نشریه علمی
پژوهشهای علوم دامی ایران

جلد ۱۳ شماره ۴
سال ۱۴۰۰

(شماره پیاپی: ۴۸)

شاپا: ۲۰۰۸-۳۱۰۶

عنوان مقالات

تغذیه نشخوارکنندگان

تأثیر مقادیر مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید (*Phlomis cancellata Bunge*) بر تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی ۴۷۵

الیاس ابراهیمی خرم‌آبادی، محسن کاظمی، سمیه حیدری

تأثیر استفاده از پروبیوتیک پروتکسین در ماه آخر آبستنی بر ترکیب آغوز و ترکیبات شیر میش‌های لری بختیاری ۴۸۹

محمد درعلی بنی، فریبا رضائی سرشنیزی، سعید کریمی دهکردی، علی محرری، حسن مهربان

بررسی تأثیر استفاده از پودر هسته خرما در جیره بر عملکرد، قابلیت هضم، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای و خونی گوسفند عربی ۴۹۹

طاهره محمدآبادی، زینب غزی، صالح طباطبایی وکیلی

تأثیر افزودن سطوح مختلف گیاه کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides*) به جیره بر فعالیت هضمی-تخمیری باکتری‌ها و فارچ‌های بی‌هوازی شکمبه‌ی بره‌های پرواری عربی در شرایط برون‌تنی ۵۱۳

مرتضی چاجی، پروین علیمیرزایی

تغذیه طیور

نیاز ترئونین قابل‌هضم برغان تخم‌گذار های‌لاین W3 6 تغذیه شده با جیره گندم-سویا در دوره دوم تولید ۵۲۵

سید امیر حسینی نژاد، حیدر زرقی، ابوالقاسم گلیان

اثر جایگزینی سطوح مختلف بیوچار با مکمل معدنی جیره بر شاخص‌های عملکرد رشد، کیفیت گوشت و خاکستر استخوان جوجه‌های گوشتی ۵۳۷

مطهره کاشف، محسن افشارمنش، محمد سالارمعینی

تأثیر محدودیت کلسیم و فسفر جیره در دوره رشد بر عملکرد، صفات لاشه و فراسنجه‌های خون، استخوان و عادت‌پذیری جوجه‌های گوشتی در دوره پایانی ۵۵۱

هادی نوروزی، احمد حسن آبادی، ابوالقاسم گلیان

اثرات سطوح مختلف ترئونین و تعادل الکترولیتی جیره بر عملکرد رشد، بیوشیمی خون و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط دمای بالای محیطی ۵۶۹

حسینعلی قاسمی، ایمان حاج غدادادی، محمد حسین مرادی

ارزش غذایی تفاله انگور سفید (*Vitis vinifera L.*) و تاثیر سطوح مختلف آن بر عملکرد رشد و شاخص های خونی جوجه‌های گوشتی ۵۸۵

کریم قربانی، محمدرضا قربانی، احمد طاطار، حسن احمد وند

بررسی اثر عصاره مالت جو بر عملکرد، پاسخ‌های ایمنی و تغییرات هیستولوژیک ژژنوم مرغ‌های تخمگذار ۶۰۱

محمد صدقی، مجتبی دلوی، اصفهانی، میدامیرحسین مهدوی، اقبیه قاسمی

ژنتیک و اصلاح

بررسی اثر پرسیترون چند لایه در صحت انتخاب ژن های ریز RNA کرم ابریشم (*Bombyx mori*) ۶۱۵

عاطفه سیددخت، جواد رحمانی نیا

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 ۸۹/۴/۳۰از 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 ۱۳ شماره ۴ زمستان ۱۴۰۰

صاحب امتیاز و ناشر: 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

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

اسامی ارزیابان جلد ۱۳ شماره ٤ (زمستان ۱٤۰۰) نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران (به ترتیب الفبا)

دکتر محمدرضا اکبری	دانشگاه شهرکرد
دکتر زانا پیرخضرانیان	دانش آموخته دکتری دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر علی جوادمنش	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مرتضی چاجی	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
دکتر احمد حسن آبادی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر سید عبداله حسینی	مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
دکتر سید جواد حسینی واشان	دانشگاه بیرجند
دکتر عطیه رحیمی	دانش آموخته دکتری دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مجتبی زاهدی فر	مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
دکتر علی اصغر ساکی	دانشگاه بوعلی سینا همدان
دکتر سعید سبحانی راد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر حشمت سپهری	دانشگاه پیام نور مشهد
دکتر جمال سیف دواتی	دانشگاه محقق اردبیلی
دکتر محمد صدقی	دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر محسن کاظمی	مجتمع آموزش عالی تربت جام
دکتر طاهره محمدآبادی	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
دکتر سید ناصر موسوی	دانشگاه آزاد اسلامی- واحد ورامین- پیشوا
دکتر ذبیح اله نعمتی	دانشگاه تبریز
دکتر علی نوبخت	دانشگاه آزاد اسلامی- واحد مراغه
دکتر رضا ولی زاده	دانشگاه فردوسی مشهد

بسم الله الرحمن الرحیم

مندرجات

تغذیه نشخوارکنندگان **صفحه**

تأثیر مقادیر مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید (*Phlomis cancellata Bunge*) بر تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی ۴۷۵
الیاس ابراهیمی خرم‌آبادی، محسن کاظمی، سمیه حیدری

تأثیر استفاده از پروبیوتیک پروتکسین در ماه آخر آبستنی بر ترکیب آغوز و شیر میش‌های لری بختیاری ۴۸۹
محمد درعلی بنی، فریبا رضائی سرتشنیزی، سعید کریمی دهکردی، علی محرری، حسن مهربان

بررسی تأثیر استفاده از پودر هسته خرما در جیره بر عملکرد، قابلیت هضم، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای و خونی گوسفند عربی ۴۹۹
طاهره محمدآبادی، زینب غزی، صالح طباطبایی وکیلی

تأثیر افزودن سطوح مختلف گیاه کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides*) به جیره بر فعالیت هضمی-تخمیری باکتری‌ها و قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه‌ی بره‌های پرواری عربی در شرایط برون‌تنی ۵۱۳
مرتضی چاجی، پروین علیمیرزایی

تغذیه طیور

نیاز ترئونین قابل‌هضم مرغان تخم‌گذار های‌لاین W3 6 تغذیه شده با جیره گندم-سویا در دوره دوم تولید ۵۲۵
سید امیر حسینی نژاد، حیدر زرقی، ابوالقاسم گلیان

اثر جایگزینی سطوح مختلف بیوچار با مکمل معدنی جیره بر شاخص‌های عملکرد رشد، کیفیت گوشت و خاکستر استخوان جوجه‌های گوشتی ۵۳۷
مطهره کاشف، محسن افشارمنش، محمد سالارمعینی

تأثیر محدودیت کلسیم و فسفر جیره در دوره رشد بر عملکرد، صفات لاشه و فراسنجه‌های خون، استخوان و عادت‌پذیری جوجه‌های گوشتی در دوره پایانی ۵۵۱
هادی نوروزی، احمد حسن آبادی، ابوالقاسم گلیان

اثرات سطوح مختلف ترئونین و تعادل الکترولیتی جیره بر عملکرد رشد، بیوشیمی خون و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط دمای بالای محیطی ۵۶۹
حسینعلی قاسمی، ایمان حاج خدادادی، محمد حسین مرادی

ارزش غذایی تفاله انگور سفید (*Vitis vinifera L.*) و تاثیر سطوح مختلف آن بر عملکرد رشد و شاخص های خونی جوجه‌های گوشتی ۵۸۵
کریم قربانی، محمدرضا قربانی، احمد طاطار، حسن احمد وند

بررسی اثر عصاره مالت جو بر عملکرد، پاسخ‌های ایمنی و تغییرات هیستولوژیک ژژنوم مرغ‌های تخمگذار ۶۰۱
محمد صدقی، مجتبی دلوی اصفهانی ، سیدامیرحسین مهدوی و راضیه قاسمی

ژنتیک و اصلاح

بررسی اثر پرسپترون چند لایه در صحت انتخاب ژن های ریز RNA کرم ابریشم (*Bombyx mori*) ۶۱۵
عاطفه سیددخت ، جواد رحمانی نیا

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

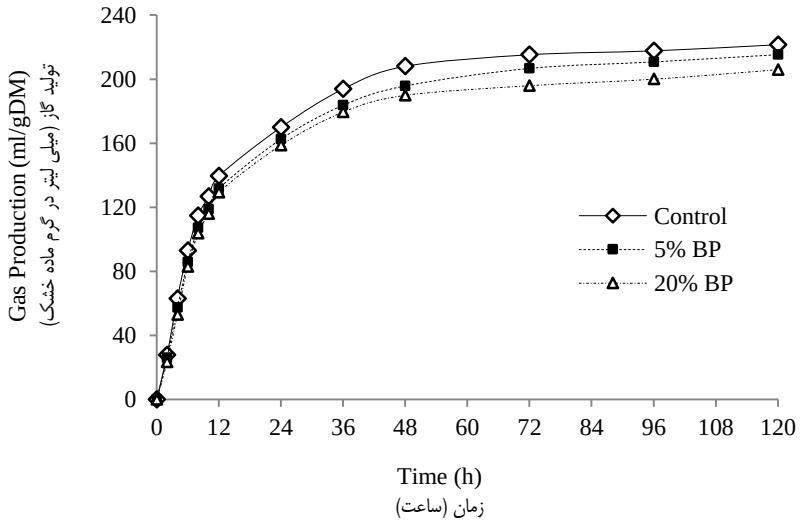
[3]Aspartate Aminotransferase

[4]Alanine Aminotransferase

[5]Low density lipoprotein

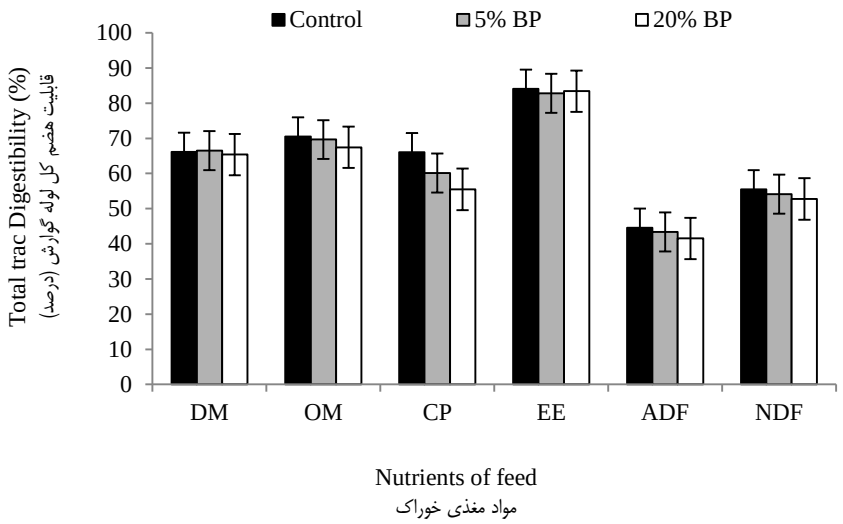
٦-۱-۲- شکل

- ✓ **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

- ✓ منابع بایستی بر اساس روش مورد استفاده Journal of Dairy Science تنظیم شود. اما توجه شود که نام نشریه و یا همایش علمی باید به صورت کامل نوشته شود و از نوشتن مخفف آنها جداً خودداری شود.
- ✓ نحوه نگارش منابع اتخاذ شده از نشریه های علمی، کتاب، همایش ها و یا درگاه الکترونیکی بایستی به صورت ذیل باشد.
- ✓ نام خانوادگی نویسنده اول، حرف اول اسم (اسامی) کوچک نویسنده اول، از نویسنده دوم به بعد حرف اول اسم (اسامی) کوچک و بعد نام خانوادگی. سال انتشار. عنوان. مشخصات ناشر. صفحه.
- ✓ به نقطه و ویرگولها در نوشتن منابع بسیار توجه شود.

به مثالها توجه نمایید:

۹-۱-۱- نشریه های علمی

1. Lane, M. A., R. L. Baldwin, and W. Jesse. 2011. Sheep rumen metabolic development in response to different dietary treatment. Journal of Dairy Science, 78(Supp1.1):310(Abstr).
2. Tyrrell, H. F., and P. W. Moe. 2008. Effect of intake on digestive efficiency. Journal of Dairy Science. 58:1151-1163.
3. Ansari-Renani, H., M. Salehi., Z. Ebadi, and S. Moradi. 2010. Identification of hair follicle characteristics and activity of one and two humped camels. Small Ruminant Research, 90(1):64-70.
4. Akbari, M, and H. R. Afshari. 2014. Mapping of transcription factor binding Region of kappa casein (CSN3) gene in Iranian Bacterianus and Dromedaries camels. Iranian Journal of Animal Science Research, 6(4):57-65. (In Persian).
5. Karimi, M. A., M. C. Esfahan., G. Hisseini, and M. Rezaei. 2012. Effect of glutamic acid on broiler given sub marginal crude protein with adequate essential amino acids using feeds high and low in potassium. Iranian Journal of Animal Science Research, 5(2):17-25. (In Persian).

۹-۱-۲- کتاب ها

6. AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
7. Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications). Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, DC.
8. Lengemann, F. W., R. A. Wentworth, and C. L. Comar. 1974. Physiological and biochemical aspects of the accumulation of contaminant radionuclides in milk. Pages 159–170 in Lactation: A Comprehensive Treatise. Nutrition and Biochemistry of Milk/Maintenance. Vol. 3. B. L. Larson and V. R. Smith, ed. Academic Press, London, UK.
9. National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

۹-۱-۳- همایش ها

10. Barbano, D. M. 1996. Mozzarella cheese yield: Factors to consider. Page 29 in Proc. Wisconsin Cheese Markers Meeting Center of Dairy Research, University of Wisconsin, Madison.
11. National Mastitis council. 1995. Summary of peer-reviewed publications on efficacy of premilking and postmilking teat 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. 13, No. 4, Winter 2022, p. 475-488

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۴۸۸-۴۷۵

مقاله پژوهشی

تأثیر مقادیر مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید (*Phlomis cancellata Bunge*) بر تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی

الیاس ابراهیمی خرم‌آبادی[1*]، محسن کاظمی[2]، سمیه حیدری[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۰۶

ابراهیمی خرم آبادی، ا.، م. کاظمی، و س. حیدری. ۱۴۰۰. تأثیر مقادیر مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید (*Phlomis cancellata Bunge*) بر تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۳(۴): ۴۸۸-۴۷۵.

چکیده

این آزمایش با هدف بررسی اثر مقادیر مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش‌بره سفید بر تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی انجام شد. جهت تهیه عصاره گیاه گوش‌بره سفید، یک میلی‌لیتر از عصاره تهیه‌شده از اندام‌های هوایی گیاه به محلول نیترات نقره ۴/۷۶ میلی‌مولار در pH= ۶/۸۴ اضافه گردید و به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۷۷ درجه سلسیوس مورد انکوباسیون قرار گرفت. اثرات افزایش نانو ذرات سنتز شده از گیاه گوش‌بره سفید (۰، ۱۲۵ و ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) بر خصوصیات تخمیری جیره گاوهای پرتولید با استفاده از روش تولید گاز در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. افزایش مقدار نانو ذرات نقره در تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر ظرفیت تولید گاز از بخش قابل تخمیر، نرخ تولید گاز و حجم گاز تجمعی تولیدی (میلی‌لیتر/میلی‌گرم ماده خشک) در ساعات مختلف انکوباسیون نداشت. در این آزمایش بین تیمارهای مختلف از نظر قابلیت‌هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی، مقدار ماده آلی هضم‌شده واقعی، انرژی قابل‌متابولیسم، اسیدهای چرب فرار، شاخص بخش‌پذیری، تولید توده میکروبی و بازده آن اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در تیمار یک (فاقد نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش‌بره سفید) همبستگی منفی و معنی‌دار بین هضم ماده خشک، قابلیت‌هضم ماده آلی با حجم گاز تجمعی تولیدی در ساعات ۱۲ و ۲۴ انکوباسیون و در تیمار دو (حاوی ۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش‌بره سفید) همبستگی منفی و معنی‌دار بین قابلیت‌هضم ماده آلی، شاخص بخش‌پذیری با حجم گاز تجمعی تولیدی در ساعات مختلف انکوباسیون ثبت گردید. مکمل کردن مقادیر افزایشی نانو ذرات نقره توانست فراسنجه‌های تولید گاز در خوراک پایه را تغییر دهد.

واژه‌های کلیدی: تولید گاز، خوراک، شکمبه، گوش‌بره، نانو ذرات نقره.

مقدمه

هضم میکروبی خوراک در شکمبه منجر به تولید اسیدهای چرب فرار، پروتئین میکروبی و گازها می‌گردد. اسیدهای چرب فرار و پروتئین میکروبی بخش عمده‌ای از احتیاجات انرژی و پروتئینی نشخوارکنندگان را تأمین می‌کنند. با این حال فرایند هضم الیاف در شکمبه به‌دلیل عواملی هم‌چون تأثیرگذاری لیگنین به‌عنوان یک سد فیزیکی در مقابل تجزیه میکروبی پلی‌سکاریدهای الیاف، کارآمد نیست (۷، ۳۳). گازهای حاصل از تخمیر شکمبه‌ای به‌عنوان مواد زائد به محیط دفع می‌شوند. بیشتر هیدروژن تولیدشده در شکمبه معمولاً برای تولید متان استفاده می‌شود تا فشار جزئی هیدروژن، در سطوح پایین، حفظ شود. تولید متان در شکمبه می‌تواند با کاهش تولید هیدروژن یا افزایش میزان مصرف هیدروژن، کاهش یابد. مهار مستقیم تولید هیدروژن باعث کاهش تخمیر شکمبه‌ای و ایجاد اختلال در هضم الیاف می‌شود (۲۰). بنابراین، افزایش مصرف هیدروژن از طریق افزایش واکنش‌های پذیرنده الکترون در شکمبه، راهبردی مناسب

جهت کاهش تولید متان بدون تأثیر بر هضم الیاف خواهد بود.

۱ و ۲- استادیار گروه علوم‌دامی، مجتمع آموزش عالی تربت‌جام، تربت‌جام، ایران.
۳- استادیار گروه شیمی، مجتمع آموزش عالی تربت‌جام، تربت‌جام، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Eliiass378@gmail.com)
Doi:10.22067/ijasr.2021.38202.0

درگذشته به‌منظور کنترل فرآیند هضم در شکمبه از روش‌های فیزیکی، شیمیایی، زیستی و زیست‌فناوری گوناگونی استفاده شده است که در عمل چندان اثرگذار نبوده‌اند (۴۵). هم‌چنین در سال‌های اخیر بررسی نقش عصاره‌های گیاهی و روغن‌های ضروری در کنترل فرآیند هضم در شکمبه نشان می‌دهد که برخی از عصاره‌های گیاهی، روغن‌های ضروری و متابولیت‌های ثانویه گیاهی در کاهش تولید متان و جمعیت پروتوزوآیی مؤثر هستند (۴۵).

فناوری نانو به‌عنوان یک راهکار نوین می‌تواند از طریق تولید نانو ذرات استفاده‌شده در خوراک‌های جدید یا افزودنی‌ها، شرایط هضم و جذب را در نشخوارکنندگان، بهبود بخشد. بررسی‌ها نشان می‌دهد، افزودن نانو ذرات روی به جیره گاوهای شیری مبتلا به ورم پستان تحت حاد، باعث کاهش میزان ابتلا و افزایش تولید در گله می‌شود (۴۲). محققان گزارش کردند افزودن نانو ذرات سلنیوم به جیره بزهای نر در حال رشد تأثیرات قابل‌توجهی بر ساختار و عملکرد بیضه، کیفیت مایع منی، کاهش نسبت استات به پروپیونات و بهبود عملکرد داشت (۴۹، ۵۰، ۵۳). هم‌چنین، تحقیقات جدید نشان می‌دهد نانو ذرات برخی از فلزات مانند اکسید مس، روی و آهن به‌دلیل حلالیت بالای نانو ذرات و غلظت بالای آن‌ها در محیط، توانایی تولید سریع گاز هیدروژن، تحریک کاهنده‌های سولفات، توانایی تولید یون‌های فلزی با بار مثبت مضاعف و افزایش تقاضا برای اکسیژن شیمیایی محلول (۴۵) برای جمعیت میکروبی شکمبه سمی بوده (۳۸) و مانع از تولید متان در شرایط بی‌هوازی می‌شوند (۱۷، ۵۵، ۵۷). نانو ذرات را می‌توان با استفاده از عصاره‌های گیاهی به شیوه‌ای مقرون‌به‌صرفه و سازگار با محیط زیست تولید کرد (۲۲، ۴۳، ۴۴، ۴۸). قابلیت ماندگاری بالای مولکول‌های زیستی در گیاهان می‌تواند باعث تثبیت نانو ذرات شود (۲۲). از این رو، گیاهان به‌علت فراوانی، عدم نیاز به شرایط و مواد غذایی خاص برای رشد و سازگاری با محیط، گزینه‌ای مناسب برای تولید نانو ذرات محسوب می‌شوند (۳۶).

گونه گوش‌بره سفید یا گوش‌بره ایرانی (*Phlomis cancellata* Bunge) گیاهی پایا و یکساله است و به‌وفور در مراتع استان‌های خراسان، گلستان و مازندران یافت می‌شود (۳۷)، که علی‌رغم ارزش دارویی بالا (۲) و داشتن خصوصیات ضد باکتریایی (۱۱) کمتر مورد توجه قرار گرفته است. جنس گوش‌بره (*Phlomis* sp.) متعلق به تیره نعناعیان بوده و دارای ۷۰ گونه گیاهی علفی چند ساله و معطر می‌باشد که تنها در نقاط محدودی از آسیا شامل ایران، افغانستان، ترکمنستان و عراق یافت می‌شود (۴). ارزیابی عصاره به‌دست آمده از پیکر رویشی گیاه گوش‌بره سفید نشان می‌دهد عصاره این گیاه غنی از ترکیبات ترپنی (ژرماکرن دی، مونو ترپن آلفا پینن، بتا کاریو فیلن، بایسیکلو ژرماکرن و بتا سلینن) است (۲، ۳۷). همچنین بررسی عصاره گونه‌های مختلف جنس گوش‌بره، *Phlomis nissolii* (۲۵)، *Phlomis ferruginea* (۱۳)، *Phlomis persica* و *Phlomis oliveri* (۲۴)، *Phlomis chorassanica* (۴۷) و *Phlomis pungens* (۳۱) نشان می‌دهد دو ماده ژرماکرن دی و بایسیکلو ژرماکرن از ترکیبات شاخص گونه‌های متنوع این گیاه می‌باشند.

فناوری نانو در حال توسعه و پیشرفت است و کاربرد هر چه بیشتر آن به‌صورت تخصصی و متنوع می‌تواند ظرفیت بالایی در جهت بهبود تولیدات دامی ایجاد نماید. از سوی دیگر استفاده از نانو ذرات در مطالعات تغذیه‌ای دام می‌تواند بازده رشد و تولیدات دامی را به‌نحو چشم‌گیری افزایش دهد (۴۵). با این حال، اطلاعات و مطالعات انجام‌شده در این زمینه بسیار محدود است (۱). از این رو، با توجه به امکان استفاده از نانو ذرات سنتز شده به روش زیستی در تغذیه دام و با نظر به کمبود اطلاعات در این زمینه تصمیم گرفته شد تا اثر مقادیر مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش‌بره سفید بر تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و تهیه عصاره گیاه گوش‌بره سفید

سنتز نانو ذرات نقره به روش زیستی از عصاره گیاه گوش‌بره سفید در آزمایشگاه مرکزی مجتمع آموزش عالی تربت‌جام انجام شد (۱۹). جهت تهیه عصاره گیاه گوش‌بره سفید، ابتدا اندام‌های هوایی گیاه گوش‌بره سفید (تهیه‌شده از مناطق اطراف شهر باخرز واقع در استان خراسان رضوی) با آب مقطر به خوبی شستشو داده شد. در ادامه و پس از کامل‌شدن فرآیند خشک‌شدن در دمای اتاق، برگ‌های خشک‌شده گیاه با قیچی و هاون به خوبی پودر شد. عصاره‌گیری به روش ماسراسیون و در قیف پرکولاسیون انجام شد. بدین‌منظور مقدار ۱ گرم پودر تهیه‌شده از گیاه گوش‌بره سفید با ۱۰۰ سی‌سی آب دیونیزه مخلوط گردید و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد بر روی دستگاه شیکر هم زده شد. پس از خنک‌شدن، نمونه توسط کاغذ صافی واتمن صاف و به‌منظور حذف کامل ذرات معلق به‌مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. عصاره به‌دست‌آمده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای استفاده‌های بعدی قرار داده شد (۱۹).

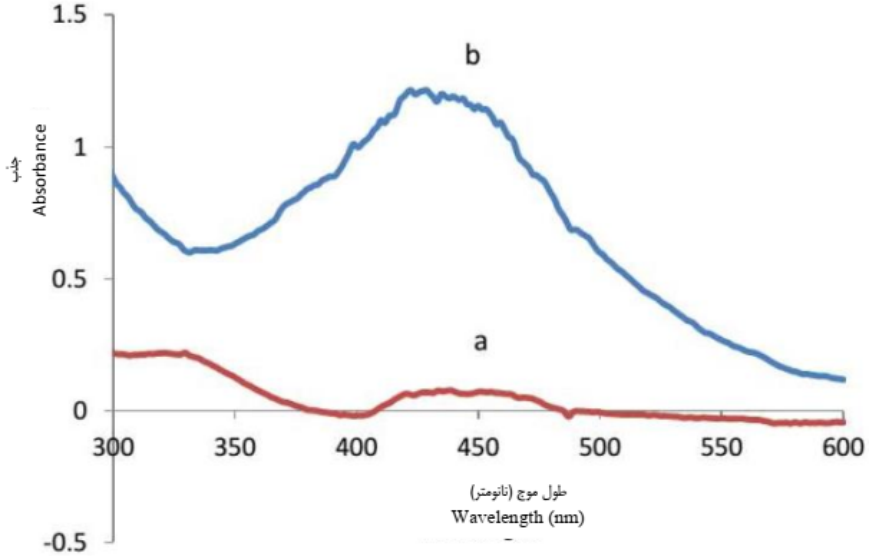
سنتز نانو ذرات به روش زیستی

در ادامه فرآیند سنتز نانو ذرات نقره، یک میلی‌لیتر از عصاره تهیه‌شده از گیاه گوش‌بره سفید به محلول نیترات نقره (Sigma–Aldrich Chemicals Germany) ۴/۷۶ میلی‌مولار در pH= ۶/۸۴ اضافه گردید و به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۷۷ درجه سانتی‌گراد مورد انکوباسیون قرار گرفت. تغییر رنگ محلول از زرد به قهوه‌ای پس از گذشت سه دقیقه از انکوباسیون نشان‌دهنده کاهش زیستی یون‌های Ag^{+} محلول به Ag^{0} بود که خود گواه تشکیل نانوذرات نقره می‌باشد.

به‌منظور تأیید تشکیل نانو ذرات نقره، از محلول موردنظر توسط اسپکتروفوتومتر فرابنفش-مرئی مدل Shimadzu UV-1800 مجهز به سل کوارتز ۱ سانتی‌متر طیف‌گیری شد. هم‌چنین توزیع شکل و اندازه نانوذرات نقره سنتز شده توسط تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری بررسی شد. به‌علاوه، به‌منظور درک بهتر نانو ذرات نقره سنتز شده از طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس نیز استفاده شد (۱۹).

مطالعه طیف اسپکتروفتومتری فرابنش-مرئی (UV-Vis):

شکل ۱ طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی نانوذرات نقره سنتز شده بدون اعمال شرایط بهینه را نشان می‌دهد که در طول موج ۴۲۸ نانومتر (رزونانس پلاسمون سطحی مربوط به نانو ذرات نقره) بیشترین میزان جذب را داراست (شکل ۱).

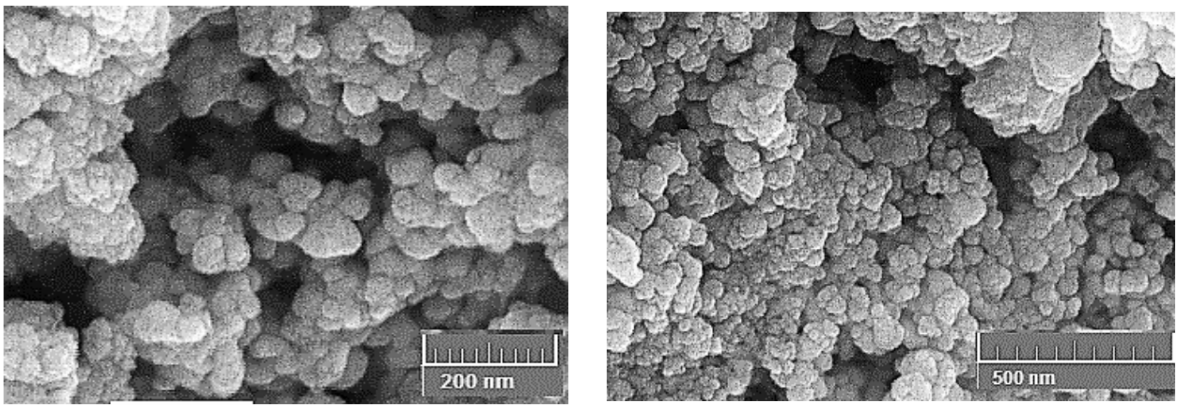


شکل ۱- طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش- مرئی نانوذرات نقره بدون اعمال شرایط بهینه.

Figure 1- UV-Vis absorption spectrum of Ag nanoparticles, (a) extract (b) extract with Ag.

بررسی تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (SEM):

توزیع شکل و اندازه نانو ذرات نقره سنتز شده تو سط ت صویر میکروسکوپ الکترونی عبوری بررسی شد. شکل ۲ تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانو ذرات نقره سنتز شده با اعمال تمامی شرایط بهینه‌شده را نشان می‌دهد. تصویر نشان می‌دهد که نانو ذرات به‌دست‌آمده همگی تقریباً کروی بوده و اندازه متوسط آنها بین۱۰و ۳۰ نانومتر است (شکل ۲).

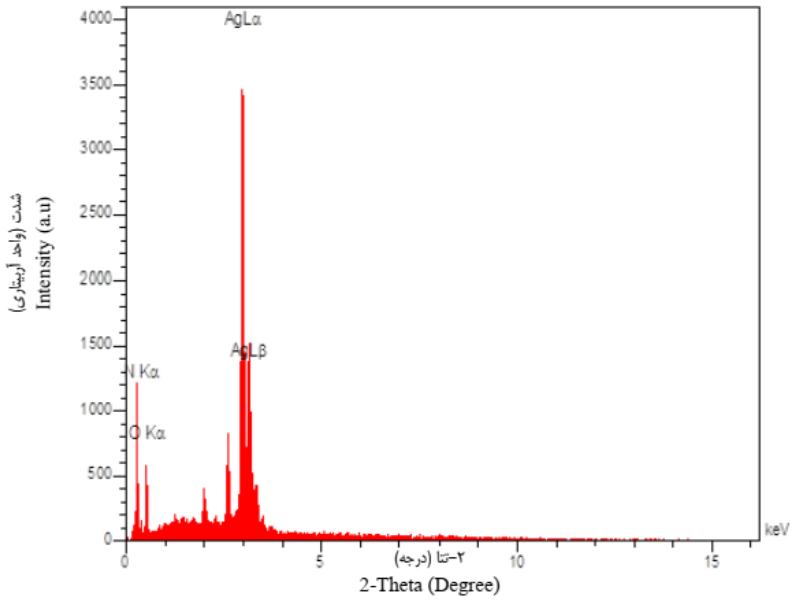


شکل ۲- تصویر نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید در میکروسکوپ الکترونی. (nm= نانومتر)

Figure 2- SEM micrograph for the biosynthesized AgNPs obtained by mediation of *Phlomis cancellata Bunge.* (nm= nano meter)

بررسی طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDX):

به‌منظور درک بهتر نانو ذرات نقره سنتز شده از طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس استفاده شد. شکل ۳ حضور نانو ذرات نقره را تأیید می‌کند.



شکل ۳- تصویر طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس نانو ذرات نقره.

Figure 3- EDX spectrum obtained for AgNPs.

آزمون برون‌تنی (*in vitro*) اندازه‌گیری فراسنجه‌های تولید گاز

به‌منظور تعیین اثر سطوح مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید بر خصوصیات تخمیری جیره گاوهای پر تولید، آزمون تولید گاز بر اساس روش منک و همکاران (۱۹۷۹)، انجام شد (۳۴). تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱- تیمار یک (جیره پایه فاقد نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید)، ۲- تیمار دو (جیره پایه به اضافه ۱۲۵ میکروگرم نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید در میلی‌لیتر)، ۳- تیمار سه (جیره پایه به اضافه ۲۵۰ میکروگرم نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید در میلی‌لیتر). جیره پایه بر اساس ماده خشک شامل: علوفه (۲۰ درصد سیلوی ذرت و ۲۰ درصد علوفه یونجه) و کنسانتره (۱۶/۵ درصد دانه ذرت، ۱۳/۵ درصد دانه جو، ۱۳/۵ درصد کنجاله سویا، ۷/۰۵ درصد کنجاله کلزا، ۳/۷۵ درصد پودر ماهی، ۱/۳۵ درصد پودر چربی، ۲/۴ درصد پیش مخلوط ویتامینی-معدنی، ۱/۱۱ درصد جوش‌شیرین، ۰/۳۶ درصد دی‌کلسیم‌فسفات، ۰/۲۴ درصد منیزیم، ۰/۱۵ درصد نمک و ۰/۰۹ درصد توکسین بایندر) به نسبت ۴۰ به ۶۰ بود. ترکیب شیمیایی جیره شامل ۱۸ درصد پروتئین‌خام، ۲/۷۶ مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک انرژی قابل‌متابولیسم، ۴۱/۱ درصد NFC، ۲۷/۷ درصد NDF، ۱۷/۷ درصد ADF، ۱۹/۲ درصد NDF علوفه‌ای و ۴/۳ درصد عصاره اتری بود.

مایع شکمبه از یک رأس گاو نر هلشتاین با کمک لوله پلاستیکی و پمپ خلاء، قبل از تغذیه صبح جمع‌آوری شد. محتویات شکمبه به‌وسیله چهار لایه پارچه متقال صاف گردید و سپس به درون بطری در داخل فلاسک عایق‌دار آب گرم (۳۹ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال یافت. جهت اطمینان از شرایط بی‌هوازی مایع شکمبه صاف شده گاز دی اکسید کربن به آن تزریق شد و قبل از استفاده جهت انکوباسیون در حمام آب گرم (۳۸/۶ درجه سلسیوس) نگهداری شد. بزاق مصنوعی مطابق روش منک و همکاران (۱۹۷۹) تهیه و با شیرابه شکمبه ۲:۱ (مایع شکمبه: بافر) مخلوط شد (۳۴). نمونه‌های خوراکی با آسیاب با غربال یک میلی‌متری آسیاب شد (۳۵). مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم جیره پایه، ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی و ۱۰ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه به بطری‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری (برای هر تیمار ۵ تکرار)، اضافه شد. سر بطری‌ها به کمک درپوش پلاستیکی و پوشش آلومینیومی به‌طور کامل بسته و در حمام آب گرم با دمای ۳۸/۶ درجه سلسیوس برای انکوباسیون قرار داده شد. به‌منظور تصحیح

گاز تولید شده ناشی از ذرات باقی‌مانده در مایع شکمبه سه تکرار که بلانک نامیده می‌شود در نظر گرفته شد. فشار گاز تولیدشده در زمان‌های ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون ثبت گردید و به کمک رابطه تئودور و همکاران (۱۹۹۴) حجم گاز تولیدشده محاسبه شد (۵۱). تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک معادله ارسکوف و مکدونالد (۱۹۷۹) ($P= b(1-e^{ct})$ و نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) انجام شد (۴۰). در این معادله فراسنجه b گاز تولیدی از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر)، c ثابت نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر در ساعت)، t زمان انکوباسیون (ساعت) و P مقدار گاز تولیدی (میلی‌لیتر) در زمان مورد نظر می‌باشد. بعد از پایان انکوباسیون، از محیط‌های تخمیر، نمونه‌های مایع شکمبه با هدف تعیین ماده آلی تجزیه‌شده واقعی و اسیدهای چرب فرار کل تهیه شد. ضریب تفکیک‌پذیری (نسبت میلی‌گرم ماده آلی تجزیه‌شده به میلی‌لیتر گاز تولیدی) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۵۲).

$$PF = c - (a-b)/ IVGP$$

در این رابطه، c ماده آلی وزن‌شده در هر بطری (میلی‌گرم)، *a* مقدار مواد تجزیه‌نشده در هر بطری (میلی‌گرم) و *b* مقدار خاکستر مواد تجزیه‌نشده در هر بطری (میلی‌گرم) و IVGP گاز تولیدی در ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون است. ماده آلی تجزیه‌شده واقعی نیز به کمک رابطه زیر محاسبه شد (۵۲).

$$OMDe (mg) = c - (a - b)$$

بعد از اندازه‌گیری حجم گاز تولیدی در طی ساعات نگهداری در حمام آب گرم، محتویات داخل بطری شیشه‌ها به داخل یک بشر انتقال داده شد و توسط محلول شوینده خنثی و حرارت به مدت یک ساعت در دستگاه مجهز به سردکننده شسته شد. سپس محتویات داخل محلول شوینده توسط کاغذ صافی بدون خاکستر تصفیه و باقیمانده توسط آون و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ ساعت خشک شد. با کسر نمودن وزن بوته خالی از بوته با محتویات بعد از آون، مقدار ماده تجزیه‌نشده در هر بطری (a) محاسبه شد. سپس بوته و محتویات داخل آن به کوره انتقال داده شد و در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد مقدار خاکستر آن (b) محاسبه شد. با کسر نمودن میزان b از a ماده آلی تجزیه‌نشده برحسب میلی‌گرم محاسبه شد (۵۲). مقادیر توده میکروبی تولیدی و بازده تولید توده میکروبی نیز با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۵۲).

$$MM (mg) = [c - (a - b)] - [NG (ml) \times 2.2]$$

در این رابطه، MM میلی‌گرم توده میکروبی تولیدشده، c ماده آلی وزن‌شده در هر بطری (میلی‌گرم)، *a* مقدار مواد تجزیه‌نشده در هر بطری (میلی‌گرم) و *b* مقدار خاکستر مواد تجزیه‌نشده در هر بطری (میلی‌گرم) و NG میلی‌لیتر گاز خالص تولیدی و ۲/۲ ضریب استوکیومتری است.

انرژی قابل‌متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) طبق روش منک و استینگس (۱۹۸۸) و قابلیت‌هضم ماده آلی (درصد) طبق روش منک و همکاران (۱۹۷۹)، محاسبه گردید (۳۴، ۳۵).

$$ME (MJ/Kg DM) = 2.2 + 0.136 GP + 0.057 CP + 0.0029 CP^2$$

$$IVOMD (\%) = 14.88 + 0.889 GP + 0.45 CP + 0.0651 XA$$

DM: ماده خشک، CP: درصد پروتئین‌خام، XA: درصد خاکستر، GP: میلی‌لیتر گاز تولیدشده از ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه خشک پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون است.

اسیدهای چرب کوتاه زنجیر با استفاده از معادله گتاچیو و همکاران (۲۰۰۰) تخمین زده شد (۱۵).

$$SCFA (mmol/200 mg DM) = 0.0222 GP-0.00425$$

در این رابطه GP، گاز خالص تولیدی پس از ۲۴ساعت (میلی‌مول/۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) است.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی، آنالیز واریانس شدند. نتایج حاصل از آزمایش با مدل GLM برنامه آماری SAS (نسخه ۹/۱)، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای ۵ درصد استفاده شد. مدل آماری طرح به شکل زیر بود:

$$Yij= \mu + Ti + \varepsilon ij$$

که Yijk= مشاهده مربوط به i امین تیمار در j امین تکرار، μ= اثر میانگین، Ti= اثر i امین تیمار، εij= اثر باقی‌مانده می‌باشد.

نتایج و بحث

تأثیر مقادیر مختلف نانو ذرات نقره بر تولید گاز و فراسنجه‌های آن

ظرفیت تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b) و نرخ تولید گاز (c) در شرایط افزودن مقادیر مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش‌بره سفید (۰: تیمار یک، ۱۲۵ میکروگرم: تیمار دو و ۲۵۰ میکروگرم: تیمار سه در میلی‌لیتر) به جیره حاوی ۴۰ درصد علوفه و ۶۰ درصد مواد متراکم طی ۹۶ ساعت انکوباسیون و همچنین حجم گاز تجمعی تولیدی (میلی‌لیتر/میلی‌گرم ماده خشک) در ساعات مختلف انکوباسیون (۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) در جدول ۱ و شکل ۴ آورده شده است. افزایش مقدار نانو ذرات نقره در تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر ظرفیت تولید گاز از بخش قابل تخمیر و نرخ تولید گاز نداشت (P>۰/۰۵). کمترین (۳/۰۸±۵۳/۷۳ میلی‌لیتر) و بیشترین (۲/۶۶±۵۵/۹۰ میلی‌لیتر) ظرفیت تولید گاز از بخش قابل تخمیر به‌ترتیب در تیمارهای ۲۵۰ میکروگرم نانو ذرات نقره و تیمار شاهد، مشاهده شد (جدول ۱). نرخ تولید گاز در تیمار حاوی ۲۵۰ میکروگرم نانو ذرات نقره کمترین (۰/۰۰۲۴±۰/۱۰۰۰ میلی‌لیتر در ساعت) و در تیمار شاهد بیشترین (۰/۰۰۹۲±۰/۱۰۲۹ میلی‌لیتر در ساعت) مقدار را از خود نشان داد (جدول ۱). حجم گاز تجمعی تولیدی

(میلی‌لیتر/میلی‌گرم ماده خشک) در ساعات مختلف انکوباسیون (۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) تحت تأثیر افزایش مقدار نانو ذرات نقره در تیمارهای آزمایشی، قرار نگرفت (P>۰/۰۵). در ساعات مختلف انکوباسیون، کمترین و بیشترین حجم گاز تجمعی تولیدی (میلی‌لیتر/میلی‌گرم ماده خشک) به‌ترتیب مربوط به تیمارهای حاوی۲۵۰ میکروگرم نانو ذرات نقره و تیمار شاهد، بود (جدول ۱).

جدول ۱- اثر افزودن مقادیر مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید بر تولید گاز و فراسنجه‌های تخمیر

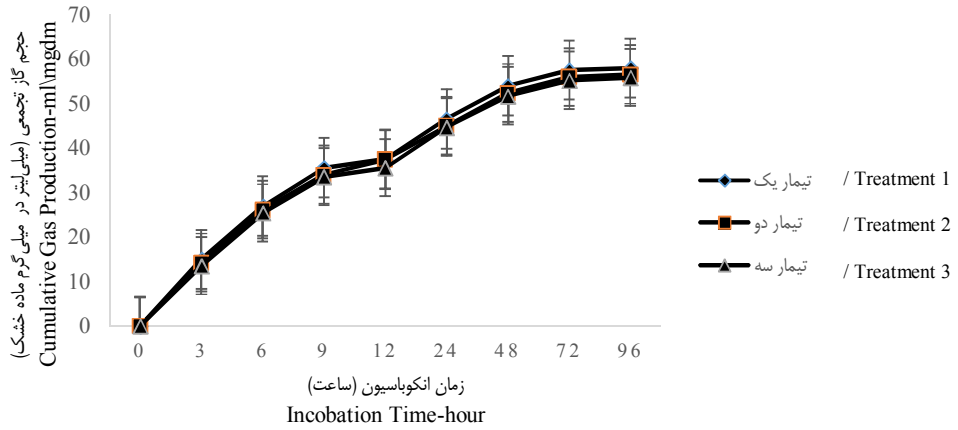
Table1- Effect of different levels of biosynthesized AgNPs obtained by mediation of *Phlomis cancellata Bunge* on gas production and fermentation parameters

متغیرها Parameters	تیمارهای آزمایشی [1] Experimental Treatments[1]			SEM[4]	P-value
	تیمار یک Treatment 1	تیمار دو Treatment 2	تیمار سه Treatment 3		
	فراسنجه‌های تخمیر Fermentation Parameters				
b (ml/200mgDM)[2]	55.90±2.66	54.23±0.82	53.73±3.08	1.2	0.43
c (ml/h)[3]	0.1029±0.0092	0.1012±0.0067	0.1000±0.0024	0.0033	0.82
	(میلی‌لیتر/میلی‌گرم ماده خشک) حجم گاز تجمعی Cumulative Gas Production (ml/200mg of DM)				
12	37.55±1.41	37.51±1.07	37.15±1.24	0.43	1.01
24	46.59±1.87	45.03±1.50	44.73±3.37	1.19	0.51
48	54.02±2.38	52.46±0.58	51.76±3.12	1.14	0.39
72	57.60±2.50	56.00±.0.94	55.28±2.83	1.20	0.40
96	58.02±3.06	56.59±1.07	55.91±2.78	1.23	0.48

[1] تیمار ۱: جیره پایه فاقد نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید، تیمار ۲: جیره پایه به اضافه ۱۲۵ میکروگرم نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید در میلی‌لیتر، تیمار ۳: جیره پایه به اضافه ۲۵۰ میکروگرم نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید در میلی‌لیتر؛ [2]b: ظرفیت تولید گاز از بخش قابل تخمیر؛ [3]c: نرخ تولید گاز؛ [4]SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

[1]Treatment 1: basal diet, Treatment 2: basal diet + 125µg/ml AgNPs, Treatment 3: basal diet + 250µg/ml AgNPs. [2]b: The gas production from the fermentable fraction ml/200mgDM; [3]c: Rate constant of gas production during incubation (ml/h); [4] SEM: Standard Error of Mean.

دی‌اکسیدکربن و متان بخش‌های عمده گاز تولیدشده در شکمبه را شامل می‌شوند (۱۰). کاهش جمعیت پروتوزوآیی شکمبه، تحریک تولید پروپیونات، کاهش تولید هیدروژن و مهار مستقیم باکتری‌های تولیدکننده گاز متان از جمله راهکارهایی است که می‌توان از طریق افزودنی‌های خوراکی میزان تولید گاز متان در شکمبه را کاهش داد (۸). نانو ذرات نقره دارای ویژه‌گی‌های متوقف‌کننده و از بین‌برنده باکتریایی می‌باشند. در مقیاس اتمی، نقره توانایی جذب اکسیژن را دارد و می‌تواند به‌عنوان یک کاتالیزور برای انجام واکنش اکسیداسیون، عمل کند. اکسیژن اتمی جذب‌شده در سطح نقره با گروه‌های تیول اطراف سطح باکتری‌ها و ویروس‌ها واکنش می‌دهد که این واکنش منجر به برداشت اتم‌های هیدروژن خواهد شد. تحت این شرایط باکتری توانایی تنفس را از دست می‌دهد. در نتیجه این اختلال که کانال تنفسی نام دارد، باکتری از بین می‌رود (۱۸). همچنین دارابودن ویژه‌گی‌های کاتالیزوری و وجود اکسیژن فعال در نقره باعث اکسید شدن مواد ژنتیکی باکتریایی و ویروسی می‌شود. هر چند که ساز و کار اتصال نانو ذرات نقره به DNA باکتریایی به‌طور کامل درک نشده است با این حال می‌توان گفت نانو ذرات نقره از طریق جلوگیری از باز شدن رشته DNA باکتریایی در خلال فرآیند همانندسازی DNA، مانع تکثیر باکتری‌ها می‌شود (۹، ۲۶، ۲۸ و ۵۴). با توجه به اینکه سنتز نانو ذرات نقره از عصاره گیاه گوش‌بره سفید برای اولین بار انجام می‌شود و تاکنون مطالعه‌ای با استفاده از نانو ذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاه گوش‌بره سفید بر شرایط تخمیری محیط شکمبه صورت نگرفته است، می‌توان به‌منظور توجیه و تفسیر بهتر نتایج به‌دست آمده در این آزمایش، از نتایج حاصل از تأثیر دیگر نانو ذرات فلزی بر شرایط تخمیری محیط شکمبه، استفاده کرد.



شکل ٤– اثر افزودن مقادیر مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش‌بره سفید بر روند تولید گاز

Figure 2- Effect of different levels of biosynthesized AgNPs obtained by mediation of *Phlomis cancellata Bunge* on cumulative gas production trend

تیمار ۱: جیره پایه فاقد نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید، تیمار ۲: جیره پایه به اضافه ۱۲۵ میکروگرم نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید در میلی‌لیتر، تیمار ۳: جیره پایه به اضافه ۲۵۰ میکروگرم نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گوش بره.

Treatment 1: basal diet, Treatment 2: basal diet + 125µg/ml AgNPs, Treatment 3: basal diet + 250µg/ml AgNPs.

به‌دلیل مشابهت شیمیایی نقره با فلزاتی همچون روی، کروم و کبالت، تأثیر نقره بر تنوع زیستی میکروبی مسیر هضمی و عملکرد آن‌ها و وضعیت فیزیولوژیکی میزبان (سطح ایمنی، فعالیت آنزیم‌های هاضم و ساختار روده‌ای) مشابه این فلزات خواهد بود (۱۲، ۲۳، ۲۷). مشابه نتایج به‌دست آمده در آزمایش حاضر، سارکر و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند افزایش غلظت نانو ذرات اکسید روی از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم در گرم تأثیر معنی‌داری بر مقدار کل گاز تولیدی پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون ندارد (۴۶). از سوی دیگر نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد حجم گاز تجمعی تولیدی (میلی‌لیتر/میلی‌گرم ماده خشک) در ۲۴ ساعت انکوباسیون، تحت تأثیر افزایش مقدار نانو ذرات اکسید آهن سنتز شده از عصاره گیاهان اکالیپتوس نیلی (*Eucalyptus globulus*)، گواوا (*Psidium guajava*)، نانو ذرات اکسید روی سنتز شده از عصاره گیاهان آلوئه‌ورا (*Aloe vera*) و نانو ذرات مس سنتز شده از عصاره گیاهان آلوئه‌ورا، آب بشقابی (*Centella asiatica*) و چریش (*Mangifera indica*) از صفر تا ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر قرار نگرفت (۴۵). از آنجائیکه شدت تأثیرگذاری نانو ذرات نقره بر جمعیت میکروبی محیط شکمبه وابسته به غلظت نانو ذرات، اندازه آن‌ها و بزرگی جمعیت میکروبی دارد (۳، ۴۵) و با توجه به اینکه هیچ یک از مقادیر نانو ذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاه گوش‌بره سفید استفاده شده در این آزمایش قادر به کاهش معنی‌دار حجم کل گاز تولیدی نبوده‌اند، لذا به‌نظر می‌رسد مقادیر نانو ذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاه گوش‌بره سفید استفاده شده در این آزمایش به‌منظور کاهش معنی‌دار مقدار گاز تجمعی تولیدی، کافی نبوده است. با این حال، درک بهتر نحوه تأثیر مقادیر نانو ذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاه گوش‌بره سفید بر وضعیت تولیدی حیوان نیازمند انجام مطالعات بیشتری است.

