد و روش‌ها

شبیه‌سازی جمعیت

جهت ایجاد عدم تعادل پیوستگی مورد نظر بین نشانگرها و QTLها از روش ویلامسن و همکاران (۱۸) استفاده شد. در این روش از عامل کوچک بودن جمعیت و رانش، جهت ایجاد عدم تعادل پیوستگی استفاده می‌شود. به همین منظور جمعیت پایه کوچکی (G_0) با ۱۰۰ رأس دام شامل ۵۰ رأس نر و ۵۰ رأس ماده در نظر گرفته شد. فراوانی آللی اولیه برای چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی در نسل پایه، ۰/۵ لحاظ گردید. گامت‌های والدی بر اساس فرض عدم تعادل پیوستگی و با استفاده از روش تابع مکان‌یابی هالدان (۸) شبیه سازی شدند و سپس گامت‌های نوترکیب ایجاد شده به طور تصادفی انتخاب و آمیخته شدند تا فرد جدیدی از نسل G_1 ایجاد شود. روش مورد استفاده تا ایجاد نسل ۵۰ام پیگیری شد. بعد از ۵۰ نسل آمیزش تصادفی اندازه جمعیت به تعداد ۱۰۰۰ فرد (۵۰۰ نر و ۵۰۰ ماده) در نسل ۵۱ گسترش یافت. این اندازه جمعیت برای ۹ نسل بعدی (تا نسل ۶۰) ثابت ماند. تنها افراد نسل ۵۱ دارای رکورد فنوتیپی بودند و گروه مرجع (گروهی که از اطلاعات آنها جهت برآورد اثرات نشانگری استفاده می شود) را تشکیل می‌دادند و افراد سایر نسل‌ها (۵۲ تا ۶۰) فاقد اطلاعات فنوتیپی بودند و گروه تأیید (گروهی که فاقد رکورد فنوتیپی بوده و ارزش اصلاحی ژنومی آنها تنها بر اساس اطلاعات ژنوتیپی برآورد می‌شود) را به وجود آوردند. شبیه‌سازی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار qmsim (۱۵) انجام شد.

جهت سنجش صحت شبیه‌سازی از روش بررسی روند عدم تعادل پیوستگی در هر نسل استفاده شد. برای این منظور مقدار مورد انتظار عدم تعادل پیوستگی در هر نسل بر اساس فرمول اسوید (۱۷) محاسبه شد: رابطه ۱

$$E(r_n^2) = \frac{1}{1+4N_e c\left[\frac{(1-c/2)}{(1-c)^2}\right]}\left\{1-\left[(1-\frac{1}{2N_e})(1-c)^2\right]^n\right\}$$

در رابطه فوق $E(r_n^2)$ میزان مورد انتظار عدم تعادل پیوستگی در نسل nام، N_e اندازه مؤثر جمعیت و c میزان نرخ نوترکیبی بر اساس مورگان هستند.

شبیه سازی ژنوم

در این مطالعه ژنومی شامل سه کروموزوم هر کدام به طول یک مورگان در نظر گرفته شد. روی هر کروموزوم سه سطح تراکم چندشکلی تک نوکلئوتیدی دو آللی شامل (۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰) در مورگان با مقادیر مختلف qtl شامل ۵۰ (پایین)، ۱۰۰ (متوسط) و ۱۵۰ (بالا) qtl با فواصل یکسان نشانگری گسترده شدند. همچنین جهت مطالعه تأثیر وراثت‌پذیری و نحوه توزیع واریانس qtl بر صحت برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی از سه صفت گوسفند با وراثت‌پذیری پایین (۰/۱)، متوسط (۰/۳) و بالا (۰/۵) و دو نوع توزیع واریانس qtl شامل توزیع یکنواخت و گاما (β=۰/۴ و α=۱/۶۶) (۷) در شبیه‌سازی استفاده شدند. هم نشانگرها و هم qtlها دو آللی بودند.

بر این اساس ۱۸ سناریوی ترکیبی تعریف شد که شامل ۳ سطح برای تعداد qtl، ۲ سطح برای نحوه توزیع واریانس qtl و ۳ سطح برای تراکم نشانگرهای snp می‌باشد. همچنین سطوح وراثت‌پذیری در هر کدام از سناریوها تغییر داده شد تا تأثیر آنها بر صحت برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی بررسی شود.

پیش‌بینی ارزش های اصلاحی ژنومی

روش GBLUP

روش GBLUP به کار رفته در این مطالعه بر اساس یک مدل مختلط ساده طراحی شد و فرض گردید که در آن کلیه چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی بر صفت مورد مطالعه مؤثر می‌باشند. برای به کار بردن این روش از نرم‌افزار ASReml (۶) و مدل زیر استفاده شد:

رابطه ۲
$$y = \mu 1_n + Zu + e$$

جدول ۱- ساختار جمعیتی و متغیرهای استفاده شده در شبیه‌سازی

Table 1- Population structure and simulation parameters

متغیر Parameter	ارزش Value
اندازه مؤثر جمعیت Effective population size (Ne)	100
طول ژنوم Genome length	300
تعداد چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی Number of SNP markers	500, 1000, 1500
تعداد QTL Numbers of QTL	50, 100, 150
توزیع اثر QTL QTL effects distributions	یکنواخت و گاما (β=۰/۴ و α=۱/۶۶)
وراثت پذیری صفت Heritability	0.1, 0.3, 0.5
جمعیت مرجع Training set	همه افراد نسل ۵۱
جمعیت تأیید Validation set	همه افراد نسل ۵۲ تا ۶۰
تعداد نسل در جمعیت عدم تعادل پیوستگی Number of generations in linkage disequilibrium population	50
اندازه جمعیت عدم تعادل پیوستگی در هر نسل Population size of linkage disequilibrium per generation	۱۰۰ رأس دام (۵۰ رأس نر و ۵۰ رأس ماده)
اندازه جمعیت Population size	۱۰۰۰ رأس دام (۵۰۰ رأس نر و ۵۰۰ رأس ماده)
نوترکیبی Recombination	تابع مکان‌یابی هالدان
تعداد نسل جمعیت Number of population generation	60
تعداد تکرار Number of repetitions	10

که در آن y بردار ارزش های فنوتیپی، $\boldsymbol{\mu}$ میانگین فنوتیپی، n تعداد رکورد ها، $\mathbf{1_n}$ بردار یکا به ابعاد 1×n، $\boldsymbol{u}$ بردار در برگیرنده ارزش های اصلاحی ژنومی، $\boldsymbol{Z}$ ماتریس ضرایب ارتباط دهنده مشاهدات به بردار ارزش‌های اصلاحی و e بردار اثرات تصادفی باقیمانده می‌باشد. اثرات ژنتیک افزایشی چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (g) دارای توزیع نرمال $\boldsymbol{N(0,\sigma_g)}$ فرض شد که Z ماتریس روابط خویشاوندی برای همه چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی می‌باشد که $\boldsymbol{\sigma_g}$ انحراف معیار اثرات ژنتیکی SNPها می‌باشد. باید توجه داشت که Z بر اساس احتمالات IBS بین هر دو دام محاسبه شده است و برای تمام دام‌های دارای ژنوتیپ (دام‌های جمعیت مرجع و جمعیت تأیید) تعمیم یافته است. برای محاسبه مجموع روابط آللی بین هر دو دام از روش نجاتی جوارمی و همکاران (۱۲) استفاده شد. برای پیش‌بینی اثرات افزایشی چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی از مدل‌های مختلط زیر استفاده شد:

رابطه ۳
$$\begin{bmatrix} 1_n' 1_n & 1_n' Z \\ Z' 1_n & Z'Z + I\alpha \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\mu} \\ \hat{g} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1_n' y \\ Z' y \end{bmatrix}$$

که در آن $\boldsymbol{\alpha} = \frac{\sigma_e^2}{\sigma_g^2}$ و I ماتریس همانی می‌باشد.

روش بیز A

در همه روش‌های بیزی از مدل آماری زیر استفاده شد:

رابطه ۴ $y = \mu 1_n + \sum_{i=1}^{m} X_i g_i + e$

که در آن y بردار ارزش های فنوتیپی، μ میانگین فنوتیپی، n تعداد رکوردها، $\mathbf{1_n}$ بردار یکا به ابعاد n×1، $\boldsymbol{X_i}$ ماتریس ژنوتیپ‌ها برای i امین چندشکلی تک نوکلئوتیدی، g_i اثر جایگزینی آللی i امین چندشکلی تک نوکلئوتیدی و e بردار اثرات تصادفی باقیمانده می‌باشد.

در روش BayesA همانند روش GBLUP فرض می‌شود که تمامی SNPها دارای اثر، حتی جزئی بوده و تعدادی از SNPها در عدم تعادل پیوستگی با QTLهایی با اثرات متوسط تا بزرگ قرار دارند. اثرات SNPها از توزیع نرمال با واریانس جداگانه برای هر SNP از توزیع کای دو معکوس، نمونه‌گیری می‌شود (۱۰). برای به کار بردن این روش از معادلات زیر استفاده شد:

رابطه ۵ $f(\sigma^2_{g_j}|v, s^2) \sim \chi^{-2}(v, s^2)$

$$v = 4.2, \quad \hat{\sigma}^2_{SNP} = \frac{\hat{\sigma}^2_a}{(1-\pi)\sum_{m=1}^{M} 2p_m q_m}$$

$$s^2 = \frac{\hat{\sigma}^2_{SNP}(v-2)}{v}$$

که در آن v دلالت بر درجه آزادی و s مربوط به پارامتر معیار است.

روش بیز B

در این روش اکثر SNP های موجود در منطقه ژنومی QTLای نداشته و بنابراین اثرات آنها برابر با صفر می‌باشد، در حالی‌که تعداد اندکی از آنها (π−۱) در عدم تعادل پیوستگی با QTL قرار داشته و دارای اثر می‌باشند. در نتیجه اثرات غیر صفر در عدم تعادل پیو ستگی بالایی با QTL قرار دارند. بیز b تحت معادلات زیر اجرا شد:

رابطه ۶

$$f(\sigma^2_{g_j}|v, s^2, \pi) \begin{cases} \sim \chi^{-2}(v, s^2) & with\ probability\ (1-\pi) \\ 0 & with\ probability\ \pi \end{cases}$$

روش بیز C

در روش بیز C فرض بر این است که تنها بخشی از چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (π) بر صفت اثر دارند. در واقع بیز C شکلی از بیز B است، فقط به جای استفاده از توزیع پیشین t برای تأثیرات نشانگری، از توزیع نرمال استفاده می‌کند. برای به کار بردن این روش از مدل زیر استفاده گردید: رابطه ۷

$$\boldsymbol{y} = \boldsymbol{\mu 1_n} + \sum_{i=1}^{m} \boldsymbol{x_i g_i} + \boldsymbol{e}$$

که در آن y بردار ارزش‌های فنوتیپی، μ میانگین فنوتیپی، n تعداد رکوردها، 1_n بردار یکا به ابعاد n*1، x_i بردار ژنوتیپ‌ها برای iامین چندشکلی تک نوکلئوتیدی، g_i اثر جایگزینی آللی iامین چندشکلی تک نوکلئوتیدی و e بردار اثرات باقیمانده است که دارای توزیع نرمال می‌باشد.

روش بیز LASSO

در روش بیز Lasso از تابع نمائی دوگانه برای توزیع اثرات QTL و SNP تحت مدل بیزی استفاده شد:

رابطه ۸ $DE(b_j|\lambda, \sigma_e^2) = \int N(b_j|0, \sigma_e^2, \tau_j^2)$

$$Exp\left(\tau_j^2 \middle| \frac{\lambda^2}{2}\right) \delta\sigma_{bj}^2$$

که در معادله فوق λ ناشناخته فرض شده و به آن توزیع گاما با پارامتر شکل λ و مقیاس τ اختصاص داده می‌شود.

برای محا سبه ارزش ا صلاحی واقعی حیوانات از رابطه ۹ ا ستفاده شد:

رابطه ۹ $TBV_i = \sum_{j=1}^{n} \boldsymbol{x_{ij} b_j}$

که در معادله فوق TBV_i ارزش اصلاحی واقعی افراد، n تعداد QTLهای مؤثر بر صفت، $\boldsymbol{x_{ij}}$ تعداد آلل‌های ۱ که فرد i در لوکوس j حمل می‌کند و $\boldsymbol{b_j}$ اثر jامین QTL می‌باشد. در این مطالعه همه ۱۰۰۰ رأس دام نسل ۵۱ به عنوان جمعیت مرجع به کار گرفته شدند و از فنوتیپ دام‌ها در این ن سل برای برآورد ارزش‌های ا صلاحی ژنومی در جمعیت تأیید استفاده شد. ارزش اصلاحی ژنومی برآورد شده (ارزش اصلاحی ژنومی افراد گروه تأیید) از مجموع آثار نشانگرها با توجه به ژنونیپ آنها به صورت زیر محاسبه شد:

رابطه ۱۰ $GEBV = X.\hat{g}$

که در آن X ماتریس طرح می‌باشد که به ژنوتیپ دام‌ها اشاره دارد و $\hat{\boldsymbol{g}}$ بردار اثرات برآورد شده برای چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی می‌باشد.

صحت برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی از همبستگی بین ارزش‌های ا صلاحی واقعی و ارزش‌های ا صلاحی ژنومی برآورد شده (tbv,gebv) محا سبه شد. هر آزمایش ۱۰ بار تکرار و سپس میانگین و خطای استاندارد برآوردها گزارش شد.

در اجرای روش های بیزی از روش نمو نه‌برداری گیبس و نرم افزار R ورژن ۱.۱-۳ (۱۳) ا ستفاده شد. برای هر تحلیل یک زنجیره مارکوف مونت کارلو تا رسیدن به همگرایی به طول ۲۱۰ هزار چرخه شامل ۱۰ هزار چرخه اولیه جهت گرم شدن و ۲۰۰ هزار چرخه ا صلی به کار رفت که در هر ۵ دور یک بار نتایج ذخیره شد و در پایان نتایج، ۴۰ هزار چرخه ذخیره گردید.