تأثیر مقادیر مختلف نانو ذرات نقره بر قابلیت‌هضم ظاهری و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه‌ای

نتایج مربوط به اثر افزودن مقادیر مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش‌بره سفید بر قابلیت‌هضم ظاهری ماده خشک و ماده آلی، مقدار ماده آلی هضم‌شده واقعی، انرژی قابل‌متابولیسم، اسیدهای چرب فرار، شاخص بخش‌پذیری، تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی در جدول ۲ گزارش شده است. در این آزمایش بین تیمارهای مختلف از نظر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی و مقدار ماده آلی هضم‌شده واقعی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). بین تیمارهای آزمایشی به‌لحاظ انرژی قابل‌متابولیسم، اسیدهای چرب فرار، شاخص بخش‌پذیری، تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۲- اثر افزودن مقادیر مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید بر قابلیت‌هضم ماده خشک و ماده آلی، مقدار ماده آلی تجزیه‌شده واقعی، انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر، شاخص بخش‌پذیری، تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی

Table 2- Effect of different levels of biosynthesized AgNPs obtained by mediation of *Phlomis cancellata Bunge* on dry and organic matter digestibility, metabolisable energy, short chain fatty acids, partitioning factor, microbial biomass production and microbial biomass production efficiency

متغیرها Parameters	تیمارهای آزمایشی [1] Experimental Treatments			SEM[10]	P-value
	تیمار یک Treatment 1	تیمار دو Treatment 2	تیمار سه Treatment 3		
IVDMD[2]	72.55	72.10	67.03	1.96	0.12
IVOMD[3]	77.18	73.98	72.92	1.31	0.07
TIVOMD[4]	143.30	135.40	133.60	3.50	0.13
ME[5]	10.50	10.28	10.24	0.16	0.51
SCFA[6]	0.98	0.95	0.94	0.02	0.51
PF[7]	2.57	2.39	2.29	0.07	0.11
MB[8]	116.85	108.80	104.52	3.84	0.11
MBE[9]	81.50	80.34	78.56	1.76	0.51

[1] تیمار ۱: جیره پایه فاقد نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید، تیمار ۲: جیره پایه به اضافه ۱۲۵ میکروگرم نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید در میلی‌لیتر، تیمار ۳: جیره پایه به اضافه ۲۵۰ میکروگرم نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید در میلی‌لیتر؛ [2] IVDMD: قابلیت‌هضم ماده خشک (درصد)؛ [3] IVOMD: قابلیت‌هضم ماده آلی (درصد)؛ [4] TIVOMD: مقدار ماده آلی هضم‌شده واقعی (میلی‌گرم/گرم ماده خشک)، [5] ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول/کیلوگرم ماده خشک)، [6] SCFA: اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر (میلی‌مول/میلی‌گرم ماده خشک)، [7] PF: شاخص بخش‌پذیری (میلی‌گرم/میلی‌لیتر)، [8] MB: تولید توده میکروبی (میلی‌گرم/گرم ماده خشک)، [9] MBE: بازده تولید توده میکروبی (میلی‌گرم/میلی‌گرم)، [10] SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

[1]Treatment 1: basal diet, Treatment 2: basal diet + 125µg/ml AgNPs, Treatment 3: basal diet + 250µg/ml AgNPs. [2]IVDMD: *in vitro* dry matter digestibility (%). [3]IVOMD: *in vitro* organic matter digestibility (%).[4]TIVOMD: true *in vitro* organic matter digestibility (mg/gDM). [5]ME: metabolizable energy (MJ/KgDM). [6]SCFA: short chain fatty acids (mM/mgDM). [7]PF: portioning factor (mg/ml). [8]MB: microbial biomass (mg/gDM). [9]MBE: microbial biomass efficiency (mg/mg). [10] SEM: Standard Error of Mean.

نظر به اینکه هیچ‌گونه گزارشی راجع به اثر نانو ذرات نقره بر جمعیت میکروبی شکمبه و فراسنجه‌های تخمیری وجود ندارد و با توجه به شباهت شمیایی نقره با دیگر فلزات (۱۲، ۲۷)، نتایج به‌دست آمده در این آزمایش، با نتایج حاصل از تأثیر دیگر نانو ذرات فلزی بر شرایط تخمیری محیط شکمبه، مقایسه می‌شود. سای رام کومار (۲۰۱۷) گزارش کرد که نانو ذرات آهن فاقد الکترون ظرفیت سنتز شده از عصاره گیاهان چریش، انبه (*Mangifera indica*) و میخک صد پر (Syzygium aromaticum)، نانو ذرات اکسید آهن سنتز شده از عصاره گیاهان اکالیپتوس آبی و گواوا و همچنین نانو ذرات اکسید مس سنتز شده از عصاره گیاهان آلوئه‌ورا، آب بشقابی و چریش، تأثیر معنی‌داری بر قابلیت‌هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی و و مقدار ماده آلی هضم‌شده واقعی ندارند (۱۴، ۱۷، ۲۹، ۴۵). سارکر و همکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش کردند که افزایش نانو ذرات اکسید روی در تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر قابلیت‌هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی و و مقدار ماده آلی هضم‌شده واقعی نداشته است (۴۶). با این حال، عدم تأثیرگذاری معنی‌دار نانو ذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاه گوش‌بره سفید بر قابلیت‌هضم ممکن است ناشی از عواملی هم‌چون غلظت، ظرفیت سطح، اندازه و دیگر خصوصیات نانو ذرات نقره باشد که بر نتایج آزمایش حاضر اثرگذار بوده است. زیرا نانو ذارت به‌منظور اثرگذاری بر تخمیر شکمبه‌ای باید در محیط شکمبه پخش شوند و با میکروارگانیسم‌های شکمبه تماس برقرار نمایند (۴۱، ۴۵).

مطابق نتایج آزمایش حاضر، عبدالخلیل و البردنی (۲۰۱۸) گزارش کردند، که مکمل‌کردن تیمارهای آزمایشی با مقادیر افزایشی نانو ذرات کبالت تأثیر معنی‌داری بر انرژی قابل‌متابولیسم (مگاکالری بر گرم) ندارد (۱). هم‌چنین مشابه نتایج آزمایش حاضر، سای رام کومار (۲۰۱۷)، عنوان کرد که نانو ذرات آهن فاقد الکترون ظرفیت سنتز شده از عصاره گیاهان چریش، انبه و میخک صد پر، نانو ذرات اکسید آهن سنتز شده از عصاره گیاهان اکالیپتوس آبی و گواوا و همچنین نانو ذرات اکسید مس سنتز شده از عصاره گیاهان آلوئه‌ورا، آب بشقابی و چریش تأثیر معنی‌داری بر غلظت اسیدهای چرب فرار نداشتند (۴۵). حجم گاز تولیدی نشان‌دهنده تخمیر مواد خوراکی به اسیدهای چرب فرار است، در نتیجه مقدار گاز تولیدی در تیمارهای آزمایشی، ارتباط مستقیمی با اسیدهای چرب فرار دارد (۶). یون و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که با توجه به حساس‌تر بودن ساختار غشای خارجی باکتری‌های گرم مثبت به نانو ذرات نقره، این ترکیبات می‌توانند بر باکتری‌های گرم مثبت در محیط به صورت انتخابی، تأثیرگذار باشند (۵۶). مهار باکتری‌های گرم مثبت در محیط شکمبه، تولید هیدروژن، متان و نسبت مولی استات به پروپیونات را کاهش می‌دهد (۵، ۱۶، ۲۱، ۳۲).

مطابق جدول ۲، شاخص بخش‌پذیری، تولید توده میکروبی بازده آن تحت تأثیر مقادیر افزایش نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش‌بره سفید در تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. شاخص بخش‌پذیری بیانگر این واقعیت است که چه مقدار از ماده آلی

هضم شده در شکمبه، به سمت تولید اسیدهای چرب فرار یا تولید توده میکروبی رفته است. شاخص بخش‌پذیری بالاتر نشان‌دهنده این موضوع است که مواد هضم‌شده به جای تولید گاز به سمت تولید توده میکروبی هدایت شده و بازده تولید توده میکروبی آن بهبود یافته است (۶). در آزمایش حاضر روند تغییرات توده میکروبی تولید شده، همسو با مقادیر شاخص بخش‌پذیری بود. یعنی کاهش تولید توده میکروبی با شاخص بخش‌پذیری کمتر هماهنگ بود (۳۰). از سوی دیگر نرخ تخمیر سوبسترا، همبستگی بالایی با نرخ رشد میکروارگانیسم‌ها دارد، به‌گونه‌ای که تخمیر سریع سوبسترا باعث تولید توده میکروبی بیشتری می‌شود (۳۹). سارکر و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که همزمان با افزایش نانو ذرات روی از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ (میکروگرم در گرم) در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد، شمار توده‌های میکروبی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (۴۶). سارکر و همکاران (۲۰۱۸)، در تفسیر این نتایج، اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات روی را به عنوان مسئول بروز این پدیده، ذکر کردند (۴۶). از این رو، تولید توده میکروبی کمتر در تیمارهای آزمایشی حاوی نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش‌بره سفید نشان‌دهنده محدودشدن فعالیت میکروبی به‌علت وجود اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نقره، کاهش دسترسی به کربوهیدارت‌های سهل‌الهضم (به‌عنوان انرژی قابل‌متابولیسم قابل تخمیر) می‌باشد.

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین قابلیت‌هضم ماده خشک، قابلیت‌هضم ماده آلی، شاخص بخش‌پذیری و حجم گاز تولیدی در ساعات مختلف انکوباسیون در شرایط برون‌تنی

Table 3- Pearson correlation coefficients of dry matter digestibility, organic matter digestibility and partitioning factor with cumulative gas production during different hours of *in vitro* incubation.

متغیرها Parameters	زمان‌های انکوباسیون Incubation Times				
	12	24	48	72	96
			تیمار یک[1] Treatment 1		
IVDMD[2]	-0.932*	-0.946**	-0.239	0.140	0.293
IVOMD[3]	-0.946**	-0.979**	-0.366	-0.168	-0.009
PF[4]	-0.857	-0.876	-0.603	-0.257	-0.500
			تیمار دو Treatment 2		
IVDMD	-0.622	-0.620	-0.521	-0.507	-0.619
IVOMD	-0.927*	-0.924*	-0.894*	-0.881*	-0.925*
PF	-0.994**	-0.995**	-0.983**	-0.978**	-0.996**
			تیمار سه Treatment 3		
IVDMD	0.326	0.540	0.343	0.427	0.625
IVOMD	0.211	0.516	0.334	0.256	0.027
PF	-0.402	-0.519	-0.296	-0.384	-0.588

* P < ۰/۰۵ و ** P<۰/۰۱

[۱] تیمار ۱: جیره پایه فاقد نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید، تیمار ۲: جیره پایه به اضافه ۱۲۵ میکروگرم نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید در میلی‌لیتر، تیمار ۳: جیره پایه به اضافه ۲۵۰ میکروگرم نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی از عصاره گیاه گوش بره سفید در میلی‌لیتر؛ [۲] IVDMD: قابلیت‌هضم ماده خشک (درصد)؛ [۳] IVOMD: قابلیت‌هضم ماده آلی (درصد)؛ [۴] PF: شاخص بخش‌پذیری (میلی‌گرم/میلی‌لیتر).

* P<0.05; ** P<0.01

[1]Treatment 1: basal diet, Treatment 2: basal diet + 125µg/ml AgNPs, Treatment 3: basal diet + 250µg/ml AgNPs. [2]IVDMD: *in vitro* dry matter digestibility (%); [3]IVOMD: *in vitro* organic matter digestibility (%); [4]PF: portioning factor (mg/ml).

تبیین ضرایب همبستگی بین قابلیت‌هضم ماده خشک، قابلیت‌هضم ماده آلی، شاخص بخش‌پذیری و حجم گاز تجمعی تولیدی در ساعات مختلف انکوباسیون

ضرایب همبستگی بین قابلیت‌هضم ماده خشک، قابلیت‌هضم ماده آلی، شاخص بخش‌پذیری و حجم گاز تجمعی تولیدی در ساعات مختلف انکوباسیون در شرایط برون‌تنی در جدول ۳ نشان داده شده است. در تیمار یک همبستگی منفی و معنی‌دار بین قابلیت‌هضم ماده خشک، قابلیت‌هضم ماده آلی و حجم گاز تجمعی تولیدی در ساعات ۱۲ و ۲۴ مشاهده شد (P<۰/۰۵). هیچ‌گونه همبستگی معنی‌دار بین شاخص بخش‌پذیری و حجم گاز تجمعی تولیدی در ساعات مختلف انکوباسیون مربوط به تیمار یک وجود نداشت. در تیمار دو همبستگی منفی و معنی‌دار بین قابلیت‌هضم ماده آلی، شاخص بخش‌پذیری و حجم گاز تجمعی تولیدی در ساعات مختلف انکوباسیون (۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶) ثبت گردید (P<۰/۰۵). قابلیت‌هضم ماده خشک، قابلیت‌هضم ماده آلی و شاخص بخش‌پذیری همبستگی معنی‌داری با حجم گاز

تجمعی تولیدی در ساعات مختلف انکوباسیون در شرایط برون‌تنی در تیمار سه نداشتند.

بلومل و ارسکوف (۱۹۹۳) گزارش کردند که همبستگی بالایی بین تولید گاز، قابلیت‌هضم ماده خشک و قابلیت‌هضم ماده آلی وجود دارد (۶). وجود اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نقره در تیمارهای آزمایشی حاوی نانو ذرات نقره سنتز شده باعث تولید توده میکروبی کمتر، محدودشدن فعالیت میکروبی، کاهش دسترسی به کربوهیدارت‌های سهل‌الهضم (به عنوان انرژی قابل‌متابولیسم قابل تخمیر) و در نهایت کاهش شاخص بخش‌پذیری می‌گردد. از این رو می‌توان گفت وجود همبستگی منفی و معنی‌دار بین قابلیت‌هضم ماده آلی، شاخص بخش‌پذیری و حجم گاز تجمعی تولیدی در ساعات مختلف انکوباسیون (۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶) در تیمار دو بیان‌کننده این واقعیت است که قابلیت‌هضم ماده آلی و شاخص بخش‌پذیری همزمان با افزایش مقدار حجم گاز تجمعی تولیدی پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون به‌دلیل وجود اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نقره کاهش یافته است.

نتیجه‌گیری کلی

از نتایج به‌دست آمده از آزمایش حاضر اینچنین استنباط می‌شود که مکمل‌کردن مقادیر افزایشی نانو ذرات نقره توانست فراسنجه‌های تولید گاز در خوراک پایه را تغییر دهد. بدیهی است طراحی آزمایشات میکروبی دیگر با مقادیر متنوع‌تری از نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی به‌منظور دستیابی به درک بهتری از نحوه عملکرد این نانو ذرات در محیط شکمبه ضروری است. همچنین پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری در رابطه با تأثیر نانو ذرات نقره بر عملکرد نشخوارکنندگان (گاو و گوسفند) در سیستم‌های پرورشی مختلف (پرواری و شیری) با توجه به جنس دام و مرحله تولیدی در شرایط درون‌تنی صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از نتایج طرح تحقیقاتی اجرا شده از محل اعتبارات معاونت پژوهشی مجتمع آموزش عالی تربت‌جام می‌باشد.

Refrences

1. Abd El-Galil, E. R. I., and N. E. Y. El-Bordeny. 2018. Evaluation of nanocobalt particles addition in ruminant rations by in vitro gas production. Egyptian Journal of Nutrition and Feeds, 21(1):91-102.
2. Akhlaghi, H., and A. Motevalizadeh Kakh'ky. 2010. Volatile Constituents of Phlomis cancellata Bunge. A Labiate Herb Indigenous in Iran Journal of Essential Oil Research, 13(5):134-137. (In Persian).
3. Arabi, F., M. Imandar, M. Negahdary, M. Imandar, M. T. Noughabi, H. Akbari-dastjerdi, and M. Fazilati. 2012. Investigation anti-bacterial effect of zinc oxide nanoparticles upon life of Listeria monocytogenes. Annals of Biological Research, 7:3679-3685. (In Persian)
4. Bellamy, D., and A. Pfister. 1992. World medicine: plants, patients and people. Oxford: Blackwell Publishers, 1321p.
5. Benchaar, C., S. Calsamiglia, A. V. Chaves, G. R. Fraser, D. Colombatto, T. A. McAllister, and K. A. Beauchemin. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. Animal Feed Science and Technology, 145:209-228.
6. Blummel, M., and E. R. Orskov. 1993. Composition of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting food intake in cattle. Animal Feed Science and Technology, 40:109-119.
7. Buxton, D. R., and D. D. Redfearn. 1997. Plant limitations to fiber digestion and utilization. The Journal of Nutrition, 127(5):814-818.
8. Castro-Montoyaa, J., S. De Campeneere. G. Van Ranst, and V. Fievez. 2012. Interactions between methane mitigation additives and basal substrates on in vitro methane and VFA production. Animal Feed Science and Technology, 176:47-60.
9. Cui, L., P. Chen, S. Chen, Z. Yuan, C. Yu, B. Ren, and K. Zhang. 2013. In situ study of the antibacterial activity and mechanism of action of silver nanoparticles by surface-enhanced Raman spectroscopy. Analytical Chemistry, 85:5436-5443.
10. Dehority, B. A. 2003. Rumen Microbiology. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
11. Deylamsalehi, M., M. Mahdavi, A. Motavalizadehkakhky, M. Akbarzadeh, J. Mahmudi, S. F. Mirahmadi, Z. Ebrahimi, and F. Abedi. 2013. Chemical compositions and antimicrobial activity of essential oil of Phlomis cancellata Bunge. From Mazandaran. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 16(4):555-562. (In Persian).
12. Fondevila, M. 2010. Handbook of Potential use of silver nanoparticles as an additive in animal feeding, 325-334.
13. Formisano, C., F. Senatore, M. Bruno, and G. Bellone. 2006. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Phlomis ferruginea ten. Growing wild in Southern Italy. Flavour and Fragrance Journal, 21:848-851.
14. García-González, R., S. López, M. Fernández, and J. S. González. 2006. Effects of the addition of some medicinal plants on methane production in a rumen simulating fermenter (RUSITEC). International Congress Series, 1293:172-175.

15. Getachew, G., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 2000. Effect of polyethylene glycol on in vitro degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. British Journal of Nutrition, 84:73-83.
16. Getachew, G., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 2002. Tropical browses: content of phenolic compounds,in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acids and invitro gas production. Journal of Agricultural Science, 139:341-352.
17. Gonzalez-Estrella, J., R. Sierra-Alvarez, and J. A. Field. 2013. Toxicity assessment of inorganic nanoparticles to acetoclastic and hydrogenotrophic methanogenic activity in anaerobic granular sludge. Journal of Hazardous Materials, 260:278-285.
18. Hartemann, P., P. Hoet, A. Proykova, T. Fernandes, A. Baun, W. De Jong, J. Filser, A. Hensten, K. Kneuer, J. V. Maillard, H. Norppa, M. Scheringer, and S. Wijnhoven. 2015. Nanosilver: safety, health and environmental effects and role in antimicrobial resistance. Materials Today, 18:122-123.
19. Heidari, S., and M. Hosseinpour Zaryabi. 2018. Response Surface Methodology for Optimization of Green Silver Nanoparticles Synthesized via Phlomis Cancellata Bunge Extract. Analytical and Bioanalytical Chemistry Research, 5(2):373-386.
20. Hino, T., and N. Asanuma. 2003. Suppression of ruminal methanogenesis by decreasing the substrates available to methanogenic bacteria. Nutrition Abstract and Reviews (Series B), 73:1-8.
21. Ipharraguerre, I. R., and J. H. Clark. 2003. Usefulness of ionophores for lactating dairy cows: A review. Animal Feed Science and Technology, 106:39-57.
22. Kavitha, K. S., S. Baker, D. Rakshith, H. U. Kavitha, H. C. Yashwantha Rao, B. P. Harini, and S. Satish. 2013. Plants as green source towards synthesis of nanoparticles. International Research Journal of Biological Sciences, 2(6):66-76.
23. Khafipour, E., D. O. Krause, and J. C. Plaizier. 2009. Alfalfa pellet-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows increases bacterial endotoxin in the rumen without causing inflammation. Journal of Dairy Science, 92:1712-1724. (In Persian).
24. Khalilzadeh, M., A. Rustaiyan, S. Masoudi, and M. Tajbakhsh. 2005. Essential oils of *Phlomis persica Boiss*. and *Phlomis olivieri Benth*. from Iran. Journal of Essential Oil Research, 17(6):624-625. (In Persian).
25. Kirimer, N., K. Baser, and M. Kurkcuoglu. 2006. Composition of the Essential Oil of Phlomis nissolii L. Journal of Essential Oil Research, 12:12-16.
26. Lara, H. H., N. V. Ayala-Nunez, L. C. I. Turrent, and C. R. Padilla. 2009. Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 26:615-621.
27. Li, B. T., A. G. Van Kessel, W. R. Caine, S. X. Huang, and R. N. Kirkwood. 2001. Small intestinal morphology and bacterial populations in ileal digesta and feces of newly weaned pigs receiving a high dietary level of zinc oxide. Canadian Journal of Animal Science, 81:511-516.
28. Li, W. R., X. B. Xie, Q. S. Shi, S. S. Duan, Y. S. Ouyang, and Y. B. Chen. 2011. Antibacterial effect of silver nanoparticles on Staphylococcus aureus. Biometals, 24:135-141.
29. Luna-delRisco, M., K. Orupõld, and H. C. Dubourguier. 2011 Particle-size effect of CuO and ZnO on biogas and methane production during anaerobic digestion. Journal of Hazardous Materials, 189(1):603-608.
30. Makkar, H. P. S. 2005. In vitro gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. Animal Feed Science and Technology, 123:291-302.
31. Masoudi, S. H., A. Rustaiyan, P. Azar, and K. Larijani. 2006. Composition of the Essential Oils of Cyclotrichium straussii and Phlomis pungens Willd. from Iran. Journal of Essential Oil Research, 34(5):134-137.
32. McGuffey, R. K., L. F. Richardson, and J. I. D. Wilkinson. 2001. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. Journal of Dairy Science, 84(E. Suppl.): E194-E203.
33. McSweeney, C., and R. Mackie. 2012. Micro-organisms and ruminant digestion: State of knowledge, trends and future prospects. Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome, Italy, Background study -61.
34. Menke, K. H., L. A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, and W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. The Journal of Agricultural Science, 93:217-222.
35. Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Animal research and development, 28:7-55.
36. Mittal, A. K., Y. Chisti, and U. C. Banerjee. 2013. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. Biotechnology Advances, 31(2):346-56.
37. Morteza-Semnani, K., K. Moshiri, and M. Akbarzadeh. 2006. Essential oil composition of Phlomis cancellata Bunge. Journal of Essential Oil Research, 18(6):672-673. (In Persian).
38. Mortimer, M., K. Kasemets, and A. Kahru. 2010. Toxicity of ZnO and CuO nanoparticles to ciliated protozoa Tetrahymena thermophila. Toxicology, 269(2):182-189.
39. Noeck, J. E. 1988. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: A Review. Journal

of Dairy Science, 71:2051-2069.
40. Ǿrskov, E. R., and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements Weighed according to the rate of passage. The Journal of Agricultural Science, 92:499-503.
41. Parnian Khaje Dizaj, F., A. Taghizadeh, G. A. Moghaddam, and H. Janmohammadi. 2010. Use of in Vitro Gas Production Technique for Evaluation of Nutritive Parameters of Barley and Corn Grain Treated by Different Microwave Irradiation Times. Journal of Animal Science Research, 21(1):16-27. (In Persian).
42. Rajendran, R. 2013. Application of nano minerals in animal production system.Research. Journal of Biotechnology, 8(3):1-3.
43. Rajeshkumar, S., C. Malarkodi, G. Gnanajobitha, K. Paulkumar, M. Vanaja, C. Kannan, and G. Annadurai. 2013. Seaweed-mediated synthesis of gold nanoparticles using Turbinaria conoides and its characterization. Journal of Nanostructure in Chemistry, 3:44-50.
44. Sadeghi, B., A. Rostami, and S. S. Momei. 2015. Facile Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Seed Aqueous Extract of Pistacia atlantica and Its Antibacterial Activity. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Bimolecular Spectroscopy, 134:326-332. (In Persian).
45. Sai Ram Kumar, S. 2017. Green synthesis of nanoparticles using plant extracts and their effect on rumen fermentation in vitro. Thesis.
46. Sarker, N. C., F. Keomanivong, M. D. Borhan, S. Rahman, and K. Swanson. 2018. In vitro evaluation of nano zinc oxide (nZnO) on mitigation of gaseous emissions. Journal of Animal Science and Technology, 60:27.
47. Sarkhail, P., G. Amin, M. Surmaghi, and A. Shafiee. 2005. Composition of the volatile oils of Phlomis lanceolata Boiss. & Hohen., Phlomis anisodonta Boiss. and Phlomis bruguieri Desf. from Iran. Flavor and Fragrance Journal, 20:327-329.
48. Senapati, S., A. Syde, S. Moeez, A. Kumar, and A. Ahmah. 2012. Intracellular synthesis of gold nanoparticles using alga Tetraselmis kochinensis. Material Letters, 2:275-281.
49. Shi, L., W. Xun, W. Yue, C. Zhang, Y. Ren, Q. Liu, Q. Wang, and L. Shi. 2011(a). Effect of elemental nano-selenium on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep. Animal Feed Science and Technology, 163(2):136-142.
50. Shi L., R. J. Yang, W. B. Yue, W. J. Xun, C. X. Zhang, Y. S. Ren, L. Shi, and F. L. Lei. 2010. Effect of elemental nano-selenium on semen quality, glutathione peroxidase activity, and testis ultrastructure in male Boer goats. Animal Reproduction Science, 118(2):248-254.
51. Theodorou, M. K., B. A. Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan, and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 48:185-197.
52. Tomkins, N. W., S. E. Denmanb, P. Pilajunc, M. Wanapatc, C. S. McSweeney, and R. Elliot. 2015. Manipulating rumen fermentation and methanogenesis using an essential oil and monensinin beef cattle feda tropical grasshay. Animal Feed Science and Technology, 200:25-34.
53. Xun, W., L. Shi, W. Yue, C. Zhang, Y. Ren, and Q. Liu. 2012. Effect of high-dose nano selenium and selenium–yeast on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep. Biological Trace Element Research, 150(1-3):130-136.
54. Yang, W., C. Shen, Q. Ji, A. H. Wang, J. Q. Liu, and Z. Zhang. 2009. Food storage material silver nanoparticles interfere with DNA replication fidelity and bind with DNA. Nanotechnology, 2:2121-2134.
55. Yang, Z. P., and L. P. Sun. 2006. Effects of nanometer ZnO on growth performance of early weaned piglets. Journal of Shanxi Agriculture Science, 3:024.
56. Yoon, K. Y., J. H. byeon, J. H. Park, and J. Hwang. 2007. Susceptibility contrants of Eschericia coli and Bacillus subtillis to silver and copper nanoparticles. Science of the Total Environment, 373:572-575.
57. Zhisheng, C. J. 2011. Effect of nano-zinc oxide supplementation on rumen fermentation in vitro. Chinese Journal of Animal Nutrition, 8:023.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 475-488

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۴۸۸-۴۷۵

Effect of Green Silver Nanoparticles Synthesized via *Phlomis cancellata Bunge* Extract on *in vitro* Ruminal Fermentation

Elias Ibrahimi Khoram Abadi[1*], Mohsen Kazemi[2], Somayeh Heydari[3]

Submitted: 25-02-2019
Accepted: 25-01-2021

Ibrahimi Khoram Abadi, E., M. Kazemi, and S. Heydari. 2022. Effect of Green Silver Nanoparticles Synthesized via *Phlomis cancellata Bunge* Extract on *in vitro* Ruminal Fermentation. Iranian Journal of Animal Science Research 13(4):475-488.

Introduction The anaerobic microbial fermentative digestion of feedstuffs in the rumen is not efficient. The gases are considered as waste products of rumen fermentation and also pollutants of the environment. Recent studies indicated that some metal nanoparticles (NPs) were toxic to rumen microbial population and inhibit methane production in anaerobic conditions. Plant extracts can be used to produce cost effective and eco-friendly green nanoparticles. *Phlomis cancellata Bunge* with Persian names Gushbarre sefid has high medicinal value and antibacterial properties and distributed dramatically in Khorasan, Mazandaran and Golestan. Hence, there is potential of using bio-synthesized nanoparticles in ruminant nutrition. However, there is not enough information regarding the effect of green nanoparticles on runminal condition. Therefore, the present investigation was carried out to study the effect of green silver nanoparticles synthesized via *Phlomis cancellata Bunge* extract on rumen fermentation in vitro.

Materials and methods Synthesis of sliver nanoparticles was prepared by adding of 1 ml of the aqueous extract to 4.76 mM sliver nitrate solution (pH= 6.84) allowed to react at 77 °C for 24.79 min in the dark to minimize the photo activation of silver nitrate. The color change of solution from yellow to brown after 3 min of incubation is indicative of the bioreduction of Ag+ ions in the solution to Ag°. Effects of increasing the concentration of green silver nanoparticles synthesized via *Phlomis cancellata Bunge* extract (0, 125 and 250 µg/ml) on rumen fermentation were evaluated using *in vitro* gas production technique. Gas production volumes were recorded at 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 and 96 h of incubation and then gas production kinetic was estimated. The obtained data from gas production at 24 h after incubation were used for estimation of digestible dry and organic matter, metabolisable energy, short chain fatty acids, partitioning factor, microbial biomass production and microbial biomass production efficiency.

Results and Discussion The increasing level of green silver nanoparticles synthesized via *Phlomis cancellata Bunge* extract did not significantly affect *in vitro* potential of gas production and gas production rate. For the cumulative gas production, no significant difference was found among the treatments. The lowest and highest in vitro potential of gas production, gas production rate and cumulative gas production was recorded for treatments 3 and 1, respectively. Silver nanoparticles exhibit unique bacteriostatic and bactericidal properties. At the atomic level, silver has the ability to absorb oxygen and acts as an oxidation catalyst. Atomic oxygen absorbed on the silver surface reacts with the thiol groups surrounding the surface of bacteria and viruses and removes hydrogen atoms. The bacterium loses respiration ability by disruption of the so-called respiratory channel, which results in bacterial death. The apparent *in vitro* dry matter digestibility and organic matter digestibility and true *in vitro* organic matter digestibility, were not significantly affected by addition of green silver nanoparticles synthesized via *Phlomis cancellata Bunge* extract. Addition of green silver nanoparticles synthesized via *Phlomis cancellata Bunge* extract failed to affect metabolisable energy, short chain fatty acids, partitioning factor, microbial biomass

1- Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Animal Science, University of Torbat-e Jam, Torbat-e Jam, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Animal Science, University of Torbat-e Jam, Torbat-e Jam, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Agriculture and Animal Science, University of Torbat-e Jam, Torbat-e Jam, Iran.
*Corresponding Author Email: Eliiass378@gmail.com
Doi:10.22067/ijasr.2021.38202.0

production and microbial biomass production efficiency. However, the lack of significant effect of the synthesized silver nanoparticles on the digestibility may be due to factors such as concentration, surface capacity, size, and other properties of silver nanoparticles. For treatment 1, the cumulative gas production over 24 and 48 h was negatively correlated apparent *in vitro* dry matter digestibility and organic matter digestibility. There was significant negative correlation between apparent *in vitro* organic matter digestibility and partitioning factor with cumulative gas production during hours of incubation for treatments 2. No significant correlation was found between apparent in vitro dry matter digestibility and organic matter digestibility and partitioning factor with the volume of cumulative gas produced during different incubation hours in for treatments 3.

Conclusion Supplementing of green silver nanoparticles synthesized via *Phlomis cancellata Bunge* extract could modify the characteristics of gas production and fermentation parameters basal diet and reduce the side effects of the anaerobic microbial fermentation. However, additional microbial studies with different level of green silver nanoparticles are necessary to determine the mode of action. Additionally, further *in vivo* work is needed to assess the effect of green silver nanoparticles inclusion on animal performance when cattle are fed ingredients commonly used in beef feedlot or dairy diets.

Keywords: Diet, Gas production, *Phlomis cancellata Bunge*, Rumen, Silver nanoparticles.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 489-498

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۴۹۸-۴۸۹

مقاله پژوهشی

تأثیر استفاده از پروبیوتیک پروتکسین در ماه آخر آبستنی بر ترکیب آغوز و شیر میش‌های لری بختیاری

محمد درعلی بنی[۱]، فریبا رضائی سرتشنیزی[۲*]، سعید کریمی دهکردی[۳]، علی محرری[۳]، حسین مهربان[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۳

درعلی بنی، م.، ف. رضائی سرتشنیزی، س. کریمی دهکردی، ع. محرری، و ح. مهربان. ۱۴۰۰. تأثیر استفاده از پروبیوتیک پروتکسین در ماه آخر آبستنی بر ترکیبات، مواد معدنی آغوز و ترکیبات شیر میش‌های لری بختیاری. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۳(۴): ۴۹۸-۴۸۹.

چکیده

مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تأثیر استفاده از پروبیوتیک پروتکسین در ماه آخر آبستنی بر ترکیبات آغوز و ترکیبات شیر در میش‌های لری بختیاری انجام شد. به این منظور از تعداد ۲۸ رأس میش لری بختیاری سه شکم زایش به بالا که در ماه آخر آبستنی بودند به مدت یک ماه استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار شاهد (میش‌ها پروبیوتیک مصرف نکردند)، ۲- میش‌ها در هرروز ۱ گرم پروبیوتیک حل‌شده در ۵ میلی‌لیتر آب مصرف کردند. پروبیوتیک مورداستفاده در این تحقیق، پروتکسین بود. به‌منظور تعیین ترکیبات آغوز و شیر به ترتیب در اولین روز و ۱۴ روز بعد از زایش یک نمونه آغوز و یک نمونه شیر از میش‌های تحت آزمایش گرفته شد. نتایج نشان داد که افزودن پروبیوتیک پروتکسین در ماه آخر آبستنی بر ترکیبات آغوز شامل آلبومین، پروتئین کل، گلوبولین و درصد چربی تأثیر آماری معنی‌دار نداشت. همچنین عناصر معدنی آغوز شامل آرسنیک، کادمیم، کبالت، مس، آهن، سرب، منیزیم، منگنز، مولیبدن، سدیم، نیکل، فسفر، سلنیوم، قلع، روی و کلسیم به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر افزودن پروبیوتیک قرار نگرفتند. ترکیبات شیر میش شامل چربی، لاکتوز، پروتئین، مواد جامد و نقطه انجماد نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر افزودن پروبیوتیک قرار نگرفتند. به‌طورکلی نتایج حاکی از این است که افزودن پروبیوتیک پروتکسین در ماه آخر آبستنی تأثیر معنی‌داری بر ترکیبات آغوز و عناصر معدنی آغوز و ترکیبات شیر میش‌ها نداشت.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک پروتکسین، ترکیبات شیر، فاکتورهای آغوز، مواد معدنی آغوز، میش لری بختیاری.

مقدمه

در سال‌های اخیر سیاست اصلی در پرورش دام استفاده از مکمل‌های دامی با بازده تولیدی بالا بوده است. برای دستیابی به این مهم علاوه بر به‌کارگیری روش‌های نوین و بهینه تغذیه‌ای، مدیریتی می‌توان با اجرای روش‌ها و سازکارهای متنوع و مناسب، موجبات بهبود و تسریع برنامه‌های افزایش راندمان را در واحدهای دام‌پروری را فراهم نمود. استفاده از مواد افزودنی که موجب بهبود عملکرد میکروبی شکمبه می‌شوند، بسیار ضروری به نظر می‌رسد (۴۹). پروبیوتیک یک واژه لاتین به معنی برای زندگی است. این مواد میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که حاوی باکتری‌ها و مخمرهای سودمند می‌باشند (۱۷).

از مهم‌ترین ویژگی پروبیوتیک‌ها آن است که ضمن کاهش میکروب‌های بیماری‌زا در دستگاه گوارش و بهبود ضریب تبدیل غذایی در حیوان، باقی‌مانده بافتی نداشته و برخلاف آنتی‌بیوتیک‌ها

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲-دانش آموخته دکترای تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۳-به ترتیب دانشیار، استاد و استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Faribarezai38@yahoo.com)
Doi:10.22067/ijasr.2021.38244.0

مقاومت میکروبی ایجاد نمی‌کنند. نشخوارکنندگان در رابطه با استفاده از مواد فیبری باکیفیت پایین توانایی منحصربه‌فردی دارند. باکتری‌ها ارگانیسم‌های اصلی مسئول برای هیدرولیز و تجزیه سلولز درون شکمبه هستند. بنابراین، میکروب‌های شکمبه نقش حیاتی در استفاده از مواد مغذی خوراک در نشخوارکنندگان دارند. امروزه، محققین به دنبال یافتن راه‌کارهای طبیعی برای افزایش فعالیت شکمبه از طریق بهبود باکتری‌های مفید شکمبه هستند (۲). در حال حاضر پروبیوتیک‌ها نه‌تنها به‌عنوان محرک رشد، بلکه برای تحریک دستگاه ایمنی و پیشگیری از ابتلا به بسیاری از بیماری‌ها به‌کار گرفته می‌شوند (۱). استفاده از پروبیوتیک‌ها جهت افزایش عملکرد، بهبود وضعیت سلامت و تغییر در اکوسیستم شکمبه‌ای یک جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک محسوب می‌شوند. تأثیر مثبت این باکتری‌ها به میزان بسیاری به دلیل توانایی بالا در چسبیدن به دیواره اپی تلیوم مجاری معده‌ای–روده‌ای است که در بهبود عملکرد حیوان تأثیرگذار خواهد بود (۲۵ و ۴۶).

شیر گوسفند ارزش غذایی فراوانی دارد که در تهیه پنیر، ماست، کره و سایر محصولات لبنی استفاده می‌شود (۲۰). مطالعاتی که اثر افزودن پروبیوتیک را به خوراک گوسفند بر تولید و ترکیب شیر آن‌ها بررسی کنند اندک هستند و بیشتر مطالعات در گاوهای شیری انجام‌شده است. یکی از پژوهش‌هایی که در گوسفند انجام‌شده است، بهبود در تولید شیر و محتوی پروتئین و چربی شیر را گزارش کرده است (۲۸). افزایش در تولید شیر در اثر افزودن پروبیوتیک‌های باکتریایی به جیره گاوهای شیرده (۱۹، ۲۱ و ۵۲) همچنین افزایش در چربی شیر گاوهای که از دو هفته قبل از زایش، پروبیوتیک دریافت کرده بودند گزارش‌شده است (۴۷). بااین‌وجود مطالعاتی نیز تأثیر نداشتن پروبیوتیک بر تولید و ترکیب شیر گاوهای شیرده را نشان می‌دهد (۴۳). با توجه به این اینکه مطالعات انجام‌شده در مورد تأثیر پروبیوتیک بر ترکیبات آغوز میش گزارشی وجود ندارد و همچنین محدودیت نتایج در اثر افزودن پروبیوتیک بر تولید و ترکیب شیر گوسفند، به‌ویژه گوسفندان لری بختیاری، مطالعه حاضر با دو هدف اثر استفاده از پروبیوتیک پروتکسین از طریق دهانی بر روند ترکیبات آغوز و شیر در ماه اول شیردهی صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

این طرح در ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند لری بختیاری (شولی) واقع در ۲۰ کیلومتری شرق شهرکرد در یک بازده زمانی ۳۷روزه از تاریخ ۱۱ دی‌ماه ۱۳۹۶ تا ۱۸ اسفند ۱۳۹۶ انجام پذیرفت.

تعداد ۲۸ رأس میش نژاد لری بختیاری، شکم اول تا شکم ششم که در ماه آخر آبستنی بودند انتخاب شدند. تمامی میش‌ها با یک جیره یکسان و مشابه که در جدول ۱ آورده شده است، تغذیه‌شده‌اند. میش‌ها به دو گروه ۱۴ تایی تقسیم شدند و به مدت یک ماه از تیمارهای آزمایشی استفاده کردند، تیمارها شامل ۱) شاهد (گروهی که پروبیوتیک مصرف نکردند) ۲– گروهی که ۱ گرم پروبیوتیک در روز مصرف کردند. در گروه تحت آزمایش (۱۴ رأس) علاوه بر جیره فوق صبح‌ها به ازای هر میش ۱ گرم پروبیوتیک را در ۵ میلی‌لیتر آب حل کرده و از طریق سرنگ به میش‌ها خورانده می‌شد که به‌محض زایمان استفاده از پروبیوتیک قطع شد. جیره میش‌ها قبل و بعد از زایمان یکسان بود.

پروبیوتیک مورداستفاده در این تحقیق پروتکسین بود که فرآورده طبیعی است که ۹ سویه میکروارگانیسم‌های سودمند دستگاه گوارش گوسفند و بره را به همراه دارد. این میکروارگانیسم‌ها شامل ۴ سویه لاکتوباسیل، یک‌سویه بیفیدوباکتریوم، یک‌سویه انتروکوکوس، یک‌سویه استرپتوکوکوس، دو سویه قارچ و مخمر هستند. این محصول ساخت شرکت بین‌المللی پروتکسین انگلستان بود.

بعد از زایمان از هر میش یک نمونه آغوز درون ظرف دربدار استریل جمع‌آوری و در دمای ۲۷– درجه‌سلسیوس تا زمان آزمایش نگهداری گردید. برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل، آلبومین در آغوز باید پلاسمای آغوز جدا شود. برای این منظور ۵ میلی‌لیتر از نمونه آغوز را در بشر ریخته سپس ۳۷/۵ میلی‌لیتر آب مقطر (۴۰–۴۲ درجه‌سلسیوس) به آن اضافه کرده و به‌آرامی به مدت ۱۰ دقیقه به هم زده سپس مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر اسید استیک اضافه کرده و به مدت ۱۰ دقیقه زمان داده و در مرحله بعد ۰/۵ میلی‌لیتر استات دو سود اضافه کرده و ۱۰ دقیقه زمان داده و در مرحله آخر با آب مقطر حجم بالون را به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده و درب بالن را گذاشته و خوب به هم زده و اجازه داده تا کازئین شیر رسوب‌کرده و سپس آن‌را از با کاغذ صافی، صاف‌کرده و حاصل را توسط کیت‌های تشخیصی پارس آزمون به روش فتومتریک برای آلبومین و پروتئین کل اندازه‌گیری می‌شود. میزان گلوبولین با استفاده از تفریق آلبومین از پروتئین کل محاسبه می‌شود (۳۹).

برای اندازه‌گیری درصد چربی آغوز از روش ژربر (Funke geber، ساخت آلمان) استفاده شد. جهت اندازه‌گیری مواد معدنی آغوز نیاز به خاکستر بود، برای این منظور مقدار ۵ گرم آغوز درون بوته چینی ریخته شد، بعد بوته‌ها درون آون قرار داده شد تا خشک شود و سپس آن‌ها را خارج کرده و درون کوره قرار داده و درجه حرارت کوره را به مدت دو ساعت به‌تدریج به ۴۸۰ درجه سلسیوس رسانده، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در این دما نگهداری تا کاملاً خاکستر شده و به رنگ سفید درآمدند. درنهایت با استفاده از روش هضم خشک و از طریق دستگاه اسپکتروفتومتری جذب اتمی و فیلم فتومتر (۳۳) غلظت مواد معدنی اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری فسفر با روش زرد (۴۲) انجام شد.

در روز چهاردهم بعد از زایمان از میش‌ها یک نمونه شیر از

میش‌های تحت آزمایش جمع‌آوری گردید و تا روز آزمایش در دمای ۲۷- درجه سلسیوس نگهداری گردید. اندازه‌گیری فاکتورهای شیر مانند چربی، پروتئین، لاکتوز، مواد جامد و نقطه انجماد شیر با استفاده از دستگاه آنالایزر شیر، لاکتواستار (Funke gerber، ساخت آلمان) انجام شد.

طرح آماری مورداستفاده به‌منظور تجزیه‌وتحلیل فاکتورهای آغوز، عناصر معدنی آغوز و فاکتورهای شیر برای بررسی اثر تیمار با روش آزمون F در قالب طرح کاملاً تصادفی از مدل آماری زیر استفاده شد:

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

در رابطه فوق y_{ij} مشاهده مربوط به تیمار i ام در تکرار j ام، μ اثر میانگین جمعیت، T_i اثر i امین تیمار (در دو سطح) و e_{ij} میزان باقیمانده می‌باشد.

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی[1]

Table 1-Blood ingredients and chemical composition of the experimental diet[1]

اجزای خوراک Ingredients	درصد از ماده خشک جیره % of Dietary Dry Matter
یونجه Alfalfa	37.5
کاه گندم Wheat straw	37.5
سیلوی ذرت Corn silage	15
کنسانتره میش Concentrate the ewes	8.5
مکمل معدنی و ویتامینی[2] Mineral and vitamin supplements[2]	1.0
بی کربنات سدیم Sodium bicarbonate	0.5
ترکیب شیمیایی جیره	
پروتئین خام (درصد از ماده خشک) (Crude protein (percentage of dry matter	12.6
انرژی قابل سوخت وساز (مگا کالری/کیلوگرم) (Metabolizable Energy (Mcal/ kg)	2.5
کلسیم (درصد ماده خشک) (Calcium (percentage of dry matter	0.8
فسفر (درصد ماده خشک) (Phosphorus (percentage of dry matter	0.6
الیاف شوینده خنثی (درصد ماده خشک) (Neutral detergent fiber (percentage of dry matter	46.2
الیاف شوینده اسیدی (درصد ماده خشک) Acid detergent fibers (percentage of dry matter)	42.3

[1] تنظیم‌شده بر اساس جداول ارائه‌شده توسط انجمن تحقیقات ملی آمریکا (۳۷).

[2] هر کیلوگرم مکمل حاوی ۱۸۵ گرم کلسیم، ۲۰ گرم منیزیم، ۵۵ گرم سدیم، ۳ گرم روی، ۳ گرم آهن، ۲ گرم منگنز، ۰/۲۸ گرم مس، ۰/۱ گرم کبالت، ۰/۱ گرم ید، ۰/۴ گرم آنتی اکسیدانت، ۰/۰۰۱ گرم سلنیم، ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3 و ۱۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E بود.

[1] Adjusted based on tables provided by the American National Research Association (40).

[2] Each kg of supplement contains 185 g calcium, 20 g magnesium, 55 g sodium, 3 g zinc, 3 g iron, 2 g manganese, 0.28 g copper, 0.1 g cobalt, 0.1 g iodine, / There were 0 g of antioxidant, 0.001 g of selenium, 500,000 international units of vitamin A, 100,000 international units of vitamin D3 and 100 international units of vitamin E.

نتایج و بحث

همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده‌شده است، افزودن پروبیوتیک پروتکسین بر فاکتورهای آغوز، شامل آلبومین، پروتئین کل، گلوبولین و چربی اثر آماری معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). تاکنون مطالعه‌ای در مورد افزودن پروبیوتیک بر فاکتورهای آغوز

شامل آلبومین، پروتئین کل، گلوبولین و چربی صورت نگرفته است. ولی در مورد افزودن پروبیوتیک بر غلظت آلبومین، پروتئین کل و گلوبولین در خون گزارش‌هایی وجود دارد. دبیری و همکاران (۱۱) با دادن پروبیوتیک بایوساف در ماه آخر آبستنی میش‌ها و تا زمان از شیرگیری بره‌ها به‌استثنای غلظت آلبومین در شروع آزمایش و غلظت BUN در زمان از شیرگیری هیچ تفاوت معنی‌داری در غلظت گلوکز، غلظت آلبومین در زمان از شیرگیری، غلظت پروتئین کل و گلوبولین نیافتند. در بره‌های دورگه اوسیمی × رحمانی با سن ۶ تا ۸ ماه غلظت فراسنجه‌های خونی مرتبط با متابولیسم پروتئین، شامل آلبومین، پروتئین کل، اوره و کراتینین تحت تأثیر مصرف پروبیوتیک باکتریایی قرار نگرفت (۲۰) و همچنین در بوفالوهای تلیسه نیز بر اثر استفاده از پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس فراسنجه‌های خونی شامل آلبومین، گلوبولین تحت تأثیر قرار نگرفتند (۴۱). از طرفی پژوهشگران با استفاده از پروبیوتیک حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیکی در جیره بزغاله‌های نژاد مالتز کاهش معنی‌دار سطوح تری‌گلیسیرید را مشاهده کردند (۹). درمجموع نتایج متناقضی در مورد افزودن پروبیوتیک بر این فاکتورها در خون به‌دست آمده است که ممکن است ناشی از تأثیر عوامل متعددی بر نتایج حاصله باشد. هرچند در پژوهش‌های درون تنی از مدل‌های زنده و واقعی که معرف کامل سیستم‌های پاتولوژیک هستند استفاده شده است، اما این پژوهش‌ها نیز به‌سادگی تحت تأثیر عوامل خارجی از قبیل تفاوت در سویه باکتریایی، مقدار مورداستفاده، دقت آنالیتیکی روش آنالیز لیپیدها، شرایط فیزیولوژیک واحدهای آزمایشی، طول دوره مصرف پروبیوتیک، ناکافی بودن اندازه نمونه‌ها و فقدان گروه‌های کنترل مناسب قرار می‌گیرند (۲۷). تحت تأثیر قرار نگرفتن فاکتورهای آغوز نیز بعد یک ماه مصرف پروبیوتیک پروتکسین نشان‌دهنده نداشتن اثر معنی‌دار این ماده بر فاکتورهای آغوز بوده است.

جدول۲- اثر افزودن پروبیوتیک پروتکسین بر فاکتورهای آغوز

Table 2- The effect of addition of protexin probiotic on colostrum factors

صفات Items	تیمارهای آزمایشی Experimental Treatments شاهد Control	 پروبیوتیک مصرف کرده They have eaten probiotics	احتمال معنی داری P-Value
آلبومین Albumin	2.54±0.49	2.73±0.73	0.79
پروتئین کل Total protein	15.01±0.20	16.26±1.20	0.46
گلوبولین Globulin	12.47±1.35	13.54±1.35	0.58
چربی Fat	7.49±0.79	6.46±0.76	0.19

بر اساس داده‌های ارائه شده در جدول در ۳، اثر پروبیوتیک پروتکسین بر عناصر معدنی آغوز (آرسنیک، کادمیم، کبالت، مس، آهن، سرب، منیزیم، منگنز، مولیبدن، سدیم، نیکل، فسفر، سلنیوم، قلع، روی و کلسیم) معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). تاکنون مطالعه‌ای در مورد افزودن پروبیوتیک بر مواد معدنی آغوز در نشخوارکنندگان صورت نگرفته است. ولی گزارش‌هایی در مورد افزودن پروبیوتیک بر عناصر معدنی خون وجود دارد. در نشخوارکنندگان، مکمل کردن پروبیوتیک زوویت در گوساله‌های شیری اثر معنی‌داری روی غلظت فسفر و کلسیم خون نداشت (۱۳). در مطالعه جاتوبا و همکاران (۲۲) غلظت کلسیم خون اگرچه در تیمارهای دریافت‌کننده اسید آلی و پری بیوتیک افزایش پیدا کرد ولی این افزایش معنی‌دار نبود و غلظت فسفر، منیزیم و آهن خون هم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. گالیپ (۱۶) با افزودن مخمر کشت و بیکربنات سدیم تفاوت آماری معنی‌داری بر غلظت پتاسیم، فسفر، کلسیم و کلر در قوچها مشاهده نشد، فقط غلظت سدیم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در تحقیقی دیگر، افزایش معنی‌دار غلظت سدیم و منگنز زمانی که گوسفند از سلول‌های زنده مخمر استفاده می‌کنند وجود نداشت (۵۰). همچنین کوالیک و همکاران (۲۶) با افزودن مکمل *ساکاروما یسز سرویسیه* روی ذخیره مواد معدنی اثر معنی‌داری مشاهده نکردند. کبیریان مقدم و همکاران (۲۳) با افزودن پروبیوتیک و کروم-متیون اثر معنی داری بر غلظت روی سرم خون گوساله‌های شیری هلشتاین مشاهده نکردند. مخالف با نتایج ما، در گزارش سیچ (۱۰) در جیره خوک‌ها و خوکچه‌هایی که در دوران آبستنی و دوره شیردهی از دیواره‌های سلولی مخمر (مانان الیگوساکارید) استفاده کرده بودند، غلظت آهن در پلاسمای خون هر دوی خوک‌ها و خوکچه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، غلظت مس فقط در پلاسمای خون خوک‌ها افزایش یافت و غلظت روی به‌طور معنی‌داری تغییر نکرد. استفاده از پروبیوتیک سبب کاهش معنی‌دار غلظت کلسیم در سرم خون بره‌ها

گردید، اما غلظت پتاسیم به‌طور معنی‌داری بالاتر بود، مقدار کلر و آهن هم در اولین قسمت آزمایش در گروهی که پروبیوتیک داده شده بود، بیشتر بود، در ۳۵ روزگی آزمایش مقدار فسفر در گروه تحت تیمار پروبیوتیک بالاتر بود (۴). در مطالعه دیگر جذب مواد معدنی مانند کلسیم و منیزیم و همچنین جذب آهن و مواد معدنی موجود در استخوان مانند کلسیم، منیزیم و روی با استفاده از پری بیوتیک‌ها افزایش یافت (۴۵). از آنجایی که مواد معدنی در استخوان، خون و شیر ذخیره می‌شوند. بنابراین ارزیابی مواد معدنی برای تعیین کمبودها یا سمی بودن جیره مصرف‌شده، مهم است و ازآنجایی‌که هیچ‌یک از عناصر معدنی کم‌نیاز و پرنیاز تحت تأثیر افزودن پروبیوتیک پروتکسین قرار نگرفتند. بنابراین نشان‌دهنده نرمال بودن جیره و افزودنی مورداستفاده است.

جدول۳- اثر افزودن پروبیوتیک پروتکسین بر عناصر معدنی آغوز

Table 3- Effect of addition of protexin probiotics on colostrum minerals

صفات Items	تیمارهای آزمایشی Experimental Treatments شاهد Control	 پروبیوتیک مصرف کرده They have eaten probiotics	احتمال معنی داری P-Value
آرسنیک (پی پی ام) Arsenic (ppm)	6.05±0.75	6.09±0.75	0.97
کادمیم (پی پی ام) Cadmium (ppm)	14.78±1.26	14.93±1.26	0.94
کبالت (پی پی بی) Cobalt (ppb)	12.36±1.65	16.00±1.65	0.13
مس (پی پی ام) Copper (ppm)	3.3±0.54	2.63±0.57	0.37
آهن (پی پی ام) Iron (ppm)	10.79±3.59	7.80±3.59	0.56
سرب (پی پی ام) Lead (ppm)	886.71±466.62	1773.09±466.62	0.19
منیزیم(پی پی ام) magnesium(ppm)	394.24±29.79	464.39±29.79	0.11
منگنز (پی پی ام) Manganese (ppm)	0.96±0.38	0.98±0.38	0.97
مولیبدن (پی پی بی) Molybdenum (ppb)	188.93±11.23	198.14±11.23	0.58
سدیم (پی پی ام) Sodium (ppm)	788.99±34.60	781.14±34.60	0.87
نیکل (پی پی بی) Nickel (ppb)	155.53±40.01	171.50±40.01	0.78
فسفر (میلی گرم) Phosphorus (mg)	3.48±0.12	3.35±0.12	0.49
سلنیوم (پی پی بی) Selenium (ppb)	425.73±158.36	16.60±158.36	0.25
قلع (پی پی بی) Tin (ppb)	202.33±74.74	334.34±74.74	0.22
روی (پی پی ام) Zinc(ppm)	25.42±3.90	31.48±3.90	0.28
کلسیم (میلی گرم) Calcium (mg)	1.08±0.05	1.04±0.05	0.49

همان‌طور که در جدول ۴ ملاحظه می‌شود، اثر افزودن پروبیوتیک پروتکسین در ماه آخر آبستنی بر فاکتورهای شیر (چربی، لاکتوز، پروتئین، مواد جامد و نقطه انجماد) در میش‌ها معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). در مطالعه پاینده و کفیل زاده (۴۰) با تغذیه پروبیوتیک باکتریایی تجاری در میش‌های مهربان هیچ اثر معنی‌داری بر تولید و ترکیبات شیمیایی میش‌ها مشاهده نکردند. در پژوهش‌های دیگر نیز

استفاده از پروبیوتیک، تولید و ترکیبات شیر را به‌طور معنی‌داری تغییر نداد (۱۸ و ۳۵). همچنین در مطالعه کفیل زاده و همکاران (۲۴) با افزودن پروبیوتیک پریمالاک در جیره میش‌ها هیچ اثر معنی‌داری روی تولید و ترکیبات شیر در هفته چهارم و هشتم مشاهده نکردند. فقط در هفته دوازدهم مقدار شیر، درصد چربی، پروتئین و لاکتوز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و این افزایش تولید و ترکیبات شیر میش را با افزودن پروبیوتیک در مناطقی که امکان پرورش گاو وجود ندارد را مطلوب دانستند. همچنین در برخی دیگر از پژوهش‌ها استفاده از پروبیوتیک، تولید و ترکیبات شیر را در دام‌های شیرده افزایش داد (۴، ۴۴، ۴۵ و ۵۲). در این زمینه افزایش در تولید شیر و ترکیبات شیمیایی شیر را به دلیل افزایش در تعداد باکتری‌های سلولایتیک، تجزیه فیبر و تغییر در اسیدهای چرب فرار شکمبه گزارش کردند (۳۰ و ۳۶) شواهد نشان می‌دهند که استفاده از پروبیوتیک‌ها از طریق تولید ماده‌ای به نام باکتریوسین سموم آزادشده به وسیله باکتری‌های بیماری‌زا را خنثی می‌کند و با کاهشpH شکمبه، رشد باکتری‌های مضر را که توانایی pH پایین را ندارند، کاهش می‌دهد، لذا شرایطی فراهم می‌شود که تخمیر شکمبه به شکل سودمندی تغییر یابد (۴۸).

در مطالعاتی که در بزهای شیرده انجام‌شده است نیز استفاده از پروبیوتیک باعث کاهش معنی‌دار در درصد چربی شیر شد (۱۴ و ۴۸).. در مطالعات دیگر پاسخ‌های مثبتی از افزودن پروبیوتیک بر پارامترهای ترکیب شیر در میش‌ها مشاهده شد (۲۸، ۳۵ و ۳۶). هیچ‌یک از این نویسندگان اثرات متقابل مرحله شیردهی را روی تولید و ترکیبات شیر بررسی نکردند. در تحقیقات پیوا و همکاران (۴۲)، ال شیخ و همکاران (۳)، دنسویرس و همکاران (۱۲) و یالسین و همکاران (۵۲) افزایش درصد چربی شیر در گاوها با افزودن پروبیوتیک محیط کشت مخمر مشاهده‌شده است، که این امر ممکن است به افزایش تخمیر فیبر در گاوهای تغذیه‌شده با مخمر مربوط باشد. در مطالعه بیتنکورت و همکاران (۷) مشاهده کردند که مکمل نمودن مخمر تولید روزانه شیر، پروتئین و لاکتوز شیر را افزایش داد اما مقدار چربی شیر را تحت تأثیر قرار نداد. در گزارش‌های دیگر (۶ و ۸) افزایش درصد پروتئین شیر را با افزودن پروبیوتیک مخمر به جیره گاوها مشاهده شد که به دلیل افزایش سنتز پروتئین میکروبی و افزایش عرضه پروتئین قابل متابولیسم به روده گاوهای تغذیه‌شده با مخمر ساکارومایسز سرویسیه مربوط می‌باشد.

جدول٤- اثر افزودن پروبیوتیک پروتکسین بر فاکتورهای شیر

Table 4- Effect of protexin probiotic supplementation on milk factors

صفات Items	تیمارهای آزمایشی Experimental Treatments شاهد Control	 پروبیوتیک مصرف کرده They have eaten probiotics	احتمال معنی داری P-Value
چربی (درصد) Fat (%)	5.16±0.49	6.30±0.47	0.10
لاکتوز (درصد) Lactose (%)	6.11±0.15	6.00±0.14	0.63
پروتئین (درصد) Protein (%)	4.25±0.11	4.21±0.10	0.83
مواد جامد غیر چربی (درصد) Non-fat solids	11.25±0.28	11.11±0.27	0.69
نقطه انجماد (درصد) Freezing Point	0.67±0.01	0.67±0.021	0.98

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن پروبیوتیک پروتکسین در ماه آخر آبستنی اثر معنی‌داری بر فاکتورهای آغوز، غلظت مواد معدنی آغوز و ترکیبات شیر میش‌های لری بختیاری نداشت و این نشان‌دهنده نداشتن اثر منفی پروبیوتیک پروتکسین در ماه آخر آبستنی بر میش‌ها بوده است.

Refrences

1. Abe, F., N. Ishibashi, and S. Shimamura.1995. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. Journal of Dairy Science, 78: 2838-2846.
2. Agarwal, N., D. N. Kamra, L. C. Chaudhary, A. Sahoo, and N. N. Pathak. 2002. Microbial status and rumen enzyme profile of crossbred calves fed on different microbial feed additives. Letters in Applied Microbiology, 34: 329-36.
3. Alshaikh, M. A., M. Y. Alsiadi, S. M. Zahran, H. H. Mogawer, and T. A. Aalshowime. 2002. Effect of feeding yeast culture from different sources on the performance of lactating Holstein cow in Saudi Arabia. Asian-Australian. Journal of

Animal Science, 15: 352–356.
4. Antunović, Z., M. Domaćinović, M. Šperanda, B. Liker, B. Mioč, V. Šerić, and T. Šperanda. 2009. Effect of roasted cereals and soybean in feed mixtures on fattening and slaughter traits as well as blood composition in fattening lambs. Archives of Animal Breeding, 52(5): 512-526.
5. Antunović, Z., M. Šperanda, D. Amidžić, V. Šerić, Z. Stainer, M. Domačinović, and F. Boli. 2006. Probiotic
6. application in lambs nutrition. Krmiva: Časopis Hranidbi Zivotinja, Proizvodnji Tehnologiji Krme, 48(4): 175-180.
7. Ayad, M. A., B. Benallou, M. S. Saim, M. A. Smadi, and T. Meziane. 2013. Impact of feeding yeast culture on milk yield, milk components and blood components in Algerian dairy herds. Journal of Veterinary Science Technology, 4: 135-139.
8. Bitencourt, L. L., J. R. M. Silva, B. M. Lopez de Oliveira, G. S. Dias Junior, F. Lopes, S. S. Junior, O. de FatimaZacaroni, and M. N. Pereira. 2011. Diet digestibility and performance o dairy cows supplemented with live yeast. Science and Agriculture, 68: 301-307.
9. Bruno, R. G. S., H. M. Rutigliano, R. L. Cerri, P. H. Robinson, and J. E. P. Santos. 2009. Effect of feeding Saccharomyces cerevisiae on performance of dairy cows during summer heat stress. Animal Feed Science and Technology, 150: 175-186.
10. Chiofalo, V., L. Liotta, and B. Chiofalo. 2004. Effects of the administration of *Lactobacilli* on body growth and on the metabolic profile in growing Maltese goat kids. Reproduction Nutrition Development, 44: 449-457.
11. Czech, A. N. N. A., A. N. N. A. Mokrzycka, R. Eugeniusz, R. Grela, and Z. Zygmunt Pejsak. 2009. Influence of mannanoligosaccharides additive to sows diets on blood parameters of sows and their piglets. Bulletin - Veterinary Institute in Pulawy, 53 (1): 89-95.
12. Dabiri, N., A. Babaei Yazdi, B. Hemati, M. Bahrani, A Mahdavi, M. R. aghebianand and A. Hajimohammadi. 2016. Effect of different levels of Biosaf probiotic in Diet of Late Pregnant and Lactating Iranian Zandi Ewes on Growth Performance and Immune System of their Lambs. Journal of Fisheries and Livestock Production, 4(4):1-4.
13. Desnoyers, M., S. Giger-Reverdin, G. Bertin, C. Duvaux-Ponter, and D. Sauvant. 2009. Meta-analysis of the influence of Saccharomyces cerevisiae supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. Journal of Dairy Science, 92:1620-1632.
14. Dimova, N., M. Baltadjieva, V. Karabashev, and G. Kalaydjiev. 2013. Effect of supplementation of probiotic zoovit in diets of calves of milk breed. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 19: 98–101.
15. El-Ghani, A. A. A. 2004. Influence of diet supplemented with yeast culture (Saccharomyces cerevisiae) on performance of Zaraibi goats. Small Ruminant Research, 52(3): 223-229.
16. Erasmus, L. J., P. M. Botha, and A. Kistner. 1992. Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation and duodenal nitrogen flow in dairy cows. Journal of Dairy Science, 75: 3056-3065
17. Galip, N. 2006. Effect of supplemental yeast culture and sodium bicarbonate on ruminal fermentation and blood variables in rams. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 90:446-452.
18. Gibson, G. R. and M. B. Roberfroid.1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition, 125: 1401-1412.
19. Giger-Reverdin, S., N. Bezault, D. Sauvant, and G. Bertin.1996. Effects of a probiotic yeast in lactating ruminants: interaction with dietary nitrogen level. Animal Feed Science and Technology, 63(1): 149-162.
20. Gomez-Basauri, J., M. B. de Ordanza, and J. Siciliano-Jones. 2001. Intake and milk production of dairy cows fed lactic acid bacteria and mannan oligosaccharide. Journal of Dairy Science, 84: 283. (Abst).
21. Hillal, H., G. El-Sayaad, and M. Abdella. 2011. Effect of growth promoters (probiotics) supplementation on performance, rumen activity and some blood constituents in growing lambs. Archives Animal Breeding, 54: 607-617.
22. Jacquette, R. D., R. J. Dennis, J. A.Coalson, D. R. Ware, E. T. Manfredi, and P. L. Read. 1988. Effect of feeding viable Lactobacillus acidophilus (BT1386) on performance of lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 71: 219. (Abst).
23. Jatoba, A., F. N. Vieira, C. C. Buglionneto, B. C. Silva, J. L. P. Mourino, G. T. Jeronimo, G. Dotta, and M. L. Martins. 2008. Use of lactic acid bacteria isolated from the intestinal tract of tilápiado-Nile as probiotic. Agricultural Research, 43: 1201-1207.
24. Kabirian Moghadam, S., A. Hajimohammadi, S. Nazifi, S. A. Razavi, and A. Rowshan-Ghasrodashti. 2020. Effects of Probiotic and Chromium-Methionine on Thyroid Hormones, Total Protein, Zinc, and Weight Gain in Dairy Holstein Calves During the Weaning Period. Iranian Journal of Veterinary Medicine, 14(2): 178-187.
25. Kafilzadeh, F., S. Payandeh, P. Gómez-Cortés, D. Ghadimi, A. Schiavone, and A. L. Martínez Marín. 2019. Effects of probiotic supplementation on milk production, blood metabolite profile and enzyme activities of ewes during lactation. Italian Journal of Animal Science, 18(1), 134-139.
26. Kirjavainen, P. V., H. S. El-Nezami, S. J. Salminen, J. T. Ahokas and P. F. A. Wright 1999. The effect of orally administered viable probiotic and dairy lactobacilli on mouse lymphocyte proliferation. Immunology and Medical Microbiology, 26(2): 131-135.
27. Kowalik, B., J. Skomial, R. Miltko, and M. Majewska.2016. The effect of live Saccharomyces cerevisiae yeast in the diet of rams on the digestibility of nutrients, nitrogen and mineral retention, and blood serum biochemical parameters. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 40(5): 534-539.
28. Krehbiel, C. R., S. R. Rust, G. Zhang, and S. E. Gillilan.2003. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. Journal of Animal Science, 81: 120-132.
29. Kritas, S. K., A. Govaris, G. Christodoulopoulos, and A. R. Burriel. 2006. Effect of Bacillus licheniformis and Bacillus

subtilis supplementation of ewe's feed on sheep milk production and young lamb mortality. Journal of Veterinary Medicine Series A, 53:170–173.
30. Ma, Z. Z., Y. Y. Cheng, S. Q. Wang, J. Z. Ge, H. P. Shi, and J. C. Kou .2020. Positive effects of dietary supplementation of three probiotics on milk yield, milk composition and intestinal flora in Sannan dairy goats varied in kind of probiotics. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 104(1): 44-55.
31. Martin, S. A., and D. J. Nisbet. 1990. Effects of Aspergillus oryzae fermentation extract on fermentation of aminoacids and starch by mixed ruminal microorganisms in vitro. Journal of Animal Science, 68: 2142-2149.
32. Masek, T., Z. Mikulec, H. Valpotic, N. Antunac, N. Mikulec, Z. Stojevic, N. Filipovic, and S. Pahovic.2008a. Influence of live yeast culture (Saccharomyces cerevisiae) on milk production and composition, and blood biochemical of grazing dairy ewes during the milking period. Acta Veterinaria Brno, 77:547–554.
33. Masek, T., Z. Mikulec, H. Valpotic, L. Kusce, N. Mikulec, and N. Antunac. 2008b. The influence of live yeast cells (Saccharomyces cerevisiae) on the performance of grazing dairy sheep in late lactation. Veterinarski Arhiv, 78: 95.
34. Miles, P. H., N. S. Wilkinson, L. R. McDowell. 2001. Analysis of Minerals for Animal Nutrition Research. Department of Animal Science, University of Florida, Gainesville, USA.
35. Mostafa, T. H., F. A. Elsayed, M. A. Ahmed, and M. A. E. lkholany.2014. Effect of using some feed additives (TW-Probiotics) in dairy cow rations on production and reproductive performance. Egyptian Journal of Animal Production, 51(1):1-11.
36. Mousa, K. H., O. M. El-Malky, O. F. Komonna, and S. E. Rashwan. 2012. Effect of some yeast and minerals on the productive and reproductive performance in ruminants. Journal American Science, 8:291–303.
37. Musa, H. H., W. Usl, C.H. Zhu, H. I. Seri, and G. Q. Zhu. 2009. The Potential Benefits of Probiotics in Animal Production and Health. Journal of Animal and Veterinary Advances, 8 (2): 313-321.
38. National Research Council. 2007. Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, Goats, Cervide, and New World Camelids. National Academy of Sciences, Washington DC, USA, 362 P.
39. Olsen, S. R., and L. E. Sommers.1982. Phsphorus. In: Page Methods of soil Analysis. Part Π. 2nd Edition. ASA, SSSA, Madison. WI. USA.
40. Parvaneh, V. 1992. Quality control and the chemical analysis of food. University of Tehran Press
41. Payandeh, S. and F. Kafilzadeh. 2017. The effect of feeding a commercial bacterial probiotic on milk production and blood metabolites in Mehraban ewes. Journal of Animal Production, 19(3):285-599.
42. Pazzola, M., M. L. Dettori, V. Carcangiu, S. Luridiana, M. C. Mura, and G. M. Vacca. 2011. Relationship between milk urea, blood plasma urea and body condition score in primiparous browsing goats with different milk yield level. Archives Animal Breeding, 54: 546-556.
43. Piva, G., S. Belladonna, G. Fusconi, and F. Sicoaldi. 1993. Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood composition and milk manufacturing properties. Journal of Dairy Science, 76: 2717-2722.
44. Raeth-Knight, M. L., J. G. Linn, and H. G. Jung. 2007. Effect of direct-fed microbials on performance, diet digestibility, and rumen characteristics of Holstein dairy cows. Journal of Dairy Science, 90(4):1802-1809.
45. Raynal-Ljutovac, K., G. Lagriffoul, P. Paccard, Y. Chilliard. 2008. Composition of goat and sheep milk products: An update. Journal of Small Ruminant Research, 79: 57-72.
46. Reklewska, B., Z. Ryniewicz, J. K. Krzyzewski, A. araszewska, M. Goralczyk, K, Zdziarski. T, Nalecz-Tarwacka, and N. Strzalkowska.2000. Dietary manipulation of milk protein content in goats. Annals of Warsaw Agricultural University, 35: 133-143.
47. Shornikova, A.V., I.A. Casas, E. Isolauri, and T. Vesikari.1997. Lactobacillus reuteri as a therapeutic agent in acute diarrhoea in young children. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 24(4): 399- 404.
48. Stein, D. R., D. T. Allen, E. B. Perry, J. C. Bruner, K. W. Gates, T. G. Rehberger, K. D. Mertz, and L. J. Spicer. 2006. Effects of feeding propionibacteria to dairy cows on milk yield, milk components, and reproduction. Journal of Dairy Science, 89(1):111-125.
49. Stella, A. V., R. Paratte, L. Valnegri, G. Cigalino, G. Soncini, E. Chevaux, V. DellOrto, and G. Savoni. 2007. Effect of administration of live Saccharomyces cerevisiae on milk production, milk composition, blood metabolites, and faecal flora in early lactating dairy goats. Small Ruminant Research, 67(1):7-13.
50. Swartz, L., L. D. Muller, G. W. Rogers, and G. A. Vorga. 1994. Effect of yeast cultures on performance of lactating dairy cows: a field study. Journal of Dairy Science, 77: 3073- 3080.
51. Titi, H. H., R. O. Dmour, and A. Y. Abdullah. 2008. Growth performance and carcass characteristics of Awassi lambs and Shami goat kids fed yeast culture in their finishing diet. Animal Feed Science and Technology, 142(1-2): 33-43.
52. Williams, P. E., C. A. Tait, G. M. Innes, and C. J. Newbold. 1991. Effects of the inclusion of yeast cultures (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentations patterns in the rumen of steers. Journal of Animal Science, 69: 3016-3022.
53. Yalcin, S., S. Yalcin, P. Can, A.O. Gurdal, C. Bagci, and O. Eltan. 2011. The nutritive value of live yeast culture (*Saccharomyces cerevisae*) and its effect on milk yield, milk composition and some blood parameters of dairy cows. Asian-Australian Journal of Animal Science, 24: 1377-1385.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 489-498

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۴۹۸-۴۸۹

The Effect of Protexin Probiotics in the Last Month of Pregnancy on the Colostrum Compositions and Milk Yield of Lori Bakhtiyari Ewes

Mohammad Doralibeni[1] , Fariba Rezai-Sarteshnizi[2*], Saeid Karimi Dehkordi[3], Ali Moharrery[3], Hossien Mehrban[3]

Submitted: 18-09-2019
Accepted: 02-01-2021

Doralibeni, M., F. Rezai-Sarteshnizi, S. Karimi Dehkordi, A. Moharrery, and H. Mehrban. 2022. The Effect of Protexin Probiotics in the Last Month of Pregnancy on Body Weight of Ewes, the Compositions, Colostrum Minerals and Milk Compositions of Lori Bakhtiyari ewes. Iranian Journal of Animal Science Research 13(4):489-498.

Introduction The use of additives that improve the microbial function of the rumen seems to be essential. Probiotics is a Latin word for life. Probiotics are living microorganisms that contain beneficial bacteria and yeasts. The most important feature of probiotics is that while reducing the pathogenic germs in the gastrointestinal tract and improving the feed conversion ratio in the animal, they do not have any residual tissue and unlike antibiotics do not cause microbial resistance. Probiotics are now used not only as growth stimulants but also to stimulate the immune system and prevent many diseases. The use of probiotics to improve function, improve health, and change in rumen ecosystems are a good alternative to antibiotics. Sheep milk has a great nutritional value used in cheese, yogurt, butter and other dairy products. Studies investigating the effect of adding probiotics to sheep feed on milk production and composition are scarce, and most studies have been conducted in dairy cows. Reports have shown contradictory results on the addition of probiotics to milk production and compounds. Due to the limitation of the effect of probiotic supplementation on sheep milk production and composition, especially Lori Bakhtiari sheep, the present study aimed to investigate the effect of oral probiotics on the process of colostrum and milk compounds in the first month of lactation.

Materials and Methods The study was conducted in Chaharmahal va Bakhtiari province. For this purpose, 28 Lorri Bakhtiari ewes, first abdomen to the sixth abdomen were selected in the last month of pregnancy. All ewes were fed a similar diet. The ewes were divided into two groups of 14 and received experimental treatments for one month. Treatments included 1) control (the group that did not take probiotics) 2-the group who consumed 1 gram of probiotic per day. In the experimental group (14), in addition to the above diet, in the morning, 1 g of probiotic was dissolved in 5 ml of water and fed to the ewes via syringe. The probiotic used in this study was protexin. Colostrum samples were taken from each ewe after calving to measure colostrum factors. Albumin and total protein concentrations were measured using Pars test kits and the photometric method. Globulin concentration is calculated by subtracting albumin from total protein. Gerber method was used to measure the percentage of colostrum fat. We need ash to measure colostrum minerals. To do this, pour 5 grams of colostrum into the bush, then place the bushes in the oven to dry. The samples were kept at this temperature for 24 hours until they were completely gray and turned white. Finally, the concentration of minerals was measured by atomic absorption spectrophotometer using a dry digestion method. Phosphorus was measured by the yellow method. Milk samples were taken from each ewe on the 14th day of lactation to measure milk factors such as fat, protein, lactose, solids and milk freezing point. They were measured using a milk analyzer.

Results and Discussion The results showed that the addition of probiotics protexin had no significant effect on body weight, colostrum factors including albumin, total protein, globulin and fat (P >0.05). The concentration of colostrum minerals (arsenic, cadmium, cobalt, copper, iron, lead, magnesium, manganese, molybdenum,

1- M.Sc. graduate, Department of Animal Sceince, ShahreKord University, Shahrekord, iran.
2- Ph.D. in Animal Nutrition, Department of Animal Sceince, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, iran.
3- Respectively Associate Professor, Professor and Assistant Professor, Department of Animal Sceince, Shahrekord University,ShahreKord, Iran.
*Corresponding Author Email: Faribarezai38@yahoo.com
Doi:10.22067/ijasr.2021.38244.0

sodium, nickel, phosphorus, selenium, tin, zinc and calcium) was also not affected (P>0.05). So far, no studies have been performed on the addition of probiotics protexin to colostrum factors and minerals. However, there have been studies of the addition of probiotics to concentrations of albumin, total protein, and globulin and blood minerals. Contradictory results have also been reported in this case. The addition of protexin probiotics at the end of pregnancy on milk factors (fat, lactose, protein, solids and freezing point) in ewes was not significant (P >0.05). Consistent with our study, commercial bacterial probiotic feeding in ewes had no significant effect on the production and chemical composition of ewes. In other species of ruminants, the addition of bacterial probiotics and yeast probiotic resulted in inconsistent results on milk composition. The results were inconsistent due to differences in the amount and type of probiotic used, probiotic feeding method, type of ruminant, duration of probiotic use, and conditions of the ruminant (lactation).

Conclusion Overall, the results showed that the addition of probiotics in the last month of pregnancy had no significant effect on body weight, colostrum factors, colostrum mineral content and milk composition of Lori Bakhtiari ewes. This indicates that the rations were normal and had no negative effect of probiotics in the last month of gestation on ewes.

Keywords: Probiotics protein, Colostrum factors, Colostrum minerals, Milk compounds, Lorri Bakhtiari's ewe.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 499-512

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۵۱۲-۴۹۹

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر استفاده از پودر هسته خرما در جیره بر عملکرد، قابلیت هضم، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای و خونی گوسفند عربی

طاهره محمدآبادی[1*]، زینب غزی[1]، صالح طباطبایی وکیلی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۲۵

محمدآبادی، ط.، ز. غزی، و ص. طباطبایی وکیلی. ۱۴۰۰. بررسی تأثیر استفاده از پودر هسته خرما در جیره بر عملکرد، قابلیت هضم، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای و خونی گوسفند عربی. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۳(۴): ۵۱۲-۴۹۹.

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تأثیر پودر هسته خرما بر عملکرد و هضم پذیری مواد مغذی در گوسفند عربی جهت کاهش قیمت جیره و استفاده‌ی بهینه از محصولات فرعی کشاورزی انجام شد. در مرحله اول آزمایش، برای تعیین مقدار مناسب استفاده از هسته خرما، از مقادیر ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و۲۰ درصد هسته‌ی خرما در جیره استفاده شد و با آزمایش هضم برون‌تنی بهترین مقدار مشخص شد. در مرحله دوم از ۱۵ رأس بره‌ی نر عربی با میانگین وزنی ۵±۳۹ کیلوگرم و سن ۱۰ ماه در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۵۰ روز استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل جیره شاهد و جیره‌های حاوی ۵ و ۱۰ درصد هسته خرما (۴ تکرار برای هر تیمار) بودند که از نتایج آزمایشگاهی بدست آمد. در این مرحله قابلیت هضم، مصرف موادمغذی، عملکرد، جمعیت تک یاخته‌ها، فراسنجه های شکمبه‌ای و خونی و فراسنجه های هضم و تخمیر دام‌ها بعد از تغذیه با هسته خرما نیز ارزیابی شدند. درمرحله اول سطوح ۵ و ۱۰ هسته خرما هضم‌پذیری بالاتری نشان دادند (P<۰/۰۵). ماده خشک مصرفی بره‌ها در تیمارهای حاوی هسته خرما افزایش یافت، اما قابلیت هضم ماده آلی، ماده خشک و پروتئین خام کاهش یافت (P<۰/۰۵). استفاده از هسته خرما سبب افزایش وزن دام‌ها و بهبود معنی‌دار ضریب تبدیل خوراک در تیمار ۵ و ۱۰ درصد گردید (P<۰/۰۵). غلظت گلوکزخون تحت تأثیر تیمارهای آزمایش قرار نگرفت. غلظت نیتروژن اوره‌ای خون، کراتینین، تری‌گلیسرید و LDL به طور معنی‌داری در تیمارهای حاوی هسته خرما کاهش یافت (P<۰/۰۵). با این حال غلظت کلسترول و HDL در تیمار حاوی ۱۰ درصد هسته خرما به طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). جمعیت تک یاخته‌های شکمبه، نیتروژن آمونیاکی و pH به طور معنی‌داری در تیمارهای حاوی هسته خرما نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد (P<۰/۰۵). پتانسیل و نرخ تولید گاز از کنجاله سویا با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی و بازده سنتز توده زنده میکروبی و هضم‌پذیری ماده آلی برای تیمار شاهد و PF و توده زنده میکروبی برای تیمار حاوی ۱۰ درصد هسته خرما به طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). همچنین پتانسیل و نرخ تولید گاز کاه گندم با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی و توده زنده میکروبی و هضم‌پذیری ماده آلی برای تیمار شاهد و PF و راندمان سنتز توده زنده میکروبی برای تیمار حاوی ۱۰ درصد هسته خرما به طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج پژوهش حاضر، به دلیل عدم تأثیر منفی هسته خرما بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای و خونی و بهبود عملکرد حیوان، هسته خرما می‌تواند تا سطح ۱۰ درصد در جیره گوسفندان عربی استفاده شود. بنابراین استفاده از هسته خرما با اثر بر بهبود عملکرد دام‌ها و وجود منبع بالایی از فیبر، انرژی و اسیدهای چرب، جایگزین قابل قبولی در جیره گوسفندان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تخمیر شکمبه‌ای، عملکرد، فراسنجه‌های خونی، قابلیت هضم، هسته خرما.

مقدمه

با توجه به کمبود منابع علوفه‌ای و محدودیت منابع آبی و قیمت بالای مواد خوراکی، استفاده از منابع علوفه‌ای و غیر علوفه‌ای بومی و ارزان اهمیت زیادی دارد. خرما با نام علمی *فونیکس داکتیلی فرا* از

۱- استاد و دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، خوزستان، ایران.
۲- دانشیار ، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، خوزستان، ایران.

(*- نویسنده مسئول: Email: mohammadabadi@asnrukh.ac.ir)
Doi:10.22067/ijasr.2021.38269.0

خانواده پالماسه بوده که دارای ۲۳ جنس و ۱۲۰۰ گونه است که روی هم رفته تیره‌ای بسیار بزرگ و مشخص را در سراسر جهان تشکیل می‌دهد و مراکز اصلی انتشار آن، سواحل استوایی آفریقا، آسیا، هند و آمازون می‌باشد (۱۸). آنالیزتقریبی هسته خرما نشان میدهدکه هسته خرما در دسته خوراک‌های دارای انرژی با کیفیت متوسط و محتوی پروتئین خام مناسب برای نشخوارکنندگان طبقه‌بندی می‌شود. با این حال با توجه به نحوه روغن‌گیری و مقدار هسته‌ای که با آن مخلوط شده است، ترکیب شیمیایی این محصول فرعی متنوع است (۳۲). هسته خرما می‌تواند میزان پروتئین و فیبر مورد نیاز نشخوارکنندگان را تأمین کند. محققان میزان پروتئین خام، خاکسترخام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، سلولز، همی‌سلولز و لیگنین کنجاله هسته خرما را به ترتیب ۴/۹، ۲۱/۱، ۴۰/۷، ۴۳/۳، ۲۶/۴، ۶/۴ و ۷/۴ درصد گزارش کردند. همچنین مقادیرانرژی خام، فیبر خام، کربوهیدرات‌ها، چربی و کلسیم به ترتیب ۴۶۶۳ کیلوکالری در کیلوگرم، ۳۱/۱، ۷۷/۲، ۱۰/۱ و ۰/۶۱ درصد بیان شد (۵). در مطالعه ای دیگر، میزان ماده خشک، خاکستر، چربی خام، فیبر خام، عصاره عاری از نیتروژن و پروتئین خام در هسته خرما به ترتیب ۹۲، ۱/۹، ۸، ۲۳/۳، ۵۲/۹ و ۶ درصد گزارش شد (۳).

در تحقیق دیگری روی هسته خرما، میزان دسترسی اسیدهای آمینه آن ۶۵ درصد تعیین شد (۲۹). هسته خرما مجموعه‌ای از اسیدهای آمینه بسیار ضروری مانند لایزین، ایزولوسین، لوسین، متیونین، ترئونین، والین وفنیل آلانین را در بردارد (۵). مقدار مواد معدنی پر نیاز مانند کلسیم و فسفر هسته خرما قابل قبول بوده و به ترتیب حدود ۳/۵ و ۲/۳ گرم در کیلوگرم ماده خشک هسته خرما می‌باشد (۱۰). با این حال در هسته خرما نسبت کلسیم به فسفر پایین است لذا جیره‌های بر پایه هسته خرما برای تأمین احتیاجات حیوان، نیاز به مکمل کلسیم دارند. هسته خرما دارای پوششی سخت است که در حین جویدن توسط حیوان مقاومت کرده و از دهان خارج و یا آن‌هایی که بلعیده شده بدون هضم شدن از طریق دستگاه گوارش دفع می‌گردد (۲۲). بخش‌هایی مانند ترکیبات فنلی، ترکیبات فرار، توکوفرول (خانواده ویتامین E)، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و دیگر ترکیبات موجود در هسته خرما مورد توجه محققین قرار گرفته است (۳۸). محققان از هسته خرما به مقادیر ۵ تا ۲۷ درصد در خوراک جوجه‌های گوشتی استفاده و مشاهده نمودند که ضریب تبدیل خوراک قابل قیاس یا حتی بهتر از نمونه شاهد است.

در مطالعه‌ای گزارش شد، افزایش استفاده از تفاله خرما درتغذیه گوسفندان کرمانی باعث کاهش گلوکزخون و نیتروژن آمونیاکی شکمبه شد (۲۳). تغییر معنی داری در غلظت کلسترول خون بره‌ها بین تیمارهای حاوی هسته خرما مشاهد نشد (۳). نتایج حاصل از پژوهش‌ها بیانگر وجود مقادیر زیاد فیبرهای مغذی در هسته خرما است که از نظر تغذیه‌ای بسیار مفید هستند. این ترکیبات علاوه بر تأثیر مطلوبی که در تنظیم حرکات دودی روده‌ها دارند ممکن است دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هم باشند (۴۱). اطلاعات در مورد استفاده از هسته خرما به تنهایی در تغذیه گوسفندان نر عربی محدود است، بنابراین این مطالعه با هدف تأثیر پودر هسته خرما بر عملکرد و هضم پذیری مواد مغذی در گوسفند عربی جهت کاهش قیمت جیره و استفاده‌ی بهینه از محصولات فرعی کشاورزی انجام شد.

مواد و روش‌ها

ابتدابه منظور تعیین سطح مناسب هسته خرما، جیره‌های حاوی مقادیر مختلف هسته خرما (۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد) با استفاده از روش آزمایشگاهی تلی و تری مورد بررسی قرار گرفتند. برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد، مایع شکمبه از گوسفندان تغذیه شده با جیره علوفه‌ای از طریق لوله مری به کمک شیلنگ و پمپ خلاء تهیه شد. پس از تعیین قابلیت هضم ماده خشک، NDF و ADF بهترین سطوح هسته خرما در جیره به منظور استفاده در دام انتخاب شدند. هسته خرما از شهرستان شادگان تهیه و به منظور استفاده در جیره‌های آزمایشی آسیاب گردید.

در مرحله دوم آزمایش، از ۱۵ رأس گوسفند نر نژاد عربی با میانگین سن و وزن ۱۰ ماه و ۵±۳۹ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. یک هفته پیش از شروع، در یک مرحله عملیات پشم چینی، واکسیناسیون و خوراندن داروهای ضد انگل انجام شد. قوچها در قفس‌های متابولیکی نگه‌داری شده و با جیره‌های آزمایشی به مدت ۵۰ روز تغذیه شدند. جیره غذایی دام‌های مورد مطالعه براساس وزن و مطابق با جداول احتیاجات گوسفند (۳۰) تنظیم شدند. تیمارها شامل سه سطح هسته خرما (۰، ۵ و ۱۰ درصد) بودکه به صورت بخشی از کنسانتره به جیره گوسفندان اضافه شد (جدول ۱).

جیره مورد استفاده حاوی ۶۰ درصد علوفه و ۴۰ درصد کنسانتره بود. خوراک روزانه در دو وعده غذایی صبح و عصر ساعت (۸ و ۱۶) توزین و به‌صورت یکنواخت در اختیار دام‌ها قرار داده شد. مقدار باقیمانده خوراک، قبل از خوراک روز بعد جمع‌آوری و وزن می‌شد تا میزان مصرف خوراک روزانه محاسبه گردد. مقادیر خوراک مصرفی، باقیمانده خوراک و مدفوع برای تعیین قابلیت هضم مواد مغذی به مدت ۷ روز جمع‌آوری و ثبت شد. همچنین نمونه‌های مایع شکمبه، ۳ ساعت پس از خوراک‌دهی صبح، به میزان ۲۰ میلی‌لیتر، با روش لوله مری در روز ۴۵ آزمایش گرفته شد. بلافاصله pH با استفاده از دستگاه pH متر (متروم مدل ۸۲۷، آلمان) اندازه‌گیری شد. نمونه مایع شکمبه با استفاده از پارچه نخی ۴ لایه صاف‌شده و پس از صاف کردن، ۱۰ میلی‌لیتر از آن با ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شده و بلافاصله به فریزر منتقل و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شد.

جدول ۱-اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (درصد ماده خشک)

Table 1-Ingredients and chemical compositions of experimental diets (% DM)

اقلام feed	درصد هسته خرما در جیره Palm kernel percentage in diet				
	0	5	10	15	20
یونجه Alfalfa	40	40	35	35	35
هسته خرما Palm kernel	0	5	10	15	20
کاه گندم Wheat straw	20	20	25	25	25
ذرت Corn	26	20	23	14	10
سبوس گندم Wheat bran	13	14	6	10	9
نمک طعام Salt	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
مکمل معدنی ویتامینی[1] Mineral vitamin Supplement[1]	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
ترکیب شیمیایی Chemical composition					
انرژی متابولیسمی (کیلوکالری/ کیلوگرم) ME (Kcal/kg)[1]	2.39	2.39	2.45	2.50	2.53
پروتئین خام (درصد) CP (%)[2]	15.3	15.56	15.70	15.10	15.25
عصاره اتری (درصد) EE (%)[3]	5.2	6.5	6.7	6.9	6.12
کلسیم (درصد) Ca (%)	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9
فسفر (درصد) P (%)	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7

[1] هر کیلوگرم مکمل معدنی ویتامینی حاوی ۶۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین D، ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۲۵۰۰ میلی‌گرم آنتی اکسیدان، ۱۹۵ گرم کلسیم، ۸۰ گرم فسفر، ۲۱۰۰۰ میلی‌گرم منیزیم، ۲۲۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۰۰۰ میلی-گرم آهن، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۳۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۲ میلی‌گرم ید و ۱/۱ میلی‌گرم سلنیوم.

[1]One-kilogram vitamin and mineral premix included: vitamin A, 600000 IU; vitamin D, 200000 IU;vitamin E, 200 mg; Antioxidant, 2500 mg; Calcium, 195 g; Phosphorus, 80 gr; Magnesium, 21000 mg; Manganese, 2200 mg; Iron, 3000 mg; Copper, 300 mg; Zinc, 300 mg; Cobalt, 100 mg; Iodide, 12 mg and Selenium, 1.1 mg

غلظت نیتروژن آمونیاکی با روش فنول-هیپوکلرایت و استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد (۱۲). در هفته پایانی دوره از گوسفندان در روز ۴۴ آزمایش، ۴ ساعت بعد از مصرف خوراک صبحگاهی خون‌گیری پس از ضدعفونی کردن از سیاهرگ گردنی و با استفاده از ونوجکت‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر ماده ضد انعقاد انجام گرفت. در آزمایشگاه نمونه‌های خون سانتریفوژ (۳۰۰۰ دورو به مدت ۱۵ دقیقه) و پلاسمای حاصل از آن‌ها جدا گردید و جهت آنالیزهای بعدی (گلوکز، کلسترول، کراتینین، تری‌گلیسرید، نیتروژن اوره‌ای خون،LDL,HDL در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. شمارش تعداد تک‌یاخته‌ها، با اضافه کردن فرمالدئید به مایع شکمبه و با استفاده از لام هموسایتومتر به روش پیشنهادی دهوریتی (۱۳) انجام گرفت.

قابلیت هضم و تخمیر کاه گندم و کنجاله سویا (۴ تکرار برای هر نمونه) با روش آزمایش تولید گاز اندازه‌گیری شد. مایع شکمبه از گوسفندان تغذیه‌شده با سطوح مختلف هسته خرما با روش شرح داده‌شده در مرحله اول آزمایش، قبل از خوراک‌دهی صبح جمع‌آوری و

با پارچه چهار لایه صاف شده و در فلاسک مخصوص به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه ۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه با ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی مخلوط شد. بزاق تازه با مخلوط کردن ۲۴۰ میلی لیترمحلول معدنی پرنیاز، ۲۴۰ میلی‌لیتر بافر، ۰/۱۲ میلی‌لیتر محلول معدنی کم‌نیاز، ۱/۲۲ میلی‌لیتر محلول ریزازورین ۰/۱ درصد و ۴۰ میلی‌لیتر محلول احیا (۰/۲۸۵ گرم سولفید سدیم ۹ آبه در ۲ میلی لیتر از سود یک مولار حل شد و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد) تهیه شد (۲۶).

حجم گاز تولیدی حاصل از ۳۰۰ میلی‌گرم نمونه خوراک در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۹ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد. فراسنجه‌های تولید گاز با معادله نمایی فرانس به دست آمدند.

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

که در این معادله p: پتانسیل تولید گاز، b: تولید گاز از بخش قابل تخمیر (میلی لیتر)، c: نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)، t: زمان و e: عدد نپری هست.

عامل جداکننده (PF)، بیومس، راندمان بیومس میکروبی و هضم پذیری واقعی ماده آلی نیز اندازه‌گیری شدند.

تجزیه‌وتحلیل آماری

تجزیه داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با رویه GLM به‌وسیله نرم‌افزار SAS صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها به‌وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج مرحله برون‌تنی نشان داد (جدول ۲) که هضم پذیری ماده خشک در بین جیره‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). با افزایش سطح هسته خرما در جیره، هضم پذیری ماده خشک روند کاهشی پیدا کرد، به‌طوری‌که بیشترین مقدار مربوط به جیره شاهد و کمترین مقدار مربوط به جیره حاوی ۲۰ درصد هسته خرما است. بر این اساس در بین تیمارهای دارای هسته‌خرما، بیشترین میزان هضم پذیری ماده خشک در سطح ۵ و ۱۰ درصد و کمترین در سطح ۲۰ درصد نسبت به تیمار شاهد است.

بر طبق تحقیقات، محتوای بالای دیواره سلولی و وجود تانن در هسته خرما، منجر به کاهش اتصال میکروارگانیسم‌ها به دیواره سلولی و کاهش تخمیر و هضم میکروبی می‌شود (۲۵).

جدول ۲- قابلیت هضم آزمایشگاهی جیره‌های حاوی سطوح مختلف هسته خرما (درصد)[1]

Table 2- *In vitro* digestibility of diets containing different levels of palm kernel (%)[1]

درصد هسته خرما Palm kernel (%)	قابلیت هضم Digestibility		
	Dry matter	NDF [2]	ADF [3]
0	75.23 [a]	50.35 [a]	45.65 [a]
5	73.31 [a]	45.76 [b]	38.78 [b]
10	68.18 [b]	40.68 [b]	30.45 [c]
15	64.43 [c]	38.14 [cb]	26.56 [c]
20	60.08 [d]	35.44 [c]	20.39 [d]
SEM	1.002	2.10	1.30
P-value	0.006	0.0001	0.007

[1]در هر ستون اعداد دارای حروف غیرمشابه ازنظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

[1]Means in column with differing superscripts differ (P<0.05).
[2] NDF: Neutral detergent fiber
[3] ADF: Acid detergent fiber
SEM: Standard error of means.

تأثیر جیره‌های آزمایشی بر مصرف ماده خشک معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)، به‌طوری خوراک مصرفی به ترتیب در جیره ۵ و ۱۰ درصد هسته خرما افزایش یافت (جدول ۳). مصرف ماده آلی به‌طور معنی‌داری با افزایش هسته خرما در جیره گوسفندان کاهش پیدا کرد و در جیره حاوی ۱۰ درصد هسته خرما کمترین مقدار بود.

تفاوت موجود در ماده خشک مصرفی و مصرف مواد مغذی را می‌توان به مقدار فیبر و لیگنین موجود در هسته خرما نسبت داد که بر میزان مصرف خوراک تأثیرگذار است. در مطالعه‌ای (۱) افزودن خرمای ضایعاتی در جیره بره‌های پرواری تغییر معنی‌داری در مصرف خوراک دام‌ها ایجاد نکرد. اگرچه با کاهش اندازه ذرات، نرخ عبور مواد

خوراکی از شکمبه افزایش می‌یابد اما ممکن است مقدار مصرف خوراک در نرخ عبور متفاوت یکسان باقی بماند. نتایج پژوهشی (۶) روی خرمای ضایعاتی نشان داد که استفاده از خرمای ضایعاتی در سه سطح ۰، ۱۰ و ۲۰ درصد در جیره گوسفندان به‌صورت جایگزین با بخشی از کنسانتره، اثری بر میانگین خوراک مصرفی گوسفندان نداشت. محققان گزارش کردند خرمای ضایعاتی (شامل بخش گوشتی و هسته خرما) از طریق افزایش خوش‌خوراکی جیره و یا نرخ عبور مواد از شکمبه باعث افزایش ماده خشک مصرفی در حیوانات می‌شود (۵).