نتایج و بحث

میانگین عدم تعادل پیو ستگی (r^2) افراد ن سل آخر جمعیت (ن سل ۵۰ ام) ۰/۰۱۱ ± ۰/۱۹۱ بدست آمد. این در حالی است که مقدار مورد انتظار آن توسط فرمول اسوید (۱۶) ۰/۲۱۹ برآورد گردید. این مقدار نشان می‌دهد که به طور میانگین بیش از ۸۷ درصد از حداکثر مورد

انتظار، محقق گردیده اســـت که میزان مطلوبی اســـت. میانگین عدم تعادل پیوستگی با مطالعات ویلیامسن و همکاران (۱۷) مطابقت دارد.

تأثیر تعداد QTL بر صحت برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی

صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده با سه سطح تعداد QTL و وراثت‌پذیری در جدول ۲ ارائه شـده اسـت. در هر پنج روش آماری با افزایش تعداد qtlها از ۵۰ به ۱۵۰، صـحت ارزش‌های ژنومی کاهش یافت. در هر ســـه ســـطح وراثت‌پذیری با تعداد qtl پایین، بالاترین صـحت برآورد مربوط به روش بیز b و کمترین مقدار توسـط روش gblup حاصل شد. این نتایج با نتایج دیتویلر و همکاران (۵) که گزارش کرده‌اند با افزایش تعداد qtl مؤثر بر صفت، صحت برآوردهای ارزش‌های اصلاحی ژنومی کاهش می‌یابد، مطابقت دارد.

دلیل این امر را می‌توان به توزیع مقدار محدودی واریانس ژنتیکی بر تعداد زیادی qtl دانست که در نتیجه سهم هر qtl در ارزش ژنتیکی کل کاهش یافته اســـت و قدرت مدل‌ها در برآورد تأثیرات کم خواهد شد (۵).

جدول ۲- صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده با سه سطح تعداد QTL و وراثت‌پذیری

Table 2– The estimated genomic accuracy (se) for three QTL numbers and heritability in same SNP density

وراثت پذیری Heritability	تعداد QTL N_{QTL}	مدل آماری Statistical model				
		GBLUP	BayesA	BayesB	BayesC	Bayes LASSO
0.1	50	0.679(0.01)	0.685(0.01)	0.757(0.01)	0.756(0.02)	0.757(0.02)
	100	0.673(0.01)	0.681(0.01)	0.743(0.01)	0.741(0.02)	0.740(0.02)
	150	0.669(0.01)	0.672(0.01)	0.658(0.01)	0.652(0.02)	0.652(0.02)
0.3	50	0.689(0.01)	0.695(0.01)	0.776(0.01)	0.770(0.02)	0.767(0.02)
	100	0.681(0.01)	0.687(0.01)	0.768(0.01)	0.764(0.02)	0.762(0.02)
	150	0.678(0.01)	0.675(0.01)	0.657(0.01)	0.652(0.02)	0.650(0.02)
0.5	50	0.756(0.01)	0.759(0.01)	0.840(0.01)	0.838(0.01)	0.836(0.01)
	100	0.727(0.01)	0.734(0.01)	0.821(0.01)	0.818(0.01)	0.817(0.01)
	150	0.715(0.01)	0.727(0.01)	0.743(0.01)	0.739(0.01)	0.735(0.01)

مطالعات در این زمینه نشـــان داده اســـت که وقتی تعداد qtlهای مؤثر بر صـــفت زیاد باشـــد، روش gblup مشـــابه و یا حتی بهتر از روش‌های بیزی عمل می‌کند (۵ و ۱۹). با وجود این، به دلیل اینکه روش‌های بیزی معرفی بهتری از نحوه توزیع اثرات QTL بر صـفات، نسبت به روش GBLUP به صورت پیش‌فرض ارائه می‌دهد، در تعداد اندک qtl برتر عمل می‌کنند.

همچنین صـــحت برآورد ارزش‌های اصـــلاحی ژنومی صـــفات با وراثت‌پذیری بالا نسبت به وراثت‌پذیری پایین بیشتر است. دلیل این مسئله واضح است، زیرا هرچه وراثت‌پذیری صفت بیشتر باشد، فنوتیپ فرد به ارزش ژنتیکی فرد نزدیک‌تر بوده و در نتیجه آثار نشانگرها و به دنبال آن ارزش اصلاحی ژنومی افراد به طور صحیح‌تر برآورد می‌شود (۱۸).

تأثیر تراکم نشانگر بر صحت پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی

صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده با سه سطح تعداد QTL و تراکم نشانگری در جدول ۳ ارائه شده است. با افزایش تراکم نشانگرها صحت پیش‌بینی توسط هر پنج روش آماری افزایش یافت. نتایج حاصـــل از این پژوهش با نتایج تحقیقات کالوس و همکاران (۲) و مویر (۱۱) مطابقت داشت. بیشترین صحت ارزش اصلاحی ژنومی توســـط روش بیز b در تراکم نشـــانگری ۱۵۰۰ و تعداد ۵۰ QTL به دست آمد.

جدول ۳- صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده با سه سطح تعداد qtl و تراکم نشانگری

Table 3–The estimated genomic accuracy (se) for three QTL numbers and SNP density Table

تعداد QTL N_{QTL}	تراکم نشانگری SNP density	مدل آماری Statistical model GBLUP	BayesA	BayesB	BayesC	Bayes LASSO
50	500	0.685(0.01)	0.687(0.01)	0.769(0.01)	0.762(0.02)	0.760(0.02)
	1000	0.688(0.01)	0.693(0.01)	0.772(0.01)	0.768(0.02)	0.763(0.02)
	1500	0.694(0.01)	0.705(0.01)	0.788(0.01)	0.780(0.02)	0.779(0.02)
100	500	0.676(0.01)	0.677(0.01)	0.761(0.01)	0.758(0.02)	0.756(0.02)
	1000	0.679(0.01)	0.686(0.01)	0.765(0.01)	0.761(0.02)	0.759(0.02)
	1500	0.687(0.01)	0.699(0.01)	0.778(0.01)	0.773(0.02)	0.771(0.02)
150	500	0.669(0.01)	0.660(0.01)	0.649(0.01)	0.648(0.01)	0.641(0.01)
	1000	0.675(0.01)	0.673(0.01)	0.655(0.01)	0.651(0.01)	0.648(0.01)
	1500	0.692(0.01)	0.689(0.01)	0.668(0.01)	0.665(0.01)	0.661(0.01)

سولبرگ و همکاران (۱۶) گزارش کردند که با افزایش ن شانگرها از ۱۰۰ به ۸۰۰ نشـانگر در هر مورگان صـحت ارزیابی ژنومی از ۶۹ درصـد به ۸۶ درصـد افزایش یافت. افزایش تعداد نشـانگرها باعث افزایش میزان عدم تعادل پیو ستگی بین ژن‌ها و ن شانگرها می شود و بدین ترتیب صحت ارزیابی ژنومی را افزایش می‌دهد.

تأثیر وراثت‌پذیری بر صحت پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی

صـحت ارزش‌های اصـلاحی ژنومی برآورد شـده با سـه سـطح وراثت‌پذیری و تراکم نشـانگری در جدول ۴ ارائه شـده اسـت. نتایج نشـان داد که افزایش تراکم نشـانگری در سـطوح وراثت‌پذیری پایین (۰/۱) و بالا (۰/۵)، سـبب افزایش صـحت ارزش اصـلاحی ژنومی می‌شـود، اما در صـفات با وراثت‌پذیری متوسـط (۰/۳) افزایش تعداد نشانگرها بر صحت ارزیابی ژنومی تأثیری نداشت. بطوری‌که بیشترین صحت پیش‌بینی ارزش ا صلاحی ژنومی در وراثت‌پذیری ۰/۵ با تراکم ن شانگری ۱۵۰۰ تو سط روش بیز B و کمترین صحت، تو سط روش GBLUP در وراثت‌پذیری ۰/۱ با تراکم ن شانگری ۵۰۰ به د ست آمد. این نتایج با پژوهش‌های پیشین مطابقت داشت (۱۴ و ۷).

جدول ٤- صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی برآورد شده با سه سطح تراکم نشانگری و وراثت‌پذیری

Table4-The estimated genomic accuracy (se) for three SNP density and heritability

وراثت پذیری Heritability	تراکم نشانگری SNP density	مدل آماری Statistical model GBLUP	BayesA	BayesB	BayesC	Bayes LASSO
0.1	500	0.673(0.01)	0.680(0.01)	0.742(0.01)	0.740(0.02)	0.739(0.02)
	1000	0.682(0.01)	0.693(0.01)	0.759(0.01)	0.751(0.02)	0.744(0.02)
	1500	0.695(0.01)	0.707(0.01)	0.763(0.01)	0.758(0.02)	0.754(0.02)
0.3	500	0.692(0.01)	0.695(0.01)	0.764(0.01)	0.760(0.02)	0.760(0.02)
	1000	0.693(0.01)	0.695(0.01)	0.765(0.01)	0.760(0.02)	0.760(0.02)
	1500	0.693(0.01)	0.696(0.01)	0.766(0.01)	0.761(0.02)	0.761(0.02)
0.5	500	0.715(0.01)	0.719(0.01)	0.779(0.01)	0.771(0.01)	0.771(0.01)
	1000	0.722(0.01)	0.729(0.01)	0.786(0.01)	0.781(0.01)	0.779(0.01)
	1500	0.738(0.01)	0.743(0.01)	0.791(0.01)	0.788(0.01)	0.785(0.01)

موویسن و همکاران (۱۰) و گودارد (۷) یکی از عوامل اصلی مؤثر بر صحت انتخاب ژنومی را وراثت‌پذیری صفت می‌دانند. بی شتر بودن وراثت‌پذیری، یعنی بی شتر بودن ن سبت واریانس افزای شی به واریانس فنوتیپی، به معنای بیشتر بودن نقش ژن‌های با بیان افزایشی در ایجاد پراکنش در صفت ا ست که باعث برآورد صحیح‌تر تأثیرات ن شانگرها می شوند. صحت برآورد ارزش ا صلاحی ژنومی صفات با وراثت‌پذیری

بالا نسبت به وراثت‌پذیری پایین بیشتر است. دلیل این مسئله واضح است زیرا هرچه وراثت‌پذیری صفت بیشتر باشد، فنوتیپ فرد به ارزش ژنتیکی فرد نزدیک‌تر بوده و در نتیجه آثار نشانگرها و به دنبال آن ارزش اصلاحی ژنومی افراد به طور صحیح‌تر برآورد می‌شود (۱۸ و ۷).

نتایج تأثیر واریانس QTL بر صحت برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی

صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی در تراکم نشانگری و تعداد QTL یکسان با توزیع واریانس یکنواخت و گاما در جدول ۵ ارائه شده است. صحت ارزش‌های اصلاحی در حالت توزیع گاما تأثیر ژنی بهتری نسبت به توزیع یکنواخت داشت. همچنین، هنگامی که توزیع تأثیر ژنی گاما است، روش‌های بیزی در مقایسه با روش gblup از صحت ارزش ژنومی بالاتری برخوردار هستند. در بین روش‌های بیزی، روش بیزb، بیزC و بیزLASSO در حالت توزیع گاما تأثیرات ژنی بهترین عملکرد را نشان دادند اما تفاوت آنها از نظر آماری معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵). نتایج حاصل از این تحقیق با گزارش‌های موویسن و همکاران (۱۰)، گودارد (۷)، سولبرگ و همکاران (۱۶) و دیتویلر و همکاران (۵) مطابقت داشت.

دلیل این امر دو عامل می‌تواند باشد: نخست آنکه توزیع پیش فرض روش‌های بیزی با توزیع گامای واریانس ژن‌های عمده اثر هماهنگی دارند که باعث برآورد صحیح‌تر اثرات چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی می‌گردد. همانطور که گودارد (۷) گزارش کرده است توزیع پیش فرض گاما در روش‌های بیزی برآوردهای صحیح‌تری ایجاد می‌کند که با نتایج این مطالعه هم‌خوانی دارد. دلیل دوم این است که توزیع گاما دارای تعدادی ژن‌های عمده اثر با اثرات بزرگ‌تر نسبت به توزیع یکنواخت است. در نتیجه برآوردهای ارزش‌های اصلاحی ژنومی در صفاتی با تعدادی ژن‌های عمده اثر با اثرات بزرگتر، صحیح‌تر است.

یکی از ضعف‌های روش gblup این است که برای همه نشانگرها سهم یکسانی از واریانس را در پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی در نظر می‌گیرد. این در حالی است که در روش‌های بیزی بر حسب توزیع پیشین، وزن‌های متفاوتی به نشانگرها اختصاص داده می‌شود.