جدول ۳- مصرف خوراک، عملکرد و قابلیت هضم مواد مغذی در گوسفندان تغذیه‌شده با جیره حاوی هسته خرما[۱]

Tabel 3- Feed intake, performance and digestibility of nutrients in sheeps fed with diets containing palm kernel[1]

مصرف خوراک، عملکرد و قابلیت هضم مواد مغذی Feed intake, performance and digestibility of nutrients	هسته خرما (درصد) Palm kernel (%) 0	5	10	SEM[2]	P-value
مصرف مواد مغذی (گرم در روز) Nutrient intake(g/day)					
خوراک مصرفی روزانه (گرم) Feed intake (g)	1435 ab	1492 a	1627 a	40.8	0.043
ماده آلی مصرفی Organic matter intake	949.12 b	950.10 b	988.4 a	48.42	0.006
پروتئین مصرفی Protein intake	149.398	150.612	152.699	3.010	0.065
ماده آلی دفعی Excretion organic matter	304.401 a	276.432 b	200.111 c	12.32	0.007
ماده خشک دفعی Excretion dry matter	295.112 a	235.912 b	201.011 c	20.16	0.0010
پروتئین دفعی Excretion protein	35.98 c	51.78 b	60.66 a	2.130	0.017
قابلیت هضم (درصد) Digestibility(%)					
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF	40.101 a	30.420 b	25.125 c	1.50	0.0310
ماده خشک Dry matter	69.101 a	54.920 b	49.220 c	2.091	0.041
پروتئین خام CP	60.245 a	59.917 a	50.545 b	2.18	0.0290
الیاف نامحلول درشوینده خنثی NDF	56.101 a	53.412 a	49.125 b	1.50	0.0310
ماده آلی Organic matter	65.66 a	60.78 b	51.98 c	20.31	0.0281
عملکرد (گرم) Performance					
ضریب تبدیل conversion ratio	7.2 a	6.3 b	6.7 b	0.87	0.0643
وزن اولیه first weight	36.66 c	38.25 b	43.5 a	0.70	0.042
وزن نهایی Final weight	45.5 c	50.3 b	55.5 a	0.54	0.033
کل افزایش وزن (گرم) Total weight gain (g)	8.84 b	12.05 a	12 a	2.98	0.0180
افزایش وزن روزانه (گرم) Daily weight gain(g)	176.8 c	241 b	240 a	25.4	0.0575

[۱] در هر ردیف اعداد دارای حروف غیرمشابه ازنظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

[۲] خطای استاندارد میانگین‌ها.

[1]Means in rows with differing superscripts differ (P<0.05).

[2]SEM: Standard error of means.

استفاده از مقادیر مختلف هسته خرما (جدول ۳) در جیره سبب کاهش قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، NDF و ADF شد (P<۰/۰۵). استفاده از هسته خرما سبب بهبود افزایش وزن دام‌ها و بهبود معنی‌دار ضریب تبدیل خوراک (جدول ۳) در تیمار ۵ و ۱۰ درصد شد (P<۰/۰۵).

بر طبق نتایج، بیشترین میزان افزایش وزن روزانه مربوط به گوسفندان تغذیه شده با ۱۰ درصد هسته خرما بود. جیره حاوی ۱۰ درصد هسته خرما دارای انرژی و چربی بیشتری نسبت به جیره های دیگر بوده که این امر منجر به افزایش پروتئین ورودی به روده و در نتیجه مصرف اختیاری خوراک می گردد. همچنین افزایش وزن و بهبود عملکرد با افزایش هسته خرما در جیره، می تواند به دلیل میزان بالاتر چربی و انرژی هسته خرما باشد (۳۶). در تحقیقی عنوان شد که وزن نهایی و افزایش وزن روزانه گوسفندان مصرف‌کننده ضایعات خرما در تیمار ۳۰ درصد بالاترین مقدار بود که احتمالاً به دلیل خوش‌خوراکی جیره و مصرف بالاتر مواد خوراکی بوده است (۸). اما دیگر محققان (۱)، گزارش کردند که تفاوت معنی داری در رشد روزانه و ضریب تبدیل بزغاله های تغذیه شده با خرمای ضایعاتی دیده نشد.

در مطالعه‌ای که روی تفاله خرما انجام گرفت، هضم پذیری ماده خشک برای تیمارهای شاهد و ۱۵ درصد تفاله خرما یکسان به دست آمد اما در سطوح ۳۰ و ۴۵ درصد تفاله خرما هضم پذیری ماده خشک کاهش یافت (۱۶). در مطالعه‌ای دیگر (۴۴)، که روی اثر سطوح مختلف خرمای ضایعاتی بر هضم پذیری ظاهری مواد مغذی انجام گرفت نشان داده شد که استفاده از سطوح متفاوت خرمای ضایعاتی در جیره، گوارش‌پذیری ماده خشک را تحت تأثیر قرار نداده است. این تفاوت در آزمایش‌ها می‌تواند ناشی از مقدار خرما و نوع خرما و یا ترکیبات منحصربه‌فرد کنسانتره مصرفی، نژاد حیوان و مدت‌زمان آزمایش به وجود آمده باشد (۴). میزان فیبر خام در هسته خرما ۳۹/۶ درصد و میزان لیگنین ۱۰/۱۴–۱۳/۳۵ درصد و دیواره سلولی ۸۰ درصد است که محققان گزارش کردند نسبت ماده خشک محلول، لیگنین و همی‌سلولز در خوراک‌ها سبب تفاوت زیادی در قابلیت هضم دیواره سلولی آن‌ها می‌شود (۳۹). کاهش قابلیت هضم ماده خشک تفاله خرما در مطالعات می‌تواند به دلیل ترکیبات لیگنو سلولزی بالای موجود در آن باشد که اتصالات قوی شیمیایی بین لیگنین و بسیاری از پلی‌ساکاریدهای و پروتئین‌های دیواره سلولی از هضم آن‌ها جلوگیری و یا از میزان هضم آن‌ها می‌کاهد. همچنین بر طبق مطالعات تانن باعث افزایش ترشح بزاق، افزایش مصرف خوراک، افزایش نرخ عبور و کاهش ماندگاری در شکمبه شده که درنتیجه منجر به کاهش قابلیت هضم ماده خشک می‌شود. در این آزمایش نیز وجود تانن در هسته خرما که به‌طور میانگین ۳/۸ درصد گزارش‌شده است (۳۵)، قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام را به‌طور معنی‌داری کاهش داد.

نتایج مربوط به فراسنجه‌های تخمیری شکمبه نشان داد استفاده از هسته خرما در جیره‌های آزمایشی باعث کاهش pH و نیتروژن آمونیاکی شکمبه گوسفندان شد (جدول ۴) (P<۰/۰۵).

در مورد فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای یکی از علل احتمالی کاهش pH شکمبه در این آزمایش می‌تواند کاهش جمعیت تک‌یاخته‌های شکمبه در اثر وجود تانن و اسیدهای چرب در هسته خرما باشد که با کاهش تعداد آن‌ها به دلیل تخمیر سریع کربوهیدرات‌ها، pH کاهش می‌یابد. همچنین وجود تانن در خوراک موجب کاهش pH شکمبه شده است. در مورد اثرات فیبری هسته خرما نیز می‌توان گفت که pH مایع شکمبه نه‌تنها به‌وسیله فیبر جیره، بلکه به‌وسیله تعادل بین تولید اسید حاصل از تخمیر و ترشح بزاق تعیین می‌شود.

محققین نشان دادند که میزان تولید نیتروژن آمونیاکی حاصل از تجزیه اسیدهای آمینه در شکمبه تحت اثر اسیدهای چرب موجود در جیره‌های خوراکی نیز کاهش‌یافته است (۴۲). محققان در مقایسه اثرات سطح و نوع چربی در گاوهای شیری نشان دادند که افزودن روغن منداب باعث کاهش مقدار نیتروژن آمونیاکی شکمبه ۲/۵ ساعت پس از خوراک‌دهی صبح گردید (۴۲). در گزارشی (۳۳) کاهش غلظت آمونیاک هنگام استفاده از چربی را به کاهش تعداد تک‌یاخته‌ها و کاهش بازیافت نیتروژن میکروبی مرتبط دانسته‌اند که منجر به کاهش تجزیه پروتئین به نیتروژن آمونیاکی می‌شود. به نظر می‌رسد اسیدهای چرب در هسته خرما با مکانیسم اثر مهارکنندگی بر تک‌یاخته‌ها، احتمالاً باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی شده‌اند (۲۰). همچنین کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی را می‌توان به تانن موجود در هسته خرما نسبت داد که کاهش نیتروژن آمونیاکی در جیره‌های حاوی تانن نسبت به جیره‌های فاقد تانن بیشتر بود که ممکن است به دلیل کاهش تجزیه شدن پروتئین در شکمبه باشد که تشکیل کمپلکس تانن پروتئین باعث کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه و درنتیجه کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شده است (۱۷).

جمعیت گونه‌های *هلوتریش*، *سلولولا یتیک*، *انتودینیوم* و همچنین کل تک‌یاخته‌ها (جدول ۴) در مایع شکمبه گوسفندان به‌طور معنی‌داری تحت تاثیرجیره‌های آزمایشی قرار گرفتند (P<۰/۰۵).

جدول ٤-فراسنجه‌های تخمیر و جمعیت تک‌یاخته‌ها (10^5) در گوسفندان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی هسته خرما[1]

Table 4- Fermentation parameters and protozoa population (10^5) in sheeps fed with diets containing palm kernel[1]

فراسنجه‌های تخمیر Fermentation parameters	سطوح هسته خرما (درصد) Palm kernel (%)			SEM[2]	P-value
	0	5	10		
pH	7.20 [a]	6.66 [b]	6.60 [b]	0.005	0.07
نیتروژن آمونیاکی (mg/100ml) Ammonia nitrogen	28.60 [a]	20.90 [b]	19.05 [c]	0.013	0.023
کل تک‌یاخته‌ها Total protozoa	9.60 [a]	6.21 [b]	5.90 [c]	1.10	0.016
هلوتریش Holotirish	0.15 [c]	0.22 [b]	0.45 [a]	0.06	0.023
سلولولیتیک Cellulolytics	0.75 [a]	0.55 [b]	0.42 [c]	0.028	0.015
انتودینیوم Entodinium	5.55 [c]	6.25 [b]	7.70 [a]	0.08	0.078

[1] در هر ردیف اعداد دارای حروف غیرمشابه ازنظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

[2] خطای استاندارد میانگین‌ها.

[1]Means in rows with differing superscripts differ (P<0.05).

[2]SEM: Standard error of means.

جمعیت هلوتریش در شکمبه تحت تأثیر نوع جیره و ترکیبات جیره مصرفی توسط حیوان میزبان است، چرا که پس از مصرف خوراک و افزایش گلوکز در شکمبه جمعیت گونه‌های *هولوتریش* تحریک‌شده و فعالیت این‌گونه از تک‌یاخته‌ها افزایش می‌یابد (۱۹) و گونه‌های *سلولایتیک* برای تأمین نیتروژن موردنیاز خود از آمونیاک استفاده می‌کنند. بنابراین با کاهش نیتروژن آمونیاکی غلظت آن‌ها کاهش یافت. یکی از دلایل غالب بودن گونه‌های *انتودینیوم* می‌تواند ناشی از مقاومت بالای این گونه‌ها در شرایط مختلف شکمبه‌ای در مقایسه با سایر جنس‌ها باشد. همچنین یکی از دلایل کاهش تک‌یاخته‌ها، تانن هسته خرما است که محققان گزارش کردند تانن با اثر مستقیم روی تک‌یاخته‌ها و محدود کردن فرایند تخمیر شکمبه می‌تواند جمعیت آن‌ها را کاهش دهد (۴۲). محققین گزارش‌شده حساسیت تک‌یاخته‌ها به چربی جیره در بین گونه‌های تک‌یاخته‌های شکمبه متفاوت است و سلولایتیک‌ها حساسیت بیشتری به چربی و میزان اسید لینولئیک جیره دارند (۲۲).

بر طبق نتایج (جدول ۵) غلظت گلوکز خون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). غلظت نیتروژن اوره‌ای خون، کراتینین، تری‌گلیسرید و LDL به‌طور معنی‌داری در تیمار شاهد بالاتر بود (P<۰/۰۵). بااین‌حال غلظت کلسترول و HDL در تیمار حاوی ۱۰ درصد هسته خرما افزایش یافت (P<۰/۰۵).

محققان گزارش کردند هنگامی‌که مقدار نیتروژن اوره‌ای پلاسما در گوسفندان تحت تیمار در دامنه معمول خود است نشان می‌دهد که جیره توانایی تأمین پروتئین موردنیاز حیوان را داشته است (۴). کاهش نیتروژن اوره‌ای خون نشان‌دهنده استفاده مؤثرتر میکروارگانیسم‌های شکمبه از آمونیاک در جهت ساخت پروتئین میکروبی است زیرا افزایش نیتروژن آمونیاکی در شکمبه باعث افزایش انتقال آن از شکمبه به کبد می‌شود که در کبد پس از تبدیل به اوره، وارد جریان خون می‌شود.

در تحقیقی (۳) تغییر معنی‌داری در میزان کلسترول خون بره‌ها بین تیمارهای حاوی هسته خرما مشاهده نشد. محققین (۳۱) بیان کردند با توجه به اینکه هسته خرما دارای مقدار و تنوع زیادی از تری‌گلیسریدهای با وزن مولکولی کم است ولی تأثیری از آن بر میزان تری‌گلیسریدهای خون مشاهده نشد. شاید از عوامل مؤثر بر میزان تری‌گلیسرید، تانن هسته خرما است (۲۱). محققان با بررسی نسبت اسیدهای چرب اشباع به غیراشباع در هسته خرما گزارش کردند که پروفیل اسید چرب با تنوع نسبت باندهای یک و چندگانه ممکن است نتایج متنوعی را ایجاد نماید، اسیدهای چرب اشباع سنتز کلسترول را افزایش می‌دهند اما این ترکیبات سنتز هر دو شکل HDL و LDL را افزایش می‌دهند و نسبت هر دو باهم بالا می‌رود. اسیدهای چرب غیراشباع مانند اولئیک اسید در روغن هسته خرما وجود دارد که LDL را پایین آورده و HDL را به‌صورت مختصر بالا می‌برد. کراتینین ماده نهایی حاصل دهیدراته شدن کراتین فسفات است، گزارش‌هایی (۳) مبنی بر عدم تأثیرپذیری سطح کراتینین خون در اثر مصرف فراورده‌های فرعی خرما وجود دارد. کراتینین ماده‌ای

زائد است که در بافت ماهیچه‌ای ساخته مـی‌شـود و کـاهش غلظـت کراتینین پلاسما احتمالاً نشان‌دهنده کاهش میزان پروتئین بدن است (۳۴).

جدول ۵-اثر تغذیه هسته خرما بر فراسنجه‌های خونی گوسفندان عربی (میلی‌گرم بر دسی لیتر)[۱]

Table 5-The effect of palm kernel on blood parameters of Arabi sheeps (mg/dl)[1]

فراسنجه‌های خونی Blood parameters	هسته خرما (درصد) Palm kernel (%)			SEM[2]	P-value
	0	5	10		
گلوکز (میلی‌گرم در دسی لیتر) Glucose (mg/dl)	67.50	68.57	69.41	1.8	0. 51
نیتروژن اوره‌ای خون (میلی‌گرم در دسی لیتر) BUN (mg/dl) [2]	25.45[a]	17.13[b]	11.02[c]	0.03	0.0002
کلسترول (میلی‌گرم در دسی لیتر) Cholesterol (mg/dl)	60.66[b]	75.13[a]	76.30[a]	3.01	0.0012
کراتینین (میلی‌گرم در دسی لیتر) Creatinin (mg/dl)	0.56 [a]	0.45[b]	0.32[c]	0.01	0.013
تری گلیسیرید (میلی‌گرم در دسی لیتر) Triglyceride (mg/dl)	45.25[a]	35.56[b]	33.25[b]	2.12	0.009
لیپوپروتئین با دانسیته بالا (مول درلیتر) HDL (mol/l) [3]	35.23[b]	40.56[ab]	43.78[a]	0.018	0.075
لیپوپروتئین با دانسیته پایین (مول در لیتر) LDL (mol/l) [4]	22.34[a]	16.98[b]	14.86[b]	1.2	0.290

[۱] در هر ردیف اعداد دارای حروف غیرمشابه ازنظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

[۲] خطای استاندارد میانگین‌ها.

[1]Means in rows with differing superscripts differ (P<0.05).
[2]SEM: Standard error of means.
[2]Blood urea nitrogen, [3]High density lipoprotein, [4]Low density lipoprotein.

داده‌های مربوط به تولید گاز حاصل از تخمیرکنجاله سویا و کـاه گندم بعد از انکوباسیون با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه‌شده با هسـته خرما به ترتیب در جدول ۶ ارائه‌شده است. پتانسیل و نرخ تولیـد گـاز سویا با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی و بازده توده زنده میکروبی و هضم پذیری ماده آلی برای تیمار شاهد و PF و توده زنده میکروبی برای تیمار حاوی ۱۰ درصد هسته خرما بـه‌طـور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). همچنین پتانسیل و نرخ تولید گاز کاه گندم با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی و توده زنده میکروبی و هضم پذیری ماده آلی برای تیمار شاهد و PF و بازده توده زنده میکروبی برای تیمار حاوی ۱۰ درصـد هسـته خرمـا به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵).

با توجه به نتایج تولید گاز در آزمایشگاه محققـان بیـان نمودنـد، همبستگی مثبتی بین تولید گاز و تولید اسید چرب و همبستگی منفی بین تولید گاز و سنتز پروتئین میکروبی وجود دارد (۱۱). اثـر متقابـل بین اسیدهای چرب و منابع پروتئینـی ماننـد کنجالـه سـویا موجـب افزایش تولید گاز می‌گردد. ازآنجایی‌که متانول‌ها ارتباط تنگاتنگی بـا تک‌یاخته‌ها دارند با کاهش تک‌یاخته‌ها میزان متـانوژن و تولیـد گـاز (متان) کم می‌شود (۳۶). منابع خوراکی که NDF پـایین‌تـری دارنـد پتانسیل تولید گاز آن‌ها بالا است و با افزایش نسبت بخش محتویات لیگنینی شده تخمیر آن‌ها کمتر و منجر به کـاهش نـرخ تولیـد گـاز می‌شود (۴۰). توده زنده میکروبی تیمـار شـاهد از تیمارهـای حـاوی هسته خرما کمتر بـود ایـن شـاخص بیـان‌کننـده مقـدار سوبسـترای تجزیه‌شده به اسید چرب کوتاه زنجیر، گازها و تـوده زنـده میکروبـی است که بیان می‌کند چه مقدار سوبسترای تجزیه‌شده به اسید چـرب کوتاه زنجیر، گازها و توده میکروبی تبدیل‌شده است. سویا بـه‌عنـوان منبع پروتئینی و تأمین پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه از اسیدهای آمینه در مقابل تجزیه محافظت مـی‌کنـد درایـن‌بـین وجـود تـانن و اسیدهای چرب در هسته خرما تا حدی در برابـر هضـم میکروبـی در شکمبه محافظت می‌کند که این امر از اثرات مفید سطح مطلوب تانن و اسید چرب در جیره است. محققین مشاهده کردند که میزان PF در حضور دانه‌های روغنی افزایش پیدا کـرد. لیگنـین بیشـتر در دیـواره سلولی باعث ایجاد شرایط نامسـاعد میکروبـی در شـکمبه و کـاهش پروتئین میکروبی در شکمبه می‌شود (۳۷).

جدول ٦– فراسنجه‌های تولید گاز کنجاله سویا و کاه گندم با مایع شکمبه گوسفندان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی هسته خرما[1]

Table 6- Gas production parameters of soybean meal and wheat straw with rumen fluid of sheeps fed with diets containing palm kernel[1]

فراسنجه‌های تولید گاز Gas production parameters	هسته خرما (درصد) Palm kernel (%)			SEM[2]	P-value
	0	5	10		
کنجاله سویا Soybean meal					
پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر/ ۳۰۰ میلی‌گرم) b (ml/300mg)[3]	111,976[a]	112.667[a]	115.760[a]	0.212	0.009
نرخ تولید گاز (میلی لیتر / ساعت) c (ml/h)[4]	0.022[a]	0.026[a]	0.016[b]	0.005	0.029
عامل جداکننده (میلی‌گرم / میلی لیتر) PF (mg/ml)[5]	2.991[c]	4.461[b]	5.912[a]	0.095	0.018
توده زنده میکروبی (میلی‌گرم) Microbial biomass (mg)	60,610[c]	85.612[b]	98.312[a]	4.019	0.029
بازده توده زنده میکروبی (درصد) Microbial biomass efficiency (%)	68.19[a]	58.08[b]	45.12[c]	0.020	0.030
هضم پذیری ماده آلی (میلی‌گرم) Digestibility of organic matter (mg)	79.60[a]	90.54[b]	93.73[b]	0.013	0.0044
کاه گندم Wheat straw					
پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر/ ۳۰۰ میلی‌گرم) b (ml/300 mg)	85.161[a]	82.346[a]	78.081[b]	2.010	0.0611
نرخ تولید گاز (میلی لیتر / ساعت) c (ml/h)	0.020[a]	0.016[ab]	0.013[b]	0.001	0.0311
عامل جداکننده (میلی‌گرم / میلی لیتر) PF (mg/ml)	5.970[c]	7.319[b]	9.012[a]	0.733	0.0832
توده زنده میکروبی (میلی‌گرم) Microbial biomass (mg)	130.399[a]	117.410[b]	108.203[c]	0.201	0.0046
بازده توده زنده میکروبی (درصد) Microbial biomass efficiency (%)	60.90[c]	68.98[b]	70.25[a]	0.0420	0.0381
هضم پذیری ماده آلی (میلی‌گرم) Digestibility of organic matter (mg)	99.58[a]	74.58[b]	66.16[c]	0/0311	0.0712

[1] در هر ردیف اعداد دارای حروف غیرمشابه ازنظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

[2] خطای استاندارد میانگین‌ها.

[1]Means in rows with differing superscripts differ (P<0.05).
[2]SEM: Standard error of means.
[3]Gas production potential,[4]Gas production rate, [5]Partitioning factor

تولید گاز پایین در هسته و تفاله خرما می‌تواند ناشی از محتوای دیواره سلولی بالا در آن‌ها باشد و مدت‌زمان زیادی طول می‌کشد تا میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌های سلولولایتیک) به دیواره سلولی اتصال پیداکرده و آن‌ها را مورد تجزیه قرار دهند (۲۵). نتایج آزمایش نشان می‌دهد که پتانسیل تولید گاز کاه گندم تحت تأثیر تیمار قرار گرفت که می‌تواند به دلیل اثرگذاری تانن در کاهش فعالیت باکتری‌های سلولولایتیک و کاهش تک‌یاخته‌ها باشد. پتانسیل تولید گاز کاه گندم در مایع شکمبه گوسفندان تغذیه‌شده با هسته خرما افزایش و بعدازآن کاهش یافت که احتمالاً کاهش به علت وجود ترکیبات فنلی ازجمله تانن و روغن‌های غیراشباع در هسته خرما باشد، تانن موجب کاهش تولید گاز در شکمبه می‌شود (۱۵) و این کاهش به دلایلی نظیر کاهش اتصال میکروارگانیسم‌ها و باکتری‌ها به ذرات غذایی، مهار رشد میکروب‌ها و مهار آنزیم‌های میکروبی است (۲۷). این افزایش جزی در میزان گاز تولیدی در سطوح پایین هسته خرما، احتمالاً

مربوط به تجزیه برخی از ترکیبات این روغن‌ها توسط میکروب‌ها است، اما در میزان هضم مواد آلی در سطوح پایین مشاهده نگردید. بااین‌وجود در سطوح بالاتر به نظر می‌رسد که این روغن‌ها اثرات منفی بر باکتری‌های شکمبه دارند و به‌طور هم‌زمان هم میزان تولید گاز و میزان هضم مواد آلی و خشک کاهش‌یافته است. محققان (۲۸) دریافتند که اضافه نمودن روغن‌های گیاهی تولید گاز را بیش از ۸۳ درصد کاهش داده است. تأثیر تانن بر کاهش نرخ تجزیه‌پذیری خوراک باعث کمک به هم‌زمانی آزاد شدن مواد خوراکی می‌شود که با مصرف گیاهان حاوی تانن میزان نیتروژن غیر آمونیاکی واردشده به روده باریک بیشتر از نیتروژن مصرفی است و بخشی از آن موجب افزایش سنتز پروتئین میکروبی می‌شود. محققان (۹) گزارش کردند که وجود منابع تانن دار در خوراک باعث افزایش PF شد که این‌یک امر مثبت بر تغذیه پروتئین توسط دام دانسته‌اند. بین قابلیت هضم ماده آلی درروش تولید گاز و میزان ترکیبات فنولی رابطه منفی وجود دارد به‌طوری‌که با افزایش ترکیبات فنولی میزان قابلیت هضم کاهش یافت (۳۸). محققان گزارش کردند که علت بالاتر بودن PF و راندمان توده زنده میکروبی را شاید به تولید گاز پایین نسبت داد. خوراک‌های دارای PF بالاتر به میزان بیشتری توسط دام مصرف می‌شود، زیرا خوراک‌هایی که حاوی تانن هستند مقدار بیشتری PF تولید می‌کنند و حضور این کمپلکس تانن باند شده با پروتئین‌ها باعث تخمیر کمتری از ماده آلی هضم شده حقیقی می‌شود (۹).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج حاصل از آزمایش اخیر، واردکردن هسته خرما در جیره گوسفندان عربی تا سطح ۱۰ درصد اثرات منفی بر عملکرد دام‌ها و فراسنجه‌های خونی و شکمبه نداشت و موجب افزایش مصرف خوراک و وزن نهایی گردید. اگر چه با داشتن لیگنین و ترکیبات فنلی و چربی هضم پذیری‌ها کاهش یافت اما با بهبود عملکرد دام‌ها و وجود منبع بالایی از فیبر، انرژی و اسیدهای چرب، جایگزین قابل قبولی در جیره گوسفندان است، اما نیاز به آزمایش‌ها و تکرارهای بیشتری است.

تشکر و قدردانی

در اینجا لازم می‌داند از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، به خاطر حمایت مالی پژوهش حاضر تشکر و قدردانی به عمل آید.

Refrences

1.Abdel-Rahman, H. H., A. A. Abedo, Y. A. A. El-Nomeary, M. M. Shoukry, M. I. Mohamed, and M. S. Zaki. 2012. Response of replacement of yellow corn with cull dates as a source of energy on productive performance of goat's kids . Life Science Journal, 9(4): 2250-2255.

2.Abdel-Fattah, M. S., A. A. Abdel-Hamid, A. M. Ellamie, M. M. El-Sherief, and M. S. Zedan. 2012. Growth Rate, Some Plasma Biochemical and Amino Acid Concentrations of Barki Lambs Fed Ground Data Palm at Siwa Oasis. Journal of Agriculture and Environmental Sciences, 12: 1166-1175.

3.Al-Shanti, H. A., A. M. Kholif, K. J. Al-Shakhrit, M. F. Al-Banna, and I. E. Abu-Showayb. 2013. Use of crushed date seeds in feeding growing assaf lambs. Egyptian Journal of Sheep and Goat Science, 8(1): 65-73.

4. AL-Ani, A. N., Hassan, S. A., Aljassim, R. A. M. 1991. Dries date pulp in fattening diets for Awassi lambs. Journal Small Ruminant Research, 6: 31-37.

5. Al-Dabeeb, S. N. 2005. Effect of feeding low quality date palm on growth performance and apparent digestion coefficients in fattening Najdi sheep. Journal Small Rumination Research,57: 37-42.

6. Allen, M.S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle.Journal of Dairy Science,83: 1598-1624 1598.

7. Almitairy, M. H., Alowaimer, A. N., El-Waziry, A. M., Suliman, G. M. 2011. Effects of Feeding Discarded Dates on Growth Performance and Meat Quality Traits of Najdi Lambs. Journal of Animal and Veterinary Advances, 10: 2221-2224.

8. Angaji, L., M. Souri, M. M. Moeini. 2011. Deactivation of tannins in raisin stalk by polyethylene glycol-600: Effect on degradation and gas production in vitro. African Journal of Biotechnology, 10(21): 4478-4488.

10. Ashraf, Z., and Z. Hamidi-Esfahani. 2011. Date and date processing: a review.Journal Food Reviews International, 27: 101-133.

9. Besbes, S., C. Blecker, C. Deroanne, N. Bahloul, G. Lognay, N. Drira, H. Attia. 2004. Date seed oil: phenolic, tocopherol and sterol profiles. Journal Animal Science, 11: 251-265.

10. Blummel, M., E. R. Ørskov. 1993. Comparison of in vitrogas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. Journal Animal Feed Science Technology, 50: 109-119.

11. Broderick, G. A., and J. H. kang. 1980. Automated simultaneous derermination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. Journal of Dairy Science, 63: 64-75.

12. Dehority, B. A. 2003. Rumen Microbiology. Academic Press, London.

13. Frutos, P. G., F. J. Giraldez, A. R. Mantecon. 2004.Review. Tannins and ruminant nutrition. Spanish. Journal of Agricultural Research, 2(2): 191–202.
14. Getachew, G., H. P. K. Makkar, and S. Becker. 2000. Effect of polyethylene glycol on in vitrodegradability and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. British Journal of Nutrition, 84: 73–83.
15. Genin, D., A. T. Kadri, K. Khorchani, F. Sakkal, and M. Hamadi. 2004.Valorisation of date palm by products (DPBP) for livestock feeding in Southern Tunisia. I-Potentialities and traditional utilization. Options Mediterraneennes Series A, 59: 221-226.
16. Hall, M. B., and C. Herejk. 2001. Differences in yields of microbialcrude protein from invitro fermentation of Carbohydrates. Journal Dairy Science, 84: 2486-2493.
17. Hamada, J. S., I. B. Hashim, F. A. Sharif. 2002. Preliminary Analysis and Potential uses of date pits in Food.Journal Food Chemistry, 76: 135 – 137.
18. Henderson, S. J., H. E. Amos, and I. J. Evans. 1985. Influence of dietary protein concentration and degradability on milk production, composition, and ruminal protein metabolism. Journal Dairy Sciences, 68:2227-2237.
19. Hess, B. W., G. E. Moss, and D. C. Rule. 2008.A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. Journal Animal Sciences, 86: 188-204.
20. Hussein, A. S., G. A. Alhadrami, Y. H. Khalil. 1998. The use of dates and date pits in broiler starter and finisher diets. Journal Bioresource Technology, 66(32): 219-223.
21. Ivan, M., H. V. Petit, J. Chiquette, and A. D. G. Wright. 2013. Rumen fermentation and microbial population in lactating dairy cows receiving diets containing oilseeds rich in C-18 fatty acids. British Journal Nutrition, 109: 1211–1218.
22. Khazri, A., S. Javidan. M. R. Mohammad Abadi, and O. Diane. 2012. Effect of date pulp on ruminal fermentation and blood parameters in Kermani sheep. National Date Conference of Iran, Shahid Bahonar University of Kerman, 13 and 12 September. Pp. 562- 567. (In parsian)
23. Makkar, H. P. S., and K. Becker. 1998. Do tannins in leaves of trees and shrubs from African and Himalayan regions differ in level and activity. Agroforest System, 40: 59-68.
24. 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 Technology, 108: 159-179.
25. Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and invitro gas production using rumen fluid. Journal Animal Research and Development, 28: 7-55.
26. McSweeney, C. S., B. Palmer, D. M. McNeill, and D. O. Krause. 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. Journal Animal Feed Science and Technology, 91:83–93.
27. McNabb, W. C. 2002. Lotus corniculatus condensed tannins decrease in vivo populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. Canada Journal Microbiol, 48: 911–921.
28. Mustafa, M. F., A. R. Alimon, W. I. Zahari, and M. Bejo. 2004.Nutrient digestibility of palm kernel cake for Muscovy ducks. Asian-Australian Journal of Animal Science, 17(4): 514-517.
29. National Research Council (NRC). 2007. Nutrient Requirements of lamb.7th ed, National Academy Press, Washington, DC.USE.
30. Nehdi, I., S. Omri, M. I. Khalil, and S. I. Resayes. 2010 Characteristics and chemical composition of date palm (*Phoenix Canariensis*) seeds and seed oil. Journal Industrial Crops and Products, 32: 360-365.
31. O'Mara, F. P., F. J. Mulligan, E. J. Rath, M. P. J. Caffrey. 1999. The nutritive value of palm kernel meal measured in vivo and using rumen fluid and enzymatic techniques. Journal Lives production Science,60: 305- 316.
32. Onetti, S.G., Shaver, R.D., Grummer, R.R. 2001. Effect of type and level of dietary fat on rumen fermentation and performance of dairy cows fed corn silagebased diets. Jornal Dairy Science, 84:2751–2759.
33. Polat, U., D. Yesilbag, and E. Mustafa, E. 2011. Serum Biochemical Profile of Broiler Chickens Fed Diets Containing Rosemary and rosemary volatile oil. Journal of Biology and Environmental Science, 5: 23-30.
34. Rezaei Nia, A. 2014.Chemical composition and fatty acids profiles of major date cultivars in Iran and their potential for nutrition in Holstein cows, PhD Thesis, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, pp. 93, 95 and 109. (In parsian)
35. Sallam, S. M. A., I. C. da Silva Bueno, P. B. de Godoy, F. N. Eduardo, D. M. S. Schmidt Vittib, A. L. Abdalla. 2010. Ruminal fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semi-automated gas production technique. Journal Tropical and Subtropical Agroecosystems, 12: 1 – 10.
36. Sallam, S. M. A. 2005. Nutrition value assessment of the alternative feed researches by gas production and rumen fermentation in vitro. Journal Science Food Agriculture, 1(2): 200-209.
37. Saafi, E. B., M. Trigui, R. Thabet, M. Hammami, and L. Achour. 2008. Common date palm in Tunisia: chemical composition of pulp and pits. International Journal of Food Science and Technology, 43: 2033-2037.
38. Smith, L. W., H. K. Goering, and C. H. Gordon. 1972. Relationships of forage compositions with rates of cell wall

digestion and indigestibility of cell walls. Journal of Dairy Science, 55: 1140–1147.
39. Sommart, K.., D. S. Parker, P. Rowlinson, and M. Wanapat. 2003.Fermentation characteristics andmicrobial protein synthesis in an in vitrosystemusing cassava, ricestraw and dried ruzi grass as substrates. Asian-Australia Journal Animal Science, 13: 1084-1093.
40. Vandepopuliere, J. M., J. M. AL-Yousef lyons.1995. Date and date pits as ingredients in broiler starting and conturnix quail breeder diets. Journal Paultry science, 74(7):1134.
41. Wallace, R. J., N. R. McEwan, F. M. McIntosh, B. Teferedegne, and C. J. Newbold. 2002. Natural products as manipulators of rumen fermentation. Asian-Australian Journal of Animal Science, 15: 1458-1468.
42. Weiss, W. P., and D. J. Wyatt. 2004. Digestible Energy Values of Diets with Different Fat Supplements when Fed to Lactating Dairy Cows. Journal Dairy Science, 87: 1446-1454.
43. Ziaei, N. 2010.The effect of dietary Alhagi (camel grass) ensiled with different levels of low-quality date pulm on apparent nutrient digestion coefficients in kermani sheep. Research Journal Biological Science, 5: 314-3.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 499-512

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۵۱۲-۴۹۹

The Effect of Palm Kernel Powder on Performance, Microbial Fermentation, Digestibility and Some Blood Parameters of Arabi sheep

Tahereh Mohammadabadi,[1]* Zainab Ghezi,[1] Saleh Tabatabai Vakili[2]
Submitted: 25-01-2021
Accepted: 14-04-2021

Mohammadabadi, T., Z. Ghezi, and S. Tabatabai Vakili. 2022. The Effect of Palm Kernel Powder on Performance, Microbial Fermentation, Digestibility and Some Blood Parameters of Arabi sheep. Iranian Journal of Animal Science Research 13(4):499-512.

Introduction The palm date kernel is energetic by-product of animal nutrition classified as medium-quality foods and crude protein content suitable for ruminants. The results of the studies indicate that there are large amounts of nutritious fibers in the palm kernel which are very useful in nutrition. It is reported that the amount of crude protein, NDF, ADF, cellulose; hemicellulose and lignin of palm kernel meal were expressed 4.9%, 21.1%, 40.7%, 43.3%, 26.4%, 6.4%, and 7.4%, respectively. Palm kernel contains all types of amino acids, including isoleucine, leucine, methionine, threonine, valine and phenylalanine and also phenolic compounds, flavonoids and carotenoids. Gross energy, crude fiber, carbohydrates and calcium of palm kernel were 4663 Kcal/Kg, 31.1, 77.2, 10.1 and 0.61%, respectively. The accessibility of amino acids in palm kernel is 65%. The information on using of palm kernel in the ruminant diets is rare. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of palm kernel powder on performance, digestibility in Arabi sheep to reduce dietary prices and optimal use of agricultural by-products.

Materials and methods In the first stage of experiment, the determination of proper level of the palm kernel, the values of 0, 5, 10, 15 and 20% of date kernels in the diet were used and the best amount was determined by in vitro digestion. In the second stage, 15 Arabi sheep with average weight 39±5 kg and 10 months of age were used in the completely randomized design for 50 days period. The experimental treatments were included control diet and diets containing 5 and 10% palm kernel (5 replicates for each treatment). Forage to concentrate ratio was 60 to 40. Diets fed twice per day. The palm kernel was prepared from Dardan company and milled. At the end of the experiment, nutrient intake, performance, digestibility, protozoa population, blood and fermentation parameters of sheep were measured. Parameters of digestion and fermentation of livestock after feeding with date kernels were also evaluated.

For measuring fermentation and digestibility, the animals fed with experimental diets by *in vitro* methods, rumen fluid was collected from animals before the morning feeding. About 200 mg wheat straw incubated with buffered rumen fluid under continuous CO_2 reflux in 100 ml vials for 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24, 48, 72 and 96 h, at 39 °C. Cumulative gas production data were fitted to the exponential equation. Partitioning factor, microbial biomass, actually degradable organic matter was calculated. Digestibility of dry matter the samples were determined by using tilly and terry method. Data were subjected to analysis as a completely randomized design using the General Linear Model (GLM) procedure of SAS.

Results and Discussion In the first stage, among the various levels of palm kernel, amount of 5 and 10% of palm kernel had higher digestibility, respectively ($P<0.05$). Results of *in vivo* experiment has shown dry matter intake was increased in treatments containing palm date kernel, but digestibility of organic matter, dry matter and crude protein was decreased ($P<0.05$).The use of palm kernel increased the weight and improved feed conversion ratio in 5 and 10% date kernel. The blood glucose concentration did not affect by experimental treatments ($P>0.05$). The amount of BUN, creatinine, LDL and triglyceride significantly decreased by oak kernel treatments, but amount of blood cholesterol and HDL in treatments containing 10% increased ($P<0.05$). Protozoa population, rumen ammonia nitrogen and pH in diets containing palm kernel decreased as compared with that of

1- Professor and M.Sc. Graduated Student, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Khuzestan, Iran.
2- Associate Professor, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Khuzestan, Iran.
*Corresponding Author Email: mohammadabadi@asnrukh.ac.ir
Doi:10.22067/ijasr.2021.38269.0

the control diet (P<0.05).The potential and rate of gas production, microbial biomass efficiency and organic matter digestibility of soybean meal with rumen fluid animals fed with experimental diets for control treatment, and PF and microbial biomass for 10% palm date kernel significantly increased (P<0.05). Also the potential and rate of gas production of wheat straw with rumen fluid animals fed with experimental diets, microbial biomass and organic matter digestibility for control treatment, and PF and microbial biomass efficiency for 10% palm kernel significantly increased (P<0.05). There were significant amounts of lignin and resistant starch in the seed, phenolic compounds, volatile compounds and unsaturated fatty acids, flavonoids, carotenoids, and other compounds in the palm kernel that can influence parameters of current study.

Conclusion According to the results of current study, due to the lack of negative effect on rumen fermentation and blood parameters and improving of performance, palm kernel can be used up to 10% in the Arabi sheep diet. Therefore, the use of palm kernels with the effect on the improving of livestock performance and high source of fiber, energy and fatty acids is an acceptable alternative to sheep diets.

Key word: Digestibility, Blood parameters, Rumen fermentation, Palm kernel, Performance.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 513-524

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۵۲۴-۵۱۳

مقاله پژوهشی

تأثیر افزودن سطوح مختلف گیاه کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides*) به جیره بر فعالیت هضمی-تخمیری باکتری‌ها و قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه‌ی بره‌های پرواری عربی در شرایط برون‌تنی

مرتضی چاجی[1*]، پروین علیمیرزایی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۱۱

چاجی، م.، و پ. علیمیرزایی. ۱۴۰۰. تأثیر افزودن سطوح مختلف گیاه کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides*) به جیره بر فعالیت هضمی-تخمیری باکتری‌ها و قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه‌ی بره‌های پرواری عربی در شرایط برون‌تنی. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۳(۴): ۵۲۴-۵۱۳.

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر استفاده از سطوح مختلف مکمل گیاه کاکوتی در جیره‌ی بره‌ی پرواری بر فعالیت هضمی-تخمیری باکتری‌ها و قارچ‌های استخراج شده از شکمبه‌ی آن‌ها انجام شد. در ابتدا، با روش هضم دو مرحله‌ای، بهترین سطح مکمل گیاه کاکوتی در جیره مشخص شد. برای این‌منظور، شش تیمار حاوی سطوح صفر (شاهد)، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و یک درصد گیاه کاکوتی به یک جیره‌ی استاندارد بره‌های پرواری افزوده شد. سپس بر اساس تجزیه و تحلیل نتایج، از بین آن‌ها شاهد و تیمارهای حاوی سطوح ۰/۲ و ۰/۴ درصد برای تعیین اثر مکمل کاکوتی بر فعالیت قارچ‌ها و باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه‌ای انتخاب شدند. مایع شکمبه برای آزمایش هضم دو مرحله‌ای و کشت باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه‌ای، از چهار رأس بره‌ی نر عربی که به‌مدت چهار هفته با یک جیره‌ی پرواری (مشابه با ترکیب جیره‌ی بخش آزمایشگاهی) تغذیه شده بودند، تهیه شد. قارچ‌ها و باکتری‌های بی‌هوازی نیز از مایع شکمبه‌ی آن‌ها جدا و تخلیص شدند. در آزمایش هضم دو مرحله‌ای، با افزودن مکمل کاکوتی به جیره، قابلیت هضم ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد (P<۰/۰۵). بیشترین درصد قابلیت هضم ماده خشک، NDF و ADF در جیره‌ی حاوی ۰/۴ درصد کاکوتی و کمترین مقدار در جیره‌ی شاهد مشاهده شد؛ اما جیره‌های حاوی کاکوتی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. غلظت نیتروژن آمونیاکی و pH در محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه در روزهای اول، سوم و ششم انکوباسیون و میانگین غلظت کل دوره و نیز در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از آغاز انکوباسیون جیره‌های آزمایشی با باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه، تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. با مکمل کردن کاکوتی در جیره، قابلیت هضم ماده خشک و NDF توسط قارچ‌ها در روز اول، سوم و ششم انکوباسیون و توسط باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از آغاز انکوباسیون و میانگین کل دوره آزمایش به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). تفاوت معنی‌داری در فعالیت هضمی قارچ‌ها و باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه در بین جیره‌های حاوی کاکوتی مشاهده نشد. در مجموع، استفاده از مکمل کاکوتی در جیره بره‌های پرواری باعث بهبود فعالیت هضمی قارچ‌ها و باکتری‌های بی‌هوازی جدا شده از شکمبه آن‌ها شد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های جدا شده، قارچ‌های جدا شده، محیط کشت اختصاصی، هضم دو مرحله‌ای.

مقدمه

نشخوارکنندگان دارای معده‌ی چهار قسمتی هستند که در دو قسمت اول آن یعنی شکمبه و نگاری انرژی موجود در دیواره سلولی

۱- استاد گروه علوم دامی دانشکده‌ی علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، اهواز، ایران.
۲-دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی دانشکده‌ی علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، خوزستان، ملاثانی، اهواز، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: chaji@asnrukh.ac.ir)
Doi:10.22067/ijasr.2021.38294.0

گیاهان به کمک باکتری‌ها، پروتوزوآ و جمعیت‌هایی نظیر قارچ‌های بی‌هوازی برای حیوان میزبان قابل دسترس می‌شود (۱۱). محصولات اصلی تخمیر شامل اسیدهای چرب فرار و پروتئین میکروبی هستند که به‌ترتیب در حدود ۸۰ درصد انرژی و ۶۰ تا ۸۵ درصد پروتئین مورد نیاز نشخوارکنندگان را تأمین می‌کنند (۱۱و ۲۸). بنابراین رسیدن به بهترین بازده هضم و تخمیر میکروبی در شکمبه اهمیت زیادی دارد. از طرفی تولید متان، دی‌اکسیدکربن و آمونیاک در شکمبه باعث اتلاف انرژی و پروتئین، افزایش گازهای گلخانه‌ای و آلودگی محیط زیست می‌شود (۱۱و ۱۴). بنابراین متخصصان تغذیه از طریق دستکاری فرآیندهای تخمیری شکمبه به دنبال روش‌هایی برای کاهش اتلاف انرژی و پروتئین به‌صورت متان و آمونیاک و افزایش بازده تخمیر و سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه و به‌دنبال آن افزایش هضم الیاف هستند. برای این منظور از افزودنی‌های متعددی مانند اسیدهای آلی، مخمرها، آنزیم‌ها، بافرها و آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده شده است (۳۴). در دهه‌های اخیر گیاهان دارویی به‌علت قابلیتی که به‌عنوان جایگزین برای مواد محرک رشد و آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه دام و طیور دارند توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند (۱۰). در همین ارتباط گیاهان خانواده‌ی نعنائیان که به‌عنوان یک گیاه دارویی دارای خاصیت ضد میکروبی بالایی هستند مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱۵).

گونه‌ی چندساله گیاه کاکوتی[1] متعلق به تیره‌ی نعنائیان است. کاکوتی به حالت وحشی در شمال، مرکز، شمال غرب، جنوب و شمال شرق ایران پراکنده شده است (۲۸). برخی از مواد مؤثره مهم موجود در کاکوتی شامل پولگون[2] (۳۴/۳۸ درصد)، پی‌پرینتون[3] (۱۸/۶۱ درصد)، یوموگی‌الکل[4] (۱۲/۹۲ درصد)، دی‌ال‌منتول[5] (۱۱/۵۱ درصد)، کارواکرول[6] (۵/۴۳ درصد)، پیپرتون[7] (۲/۶۸ درصد)، گاماتریپنن[8] (۲/۶۸ درصد)، کارنون[9] (۲/۵۰ درصد) می‌باشند (۱۳).

استفاده از گیاه کاکوتی در تغذیه‌ی بره‌های پرواری اثر منفی بر فعالیت هضمی و تخمیری میکروارگانیسم‌های شکمبه‌ی آن‌ها در هضم مواد الیافی نظیر سرشاخه نیشکر نداشت و در مواردی اثر مثبتی بر فعالیت هضمی- تخمیری باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه‌ای داشت؛ به‌طوری‌که منجر به افزایش پتانسیل تولید گاز و بهبود قابلیت هضم ماده خشک و NDF سرشاخه نیشکر توسط قارچ‌های و یا باکتری‌های جدا شده از شکمبه آن‌ها شد (۳). افزودن گیاهان کاکوتی، نعنا و پونه به شیر مصرفی گوساله‌ها، منجر به کاهش معنی‌دار جمعیت اشرشیاکلی و لاکتوباسیل‌ها در مدفوع گوساله‌ها در مقایسه با تیمار شاهد شد، اما تغییری در تعداد کل باکتری‌های بی‌هوازی در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (۱۳). استفاده از گیاه کاکوتی در جیره‌ی گوسفندان دالاق، قابلیت هضم ماده خشک را بهبود داد و باعث افزایش باکتری‌های اسید لاکتیک و کل جمعیت باکترهای بی‌هوازی شکمبه (سویه‌ها نامشخص) شد، اما تأثیری بر pH و جمعیت پروتوزآی شکمبه‌ای نداشت (۲۸).

از آنجایی‌که فعالیت قارچ‌ها و باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه‌ای در هضم مواد خوراکی اهمیت دارد و با توجه به اینکه اطلاعات محدودی در مورد اثر افزودن این گیاه به جیره بر فعالیت باکتری‌ها و قارچ‌های جداسازی شده از شکمبه‌ی بره‌های پرواری وجود دارد، بنابراین این پژوهش با هدف بررسی تأثیر مکمل کردن گیاه کاکوتی در یک جیره‌ی استاندارد بره‌ی پرواری، بر فعالیت هضمی-تخمیری باکتری‌ها و قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در مزرعه آموزشی- تحقیقاتی و آزمایشگاه تغذیه دام پیشرفته و میکروبیولوژی شکمبه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. در بررسی منابع، اطلاعات کافی در مورد مقدار مناسب استفاده از گیاه کاکوتی به‌عنوان مکمل در جیره‌ی بره‌های پرواری وجود نداشت. لذا با توجه به هزینه‌ی زیاد محیط کشت‌های اختصاصی باکتری و قارچ‌های شکمبه، ابتدا بهترین مقدار استفاده از مکمل گیاه کاکوتی در جیره، توسط آزمایش هضم دو مرحله‌ای (۳۲) تعیین شد، سپس بهترین تیمارها برای تعیین اثر مکمل کاکوتی بر فعالیت قارچ‌ها و باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه با استفاده از محیط‌های کشت اختصاصی آن‌ها انتخاب شدند. برای این‌منظور شش تیمار شامل شاهد (جیره‌ی پایه) و مقادیر ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و یک درصد گیاه کاکوتی پودر شده با الک ۲ میلی‌متری به یک جیره‌ی استاندارد تهیه شده برای بره‌های پرواری (۱۹) به صورت سرک افزوده شد. جیره بره‌ها شامل ۶۰ درصد علوفه (یونجه، سیلاژ ذرت، سرشاخه نیشکر) و ۴۰ درصد بخش متراکم (دانه‌ذرت، دانه جو، سبوس گندم، کنجاله سویا، مکمل معدنی-ویتامینی و نمک) بود. غلظت انرژی قابل متابولیسم و پروتئین جیره‌ها به‌ترتیب ۲/۷۷ مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک و ۱۴/۳۵ درصد بود. سپس طبق داده‌های حاصل از آزمایش هضم دو مرحله‌ای (جدول ۱)، سه جیره اولِ آزمایش قبلی یعنی جیره‌ی شاهد (بدون کاکوتی) و جیره‌های حاوی ۰/۲ یا ۰/۴ درصد کاکوتی برای آزمایش کشت اختصاصی قارچ‌ها و باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه استفاده شدند.

مایع شکمبه‌ی لازم برای آزمایش هضم دو مرحله‌ای و کشت

1-*Ziziphora clinopodioides*
2- Pulegone
3- Piperitenone
4- Yomogi alcohol
5- DL-Menthol
6- Carvacrol
7- Pipertenone
8- γ-Terpinene
9- Carnoon

اختصاصی باکتری‌ها و قارچ‌های جدا شده از شکمبه، از چهار رأس بره‌ی نر تغذیه شده با یک جیره‌ی پرواری که ترکیب آن مشابه با ترکیب جیره‌ی پایه‌ی (شاهد) بخش آزمایشگاهی بود، استفاده شد. بره‌ها حداقل به‌مدت چهار هفته با جیره‌ی آزمایشی تغذیه شدند. در روز ۲۹، از هر چهار بره مایع شکمبه به‌روش لوله معدی تهیه شد و پس از اختلاط با یکدیگر به‌عنوان مایع تلقیح[1] در محیط کشت باکتری‌ها و قارچ‌ها یا آزمایش هضم دو مرحله‌ای استفاده شد.

آزمایش هضم دو مرحله‌ای: مقدار ۰/۵ گرم نمونه‌های آزمایشی شامل جیره‌ی بره‌ی پرواری حاوی مقادیر مختلف مکمل گیاه کاکوتی که قبلاً با آسیاب دارای الک یک میلی‌متر خرد شده بود، در داخل لوله‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری شیشه‌ای ریخته شد و همراه با بزاق مصنوعی (۱۶) و مایع شکمبه (با نسبت ۴ به ۱، شامل ۴۰ میلی‌لیتر بزاق و ۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه) در شرایط بی‌هوازی در حمام آب گرم در دمای ۳۹ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. سپس آنزیم پپسین (مرک، ۱:۳۳۰۰) به محیط اسیدی شده اضافه شد و برای ۴۸ ساعت دیگر در حمام آب گرم قرار داده شد. پس از پایان دوره‌ی چهار روزه‌ی آزمایش، محتویات لوله‌ها صاف شدند (کاغذ واتمن شماره ۱) و پس از خشک کردن در آون (فن‌آزما تجهیز گستر ۲۴ لیتری، ایران) و سنجش مواد مغذی آن، قابلیت هضم ماده‌خشک، NDF و ADF جیره‌های آزمایشی محاسبه شد (۳۲).

برای جداسازی قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه، ابتدا مایع شکمبه‌ی تهیه شده از بره‌های پرواری تغذیه شده با جیره‌ی آزمایشی، توسط پارچه‌ی متقال چهار لایه صاف شد و در ۱۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد تا پروتوزوآ جدا شوند. سپس با افزودن یک‌میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک (پنی سیلین–استرپتومایسین و کلرامفنیکل، هر یک با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) باکتری‌ها حذف شدند (۱۸). مقدار ۵ میلی‌لیتر از این قارچ‌های جدا شده به‌عنوان مایع تلقیح به شیشه‌های کشت ۱۰۰ میلی‌لیتری (با درب پرسی) که محتوی ۳۵ میلی‌لیتر محیط کشت اختصاصی قارچ به‌همراه یک گرم جیره‌های آزمایشی به‌عنوان نمونه آزمایشی بودند اضافه شد. کشت طبق شرایط دمایی و زمانی که در ادامه شرح داده می‌شود، انجام شد. برای به دست آوردن محیط کشت خالص، سه مرحله عمل کشت با افزودن ۵ میلی‌لیتر از محیط کشت قبلی به ۳۵ میلی‌لیتر محیط کشت جدید تکرار شد. در هر یک از روزهای اول، سوم و ششم رشد قارچ‌های شکمبه، برای هر تیمار چهار تکرار (شیشه کشت) برای اندازه‌گیری pH (pH متر، WTW 3110، آلمان) و نیتروژن آمونیاکی (۷) در نظر گرفته شد، پس از آن‌که محتوی شیشه‌ها صاف، خشک و توزین شدند، درصد ناپدید شدن ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) تیمارهای آزمایشی در اثر فعالیت قارچ‌ها، با توجه به اختلاف ماده اولیه و مواد باقیمانده محاسبه شد.

برای تهیه‌ی محیط کشت اختصاصی قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه، از روش تغییر یافته‌ی اورپین (۲۲) استفاده شد. به‌طور خلاصه، محیط کشت قارچ‌های شکمبه با اختلاط محلول نمکی ۱ (۳ گرم فسفات هیدروژن دی پتاسیم در یک لیتر آب مقطر)، محلول نمکی ۲ (۳ گرم فسفات هیدروژن پتاسیم، ۶ گرم سولفات آمونیوم، ۶ گرم کلرید سدیم و ۰/۶ گرم کلرید کلسیم دو آبه در یک لیتر آب مقطر) با مایع شکمبه (سانتریفیوژ شده)، ۲/۵ گرم عصاره مخمر، ۱۰ گرم پپتون تریپتیکاز، ۰/۵ گرم گلوکز، یک گرم سلوبیوز، ۶ گرم بی کربنات سدیم، یک گرم سیستئین–HCl و یک میلی‌لیتر محلول رزازورین ۰/۱ درصد، تهیه شد (۱۲). جیره‌های آزمایشی در محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه، در دمای ۳۹ درجه سلسیوس برای مدت زمان یک، سه و شش روز کشت داده شدند. محیط کشت تحت شرایط بی‌هوازی (با افزودن گاز دی‌اکسید کربن) به داخل شیشه‌های کشت حاوی یک گرم از تیمارهای آزمایشی، انتقال داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰ درجه سلسیوس اتوکلاو شد. به این ترتیب محیط کشت اختصاصی قارچ آماده افزودن مایع تلقیح شد.

روش تهیه محیط کشت اختصاصی باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه و جداسازی آن‌ها: محیط کشت باکتری‌ها با استفاده از روش گالدول و برایانت تهیه شد (۹). به‌طور خلاصه، ابتدا شیشه‌های کشت (ویال‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری) حاوی یک گرم از تیمارهای آزمایشی (نمونه‌ی آزمایشی) در داخل اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس استریل شدند. برای جداسازی ذرات شکمبه و پروتوزوآ، مایع شکمبه‌ی تهیه شده از هر گروه از بره‌ها، به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد و ۲۵ میلی‌لیتر از مایع رویی آن تحت شرایط بی‌هوازی به یک لیتر محیط کشت اختصاصی باکتری‌ها، حاوی محلول نمکی ۱ و ۲ (هر کدام ۱۵۰ میلی لیتر)، ۰/۵ گرم عصاره مخمر، ۲ گرم پپتون تریپتیکاز، ۷۰ میلی لیتر کربنات سدیم ۸ درصد، ۱۰ میلی لیتر اسیدهای چرب فرار و ۱ میلی لیتر محلول رزوزارین ۰/۱ درصد اضافه شد. ظروف کشت در انکوباتور با دمای ۳۹ درجه سلسیوس در سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت کشت داده شدند. برای هر زمان چهار تکرار در نظر گرفته شد. در هر زمان محتوی شیشه‌های کشت پس از اندازه‌گیری pH و نمونه‌گیری از مایع کشت صاف شده برای سنجش نیتروژن آمونیاکی، خشک و توزین گردید و میزان ناپدید شدن ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی نمونه‌ها در اثر فعالیت باکتری‌ها اندازه‌گیری شد. محتوی محیط‌های کشت باکتری‌ها یا قارچ‌ها با پارچه داکرونی مخصوص صاف شد، سپس با مقدار مساوی از اسید کلریدریک ۰/۲ مولار ترکیب شد و تا زمان تعیین نیتروژن آمونیاکی به روش برودریک و کانگ (۷) در فریزر با دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد.

1- Inoculant

اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی: پس از آسیاب کردن نمونه‌های مورد آزمایش با الک دو میلی‌متری، ماده خشک نمونه‌ها و باقیمانده‌های پس از انکوباسیون آن‌ها با میکروارگانیسم‌های شکمبه (در آزمایش هضم دو مرحله‌ای)، قارچ‌ها و یا باکتری‌های شکمبه در آون (فن‌آزما تجهیز گستر ۲۴ لیتری، ایران) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۹۵ درجه سلسیوس تعیین شد (۵). الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (۵) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی تیمارها قبل و بعد از انکوباسیون (بدون استفاده از آمیلاز و با حذف خاکستر) اندازه‌گیری شد (۳۳).

داده‌های حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (ویرایش ۹/۱) تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه‌ی میانگین‌ها برای اختلاف‌های معنی‌دار، با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. مدل آماری طرح به‌صورت زیر بود:

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

در این مدل، Y_{ij}: مقدار هر مشاهده، μ: میانگین جامعه، T_i: اثر تیمار i ام و ε_{ij}: خطای آزمایشی بود.

جدول ۱- اثر مکمل کاکوتی بر قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌ی بره‌های پرواری در شرایط برون‌تنی[۱]

Table 1- Effect of *Ziziphora clinopodioides* supplement on *in vitro* nutrients digestibility of fattening lambs diet [1]

تیمارها[۲] Treatment[2]	درصد قابلیت هضم Digestibility (%)		
	ماده خشک Dry matter	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی NDF
شاهد (جیره پایه[۳]) Control (basal diet[3])	55.27[b]	47.44[b]	36.50[b]
جیره پایه + ۰/۲ درصد کاکوتی Basal diet + 0.2% ZC	59.81[a]	52.29[a]	39.60[a]
جیره پایه + ۰/۴ درصد کاکوتی Basal diet + 0.4% ZC	60.71[a]	53.02[a]	42.01[a]
جیره پایه + ۰/۶ درصد کاکوتی Basal diet + 0.6% ZC	59.11[a]	53.19[a]	39.70[a]
جیره پایه + ۰/۸ درصد کاکوتی Basal diet + 0.8% ZC	58.70[a]	52.78[a]	39.50[a]
جیره پایه + یک درصد کاکوتی Basal diet + 1.0% ZC	57.91[ab]	51.98[a]	40.04[a]
SEM	1.45	1.28	1.36
P-value	0.03	0.03	0.01

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

[۲] جیره‌های آزمایشی که با مایع شکمبه بره‌های پرواری تغذیه شده با جیره پایه انکوباسیون شدند.

[۳] جیره پایه، یک جیره‌ی استاندارد بره پرواری فاقد کاکوتی بود.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

[1] Mean within the same column with different letters differ significantly ($P<0.05$).
[2] Experimental diets incubated with rumen fluid of fattening lambs fed basic diet.
[3] Basic diet was a standard diet of fattening lamb without *Ziziphora clinopodioides* (ZC).
SEM: Standard error of the means

نتایج و بحث

تعیین مقدار مناسب استفاده از گیاه کاکوتی در جیره بره‌ی پرواری: تحت تاثیر افزودن مکمل کاکوتی به جیره بره‌های پرواری، قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) (جدول ۱) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در جیره حاوی ۰/۴ درصد کاکوتی (تیمار ۳) و کمترین مقدار در جیره شاهد مشاهده شد. با این‌حال، اختلاف بین جیره‌های حاوی کاکوتی عددی و غیر معنی‌دار بود (P>۰/۰۵). افزایش قابلیت هضم مواد مغذی در اثر افزودن کاکوتی شاید به این دلیل باشد که ترکیبات موثره‌ی کاکوتی فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه را تقویت کرده است. به‌عبارت دیگر، افزایش قابلیت هضم ممکن است به دلیل تغییر در جمعیت میکروبی و

بهبود فعالیت هضم و تخمیر آن‌ها در اثر این ترکیبات ثانویه باشد (۲). ذکر شده که برخی متابولیت‌های ثانویه نظیر ترکیبات فنولی (که در کاکوتی هم وجود دارد) به‌طور انتخابی سبب مهار فعالیت باکتری‌های آمیلولیتیک و پروتئولیتیک می‌شوند، بدون اینکه اثری بر سایر میکروارگانیسم‌ها نظیر سلولیتیک‌ها داشته باشند (۳۴). لذا، این اثر انتخابی منجر به حذف رقابتی برخی گونه‌ها به نفع سایر گونه‌ها می‌شود، بنابراین، مواد اولیه محیط برای فعالیت گونه‌هایی دیگر فراهم می‌شودشاید همین ساز و کار عامل بهبود قابلیت هضم در جیره‌های حاوی کاکوتی باشد. مطابق نتایج آزمایش حاضر، به‌ترتیب افزایش قابلیت هضم و تخمیر سرشاخه نیشکر یا جیره با افزودن کاکوتی به جیره بره‌ها (۳) یا افزودن سایر ترکیبات تانن‌دار نظیر گیاه خارمریم (مانند کاکوتی حاوی تانن) به جیره گوساله‌ها گزارش شده است (۲۱). گیاه زنیان (دارای تیمول و گاما ترپینن مشابه کاکوتی) نیز باعث افزایش هضم و تخمیر خوراک شده است (۲۰) که با آزمایش حاضر مطابقت دارد. بنابراین، افزایش قابلیت هضم مواد مغذی نشان می‌دهد که ترکیبات فنلی موجود در کاکوتی (۱۷) به عنوان مواد ضد تغذیه‌ای تأثیر منفی بر تخمیر میکروارگانیسم‌های شکمبه نداشته است.

نتایج ارائه شده در جدول ۲ نشان داد که غلظت نیتروژن آمونیاکی و pH محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه در روزهای اول، سوم و ششم انکوباسیون تحت تأثیر افزودن کاکوتی به جیره بره‌های پرواری قرار نگرفت. با افزایش مدت زمان انکوباسیون از روز اول تا ششم، مقدار نیتروژن آمونیاکی تولیدی تغییر معنی‌داری نداشت. میانگین غلظت نیتروژن آمونیاکی و pH محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه نیز تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. آزمایش‌ها در مورد بررسی اثر کاکوتی یا ترکیبات موثره آن بر قارچ‌های جداسازی شده شکمبه بسیار محدود بود، لذا در بحث اثر مواد مؤثره موجود در گیاهان دیگر که مشابه کاکوتی بودند بر قارچ‌ها و یا سایر میکروارگانیسم‌های شکمبه بررسی شدند. موافق با نتایج آزمایش حاضر، در حین مطالعه قابلیت هضم و تخمیر سرشاخه نیشکر توسط قارچ‌های شکمبه جداسازی شده از شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مکمل کاکوتی، تأثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی و pH محیط کشت آن‌ها مشاهده نشد (۳). استفاده از مکمل کاکوتی در جیره بره‌های پرواری نیز تأثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی و pH شکمبه آن‌ها نداشت (۴). استفاده از اسانس مروتلخ (دارای ۱–۸ سینئول و لینالول مشابه کاکوتی) نیز تأثیری بر میانگین غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت پیوسته میکروارگانیسم‌های شکمبه نداشت (۲۳).

جدول ۲- نیتروژن آمونیاکی و pH حاصل از تخمیر جیره‌های حاوی مکمل کاکوتی انکوبه شده با قارچ‌های بی‌هوازی جدا شده از مایع شکمبه بره‌های پرواری[۱]

Table 2- Ammonia-N and pH of experimental diets containing *Ziziphora clinopodioides* incubated with anaerobic fungi isolated from rumen fluid of fattening lambs fed with basal diet[1]

	زمان انکوباسیون (روز) Incubation time (day)							
	اول First		سوم Third		ششم Sixth		میانگین Average	
تیمارها[۲] Treatment[2]	pH	نیتروژن آمونیاکی NH_3-N (mg/100 ml)	pH	نیتروژن آمونیاکی NH_3-N (mg/100 ml)	pH	نیتروژن آمونیاکی NH_3-N (mg/100 ml)	pH	نیتروژن آمونیاکی NH_3-N (mg/100 ml)
شاهد (جیره پایه[۳]) Control (basal diet[3])	6.30	12.68	6.40	12.68	6.30	13.77	6.33	13.04
جیره پایه + ۰/۲ درصد کاکوتی Basal diet + 0.2% ZC	6.10	12.47	6.20	12.84	6.30	13.72	6.20	13.01
جیره پایه + ۰/۴ درصد کاکوتی Basal diet + 0.4% ZC	6.20	12.76	6.20	13.57	6.30	13.51	6.23	13.28
SEM	0.15	0.66	0.13	0.75	0.04	0.31	0.14	0.57
P-value	0.11	0.09	0.32	0.17	0.80	0.61	0.13	0.30

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

[۲] جیره‌های آزمایشی که با مایع شکمبه بره‌های پرواری تغذیه شده با جیره پایه انکوباسیون شدند.

[۳] جیره پایه، یک جیره‌ی استاندارد بره پرواری فاقد کاکوتی بود.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

[1] Mean within the same column with different letters differ significantly ($P<0.05$).
[2] Experimental diets incubated with rumen fluid of fattening lambs fed basic diet.
[3] Basic diet was a standard diet of fattening lamb without *Ziziphora clinopodioides* (ZC).
SEM: Standard error of the means

برخلاف نتایج آزمایش حاضر، کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شرایط برون‌تنی با استفاده از گیاه پونه (دارای ۱و ۸ سینئول مشابه

کاکوتی) (۱۴) و پونه‌کوهی (دارای کارواکرول مشابه کاکوتی) (۸) گزارش شده است. در آزمایش دیگری، غلظت نیتروژن آمونیاکی در بره‌های تغذیه شده با اسانس پونه کوهی (دارای کارواکرول مشابه کاکوتی) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی کاهش یافت (۲۶). در مطالعه‌ی دیگری، اسانس نعناع (۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکروگرم در لیتر) که مشابه کاکوتی حاوی کاروون، لیمونن، لینالول و ۱و ۸ سینئول است، در شرایط آزمایشگاهی پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون باعث افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی شد (۳۰).

جدول ۳- قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی حاصل از تخمیر جیره‌های حاوی مکمل کاکوتی انکوبه شده با قارچهای بی‌هوازی جدا شده از مایع شکمبه بره‌های پرواری[1]

Table 3- Digestibility of dry matter and NDF of experimental diets containing *Ziziphora clinopodioides* incubated with anaerobic fungi isolated from rumen fluid of fattening lambs[1]

	زمان انکوباسیون (روز) Incubation time (day)							
	اول First		سوم Third		ششم Sixth		میانگین Average	
تیمارها[2] Treatment[2]	ماده خشک Dry matter	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	ماده خشک Dry matter	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	ماده خشک Dry matter	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	ماده خشک Dry matter	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF
شاهد (جیره پایه[3]) Control (basal diet[3])	36.82[b]	34.50[b]	48.80[b]	45.21[b]	53.52[b]	50.15[b]	46.38[b]	43.29[b]
جیره پایه + ۰/۲ درصد کاکوتی Basal diet + 0.2% ZC	38.40[a]	36.72[a]	54.03[a]	51.97[a]	57.26[a]	53.02[a]	49.90[a]	47.24[a]
جیره پایه + ۰/۴ درصد کاکوتی Basal diet + 0.4% ZC	39.08[a]	37.85[a]	54.57[a]	52.06[a]	57.84[a]	53.41[a]	50.50[a]	47.77[a]
SEM	0.03	0.05	0.04	0.038	0.037	0.026	0.034	0.037
P-value	0.03	0.04	0.03	0.04	0.03	0.02	0.02	0.03

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

[2] جیره‌های آزمایشی که با مایع شکمبه بره‌های پرواری تغذیه شده با جیره پایه انکوباسیون شدند.

[3] جیره پایه، یک جیره‌ی استاندارد بره پرواری فاقد کاکوتی بود.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

[1] Mean within the same column with different letters differ significantly ($P<0.05$).
[2] Experimental diets incubated with rumen fluid of fattening lambs fed basic diet.
[3] Basic diet was a standard diet of fattening lamb without *Ziziphora clinopodioides* (ZC).
SEM: Standard error of the means

قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی جیره‌های آزمایشی توسط قارچهای بی‌هوازی شکمبه (جدول ۳) در روز اول، سوم و ششم انکوباسیون و توسط باکتری‌های بی‌هوازی (جدول ۴) در ساعات ۲۴، ۴۸ و ۷۲ و میانگین کل دوره آزمایش، تحت تأثیر افزودن مکمل کاکوتی به جیره بره‌های پرواری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. برای هر دو گروه قارچها و باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه بین جیره‌های حاوی دو سطح ۰/۲ و ۰/۴ درصد کاکوتی تفاوت معنی‌داری در هضم جیره‌ها مشاهده نشد. با افزایش مدت انکوباسیون در محیط کشت اختصاصی قارچها و باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه به‌ترتیب، از روز اول تا ششم یا ساعات ۲۴ تا ۷۲، درصد قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی افزایش یافت. شاید بهبود هضم ماده خشک و NDF در محیط کشت قارچها و باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه به سبب تأثیر ترکیبات ثانویه موجود در کاکوتی باشد که منجر به تغییر در جمعیت میکروبی و به‌دنبال آن بهبود فعالیت هضم آن‌ها شده باشد (۲). به‌طوری‌که، ترکیبات فنولی که در کاکوتی نیز وجود دارد، سبب مهار فعالیت باکتری‌های آمیلولیتیک و پروتئولیتیک می‌شوند، اما اثری بر سایر میکروارگانیسم‌ها نظیر سلولیتیک‌ها ندارند (۳۴).

جدول ٤- قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی حاصل از تخمیر جیره‌های آزمایشی حاوی مکمل کاکوتی انکوبه شده با باکتری‌های بی‌هوازی جدا شده از مایع شکمبه بره‌های پرواری[۱]

Table 4- Digestibility of dry matter and NDF of experimental diets containing *Ziziphora clinopodioides* incubated with anaerobic bacteria isolated from rumen fluid of fattening lambs[1]

	زمان انکوباسیون (ساعت) Incubation time (h)							
	0-24		24-48		48-72		میانگین Average	
تیمارها[۲] Treatment[2]	ماده خشک Dry matter	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	ماده خشک Dry matter	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	ماده خشک Dry matter	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	ماده خشک Dry matter	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF
شاهد (جیره پایه[۳]) Control (basal diet[3])	42.57[b]	40.53[b]	50.64[b]	48.77[b]	56.65[b]	51.85[b]	49.95[b]	47.05[b]
جیره پایه + ۰/۲ درصد کاکوتی Basal diet + 0.2% *ZC*	44.43[a]	42.94[a]	54.16[a]	52.80[a]	58.17[a]	54.24[a]	52.25[a]	49.99[a]
جیره پایه + ۰/۴ درصد کاکوتی Basal diet + 0.4% *ZC*	45.86[a]	43.64[a]	54.29[a]	52.92[a]	58.70[a]	54.07[a]	52.95[a]	52.21[a]
SEM	0.03	0.02	0.03	0.03	0.02	0.02	0.03	0.02
P-value	0.01	0.03	0.03	0.02	0.03	0.04	0.02	0.04

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

[۲] جیره‌های آزمایشی که با مایع شکمبه بره‌های پرواری تغذیه شده با جیره پایه انکوباسیون شدند.

[۳] جیره پایه، یک جیره‌ی استاندارد بره پرواری فاقد کاکوتی بود.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

[1] Mean within the same column with different letters differ significantly ($P<0.05$).
[2] Experimental diets incubated with rumen fluid of fattening lambs fed basic diet.
[3] Basic diet was a standard diet of fattening lamb without *Ziziphora clinopodioides* (ZC).
SEM: Standard error of the means

لذا، این اثر انتخابی منجر به حذف رقابتی برخی گونه‌ها به نفع سایر گونه‌ها می‌شود، احتمالا این مکانیسم یکی از عوامل بهبود دهنده قابلیت هضم در جیره‌های حاوی کاکوتی باشد. ازطرفی، ترکیبات فلاونوئیدی کاکوتی ممکن است باعث بهبود قابلیت هضم شده باشند؛ زیرا پژوهشگران نشان دادند که تجزیه میکروبی فلاونوئیدها در شکمبه می‌تواند نقش جایگزین منبع کربن را برای میکروارگانیسم‌ها داشته باشد و منجر به بهبود فعالیت هضمی آن‌ها شود (۲۹). در آزمایشی، قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک و NDF سرشاخه نیشکر توسط قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه تحت تأثیر افزودن کاکوتی به جیره گوسفندان قرار نگرفت (۳). درصد قابلیت هضم جیره‌ها در بره‌های تغذیه شده با کاکوتی در مقایسه با جیره شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (۴). مقدار ناپدید شدن ماده خشک و NDF جیره توسط قارچ‌های شکمبه، تحت تأثیر سطوح مختلف خارمریم (حاوی تانن مشابه کاکوتی) قرار نگرفت (۲۱). در مطالعه‌ی دیگری نیز قابلیت هضم ماده خشک و NDF جیره تحت تأثیر سطوح مختلف اسانس نعناع فلفلی (دارای پولگون مشابه کاکوتی) قرار نگرفت (۱). در آزمایشی، ناپدید شدن ماده خشک و NDF سرشاخه نیشکر انکوبه شده با باکتری‌های شکمبه جدا شده از گوسفندان تغذیه شده با کاکوتی، در ۲۴ ساعت اول انکوباسیون بیشتر از شاهد بود، اما در روزهای سوم و ششم تفاوت فقط عددی بود (۳)؛ هم‌چنین با افزایش مدت زمان انکوباسیون، میزان هضم‌پذیری افزایش یافت. در مطالعه‌ی دیگری، قابلیت هضم NDF و ماده خشک خوراک گوسفندانی که با یک جیره حاوی ۳ و ۶ درصد گل میمونی سازویی (دارای لینالول مشابه کاکوتی) تغذیه شده بودند، نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد (۲۴ و ۲۵).

در آزمایشی، استفاده از انواع گیاهان دارویی (حاوی ترکیبات فنولی، مثل کاکوتی) در جیره، باعث افزایش قابلیت هضم ماده خشک شد (۲، ۳، ۲۰). به‌علاوه، مواد مؤثره کاکوتی به‌ویژه ترکیبات فلاونوئیدی آن با ساز و کار دیگری نیز ممکن است باعث بهبود قابلیت هضم شده باشند. به‌طوری‌که، پژوهشگران گزارش کردند که تجزیه میکروبی فلاونوئیدها در شکمبه می‌تواند نقش جایگزین منبع کربن را برای فعالیت میکروبی بازی کند و منجر به تأثیر بر فعالیت هضمی آن‌ها شود (۲۹). در پژوهشی، قابلیت هضم ماده خشک در گوسفند تحت تأثیر افزودن اسانس پونه‌کوهی (دارای پولگون مشابه کاکوتی) قرار نگرفت (۲۶). همچنین، قابلیت هضم مواد مغذی با افزودن سطوح مختلف ۸ گیاه دارویی افزایش و با ۴ اسانس‌گیاهی کاهش یافت (۳۱).

غلظت نیتروژن آمونیاکی و pH در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از آغاز انکوباسیون جیره‌های آزمایشی با باکتری‌ها بی‌هوازی شکمبه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۵). با افزایش مدت انکوباسیون تا ۷۲ ساعت، تغییر محسوسی در غلظت نیتروزن آمونیاکی و یا pH مشاهده نشد. برای میانگین کل زمان های انکوباسیون نیز تفاوتی بین تیمارها از نظر غلظت نیتروژن آمونیاکی و pH محیط کشت باکتری‌های بی‌هوازی شکمبه وجود نداشت. شاید انتظار می‌رفت که ترکیبات ضدتغذیه‌ای موجود در کاکوتی نظیر ترکیبات فنلی (۱۷) منجر به تغییراتی در غلظت نیتروژن آمونیاکی شوند، زیرا این ترکیبات باعث اتصال به پروتئین‌ها و مانع تجزیه آن‌ها توسط باکتری‌های شکمبه می‌شوند (۶)، اما این عدم تغییر نشان داد که وجود ترکیبات ثانویه در کاکوتی، به اندازه‌ای که در آزمایش حاضر استفاده شده بود، مانعی برای هضم پروتئین توسط باکتری‌های شکمبه نیست. برخی از اسانس‌های گیاهی (رازیانه، فلفل دلمه، دارچین، میخک، شوید، سیر، زنجبیل، پونه کوهی و درخت چای) و اجزای اصلی آن (آنتول،کارواکرول، کاروون، ائوژنول و غیره) به‌طور قابل توجهی غلظت نیتروژن آمونیاکی را در غلظت‌های بالا (۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) کم می‌کنند، اما اثرات در دوزهای متوسط (۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در خط مرزی بوده و در دوزهای پایین (۳ میلی‌گرم در لیتر) اثری وجود نداشت (۸).

جدول ۵- نیتروژن آمونیاکی و pH حاصل از تخمیر جیره‌های حاوی مکمل کاکوتی انکوبه شده با باکتری‌های بی‌هوازی جدا شده از مایع شکمبه بره‌های پرواری[۱]

Table 5- Ammonia-N and pH of experimental diets containing *Ziziphora clinopodioides* incubated with anaerobic bacteria isolated from rumen fluid of fattening lambs[1]

	زمان انکوباسیون (ساعت) Incubation time (h)							
	0-24		24-48		48-72		میانگین Average	
تیمارها[۲] Treatment[2]	pH	نیتروژن آمونیاکی NH_3-N (mg/dl)	pH	نیتروژن آمونیاکی NH_3-N (mg/dl)	pH	نیتروژن آمونیاکی NH_3-N (mg/dl)	pH	نیتروژن آمونیاکی NH_3-N (mg/dl)
شاهد (جیره پایه[۳]) Control (basal diet[3])	6.20	12.02	6.30	12.16	6.20	11.73	6.24	11.97
جیره پایه + ۰/۲ درصد کاکوتی Basal diet + 0.2% ZC	6.10	11.57	6.20	12.26	6.10	12.50	6.14	12.11
جیره پایه + ۰/۴ درصد کاکوتی Basal diet + 0.4% ZC	6.10	12.72	6.10	12.80	6.20	13.23	6.14	12.92
SEM	0.04	0.90	0.06	0.64	0.05	0.79	0.06	0.78
P-value	0.13	0.19	0.10	0.18	0.50	0.11	0.25	0.16

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

[۲] جیره‌های آزمایشی که با مایع شکمبه بره‌های پرواری تغذیه شده با جیره پایه انکوباسیون شدند.

[۳] جیره پایه، یک جیره‌ی استاندارد بره پرواری فاقد کاکوتی بود.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

[1] Mean within the same column with different letters differ significantly ($P<0.05$).

[2] Experimental diets incubated with rumen fluid of fattening lambs fed basic diet.

[3] Basic diet was a standard diet of fattening lamb without *Ziziphora clinopodioides* (ZC).

SEM: Standard error of the means

در آزمایشی غلظت نیتروژن آمونیاکی و pH برای میانگین کل زمان‌های انکوباسیون و پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون سرشاخه نیشکر در محیط کشت حاوی باکتری‌های جداسازی شده از شکمبه گوسفندان تغذیه شده با مقادیر مختلف کاکوتی تفاوت معنی‌داری نسبت

به جیره شاهد نداشتند، اما در زمان ۷۲ ساعت، غلظت نیترژن آمونیاکی تولیدی نسبت به زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت کاهش یافت (۳). گزارش شده که استفاده از غلظت‌های مختلف اسانس پونه‌کوهی (دارای کارواکرول مشابه کاکوتی)، غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت را در شرایط آزمایشگاهی کاهش می‌دهد (۸). پژوهشگران نشان دادند که اضافه کردن تیمول (ماده موثره کاکوتی) به مایع شکمبه حاوی کازئین (یک گرم بر لیتر) منجر به تجمع اسید آمینه و کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی می‌شود (۶) که نشان دهنده مهار دآمیناسیون اسیدهای آمینه توسط باکتری‌های شکمبه است. در تحقیق دیگری، اسانس نعناع (دارای پولگون مشابه کاکوتی) تأثیر معنی‌داری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه گوسفند نداشت (۱). اما اسانس رزماری (دارای سینئول مشابه کاکوتی) باعث کاهش معنی‌دار غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه گوسفند قزل شد (۲۷).

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از مکمل کاکوتی در ترکیب جیره بره‌های پرواری منجر به بهبود فعالیت هضمی و تخمیری میکروارگانیسم‌های شکمبه در شرایط برون‌تنی شد. با افزودن مقادیر مختلف کاکوتی به جیره، قابلیت هضم جیره‌ی بره‌های پرواری توسط کل میکروارگانیسم‌های شکمبه (در آزمایش هضم دو مرحله‌ای) و یا باکتری‌ها و قارچ‌های بی‌هوازی جدا شده از شکمبه در مقایسه با جیره شاهد افزایش نشان داد. از طرفی، بین مقدار ۰/۲ درصد کاکوتی در جیره با ۰/۴ درصد آن تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، بنابراین مقدار ۰/۲ درصد برای استفاده در جیره بره‌های پرواری توصیه می‌شود؛ اگرچه برای تقویت این پیشنهاد، انجام آزمایش‌های تکمیلی بیشتر در شرایط حیوان زنده نیز توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

از مسئولین محترم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان برای فراهم آوردن امکان انجام آزمایش قدردانی می‌شود.

Refrences

1. Ahmadi Naghadehi, A. A., R. Pirmohammadi, M. Sahraei Belverdy, and Kh. Parsaeimehr. 2015. Effect of peppermint (*Mentha Piperita L.*) on digestibility and rumen fermentation of Makuei sheep. Animal Science Journal, 28 (1): 65-77. (In Persian).
2. Alexander, G., B. Singh, A. Sahoo, and T. K. Bhat. 2008. *In vitro* screening of plant extracts to enhance the efficiency of utilization of energy and nitrogenin ruminant diets. Animal Feed Science and Technology, 145: 229-242.
3. Alimirzaii, P., and M. Cahji. 2019. Effect of feeding *Ziziphora clinopodioides* to finishing lambs on the activity of rumen fungi and bacteria in digestion and fermentation of sugarcane top. Animal Production Research, 8 (1): 29-39. (In Persian).
4. Alimirzaii, P., and M. Cahji. 2019. The effect of supplementation medicinal plant of *Ziziphora cliniopodiodes* in diet on growth performance, digestibility of nutrients, and some meat quality indices of Arabian-Romanov lambs. Journal of Veterinary Research, 76 (1): 31-43. (In Persian).
5. AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
6. Benchaar, C., A. V. Chaves, G. R. Fraser, Y. Wang, K. A. Beauchemin, and T. A. McAllister. 2007. Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. Canadian Journal of Animal Science, 87: 413-149.
7. Brodrick, G. A., and J. H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. Journal of Dairy Science, 63: 64-75.
8. Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Camel. 2006. Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science, 89: 761-771.
9. Caldwell, D. R., and M. P. Bryant 1966. Medium without rumen fluid for nonselective enumeration and isolation of rumen bacteria. Apply Microbiology, 14: 794-801.
10. Calsamiglia, S., M. Busquet, P. W. Cardozo, L. Castillejos, and A. Ferret. 2007. Invited Review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science, 90: 2580-2595.
11. Chaji, M. 2020. Applied Animal Nutrition: Feeds and Feeding. Second ed. Norbaksh, Teharn.
12. Davies, D. R., M. K. Theodorou, M. I. L. awrence, and Trinci A. P. J. 1993. Distribution of anaerobic fungi in the digestive tract of cattle and their survival in faeces. Journal of General Microbiology, 139: 1395-1400.
13. Ghahhari, N., T. Ghoorchi, and S. A. Vakili. 2016. Effect of adding herbs (*Ziziphora clinopodioides, Mentha spicata* and *Mentha pulegium*) in milk on performance, blood metabolites and fecal microbial population on Holstein calves. Iranian Journal of Animal Science Research, 8 (1): 57-71. (In Persian).
14. Khezrian, A., M. E. Nooriyan Soroor, and M. M. Moeini. 2016. The effect of plant and essential oils of *Mentha longoforia* on *in vitro* ruminal fermentation parameters, methane production and protozoa population of goat. Journal of Animal production, 18 (3): 477-490. (In Persian).
15. Mahboubi, M., and Gh. Haghi. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L.

essential oil. Journal of Ethnopharmacology, 119: 325-327.
16. McDougall, E. L. 1948. Studies on ruminant saliva. The composition and output of sheep saliva. Journal of Biochemistry, 43: 99-106.
17. Minooeian Haghighi, M. H., and A. R. Khosravi. 2013. Inhibition and destruction effects of *Cuminum cyminum, Ziziphora clinopodioides and Nigella sativa* essences on Aspergillus cells. Journal of Babol University of Medical Sciences, 15 (6): 25-35. (In Persian).
18. Mohammadabadi, T., M. Danesh Mesgaran, M. Chaji, and R. Tahmasebi. 2012. Evaluation of the effect of fat content of sunflower meal on rumen fungi growth and population by direct (quantitative competitive polymerase chain reaction) and indirect (dry matter and neutral detergent fiber disappearance) methods. African Journal of Biotechnology, 11 (1): 179-183.
19. National Research Council. 2007. Nutrient requirements of small ruminants, sheep, goats, cervids, and new world camelids. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
20. Nemati, F., Y. Roozbehan, M. A. Karimi Torshizi, and J. Rezaei. 2012. An Investigation of the effect of some medicinal plants on *in vitro* ruminal fermentation parameters. Iranian Journal of Animal Science, 43 (2): 193-206. (In Persian).
21. Nikzad, Z., M. Chaji, K. Mirzadeh, T. Mohammadabadi, and M. Sari. 2015. Effect of diets containing different levels of Milk Thistle and grains with different degradation rate on rumen fungi of Khuzestan buffalo. Journal of Veterinary Research, 70 (2): 213-225. (In Persian).
22. Orpin, C. G. 1977. The rumen flagellate *Piromonas communis*: its life history and invasion of plant material in the rumen. Journal of General Microbiology, 99: 107-117.
23. Ouladshanbe, Y., M. Sari, M. Chaji, T. Mohammadabadi, and M. Boojarpour. 2014. Investigating the effects of *Salvia mirzayanii* essential oil on rumen microbial fermentation and nutrient digestibility using gas production and dual flow continuous culture system. Iranian Journal of Animal Science Research, 6(1): 54-65. (In Persian).
24. Rezaee, F., T. Mohammadabadi, M. Chaji, and M. R. Mashayekhi. 2016. Effect of feeding Scrophularia striata Boiss on fermentation, gas production and *in vitro* digestibility characteristics of Lori- Bakhtiari sheep. Animal Production Research, 5(3): 83-92. (In Persian).
25. Rezaee, F., T. Mohammadabadi, M. Chaji, and M. R. Mashayekhi. 2016. Effects of phenolic components of *Scrophularia striata* Boiss powder on feed intake, digestibility, rumination and rumen protozoa population in Lori-Bakhtiari sheep. Iranian Journal of Animal Science, 47: 155-164. (In Persian)
26. Shahabi, H., Y. Chashnidel, A. Teimori Yansari, and S. A. Jafarpour. 2016. Effect of oregano essential oil and canola oil on apparent digestibility, ruminal pH, ammonia, and carcass quality characteristics of fattening Dalagh lambs. Research on Animal Production, 7(13): 135-127. (In Persian).
27. Sahraei Belverdy, M., and R. Pirmohammadi. 2014. Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils on digestibility, blood and rumen parameters of Ghezel sheep. Animal Science Journal, 27(103): 71-82. (In Persian)
28. Salamat, A., T. Ghorchi, F. Ghanbari, and O. Ashayerizadeh. 2015. Determination of degradability and the effect of *Ziziphora tenuior* L. on dry matter digestibility rumen microbial population and blood parameters of Dalaq sheep. Journal of Livestock Research, 4 (3):23-24. (In Persian).
29. Smith, H., E. Zoetendal, and R. I. Mackie. 2005. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. Microbial Ecology. 50(2): 197-205.
30. Taghavinezhad, M., D. Alipour, M. Torabi Goudarzi, P. Zamani, and G. Khodakaramian. 2011. Dose response to carvone rich essential oils of spearmint (*Mentha spicata* L.): *in vitro* ruminal fermentation kinetics and digestibility. Journal of Agricultural Science and Technology, 13: 1013-1020.
31. Tekippe, J. A., A. N. Hristov, K. S. Heyler, T. W. Cassidy, V. W. Zheljazkov, J. F. S. Ferreira, S. K. Karnati, and G. A. Varga. 2011. Rumen fermentation and production effects of *Origanum vulgare* L. leaves in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 90: 5056-5079.
32. Tilley, J. M. A., and R. A. Terry. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. Journal of the British Grassland Society, 18: 104-111.
33. 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.
34. Wallace, R. J., N. R. McEwan, F. M. McIntosh, B. Teferedegne, and C. J. Newbold. 2002. Natural products as manipulators of rumen fermentation. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 15: 1458-1468.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 513-524

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۵۲۴-۵۱۳

The effect of adding different levels of *Ziziphora clinopodioides* to the diet on the *in vitro* digestion and fermentation activity of anaerobic bacteria and fungi in the rumen of fattening Arabi lambs

Morteza Chaji[1*] and Parvin Alimirzaii[2]
Submitted: 10-05-2020
Accepted: 01-03-2021

Chaji, M., and P. Alimirzaii. 2022. The effect of adding different levels of *Ziziphora clinopodioides* to the diet on the *in vitro* digestion and fermentation activity of anaerobic bacteria and fungi in the rumen of fattening Arabi lambs. Iranian Journal of Animal Science Research 13(4):513-524.

Introduction The ruminants have a stomach with four separate compartments, in the two parts of which, rumen and reticulum, because of the action of their bacteria, protozoa, and other populations such as anaerobic fungi, the energy of plant cell wall are available to the host. The main products of fermentation include volatile fatty acids (VFA) and microbial crude protein, which provide about 80 percent of the energy and 60 to 85 percent of the animal protein requirements, respectively. Therefore, achieving the best efficiency of digestion and microbial fermentation in rumen is very important. On the other hand, the production of methane, carbon dioxide, and ammonia in the rumen causes a loss of energy and protein, an increase in greenhouse gases, and environmental pollution. Therefore, nutritionists, by manipulating ruminal fermentation processes, are looking for ways to reduce energy and protein loss in the form of methane and ammonia and to increase the efficiency of fermentation and synthesis of microbial protein in rumen and increase fiber digestion. For this purpose, several additives such as organic acids, yeasts, enzymes, buffers, and antibiotics have been used. In recent decades, medicinal plants have attracted a lot of attention due to their ability as an alternative to growth stimulants and antibiotics in animal and poultry nutrition. In this regard, the plants of the Lamiaceae (mints) family, which are considered as a medicinal plant with high antimicrobial properties, have been considered. The perennial species of Ziziphora clinopodioides belongs to this family, Lamiaceae. The Ziziphora clinopodioides is widespread in the north, center, northwest, south, and northeast of Iran. Some of the most important active ingredients in this plant are Pulegone, Piperitenone, Yomogi alcohol), DL-Menthol, Carvacrol, Piperitenone, γ-Terpinene, and Carnoon. Since the activity of rumen anaerobic fungi and bacteria is important in the digestion of feed and considering that there is no information about the effect of adding this plant to the diet on the activity of bacteria and fungi isolated from the rumen, the latency is very limited. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of using Ziziphora clinopodioides in the diet of fattening lambs as a supplement, on digestion and fermentation activity of their rumen bacteria and fungi.

Materials and Methods Initially, the best amount of *Ziziphora clinopodioides* supplement in the diet was determined by the two-steps digestion method. Therefore, six treatments containing zero (control), 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, and 1% powdered *Ziziphora clinopodioides* plants were added to a standard diet of fattening lambs. Then, based on the results, three treatments containing zero (control), 0.2%, and 0.4% were selected among them to determine the effect of *Ziziphora clinopodioides* supplement on the activity of ruminal anaerobic fungi and bacteria. The rumen fluid required for the two-steps digestion experiment and the specific culture medium of bacteria and fungi were prepared from four male lambs fed a fattening lamb diet with similar ingredients and compositions to the diet of *in vitro* section, through a stomach tube. Then, anaerobic bacteria and fungi were isolated and purified from their ruminal fluid.

Results and Discussion Concentration of ammonia nitrogen and pH in the specific culture medium of rumen fungi at the first, third, and sixth days of incubation and the average concentration of the whole period, and also at

1- Professors, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran.
2- M.Sc. Graduated Student of Animal Nutrition, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran.
(*Corresponding Author Email: : chaji@asnrukh.ac.ir)
Doi:10.22067/ijasr.2021.38294.0

24, 48 and 72 hours after initiation of incubation of experimental diets with bacteria, were not affected by experimental treatments. The *in vitro* digestibility of dry matter, neutral detergent fiber (NDF), and acid detergent fiber (ADF) increased significantly ($P<0.05$), as an influence from the addition of *Ziziphora clinopodioides* supplements to the diet of fattening lambs. The highest and lowest dry matter, NDF, and ADF digestibility was observed in the control diet and diet containing 0.4% *Ziziphora clinopodioides*, respectively; and there was a numerical and non-significant difference between diets containing *Ziziphora clinopodioides*. The digestibility of dry matter and NDF of experimental diets by ruminal anaerobic fungi on the first, third, and sixth days of incubation, and ruminal bacteria at 24, 48 and 72 hours after initiation of incubation, and the average of the whole experimental period increased significantly under the influence of *Ziziphora clinopodioides* supplementation in the diet of fattening lambs. There was no difference between diets containing *Ziziphora clinopodioides* in the activity of anaerobic rumen fungi and bacteria in the digestion of diets. Increasing and improving the digestibility of diet nutrients may be due to changes in the microbial population and improved digestion and fermentation activity of them as a result of secondary compounds of *Ziziphora clinopodioides*. It has been suggested that some secondary metabolites, such as phenolic compounds (also found in *Ziziphora clinopodioides*), selectively inhibit the activity of amylolytic and proteolytic bacteria, without affecting other groups such as cellulolytic bacteria. Therefore, this selective effect leads to the competitive elimination of some species in favor of other species, therefore, the raw materials of the environment are provided for the activity of other species, perhaps this mechanism is a factor in improving digestibility in diets containing *Ziziphora clinopodioides*. consistent with the results of the present experiment, increasing the digestibility and fermentation of sugarcane top or diets have been reported by adding *Ziziphora clinopodioides* to the diet of lambs or thistle (such as *Ziziphora clinopodioides* containing tannins) in the diet of calves. The supplementation of the Trachyspermum plant (has thymol and, γ-Terpinene similar to *Ziziphora clinopodioides*) to diet also was increased the digestion and fermentation, which is consistent with the present experiment.

Conclusion Overall, the use of *Ziziphora clinopodioides* supplement in the diet of fattening lambs improved the digestive activity of anaerobic fungi and bacteria isolated from their rumen.

Keywords: Isolated bacteria, Isolated fungi, Specific culture medium, Two-steps digestion

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 525-536

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۵۳۶-۵۲۵

مقاله پژوهشی

نیاز ترئونین قابل‌هضم مرغان تخم‌گذار های‌لاین W36 تغذیه شده با جیره گندم-سویا در دوره دوم تولید

سید امیر حسینی نژاد[۱]، حیدر زرقی[۲*]، ابوالقاسم گلیان[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۳

حسینی نژاد، س. ا.، ح. زرقی، و ا. گلیان. ۱۴۰۰. نیاز ترئونین قابل‌هضم مرغان تخم‌گذار های‌لاین W36 تغذیه شده با جیره گندم-سویا در دوره دوم تولید. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۳(۴): ۵۳۶-۵۲۵.

چکیده

به‌منظور تعیین نیاز ترئونین قابل‌هضم مرغان تخم‌گذار تغذیه شده با جیره گندم-سویا در دوره دوم تولید آزمایشی با استفاده از ۳۸۴ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه های‌لاین W36 در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار، هشت تکرار و هشت قطعه پرنده در هر تکرار در دوره سنی ۱۰۵ تا ۱۱۶ هفتگی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل افزودن ال-ترئونین به جیره به‌منظور تأمین شش سطح ترئونین قابل‌هضم ۰/۴۴، ۰/۴۶، ۰/۴۸، ۰/۵۰، ۰/۵۲ و ۰/۵۴ درصد بودند، به‌طوری که نسبت ترئونین به لیزین در جیره‌های آزمایشی به ترتیب ۶۰، ۶۳، ۶۶، ۶۹، ۷۲ و ۷۵ درصد حاصل شد. تأثیر سطح ترئونین قابل‌هضم جیره بر درصد تخم‌گذاری، گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه و ضریب تبدیل خوراک به‌صورت معادله درجه‌دو و بر میانگین وزن تخم‌مرغ به‌صورت خطی معنی‌دار شد. با افزایش غلظت ترئونین قابل‌هضم جیره تا سطح ۰/۴۸ درصد، درصد تخم‌گذاری و گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه افزایش و ضریب تبدیل خوراک بهبود یافت. با استفاده از مدل‌های رگرسیونی نیاز ترئونین قابل‌هضم مرغان تخم‌گذار به‌منظور بروز بهینه درصد تخم‌گذاری، گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه و ضریب تبدیل خوراک به ترتیب ۵۰۲، ۵۰۵ و ۵۱۷ میلی‌گرم در روز (معادل ۹/۵۷ میلی‌گرم به ازای یک گرم تخم‌مرغ تولیدی) برآورد شد. نتیجه کلی این‌که در جیره‌های بر پایه گندم-سویا برای دوره دوم تولید ترئونین اسید آمینه محدود کننده است، میزان نیاز ترئونین قابل هضم برآورد شده برای بروز بهینه ضریب تبدیل خوراک نسبت به درصد تخم‌گذاری و گرم تخم‌مرغ تولیدی بیشتر است. تأمین سطح ترئونین قابل هضم جیره ۰/۴۸ درصد (نسبت ترئونین به لیزین ۶۶ درصد) توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پروتئین ایده‌آل، ترئونین، دوره دوم تولید، عملکرد، معادلات رگرسیون

مقدمه

در طول سال‌های گذشته بهبود ژنتیکی مرغان تخم‌گذار باعث شده است که توانمندی بالقوه این دسته از پرندگان در تولید تخم‌مرغ افزایش یابد (۲۳). بااین‌وجود، بروز این توانمندی مستلزم تغذیه صحیح است (۱۳ و ۱۶)، بنابراین تعیین دقیق نیازهای اسیدهای آمینه طیور و بخصوص اسیدهای آمینه‌ای که در جیره‌های مصرفی طیور محدودکننده هستند، اهمیت بسزایی دارد (۲۷). بالا بودن سطح پروتئین و نامتعادلی اسیدهای آمینه جیره سبب کاهش بهره‌وری از پروتئین مصرفی، دفع ازت مازاد به‌صورت اسید اوریک و فشار متابولیکی بر پرنده می‌شود (۲ و ۳). همچنین به دنبال بروز نگرانی آلودگی زیست‌محیطی به‌واسطه استفاده از کود طیور در مزارع کشاورزی، محققین سعی دارند با ترکیب صحیح اسیدهای آمینه جیره میزان ازت دفعی را کاهش دهند (۲۸). تنظیم جیره بر پایه اسیدهای آمینه قابل‌هضم با تأمین احتیاجات واقعی پرنده، باعث کاهش ازت دفعی و موجب حفظ سلامت محیطزیست می‌شود (۹ و ۲۲).