جدول ۵- صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی در تراکم نشانگری و تعداد qtl یکسان با توزیع واریانس یکنواخت و گاما

Table 5- The estimated genomic accuracy in same QTL numbers and SNP density with uniform and gamma variance distribution

توزیع واریانس Variance Distribution	وراثت پذیری Heritability	مدل آماری Statistical model				
		GBLUP	BayesA	BayesB	BayesC	Bayes LASSO
یکنواخت Uniform	0.1	0.674(0.01)	0.677(0.01)	0.719(0.01)	0.715(0.02)	0.712(0.02)
	0.3	0.683(0.01)	0.685(0.01)	0.734(0.01)	0.730(0.02)	0.726(0.02)
	0.5	0.733(0.01)	0.740(0.01)	0.802(0.01)	0.801(0.02)	0.796(0.02)
گاما Gamma	0.1	0.684(0.01)	0.691(0.01)	0.760(0.01)	0.758(0.02)	0.753(0.02)
	0.3	0.695(0.01)	0.700(0.01)	0.779(0.01)	0.776(0.02)	0.776(0.02)
	0.5	0.739(0.01)	0.749(0.01)	0.845(0.01)	0.842(0.02)	0.841(0.02)

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که عواملی نظیر تراکم نشانگرها، تعداد qtl، توزیع واریانس QTL و وراثت‌پذیری صفت بر میزان صحت برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی مؤثر هستند. در صفات با وراثت‌پذیری بالا هر چه تراکم نشانگرها بیشتر و تعداد qtl کمتر، میزان صحت برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی نیز بیشتر است. در مطالعات ژنومی چنانچه صفتی تحت تأثیر تعداد کمی qtl قرار داشته باشد، برآورد ارزش‌های اصلاحی توسط روش بیزb می‌تواند نتیجه مطلوب‌تری ارائه دهد. لیکن چنانچه صفت تحت تأثیر تعداد زیادی qtl است، استفاده از هر پنج روش آماری gblup، بیزa، بیزb، بیزC و بیز lasso مزیت یکسانی خواهد داشت. حتی در بعضی موارد روش gblup عملکرد بهتری نسبت به چهار روش دیگر دارد. تراکم نشانگرها بر صحت ارزیابی ژنومی در صفات با وراثت‌پذیری متوسط تأثیری نداشت و از آنجا که بیشتر صفات اقتصادی در نژادهای بومی گوسفند از دسته صفات با وراثت‌پذیری متوسط هستند، می‌توان از ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ نشانگر برای برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی در برنامه‌های شبیه‌سازی استفاده نمود.

منابع

1- Buch, L. H., M. K. Sørensen, P. Berg, L. D. Pedersen, and A. C. Sørensen. 2012. Genomic selection strategies in dairy cattle: strong positive interaction between use of genotypic information and intensive use of young bulls. Journal of Animal Breeding and Genetics, 129: 138-151.
2- Calus, M. P. L., T. H. E, Meuwissen, A. P. W, De Roos, and R. F. Veerkamp. 2008. Accuracy of genomic selection using different methods to define haplotypes. Genetics, 178:553-561.
3- Chamberlain, A. J., H. C. McPartlan, and M. E. Goddard.2007. The Number of Loci That Affect Milk Production Traits in Dairy Cattle. Genetics, 177: 1117-1123.
4- Coster, A., J. W. M, Bastiaansen, M. P. L, Calus, J. A. M, Van Arendonk, and H. Bovenhuis. 2010. Sensitivity of methods for estimating breeding values using genetic markers to the num-ber of QTL and distribution of QTL variance. Genetic Selection Evolution, 42: 9-15.
5- Daetwyler, H. D., R. Pong-Wong, B. Villanueva and J. A. Woolliams. 2010. The impact of genetic architecture on genome-wide evaluation methods. Genetics, 185: 1021-1031.
6- Gilmour, A. R., R. Thompson, B. R. Cullis. 1995. Average information REML: an efficient algorithm for variance parameter estimation in linear mixed models. Biomet, 51: 1440-1450.
7- Goddard, M.E. 2008. Genomic selection prediction of accuracy and maximization of long term response. Genetics, 136: 245-257.
8- Haldane, J. B. S. 1919. The combination of linkage values and the calculation of distance between the loci of linked factors. Genetics, 8: 299‑309.
9- Meuwissen, T. H. E. 2009. Accuracy of breeding values of 'unrelated' individuals predicted by dense SNP genotyping. Genetic Selection Evolution, 41: 35-47.
10- Meuwissen, T. H. E., B. Hayes, and M. E .Goddard. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. Genetics, 157: 1819–1829.
11- Muir, W. M., G. K. S. Wong, Y. Zhang, J. Wang, M. A. M Groenen, R. Crooijmans, H. J. Megens, H. Zhang, R. Okimoto, A. Vereijken, A. Jungerius, G. A. A. Albers, C. T. Lawley, M. E .Delany, S. MacEachern, and H. H. Cheng. 2007. Genome-wide assessment of worldwide chicken SNP genetic diversity indicates significant absence of rare alleles in commercial breeds. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105: 17312-17317.
12- Nejati-Javaremi, A., C. Smith, and P. J. Gibson.1997. Effect of total allelic relationship on accuracy of evaluation and response to selection. Journal of Animal Science, 75: 1738-1745.
13- R Core, T.2015. R A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
14- Saatchi, M., J. Ward, and D. J. Garrick. 2013. Accuracies of direct genomic breeding values in Hereford beef cattle using national or international training populations. Journal of Animal Science, 91: 1538–1551.
15- Sargolzaei, M. and F.S. Schenkel.2009. QMSim: a large-scale genome simulator for livestock. Bioinformatics, 25: 680-681.
16- Solberg, T. R., A. K. Sonesson., J. A. Woolliams, and T. H. E. Meuwissen. 2008. Genomic selection using different marker types and densities. Journal of Animal Science, 86: 2447-2454.
17- Sved, J.A. 1971. Linkage disequilibrium and homozygosity of chromosome segments in finite populations. Theorical Population Biology, 2: 125-141.
18- Villumsen, T. M., L. Janss, and M. S. Lund.2009. The importance of haplotype length and heritability using genomic selection in dairy cattle. Journal of Animal Breeding and Genetics, 126: 3-13.
19- Wimmer, V., C. Lehermeier, T. Albrecht, H. J .Auinger, Y. Wang, and C. C. Schön. 2013. Genome-wide prediction of traits with different genetic architecture through efficient variable selection. Genetics, 195: 573-587.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 241-250

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۵۰-۲۴۱

A Comparison of GBLUP and Bayesian Methods in Prediction of Genomic Breeding Values under Different Genetic Architectures

R. Seyed Sharifi[1*], F. Ala Noshahr[2], N. Hedayat evrigh[1], J. Seifdavati[1]
Submitted: 22-05-2019
Accepted: 29-09-2019

Introduction[۱] Genomic Selection (GS) has been proved to be a powerful tool for estimating genetic values in livestock breeding. Newly developed sequencing technologies have dramatically reduced the cost of genotyping and significantly increased the scale of genotype data that used for GS. The estimation of breeding values in order to select the best animals as parents of the next generation is the main goal of animal breeding programs. Traditional methods of genetic evaluation were performed using a combination of phenotypic and pedigree information to produce estimated breeding values. Most simulation studies of genomic selection (GS) methods have considered genetic architectures in which the number and relative magnitudes of quantitative trait loci (QTL) have varied. Among the Bayesian methods, those using marker-specific shrinkage of effects (e.g., BayesA or BayesB of or the Bayesian LASSO are commonly used in animal breeding applications. The Bayesian methods proposed differ in the way of looking at the variances of parameters. In classical livestock breeding methods, selection for important economic traits using pedigree information with individual phenotypic records was performed and best Linear Prediction of Breeding Values (BLUP) is achieved. In genome selection, genomic breeding values of all individuals can be predicted with high accuracy using a linear model. Various factors can be affecting the accuracy of genomic breeding values. Therefore, the present study aimed to evaluate the accuracy of estimating genomic breeding values in different genetic architectures including different distributions of gene effects, different numbers of QTL, different levels of heritability and different marker densities using GBLUP and Bayesian methods including Bayes A, Bayes B, Bayes C and Bayes LASSO. In addition to comparing the performance of different methods in different genetic architectures, a marker density and QTL numbers were introduced for simulation programs of sheep populations.

Materials and Methods To create a basic population (G0), 100 heads of livestock, including 50 males and 50 females, were considered. The frequency of primary alleles for single-nucleotide polymorphisms in the basal generation was considered to be 0.5. To create the first generation (G1), the parents were randomly selected from the males and females of the G0 generation. Parental gametes were simulated based on the assumption of disconnection imbalance using the Halldan location function method, and then randomly generated gametes were randomly selected and mixed to create a new generation of G1 generation. A genome with a length of 300 cM was simulated and 500, 1000 and 1500 SNPs were equally spaced over the chromosome. Three different numbers of QTL (50, 100 and 150) were considered and QTLs were uniformly distributed over the chromosome. One hundred individuals, including 50 males and 50 females, were simulated for the base population. The first generation structure was followed through to the 50th generation of random mating to make linkage disequilibrium populations. Generation 51 was assumed as a training population and the other generations (52 to 60) as validation populations. Five methods, GBLUP, Bayes A, Bayes B, Bayes C and Bayesian LASSO, were used to estimate genomic breeding values.

Results and Discussion In all five methods, the accuracy of genomic values decreased as the number of QTLs increased from 50 to 150. The reason for this can be attributed to the limited amount of genetic variance distributed over many QTLs. Also predicting accuracy of all five methods increased with increasing marker density. Results showed that increasing marker density at low (0.1) and high (0.5) heritability levels, increased genomic accuracy but increasing at moderate heritability (0.3) traits did not affect the accuracy of genomic evaluation. Accuracy of genomic breeding values in the gamma distribution provides better gene effects to uniform distributions.

1-Associate Prof., Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
2-PhD graduated, Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
(*- Corresponding Author Email: reza_seyedsharifi@yahoo.com)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.80862

Conclusion The results showed that factors such as marker density, QTL numbers, distribution QTL effect and trait heritability were effective in estimating the accuracy of genomic breeding values. In high heritability traits, the higher markers density and lower QTL numbers, leading to increase accuracy of estimating genomic breeding values. In genomic studies, if the trait is affected by a small number of QTLs, estimation of breeding values by Bayes B method can yield a more favorable result. Marker densities did not affect the accuracy of genomic evaluation in traits of moderate heritability, and since most of the economic traits in native species of sheep are moderate heritability, 500 to 1000 markers can be used to estimate breeding values in simulation programs.

Keywords: BayesA, BayesB, BayesC, Bayesian LASSO, Genomic BLUP.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 251-264

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۶۴-۲۵۱

مقاله علمی- پژوهشی

شناسایی ژن‌های میتوکندریایی تأثیرگذار بر تکامل سلول تخم تحت هورمون FSH با استفاده از داده‌های ریز آرایه در گاو

گلزار فرهادی[۱]، هدایت الله روشنفکر[۲*]، جمال فیاضی[۳]، محمود نظری[۴]، الهام بهدانی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۰۲

چکیده

بلوغ تخمک شامل بلوغ هسته‌ای و سیتوپلاسمی است که هر دو برای لقاح و نمو رویان اهمیت دارد. برخلاف بلوغ هسته‌ای، بلوغ سیتوپلاسمی اووسیت را نمی‌توان به راحتی ارزیابی کرد. با توجه به توزیع مجدد برخی اندامک‌ها از جمله میتوکندری در زمان بلوغ می‌توان آن را به عنوان شاخص بلوغ سیتوپلاسمی در نظر گرفت. در این مطالعه به منظور بررسی اثر هورمون FSH در شرایط آزمایشگاهی بر چگونگی بیان ژن‌های میتوکندریایی، داده‌های ریزآرایه حاوی اطلاعات بیان ژن سلول‌های اووسیت گاو، با کد دسترسی GEO (GSE38345) استفاده گردید. آنالیز و مقایسه بیان ژن‌ها در دو حالت قبل و بعد از بلوغ به ترتیب (۲۰ و ۹۶ ساعت بعد از تیمار) با استفاده از لینک نرم‌افزاری GEO2R، دو گروه ژن‌های افزایش و کاهش بیان یافته را تعیین نمود. برهمکنش گروه‌های ژنی با استفاده از پایگاه اطلاعاتی string، مجسم‌سازی شبکه با استفاده از نرم‌افزار cytoscape و هستی-شناسی شبکه با استفاده از پایگاه اطلاعاتی comparative GO انجام گردید. در شبکه برهمکنش پروتئینی مربوط به ژن‌های افزایش بیان یافته، ژن-های مهم MRPS10، MRPS18A، MRPL16 و MRPL17 که در فرایندهای انهدام میتوکندری و ترجمه ژن‌های این اندامک و در شبکه ژن-های کاهش بیان یافته، ژن‌هایMRPL22، ATP5B و ATP5C1 که با کاهش بیان خود، سعی در ایجاد تعادل در مسیرهای مرتبط با انهدام میتوکندری و تولید ATP از طریق نقش در ساختار ATP سنتتاز، داشتند. در این مطالعه ژن‌های تنظیم کننده و همچنین مسیرهای بیولوژیکی مؤثر به منظور درک ساز و کار اثر هورمون FSH بر روند بلوغ اووسیت از طریق اندامک میتوکندری بررسی گردیده است.

واژه‌های کلیدی: تکامل سلول تخم، داده‌های ریزآرایه، ژن‌های میتوکندریایی، هورمون FSH.