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳. استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email:h.zarghi@um.ac.ir)
Doi:10.22067/ijasr.0621.39379

ترئونین سومین اسیدآمینه محدودکننده در جیره‌های طیور بر پایه منابع گیاهی است (۶، ۱۲، ۱۴ و ۱۶). اگرچه نتایج برخی از تحقیقات نشان داده است که در جیره‌های بر مبنای ذرت-سویا با سطح پروتئین بالا مقدار ترئونین جیره به سطح احتیاجات رسیده و نیاز به افزودن مکمل ترئونین به جیره نیست (۲۲). در سطح جهانی، گندم بعد از ذرت دومین جایگاه را در بین دانه‌های خوراکی برای استفاده در تغذیه طیور دارد (۱۰). در برخی شرایط خاص به‌خصوص وقتی قیمت ذرت بالا است، با توجه به اینکه در اغلب مناطق کشور گندم قابل‌کشت است (۳۵)، گرایش به استفاده از گندم در جیره طیور مطرح می‌شود. با توجه به اینکه گندم میزان پروتئین بالاتری در مقایسه با ذرت دارد. در جیره‌های بر پایه گندم میزان کنجاله سویا جیره کاهش‌یافته و بخش اعظم پروتئین جیره به‌خصوص در جیره‌های کم پروتئین از منشأ گندم تأمین خواهد شد (۱۶). نظر به اینکه نسبت ترئونین به پروتئین در گندم از ذرت و کنجاله سویا پایین‌تر است، میزان ترئونین تأمین‌شده از طریق مواد خوراکی پایه در جیره‌های بر مبنای گندم به‌خصوص در جیره‌های با سطح پروتئین پایین مثل جیره‌های تنظیمی برای دوران پایانی تولید مرغان تخم‌گذار، به سطح احتیاجات پرنده نرسیده و افزودن مکمل ترئونین به جیره ضرورت خواهد یافت (۲۲).

در کتابچه راهنمای تغذیه‌ای مرغان تخم‌گذار سویه های‌لاین W36 میزان احتیاجات ترئونین کل در دامنه ۶۶۳-۵۶۰ و میزان احتیاجات ترئونین قابل‌هضم در دامنه ۵۶۴-۴۷۶ میلی‌گرم در روز برای مرغان تخم‌گذار در مراحل مختلف سنی و سطوح مختلف تولید تخم‌مرغ گزارش‌شده است (۱۹). انجمن ملی تحقیقات آمریکا میزان احتیاجات مرغان تخم‌گذار به ترئونین کل را در انتشارات سال‌های بین ۱۹۷۰ الی ۱۹۹۴ در دامنه ۵۰۰-۴۰۰ میلی‌گرم در روز گزارش کرده است (۱۱). بیشتر گزارش‌ها مربوط به احتیاجات اسیدهای آمینه مرغان تخم‌گذار در دوره نخست تولید بوده و اطلاعات در خصوص احتیاجات مرغان تخم‌گذار در دوره دوم تولید بسیار محدود است (۱۵ و ۱۶). به‌طوری‌که در کتابچه‌های راهنمای تغذیه‌ای منتشره توسط تولیدکنندگان مرغان تخم‌گذار تجاری احتیاجات اسیدهای آمینه مرغان تخم‌گذار برای دوره دوم تولید مشخص نشده و به جدول احتیاجات دوره نخست ارجاع شده است (۱۹). انجمن ملی تحقیقات آمریکا نیز فرض کرده احتیاجات در دوره دوم تولید مشابه دوره نخست است و گزارش مشخصی برای احتیاجات مرغان تخم‌گذار در دوره دوم تولید ارائه نکرده است (۲۷). این تحقیق به‌منظور برآورد نیاز ترئونین قابل‌هضم مرغان تخم‌گذار در دوره دوم تولید در شرایط تغذیه با جیره‌های بر پایه گندم-سویا با روش ارزیابی پاسخ‌های عملکردی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تعیین ترکیب شیمیایی مواد خوراکی

قبل از شروع آزمایش با ارسال نمونه مواد خوراکی مورداستفاده برای تنظیم جیره‌های آزمایشی به شرکت ایونیک (Evonik Nutrition & Care GmbH)، ترکیب شیمیایی مواد خوراکی پایه به روش طیف‌سنجی انعکاسی مادون‌قرمز (Near-infrared spectroscopy, Amino NIR) تعیین شد (جدول ۱).

جدول ۱- ترکیب مواد مغذی اقلام خوراکی مورداستفاده در تنظیم جیره پایه

Table 1- Analyzed nutrient composition of feedstuff that used in basal diet formulation

مواد مغذی Nutrient	گندم Wheat	کنجاله سویا Soy meal	گلوتن ذرت Corn gluten meal
انرژی قابل متابولیسم (کیلوگرم/ کیلوکالری) Metabolisable Energy (kcal/kg)	3213	2230	3740
پروتئین خام (درصد) Crude protein, %	11.37	44.47	53.86
لیزین قابل‌هضم (درصد) Digestible lysine, %	0.315	2.230	0.667
متیونین قابل‌هضم (درصد) Digestible methionine, %	0.156	0.547	1.119
متیونین + سیستین قابل‌هضم (درصد) Digestible methionine + cysteine, %	0.380	1.069	1.911
ترئونین قابل‌هضم (درصد) Digestible threonine, %	0.277	1.444	1.460
تریپتوفان قابل‌هضم (درصد) Digestible tryptophan, %	0.121	0.537	0.215
آرژینین قابل‌هضم (درصد) Digestible arginine, %	0.445	2.980	1.557

پرندگان، جایگاه و شرایط پرورش

تعداد ۳۸۴ قطعه مرغ تخم‌گذار لگهورن سویه های‌لاین W-36 از یک گله ۶۰۰۰ قطعه‌ای (سن ۱۰۳ هفتگی)، دوره دوم تولید (پس از تولک‌بری)، میزان تخم‌گذاری ۸۰ درصد، میزان مصرف خوراک روزانه ۹۸ گرم) دارای شرایط ظاهری سالم و حتی‌الامکان یکنواخت انتخاب شدند. هر دو قفس مجاور هم به‌عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد.

جدول ۲- اجزاء تشکیل‌دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره پایه[1]

Table 2 – Ingredients and nutrients composition of the basal diet[1]

مواد خوراکی Ingredient	Percentage درصد	مواد مغذی Nutrient	مقدار Values
گندم Wheat	63.83	انرژی قابل سوخت‌وساز (کیلوگرم/ کیلوکالری) ME, kcal/kg	2780
کنجاله سویا Soybean meal	14.36	پروتئین خام (درصد) CP %	15.81
گلوتن ذرت Corn gluten meal	3.50	کلسیم (درصد) Ca %	5.12
روغن گیاهی Vegetable oil	2.97	فسفر قابل‌دسترس (درصد) Available P %	0.43
کربنات کلسیم $CaCo_3$	12.26	سدیم (درصد) Na %	0.19
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.76	متیونین قابل‌هضم (درصد) Digestible Met %	0.35
نمک طعام Common salt	0.35	متیونین+ سیستین قابل‌هضم (درصد) Digestible Met + Cys %	0.60
مکمل ویتامینه[2] Vitamin Premix[2]	0.25	لیزین قابل‌هضم (درصد) Digestible Lys %	0.73
مکمل معدنی[3] Mineral Premix[3]	0.25	ترئونین قابل‌هضم (درصد) Digestible Thr %	0.44
دی ال- متیونین DL- Methionine	0.14	نسبت ترئونین قابل‌هضم به لیزین قابل‌هضم (درصد) Digestible Thr : digestible Lys %	60
ال- لیزین هیدروکلراید L-Lysine Hcl	0.23		
نشاسته ذرت Corn starch	0.10		

[1]در جیره پایه با جایگزینی نشاسته ذرت با مکمل ال-ترئونین (Evonik Degussa GmbH, Hanau-Wolfgang, Germany) به مقادیر صفر، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ گرم در کیلوگرم جیره شش سطح ترئونین قابل‌هضم ۰/۴۴، ۰/۴۶، ۰/۴۸، ۰/۵۰، ۰/۵۲ و ۰/۵۴ درصد تأمین شد به‌طوری‌که نسب ترئونین به لیزین در جیره‌های آزمایشی به ترتیب ۶۰، ۶۳، ۶۹، ۷۲ و ۷۵ درصد بود

[2]مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم جیره مواد زیر را تأمین می‌کرد: ویتامین A (رتینول)، ۲/۴ میلی‌گرم؛ ویتامین D3 (کوله‌کلسیفرول)، ۷۵ میکروگرم؛ ویتامین E (دی-ال- الفا توکوفرول استات)، ۵ میلی‌گرم؛ ویتامین K3 (منادیون)، ۲/۲ میلی‌گرم؛ ویتامین B1 (تیامین)، ۱/۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B2 (ریبوفلاوین) ۴/۰ میلی‌گرم؛ ویتامین B3 (نیاسین)، ۸ میلی‌گرم؛ ویتامین B5 (اسید پانتوتنیک)،۳۵/۰ میلی‌گرم؛ ویتامین B6 (پیرویدکسین)، ۲/۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B9 (اسید فولیک) ۰/۵ میلی‌گرم، ویتامین B12 (سیانوکوبالامین)، ۱۰ میکروگرم، ویتامین H (بیوتین)، ۰/۱۵ میلی-گرم؛ کولین‌کلراید، ۵۰ میلی‌گرم.

[3]مکمل معدنی 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.

[1]The diets were provided in a way that a batch of basal diet (lowest digestible threonine concentration) was made and then divided into 6 equal portions; the L- threonine (ME = 3570 kcal/kg, CP = 72.4, Threonine = 98%, Evonik Degussa GmbH, Hanau-Wolfgang, Germany) was added at the rate of 0.00, 0.20, 0.4, 0.6, 0.8 and 1 g/kg to the top of each portion at the expense of filler (corn starch) and mixed to provide six diets with 0.44, 0.46, 0.48, 0.50, 0.52 and 0.54% digestible threonine levels so as to form ratios of 60, 63, 69, 72 and 75% of dig Thr:dig Lys.

[2]Provided in kg of diet: vitamin A (all-trans-retinol), 8,800 IU; vitamin D3 (cholecalciferol), 3,300 IU; vitamin E (DL-α-tocopheryl acetate), 18.5 IU; vitamin K3 (menadione), 2.2 mg; vitamin B1 (thiamin), 2.2 mg; vitamin B2 (riboflavin), 5.5 mg; vitamin B3 (niacin), 28.0 mg; vitamin B5 (pantothenic acid), 6.6 mg; vitamin B6 (pyridoxine), 3.5 mg; vitamin B9 (folic acid), 0.7 mg; vitamin B12 (cyanocobalamin), 0.02 mg; vitamin H2 (biotin), 0.05 mg; antioxidant 1.0 mg.

[3]Provided (mg/kg of diet): Mn (manganese sulfate) 80.0, Fe (iron sulfate) 75.0, Zn (zinc sulfate) 64.0, Cu (copper sulfate) 6.0, Se (Sodium Selenite) 0.3.

دان خوری 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 قطعه‌ای) با وزن گروهی یکسان تقسیم شدند. میانگین وزن زنده پرندگان ۱۶۶۹±۷۳/۱۲ گرم بود. در طول دوره آزمایش، شرایط محیطی یکسان برای همه گروه‌های آزمایشی تأمین شد. در طول دوره آزمایش دمای سالن در محدوده ۱۶ تا ۱۸ درجه سانتی‌گراد تنظیم و توسط دماسنج کنترل می‌شد. برنامه نوری شامل ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت خاموشی در شبانه‌روز اعمال شد. تمامی مرغ‌ها به‌صورت آزاد به آب آشامیدنی و خوراک دسترسی داشتند.

تهیه جیره پایه

یک جیره پایه با ترکیب پروتئین و اسیدهای آمینه محدودکننده (به جزء ترئونین) ۵ درصد بالاتر از احتیاجات، انرژی قابل سوخت‌وساز ظاهری و سایر مواد مغذی مطابق با نیازهای غذایی توصیه‌شده در کتابچه راهنمای تغذیه‌ای مرغان تخم‌گذار سویه های‌لاین W-36 [۱۹] برای دوره دوم تولید مرغان تخم‌گذار با میزان تخم‌گذاری ۸۰ درصد و میزان مصرف خوراک روزانه ۹۸ گرم و ترکیب مواد مغذی اقلام خوراکی حاصل از آزمایش NIR (جدول ۱) با استفاده از نرم‌افزار جیره نویسی (UFFDA) تنظیم شد. جیره پایه مورداستفاده در این آزمایش دارای ۰/۴۴ درصد ترئونین قابل‌هضم با منشأ اقلام خوراکی اصلی بود. درصد اجزاء تشکیل‌دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره پایه در جدول ۲ ارائه‌شده است.

تیمارهای آزمایشی

تیمارهای آزمایشی شامل افزودن مکمل ال-ترئونین (Evonik Degussa GmbH, Hanau-Wolfgang, Germany) به مقادیر صفر، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ گرم در کیلوگرم به جیره پایه به‌منظور تأمین سطوح ۰/۴۴ (ترئونین قابل‌هضم جیره پایه بدون افزودن مکمل)، ۰/۴۶، ۰/۴۸، ۰/۵۰، ۰/۵۲ و ۰/۵۴ درصد ترئونین قابل‌هضم در جیره بود به‌طوری‌که نسبت ترئونین قابل‌هضم به لیزین قابل‌هضم در جیره‌های آزمایشی به ترتیب ۶۰، ۶۳، ۶۹، ۷۲ و ۷۵ درصد حاصل شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار، هشت تکرار و هشت قطعه پرنده در هر واحد آزمایشی انجام شد. آزمایش به مدت ۱۲ هفته در دوره سنی ۱۱۶-۱۰۵ هفتگی انجام شد.

سنجش شاخص‌های عملکرد تولیدی

در طول دوره آزمایش میزان تولید تخم‌مرغ در هر واحد آزمایشی به‌صورت روزانه (تعداد و وزن) رکورد برداری شد. شاخص‌های سنجش تولید به‌صورت درصد تخم‌گذاری و گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه به ازای هر قطعه مرغ محاسبه شد. میزان خوراک مصرفی هر واحد آزمایشی اندازه‌گیری و پس از تصحیح تلفات میزان مصرف خوراک روزانه محاسبه شد. میزان ترئونین قابل‌هضم دریافتی روزانه هر قطعه پرنده تحت آزمایش از ضرب میزان مصرف خوراک روزانه در غلظت ترئونین قابل‌هضم جیره‌های آزمایشی محاسبه شد. ضریب تبدیل خوراک هر واحد آزمایشی از تقسیم میزان مصرف خوراک به میزان تخم‌مرغ تولیدی محاسبه شد.

برآورد نیاز ترئونین قابل‌هضم با ارزیابی پاسخ‌های عملکرد تولیدی

به‌منظور برآورد نیاز ترئونین قابل‌هضم مرغان تخم‌گذار در دوره دوم تولید مدل رگرسیونی خط شکسته خطی، خط شکسته درجه‌دو و تابعیت درجه‌دو (به ترتیب روابط ۱، ۲ و ۳) بروز شاخص‌های عملکرد تولیدی شامل؛ درصد تخم‌گذاری، گرم تخم‌مرغ تولیدی و ضریب تبدیل خوراک در پاسخ به میزان ترئونین قابل‌هضم دریافتی روزانه با استفاده از رویه NLIN نرم‌افزار (SAS نسخه ۹/۱) برازش شد (۲۹ و ۳۱).

(رابطه ۱)

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

(رابطه ۲)

$$Y = L + U(R - X)^2\ for\ X < R\ or\ Y = L\ for\ X \geq R$$

(رابطه ۳)

$$Y = a + bX + cX^2$$

که در این رابطه‌ها، Y، پاسخ؛ L، حداکثر پاسخ؛ R، مقدار نیاز؛ X، دز (طبق تعریف وقتی‌که X>R است R-X معادل صفر است)؛ و U، a، b و c پارامترهای تخمین زده‌شده مدل‌ها است.

به‌منظور تعیین مناسب‌ترین مدل برازش شده از ضریب تعیین (رابطه ۴) و میانگین قدر مطلق اختلاف مقدار برآورد شده با مقدار مشاهده‌شده (رابطه ۵) استفاده شد (۲۱).

(رابطه ۴)

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

(رابطه ۵)

$$MAE = \frac{1}{n}\sum |x_i - y_i|$$

که در این رابطه‌ها، R^2، ضریب تعیین؛ SST، مجموع مربعات کل؛ SSE، مجموع مربعات خطا؛ MAE، میانگین قدر مطلق اختلاف مقدار برآورد شده با مقدار مشاهده‌شده؛ n، تعداد مشاهده؛ x_i، مقادیر خروجی واقعی (مشاهده) و y_i، مقادیر خروجی توسط مدل (برآورد) است.

نتایج و بحث

پاسخ شاخص‌های عملکردی شامل مصرف خوراک روزانه (P<۰/۱۲۵)، درصد تخم‌گذاری (P<۰/۰۰۶)، گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه (P<۰/۰۵۶) و ضریب تبدیل خوراک (P<۰/۰۰۳) مرغان تخم‌گذار تغذیه‌شده با جیره‌های بر پایه گندم-سویا در دوره دوم تولید به افزایش سطح ترئونین قابل‌هضم جیره از ۰/۴۴ درصد تا ۰/۵۴ درصد (افزایش نسبت ترئونین به لیزین از ۶۰ درصد تا ۷۵ درصد) به‌صورت معادله درجه‌دو و میانگین وزن تخم‌مرغ (P<۰/۰۰۲) به‌صورت معادله خطی بودند. پرندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی ۰/۴۸ درصد ترئونین قابل‌هضم جیره (نسبت ترئونین به لیزین ۶۶ درصد) بالاترین مقدار عددی درصد تخم‌گذار و گرم تخم‌مرغ تولیدی و پایین‌ترین مقدار عددی ضریب تبدیل خوراک را نشان دادند. پرندگان تغذیه‌شده با جیره‌های با مقدار ترئونین قابل‌هضم در سطح ۰/۵۴ درصد بالاترین میانگین وزن تخم‌مرغ تولیدی را داشتند (جدول ۳).

جدول ۳-اثر سطح ترئونین قابل‌هضم جیره بر پایه گندم و سویا بر عملکرد مرغان تخم‌گذار در دوره دوم تولید

Table 3- Effects of dietary dig Thr levels on performance of laying hens in the 2nd production-cycle.

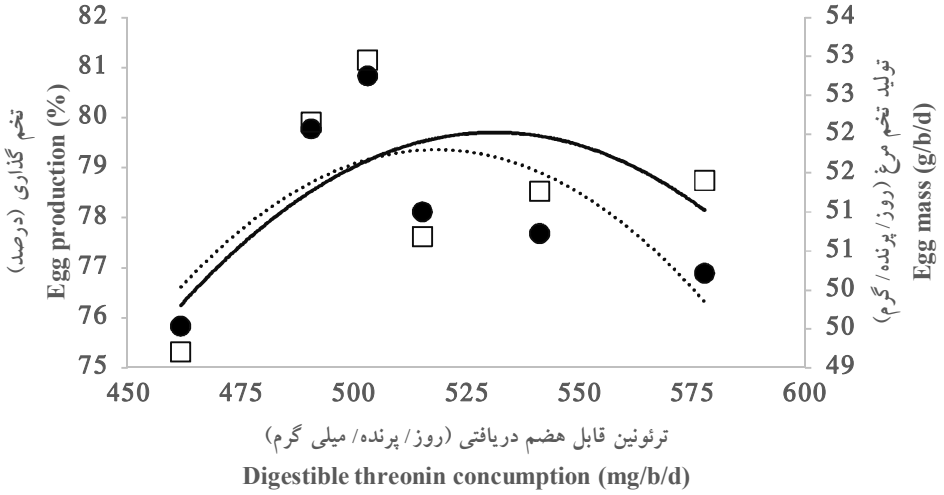
سطح ترئونین قابل‌هضم جیره Dietary Dig Thr levels, (%)	لیزین/ترئونین Thr/Lys (%)	مصرف خوراک Feed consumption, (g/b/d)	تخم‌گذاری Egg production, (%)	وزن تخم‌مرغ Egg weight (g/egg)	تولید تخم‌مرغ Egg mass, (g/b/d)	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio (g/g)
0.44	60	107.38	75.83	64.86	49.20	2.195
0.46	63	109.03	79.77	65.39	52.15	2.093
0.48	66	107.06	80.82	65.50	52.94	2.025
0.50	69	105.16	78.10	64.89	50.68	2.077
0.52	71	106.13	77.67	65.99	51.26	2.071
0.54	75	109.03	76.88	66.85	51.40	2.122
SEM		1.688	1.051	0.396	0.811	0.038
		پاسخ به سطح ترئونین قابل‌هضم جیره، سطح معنی‌داری Dietary digestible threonine levels response, P-Value				
خطی Linear		0.125	0.005	0.002	0.053	0.003
درجه‌دو Quadratic		0.125	0.006	0.136	0.056	0.003

نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق با گزارش سایر محققین مبنی بر این‌که سطوح بالا و پایین ترئونین جیره باعث افزایش مصرف خوراک می‌شود، مطابقت دارد (۸، ۳۱ و ۳۲). نتیجه یک مطالعه انجام‌شده بر روی مرغان تخم‌گذار در دوره دوم تولید به‌منظور بررسی اثر سطوح مختلف ترئونین قابل‌هضم جیره مصرفی بر میزان مصرف خوراک، کمترین مصرف خوراک را در گروه دریافت‌کننده جیره با سطح ترئونین قابل‌هضم ۰/۴۸ درصد گزارش و محققین اظهار داشتند با افزایش و یا کاهش مقدار ترئونین قابل‌هضم جیره، مصرف خوراک افزایش‌یافته است (۱۵). همچنین گزارش‌شده است افزایش مقدار ترئونین جیره به سطوح بالاتر از مقادیر معمول باعث افزایش مصرف خوراک شده است (۱۸ و ۲۰). برخلاف نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش و گزارش‌های فوق، عدم تأثیر سطح ترئونین جیره بر میزان مصرف خوراک نیز گزارش‌شده است (۲۵). نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق با گزارش تعدادی از محققین مبنی بر تغییر تولید تخم‌مرغ (درصد تخم‌گذار و گرم تخم‌مرغ تولیدی) و راندمان تبدیل خوراک مرغان تخم‌گذار به‌صورت معادله درجه‌دو در واکنش به تغییر سطوح ترئونین جیره مطابقت دارد (۴، ۵، ۶ و ۱۵). در پژوهشی با تأمین سطوح ۰/۴۲، ۰/۴۸ و ۰/۵۴ درصد ترئونین قابل‌هضم در جیره مرغان تخم‌گذار های‌لاین W36 در دوره دوم تولید بالاترین راندمان تبدیل غذایی را پرندگان تغذیه‌شده با جیره‌های با سطح ترئونین قابل‌هضم ۰/۴۸ درصد داشتند (۱۵). همچنین غلظت ۰/۵۴ درصد سطح مطلوب ترئونین قابل‌هضم جیره مرغان تخم‌گذار سویه های‌لاین W36 در دوره سنی ۵۸-۴۲ هفتگی گزارش‌شده است (۱۳). مطابق با نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق گزارش‌شده است افزایش سطح ترئونین جیره باعث افزایش میانگین وزن تخم‌مرغ‌های تولیدی مرغان تخم‌گذار می‌شود (۱۸ و ۲۵). البته برخلاف نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش و نتایج فوق گزارش‌شده که سطح ترئونین جیره بر وزن تخم‌مرغ تأثیر معنی‌داری ندارد (۶، ۹ و ۲۰).

کاهش شاخص‌های عملکرد تولیدی در مرغان تخم‌گذار تغذیه‌شده با جیره‌های با سطح ترئونین قابل‌هضم جیره ۰/۵۴ درصد (نسبت ترئونین به لیزین ۷۵ درصد) می‌تواند به دلیل بروز نامتعادلی اسیدهای آمینه جیره باشد. نسبت مناسب ترئونین به لیزین در مطالعه انجام‌شده بر روی مرغان‌تخم‌گذار های‌لاین W36 در دوره دوم تولید ۶۵ درصد گزارش و بیان‌شده است که افزایش نسبت ترئونین به

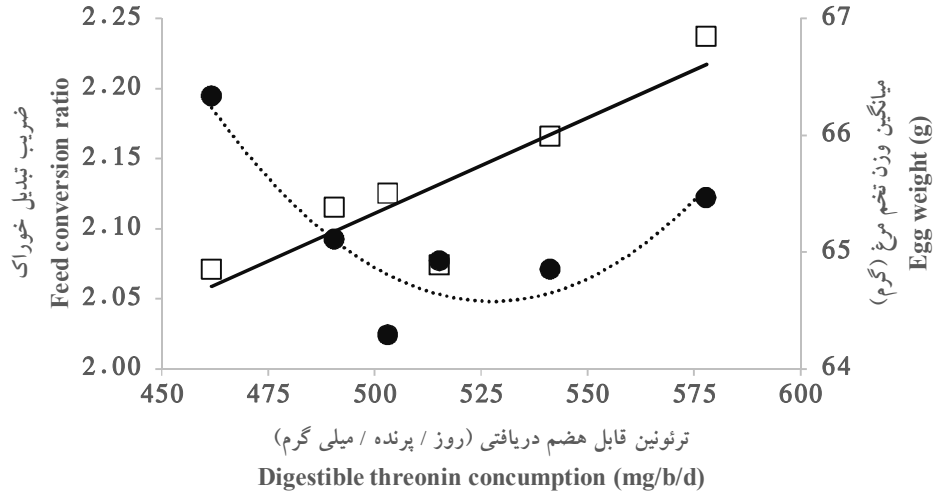
لیزین به ۸۳ درصد باعث افت تولید می‌شود (۱۵). در رابطه با بروز نامتعادلی اسیدهای آمینه در اثر افزودن سطوح یک اسیدآمینه گزارش‌های زیادی وجود دارد به‌طور مثال افزودن سطح لیزین جیره جوجه‌های گوشتی منجر به کاهش رشد می‌شود و این افت رشد را می‌توان با افزودن آرژنین جبران کرد. همچنین افت رشد متأثر از افزایش سطح متیونین با افزودن سطح ترئونین و گلایسین برطرف شده است اما گزارشی مبنی بر اینکه افزایش سطح ترئونین منجر به کمبود متیونین می‌شود وجود ندارد (۲۰).

منحنی تغییرات شاخص‌های عملکرد تولیدی شامل؛ درصد تخم‌گذاری و گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه (شکل ۱) و ضریب تبدیل خوراک و میانگین وزن تخم‌مرغ‌های تولیدی (شکل ۲) در مقابل میزان ترئونین قابل‌هضم دریافتی روزانه پرندگان تحت آزمایش گزارش‌شده است. با بررسی این شکل مشاهده می‌شود که پاسخ تولید تخم‌مرغ (درصد و گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه) و ضریب تبدیل خوراک پرندگان تحت آزمایش به میزان ترئونین قابل‌هضم دریافتی به‌صورت معادله درجه‌دو است. پاسخ میانگین وزن تخم‌مرغ‌های تولیدی به میزان ترئونین قابل‌هضم دریافتی روزانه به‌صورت معادله خطی بود و با افزایش میزان ترئونین دریافتی روزانه میانگین وزن تخم‌مرغ‌های تولیدی به‌صورت خطی افزایش نشان داد. برای برآورد نیاز ترئونین قابل‌هضم مرغان تخم‌گذار در دوره دوم تولید مدل‌های رگرسیونی خط شکسته خطی، خط شکسته درجه‌دو و تابعیت درجه‌دو برای بروز بهینه شاخص‌های عملکرد تولیدی شامل درصد تخم‌گذاری، گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه و ضریب تبدیل خوراک در پاسخ به مقدار ترئونین قابل‌هضم دریافتی روزانه پرندگان تحت آزمایش برازش شدند (جدول ۳). ارزیابی مدل‌ها با استفاده از شاخص‌های سطح احتمال معنی‌داری، ضریب تعیین یا مربع ضریب همبستگی (R^2) و میانگین قدر مطلق خطا (MAE) انجام شد. مقایسه مقادیر R^2 و MAE بین مدل‌های رگرسیونی بیان‌کننده دقت این مدل‌ها جهت برآورد مقادیر خروجی است. به‌طوری‌که مدل دارای بیشترین R^2 و کمترین MAE از دقت بالاتری برخوردار است. در این آزمایش مدل رگرسیونی تابعیت درجه‌دو بالاترین R^2 و پایین‌ترین MAE را در مقایسه با مدل‌های رگرسیونی خط شکسته خطی و خط شکسته درجه‌دو داشت. بنابراین میزان مطلوب ترئونین قابل‌هضم مصرفی برآورد شده به‌منظور بروز بهینه شاخص‌های عملکرد تولیدی توسط مدل رگرسیونی تابعیت درجه‌دو، به‌عنوان نیاز مرغان تخم‌گذار در شرایط تغذیه با جیره بر پایه گندم-کنجاله سویا در دوره دوم تولید انتخاب شد.



شکل ۱- پاسخ شاخص‌های عملکرد تولیدی شامل درصد تخم‌گذاری (●.....) و گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه (□——) مرغان تخم‌گذار در دوره دوم تولید به مقدار ترئونین قابل‌هضم دریافتی روزانه

Figure 1- The response of performance indices such as egg production (●.....) and egg mass (□—) of laying hens during the second cycle to daily digestible threonine consumption



شکل ۲- پاسخ شاخص‌های عملکرد تولیدی شامل ضریب تبدیل خوراک (●.....) و میانگین وزن تخم‌مرغ (□——) مرغان تخم‌گذار در دوره دوم تولید به مقدار ترئونین قابل‌هضم دریافتی روزانه

Figure 2- The response of performance indices such as feed conversion ratio (●····) and egg weight (□—) of laying hens during the second cycle to daily digestible threonine consumption

بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش میزان نیاز ترئونین قابل‌هضم مرغان تخم‌گذار در دوره دوم تولید به‌منظور بروز بهینه شاخص‌های عملکرد تولیدی شامل درصد تخم‌گذاری، گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه و ضریب تبدیل خوراک با استفاده از مدل رگرسیونی تابعیت درجه‌دو به ترتیب ۵۰۲، ۵۰۵ و ۵۱۷ میلی‌گرم در روز به ازای هر قطعه پرنده بود. از تقسیم میزان نیاز ترئونین قابل‌هضم برآورد شده در سطح بهینه شاخص گرم تخم‌مرغ تولیدی (۵۰۵ گرم به ازای هر قطعه در روز) بر سطح بهینه بروز این شاخص (۵۲/۷۵ گرم در روز به ازای هر قطعه مرغ) معادل نیاز (نگهداری + تولید) ترئونین قابل‌هضم ۹/۵۷ گرم به ازای یک گرم تخم‌مرغ تولیدی محاسبه شد. میزان نیاز ترئونین برآورد شده مرغان تخم‌گذار در دوره دوم تولیدی برای بروز بهینه ضریب تبدیل خوراک در مقایسه با شاخص‌های درصد تخم‌گذاری و گرم تخم‌مرغ تولیدی ۳-۲ درصد بیشتر بود (مقایسه ۵۱۷ میلی‌گرم در مقایسه با ۵۰۲ و ۵۰۵ میلی‌گرم). اگرچه مدل تابعیت درجه‌دو بالاترین ضریب تعیین و پایین‌ترین میانگین قدر مطلق خطا را داشت و مناسب‌ترین مدل تشخیص داده شد ولی نتایج به‌دست‌آمده از مدل‌ها رگرسیونی خط شکسته خطی و خط شکسته درجه‌دو نیز تقریباً نزدیک به نتایج مدل رگرسیونی تابعیت درجه‌دو بودند. میزان احتیاجات ترئونین قابل‌هضم مرغان تخم‌گذار به‌منظور بروز بهینه شاخص‌های درصد تخم‌گذاری، گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه و ضریب تبدیل خوراک به ترتیب با استفاده از مدل‌های رگرسیونی خط شکسته خطی ۴۸۱، ۴۸۲ و ۴۹۹ و خط شکسته درجه-دو ۴۸۴، ۴۸۸ و ۵۰۴ میلی‌گرم به ازای هر قطعه پرنده در روز برآورد شد.

میزان نیاز ترئونین قابل‌هضم مرغان تخم‌گذار در دوره دوم تولید در شرایط تغذیه با جیره‌های بر پایه گندم-سویا برای بروز بهینه شاخص درصد تخم‌گذاری در این آزمایش ۵۰۲ میلی‌گرم در روز به‌دست‌آمد که ۵/۵ درصد بیشتر از مقدار نیاز ترئونین قابل هضم (۴۷۶ میلی‌گرم در روز) گزارش شده در کتابچه راهنمای مدیریت مرغان تخم‌گذار سویه های‌لاین W36 است (۱۹). نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق تقریباً با گزارش میزان (۴۹۵ میلی‌گرم در روز) نیاز ترئونین قابل‌هضم مرغان تخم‌گذار برای بروز بهینه تولید تخم‌مرغ مطابقت دارد (۷). نتایج به‌دست‌آمده از تحقیقات مختلف میزان مطلوب ترئونین قابل‌هضم برای بروز بهینه شاخص‌های عملکردی مرغان تخم‌گذار تجاری در سطوح ۴۶۰ میلی‌گرم در روز (۳۴)، ۴۷۲ میلی‌گرم در روز (۲۵) و ۴۸۹ میلی‌گرم در روز (۲۴) گزارش شده است.

میزان نیاز ترئونین قابل‌هضم برآورد شده مرغان تخم‌گذار به‌منظور رسیدن به سطح مطلوب ضریب تبدیل خوراک بالاتر از مقدار به‌دست‌آمده برای سطح مطلوب درصد تخم‌گذاری و یا گرم تخم‌مرغ تولیدی بود (۵۱۷ میلی‌گرم در روز برای بروز بهینه ضریب تبدیل خوراک در مقایسه با مقادیر ۵۰۲ و ۵۰۵ میلی‌گرم در روز برای بروز بهینه به ترتیب درصد تخم‌گذاری و گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه). نتایج بدست آمده از این آزمایش با سایر گزارش‌های مطابقت دارد (۱۱، ۱۵ و ۳۴)، به‌طوری که میزان ترئونین قابل هضم مورد نیاز برای بروز بهینه تولید تخم و راندمان تبدیل خوراک در مرغان تخم‌گذار های‌لاین W36 در دوره دوم تولید (سن ۱۰۰ هفتگی) متفاوت و به

ترتیب مقادیر ۴۱۱/۵ و ۴۵۵/۸ میلی‌گرم در روز گزارش شده است (۱۵). در آزمایش دیگری میزان نیاز ترئونین قابل‌هضم برای بروز بهینه گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه و راندمان تبدیل خوراک مرغان تخم‌گذار در دوره سنی ۴۲-۳۲ هفتگی متفاوت و به ترتیب مقادیر ۳۸۴ و ۵۲۴ میلی‌گرم در روز برآورد شده است (۳۴). در مقابل با نتایج فوق میزان نیاز ترئونین کل مرغان تخم‌گذار لگهورن سفید سویه دکالب XL در دوره سنی ۳۹-۲۹ هفتگی برای بروز بهینه شاخص‌های مختلف عملکرد تولیدی تقریباً مشابه در دامنه ۴۶۷-۴۵۳ میلی‌گرم در روز برآورد شده است (۲۰).

جدول ٤- برآورد نیاز ترئونین قابل‌هضم مرغان تخم‌گذار در دوره دوم تولید برای بروز بهینه عملکرد تولید تخم با استفاده از مدل‌های رگرسیونی

Table 4- Digestible threonine requirements for optimization of egg production parameters of laying hens estimated by regression fit models

پارامتر/مدل Parameters/ Model	برآورد نیاز ترئونین قابل‌هضم Estimated dig Thr requirement	دامنه تخمین پایین Lower confidence limits, 5%	دامنه تخمین بالا Upper confidence limits, 5%	P-Value	عملکرد در نقطه بهینه Predicted value	معادله رگرسیون Regression equation
			درصد تخم‌گذاری Egg production, %			
LBL	481	461	503	0.054	78.69	$Y = 78.69 - 0.5008(480.1 - X)$, $R^2 = 0.73$, MAE = 2.34
QBL	484	461	507	0.062	78.69	$Y = 78.69 - 0.0421 (483.8 - X)^2$, $R^2 = 0.76$, MAE = 2.35
QP	502	450	554	0.009	78.58	$Y = 69.33 + 0.5829(X-470) - 0.0092(X-470)^2$, $R^2 = 0.81$, MAE = 2.33
			تخم‌مرغ تولیدی روزانه (روز/پرنده/گرم) Egg mass, g/b/d			
LBL	482	478	487	0.001	52.87	$Y = 52.87 - 0.7286(482.3 - X)$, $R^2 = 0.80$, MAE = 1.36
QBL	488	477	500	0.001	52.89	$Y = 52.89 - 0.0281 (488.1 - X)^2$, $R^2 = 0.92$, MAE = 1.38
QP	505	447	563	0.010	52.75	$Y = 46.52 + 0.3531(X-470) - 0.005(X-470)^2$, $R^2 = 0.94$, MAE = 1.54
			ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio			
LBL	499	469	529	0.021	2.073	$Y = 2.073 + 0.0051(499.2- X)$, $R^2 = 0.77$, MAE = 0.064
QBL	504	479	528	0.011	2.075	$Y = 2.075 + 0.0004 (504.7 - X)^2$, $R^2 = 0.81$, MAE = 0.063
QP	517	440	594	0.020	2.08	$Y = 2.27 - 0.008(X-470) + 0.0001(X-470)^2$, $R^2 = 0.87$, MAE = 0.062

LBL، خط شکسته خطی؛ QBL، خط شکسته درجه دو؛ QP، معادله درجه دوم؛ R^2، ضریب تعیین و MAE، میانگین قدر مطلق خطا

LBL, Linear broken-line; QBL, Quadratic broken-line; QP, quadratic polynomial; R^2, determind cofficent and MAE, mean of absolotly error

در این تحقیق میزان ترئونین قابل‌هضم موردنیاز به ازای یک گرم تخم‌مرغ تولیدی ۹/۵۷ میلی‌گرم برآورد شد. میزان نیاز ترئونین قابل هضم به ازای یک گرم تخم‌مرغ تولیدی در مطالعات مختلف مقادیر ۹/۵۴ میلی‌گرم (۳۳)، ۹/۷۷ میلی‌گرم (۷) و همچنین میزان نیاز ترئونین کل به ازای یک گرم تخم مرغ تولیدی مقادیر ۱۱/۵-۱۱ میلی‌گرم (۲۶)، ۱۱/۶۶ میلی‌گرم (۱)، ۱۳/۱۸-۱۱/۳۶ میلی‌گرم (۱۷) و ۱۴/۲ میلی‌گرم (۱۸) گزارش‌شده است. تنوع در برآورد میزان نیاز مرغان تخم‌گذار به ترئونین به‌دست‌آمده از تحقیقات مختلف می‌تواند در اثر تفاوت در سویه مورد استفاده، سن پرندگان تحت آزمایش، میزان تولید، اجزاء تشکیل دهنده و ترکیب جیره، سطح پروتئین و اسیدهای آمینه جیره باشد (۱۱، ۲۰ و ۳۰).

با تقسیم میزان نیاز ترئونین قابل هضم برآورد شده (۵۱۷-۵۰۲ میلی‌گرم در روز) به منظور بروز بهینه شاخص‌های عملکرد تولیدی بر متوسط مصرف خوراک روزانه پرندگان تحت آزمایش (۱۰۷ گرم به

ازای هر قطعه مرغ در روز) تراکم ترئونین قابل هضم در جیره مصرفی محاسبه می‌شود (۴۸-۰/۴۷ درصد غلظت ترئونین قابل هضم جیره). با بررسی نتایج جدول ۳ مشاهده می‌شود بالاترین درصد تخم‌گذاری و گرم تخم‌مرغ تولیدی و پایین‌ترین ضریب تبدیل خوراک مربوط به پرندگان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۴۸ درصد ترئونین قابل هضم است. بر این اساس در شرایط تغذیه با جیره‌های بر پایه گندم-سویا در دوره دوم تولید مرغان تخم‌گذار سطح مطلوب ترئونین قابل‌هضم جیره ۰/۴۸ درصد (نسبت ترئونین به لیزین ۶۶ درصد) است.

نتیجه‌گیری کلی

در شرایط تغذیه با جیره‌های بر پایه گندم-سویا در دوره دوم تولید مرغان تخم‌گذار میزان احتیاجات ترئونین قابل‌هضم برای شاخص‌های درصد تخم‌گذاری، گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه و ضریب تبدیل خوراک به ترتیب ۵۰۲، ۵۰۵ و ۵۱۷ میلی‌گرم به ازای هر قطعه پرنده در روز برآورد شد. نیاز ترئونین قابل‌هضم برآورد شده معادل ۹/۵۷ میلی‌گرم به ازای یک گرم تخم‌مرغ تولیدی در نقطه بهینه تولید است. احتیاجات ترئونین قابل‌هضم جیره مرغان تخم‌گذار به شاخص عملکردی مورد بررسی وابسته است به‌طوری‌که احتیاجات ترئونین برآورد شده برای سطح بهینه ضریب تبدیل خوراک بیشتر از مقادیر برآورد شده برای بروز بهینه شاخص‌های درصد تخم‌گذاری و گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه بود. به طور کلی بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق؛ در شرایط تغذیه با جیره‌های بر پایه گندم-سویا در دوره دوم تولید مرغان تخم‌گذار سطح مطلوب ترئونین قابل‌هضم جیره ۰/۴۸ درصد (نسبت ترئونین به لیزین ۶۶ درصد) است.

Refrences

1. Adkins, J. S., E. C. Miller, H. R. Bird, C. A. Elvehjem, and M. L. Sunde. 1958. An estimate of the threonine requirement of the laying hen. Poultry Science, 37(6):1362-1367.
2. Akbari Moghaddam Kakhki, R., A. Golian, and H. Zarghi. 2016. 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.
3. Akbari Moghaddam Kakhki, R., A. Golian, and H. Zarghi. 2016. Effect of digestible methionine + cystine concentration on performance, egg quality and blood metabolites in laying hens. British Poultry Science, 57(3):403-414.
4. Azzam, M. M. M., X. Y. Dong, P. Xie, C. Wang, and X. T. Zou. 2011. The effect of supplemental L-threonine on laying performance, serum free amino acids, and immune function of laying hens under high-temperature and high-humidity environmental climates. Journal of Applied Poultry Research, 20(3):361-370.
5. Azzam, M. M. M., C. Yuan, G. H. Liu, and X. T. Zou. 2014. Effect of excess dietary threonine on laying performance, egg quality, serum free amino acids, and digestive enzymes activities of laying hens during the postpeak period. Journal of Applied Poultry Research, 23(4):605-613.
6. Cardoso, A. S., F. G. P. Costa, M. Ramalho de L, E. T. Nogueira, C. S. Santos, R. Barboza de S, R. C. Lima, and D. V. G. Vieira. 2014. Nutritional requirement of digestible threonine for white egg layers of 60 to 76 weeks of age. Journal of Applied Poultry Research, 23(4):724-728.
7. Coon, C., and B. Zhang. 1999. Ideal amino acid profile for layers examined. Feedstuffs (USA) 71(14):13-15.
8. Cardoso, A. S., F. G. P. Costa, M. Ramalho de Lima, E. T. Nogueira, C. S. Santos, R. Barboza de Sousa, R. C. Lima, D. Vieira. (2014). Nutritional requirement of digestible threonine for white egg layers of 60 to 76 weeks of age. Journal of Applied Poultry Research, 23(4), 724-728.
9. Dersjant-Li, Y., and M. Peisker. 2011. A review on recent findings on amino acids requirements in poultry studies. Iranian Journal of Applied animal Science, 1:73-79.
10. Ebrahimi, E., R. S. Sobhani, and H. Zarghi. 2017. Effect of triticale level and exogenous enzyme in the grower diet on performance, gastrointestinal tract relative weight, jejunal morphology and blood lipids of Japanese quail (Coturnix coturnix Japonica. Journal of Agricultural Science and Technology, 19:569-580.
11. Faria, D. E., R. H. Harms, and G. B. Russell. 2002. Threonine requirement of commercial laying hens fed a corn-soybean meal diet. Poultry Science, 81(6):809-814.
12. Fernandez, S. R., S. Aoyagi, Y. Han, C. M. Parsons, and D. H. Baker. 1994. Limiting order of amino acids in corn and soybean meal for growth of the chick. Poultry Science, 73(12):1887-1896.
13. 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.
14. Ghazaghi , M., A. Hasanabadi, and M. Mehri. 2019. Determination of apparent and standardizedi leal digestibility of essential amino acids of corn, wheat, soybean meal and corn gluten meal in Japanese quails during third week of age. Iranian Journal of Animal Science Research, 11(3):353-364 (In Persian).
15. Gomez, S., and M. Angeles. 2009. Effect of threonine and methionine levels in the diet of laying hens in the second cycle of production. Journal of Applied Poultry Research, 18(3):452-457.

16. Hossaninejad, S. A., H. Zarghi, and A. Golian, A. 2021. Effect of digestible threonine on performance, egg quality, blood metabolites, and immune responses in laying hens fed a wheat-based diet in the second cycle. Italian Journal of Animal Science, 20(1), 2134-2146.
17. Hurwitz, S., and S. Bornstein. 1973. The protein and amino acid requirements of laying hens: suggested models for calculation. Poultry Science, 52(3):1124-1134.
18. Huyghebaert, G., and E. A. Butler. 1991. Optimum threonine requirement of laying hens. British Poultry Science, 32:575–582.
19. Hy-Line. 2018. Hy-Line W-36 Commercial Management Guide. Hy-Line Int. West Des Moines, IA.
20. Ishibashi, T., Y. Ogawa, T. Itoh, S. Fujimura, K. Koide, and R. Watanabe. 1998. Threonine requirements of laying hens. Poultry Science, 77(7):998-1002.
21. Kaps, M., and W. R. Lamberson. 2017. Biostatistics for Animal Science. 3rd Edition. CABI Pub.
22. Kidd, M. T., and B. J. Kerr. 1996. L-threonine for poultry: A review. Journal of Applied Poultry Research, 5(4):358-367.
23. Khatibi S. M. R., H. Zarghi, and A. Golian. 2021. Effect of diet nutrients density on performance and egg quality of laying hens during the post-peak production phase of the first laying cycle under subtropical climate. Italian Journal of Animal Science, 20(1):559-570.
24. Locatelli, M. L. 2005. A review of the threonine, tryptophan, isoleucine and valine requirements of commercial laying hens. Amino News 6:1-29.
25. Martinez-Amezcua, C., J. L. Laparra-Vega, E. Avila-Gonzalez, B. Fuente, T. Jinez, and M. T. Kidd. 1999. Dietary l-threonine responses in laying hens. Journal of Applied Poultry Research, 8:236–241.
26. Moran Jr, E. T., J. D. Summers, and W. F. Pepper. 1967. Effect of non-protein nitrogen supplementation of low protein rations on laying hen performance with a note on essential amino acid requirements. Poultry Science, 46(5):1134-1144.
27. NRC. 1994. Nutrient requirements of Domestic Animals: Nutrient Requirements of Poultry. 9th edition. National Academy Press, Washington. DC.
28. Rao, S. V. R., V. Ravindran, T. Srilatha, and a. M. V. L. N. R. A. K. Panda. 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, 20:528-541.
29. Robbins, K. R., A. M. Saxton, and L. L. Southern. 2006. Estimation of nutrient requirements using broken-line regression analysis. Journal of Animal Science, 84:155-165.
30. Sakmoura, N. K., R. Gous, L. Kyriazakis, and L. Hauschild. 2015. Nutritional modelling for pigs and poultry. CABI, Wallingford-UK.
31. SAS. 2003. User's guide: Statistics. Vol. 2. 9.1 ed. S.A.S Institute Cary, NC.
32. Schmidt, M., P. C. Gomes, H. S. Rostagno, L. F. Albino, R. V. Nunes, and E. S. Cupertino. 2010. Exigências nutricionais de treonina digestível para poedeiras no segundo ciclo de produção. In: Cardoso, A. S., Costa, F. G. P., Ramalho de Lima, M., Nogueira, E. T., Santos, C. S., Barboza de Sousa, R., . . . Vieira, D. V. G. (2014). Nutritional requirement of digestible threonine for white egg layers of 60 to 76 weeks of age. Journal of Applied Poultry Research, 23(4), 724-728.
33. Schutte, J. B. 1998. The ideal amino acid profile for laying hens and broiler chicks. Pages 33-39 in Proc. Proceedings of the 1998 Arkansas Nutrition Conference, Fayetteville, AR.
34. Yamzaki, M., H. Ohguchi, H. Murakami, M. Takmasa, M. Ando, and M. Yamazaki. 1997. Available threonine requirement of laying hens. Japanese Poultry Science, 34(1):52-57.
35. Zarghi, H., A. Golian, and H. Kermanshahi. 2016. The effect of triticale and enzyme cocktail (xylanase & β-glucanase) replacement in grower diet on performance, digestive organ relative weight, gut viscosity and gut morphology of broiler chickens. Iranian Journal of Animal Science Research, 8(2):298-312 (In Persian).

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 525-536

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۵۳۶-۵۲۵

Digestible Threonine Requirement of Hy-line W36 Laying Hen Fed a Wheat-Soybean Meal Diet in the Second Cycle of Production

Seyed Amir Hosseini Nejad[1], Heydar Zarghi[2*] and Abolghasem Golian[3]
Submitted: 17-12-2019
Accepted: 02-01-2021

Hosseini Nejad, S. A, H. Zarghi, and A. Golian. 2022. Digestible Threonine Requirement of Hy-line W36 Laying Hen Fed a Wheat-Soybean Meal Diet in the Second Cycle of Production. Iranian Journal of Animal Science Research 13(4):525-536.

Introduction Modern layer strains have high genetic potential for egg production, and may produce eggs for more than one laying cycle by inducing molting. Good egg production is obtained when adequate nutrition is provided, one of the most important nutrients is protein, particularly limited nutritional essential amino acid. Additionally, in layer flocks feed represents more than 70% of the cost of production. In this context, protein is one of the most costly nutrients and therefore there is a benefit in reducing any excess protein in the feed by making use of synthetic amino acids wherever feasible to reduce both the excess waste of nitrogen and the production cost. Synthetic amino acids such as methionine, lysine and threonine are commonly used in the poultry industry because those are limiting in diets based on cereal and soybean meal and are now readily available at a competitive cost. The essential amino acid, threonine, is the third limiting amino acid. Most of the previous research has been done on determining the amino acids requirements of laying hens in the first production cycle, and information on laying hens requirements in the second production cycle is very limited. As a result, the nutrient requirements of second-cycle hens are assumed to be similar to those observed in hens during the first laying cycle in the strain booklet guide and or NRC, 1994. The objective of this study was to determine the digestible Threonine (dig Thr) requirement of laying hen during the second production cycle fed wheat-soy diet as measured by laying performance.

Materials and methods The birds that used for this experiment were selected from a flock that were molted at the 80wk of age on a non-fasting feeding program according to the molting recommendation by Hy-line W36 laying hens guide and had 103wk age. Hens were selected according to body weight and egg production. The pre-experimental period was two weeks for acclimatization. Basal diet were formulated according to the guidelines in the Hy-Line W-36 Commercial Management Guide (2016) according to the average pre-experimental period data; egg production less than of 80% and feed intake 98 g/b/d. Three hundred and eighty four layers were distributed to the 6 increasing levels of dig Thr 0.44, 0.46, 0.48, 0.50, 0.52 and 0.54%, with Thr-to-Lys ratio of 60, 63, 66, 69, 72 and 75%, respectively in a completely randomized design, with 8 replicates and 8 birds per experimental unit. The experiment lasted from 105 to 116 weeks of ages. All hens were weighed at the beginning and at the end of the experimental period. Birds were given artificial light (16L: 8D). Feed and water were provided ad libitum. Egg production (number and weight) and mortality were recorded daily, whereas feed consumption was measured every 4wks as feed disappearance. The daily intakes of Thr were calculated by multiplying the concentration of each in the experimental diet by feed conception. Digestible threonine requirement for optimal laying performance response parameters such as egg production (EP), egg mass (EM) and feed conversion ratio (FCR) to the daily dig Thr consumption by using NLIN procedure, through linear and quadratic broken-lines and quadratic polynomial regression fit models.

Results and discussion The increasing dig Thr levels showed linear effect on egg weight, and quadratic

1-Msc student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2-Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
3-Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
*Corresponding Author Email: h.zarghi@um.ac.ir
Doi:10.22067/ijasr.0621.39379

effect on egg production (EP), egg mass (EM), and feed conversion ratio (FCR). The EP and EM increased and FCR improved linearly as dietary dig Thr levels increasing up to 0.48% (Thr-to-Lys ratio of 66%), and then EP and EM decreased and FCR deteriorate. The dig Thr requirements for the optimization of laying performance was depends on what parameter is taken into consideration for optimization and it is possible to compare models by their R^2 and MAE. In this study, the model that provided the best fit was the quadratic polynomial regression model for EP, EM and FCR. The predicted dig Thr requirements with quadratic polynomial regression model for optimal EP, EM and FCR were 502, 505 and 517 mg/b/d, respectively. The dig Thr requirement to produce 1 g of EM was 9.57 mg. The optimum values estimated for FCR was slightly higher compared to those estimated for EP and EM.

Conclusion The outcomes of the present study showed that, in the wheat-soy based diet formulated for second cycle of laying hen the threonine is a limited amino acid. The dig Thr requirements vary according on what parameter is taken into consideration for optimization. The dig Thr requirement for optimized FCR is higher than EP and EM. In the wheat-soy based diet formulated for second cycle of laying hen the level of digestible Thr 0.48% (Thr-to-Lys ratio of 66%) were recommended.

Key worlds: Ideal protein, Performance, Regression equations, Second cycle of production, Threonine.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 537-549

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۵۴۹-۵۳۷

مقاله پژوهشی

اثر جایگزینی سطوح مختلف بیوچار با مکمل معدنی جیره بر شاخص‌های عملکرد رشد، کیفیت گوشت و خاکستر استخوان جوجه‌های گوشتی

مطهره کاشف[۱]، محسن افشارمنش[۲*]، محمد سالارمعینی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۳

کاشف، م.، م. افشارمنش، و م. سالارمعینی. ۱۴۰۰. اثر جایگزینی سطوح مختلف بیوچار با مکمل معدنی جیره بر شاخص‌های عملکرد رشد، کیفیت گوشت و خاکستر استخوان جوجه‌های گوشتی. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۳(۴): ۵۴۹-۵۳۷.

چکیده

این مطالعه به‌منظور ارزیابی اثر جایگزینی سطوح مختلف بیوچار (Biochar) با مکمل معدنی جیره بر شاخص‌های عملکرد رشد، کیفیت گوشت و خاکستر استخوان جوجه‌های گوشتی انجام شد. این آزمایش با ۲۵۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملا تصادفی با ۵ تیمار، ۵ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر پن اجرا شد. تیمارها شامل: ۱) جیره شاهد (بدون ماده بیوچار و حاوی ۱۰۰ درصد مکمل معدنی)، ۲) جیره شاهد و جایگزینی ۲۵ درصد مکمل معدنی با ماده بیوچار، ۳) جیره شاهد و جایگزینی ۵۰ درصد مکمل معدنی با ماده بیوچار، ۴) جیره شاهد و جایگزینی ۷۵ درصد مکمل معدنی با ماده بیوچار و ۵) جیره جایگزینی۱۰۰ درصد مکمل معدنی با ماده بیوچار بودند. در کل دوره آزمایش، جایگزینی مکمل مواد معدنی با بیوچار بر وزن بدن، مصرف خوراک، ضریب تبدیل خوراک، خاکستر استخوان و شاخص تولید اروپایی اثر نداشت. میزان pH گوشت در تیمار ۷۵ درصد بیوچار بدون تفاوت معنی‌داری با تیمار ۲۵ درصد از همه تیمارها بیشتر و میزان افت خونابه تیمار ۷۵ درصد بیوچار از همه تیمارها کمتر بود اما بین بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری دیده نشد. شاخص رنگ روشنایی و زردی تحت تاثیر ماده آزمایشی قرار نگرفت اما شاخص رنگ قرمزی در تیمار ۷۵ درصد و ۵۰ درصد بیوچار مشابه و از سایر تیمارها بیشتر بود. به‌طور کلی، استفاده از بیوچار در سطح ۷۵ درصد علاوه بر داشتن عملکرد مشابه با تیمار شاهد سبب بهبود کیفیت گوشت جوجه‌های گوشتی (pH گوشت، درصد افت خونابه و شاخص رنگ قرمزی) شد. از جنبه اقتصادی نیز، جایگزینی مکمل معدنی جیره با بیوچار موجب کاهش چشمگیر هزینه جیره شد.

واژه های کلیدی: اسید هیومیک، درصد افت خونابه، شاخص اقتصادی، شاخص رنگ قرمزی.

مقدمه

به طورکلی در واحدهای پرورش طیور صنعتی حدود ۷۰ تا ۷۵ درصد از هزینه‌های تولید مربوط به هزینه خوراک است (۲). بنابراین بیش‌ترین هزینه در تولید گوشت و تخم طیور مربوط به هزینه جیره غذایی است. جیره غذایی علاوه بر مواد خوراکی شامل افزودنی‌های خوراک نیز می‌باشد که به‌منظور به‌کارگیری هر چه بهتر خوراک توسط طیور، بهبود ضریب تبدیل خوراک، حفظ سلامتی پرنده و به‌تبع آن کاهش هزینه و کسب بیش‌ترین سود اقتصادی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳). ونگ و همکاران (۲۰۰۸) بیان نمودند در تغذیه طیور، ماده‌ای از جایگاه خاصی برخوردار است که سبب بهبود سلامتی و ایمنی دستگاه گوارش شود (۳۷). در سال‌های اخیر توجه برخی از محققین به‌استفاده از افزودنی‌هایی در جیره معطوف شده است که علاوه بر دارا بودن اثرات مثبت در تغذیه طیور، سبب کاهش هزینه خوراک نیز بشوند. از جمله این مواد می توان به ترکیبات هیومیک اشاره نمود که از تجزیه

۱-دانش آموخته کار شنا سی ار شد گروه علوم دامی داز شگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: mafshar@uk.ac.ir)
Doi:10.22067/ijasr.2021.38290.0

موادآلی (گیاه، خاک و زغال سنگ) حاصل می شوند (۲۸). اجزای اصلی ترکیبات هیومیکی شامل: اسید هیومیک، فولویک اسید و هیومین است که از مشهورترین گروه آن می توان به اسید هیومیک اشاره نمود. البته هر یک از این سه بخش خصوصیات ویژه و منحصر به خود را دارد (۱۳).

بیوچار ماده ای است که حاوی ۱/۶ درصد اسید هیومیک و ۰/۶۲ درصد فولویک اسید می باشد. بیوچار زغال تهیه شده از زیست‌توده‌های گیاهی و ضایعات کشاورزی است که با وجود میزان کم یا عدم وجود اکسیژن تولید و به‌عنوان کود استفاده می‌شود. این ماده به‌صورت جامد بوده و سرشار از کربن است. بیوچار به‌عنوان جاذبی برای حذف یون‌های فلزات سنگین، کادمیوم (II)، مس (II)، سرب (II) و روی (II) از فاز آبی عمل می‌کند. این نوع زغال می‌تواند سبب ترسیب کربن شود و گازهای گلخانه‌ای را جذب کند و به‌علت سرعت تجزیه بسیار کند نسبت به‌سایر مواد آلی، ظرفیت زیادی برای کاهش گازهای گلخانه‌ای از قبیل دی‌اکسیدکربن و متان که از ضایعات آزاد می‌شود را دارد و می‌تواند کربن را برای دوره‌های طولانی ذخیره کند (۱۵، ۲۲ و ۳۲). افزودن بیوچار می‌تواند باعث کاهش آلودگی آمونیاک در خاک و تنظیم سطح رطوبت آن شود. این ماده دارای ظرفیت نگهداری آب بسیار بالا است و می‌تواند تا ۵ برابر وزن خود آب جذب کند (۲۹).

بیوچار سبب اصلاح خاک شده و حاصلخیزی آن را افزایش می‌دهد. این نوع کود محصولات کشاورزی را افزایش داده و می‌تواند در برابر برخی بیماری‌های گیاهی، از گیاهان محافظت کند. گسترش کشاورزی زیستی و نیز آلودگی‌های جوی از سوی دیگر باعث شده است تا استفاده از این نوع کود در دنیا روز به روز افزایش پیدا کند. اما در ایران، این ماده آلی تا حدودی ناشناخته باقی مانده‌است (۲۲ و ۳۲). گزارش‌هایی مبنی بر اثربخش بودن استفاده از بیوچار در خوراک دام یافت می‌شود، افزودن سطح یک درصد از بیوچار محصول فرعی پسته به جیره بره-های پرواری سبب افزایش رشد، بهبود راندمان تبدیل خوراک و افزایش تولید پروتئین میکروبی گردید و بیان شد استفاده از این ماده در سطح یک درصد، به جیره بره‌های پرواری به‌عنوان یک افزودنی خوراکی، قابل توصیه است (۲۱). بیوچار به دلیل دارا بودن بسیاری از مواد معدنی و همچنین اسید هیومیک شاید بتواند جایگزین مکمل‌های معدنی شده و سبب کاهش هزینه‌های تولید جیره گردد. به‌هر حال استفاده از این ماده به عنوان افزودنی خوراک در تغذیه دام و طیور ایده‌ای نو بوده و به‌نظر می رسد تحقیقات بیشتری در این زمینه لازم باشد. در این مطالعه چهار سطح بیوچار به‌عنوان منبع اسید هیومیک جایگزین مکمل معدنی جیره گردید و اثرات آن بر عملکرد رشد، کیفیت گوشت و خاکستر استخوان جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با تعداد ۲۵۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه که بر اساس طرح کاملا تصادفی به پنج تیمار تقسیم شدند، در مرغداری تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه باهنر کرمان انجام شد. هر تیمار پنج تکرار و هر تکرار مشتمل بر ۱۰ قطعه جوجه نر بود. در این تحقیق از معدن بیوچار کوهبنان، ماده آزمایشی بیوچار به عنوان منبع اسید هیومیک تهیه و پس از بررسی آنالیز نمونه بیوچار مصرفی توسط شرکت از نظر ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام،کلسیم، فسفر و میزان اسید هیومیک و اسید فولویک و اطمینان از عدم آلودگی به سالمونلا و ای-کلای مورد استفاده قرار گرفت. عناصر غذایی موجود در بیوچار در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- نتایج آنالیز مواد مغذی و عناصر موجود در بیوچار

Table 1- Nutrients analysis of Biochar

تجزیه ترکیب شیمیایی chemical composition	میزان به درصد Percentage
انرژی (کیلو کالری بر کیلوگرم) Energy (Kcal/kg)	48.5
فیبر خام Crude Fiber	5.18
پروتئین خام Crude Protein	1.46
چربی خام Ether Extract	0.1<
خاکستر Ash	87.97
کلسیم Calcium	0.60
فسفر Phosphorus	0.04
سلنیوم Selenium	<0.01
مس Copper	0.01
ید Iodin	<0.01
آهن Iron	6.9
منگنز Manganese	0.02
روی Zinc	0.01
اسید هیومیک خالص Humic Acid	1.6
اسید فولویک خالص Fulvic Acid	0.06
ماده آلی Organic matter	12.03

جیره‌های آزمایشی بر پایه ذرت، کنجاله سویا در سه دوره آغازین (۱-۱۰ روزگی)، رشد (۱۱-۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵- ۴۲ روزگی) و بر

اساس احتیاجات غذایی سویه راس (۶) تنظیم شدند (جدول ۲). جوجه-های یک گروه به عنوان شاهد در نظرگرفته شده و با جیره غذایی پایه (فاقد ماده افزودنی بیوچار) تغذیه شدند. برای تیمارهای دو تا پنج، از سطوح مختلف ماده بیوچار با نسبت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بیوچار جایگزین مکمل معدنی جیره استفاده شد.

جدول ۲- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره‌های پایه مورد استفاده در سنین مختلف پرورش جوجه‌های گوشتی

Table 2- Diet formulation and calculated chemical composition of the basal ration (as fed).

اجزای جیره (درصد) Feed ingredient (%)	جیره آغازین starter diet (1-10 days)	جیره رشد growth diet (11-24 days)	جیره پایانی finisher diet (25-42 days)
دانه ذرت Corn	51.1	54.09	58.85
کنجاله سویا Soybean meal	42.15	38.47	33.15
روغن گیاهی سویا Soy oil	2.38	3.5	4.38
کربنات کلسیم Calcium carbonate	1.44	1.33	1.23
دی کلسیم فسفات Di calcium phosphate	1.52	1.32	1.13
نمک Salt	0.3	0.3	0.3
دی- ال متیونین DL- Methionine	0.42	0.36	0.33
ال- لیزین هیدرو کلراید L- lysine hydrochloride	0.19	0.13	0.13
مکمل ویتامینه و معدنی[1] Vitamin and mineral premix[1]	0.50	0.50	0.50
ترکیب شیمیایی محاسبه شده: Calculated chemical composition			
انرژی قابل سوخت و ساز ME (kcal/ kg)	3000	3100	3200
پروتئین خام Crude protein (%)	23	21.5	19.5
کلسیم Calcium (%)	0.96	0.87	0.79
سدیم Sodium (%)	0.17	0.16	0.16
فسفر قابل دسترس Available phosphorous (%)	0.48	0.43	0.39
متیونین Methionine (%)	0.74	0.64	0.59
لیزین Lysine (%)	1.44	1.29	1.16
متیونین+ سیستئین cysteine (%)Methionine +	1.08	0.99	0.91

[1] مکمل ویتامینه و مواد معدنی مواد زیر را در هر کیلوگرم از جیره تأمین می‌کرد: ۱۲۰۰۰ واحد ویتامین A، ۵۰۰۰ واحد ویتامین D3، ۲/۵۵ میلی گرم ویتامین K3، ۳ میلی گرم تیامین، ۷/۵ میلی گرم ریبوفلاوین، ۴/۵ میلی گرم ویتامین B6، ۰/۰۲ میلی گرم ویتامین B12، ۵۱ میلی گرم نیاسین،۱/۵ میلی گرم اسید فولیک، ۰/۲ میلی گرم بیوتین، ۱۳/۵ میلی گرم پانتوتنیک اسید، ۲۵۰ میلی گرم کولین کلرید، ۱۲۰ میلی گرم منگنز (سولفات منگنز)، ۱۶ میلی گرم مس (سولفات مس)، ۱ میلی گرم ید (یدات پتاسیم)، ۴۰ میلی گرم آهن(سولفات آهن)، ۱۰۰ میلی گرم روی (سولفات روی).

[1]Vitamin and mineral premix supplied per kilogram of diet: vitamin A, 12000 IU; vitamin D3, 5000 IU; vitamin K3, 2.55 mg; thiamin, 3 mg; riboflavin, 7.5 mg; vitamin B6 (pyridoxine), 4.5 mg; vitamin B12, 0.02 mg; niacin, 51 mg; folic acid, 1.5 mg; biotin, 0.2 mg; pantothenic acid, 13.5 mg; choline chloride, 250; Mn, 120 mg (manganese sulphate); Cu, 16 mg (copper sulphate); I, 1 mg (potassium iodate); Fe, 40 mg (ferrous sulphate); Zn, 100 mg (zinc sulphate).

برنامه نوری شامل ۲۴ ساعت روشنایی در کل دوره پرورش بود. درجه حرارت سالن متناسب با سن پرنده‌ها کنترل شده و تمامی جوجه‌ها به صورت آزاد به غذا و آب آشامیدنی دسترسی داشتند. در دوره پرورش میزان خوراک مصرفی و وزن بدن پرندگان هر تکرار به طور هفتگی با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱± وزن کشی می‌شد.

خوراک مصرفی در اول هر هفته توزین گردیده و در مقادیر مشخص در سطل‌های جداگانه برای هر واحد آزمایشی ریخته شد و در طول هفته در اختیار جوجه‌ها قرار می‌گرفت. در پایان هفته خوراک باقی‌مانده در سطل توزین و سپس سطل خالی و دوباره مقدار مشخصی خوراک برای مصرف هفته آینده در سطل ریخته می‌شد. وزن بدن و مصرف خوراک در پایان هفته و دوره اندازه‌گیری و برای محاسبه شاخص‌های عملکردی از جمله افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل غذایی استفاده شدند. تلفات روزانه مربوط به هر تکرار نیز در طول دوره آزمایش وزن و ثبت شدند و با توجه به درصد تلفات موجود در هر یک از واحدهای آزمایشی، درصد ماندگاری محاسبه شده و همچنین برای مقایسه عملکرد تولید (اضافه وزن روزانه، مصرف خوراک دوره، درصد ماندگاری، شاخص تولید و ضریب تبدیل غذایی) گروه‌های آزمایشی مختلف، شاخص بازده تولید با استفاده از رابطه ۶ محاسبه گردید.

(۱) (تعداد تلفات× تعداد روز ماندگاری جوجه‌های تلف شده)+ (تعداد روز دوره× تعداد جوجه زنده در انتهای دوره)= مرغ روز

(۲) مرغ روز ÷ (وزن تلفات+ وزن گروهی در ابتدای دوره–وزن گروهی در پایان دوره = افزایش وزن بدن (گرم/پرنده/روز)

(۳) مرغ روز ÷ (وزن دان باقی مانده (گرم) – وزن دان اولیه (گرم))= مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز)

(۴) افزایش وزن هر واحد آزمایشی در آن دوره (گرم/پرنده/روز) ÷ مصرف خوراک هر واحد آزمایشی در آن دوره (گرم/پرنده/روز) = ضریب تبدیل غذایی

(۵) تعداد قطعه جوجه در شروع دوره ÷ تعداد قطعه مرغ زنده در پایان دوره = درصد ماندگاری گله

(۶) (تعداد روزهای دوره پرورش × ضریب تبدیل دوره)÷ (میانگین وزن به کیلوگرم × درصد ماندگاری)= شاخص کارایی تولید

در پایان دوره آزمایش یک پرنده از هر تکرار انتخاب و از آن‌ها خون‌گیری شد. پرندگان بعد از توزین، ذبح شدند. از نمونه‌های کشتار شده جهت انجام آزمایش کیفیت گوشت (شامل اندازه‌گیری میزان اسید تیوباربیتوریک، pH، ظرفیت نگهداری آب، میزان خونابه، افت در نتیجه پخت و رنگ گوشت) استفاده گردید. جهت اندازه گیری میزان مالون دی آلدئید، نمونه‌های گوشت بعد از کشتار در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و ۳۰ روز بعد از نظر میزان مالون دی آلدئید (MDA[1]) تولیدی با استفاده از روش تیوباربیوتیک اسید (TBARS[2]) مورد ارزیابی قرار گرفتند، این روش بر اساس مقدار جذب نوری کمپلکس صورتی رنگ حاصل از واکنش یک مولکول مالون دی آلدئید با دو مولکول TBARS استوار است (۱۱). برای تعیین pH گوشت، پنج گرم از نمونه ران در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر با دستگاه هموژنایزر (ULTRA-TURRAX® آلمان، مدل IKA® T25) هم زده تا یکنواخت گردید، سپس با استفاده از گاز استریل صاف و به کمک دستگاه pH متر (SELECTA اسپانیا، مدل RS 232)، در دمای اتاق، pH نمونه‌ها اندازه‌گیری گردید (pH متر با بافرهای ۴ و ۷ کالیبره شد) (۱۴). برای تعیین ظرفیت نگهداری آب، یک گرم از نمونه ران را در کاغذ صافی پیچیده و در لوله‌های فالکون ۱۵ میلی‌لیتری به مدت چهار دقیقه در سانتریفیوژ (Hettich آلمان، مدل UNIVERSAL 320R) قرار داده و سرعت سانتریفیوژ روی ۱۵۰۰ دور در دقیقه تنظیم شد. نمونه پس از سانتریفیوژ به آرامی با پارچه کتان خشک و وزن شد، پس از توزین، نمونه به مدت ۲۴ ساعت در آون (شرکت فاطر الکترونیک) با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس دوباره وزن گردید (۹). برای اندازه گیری افت خونابه یک قطعه از گوشت ران (بدون چربی خارجی و بافت همبند) با ضخامت ۲/۵ سانتی‌متر وزن گردید (وزن اولیه) و در پوشش پنبه‌ای قرار داده شد، سپس نمونه مورد نظر در پاکت پلاستیکی گذاشته شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس رطوبت گوشت به‌آرامی به‌وسیله پارچه کتانی گرفته شد و دوباره وزن گردید (۱۰). برای اندازه گیری افت بعد از پخت یک سانتی‌متر مکعب از ران بریده و وزن گردید، قطعه جدا شده گوشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد، پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد به‌طوری که دمای عمق گوشت به ۷۰ درجه سانتی‌گراد برسد. در مرحله آخر نمونه به آرامی با پارچه کتان خشک و دوباره وزن گردید (۷). اندازه‌گیری رنگ گوشت ران بر اساس سامانه ارزیابی رنگ روشنایی (L*)، رنگ قرمزی (a*) و رنگ زردی (b*) با پنج بار تکرار انجام شد. از نمونه‌های گوشت عکس‌هایی با وضوح بالا توسط یک دوربین دیجیتال (Nikon P510, 16 mega pixels) گرفته شد و تصاویر دیجیتال نمونه‌ها در مدل Lab برای به‌دست آوردن شاخص‌های رنگ* با استفاده از نرم افزار فتوشاپ[3] آنالیز شد (۱).

جهت تعیین درصد خاکستر استخوان درشت نی، از هر واحد

1- Malondialdehyde
2- Thiobarbituric acid reactive substances
3- Photoshop CC version 2019

آزمایشی یک پرنده به طور تصادفی انتخاب و استخوان درشت‌نی راست به طور کامل از بافت نرم جدا شد. سپس استخوان‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شده سپس نمونه‌ها آسیاب شدند و درصد خاکستر با سوزاندن آن ها داخل بوته چینی در کوره الکتریکی با دمای ۶۰۰ درجه سانتی گراد تعیین شد (۵).

داده های حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی و با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و میانگین‌ها و تابعیت‌های خطی و درجه دو توسط آزمون توکی در سطح آماری پنج درصد مقایسه شدند. مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

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

در این مدل: Y_{ij} = میانگین مشاهده j ام از تیمار i ام، μ = میانگین جامعه، T_i = اثر i امین تیمار و E_{ij} = اشتباه تصادفی بود.

نتایج و بحث

اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد پرندگان در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج حاصله نشان می‌دهد هیچ‌کدام از شاخص‌های عملکردی، تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند (جدول ۳). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد افزایش وزن روزانه جوجه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف بیوچار با تیمار شاهد تفاوت معنی داری نداشت که با نتایج برخی تحقیقات مطابقت داشت (۲۲ و ۲۳). در حالی که با نتایج بعضی از تحقیقات مبنی بر بهبود وزن جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره حاوی مکمل اسید هیومیک در تضاد بود (۱۲، ۳۲ و ۳۵). نتایج تحقیق محمدصادقی (۱۳۹۶) نشان داد که جایگزینی کامل مکمل معدنی جیره پایه با کمپلکس مواد هیومیک بر وزن بدن تاثیری نداشت (۲۲). مطالعه Nagaraju و همکاران (۲۰۱۴) در زمینه مصرف مکمل اسید هیومیک در جیره جوجه‌های گوشتی نشان داد میانگین وزن بدن جوجه‌های گوشتی تحت آزمایش در همه تیمارها با هم مشابه بوده و بیان شد مکمل اسید هیومیک نقش چندانی در افزایش وزن بدن ایفا نمی‌کند (۲۳). نتایج پژوهش دیگری نشان داد که استفاده از اسید هیومیک در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی سبب افزایش وزن بدن در مقایسه با گروه شاهد (بدون اسید هیومیک) شد و این بهبود وزن به افزایش سطح جذب در نتیجه افزایش طول پرزهای روده نسبت داده شد (۲۰). در تحقیق Taklimi و همکاران (۲۰۱۲) وزن نهایی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره پایه به اضافه ۰/۳ درصد اسید هیومیک نسبت به گروه شاهد (فاقد افزودنی) بیشتر شد (۳۵). در تحقیق حاضر به نظر می‌رسد تامین کافی مواد معدنی در تیمارهای حاوی بیوچار در مقایسه با تیمار شاهد، سبب شده که عملکرد رشد پرندگان در مقایسه با گروه شاهد تفاوتی نداشته باشد. نتایج آزمایشی نشان داد استفاده از ۴۵۰ppm اسید هیومیک در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی، وزن بدن کاهش یافت (۲۷). در تحقیقی دیگر استفاده از سطوح ۰/۵ ، ۱ و ۲/۵ درصد اسید هیومیک به صورت افزودنی در جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش وزن بدن و بهبود ضریب تبدیل غذایی شد (۳۱). شاید دلیل این اختلاف نظرات مربوط به منشا اسید هیومیک مصرفی و یا نحوه و میزان استفاده از آن باشد.

جمس و همکاران (۲۵) با انجام آزمایشی، مکمل‌های معدنی و ویتامینی را از جیره‌های غذایی مرحله‌ی رشد و پایانی جوجه‌های گوشتی بدون داشتن اثر سوء بر عملکرد آن‌ها حذف نمودند (۲۵). در تحقیق دیگری کاهش و یا حذف مکمل‌های معدنی به مدت زمان دو هفته در مرحله‌ی پایانی پرورش جوجه‌های گوشتی، اثر سوئی بر افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی نداشت (۲۶). نتایج مطالعه سیاه پور و همکاران (۲۰۱۰) درخصوص بررسی اثر زمان حذف مکمل‌های ویتامینی و معدنی بر رشد و عملکرد جوجه‌های گوشتی نشان داد، حذف مکمل‌های ویتامینی و معدنی از ۷، ۱۴ و ۲۱ روزگی، افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک روزانه را کاهش و سبب افزایش ضریب تبدیل غذایی شد اما حذف از ۲۸ و ۳۵ روزگی بر عملکرد رشد اثر معنی‌داری نداشت (۳۴).

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد در هیچ یک از بازه‌های زمانی پرورش جوجه‌ها، افزایش وزن روزانه تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. مطابق با این پژوهش، بررسی نتایج برخی از محققین نشان می‌دهد استفاده از سطوح ۰/۱ تا ۲/۵ درصد هیومات در جیره جوجه‌های گوشتی بر افزایش وزن روزانه اثر نداشته است (۱۶، ۱۹ و ۳۸). همچنین استفاده از ۲/۵ کیلوگرم اسید هیومیک در هر تن خوراک مصرفی بر وزن زنده و افزایش وزن روزانه تاثیر نداشته است (۱۷). نتایج تحقیق دیگری نشان داد که استفاده از سطوح مختلف صفر، ۷/۵، ۱۵ و ۲۲/۵ گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم جیره، بر افزایش وزن روزانه اثر نداشت (۲۸). هاکان و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که اسید هیومیک بر افزایش وزن روزانه بدن تاثیر ندارد (۱۳). در مطالعه دیگری استفاده هم‌زمان اسید هیومیک و پروبیوتیک در تغذیه جوجه‌های گوشتی تاثیری بر افزایش وزن روزانه نداشت (۲۲). نتایج حاصل از تحقیق احمدی و کریمی‌ترشیزی (۳) نشان داد استفاده از سطوح مختلف ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و۱ درصد ورمی هوموس (منبع اسید هیومیک) بر افزایش وزن روزانه بلدرچین‌های ژاپنی اثری نداشت. برخلاف این تحقیقات و تحقیق حاضر، گزارشاتی مبنی بر افزایش اضافه وزن روزانه جوجه‌های گوشتی با تغذیه با اسید هیومیک نسبت به گروه شاهد ارائه شد (۲۰). نتایج حاصل از آزمایش دیگری نشان داد جایگزینی ۰/۱۲۵ درصد مکمل مواد هیومیکی به جای نیمی از مکمل معدنی افزایش وزن روزانه را در انتهای دوره پرورش جوجه‌های گوشتی بهبود بخشید و گزارش شد که افزودنی‌های خوراک با بهبود فلور میکروبی دستگاه گوارش پرندگان و مقاوم نمودن پرنده در برابر عوامل بیماری‌زا، در بهبود رشد نقش دارند (۳۲). در تحقیق دیگری گزارش شد حذف مکمل‌های

ویتامینی و معدنی در ۱ و ۲ هفته آخر دوره پرورش (دوره پایانی) اثری روی افزایش وزن روزانه نداشت اما حذف این مکمل‌ها در دوره آغازین، افزایش وزن روزانه را کاهش داد و بیان شد به‌دلیل افزایش ضریب تبدیل غذایی در دوره‌های پایانی و افزایش میزان مصرف خوراک، مقدار دریافت ویتامین‌ها و مواد معدنی از مواد خوراکی موجود در جیره به مراتب بیشتر از دوره آغازین می‌باشد و نیاز جوجه‌ها بدون افزودن مکمل‌های ویتامینی و معدنی تامین می‌شود (۳۴). نتایج حاصله از تحقیق حاضر نشان داد حذف مکمل های معدنی و جایگزینی آن با ماده بیوچار تاثیر سوئی بر افزایش وزن روزانه حتی در دوره آغازین جوجه ها نداشت.

جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف بیوچار بر عملکرد جوجه های گوشتی در کل دوره پرورش

Table 3-The effect of different levels of Biochar on broiler chickens performance throughout the breeding period

تیمارهای آزمایشی Experimental groups	وزن بدن Body weight (g)	مصرف‌خوراک Feed intake (g/b/d)	افزایش وزن روزانه Daily weight gain (g/b/d)	ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio (g/b/d)	درصد ماندگاری Viability (%)	شاخص بازده تولید Production efficiency factor
شاهد Control (Zero)	2413.3	83.49	53.94	1.55	84	312.61
۲۵ درصد بیوچار 25% Biochar	2330.6	81.58	53.14	1.54	94	338.85
۵۰ درصد بیوچار 50 % Biochar	2267.5	83.82	52.69	1.59	98	335.78
۷۵ درصد بیوچار 75% Biochar	2364.0	83.73	54.07	1.55	92	334.62
۱۰۰ درصد بیوچار 100% Biochar	2321.7	82.87	53.01	1.56	90	319.65
SEM[1]	48.41	1.352	1.233	0.036	3.16	18.37
سطح معنی داری P-Values	0.336	0.756	0.912	0.790	0.06	0.812
خطی Linear	0.341	0.630	0.995	0.655	0.06	0.452
درجه دوم Quad	0.079	0.508	0.387	0.618	0.02	0.465

[1] SEM: Standard Error of Mean

به‌طور کلی، بر اساس نتایج آزمون تجزیه واریانس اضافه نمودن بیوچار به جیره تأثیر معنی داری بر ضریب تبدیل غذایی نداشت (جدول۳). نظر به این‌که ضریب تبدیل خوراک متـأثر از دو فـاکتور میـزان مصـرف خـوراک و میـزان افزایش وزن بدن می‌باشد، بنابراین نتایج بـه‌دسـت آمـده از ضـریب تبدیل خوراک با نتایج به‌دست آمده از میزان مصرف خوراک و میزان افزایش وزن بدن هم‌خوانی دارد. به‌طوری‌که تفاوت معنی‌داری از نظر ضریب تبدیل بین جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی بیوچار و جوجـه‌هـای تغذیه شده با جیره شاهد وجود ندارد. مشابه این تحقیق گزارش شد جایگزینی مکمل مواد معدنی جیره با کمپلکس مواد هیومیکی و پروبیوتیکی تاثیری بر ضریب تبدیل غذایی نداشته است (۲۲). نتایج تحقیقی نشان داد تغذیه جوجه‌های گوشتی با اسید هیومیک (افزودن ۳۰۰ppm اسید به آب آشامیدنی) موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی نشد و احتمال دادند دلیل آن نامناسب بودن دُز اسید هیومیک مصرفی در آب و یا عدم وجود تنش در محیط آزمایش باشد (۲۸). گزارش شده است افزودن اسید هیومیک به میزان ۰/۳ درصد به جیره جوجه‌های گوشتی، سبب بهبود ضریب تبدیل غذایی شد (۳۵). بر اساس نتایج گزارشات دیگر محققین، اسید هیومیک عملکرد حیوان (دام وطیور) را بهبود می‌بخشد (۱۹ و ۳۱ و ۳۵). مطابق با تحقیق سیاه‌پور و همکاران (۲۰۱۰)، حذف مکمل‌های ویتامینی و معدنی در دو هفته پایانی دوره پرورش تاثیر سوئی بر ضریب تبدیل غذایی نداشت و دلیل آن را کاهش نیاز جوجه‌ها به ویتامین‌ها و مواد معدنی در سنین بالاتر و تامین این مواد مغذی از طریق سایر اجزای جیره و همچنین عدم تفاوت معنی‌دار میزان مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه در این سنین مرتبط دانستند (۳۴).

نتایج این آزمایش نشان داد درصد ماندگاری گله و شاخص تولید تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. عدم تأثیر اسید هیومیک بر درصد ماندگاری جوجه‌های گوشتی توسط سایر محققین گزارش شده است (۱۹ و ۳۰). جایگزینی سطوح مختلف بیوچار به‌عنوان منبع اسید

هیومیک با مکمل معدنی جیره، تأثیر نامطلوبی بر سلامتی پرنده‌های تحت آزمایش نداشت. نبود تفاوت بین درصد ماندگاری تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف ورمی‌هوموس در جیره بلدرچین‌های ژاپنی توسط احمدی و کریمی ترشیزی در سال ۱۳۹۴ گزارش شد (۳). در مطالعه‌ای حذف طولانی‌مدت مکمل‌های ویتامینی و معدنی از جیره جوجه‌های گوشتی، تا حدودی تلفات را افزایش داد و بیشترین تلفات در دو هفته آغازین دوره پرورش دیده شد و حذف مکمل‌های ویتامینی و معدنی از هفت، ۱۴ و ۲۱ روزگی دوره پرورش، سبب افت شاخص تولید و افزایش هزینه‌های خوراک شد (۳۴).

کیفیت گوشت مصرفی، تحت تاثیر خصوصیات مختلفی چون ظاهر، رنگ، محتوای چربی، طعم، بو، آب‌دار بودن بافت و تردی آن قرار دارد. دو صفت کیفی مهم گوشت، ماربلینگ (چربی درون ماهیچه) و تردی می‌باشند. عوامل آنزیمی دخیل در پروسه تردی گوشت، پروتئین‌های درون خود عضله هستند که در pH پائین پس از کشتار در عضله فعال می‌شوند. پس از کشتار، کاهش pH و گلیکوژن و تجمع اسیدلاکتیک شرایط ترد شدن گوشت را فراهم می‌نماید. اما به‌نظر می رسد تردی نهایی گوشت تحت تاثیر پروتئینازهای داخل عضلات بویژه خانواده کالپین ها است (۳۶). یکی از فاکتورهای مهمی که بر کیفیت گوشت تاثیر می‌گذارد اکسیداسیون چربی‌ها است که بر رنگ بافت و ارزش غذایی گوشت اثرسوء دارد. مالون دی‌آلدئید (MDA) محصول نهایی و اصلی پراکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد که به‌عنوان شاخصی برای اندازه‌گیری میزان اکسیداتیو درنظر گرفته شده است (۳۲).

جدول ٤- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های کیفیت گوشت جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی[۱]

Table 4- The effect of experimental diets on Meat quality parameters[1]

تیمارهای آزمایشی Experimental groups	pH	TBARS[2] (µg/kg)	ظرفیت نگه‌داری آب WHC[3] (٪)	افت در نتیجه پخت Cooking loss (٪)	افت خونابه Dripping loss (٪)
شاهد Control (Zero)	6.39[b]	0.51	63.40	27.28	6.25[a]
۲۵ درصد بیوچار 25% Biochar	6.46[ab]	0.20	62.80	33.97	5.67[ab]
۵۰ درصد بیوچار 50 % Biochar	6.38[b]	0.14	66.20	28.98	5.58[ab]
۷۵ درصد بیوچار 75% Biochar	6.64[a]	0.16	65.20	29.12	4.71[b]
۱۰۰ درصد بیوچار 100% Biochar	6.33[b]	0.14	66.36	30.30	5.34[ab]
SEM[4]	0.064	0.163	1.181	2.560	0.357
سطح معنی داری P-Values	0.025	0.465	0.152	0.454	0.027
خطی Linear	0.033	0.537	0.111	0.962	0.027
درجه دوم Quad	0.169	0.754	0.867	0.215	0.679

[۱] در هر ستون اعداد با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند (P<۰/۰۵).

[1] Mean within the same row with different letters differ significantly ($P<0.05$).
[2] ThioBarbituric Acid Reactive Substance
[3] Water Holdinge Capacity
[4] SEM: Standard Error of Mean

نتایج مربوط به کیفیت گوشت جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی در جدول ۴ آورده شده است. میزان TBARS، ظرفیت‌نگهداری آب و افت در نتیجه پخت تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ولی مقدار pH گوشت به‌طور معنی‌داری در تیمار-های ۷۵ و ۲۵ درصد بیوچار نسبت به سایر تیمارها بیشتر (P <۰/۰۵) و روند تغییرات آن بصورت خطی بود. همچنین افت خونابه در تیمار ۷۵ درصد بیوچار به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد کمتر و نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی داری نداشت (P <۰/۰۵).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد استفاده از ماده بیوچار در جیره جوجه-های گوشتی، سبب بهبود شاخص رنگ قرمزی(a*) گوشت ران شد. به طوری‌که با افزایش سطح بیوچار مقدار شاخص قرمزی (a*) گوشت به طور خطی افزایش یافت اما سطح ۱۰۰ درصد بیوچار از روند افزایشی

پیروی نکرد. دلیل افزایش شاخص‌های رنگ قرمزی را می‌توان به وجود مقادیر اندک مواد معدنی نظیر: آهن، منگنز و مس در ماده بیوچار دانست که در ساخت رنگدانه‌های گوشت نقش دارند. مقدار شاخص رنگ روشنایی(L*) و زردی گوشت ران جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با ماده بیوچار با گروه شاهد تفاوتی نداشت.

در تحقیقی گزارش شد مصرف ۰/۱ درصد هیومات در جیره جوجه-های گوشتی سبب بهبود رنگ گوشت سینه و ران شد (۱۶). نتایج حاصل از پژوهش خواجوی و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد استفاده از ورمی هوموس در سطح ۱ درصد در جیره جوجه‌های گوشتی به عنوان منبع اسید هیومیک، سبب افزایش معنی دار روشنایی و رنگ گوشت عضله سینه در مقایسه با گروه شاهد شد (۱۸). در تیمارهایی که از مقادیر ۱۵ و ۲۲/۵ گرم بر لیتر آب استفاده کرده بودند قرمزی گوشت (شاخص*a) افزایش یافت. در تحقیق دیگری استفاده از سدیم هیومات و کمپلکس مواد هیومیکی در تغذیه جوجه‌های گوشتی، تاثیری بر شاخص‌های روشنایی، قرمزی و زردی گوشت نسبت به گروه شاهد نداشت (۳۲). پژوهش دیگری نشان داد جایگزینی مکمل مواد معدنی جیره با کمپلکس مواد هیومیکی و ترکیب آن با پروبیوتیک تاثیری بر رنگ گوشت (روشنایی، قرمزی و زردی) نداشت (۲۲). بر اساس نتایج خواجوی و همکاران (۲۰۱۵)، اسید هیومیک بر رنگ گوشت تاثیر می-گذارد اما نحوه عمل آن هنوز مشخص نیست (۱۸).

جدول ۵- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر رنگ گوشت و خاکستر استخوان جوجه‌های گوشتی[1]

Table 5- The effect of experimental diets on Meat color and Bone Ash Broiler Chickens[1]

تیمارهای آزمایشی Experimental groups	روشنایی L[2]*	قرمزی a[3]*	زردی b[4]*	خاکستر استخوان Bone Ash
شاهد Control (Zero)	21.28[c]	35.40[c]	22.64[b]	41.36
۲۵ درصد بیوچار 25% Biochar	22.88[bc]	36.40[bc]	24.40[ab]	42.08
۵۰ درصد بیوچار 50 % Biochar	27.44[a]	40.56[a]	26.04[a]	38.57
۷۵ درصد بیوچار 75% Biochar	26.06[ab]	39.16[ab]	25.08[ab]	40.26
۱۰۰ درصد بیوچار 100% Biochar	22.28[c]	35.96[bc]	22.26[b]	40.80
SEM[5]	0.823	0.802	0.682	1.152
سطح معنی داری P-Values	<0.001	0.001	0.004	0.294
خطی Linear	<0.001	0.003	0.008	0.202
درجه دوم Quad	0.132	0.150	0.060	0.678

[1]در هر ستون اعداد با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند (P<۰/۰۵).

[1] Mean within the same row with different letters differ significantly (P<0.05).
[2] Lightness
[3] Redness
[4] Yellowness
[5] SEM: Standard Error of Mean

میزان خاکستر استخوان تحت تاثیر تیمارهای آزمایش قرار نگرفت. نتایج مربوط به خاکستر استخوان جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی در جدول ۵ آورده شده است. موافق با این تحقیق، نتایج پژوهش خواجویی و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد استفاده از سطوح مختلف ورمی‌هوموس (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد) به‌عنوان منبع اسید هیومیک در جیره جوجه‌های گوشتی، بر میزان کلسیم، فسفر سرم و خاکستر استخوان درشت‌نی تاثیر نداشت (۱۸). شلایی و همکاران (۱۳۹۵)، نشان دادند استفاده از مکمل اسیدآلی در جیره مرغان تخم‌گذار می‌تواند اثرات مفیدی بر خصوصیات استخوان درشت‌نی مرغان تخم-گذار داشته باشد و اظهار داشتند بهبود مقاومت استخوان درشت‌نی مرغان تخم‌گذار در اثر مصرف مکمل اسید آلی می‌تواند به‌دلیل کاهش اسیدیته (pH) قسمت‌های مختلف دستگاه‌گوارش و در نتیجه افزایش خاکستر استخوان باشد (۳۳). افزایش خاکستر استخوان به‌دلیل بهبود وضعیت استخوان‌ها در نتیجه افزایش ذخایر مواد معدنی است. به‌نظر

می‌رسد استفاده از بیوچار در جیره جوجه‌های گوشتی، سبب افزایش میزان کلسیم و نرخ رسوب آن در استخوان نشده است. عدم تغییر میزان خاکستر استخوان در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با ماده بیوچار حاوی اسید هیومیک در این آزمایش احتمالا، به دلیل مناسب و متعادل بودن سطح کلسیم و فسفر در جیره بوده و در نتیجه به‌علت عدم تاثیر اسید هیومیک موجود در بیوچار بر غلظت‌های سرمی این دو عنصر، میزان خاکستر استخوان تغییر نیافته است یا این‌که با تامین کافی مواد معدنی در تیمارهای حاوی بیوچار در مقایسه با تیمار شاهد، سبب شده خاکستر استخوان با گروه شاهد تفاوتی نداشته باشد.

نتایج مربوط به هزینه خوراک مصرفی برای هر کیلو گرم وزن زنده در کل دوره پرورش جوجه‌های گوشتی در جدول ۶ آورده شده است. هزینه هر کیلوگرم افزایش وزن بدن تحت تاثیر حذف مکمل معدنی جیره و جایگزینی آن با سطوح مختلف بیوچار در جیره جوجه‌های گوشتی قرار نگرفت. بر اساس گزارش سیاه‌پور و همکاران (۲۰۱۰)، حذف مکمل‌های ویتامینی و معدنی در دو هفته آخر دوره پرورش از نظر عملکرد و هزینه خوراک اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت (۳۴). حذف مکمل‌ها در هفته آخر دوره پرورش میزان هزینه خوراک را حدود ۱/۱ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش داد و گزارش شد حذف مکمل‌های ویتامینی و معدنی از جیره جوجه‌های گوشتی در هفته آخر دوره پرورش بدون اثر سوء بر عملکرد رشد باعث کاهش هزینه‌های تولید می‌شود.

جدول ٦- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر هزینه خوراک مصرفی برای هر کیلوگرم وزن زنده در کل دوره پرورش جوجه های گوشتی

Table 6-The effect of experimental diets on cost of feed consumed per kg live weight over the whole period broiler chickens.

تیمارهای آزمایشی Experimental groups	قیمت تولید هر کیلو پرنده زنده (ریال) Production price/kg of live birds (Rls)	تفاوت قیمت هر جیره با جیره شاهد The difference in price per kilogram of rations with the control ration
شاهد Control (Zero)	32100	0
۲۵ درصد بیوچار 25% Biochar	32000	10
۵۰ درصد بیوچار 50 % Biochar	31980	12
۷۵ درصد بیوچار 75% Biochar	31420	68
۱۰۰ درصد بیوچار 100% Biochar	30990	111
SEM[1]	561.84	1.352
سطح معنی داری P-Values	0.583	0.756
خطی Linear	0.417	0.630
درجه دوم Quad	0.685	0.508

[1] SEM: Standard Error of Mean

Refrences

1. Abbasvali, M., S. Shahram Shekarforoush, M. Aminlari, and H. Ebrahim nejad. 2012. Effects of Medium-Voltage Electrical Stimulation on Postmortem Changes in Fat-Tailed Sheep. Journal of Food Science, 77(1):47-53.
2. Afshar, M. 1997. Effect of vitamin supplements with different levels of vitamin on layer hens performance. MSc thesis. Agricultural College, University of Tehran. (In Persian).
3. Ahmadi, M., and M. A. Karimi Torshizi. 2015. Evaluation of vermicompost supplementation in Japanese quail diet. Iranian Journal of Animal Science Research, 7(1):66-76. (In Persian).
4. Aiken, G. R., D. M, Mc Knight, R. L. Wershaw, and P. Mac Carthy. 1985. Humic substances in soil, sediment, and water-geochemistry, isolation, and characterization. Wiley, New York, USA.
5. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, V. A.