مقدمه

پیشرفت‌های اخیر به ایجاد روش‌های نوین تولیدمثل انجامیده است که به کمک آن‌ها می‌توان فرآیندهای تولیدمثلی را بهبود بخشید و یا مهار نمود. پیشرفت‌های اندک در بازدهی تولیدمثل می‌توانند تأثیر شایان توجهی بر بازدهی تولید فرآورده‌های دامی بگذارند. با بهبود صفات تولیدی مانند نرخ رشد، تولید شیر و مانند آن‌ها، فشارهای فیزیولوژیک و متابولیک بر دام افزوده می‌شود. بنابراین، حفظ بازدهی بالای تولیدمثلی در آینده، دشوارتر خواهد شد و داشتن روش‌های مؤثر بر فرآیندهای تولیدمثلی در آینده، بسیار ضروری می‌نماید. با بروز تکنولوژی‌هایی که در یک آزمایش تعداد زیادی داده (تکنولوژی برونده بالا[۶]) در اختیار محقق قرار می‌دهند؛ مباحث وارد عرصه جدیدی شد. مهم‌ترین این تکنولوژی‌ها، تکنولوژی ریزآرایه و در سال‌های اخیر RNA-seq می‌باشد که باعث شد فاز دیگری از پیشرفت در روش‌های سیستمی برای ارگانیسم‌های پیچیده مثل پستانداران گشوده شود (۳۵). در دهه گذشته، با توانایی به مطالعه در اطلاعات ژنتیکی ژنوم در دامنه گسترده، ریزآرایه‌ها روشی با توان عملیاتی بالا به منظور تجزیه و تحلیل‌های بیان ژن به حساب آمدند .فناوری ریزآرایه روشی کم هزینه، مؤثر و پربازده می‌باشد و با استفاده از این تکنیک می‌توان به طور همزمان بیان هزاران ژن را در حداقل زمان ممکن انجام داد و در سال‌های اخیر موجب تولید حجم انبوهی از داده‌های بیان ژنی شده است. مطالعات کمی در زمینه فراوانی mRNA در اووسیت‌های گاو در مراحل مختلف با استفاده از رویکرد

۱و ۵ - دانش آموخته دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین، خوزستان، ایران.
۲- استاد دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین ، خوزستان، ایران
۳-دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین، خوزستان، ایران.
۴-استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین، خوزستان، ایران.
(*- ایمیل نویسنده مسئول: roshanfekr_hd@cua.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.73776

6- High throughput technology

ریزآرایه[1] انجام شده است. اووسیت‌های پیش از بلوغ را با مرحله وزیکول ژرمینال‌های بالغ با تکنیک ریزآرایه مقایسه کردند و نشان دادند که تقریبا ۲۰۰ ترانسکریپتوم در این مقایسات متفاوت بودند (۳۲). تأثیر وضعیت فولیکولی را با استفاده از ریزآرایه cDNA مطالعه کردند و ۵۱ ژن که سطح mRNA آن‌ها بین اووسیت‌های بدست آمده در فاز رشد در مقایسه با فاز چیرگی[2] تفاوت بیانی داشتند را شناسایی کردند (۱۴). در مطالعه‌ای که توسط نیوت و همکاران(۲۰۱۲) انجام شد، زمان‌های بازگیری مختلف منجر به کیفیت‌های متفاوت اووسیت می‌شد که میزان آن در ۲۰ ساعت اول و ۹۲ ساعت آخر دوره بازگیری در مقایسه با کیفیت بالای مشاهده شده در دوره زمانی میانی (۴۴ تا ۶۸ ساعت) کمتر بود (۲۹).

یکی از جایگاه‌های مهم و تأثیرگذار بر عملکرد سلول‌ها، اندامک میتوکندری می‌باشد. در مطالعات مختلف مشخص گردیده که بلوغ تخمک شامل بلوغ هسته‌ای و سیتوپلاسمی است که هر دو برای لقاح و نمو رویان اهمیت دارد (۳۸). بلوغ سیتوپلاسمی شامل توزیع مجدد یک سری از اندامک‌ها از جمله میتوکندری می‌باشد (۱۲). مطالعات نشان دادند، تغییر در الگوی توزیع میتوکندری می‌تواند روی توانایی نمو جنین حاصل از تخمک‌ها اثرگذار باشد (۳). با بلوغ اووسیت، نیاز به تأمین انرژی بیشتر می‌شود. انرژی در زمان تخمک‌گذاری به اوج می‌رسد (۱۳). از آنجایی که همانندسازی میتوکندری جنین تا پس از مرحله بلاستوسیت انجام نمی‌شود، تخمک‌های بالغ (MII)، تخمک-های بارور شده و جنین‌های اولیه وابسته به ذخیره میتوکندری موجود در زمان تخمک‌گذاری می‌باشند. جنین‌ها در روزهای اول رشد خود برای تأمین انرژی مورد نیاز خود از میتوکندری موجود در تخمک استفاده می‌کنند. نقش مهم فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری و تولید ATP در طی مراحل اولیه رشد جنین در بسیاری از گونه‌ها از جمله انسان‌ها نشان داده شده است (۱۶). مطالعات بسیار اندکی در رابطه با چگونگی اثر میتوکندری و ژن‌های آن در بلوغ اووسیت انجام شده است. مشاهدات محققان نشان می‌دهد در تخمک در مرحله وزیکول ژرمینال به علت این که برای شکستن غشای هسته و شروع تقسیم میوزی نیاز به صرف انرژی است، بنابراین در اطراف هسته تعداد میتوکندری افزایش می‌یابد و پراکندگی غیر یکنواختی مشاهده می‌شود. اما بعد از تقسیم میوز یعنی زمانی که غشای هسته ناپدید شد، چون تقریباً در تمام سیتوپلاسم نیاز یکسانی وجود دارد، پراکندگی یکسان میتوکندری مشاهده می‌شود. در تحقیق دیگری با بررسی پراگندگی‌های میتوکندری تخمک‌های بالغ و نابالغ گاو نشان داده شده که بیش از ۸۰ درصد از تخمک‌های مرحله میوز II دارای الگوی یکنواخت بوده و این گروه از تخمک‌ها پس از IVF تکوین جنین بهتری نیز داشتند (۳۸).

در مطالعه‌ای نیشی و همکارانش نیز نشان دادند که تخمک‌های بلوغ یافته موش در محیط کشت در مرحله GV-GVBD که الگوی غیر یکنواخت میتوکندری با پراکندگی دورهسته‌ای نشان داده بودند، تکوین بهتری داشتند و در نتیجه مشخص گردید که تجمع میتوکندری دور هسته‌ای برای بلوغ لقاح و تکوین جنین‌های حاصل ضروری و لازم است (۲۸). ناگایی و همکارانش در مطالعه‌ای نشان دادند که تخمک‌های مرحله میوز II با آرایش میتوکندری دور هسته-ای تکوین بهتری در مقایسه با تخمک‌هایی با میتوکندری‌های قطعه قطعه شده نشان دادند در نتیجه پراکندگی میتوکندری به عنوان یک فاکتور انتخاب تخمک خوب و با کیفیت مطرح نمودند (۲۵).

مبحث شبکه‌های ژنی کمک می‌کند مهم‌ترین ژن‌ها را در یک فرآیند فیزیولوزیک مورد بررسی قرار داد. برای ساخت و بازسازی شبکه بیولوژی از تئوری گراف استفاده می‌گردد. در شبکه‌های بیولوژی ژن‌ها، پروتئین‌ها و یا هر مولکول دیگری که در سلول نقشی ایفا می‌کند، می‌تواند به عنوان گره یا نود تلقی شده و ارتباط بین این گره‌ها به عنوان یال در نظر گرفته می‌شود. اطلاعات مربوط به نحوه ارتباط بین ژن‌ها و پروتئین‌ها در پایگاه داده‌های متنوعی بر اساس نوع شبکه‌ها ذخیره‌سازی شده‌اند (۲). علاوه بر این به منظور کاوش این ارتباطات الگوریتم‌های مختلفی توسعه یافته است (۴).

در مطالعه‌ای که لیوو و همکاران (۲۰۱۶) در رابطه با شبکه‌های بیان ژنی در بیماری عروق کرونر (CAD) برای درک مکانیزم‌های مولکولی این بیماری انجام دادند، آن‌ها، در این مطالعه، مهم‌ترین ماژول مرتبط با مسیرهای کاردیومیوپاتی را بدست آوردند. علاوه بر این، ۳۰ ژن با بیان بالا معرفی شدند و دو ژن G6PD وS100A7 به عنوان مولکول‌های کلیدی در این بیماری مشخص گردیدند (۲۲).

در مطالعه‌ای دیگر یودین و همکاران (۲۰۱۷) بر روی بیماری کاهش عملکرد طبیعی مغز از جمله اختلال‌های یادگیری که در بعضی از افراد مشاهده می‌شود، انجام دادند. این مطالعه با هدف درک بهتر مکانیزم‌های مولکولی در اختلال یادگیری مرتبط با سن (ASLI) انجام شده است. در این مطالعه از یک مدل‌سازی ریاضی که در تحلیل شبکه همبستگی ژن Weighted Gene (WGCNA) کاربرد دارد، استفاده گردیده است. برای ایجاد و مقایسه مدل‌های شبکه ژنی از داده‌های مرتبط مغز جوان و مغز بزرگسالان در موش صحرایی استفاده گردید. هدف اصلی شناسایی ژن‌های جدید ASLI و شبکه-های آن‌ها براساس رابطه هم‌بیان ژن ها بود. این تجزیه و تحلیل مجموعه‌ای از ماژول‌های شبکه را در جوانان شناسایی کرد که هر کدام از آن‌ها شامل ژن‌هایی متنوع و متمایز و با کاربردی بیولوژیک متفاوت، طبقه‌بندی گردیدند. در این مطالعه یک ماژول واحد که شامل ژن‌های مرتبط در مسیرهای مرتبط با یادگیری بود مشخص گردید. تجزیه و تحلیل شبکه این مدل ماژول یادگیری و حافظه در

1- Microarray
2- Dominance

موش‌های سالم در مقایسه با موش‌های ناسالم به ما اجازه می‌دهد مجموعه‌ای از ژن های مهم را در ASLI را شناسایی کنیم. عملکرد شناخته شده این ژن‌ها و نقش کلیدی آن‌ها در مسیرهای مهم، از جمله فعالیت کیناز و فسفاتاز، عملکرد مربوط به کانال‌های یونی و حفظ یکپارچگی عصبی در تشکیل حافظه زمینه برای درک بهتر این اختلال فراهم می‌سازد (۴۰). در مطالعه‌ای مدینا و همکاران (۲۰۱۶) شبکه‌های هم‌بیانی در مورد بیماری دیابت نوع ۱ مورد بررسی قرار دادند. با تجزیه و تحلیل شبکه مبتنی بر تعاملات بین ژن‌ها یا پروتئین های خاص دیابت، ماژول‌های شبکهٔ ژن ارتباطی REL همراه با T1Dکشف شد که به نوبه خود پایه‌ای برای شناسایی مسیرهای بالقوه و ژن‌های نشانگر زیستی که ممکن است در توسعه T1D دخالت داشته باشد، فراهم گردید (۳۴).

در این مطالعه با استفاده از داده‌های بیان ژن به مطالعه اثر هورمون FSH در الگوی بیان ژن‌های میتوکندریایی و ژن‌های تنظیم کننده موثر در فرآیند تکامل اووسیت پرداخته شده است. به این منظور از شبکه ژنی استفاده گردید. علاوه بر این، مهم‌ترین مسیرهای بیولوژیکی به منظور درک سازوکار اثر هورمون مزبور بر روند بلوغ اووسیت از طریق اندامک میتوکندری بررسی گردید.

مواد و روش ها

پیاده‌سازی داده‌ها

در این مطالعه به منظور بررسی اثر هورمون FSH بر چگونگی بیان ژن‌های میتوکندریایی، کدهای دسترسی GEO برای این مجموعه داده‌ها GSE38345 از پایگاه داده NCBI به آدرس https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query acc.cgi?acc=GSE38345 پیاده‌سازی گردید. این داده‌ها حاوی اطلاعات بیان ژن سلول‌های اووسیت گاو می‌باشد که در شرایط آزمایشگاهی تحت تأثیر هورمون FSH و با استفاده از تکنیک ریزآرایه بدست آمده‌اند (۲۰).

آنالیز داده‌ها و شناسایی ژن‌های متفاوت بیان شده

پس از پیاده‌سازی داده‌ها کیفیت آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت و با توجه به اینکه نرم افزار برای نرمال‌سازی داده‌ها بر روی گزینه خودکار بود، نرمال‌سازی داده‌ها در صورت تشخیص توسط نرم‌افزار انجام شد. آنالیز داده‌ها و مقایسه بیان ژن‌ها در دو حالت قبل از بلوغ (۲۰ ساعت بعد از تیمار اووسیت با هورمون FSH در شرایط آزمایشگاهی) و بعد از بلوغ (۹۶ ساعت بعد از تیمار اووسیت با هورمون FSH در شرایط آزمایشگاهی) با استفاده از لینک نرم‌افزاری GEO2R انجام شد.

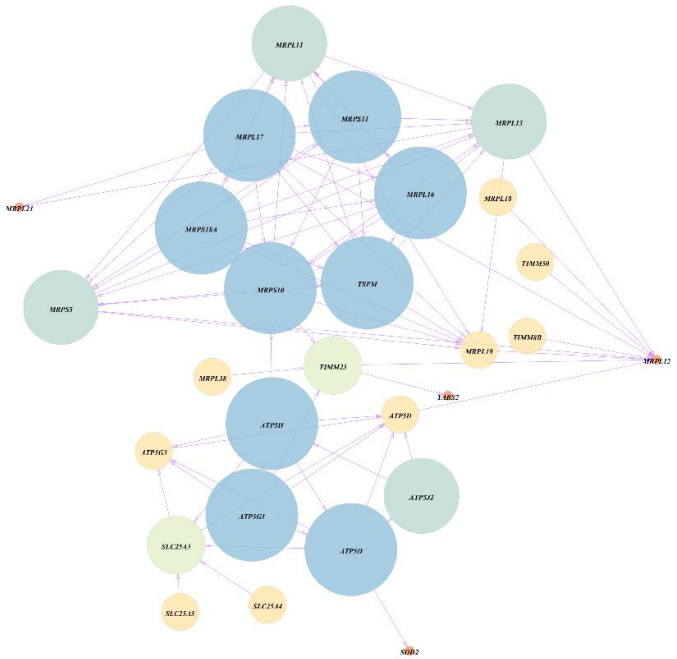
شبکه‌ها و هستی‌شناسی ژن‌های میتوکندری

بعد از آنالیز کل ترانسکریپتوم، ژن‌های میتوکندری بر اساس annotation فایل مربوط به داده‌ها جدا شدند و دو دسته ژنی شامل ژن‌های افزایش و کاهش بیان داشته تشکیل شد. برهمکنش هر یک از گروه‌های ژنی با استفاده از پایگاه اطلاعاتی string به آدرس https://string-db.org/ بر اساس اطلاعات هم‌بیانی، مورد بررسی قرار گرفت. مجسم‌سازی شبکه با استفاده از نرم‌افزار cytoscape(3.6.0) انجام گردید. هستی‌شناسی مسیرهای ژنی با استفاده از پایگاه اطلاعاتی comparative GO انجام ،گردید.

نتایج و بحث

در مقایسه‌ای که بین داده‌های بیان ژن اووسیت در مرحله قبل از بلوغ با مرحله بعد از بلوغ در اثر تیمار با هورمون FSH انجام شد، مشخص گردید ۱۰۰ ژن افزایش بیان و ۹۴ ژن کاهش بیان داشتند. این ژن‌ها یا در میتوکندری ساخته شده و یا اینکه در هسته ساخته شده و در میتوکندری عملکرد خود را نشان دادند. از این میان با بررسی شبکه برهمکنش پروتئینی در مجموعه ژن‌های افزایش بیان و کاهش بیان داشته مشخص گردید از میان ۱۰۰ ژنی که افزایش بیان داشته‌اند، ۶۸ ژن بر اساس اطلاعات string هم‌بیان هستند. در میان ژن‌های کاهش بیان داشته نیز ۵۳ ژن از میان ۶۴ ژن هم‌بیان گزارش شده بودند. شبکه برهمکنش ژنی در مجموعه ژن‌هایی که در اثر فرآیند تکامل اووسیت در اثر هورمون FSH افزایش بیان داشته‌اند در تصویر ۱ و آنالیز ژن‌های آن در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۱ حاوی برخی فراسنجه‌های ژنی میتوکندریایی مربوط به آنالیز شبکه برهمکنش ژن‌های افزایش بیان یافته در طی بلوغ اووسیت است. ژن‌های تنظیم کننده مهم در جدول بر اساس تعداد کمان‌های خروجی و در شکل بر اساس اندازه دایره‌ها انتخاب گردیدند. اندازه گره (گره‌های بزرگتر اثرات تنظیم کنندگی بیشتر به کمتر) و تغییر رنگ از آبی پررنگ به سمت نارنجی نشان دهنده اثرات تنظیم کنندگی بیشتر به کمتر می‌باشد. بر این اساس دو خانواده ژنی MRPS و MRPL به عنوان مهم‌ترین خانواده ژنی تأثیرگذار بر بلوغ اووسیت در اثر تیمار با هورمون FSH معرفی گردیدند. ژن‌های MRPS10، MRPS18A و MRPS11 از مهم‌ترین اعضای خانواده MRPS در شبکه مزبور هستند. علاوه بر این ژن‌های MRPL12، MRPL13، MRPL16، MRPL17 و MRPL21 از اعضای خانواده ژنی MRPL بوده و اثر آن‌ها در بلوغ اووسیت در شرایط آزمایشگاهی تحت تیمار مزبور، مهم شناسایی شده است.



شکل ۱- شبکه برهمکنشی پروتئینی ژن‌های تنظیمی افزایش بیان یافته میتوکندری

Figure 1- PPI network of up regulated mitochondrial genes

جدول ۱ – آنالیز شبکه برهمکنش پروتئین ژن‌های تنظیمی افزایش بیان یافته میتوکندری

Table 1- PPI network analysis of significant up regulated mitochondrial genes

Name نام ژن	EdgeCount مجموع کمان‌ها برای هر گره	Indegree کمان‌های ورودی	Outdegree کمان‌های خروجی	Stress
MRPS10	11	6	5	26
MRPL13	11	8	3	17
MRPL17	11	1	10	2
MRPS18A	9	0	9	0
MRPL12	9	9	0	0
MRPL19	8	7	1	4
MRPS11	8	3	5	0
MRPL16	8	2	6	0
MRPL21	2	2	0	0

MRPS10 یکی از ژن‌های مهم در این شبکه است که پروتئین زیر واحد S ۲۸ که متعلق به خانواده پروتئین‌های ریبوزومی PS10 می‌باشد را رمزگذاری می‌کند و نقش مهمی در ترجمه ژن‌های میتوکندری دارد. ضعف ترجمه در میتوکندری باعث کاهش فعالیت این اندامک می‌شود. این ژن علاوه بر فرایند ترجمه پروتئین، نقش مهمی در انهدام میتوکندری ایفا می‌کند. با توجه به ضرورت حضور و فعالیت میتوکندری‌ها جهت تولید انرژی برای اووسیت، لازم است که از طریق کنترل کیفیت، عملکرد خوب میتوکندری حفظ شود (۳۷). همانطور که میتوکندری‌ها ATP تولید می‌کنند، آن‌ها هم‌چنین اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) را آزاد می‌کنند که باید سم‌زدایی شوند زیرا می‌توانند باعث آسیب اکسیداتیو به DNA میتوکندری شوند. اخیراً اهمیت انهدام میتوکندری مشخص شده‌است، زیرا آسیب‌های موجود در میتوکندری ممکن است منجر به تعداد زیادی ناهنجاری-های سلولی شود. فرآیند حذف میتوکندری ناکارآمد می‌تواند با دو مسیر اصلی، انهدام میتوکندری ناشی از آسیب و ناشی از رشد ایجاد شود (۳۰). انهدام میتوکندری نه تنها میتوکندری‌های ناکارآمد را پاکسازی می‌کند، بلکه در پاسخ به محرومیت مواد مغذی و هیپوکسی موجب کاهش حجم کلی میتوکندری می‌شود (۳۷). انهدام میتوکندری ناشی از آسیب موجب حذف میتوکندری آسیب‌دیده یا ناقص می‌شود. افزایش بیان ژن مزبور در مطالعه حاضر، می‌تواند دلیلی بر حیاتی بودن این ژن در تولید و ایجاد میتوکندری‌های سالم در اووسیت باشد.

یکی از ژن‌های مهم دیگر که در شبکه برهمکنش ژن‌های افزایش بیان داشته در فرآیند بلوغ اووسیت مطرح می‌باشد، ژن MRPS18A است. پروتئین این ژن در ترجمه ژن‌های میتوکندری و

اثر بر عملکرد این اندامک (تولید انرژی) دخیل است. افزایش بیان این ژن در هنگام بلوغ اووسیت می‌تواند به دلیل نیاز اووسیت بـه مقـادیر زیاد ATP در هنگام بلوغ به دنبال افزایش تقاضای سلولی که در پی آن ژنوم هسته‌ای پروتئین‌های ریبوزومی مورد نیاز میتوکندری را تولید می‌کند تا به میتوکنـدری وارد شـوند و تکثیـر mtDNA و گسـترش شبکه میتوکندری را آغاز کنند، توجیه گردد. ریبوزوم‌های میتوکندری در مـاتریکس میتوکنـدری حضـور دارنـد. مشـخص گردیـده کـه ریبوزوم‌های میتوکندری در پستانداران شامل یک زیر واحد بزرگ s ۳۹ و یک زیر واحد کوچکتر s ۲۸ می‌باشد. ژن MRPS18A پروتئین مربوط به زیر واحد S ۲۸ که متعلق به خانواده پروتئین‌های ریبوزومی است، پروتئین P18s را رمزگذاری می‌کند. مشخص گردیده، تخمک-های با کیفیت خوب حـاوی مقـادیر مطلـوب میتوکنـدری و سـطوح کافی ATP بوده و در نتیجه توانایی تولید بلاستوسیت‌های با کیفیت بالاتر را بعد از باروری دارند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهـد کـه در بلوغ اووسیت این ژن می‌تواند به عنوان نشانگر [1]مهمی در رابطـه بـا تولید انرژی باشد (۵).

ژن MRPL16 یکی دیگر از ژن‌های میتوکندریایی می‌باشد کـه در شبکه برهمکنش پروتئینی در رابطه با ژن‌های افزایش بیان داشته، در این مطالعه، مهم شناسایی گردید. این ژن یک پروتئین زیر واحد S ۳۹ را رمـزگـذاری مـی‌نمایـد و نقـش مهمـی در ترجمـه ژن‌هـای میتوکندری و تولید انرژی دارد. افزایش تعداد میتوکنـدری در اطـراف هسته، در هنگام بلوغ تخمک نشـان داده شـده اسـت (۴۴). شـرایط نامناسب می‌تواند حرکت میتوکندری را به داخل سیتوپلاسـم متوقـف کند و بنابراین بر بلوغ سیتوپلاسمی تخمک تأثیر گذارد (۴۲). هـم-چنین گزارش شده است که توزیع غیرطبیعی میتوکندری‌ها مربوط به تشکیل نامناسب شبکه میتوکندری سیتوپلاسمیک است کـه موجـب توقف بلوغ تخمک می‌گردد. مشخص گردیده یکی از پر انرژی‌تـرین فعالیـت‌هـا درون تخمـک در هنگـام بلـوغ، جمـع‌آوری و جداسـازی میکروتوبول‌ها است که نقش مهمی در جداسازی کرومـوزوم‌هـا دارد. همچنین آغاز مرحله متافاز در تخمک بستگی به حرکت و جداسـازی میکروتوبول‌ها دارد. تأمین انرژی جهت انجام درسـت ایـن حرکـت و ایجاد توزیع مناسبی از میتوکندری‌ها مهم می‌باشد نتایج این مطالعه به همراه مطالعات گزارش شده بر نقـش مهـم ژن MRPL16 در بلـوغ اووسیت از طریق اثر بر چگونگی توزیع این اندامک، اشاره دارد (۸).

نتایج این مطالعه نشان داد که ژن مهم دیگر در شبکه برهمکنش پروتیئنی مربوط به ژن‌های افزایش بیان یافته، MRPL17 است. این ژن یک پروتئین زیر واحد ریبوزومی را رمزگذاری می‌نمایـد و نقـش مهمی در ترجمه ژن‌های میتوکندری دارد (۱۷). در طی رشد فولیکول وضعیت عملکرد میتوکندری‌ها به کیفیت تخمک‌ها کمک می‌کنـد و احتمالاً نقش مهمی در روند لقاح و رشد جنـین دارد. بنـابراین، عـدم موفقیت تخمدان با محتوای پایین mtDNA همراه است، که احتمالاً به دلیل وجود میتوکندری غیرطبیعی و بیان پایین ژن‌های مرتبط به ساخت پروتئین‌ها در این اندامک در طول رشد تخمـک و در نهایـت عدم بلوغ سیتوپلاسمی می‌باشد (۹). اولین میوز در تخمـک نیـاز بـه بیشترین میزان انرژی درون اووسیت برای تشکیل رشـته‌هـای دوک دارد که در جداسازی مناسب کروموزوم ضروری‌انـد. لقـاح میـوز II را کامل می‌کند و نیاز بـه افـزایش مقـدار ATP دارد. ضـعف در تولیـد میتوکندری و به دنبال آن کاهش تولید ATP و ایجاد خطاهای تقسیم میوز می‌تواند منجر به عدم نفوذ اولین جسم قطبـی، توزیـع نـامنظم کروموزوم و آنوپلوئیدی شود. یافته‌های مشابه بـرای مـوش گـزارش شده است (۴۱). یکی دیگر از وظایف میتوکندری که به تولید انـرژی کمک می‌نماید افزایش میزان کلسیم آزاد سیتوپلاسمی است که برای بلوغ اووسیت و رشد جنین پس از لقاح ضروری است. در واقع افزایش کلسیم در سلول موجب بیان آنزیم‌های زنجیره‌ای تنفسی می شود که تولید ATP را از طریق فسفوریلاسیون اکسـیداتیو افـزایش مـی‌دهـد (۴۶). بر اساس نتایج این مطالعه ژن MRPL17 می‌تواند بـه عنـوان نشانگر مهمی در رابطه با تولید انرژی معرفی گردد.

نتایج هستی‌شناسی شبکه برهمکنش پروتئینی مربوط به ژن‌های افزایش بیان یافته میتوکندریایی در جدول ۲ آمده است. بر اساس این نتایج، مسیرهای بیولوژیکی انتشار سیتوکروم C، مرگ سلولی، انهدام میتوکندری [2]، پروسـه تولیـد ATP و پـروتئین، بـر اسـاس p-value معنی‌دار، مهم معرفی گردیدند.

مسیرهای بیولوژیکی انتشار سیتوکروم C، مرگ سـلولی برنامـه-ریزی شده، انهدام میتوکندری در حذف میتوکندری‌های آسـیب‌دیـده ضروری می‌باشند. حین فرآیند بلوغ اووسیت و نیاز مبـرم سـلول بـه انرژی، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژنی در میتوکندری اتفاق می‌افتـد که منجر به ایجاد جهـش وابسـته بـه آسـیب اکسایشـی مـی‌گـردد. همچنین جهش‌های ژنوم میتوکندری می‌توانند بر اجزاء زنجیره تنفس مانند سیتوکروم‌ها تأثیر سوء بگذارند و آن‌ها را از زنجیره تنفسی جـدا کند و در نتیجه باعث افزایش نشت الکتـرون و تولیـد مفـرط ROS شوند. این جهش‌ها در انواع مختلف سـرطان نیـز یافـت مـی‌شـوند. میتوکندری‌های پیر یا آسیب‌دیده سطوح بالای ROS تولید می‌کننـد اما معمـولاً از طریـق انهـدام میتوکنـدری از بـین مـی‌رونـد. انهـدام میتوکندری یک نمونه تخصصی از فرایند از بین بردن است کـه ایـن اندامک‌ها بطور گزینشی برای دفع با وساطت لیزوزوم مورد هدف قرار می‌گیرد. میتوکندری‌ها با رهایی مولکول‌های فعال کننـده مکانیسـم خودکشی سلولی به طور مستقیم و غیر مستقیم در این فرایند شرکت

1- Marker

2- Mitophagy

می‌کنند. به طور مثال برخی از انکوپروتئین‌ها مثل محصولات ژن‌های مهار کننده تومور، عوامل عفونت‌زایی و ویروسی و دارویی می‌توانند از طریق مستقیم بر روی میتوکندری مرگ سلولی را فعال نمایند (۳۹). آبشاز کاسپازی با رهایی سیتوکروم C از میتوکندری کامل می‌شود، مولکول‌های خانواده Bcl-2 این مرحله را کنترل می‌کنند. سایر اعضای این خانواده فعالیت Bak و Bax را القا می‌کنند و سبب القای نفوذپذیری غشای میتوکندریایی و انتشار سیتو کروم C می‌شوند.

جدول۲- هستی شناسی ژن‌های تنظیمی افزایش بیان یافته میتوکندری در شبکه برهمکنش پروتئینی

Table 2- Gene ontology of significant up regulated mitochondrial genes in the PPI network

GO ID شناسه هستی شناسی	GO Name شرح هستی شناسی	p-value سطح معنی داری
70126	mitochondrial translational termination	0
70125	mitochondrial translational elongation	0
70124	mitochondrial translational initiation	0
32543	mitochondrial translation	0
42776	mitochondrial ATP synthesis coupled proton transport	1.159006E-11
22904	respiratory electron transport chain	6.375143E-7
44237	cellular metabolic process	2.472852E-5
2	mitochondrial genome maintenance	5.276424E-5
6412	translation	1.13846E-3
30150	protein import into mitochondrial matrix	1.258119E-3
6754	ATP biosynthetic process	1.299596E-3
6626	protein targeting to mitochondrion	2.245551E-2
1836	release of cytochrome c from mitochondria	8.992552E-3
15992	proton transport	2.245551E-2
6091	energy generation of precursor metabolites and	3.208869E-2
15991	ATP hydrolysis coupled proton transport	4.009986E-2

در سلول‌های سالم، سیتوکروم C در فضاهای میان غشاء (کریستا) میتوکندری قرار دارد، جایی که به عنوان شاتل الکترونی در زنجیره تنفسی عمل می‌کند و با کاردیولیپین (CL) تعامل برقرار می‌نماید. چندین محرک مرگ سلولی، نفوذ پذیری غشاء خارجی را ایجاد می‌کنند، ارتباط فضاهای میان غشا را تسهیل می‌کنند و باعث انتشار و آزاد شدن سیتوکروم C از CL می‌شود. در سیتوزول، سیتوکروم C از طریق فعال شدن آلوستریک عامل ۱ آپوپتوز-پروتئاز فعال می‌شود که برای بلوغ پروتئولیتیک کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹ مورد نیاز است. سیتوکروم C بدون شک یکی از عوامل مهم در صحنه مرگ سلولی است. اگرچه معمولاً عملکرد اصلی آن روی زنجیره تنفسی است، اما زمانی که میتوکندری آسیب‌دیده است یا زمانی که دستورالعمل‌هایی برای شکستن غشای خارجی دریافت می‌کند، انتشار می‌یابد. هنگامی که از چارچوب معمول خود بیرون رانده می‌شود، به تخریب سلولی کمک می‌کند. نشان داده شده است در موش، به دلیل اختلال در ژن کدکننده سیتوکروم C منجر به مرگ جنینی می‌شود (۲۴).

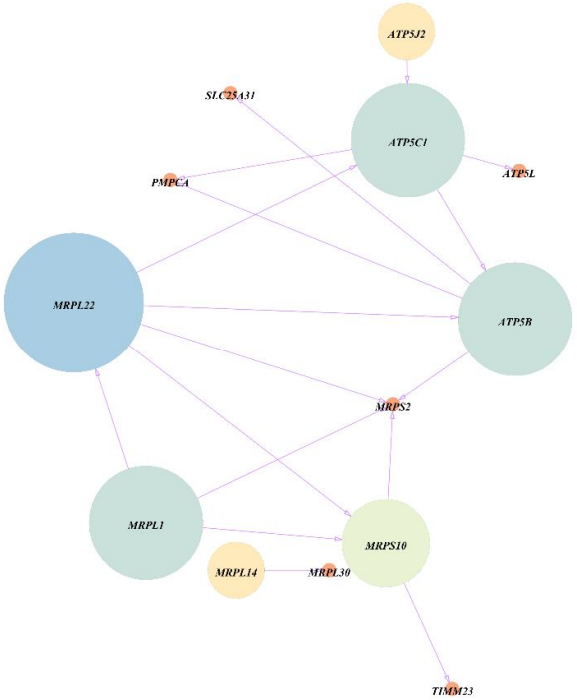
همانطور که در هستی‌شناسی مسیرهای ژنی در جدول ۲ نشان داده شده است، ژن‌های که در فرایند بلوغ اووسیت افزایش بیان یافتند در پروسه تولید ATP نیز نقش دارند. به دلیل عملکرد گسترده میتوکندری در تولید ATP از طریق فسفوریلاسیون اکسیداتیو، در طیف گسترده‌ای از عملکرد سلولی مانند اکسیداسیون اسیدهای چرب، بیوسنتز اسید آمینه، آپوپتوز، بقای سلول و انتقال سیگنال‌های سلولی نقش اساسی دارد. میتوکندری‌ها به طور یکنواخت در سیتوپلاسم پراکنده‌اند با وجود این در برخی حالات، در جاهایی نیازمند به انرژی فراوان مستقر می‌شوند. همچنین هرچه مصرف انرژی سلول بیشتر باشد، اندازه میتوکندری‌ها بزرگ‌تر و تعداد آن ها بیشتر خواهد بود و برعکس (۸). در واقع این دسته از ژن‌های افزایش بیان یافته در این مطالعه در سلول موجب افزایش بیان آنزیم‌های زنجیره‌ی تنفسی می‌شود که تولید ATP را افزایش می‌دهد. تولید ATP در میتوکندری توسط فرایندهای چرخه تری کربوکسیلیک اسید (TCA) در ماتریکس میتوکندری و زنجیره انتقال الکترون واقع در غشای داخلی صورت می گیرد. میتوکندری به واسطه چندین واکنش شیمیایی انرژی تولید می‌کند. در نتیجه‌ی این واکنش‌های شیمیایی الکترون در طول یک غشا منتقل می‌شود. زنجیره انتقال الکترون مجموعه‌ای از کمپلکس‌های پروتئینی است که در غشای درونی میتوکندری با هم ترکیب می‌شوند. این کمپلکس‌ها شامل کمپلکس I تنفسی (NADH دهیدروژناز)، کمپلکس II (سوکسینات دهیدروژناز)، کمپلکس III (کمپلکس سیتوکروم) و کمپلکس IV (سیتوکروم C اکسیداز) می‌باشند. این فرایند باعث ایجاد یک شیب الکتروشیمیایی می‌گردد که بخش الکتریکی یا شیب ناشی از پروتون بوسیله اختلاف بار در

غشای داخلی میتوکندری ($\Delta\psi m$) و یک بخش شیمیایی از اختلاف در غلظت یون‌ها در هر دو طرف غشا رخ مـی‌دهـد (ΔpHm). ایـن شیب الکتروشیمیایی منجر بـه تولیـد ATP از ADP و Pi در فراینـد بلوغ اووسیت، توسط آنزیم نهایی زنجیـره انتقـال الکتـرون، F1Fo-ATPسنتاز، و یا کمپلکس V می‌شود (۲۷).

با توجه به نتایج هستی‌شناسی مسیرهای ژنی مشـخص گردیـد، ژن‌هایی که افزایش بیان داشته‌انـد، در پروسـه تولیـد پـروتئین‌هـای (رونویسی، ترجمـه، انتقـال پـروتئین و ...) مهـم میتوکنـدری نقـش داشته‌اند. مشخص گردیده ژنوم میتوکندری یک DNA دو طرفه است که تقریبا ۱۶,۷ کیلو بایت است، DNA میتوکندری انسان حاوی هیچ منطقه بدون رمز نیست. ژنوم میتوکندری مسـتقل از چرخـه سـلولی تکرار مـی‌شـود. ایـن DNA آنـزیم‌هـایی را کـه در فسفوریلاسـیون اکسیداتیو دخیل هستند، کپی مـی‌کنـد. ژنـوم میتوکنـدری تنهـا ۱۳ پروتئین زیر واحد مسیر فسفوریلاسیون اکسیداتیو، ۲۲ RNA ناقـل و ۲ RNA ریبوزومی را کدگذاری می‌کند (۳۶). ۷۴ پلی پپتید دیگـر از کمپلکس فسفریلاسیون اکسیداتیو توسط ژنوم هسته‌ای رمز می‌گردند، از طرفی اگرچه میتوکندری دارای سیستم کامل ترجمه در مـاتریکس است، اما تنها حدود ۱ درصد از تمام پروتئین‌های میتوکندری توسـط ژنوم میتوکندری رمزگشایی می‌شوند. اکثر پـروتئین‌هـای ریبـوزومی میتوکندری پستانداران توسط ژن‌های هسته‌ای کدگذاری می‌شـوند و این‌ها به عنوان پروتئین پیش‌ساز در سیتوزول سنتز می‌شوند و به طور عمده توسط مکانیزم پس از ترجمه به میتوکندری انتقال می‌یابند و به ترجمه پروتئین در میتوکندری کمک می‌کنند (۱۰). با توجه به نقـش میتوکندری در تولید انرژی در فرآیند تکامل اووسیت منطقی به نظـر می‌رسد تا مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با سنتز پروتئین‌ها (آنزیم های زنجیره تنفسی) در این اندامک فعال باشد.

شبکه برهمکنش ژنی در مجموعه ژن‌هـایی کـه در اثـر فرآینـد تکامل اووسیت تحت تاثیر هورمون FSH کاهش بیان داشـته‌انـد در تصویر ۲ و آنالیز ژن‌های آن در جدول ۳ آورده شده است.

مهم‌ترین ژن در شبکه برهمکنش پروتئینی مربوط بـه ژن‌هـای کـاهش بیـان یافتـه، ژن MRPL22 مـی‌باشـد. ایـن ژن یکـی از پروتئین‌های ریبوزومی را کـد مـی‌کنـد. در واقـع میتوکنـدری دارای سیستم ترجمه برای تولید ۱۳ زیر واحد ضروری برای فسفوریلاسیون اکسیداتیو است. MRPL22 .یکی از بـیش از ۷۰ مولکـول پروتئینـی ریبوزوم‌های میتوکندری است که توسط ژنـوم هسـته‌ای کـدگـذاری می‌شوند (۱۸). نیکلاس و همکاران به ایـن نتیجـه رسـیدند کـه ژن MRPL22 تاثیر معنی‌داری در تخمک‌گذاری و تشکیل جنـین نـدارد (۲۶).



شکل ۲- شبکه برهمکنشی پروتئینی ژن‌های تنظیمی کاهش بیان یافته میتوکندری

Figure 2- PPI network of down regulated mitochondrial genes

جدول ۳- آنالیز شبکه برهمکنش پروتئین ژن‌های تنظیمی کاهش بیان یافته میتوکندری

Table 3- PPI network analysis of significant down regulated mitochondrial genes.

name نام ژن	EdgeCount مجموع کمان‌ها برای هر گره	Indegree کمان‌های ورودی	Outdegree کمان‌های خروجی	Stress
ATP5C1	5	2	3	9
ATP5B	5	2	3	8
MRPL22	5	1	4	6

همچنین گزارش شده است که این ژن در برخی بیماری‌ها مانند آلزایمر کاهش بیان داشته است و این کاهش بیان با افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژنی همراه است. کاهش بیان این ژن در نهایت به انهدام میتوکندری می‌انجامد (۲۳). ازآنجایی که عملکرد ناصحیح میتوکندری به عنوان اندامکی که در متابولیسم انرژی نقش بسیار مهمی دارد می‌تواند به شرایط پاتولوژیک منجر شود و بیماری‌های میتوکندریایی به طور موثر در اثر اختلالات در زنجیره حمل و نقل الکترون و عدم تعادل بین تقسیم و ازدیاد میتوکندری ناشی می‌گردند. همچنین استرس اکسیداتیو ناشی از تداوم جریان الکترون‌ها از NADH در چرخه تولید انرژی سبب افزایش تولید ROS و آسیب میتوکندری‌ها توسط ROS می‌باشد (۱). بنابراین ژن MRPL22 از طریق کاهش بیان خود باعث کاهش تولید پروتئین‌های ریبوزومی میتوکندری و به دنبال آن کاهش تولید ATP در میتوکندری، باعث برقراری تعادل در ایجاد انرژی در چرخه فسفوریلاسیون اکسیداتیو و کاهش آسیب به میتوکندری می‌گردد. از طرفی این ژن با کاهش بیان خود مانع از آسیب دیدن میتوکندری با کیفیت بالا می‌گردد.

در این پژوهش یکی از ژن‌های مهم در شبکه برهمکنش پروتیئنی بلوغ اووسیت در مجموعه ژن‌هایی که طی بلوغ اووسیت کاهش بیان یافته‌اند، ژن ATP5B است. ژن مزبور یک زیر واحد از ATP سنتتاز را رمزگذاری می‌کند. ATP سنتتاز متشکل از دو مجموعه چند واحدی شامل هسته کاتالیزوری، F1 و اجزای غشایی، F0 و کانال پروتون است. کانال پروتون شامل سه زیر واحد اصلی(a، b، c) می‌باشد. این ژن، زیر واحد بتا را در هسته کاتالیزوری رمز-گذاری می‌کند و در تشکیل ATP با کمک شارش پروتون در غشای داخلی میتوکندری در طول فسفوریلاسیون اکسیداتیو نقش دارد. ساختار و عملکرد ATP5B که جزء اصلی مرکز کاتالیزوری کمپلکس ATP سنتتاز است، نقش مهمی در تعادل در فرایند تولید ATP توسط اندامک میتوکندری ایفا می‌نماید (۳۱). با توجه به اهمیت زیاد میتوکندری در فرآیند بلوغ اووسیت و ضرورت تعادل فرآیندهای فسفوریلاسیون مرتبط با این اندامک، نتایج این مطالعه مبنی بر آن است که ژن ATP5B به عنوان ژن کلیدی در فرآیند مزبور با کاهش بیان خود باعث برقراری تعادل و تنظیم میزان ATP مربوط می‌شود و به عنوان یک نشانگر تعادلی در تنظیم میزان ATP معرفی می‌گردد.

ژن مهم دیگر در شبکه ژن‌های کاهشی بلوغ اووسیت ATP5C1 است. این ژن یک زیر واحد از ATP سنتتاز میتوکندری را رمزگذاری می‌کند. ATP سنتتاز میتوکندری، سنتز ATP را با استفاده از یک شیب الکتروشیمیایی پروتون در سراسر غشای داخلی در طول فسفوریلاسیون اکسیداتیو بر عهده دارد. بخش کاتالیستی ATP سنتتاز میتوکندری متشکل از ۵ زیر واحد (آلفا، بتا، گاما، دلتا و اپسیلون) می‌باشد. این ژن، زیر مجموعه گاما هسته کاتالیزوری را رمزگذاری می‌کند. تنظیم زیر واحد اپسیلون تحت نظارت زیر مجموعه گاما و احتمالاً با حضور ADP تعیین می‌شود. به نظر می‌رسد که گسترش زیر واحد اپسیلون در حضور ADP صورت پذیرد، در نتیجه به عنوان یک قفل ایمن برای جلوگیری از هیدرولیز و اتلاف ATP عمل می‌کند (۱۱). در مطالعه‌ای، فسفریلاسیون مسیر مهم و معنی-دار در سلول‌های کومولوس نشان داده شده است. در این مطالعه مشخص گردیده که ژن‌های ATP5C1 و ATP5B در سلول‌های کومولوس نسبت به وزیکول ژرمینال بیان بیشتری دارند (۳۳). با توجه به کاهش بیان ژن ATP5C1 در پروسه بلوغ اووسیت و نقش این ژن در ایجاد تعادل در عملکرد ATP سنتتاز می‌توان این ژن را به عنوان نشانگر کنترلی در این فرآیند پیشنهاد داد.

در جدول ۴ نتایج هستی شناسی شبکه برهمکنش ژن‌های کاهش بیان داشته میتوکندریایی نشان داده شده است. از مهم‌ترین مسیرهای بیولوژیکی که ژن‌های مربوط به این مسیرها کاهش بیان یافته‌اند، مسیرهای ژنوفاژی[3]، انهدام میتوکندری است. ژنوفاژی یک مکانیزم اتوفاژیک محافظت شده است که به طور خاص پاتوژن‌ها و دیگر نهادهای غیر میزبان را مورد هدف قرار می‌دهند. ژنوفاژی که به دنبال حمله و تخریب پاتوژن‌ها پس از حمله پاتوژن‌ها به سلول میزبان صورت می‌گیرد (۴۵ و ۱۵). پاتوژن‌ها می‌توانند از طریق فاگوسیتوز به سلول وارد شوند (۷). لیزوزوم‌ها منجر به تخریب کامل پاتوژن از طریق سیگنال‌های خارج سلولی می‌شوند (۲۱).

1- Xenophagy

جدول ٤- هستی شناسی ژن‌های تنظیمی کاهش بیان یافته میتوکندری در شبکه برهمکنش پروتئینی

Table 4- Gene ontology of significant down regulated mitochondrial genes in the PPI network

GO ID شناسه هستی شناسی	GO Name شرح هستی شناسی	p-value سطح معنی داری
42776	mitochondrial ATP synthesis coupled proton transport	9.821455E-10
32543	mitochondrial translation	3.395928E-9
70124	mitochondrial translational initiation	5.672348E-8
70125	mitochondrial translational elongation	6.031949E-8
70126	mitochondrial translational termination	7.056072E-8
6754	ATP biosynthetic process	1.178857E-5
98792	xenophagy	2.54895E-2
98779	mitophagy in response to mitochondrial depolarization	6.107588E-2
6996	organelle organization	1.173506E-5

در تخم‌های بارور شده، اندوسیتوز و اتوفاژی[۴] به شدت فعال می‌شوند. نشان داده شده است که در جنین‌های موش، تعداد و فعالیت لیزوزوم‌ها پس از بارور شدن به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد و مهار فعالیت لیزوزوم منجر به توقف رشد در جنین می‌شود. اتو فاگوزوم به طور مستقیم در اطراف ارگانیسم‌های حاصل از اسپرم تشکیل شده است، که باعث اتوفاژی انتخابی پاتوژن(ژنوفاژی) و اتوفاژی میتوکندری (انهدام میتوکندری) در سلول‌های سوماتیک است. در هر دو مسیر، سیگنال ubiquitination تشخیص داده شده است (۶). بنابراین، افزایش فعالیت لیزوزومی پس از لقاح، به عنوان یک فرآیند حفاظت شده و ضروری برای توسعه جنین است. این فرایند بعد از بلوغ اووسیت پس از لقاح صورت می‌گیرد، بدیهی است که این ژن‌ها در زمان بلوغ اووسیت کاهش بیان داشته‌اند، به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری کلی

از آن جایی که میتوکندری اندامک تأمین کننده انرژی سلول است که برای زنده ماندن و نمو ضروری است، بنابراین موقعیت مکانی و عملکرد آن روی کیفیت تخمک مؤثر است و به دنبال آن در فرایند لقاح و تکوین جنینی دخالت می‌کند. با توجه به اهمیت میتوکندری در تکوین تخمک و گزارش‌های محدود و متناقض که درگونه‌های مختلف پستانداران وجود دارد، در این مطالعه به شناسایی ژن‌ها و مسیرهای مهم میتوکندری در بلوغ اووسیت نیز پرداخته شد. در اندامک میتوکندری فرایندهای حذف و گسترش جهت بقای میتوکندری‌ها و ایجاد تعادل در بسیاری از پارامترهای حیاتی سلولی مانند تولید انرژی، وضعیت اکسیداسیون / احیا، تولید گونه اکسیژن فعال، کنترل سطح کلسیم سیتوپلاسم، شروع آپوپتوز از طریق فعال-سازی نفوذپذیری منافذی در میتوکندری، در جریان است. تغییر در این پارامترها می‌تواند منجر به اختلال در مسیرهای انتقال سیگنال سلولی، عوامل رونویسی و ساختار کروماتین شود که در نهایت باعث اختلال در نظم فعالیت‌های سلول‌ها می‌گردد. در زمان بلوغ اووسیت جایی که نیاز به فعالیت میتوکندری برای تولید ATP باشد، شبکه میتوکندری سعی در گسترش خود دارد، اما گاهی افزایش عملکرد میتوکندری‌ها باعث تولید اکسیژن واکنش‌پذیر گونه اکسیژن فعال می‌گردد که باید سم‌زدایی شوند، زیرا می‌توانند باعث آسیب اکسیداتیو به ژنوم میتوکندری گردند، در این زمان فرایند حذف فعال می‌شود.

در این مطالعه دو خانواده ژنی MRPS و MRPL به عنوان مهم‌ترین خانواده ژنی تأثیرگذار میتوکندری که در زمان بلوغ اووسیت در اثر تیمار با هورمون FSH افزایش بیان یافته‌اند مشخص شد. MRPS10 یکی از ژن‌های مهم در این شبکه نقش مهمی در ترجمه ژن‌های و انهدام میتوکندری ایفا می‌کند. انهدام میتوکندری ناشی از آسیب، موجب حذف میتوکندری آسیب‌دیده یا ناقص می‌شود. حضور و افزایش بیان ژن مزبور در مطالعه حاضر، می‌تواند دلیلی بر حیاتی بودن این ژن در تولید و ایجاد میتوکندری‌های سالم در اووسیت باشد. پروتئین ژن MRPS18A در ترجمه ژن‌های میتوکندری و اثر بر عملکرد این اندامک (تولید انرژی) دخیل است. اهمیت ATP در کیفیت مطلوب تخمک در بلوغ مشخص شده است. بنابراین در بلوغ اووسیت این ژن می‌تواند به عنوان نشانگر مهمی در رابطه با تولید انرژی باشد. ژن MRPL16 که در تأمین انرژی لازم جهت تشکیل و جداسازی میکروتوبول و ایجاد توزیع مناسبی از میتوکندری‌ها مهم می‌باشد. نتایج این مطالعه به همراه مطالعات گزارش شده بر نقش مهم ژن MRPL16 در بلوغ اووسیت از طریق اثر بر چگونگی توزیع این اندامک، اشاره دارد. ژن MRPL17 به دلیل نقش در ترجمه ژن-های میتوکندری می‌تواند به عنوان نشانگر مهمی در رابطه با تولید انرژی معرفی گردد.

در شبکه ژن‌های کاهش بیان یافته میتوکندری ژن MRPL22 از طریق کاهش بیان خود باعث کاهش تولید پروتئین‌های ریبوزومی

1- Autophagy

میتوکندری و به دنبال آن کاهش تولید ATP در میتوکندری، باعث برقراری تعادل در ایجاد انرژی در چرخه فسفوریلاسیون اکسیداتیو و کاهش آسیب به میتوکندری می‌گردد. از طرفی این ژن با کاهش بیان خود مانع از آسیب دیدن میتوکندری با کیفیت بالا می‌گردد. در واقع کاهش بیان این ژن با القای انهدام سلولی ممکن است برای حفظ کیفیت تخمک در مواجه با استرس‌های محیطی در هنگام بلوغ در شرایط آزمایشگاهی قابل توجیه باشد.کاهش بیان دو ژن ATP5B وATP5C1 با توجه به نقش کلیدی این ژن‌ها در ساختار ATP سنتتاز، در جهت تعادل در ساخت ATP در میتوکندری می باشد و به عنوان نشانگر تعادلی شناسایی شدند. در این مطالعه هر دو گروه از ژن‌ها از طریق افزایش و کاهش بیان خود، سعی در ایجاد تعادل در مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با فرایندهای انهدام سلولی، تولید پروتئین‌های ریبوزومی میتوکندری، تولید ATP دارند و می‌توانند به عنوان مسیرهای تنظیمی مهم برای رسیدن به کیفیت مطلوب اووسیت و تشخیص زمان تکمیل بلوغ در محیط آزمایشگاهی مطرح گردند. با شناسایی این ژن‌های مؤثر و مسیرهای مرتبط با آن‌ها و با بکارگیری روش‌های آزمایشگاهی، می‌توان فرایندهایی که مانع پیشرفت میوز در تخمک‌هایی که ژنوم آن‌ها آسیب دیده یا اینکه توسعه سیتوپلاسمی آن‌ها ناقص است، می‌شوند را کنترل نمود.

منابع

1- Alexeyev, M. F., N. Venediktova, V. Pastukh, I. Shokolenko, G. Bonilla, and G. L. Wilson. 2008. Selective elimination of mutant mitochondrial genomes as therapeutic strategy for the treatment of NARP and MILS syndromes. Gene Therapy, 15(7):516–523.

2- Bader, G. D., M. P. Cary, and C. Sander. 2006. Pathguide: a pathway resource list. Nucleic acids research, 34(2):504–506.

3- Bavister, B. D, and J. M. Squirrell. 2000. Mitochondrial distribution and function in oocytes and early embryos. Human Reporduction. 2:189-198.

4- Behdani, E, and M. R. Bakhtiarizadeh. 2017. Construction of an integrated gene regulatory network link to stress-related immune system in cattle. Genetica, 145(5):441-454.

5- Cantatore, p., Z. Flagella, F. Fracasso, A. M. S. Lezza, M. N. Gadaleta, and A. De Montalvo. 1987. Synthesis and turnover rates of four rat liver mitochondrial RNA species. FEBS Letters, 213(1):144-148.

6- Campoy, E, and M. I. Colombo. 2009. Autophagy in intracellular bacterial infection. Biochimica et Biophysica Acta, 1793(9):1465–1477.

7- Chargui, A. 2012. Subversion of autophagy in adherent invasive Escherichia coli-infected neutrophils induces inflammation and cell death. PLoS One, 7(12):1-10.

8- Chappel, S. 2013. The Role of Mitochondria from Mature Oocyte to Viable Blastocyst. Obstetrics and Gynecology International, 2013(10):1-10.

9- Chen, X., R. Prosser, S. Simonetti, J. Sadlock, G. Jagiello, and E. A. Schon. 1995. Rearranged mitochondrial genomes are present in human oocytes. The American Journal Human Genettics, 57(2):239–247.

10- Endo, T., H. Yamamoto, and M. Esaki. 2003. Functional cooperation and separation of translocators in protein import into mitochondria, the double-membrane bounded organelles. Journal of Cell Science. 116:3259–3267.

11- Feniouk, B. A, and W. Junge. 2005 .Regulation of the F0F1-ATP synthase: the conformation of subunit epsilon might be determined by directionality of subunit gamma rotation. FEBS Letters, 579(23):5114-5118.

12- Ferreira, E.M., A. A. Vireque, P. R. Adona, F. V. Meirelles, R. A. Ferriani, and P. A .Navarro. 2009. Cytoplasmic maturation of bovine oocytes: structural and biochemical modifications and acquisition of developmental competence. Theriogenology, 71(5):836-848.

13- Fleckenstein, B., M. D. Daniel, R. D. Hunt, R. D. Werner, L. A. Falk, and C. Mulder. 1978. Tumour induction with DNA of oncogenic primate herpesviruses. Nature. 274:57–59.

14- Ghanem, N., M. Holker, F. Rings, D. Jennen, E. Tholen, M. A. Sirard, H. Torner, W. Kanitz, K. Schellander, and D. Tesfaye. 2007. Alterations in transcript abundance of bovine oocytes recovered at growth and dominance phases of the first follicular wave. BMC Developmental Biologhy. 7:90.

15- Gomes, L. C, and I. Dikic. 2014. Autophagy in antimicrobial immunity. Molecular Cell, 54(2):224–233.

16- Israel, M. A., H. W. Chan, S. L. Hourihan, W. P. Rowe, and M. A. Martin. 1979. Biological activity of polyomavirus DNA in mice and hamsters. Journal Virologhy. 29:990–996.

17- Jansen, R. P, and K. de Boer .1998. The bottleneck: mitochondrial imperatives in oogenesis and ovarian follicular fate. Molecular and Cellular Endocrinologhy, 145(1):81-88.

18- Kenmochi, N., T. Suzuki, T. Uechi, M. Magoori, M. Kuniba, S. Higa, K. Watanabe, and T. Tanaka. 2001. The human mitochondrial ribosomal protein genes: mapping of 54 genes to the chromosomes and implications for human disorders. Genomics, 77(2):65-70.

19- Krisher, R. L. 2004. The effect of oocyte quality on development. Journal of Animal Science. 82:14-23.

20- Labrecque, R. M., C .Vigneault, P .Blondin, and M. A. Sirard. 2013. Gene Expression Analysis of Bovine Oocytes With High Developmental Competence Obtained From FSH-Stimulated Animals. Molecular Reproduction & Development, 80(6):428–440.
21- Lapaquette, P., P .Brest, P .Hofman, and A .Darfeuille-Michaud . 2012. Etiology of Crohn's disease: many roads lead to autophagy. Journal of Molecoular Medicine, 90(9):987–996.
22- Liu, J., L. Jing, and X. TU. 2016. Weighted gene co-expression network analysis identifies specific modules and hub genes related to coronary artery disease. BMC Cardiovasc Disord, 5(16):54.
23- Lu, S., J. Arthos, D. C. Montefiori, Y. Yasutomi, K. Manson, F. Mustafa, E. Johnson, J. C. Santoro, J. Wissink, J. I. Mullins, J. R. Haynes, N. L. Letvin, M. Wyand, and H. L. Robinson. 1996. Simian immune deficiency virus DNA vaccine trial in macaques. Virology journal, 70(6):3978–3991.
24- Luo, X., I. Budihardjo, H. Zou, C. Slaughter, and X. Wang .1998. Bid, a BCL2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors. Cell, 94(4):481-490.
25- Nagai, S., T. Mabuchi, S. Hirata, T. Shoda, T. Kasai, S. Yokota, H. Shitara, H. Yonekawa, and K. Hoshi. 2006. Correlation of abnormal mitochondrial distribution in mouse oocytes with reduced developmental competence. The Tohoku Journal Experimental Medicine, 210(2):137-144.
26- Nichols, J., B. Zevnik, K. Anastassiadis, H. Niwa, D. Klewe-Nebenius, I. Chambers, H. Schöler, and A. Smith. 1998. Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor Oct4. Cell, 95(3):379-391.
27- Nicholls, D. G., S. J. Ferguson, and S. Ferguson. 2003. Bioenergetics. Third Edition.
28- Nishi, Y., T. Takeshita, K. Sato, and T. Araki. 2003. Change of the mitochondrial distribution in mouse ooplasm during in vitro maturation. Journal of Nippon Medical School, 70(5):408-415.
29- Nivet, A. L., A. Bunel, R. Labrecque, J. Belanger, C. Vigneault, P. Blondin, and M. A. Sirard. 2012. FSH with drawal improves developmental competence of oocytes in the bovine model. Reproduction, 143(2):165-171.
30- Novak, I. 2012. Mitophagy: a complex mechanism of mitochondrial removal. Antioxidants & Redox Signaling, 17(5):794–802.
31- Ohta, S., H. Tomura, K. Matsuda, and Y. Kagawa. 1988. Gene structure of the human mitochondrial adenosine triphosphate synthase beta subunit. The Journal Of Biological Chemistry, 263(23):11257–11262.
32- Patel, O. V., A. Bettegowda, J. J. Ireland, P. M. Coussens, P. Lonergan, and G. W. Smith. 2007. Functional genomics studies of oocyte competence: Evidence that reduced transcript abundance for follistatin is associated with poor developmental competence of bovine oocytes. Reproduction, 133(1):95-106.
33- Peddinti, D., E. Memili, and S. C. Burgess. .2010. Proteomics-Based Systems Biology Modeling of Bovine Germinal Vesicle Stage Oocyte and Cumulus Cell Interaction . PLoS One, 5(6):1-13.
34- Riquelme Medina, I, and Z .Lubovac-Pilav .2016. Gene Co-Expression Network Analysis for Identifying Modules and Functionally Enriched Pathways in Type 1 Diabetes. PLoS One, 11(6):1-18.
35- Segal, E., N. Friedman, N. Kaminski, A. Regev, and D. Koller. 2005. From signatures to models: understanding cancer using microarrays. Nature Genetics, 37 (l):38-45.
36- Shuster, R. C., A. J. Rubenstein, and D. C. Wallace. 1988. Mitochondrial DNA in anucleate human blood cells. Biochemical and Biophysical Research Communications, 155(3):1360-1365.
37- Springer, M. Z, and K. F. Macleod .2016. Mitophagy: mechanisms and role in human disease. The Journal of Pathology, 240(3):253–255.
38- Stojkovic, M., S. A. Machado, P. Stojkovic, V. Zakhartchenko, P. Hutzler, P. B. Gonçalves, and E. Wolf. 2001. Mitochondrial distribution and adenosine triphosphate content of bovine oocytes before and after in vitro maturation: correlation with morphological criteria and developmental capacity after in vitro fertilization and culture. Biology of Reproduction, 64(3):904–909.
39- Susin, S. A., N. Zamzami, M. Castedo, T. Hirsch, P. Marchetti, A. Macho, E. Daugas, M. Geuskens, and G. Kroemer. 1996. BCL-2 inhibits the mitochondrial release of an apoptogenic protease. Journal. Experimental. Medicine, 184(4):1331-1341.
40- Uddin, R. K, and S. M Singh. 2013. Hippocampal gene expression meta-analysis identifies aging and age-associated spatial learning impairment (ASLI) genes and pathways. PLoS One, 8(7):1-15.
41- Van Blerkom, J .1991. Microtubule mediation of cytoplasmic and nuclear maturation during the early stages of resumed meiosis in cultured mouse oocytes. Proceedings National Academy of Sciences USA, 88(11):5031–5035.
42- Van Blerkom, J. 2004. "Mitochondria in human oogenesis and preimplantation embryogenesis: engines of metabolism, ionic regulation and developmental competence. Reproduction, 128(3):269–280.
43- Wallace, D. C. 2001. A mitochondrial paradigm for degenerative diseases and ageing. Novartis Foundation Symposia. 235:247-263.
44- Wilding, M., B. Dale, M. Marino, L. di Matteo, C. Alviggi, M. L. Pisaturo, L. Lombardi, and G. De Placido. 2001. Mitochondrial aggregation patterns and activity in human oocytes and preimplantation embryos. Human Reproduction, 16(5):909-917.

45- Yuk, J. M., T .Yoshimori, and E. K. Jo. 2012. Autophagy and bacterial infectious diseases. Experimental and Molecular Medicine, 44(2):99-108.
46- Zhang, X., X. Q. Wu, S. Lu, Y. L. Guo, and X. Ma. 2006. Deficit of mitochondria-derived ATP during oxidative stress impairs mouse MII oocyte spindles. Cell Research, 16(10):841–850.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 2, Summer 2020, p. 251-264

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۶۴-۲۵۱

Identification Of Mitochondrial Genes Affecting The Development Of Oocyte Under FSH Hormone By Using A Microarray Data In Cow

G. Farhadi[1], H. Roshanfekr[2]*, J. Fayazi[3], M. Nazari[4], E. Behdani[5]

Submitted: 19-07-2018
Accepted: 24-08-2019

Introduction Oocyte maturity includes nuclear and cytoplasmic maturity, both of which are important for embryo fertilization. Cytoplasmic maturation involves the redistribution of a range of organelles, including mitochondria. The nuclear and cytoplasmic mammalian oocytes maturation is a complex process nuclear maturation is demonstrated by extrusion of first polar body while there may be no indication for cytoplasmic maturation According to critical role of mitochondria for energy production in oocytes, it can be considered as an indicator of cytoplasmic maturation. Oocyte maturation requires more energy. Energy reaches its peak during ovulation. Changes in the mitochondrial distribution pattern can affect the ability of embryo development from oocytes. Since fetal mitochondrial replication is not performed until the blastocyst its stage, mature Oocytes (MII), fertilized Oocytes, Energy required for fertilization, embryonic development prior to implantation and early stages of fetal development depend on the storage of mitochondria in the time of ovulation. Therefore, the location and function of mitochondria can affect the quality of the Oocyte and consequently interfere with the process of embryo development. The topic of genetic networks explores the most important genes in a physiological process. The graph theory is used to construct and reconstruct the biology network. In biology networks, genes, proteins, or any other molecule that plays a role in a cell can be considered as a node and the relationship between these nodes is considered as an edge.

Materials and Methods In this study, GEO access codes for this data set GSE38345 were used to determine the effect of FSH on the expression of mitochondrial genes. In the past decade, with the ability to study genetic information of the genome in a wide range, micro arrays were a high-performance method for analyzing gene expression. The data are microarray and contain the gene expression information for cow's oocyte cells, whose maturity is influenced by the FSH hormone under laboratory conditions. After data implementation, the quality of the data was analyzed and if necessary, normalization was performed using the data conversion technique. Data analysis and comparison of gene expression in two cases before maturation (20 hours after oocyte treatment with FSH in laboratory conditions) and after maturation (96 hours after oocyte treatment with FSH in laboratory conditions) using From the GEO2R software link were done. After identifying the genes and examining the different genes expressed, two genotypes included Increased and decreased expression genes. The interaction of each gene group was studied using a string database based on co-expression data. Gene ontology was performed using the comparative GO database.

Results and Discussion In a comparison between oocyte gene expression data in the pre-maturation stage and the post-maturation stage after treatment with FSH, it was determined that 100 mitochondrial genes in maturation compared to pre-maturation stage increased expression and 94 genes of this organ has declined. Among them, the protein interaction network has been identified in a set of increased and decreased expression genes. Of the 100 genes that have been increased expression, 68 genes are coexpression based on string information. Among decreased expression genes, 53 genes from 64 genes were reported as coexpression. In the protein interaction network of the increased expression genes, the important genes of MRPS10, MRPS18A,

1 and 5- Ph.D.Graduate Student of Animal Breeding, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan
2-Professor, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan
3- Associate professor, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan
4-Assistant professor, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan
(*- Corresponding Author Email: roshanfekr_hd@cua.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i2.73776

MRPL16 and MRPL17, which played a role in the mitochondrial destruction and translation processes of mitochondrial genes, and in the network of decreased expression genes, MRPL22, ATP5B and ATP5C1 genes, which by reducing its expression, attempted to balance in the pathways associated with mitochondrial destruction and ATP production through its role in the ATP synthase structure.

Conclusion The results of this study reveal the most important genes affecting mitochondrial activity during oocyte maturation and control genes of this organ according to the network of protein interactions in the set of increased and decreased expression genes. In addition, the most important biological pathways in order to understand the mechanism of FSH effect on oocyte maturation through mitochondrial organ is investigated. Also, by comprehensive examining the gene expression network in the process of cytoplasmic oocyte maturation and showing the marker genes and different biochemical pathways, it is possible to understand the quality of oocyte during maturation, which can help improve IVM-IVF technique. Since effective mechanisms in cytoplasmic maturity are not yet fully understood, efforts to identify important regulators of mitochondria in oocyte maturation process will be effective in using fertility technology in animal production.

Key words: FSH, Microarray Data, Mitochondrial Genes, Oocyte Evolution.

Contents

Ruminant Nutrition

Influence of Ruminal Pistachio By-products Aqueous Extract infusion on Nitrogen Balance and Rumen Fermentation Parameters in Baluchi male Sheep **148**
H. Taghavi, A.A. Naserian, R. Valizadeh, A. Asoodeh and A.R. Haghparast

The Determination of Chemical Characteristics, Rumen Fermentation and Digestibility of Faba Bean (*Vicia faba* L.) Seeds, Pods and Seed Hulls by *In Vitro* Methods **166**
S. Badrzadeh Orange, J. Seifdavati, F. Mirzaei Aghjeh Qeshlagh, H. Abdi Benemar and R. Seyed Sharifi

Investigating Chemical Composition and Effects of Different Dietary Levels of Whole Carrot Tops on Ruminal Digestion and Fermentation Kinetics *in vitro* **178**
A. Azizi, M. Hashemi, A. Sharifi and A. Abarghani

Effect of dairy cow dietary cation source and DCAD on invitro rumen fermentation parameters **194**
Y. Feizdar barabady, S. E. ghiasi and M. Bagher montazer torbati

Poultry Nutrition

Effect of dietary energy and nutrients density on performance and egg quality in the 2nd production cycle in laying hens **208**
S. Bagheri,A. Golian, H. Nasiri Moghaddam and H. Zarghi

Effect of *Melilotus officinalis, Oliveria decumbens* Vent and *Aloe vera* L on production performance, biochemistry characteristics and meat microbial count in Japanese quail **221**
H. Habibi and N. Ghahtan

Genetic and Breeding

Comparison of some non-linear models for describing the growth curve in Makooei sheep **229**
M. Latifi and S. Alijani

Reconstruction of genes co-expression network related to the growth and development of fiber follicle in Cashmere goat fetus **239**
A. Barazandeh, M. Mokhtari, E. Behdani and Z. Roudbari

A Comparison of GBLUP and Bayesian Methods in Prediction of Genomic Breeding Values under Different Genetic Architectures **249**
R. Seyed Sharifi, F. Ala Noshahr, N. Hedayat evrigh and J. Seifdavati

Other

Identification Of Mitochondrial Genes Affecting The Development Of Oocyte Under FSH Hormone By Using A Microarray Data In Cow **263**
H. Roshanfekr, G. Farhadi, J. Fayazi, M. Nazari and E. Behdani

« Scientific Journal»

Iranian Journal of Animal Science Research

Vol. 12 **No. 2** **Summer 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 Resourses 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.Tahmoores pour	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