6. Aviagen. 2013. Ross 308 Broiler. Nutrition Specification. (www. Aviagen.com)
7. Bertram, H. C., H. J. Andersen, A. H. Karlsson, P. Horn, J. Hedegaard, L. Norgaard, and S. B, Engelsen. 2003. Prediction of technological quality (cooking loss and Napole yield) of pork based on fresh meat characteristics. Meat Science, 65:707–712.
8. Boulianne, M., and A. J. King. 1998. Meat color and biochemical characteristics of unaccepted dark-colored broiler chicken carcasses. Food Science, 63(5):759-762.
9. Boutoh, P. E., W. R. Harise, and W. R. Shortose. 1971. Effect of ultimate pH on upon the water holding capacity and tenderness of mutton. Food Science, 36:435-39.
10. Christensen, L. B. 2003. Drip loss sampling in porcine m. longissimus dorsi. Meat Science, 63(4):469-477.
11. Dwivedi, S., M. N. Vasavada, and D. Cornforth. 2006. Evaluation of Antioxidant Effects and Sensory Attributes of Chinese 5-Spice Ingredients in Cooked Ground Beef. Journal of Food Science, 71(1):12-17.
12. Eren, M., G. Deniz, S. S. Gezen, and I. I. Turkmen. 2000. Effects of humates supplemented to the broiler feeds on fattening performance, serum mineral concentration and bone ash. Ankara Universitesi Veteriner Fakultesi Dergis, 47:255-263.
13. Hakan, K., Y. Gultekin, and S. Ozge. 2012. Effect of boric acid and humate supplementation on performance and egg quality parameters of laying hens. Revista Brasiliera de Ciencia Avicola, 14:283-289.
14. Jang, A., X. D. Liu, M. H. Shin, B. D. Lee, S. K. Lee, J. H. Lee, and C. Jo. 2008. Antioxidative potential of raw breast meat from broiler chicks fed a diatary medicinal herb extract mix. Poultry Science, 87(11):2382-2389.
15. Jamali, b. 2015. Biochar, The Old Idea for Future Agriculture. Today's Opportunity for Entrepreneurship.
16. Karaoglu, M., M. Macit, N. Esenbuga, H. Durdag, L. Turgut, and OC. Bilgin. 2004. Effect of supplemental humate at different levels on the growth performance slaughter and carcass traits broilers. International Journal of Poultry Science, 3:406-410.
17. Kaya, A. C., B. E. Kurumu, and D. S. Tuncer. 2009. Effect of humates on fattening performance, carcass quality and some blood parameters of broilers. Jornal of Animal and Veterinary Advances, 8:281-284.
18. Khajavi, H., M. Karimi Torsizi, and H. Ahmadi. 2015. Effect of feeding different levels of dietary vermi-humus on growth performance and meat quality in broiler chickens. Animal Production, 16(2):113-122. (In Persian).
19. Kocabagli, N., M. Alp, N. Acar, and R. Kahraman. 2002. The effects of dietary humate supplementation on broiler growth and carcass yield. Poultry Science, 81:227–230.
20. Lala, A O., N. Okwelum, A. O. Oso, A. O. Ajao, and A. A. Adegbenjo. 2017. Response of broiler chickens to varying dosage of humic acid in drinking water. National Animal Production Research Institute, 29(1):288-294.
21. Mirhidari, A., M. Tarbiatnejad, S. Hosseini, and P. Shakeri. 2016. Effect of biochemical use of pistachio byproduct on yield, microbial protein and some rumen and blood parameters of fattened lambs. Journal of Animal Science (Research and Construction), 117:151-162. (In Persian).
22. Mohammad Sadeghi, F. 2018. Study of substituting the mineral premix diet with complex of humic material and its combination with probiotics on performance, intestinal morphology, immune response and meat quality of broilers. Master thesis. Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.
23. Nagaraju, R., B. Reddy, R. Gloridoss, B. Suresh, and C. Ramesh. 2014. Effect of dietary supplementation of humic acids on performance of broilers. The Indian Journal of Animal Science, 84:447-452.
24. Nieto, G., P. Daz, S. Ban, and M. Garrido. 2010. Effect on lamb meat quality of including thyme (Thymus zygis ssp. Gracilis) leaves in ewes, diet. Meat Science, 85:82-88.
25. Nobakht, A., F. Mazlum, S. Khodaii, and G. A. Pish-Jang. 2008. Evaluation of the effects of reducing or eliminating mineral and vitamin supplements from diets of growing and ending periods on broiler performance. Journal of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, 4:39-46. (In Persian).
26. Nobakht, A. 2013. Effects of different levels of mineral and vitamin supplements on performance of laying hens with rations wheat and corn base. Iranian Journal of Animal Science Research, 4(4):283-291.
27. Ozturk, E., N. Ocak, I. Coskun, S. Turhan, and G. Erener. 2010. Effects of humic substances supplementation provided through drinking water on performance, carcass traits and meat quality of broilers. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 94:78-85.
28. Ozturk, E., N. Ocak, I. Coskun, G. Erener, M. Devsoglo, and S. Turhan. 2014. Performance, meat quality, meat mineral contents and caecal microbial population responses to humic substances administered in drinking water in broilers. British Poultry Science, 55(5):668-674.
29. Peter Schmidt, H. 2012. Biochar in poultry farming. Ithaka Journal, 1:262-264.
30. Rahmani, H., and W. Speer. 2005. Natural additives influence the performance and humoral immunity of broilers. Poultry Science, 4:713-717.
31. Rath, N., W. Huff, and G. Huff. 2006. Effects of humic acid on broiler chickens. Poultry Science Journal, 85:410-414.
32. Shadravan, A. 2018. The effect of sodium humate and complex of humic substances on growth performance, intestinal morphology and immune response of broiler chickens. MSc thesis, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.

33. Shalaei, M., and S. Hosseini. (2016). Acidity of gastrointestinal tract and tibia characteristics of laying hens fed diets supplemented with antibiotic, organic acid, probiotic and prebiotic. Animal Production Research, 5(2):1-11. (In Persian).
34. Siahpour, S., M. A. Karimi Torshizi, F. Shariatmadari, and F. Nick Nafs. 2010. Investigating the effect of mineral and vitamin supplementation time on growth and economic performance of broiler chickens. Journal of Veterinary Research, 65(1):13-18. (In Persian).
35. Taklimi, S. M., H. Ghahri, and M. A. Isakan. 2012. Influence of different levels of humic acid esterified glucomannan on growth performance and intestinal morphology of broiler chickens. Journal of Agriculture, 3:663-668.
36. Varkuhi, S. H. 2014. Factors affecting the quality of poultry and meat. Second National Conference on Engineering and Management of Agriculture, Environment and Sustainable Natural Resources, Tehran, Permanent Secretariat of the Conference, Shahid Beheshti University.
37. Wang, Q., Y. Chen, J. Yoo, H. Kim, J. Cho, and I. Kim. 2008. Effects of supplemental humic substances on growth performance, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. Livestock Science, 117(2-3):270-274.
38. Yalçin, S., A. Ergün, H. Erol, S. Yalçin, and B. Özsoy. 2005. Use of L-carnitine and humate in laying quail diets. Acta Veterinaria Hungarica, 53:361-370.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 537-549

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۵۴۹-۵۳۷

Effect of the substitution of different levels of Biochar with mineral premix in diet on growth performance variables, meat quality and bone ash of broiler

Motahareh Kashef[1], Mohsen Afsharmanesh[2]*, Mohammad Salarmoini[2]

Submitted: 10-05-2020
Accepted: 13-03-2021

Kashef, M., M. Afsharmanesh, and M. Salarmoini. 2022. Effect of the substitution of different levels of Biochar with mineral premix in diet on growth performance variables, meat quality and bone ash of broiler. Iranian Journal of Animal Science Research 13(4):537-549.

Introduction Chicken meat is one of the most important foods and its economic production is essential. In industrial poultry farms, about 70 to 75 percent of production costs are related to feed costs. Therefore, one of the most important goals of poultry nutrition researchers, along with improving the performance and characteristics of poultry carcasses, is to reduce the cost of feed. In addition to edible materials, dietary feed includes feed additives that improve feed conversion, maintain bird health and, consequently, reduce costs and earn the most economic benefits. Any substance that can improve the health and safety of the digestive tract is of particular importance in feeding poultry. The presence of minerals in animal feed is necessary for the animal's metabolic processes. In fact, they are catalyst for many enzymatic systems, and part of hundreds of molecules involved in intermediary metabolism, hormone secretion, antibacterial effects, and immune defense systems; as a result, it influences growth performance, meat quality and appetite of broiler chickens. Traditionally, according to various feeding standards, minerals are supplemented in broiler diet in the form of inorganic salts, i.e.: carbonates, oxides, or sulfates to provide the birds' requirements.

Therefore, one of the ways to reduce the cost of feed rations is to replace useful and low-cost compounds with mineral supplements. In recent decades, the use of feed additives in poultry diets has been considered to increase their production. One of these additives is humic compounds. Humic compounds are a compelex of compounds that are produced from the decomposition of organic matter, especially plants, soil and coal. Biochar is produced by pyrolysis from various types of biomass in a low-to-no oxygenthermal process at temperatures ranging from 350 to 1,000ºC. In addition to its use as a dietary supplement, the use of biochar in nutrition has been considered as a dietary supplement in recent years. It improves nutrition and thus better digestion and absorption of nutrients and limits the activity of toxins such as dioxin, glyphosate, mycotoxins and pesticides and reduces side effects on the gastrointestinal tract. This experiment was carried out to study the effects of replacement different levels of Biochar with the mineral supplement of diet on performance, meat quality, and bone ash in broiler chickens.

Materials and Methods This experiment was conducted with 250 male broiler chicks (Ross 308) in a completely randomized design with five treatments, and five replicates (10 birds per replicate) for 42 days. The treatments included: 1) control diet (without Biochar, contain mineral supplement), 2) control diet whit 25% Biochar plus 75% mineral supplement, 3) control diet whit 50% Biochar plus 50% mineral supplement, 4) control diet whit 75% Biochar plus 25% mineral supplement, 5) control diet whit 100% Biochar plus mineral supplement. Birds and feeds were weighed at days 1, 21, and 42 on a cage basis. The body weight gain, body weight, feed intake and feed conversion ratio were determined. The meat lipid oxidation was evaluated by thiobarbituric acid-reactive substances assay described previously. The pH of meat was measured with a pH meter by homogenizing 5 g of sample with 25 ml of distilled. To estimate the water holding capacity, one g of the meat samples were put in tissue paper inside a tube and centrifuged (for 4 min at 1500 g). Then meat samples were dried at 70˚C for 24

1- Graduate Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
*Corresponding Author Email: mafshar@uk.ac.ir
Doi:10.22067/ijasr.2021.38290.0

h. Cooking loss was determined via the difference between raw weight and cooked weight, and expressed as a percentage of the original weight. The drip loss was determined as the percentage of weight loss of meat samples under standardized conditions. Color values L^* (lightness), a^* (redness), and b^* (yellowness) were determined with a previously described digital imaging method. The hue angle (arc tangent of b^*/a^*), and chroma (saturation index) $\sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$ were also determined. The crude ash of bone samples was analyzed according to standardized methods.

Results and Discussion In the whole period of experiment, the replacement of mineral supplements with Biochar could not make a significant difference on body weight, feed intake, food conversion rate (FCR), European Production Index, bone ash. Meat pH of birds fed 75% Biochar was higher than in all treatments and dripping loss of 75% Biochar was significantly lower than other treatments but here are no significant difference between other treatments. Brightness and yellowness were not affected by the experimental treatment, but the redness index was higher in 75% and 50% Biochar than in other treatments. Therefore, Biochar can replace dietary mineral supplements due to the presence of humic substances and the presence of mineral elements in its composition. Also, due to the low price of Biochar, the use of this substance instead of dietary mineral supplements, makes the use of minerals more desirable and reduces the cost of the diet of broilers. In the present study, the use of Biochar and its substitution with dietary supplements, due to its mineral content and humic acid, improved meat quality of broilers. Despite the lack of a significant difference between the price of a diet ration and a diet containing Biochar, it seems that the use of Biochar can replace dietary minerals and reduce the economic costs of the diet, which is an important issue in the poultry industry.

The lack of altered bone ash in broiler chickens fed Biochar containing humic acid in this experiment was probably due to the adequate and balanced levels of calcium and phosphorus in the diet and therefore due to the lack of effect of humic acid in Biochar . This result may be due to adequate supply of minerals in treatments containing Biochar compared to control group treatment that has made no change in bone ash from control group.

Conclusion In conclusion, the use of Biochar at 75% level without affecting the performance, improved the meat quality (meat pH, redness color index and dripping loss percentage) of broiler chickens.

Keywords: Drip loss, Economic index, Humic acid, Redness color index.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 551-567

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۵۶۷-۵۵۱

مقاله پژوهشی

تأثیر محدودیت کلسیم و فسفر جیره در دوره رشد بر عملکرد، صفات لاشه و فراسنجه‌های خون، استخوان و عادت‌پذیری جوجه‌های گوشتی در دوره پایانی

هادی نوروزی[۱]، احمد حسن آبادی[۲*]، ابوالقاسم گلیان[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۳

نوروزی، ه.، ا. حسن آبادی، و ا. گلیان. ۱۴۰۰. تأثیر محدودیت کلسیم و فسفر جیره در دوره رشد بر عملکرد، صفات لاشه و فراسنجه‌های خون، استخوان و عادت‌پذیری جوجه‌های گوشتی در دوره پایانی. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۳(۴): ۵۶۷-۵۵۱.

چکیده

به‌منظور بررسی اثر محدودیت کلسیم و فسفر جیره در دوره رشد بر عملکرد، شاخص‌های لاشه، فراسنجه‌های خون، استخوان و پاسخ عادت‌پذیری جوجه‌های گوشتی در دوره پایانی، آزمایشی با استفاده از ۶۴۸ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه نر سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تمام جوجه‌ها در دوره آغازین با یک جیره استاندارد تغذیه شدند. سه تیمار آزمایشی در دوره رشد (۲۴-۱۱ روزگی) شامل: ۱) جیره استاندارد (سطح توصیه شده) به‌عنوان شاهد، ۲) جیره با ۱۵ درصد کاهش در میزان کلسیم و فسفر قابل‌دسترس نسبت به احتیاجات، ۳) جیره با ۳۰ درصد کاهش در میزان کلسیم و فسفر قابل‌دسترس نسبت به احتیاجات بود. در این دوره، تیمار شاهد دارای ۶ تکرار ۱۲ قطعه‌ای و دو تیمار دیگر هر کدام شامل ۲۴ تکرار با ۱۲ قطعه جوجه بودند. در ابتدای دوره پایانی (۲۵ روزگی) هر تیمار (به‌جز تیمار شاهد) به ۴ گروه شامل صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد کاهش در سطح کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره تقسیم شد؛ به‌طوری که در این دوره ۹ تیمار با ۶ تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار تشکیل شد. عملکرد رشد پرندگان در دوره رشد، پایانی و کل دوره آزمایشی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. وزن نسبی کبد در سن ۲۴ روزگی با کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل‌دسترس با یک روند خطی افزایش یافت. غلظت آلکالین‌فسفاتاز خون جوجه‌ها در سن ۲۴ روزگی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت؛ به‌طوری که با کاهش سطح کلسیم و فسفر جیره، غلظت این آنزیم با یک روند خطی افزایش یافت. میزان خاکستر، کلسیم و فسفر استخوان درشت‌نی در سن ۲۴ و ۴۲ روزگی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت؛ به‌طوری که با کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره، با یک روند خطی کاهش یافتند. مقاومت در برابر شکست استخوان درشت‌نی در سن ۲۴ روزگی معنی‌دار نبود؛ با این وجود در سن ۴۲ روزگی تمایل به معنی‌داری داشت و با کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره کاهش یافت. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که می‌توان کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره جوجه‌های گوشتی در دوره رشد را تا ۱۵ درصد و در دوره پایانی تا ۱۰ درصد بدون تأثیر منفی بر عملکرد رشد کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: آلکالین‌فسفاتاز، افزایش وزن، خاکستر درشت‌نی، مقاومت در برابر شکست، مصرف خوراک.

مقدمه

در سالیان اخیر افزایش هزینه‌های مربوط به خوراک در پرورش جوجه‌های گوشتی و نگرانی از آلودگی محیط زیست به فسفر، متخصصان تغذیه را به کاهش هزینه‌های مربوطه همراه با حفظ عملکرد بهینه جوجه‌های گوشتی و به حداقل رساندن آلودگی‌های

۱-دانشجوی دکتری تغذیه طیور، گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: hassanabadi@um.ac.ir)
Doi:10.22067/ijasr.2021.38295.0

زیست‌محیطی ترغیب کرده است. کلسیم و فسفر دو ماده معدنی مهم در جیره غذایی طیور می‌باشند که استفاده بهینه از آنها در تغذیه طیور امری ضروری است. آلودگی‌های زیستی در نتیجه مصرف بیش‌از حد فسفر در جیره طیور موضوع نگران‌کننده‌ای است که محققان را به دنبال راهکارهایی از جمله کاهش غلظت فسفر قابل‌دسترس جیره و بالا بردن بهره‌وری آنها بدون اثر منفی بر عملکرد طیور وا داشته است. همچنین به دلیل وجود اثر تداخلی بین کلسیم و فسفر جیره در دستگاه گوارش، نسبت و توازن بین این دو عنصر نیز موضوعی حائز اهمیت است. بیان شده است که جوجه‌های گوشتی هنگام مصرف جیره‌های حاوی سطوح پایین‌تر کلسیم و فسفر، این مواد را با بازدهی بهتری جذب کرده و در نتیجه کاهش دفع آن‌ها از دستگاه گوارش را به همراه خواهد داشت (۲۰).

یکی از راه‌کارهای تغذیه‌ای برای استفاده مؤثر از فسفر، استفاده از محدودیت فسفر به منظور افزایش راندمان استفاده از آن می‌باشد. مطالعات اندکی در زمینه سطوح پایین‌تر مواد معدنی در دوره اولیه و جبران این وضعیت در دوره رشد بعدی انجام شده است. پرندگان تغذیه شده با سطوح کلسیم و فسفر غیرفیتاتی پایین جیره از ۵ تا ۱۵ روزگی، عملکرد رشد و شاخص‌های استخوانی یکسانی پس از یک دوره تکمیلی ۱۱ روزه داشتند. بخشی از این مکانیسم عادت‌پذیری می‌تواند مربوط به تحریک جذب کلسیم و فسفر در شرایط کمبود باشد به‌طوری که رشد جبرانی و بهبود پارامترهای استخوانی در سن ۳۲–۱۸ روزگی پس از یک دوره اولیه کاهش ملایم در میزان کلسیم و فسفر مشاهده شد (۳۰). با این حال شدت محدودیت و شرایط بهینه جبران (به عنوان مثال زمان‌بندی، سطح کلسیم و فسفر) هنوز نیازمند تنظیم دقیق و تأیید در شرایط عملی می‌باشد (۱۳، ۲۵).

سازوکارهای دخیل در ظرفیت عادت‌پذیری جوجه‌های گوشتی به میزان کمی شناخته شده‌اند. با توجه به مطالعات گذشته، مجموعه‌ای از ژن‌های کد کننده انتقال دهنده‌های کلسیم و فسفر در انتروسیت‌های روده در اثرات بلندمدت عدم توازن کلسیم و فسفر دخیل می‌باشد. به عنوان مثال، کاهش ملایم کلسیم و فسفر جیره جوجه‌های گوشتی از زمان هچ به مدت ۹۰ ساعت منجر به تحریک بیان mRNA کوترانسپورتر Na^+ در روده کوچک شد (۳). افزون بر این، در جوجه‌های تغذیه شده با جیره دارای کمبود کلسیم و فسفر از ۱۹ تا ۲۶ روزگی افزایش سنتز کالبیندین (CALB1) روده‌ای و بیان بیشتر mRNA آن مشاهده شد (۶). افزایش ۲ تا ۳ برابری بیان mRNA پمپ کلسیم غشای پلاسمایی دئودنوم جوجه‌های ۲۰ روزه که به مدت ۱۰ روز با جیره‌های با کمبود کلسیم و فسفر تغذیه شده‌اند، گزارش شده است (۳ و ۶).

برخی از متخصصان تغذیه معتقدند که سطوح کلسیم و فسفر جیره جوجه‌های گوشتی کمی بیش از میزان احتیاجات جوجه‌ها است. متاآنالیز انجام شده توسط این محققان نشان داد که مصرف به ترتیب ۶ و ۳ گرم کلسیم و فسفر غیرفیتاته در جوجه‌های گوشتی ۲۱ روزه عملکرد رشد را تحت تأثیر قرار نداد (۱۸). کاهش کلسیم و فسفر غیرفیتاته جیره، قابلیت دسترسی فسفر در دستگاه گوارش را افزایش می‌دهد؛ اما کاهش شدید و غیرقابل جبران آن‌ها می‌تواند باعث معدنی‌شدن ضعیف استخوان‌ها و در نتیجه کاهش رفاه پرنده گردد (۲).

مطالعات بیشتری به منظور بررسی عادت پذیری جوجه‌های گوشتی به سطوح جیره‌ای پایین کلسیم و فسفر قابل‌دسترس و تنظیم دقیق دوره زمانی مناسب برای اعمال کمبود با هدف طراحی راهکارهای تغذیه‌ای که بهره‌وری کلسیم و فسفر را افزایش داده و عملکرد رشد و معدنی‌شدن استخوان را بهبود بخشد، مورد نیاز است. به‌طور ویژه، اثر کاهش سطح کلسیم و فسفر جیره در دوره رشد بر ظرفیت عادت‌پذیری جوجه‌ها در دوره پایانی نیازمند بررسی‌های بیشتری است. از این رو، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر کاهش کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره در دوره رشد بر عادت پذیری جوجه‌های گوشتی در دوره پایانی و عملکرد رشد، صفات لاشه، فراسنجه‌های خون و استخوان آنها بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دام و طیور دانشگاه فردوسی مشهد با استفاده از ۶۴۸ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه نر سویه راس ۳۰۸ انجام شد. تمامی جوجه‌ها در دوره آغازین (۱۰–۱ روزگی) با یک جیره استاندارد تغذیه شدند. شروع آزمایش از ابتدای دوره رشد (سن ۱۱ روزگی) بود و تیمارهای آزمایشی در دوره رشد (۲۴–۱۱ روزگی) و دوره پایانی (سن ۴۲–۲۵ روزگی) اعمال شدند. جیره‌ها با استفاده از نرم افزار UFFDA با سطوح انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام یکسان به گونه‌ای تنظیم گردیدند که کلیه احتیاجات جوجه‌ها بر اساس توصیه سویه راس ۳۰۸ با وزن زنده هدف ۲/۴–۱/۷ کیلوگرم تأمین شود (۵). ترکیب شیمیایی اقلام خوراکی موجود در جیره‌های غذایی از جداول انجمن ملی تحقیقات امریکا (۲۱) استخراج گردید. تیمارهای آزمایشی در دوره رشد شامل ۱) جیره غذایی استاندارد با ۶ تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار به عنوان شاهد؛ ۲) جیره غذایی با ۱۵ درصد کاهش در میزان کلسیم و فسفر قابل‌دسترس نسبت به احتیاجات توصیه شده برای سویه راس ۳۰۸ با ۲۴ تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار و ۳) جیره غذایی با ۳۰ درصد کاهش در میزان کلسیم و فسفر قابل‌دسترس نسبت به احتیاجات با ۲۴ تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار بود. در سن ۲۵ روزگی هر گروه تیماری (به جز تیمار شاهد) به ۴ گروه شامل کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره به مقدار صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد نسبت به احتیاجات توصیه شده تقسیم شد؛ به‌طوری‌که در دوره پایانی ۹ تیمار با ۶ تکرار و ۱۲ قطعه پرنده در هر تکرار تشکیل شد. ترتیب تیمارهای غذایی در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی در جدول ۱ نشان داده شده است.

مواد مغذی موجود در تمام جیره‌های آزمایشی یکسان بود و فقط در سطوح کلسیم و فسفر قابل‌دسترس اختلاف داشتند (جدول ۲). از ماسه شسته شده به عنوان پرکننده به‌جای دی‌کلسیم‌فسفات و کربنات‌کلسیم در جیره‌های محدود شده استفاده گردید. جیره‌های آزمایشی مورد استفاده و ترکیب شیمیایی آن‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱- ترتیب تیمارهای غذایی در دوره‌های آغازین (۱۰-۱ روزگی) رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۲۵-۴۲ روزگی)[1]

Table 1- The arrangement of dietary treatments during starter (1-10 d), grower (11-24 d) and finisher (25-42 d) periods[1]

میزان کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل دسترس (درصد نسبت به شاهد) Reduction in dietary calcium and available phosphorus levels (% of standard diet)		
آغازین Starter	رشد Grower	پایانی Finisher
0	0	0
0	15	0
0	15	10
0	15	20
0	15	30
0	30	0
0	30	10
0	30	20
0	30	30

[1]جیره‌های غذایی بر اساس احتیاجات توصیه شده برای سویه راس ۳۰۸ با وزن زنده هدف ۲/۴-۱/۷ کیلوگرم فرموله شدند (۵).

[2]عدد اول میزان کاهش کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره غذایی نسبت به احتیاجات در دوره رشد و عدد دوم میزان کاهش کلسیم و فسفر قابل‌دسترس نسبت به احتیاجات (۵) در دوره پایانی را نشان می‌دهد.

[1]Dietary treatments were formulated according to Aviagen 2014 recommendations with target live weight of 1.70 - 2.40 kg (5).

[2] First and second digits show the percentage of dietary reduction of calcium and available phosphorus from the Ross 308 requirements (5) during grower and finisher periods, respectively.

جدول ۲- ترکیب و میزان مواد مغذی جیره‌های آزمایشی در دوره آغازین، رشد و پایانی۱

Table 2- Ingredients and nutrient composition of starter, grower and finisher diets[1]

اجزای جیره (درصد) Ingredients (%)	آغازین (۱۰-۱ روزگی) Starter (1-10 d)	رشد (۲۴-۱۱ روزگی) Grower (11-24 d)			پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) Finisher (25-42 d)			
		میزان کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل دسترس (درصد نسبت به شاهد) Reduction in dietary calcium and available phosphorus levels (% of standard diet)						
		0	15	30	0	10	20	30
ذرت Corn	49.20	52.56	52.56	52.56	57.79	57.79	57.79	57.79
کنجاله سویا (۴۴ درصد) Soybean meal (CP, 44%)	41.56	37.78	37.78	37.78	32.29	32.29	32.29	32.29
روغن سویا Soybean oil	4.53	5.41	5.41	5.41	5.97	5.97	5.97	5.97
دی‌کلسیم‌فسفات DCP	1.93	1.71	1.33	0.94	1.54	1.31	1.07	0.84
سنگ آهک Limestone	1.06	0.98	0.86	0.74	0.91	0.84	0.76	0.69
مکمل ویتامینی[2] Vitamin premix[2]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل مواد معدنی[2] Mineral premix[2]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
سدیم‌بیکربنات Sodium Bicarbonate	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
نمک طعام Common salt	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29

Continuation of Table 2 **ادامه جدول ۲**

ال-لیزین هیدروکلراید L-Lysine hydrochloride	0.25	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.18
دی ال-متیونین DL-methionine	0.38	0.32	0.32	0.32	0.29	0.29	0.29	0.29
ال-ترئونین L-Threonine	0.11	0.08	0.08	0.08	0.06	0.06	0.06	0.06
کولین کلراید، ۶۰ درصد Choline chloride, 60%	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
ماسه Sand	-	-	0.50	1.01	-	0.30	0.61	0.91
			ترکیب مواد مغذی محاسبه شده (درصد) Calculated nutrient content (%)					
انرژی قابل‌متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم) ME (Kcal/kg)	3000	3100	3100	3100	3200	3200	3200	3200
پروتئین خام CP	23	21.5	21.5	21.5	19.50	19.50	19.50	19.50
کلسیم Calcium	0.96	0.87	0.74	0.61	0.79	0.71	0.63	0.55
فسفر قابل دسترس Available phosphorus	0.48	0.44	0.37	0.30	0.40	0.36	0.32	0.28
لیزین Lysine	1.44	1.29	1.29	1.29	1.16	1.16	1.16	1.16
متیونین Methionine	0.72	0.65	0.65	0.65	0.59	0.59	0.59	0.59
متیونین + سیستین Methionine + Cystine	1.08	0.99	0.99	0.99	0.91	0.91	0.91	0.91
ترئونین Threonine	0.97	0.88	0.88	0.88	0.78	0.78	0.78	0.78
سدیم Sodium	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
پتاسیم Potassium	0.98	0.92	0.92	0.92	0.82	0.82	0.82	0.82
کلر Chlorine	0.27	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26
اختلاف کاتیون-آنیون DCAD[3]	243.97	231.38	231.17	230.95	207.29	207.16	207.03	206.91

[1] تیمارهای غذایی بر اساس احتیاجات غذایی سویه راس ۳۰۸ با وزن زنده هدف ۲/۴-۱/۷ کیلوگرم فرموله شدند (۵).

[2] مکمل ویتامینی و مواد معدنی مواد زیر را در هر کیلوگرم از جیره تأمین می‌کرد: ویتامین A، ۱۲۵۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین D۳، ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، ۸۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K، ۳/۲ میلی‌گرم؛ ویتامین B12، ۰/۰۲ میلی‌گرم؛ تیامین، ۳/۲ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین؛ ۸/۶ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۶۲/۵ میلی گرم؛ اسید فولیک، ۲/۲ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۲۵ میلی‌گرم؛ پیریدوکسین، ۴/۹ میلی‌گرم؛اسید پنتوتنیک، ۱۸/۵ میلی‌گرم؛ آنتی‌اکسیدان، ۲/۵ میلی‌گرم؛ روی، ۱۱۰ میلی‌گرم؛ منگنز، ۱۲۰ میلی‌گرم؛ سلنیوم، ۰/۳۰ میلی‌گرم؛ ید، ۱/۲۵ میلی‌گرم؛ مس، ۱۶ میلی‌گرم؛ آهن، ۲۰/۲ میلی‌گرم. ۲- اختلاف کاتیون-آنیون جیره

[1] Dietary treatments were formulated according to Aviagen 2014 recommendations with target live weight of 1.70 - 2.40 kg (5).

[2] Provided per kilogram of diet: Vitamin A 12500 IU, vitamin D3 5000 IU, vitamin E 80 IU, vitamin K3 3.2 mg, vitamin B12 0.02 mg, thiamin 3.2mg, riboflavin 8.6 mg, niacin 62.5 mg, folic acid 2.2 mg, biotin 0.25 mg, pyridoxine 4.9 mg, pantothenic acid 18.5 mg, antioxidant 2.5 mg, Zn 110 mg, Mn 120 mg, Se 0.30 mg, I 1.25 mg, Cu 16 mg, Fe 20.2 mg.

[3] Dietary Cation -Anion difference.

جدول ۳- تأثیر کاهش کلسیم و فسفر قابل دسترس جیره غذایی بر میانگین وزن بدن، افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره رشد (۲۴-۱۱ روزگی)

Table 3- Effects of reduction in dietary calcium and available phosphorus levels (%) on growth performance of broiler chickens during 11 to 24 d of age

صفات عملکرد Performance traits	میزان کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل دسترس در دوره ۲۴-۱۱ روزگی (درصد نسبت به شاهد) Reduction in dietary calcium and available phosphorus levels from 11 to 24d of age (% of standard diet)					مدل تابعیت Contrasts	
	0	15	30	P-value	SEM	خطی Linear	درجه ۲ Quadratic
						P-Value	
میانگین وزن بدن (گرم/پرنده) ABW (g/bird)	849.62	845.79	824.08	0.3234	10.959	0.1461	0.5020
افزایش وزن روزانه (گرم/پرنده/روز) DWG (g/bird/day)	44.75	44.55	44.05	0.8401	0.751	0.5573	0.8732
مصرف خوراک روزانه (گرم/پرنده/روز) DFI (g/bird/day)	67.47	68.17	67.49	0.8256	0.939	0.9882	0.5497
ضریب تبدیل غذایی (گرم:گرم) FCR (g:g)	1.51	1.53	1.54	0.1505	0.011	0.0883	0.5829

ABW: Average body weight, DWG: Daily weight gain, DFI: Daily feed intake, FCR: Feed conversion ratio

دمای سالن پرورش جوجه‌ها در سن یک‌روزگی در ۳۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد؛ سپس روزی ۰/۵ درجه سانتی‌گراد از آن کاسته شد تا به ۲۱ درجه سانتی‌گراد رسید و پس از آن در همین دما ثابت نگهداشته شد. از یک برنامه نوری ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی استفاده شد و آب و خوراک به‌طور آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. مقدار خوراک مصرفی در انتهای هر دوره (۲۴ و ۴۲ روزگی) در هر واحد آزمایشی (جایگاه بستری) اندازه‌گیری شد. به این صورت که دان باقی مانده در هر دانخوری از مقدار دان ریخته شده در طول دوره برای آن واحد آزمایشی کسر و مقدار خوراک مصرفی دوره محاسبه شد. با توجه به اینکه در برخی واحدهای آزمایشی در طول دوره تلفات وجود داشت، محاسبه خوراک مصرفی بر اساس روز مرغ در هر واحد آزمایشی انجام شد. افزایش وزن جوجه‌ها در هر دوره زمانی از تفاضل میانگین وزن در ابتدا و انتهای دوره محاسبه شد. پس از محاسبه میانگین خوراک مصرفی و میانگین افزایش وزن روزانه، میانگین ضریب تبدیل غذایی برای هر واحد آزمایشی از تقسیم کردن خوراک مصرفی در دوره آزمایشی بر افزایش وزن بدن در آن دوره محاسبه شد.

در سنین ۲۴ و ۴۲ روزگی یک قطعه پرنده از هر جایگاه که از نظر وزنی به میانگین گروه نزدیک بود، انتخاب شد و پس از توزین، کشتار شده و قطعات لاشه و اندام‌های آن شامل سینه، ران‌ها، گردن، بال‌ها، پشت، کبد، پانکراس و چربی بطنی وزن‌کشی شد (وزن این اندام‌ها نسبت به وزن زنده محاسبه شد).

به منظور اندازه‌گیری غلظت کلسیم، فسفر و آلکالین فسفاتاز سرم خون، نمونه‌های سرم جدا شده تا زمان اندازه‌گیری فراسنجه‌های مورد نظر (کلسیم، فسفر و آلکالین‌فسفاتاز) در داخل فریزر و دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. غلظت کلسیم، فسفر و آلکالین‌فسفاتاز سرم خون به روش رنگ‌سنجی با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (مدل BT3000) و با استفاده از کیت‌های تشخیص طبی پارس آزمون انجام گرفت.

به‌منظور ارزیابی درصد خاکستر، کلسیم، فسفر استخوان درشت‌نی و همچنین مقاومت آن در برابر شکست، از پرندگان کشتار شده در سن ۲۴ و ۴۲ روزگی، استخوان درشت نی پای چپ یک پرنده از هر جایگاه جداسازی شد. پس از جداسازی گوشت و بافت‌های نرم خصوصیات فیزیکی شامل طول استخوان و قطر ناحیه دیافیز استخوان با استفاده از میکرومتر دیجیتال ثبت گردید. برای تعیین مقاومت در برابر شکست استخوان درشت‌نی از دستگاه اینسترون[1] استفاده شد. پس از آن استخوان‌ها در آون با دمای ۱۰۳ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت خشک شده و پس از چربی‌گیری با دی‌اتیل‌اتر مجدداً در دمای ۱۰۳ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت خشک گردید. وزن استخوان خشک ثبت گردید و پس از آسیاب کامل نمونه‌ها توزین و در کوره الکتریکی با حرارت ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت به خاکستر تبدیل شد. خاکستر استخوان درشت‌نی به صورت درصدی از وزن خشک آن محاسبه شد (۷). در پایان، درصد کلسیم و فسفر موجود در خاکستر استخوان با روش طیف‌سنجی پلاسمای جفت‌شده القایی (ICP-OES; Spectro Arcos System, Germany, model 76004555) اندازه‌گیری شد (۱).

به منظور بررسی اثر تیمارهای آزمایشی، داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه مدل خطی عمومی نرم افزار (۲۰۰۹) SAS 9.4 مورد آنالیز آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. سطح احتمال بین ۰/۰۵ تا ۰/۱ به عنوان متمایل به معنی‌داری در نظر گرفته شد. مقایسات مستقل خطی و درجه دو در پاسخ به کاهش سطوح کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره در هر دوره آزمایش (رشد و پایانی) نیز انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به میانگین وزن بدن، افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل غذایی در دوره رشد (۲۴-۱۱روزگی)، دوره پایانی (۴۲-۲۵روزگی) و کل دوره آزمایش (۴۲-۱۰روزگی) به ترتیب، در جداول ۳، ۴ و ۵ گزارش داده شده است. در این دوره‌ها، اثر تیمارهای آزمایشی بر هیچ یک از صفات عملکرد رشد معنی‌دار نبود. در دوره‌های ۴۲-۱۱ روزگی و ۴۲-۲۵ روزگی، کاهش فسفر قابل دسترس و کلسیم جیره به میزان ۱۵ درصد در دوره رشد که با کاهش این مواد معدنی به میزان صفر تا ۳۰ درصد در دوره پایانی دنبال شد، ضریب تبدیل را به‌طور خطی افزایش داد.

در توافق با نتایج این آزمایش گزارش شده است هنگامی که سطوح کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره با رعایت نسبت ثابت کاهش یافت، عملکرد رشد پرنده تحت تأثیر قرار نگرفت و افزایش کلسیم جیره در فسفر قابل‌دسترس پایین جیره منجر به کاهش مصرف خوراک و در نهایت کاهش عملکرد پرنده در ۲۱ روزگی شد. همچنین با کاهش سطح کلسیم جیره از ۰/۹ به ۰/۷ در جوجه‌های تغذیه شده با ۰/۳۵ درصد فسفر قابل‌دسترس سبب بهبود عملکرد رشد شد (۲۵). در یک آزمایش نشان داده شد که کاهش سطح فسفر قابل‌دسترس جیره می‌تواند باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی، کاهش خوراک مصرفی و افزایش وزن بدن شود.

1-Model H5K5, Tinius Olsen Company

جدول ٤- تأثیر کاهش کلسیم و فسفر قابل دسترس جیره غذایی بر میانگین وزن بدن، افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره پایانی (۴۲-۲۵ روزگی)

Table 4- Effects of reduction in dietary calcium and available phosphorus levels (%) on growth performance of broiler chickens during 25 to 42 d of age

صفات عملکرد Performance traits	میزان کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل دسترس در دوره ۲۴-۱۱ روزگی (درصد نسبت به شاهد) Reduction in dietary calcium and available phosphorus levels from 11 to 24d of age (% of standard diet)										
	0	15				30					
	میزان کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل دسترس در دوره ۴۲-۲۵ روزگی (درصد نسبت به شاهد) Reduction in dietary calcium and available phosphorus levels from 25 to 42 d of age (% of standard diet)										
	0	0	10	20	30	0	10	20	30	P-value	SEM
میانگین وزن بدن (گرم/پرنده) ABW (g/bird)	2385.06	2368.02	2428.01	2347.65	2345.56	2352.99	2327.66	2371.17	2333.49	0.3881	29.316
افزایش وزن روزانه (گرم/پرنده/روز) DWG (g/bird/day)	85.38	84.78	84.36	84.19	81.79	83.14	82.09	83.89	81.92	0.3855	1.268
مصرف خوراک روزانه (گرم/پرنده/روز) DFI (g/bird/day)	135.41	131.79	133.09	136.69	132.37	135.45	130.89	130.28	130.19	0.5587	2.616
ضریب تبدیل غذایی (گرم:گرم) FCR (g:g)	1.59	1.56	1.58	1.62	1.62	1.63	1.59	1.60	1.59	0.2709	0.021

مدل تابعیت (P-value)
Contrasts (P-Value)

	خطی Linear	درجه ۲ Quadratic	خطی Linear	درجه ۲ Quadratic
میانگین وزن بدن ABW	0.3320	0.3525	0.9080	0.8346
افزایش وزن روزانه DWG	0.1324	0.4583	0.7629	0.7437
مصرف خوراک روزانه DFI	0.6497	0.2919	0.2239	0.4532
ضریب تبدیل غذایی FCR	0.0107	0.4921	0.3126	0.6672

ABW: Average body weight, DWG: Daily weight gain, DFI: Daily feed intake, FCR: Feed conversion ratio

جدول ۵- تأثیر کاهش کلسیم و فسفر قابل دسترس جیره غذایی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در کل دوره آزمایشی (۴۲-۱۱روزگی)

Table 5- Effects of reduction in dietary calcium and available phosphorus levels (%) on growth performance of broiler chickens during 11 to 42 d of age

صفات عملکرد	میزان کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل دسترس در دوره ۲۴-۱۱ روزگی (درصد نسبت به شاهد) Reduction in dietary calcium and available phosphorus levels from 11 to 24d of age (% of standard diet)										
	0	15				30					
	میزان کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل دسترس در دوره ۴۲-۲۵ روزگی (درصد نسبت به شاهد) Reduction in dietary calcium and available phosphorus levels from 25 to 42 d of age (% of standard diet)										
Performance traits	0	0	10	20	30	0	10	20	30	P-value	SEM
افزایش وزن روزانه (گرم/پرنده/روز) DWG (g/bird/day)	67.55	67.35	68.54	66.10	66.99	66.61	65.96	66.78	66.44	0.7810	1.045
مصرف خوراک روزانه (گرم/پرنده/روز) DFI (g/bird/day)	107.00	105.22	106.95	106.04	107.87	106.06	106.49	102.96	104.37	0.7580	1.904
ضریب تبدیل غذایی (گرم:گرم) FCR (g:g)	1.59	1.56	1.56	1.60	1.61	1.59	1.57	1.58	1.57	0.4977	0.018

مدل تابعیت (P-value)

Contrasts (P-Value)

	خطی Linear	درجه ۲ Quadratic	خطی Linear	درجه ۲ Quadratic
افزایش وزن روزانه DWG	0.4718	0.8921	0.9514	0.8876
مصرف خوراک روزانه DFI	0.4619	0.9815	0.2887	0.7860
ضریب تبدیل غذایی FCR	0.0232	0.8436	0.5438	0.6927

ABW: Average body weight, DWG: Daily weight gain, DFI: Daily feed intake, FCR: Feed conversion ratio

از آنجایی که بدن از طریق مکانیسم‌های فیزیکی و کنترل هورمونی، مصرف غذا را با توجه به مقدار کلسیم و فسفر مورد استفاده تنظیم می‌کند؛ در نتیجه بالا بردن میزان کلسیم و فسفر جیره به بیش از میزان احتیاجات می‌تواند باعث کاهش مصرف خوراک شود (۸).

در تحقیقی که در جوجه‌های گوشتی ۲۱-۱ روزگی انجام شد، بالاترین افزایش وزن بدن و مصرف خوراک در تیمارهای حاوی ۰/۶ درصد کلسیم مشاهده شد (در مقایسه با تیمارهای حاوی ۰/۴، ۰/۸، ۱، ۱/۲، ۱/۴ و ۱/۶ درصد کلسیم)، همچنین با کاهش میزان کلسیم جیره ضریب تبدیل غذایی پرندگان بهبود یافت (۱۴). در تطابق با نتایج آزمایش حاضر، داندو و انجل (۱۲) نیز هیچ‌گونه اثر معنی‌داری از فسفر غیر فیتات جیره بر عملکرد جوجه‌های گوشتی مشاهده نکردند. در مطالعه درسجانت-لی و همکاران (۱۰) نیز با کاهش سطح کلسیم جیره اثر معنی‌داری بر صفات عملکردی جوجه‌های گوشتی مشاهده نشد.

در متاآنالیز انجام شده توسط مونتماینی و همکاران (۱۸) پیش‌بینی شد که برای حداکثر مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه در دوره رشد به ترتیب به ۰/۴۵ و ۰/۴۴ فسفر قابل دسترس و ۱ درصد کلسیم در جیره غذایی مورد نیاز است؛ در حالی که اگر کلسیم جیره غذایی به ۰/۶ درصد کاهش یابد عملکرد رشد مشابه با ۰/۳۴ و ۰/۳ فسفر قابل‌دسترس حاصل می‌شود. پیشنهاد شده است که سطوح بالای کلسیم جیره غذایی منجر به کاهش اشتهای پرنده و تشدید کمبود فسفر شده و این به نوبه خود باعث کاهش رشد بافت‌های استخوانی و نرم پرنده می‌شود (۱۳). در نتیجه با کاهش همزمان کلسیم و فسفر جیره با رعایت نسبت ثابت می‌توان به عملکرد رشد مشابه دست یافت (۲۴). در توافق با نتایج این آزمایش، اویکه و همکاران (۲۲) نشان دادند که عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده جیره با ۳۰ درصد کاهش در سطح کلسیم و فسفر قابل‌دسترس تحت تأثیر قرار نگرفت.

در آزمایش حاضر عدم معنی‌داری صفات عملکردی علی‌رغم کاهش کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره غذایی ممکن است به دلیل رعایت نسبت ۲ به ۱ کلسیم به فسفر در تمام تیمارهای آزمایشی باشد. همچنین پیشنهاد شده است که حداکثر تا ۳۰ درصد کاهش در سطوح کلسیم و فسفرقابل دسترس جیره غذایی، احتیاجات کلسیم و فسفر قابل‌دسترس پرنده را برای حداکثر رشد بافت نرم تأمین خواهد کرد (۲۸).

جدول ٦- تأثیر کاهش کلسیم و فسفر قابل دسترس جیره غذایی بر درصد اجزای لاشه جوجه‌های گوشتی در ۲۴ روزگی

Table 6- Effects of reduction in dietary calcium and available phosphorus levels (%) on carcass characteristics of broilers at 24 d of age

اجزای لاشه (درصد) Carcass traits (%)	میزان کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل دسترس در دوره ۲۴-۱۱ روزگی (درصد نسبت به شاهد) Reduction in dietary calcium and available phosphorus levels from d of age (% of standard diet) 11 to 24					مدل تابعیت Contrasts	
	0	15	30	P-value	SEM	خطی Linear	درجه ۲ Quadratic
لاشه Carcass	56.78	56.56	55.60	0.5722	0.820	0.3297	0.7168
بال، پشت و گردن Wing, Back and Neck	16.33	16.22	16.32	0.9749	0.362	0.9878	0.8255
ران Thigh	18.09	18.02	17.22	0.0955	0.285	0.0517	0.3185
سینه Breast	22.36	23.32	22.06	0.9303	0.609	0.7304	0.8874
چربی شکمی Abdominal fat	0.68	0.66	0.63	0.6629	0.041	0.6411	0.4455
پانکراس Pancreas	0.33	0.39	0.35	0.2592	0.024	0.6589	0.1198
کبد Liver	2.28	2.54	2.70	0.1286	0.135	0.0487	0.7861

نتایج مربوط به وزن نسبی اجزای لاشه در سن ۲۴ روزگی در جدول ۶ نشان داده شده است. هیچ یک از صفات لاشه تحت تأثیر تیمارهای

آزمایشی قرار نگرفت؛ با این وجود وزن نسبی کبد در سن ۲۴ روزگی به‌طور معنی‌داری طی یک روند خطی با کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره افزایش یافت. به‌طور کلی در ارتباط با تاثیر سطوح کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره بر درصد اجزای لاشه، اطلاعات کمی در دسترس است. در توافق با نتایج این آزمایش ویوروس و همکاران (۲۹) بیان داشتند که کاهش میزان فسفر قابل دسترس جیره می‌تواند وزن نسبی کبد را در سن ۶ هفتگی به‌طور معنی‌داری افزایش دهد. این احتمال می‌رود که پرنده برای جبران کمبود کلسیم و فسفر مورد نیاز خود و ثابت نگه داشتن سطح کلسیم و فسفر خون، با افزایش وزن کبد سعی می کند آنزیم‌های کبدی به‌ویژه آلکالین‌فسفاتاز بیشتری تولید کند. آسونا و همکاران (۴) گزارش کردند که به وسیله افزودن آنزیم فیتاز به جیره دوره رشد جوجه‌های گوشتی وزن هیچ یک از اندام‌های داخلی بدن تحت تاثیر قرار نگرفت. گزارش شده است که حذف کل مکمل مواد معدنی از جیره جوجه‌های گوشتی در سنین ۴۲-۲۸ روزگی اثر معنی‌داری بر وزن لاشه و وزن نسبی سینه ندارد (۱۱).

نتایج مربوط به تاثیر کاهش سطوح کلسیم و فسفر جیره بر میزان کلسیم، فسفر و آلکالین فسفاتاز سرم، در سن ۲۴ روزگی در جدول ۷ نشان داده شده است. به‌طوری که در روز ۲۴ بیشترین میزان آلکالین‌فسفاتاز سرم (P<۰/۰۵) در تیمار ۳۰ درصد کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود. در توافق با نتایج این آزمایش خیری و رحمانی (۱۶) بیان کردند که کاهش سطح کلسیم جیره به میزان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد پایین‌تر فاقد هر گونه تاثیر معنی‌دار بر سطح کلسیم و فسفر سرم خون بود. قبادی و همکاران (۱۵) بیان کردند که با کاهش سطوح کلسیم جیره میزان کلسیم سرم به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد؛ اما سطوح فسفر غیرفیتاتی اثری بر غلظت کلسیم سرم نداشت. با این وجود در آزمایش حاضر سطح کلسیم و فسفر سرم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. پیشنهاد شده است که افزایش فعالیت آلکالین‌فسفاتاز که از طریق جیره‌های حاوی سطوح فسفر پایین ایجاد می‌شود، می‌تواند از طریق فعالیت استئوبلاست‌ها القا شود. بدین‌ترتیب که پرنده با افزایش تولید و ترشح آلکالین‌فسفاتاز درصدد جبران کمبود کلسیم و فسفر جیره برای ثابت نگه داشتن سطح کلسیم و فسفر خون برمی‌آید. این وضعیت معمولاً در پرندگان جوان، حیوانات در حال رشد و در ناهنجاری‌هایی که طی رشد و تغییر شکل استخوان رخ می‌دهد، اتفاق می‌افتد (۳۱).

جدول ۷- تأثیر کاهش کلسیم و فسفر قابل دسترس جیره غذایی بر میزان کلسیم، فسفر و آلکالین فسفاتاز سرم خون جوجه‌های گوشتی در ۲۴ روزگی[۱]

Table 7- Effects of reduction in dietary calcium and available phosphorus levels (%) on calcium, phosphorus and alkaline phosphatase levels in serum on d 24 of age[1]

فراسنجه‌های خونی Blood factors	میزان کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل دسترس در دوره ۲۴-۱۱ روزگی (درصد نسبت به شاهد) Reduction in dietary calcium and available phosphorus levels from 11 to 24d of age (% of standard diet)				SEM	مدل تابعیت Contrasts	
	0	15	30	P-value		خطی Linear	درجه ۲ Quadratic
						P-Value	
کلسیم (دسی لیتر/میلی‌گرم) Calcium (mg/dL)	7.92	7.76	7.60	0.6989	0.263	0.4070	1.0000
فسفر (دسی لیتر/میلی‌گرم) Phosphorus (mg/dL)	5.26	5.22	5.14	0.8173	0.135	0.5412	0.9057
آلکالین فسفاتاز* (لیتر/واحد) Alkaline phosphatase (U/L)	11180[b]	13920[ab]	15550[a]	0.0452	1096.78	0.0155	0.687

[۱] در هر ردیف اعداد با حروف غیر مشابه از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P< ۰/۰۵).

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

نتایج مربوط به بررسی خصوصیات استخوان درشت‌نی در سن ۲۴ و ۴۲ روزگی در جداول ۸ و ۹ گزارش شده شده است. هیچ یک از صفات وزن، طول و قطر استخوان در روزهای ۲۴ و ۴۲ تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. در سن ۲۴ روزگی درصد خاکستر، کلسیم و فسفر استخوان طی یک روند خطی با کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره غذایی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). مقاومت در برابر شکست استخوان درشت‌نی در سن ۲۴ روزگی در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت؛ با این وجود تابعیت خطی آن با کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره غذایی متمایل به معنی‌داری بود. در سن ۴۲ روزگی درصد خاکستر، کلسیم، فسفر و

مقاومت در برابر شکست استخوان درشت‌نی به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت؛ به‌طوری که کم‌ترین درصد خاکستر، کلسیم، فسفر و مقاومت در برابر شکست استخوان در تیمار محدودیت کلسیم و فسفر به مقدار ۳۰ درصد کمتر از حد استاندارد در هر دو دوره رشد و پایانی مشاهده شد که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). با این وجود در تیمارهای محدودیت کلسیم و فسفر به مقدار ۱۵ و صفر درصد استاندارد به ترتیب در دوره‌های رشد و پایانی و همچنین محدودیت ۱۵ و ۱۰ درصد در دوره‌های رشد و پایانی در ارتباط با شاخص‌های استخوانی تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده نشد.

آزمایش روسو و همکاران (۲۵) نشان داد که وزن خاکستر درشت‌نی، درصد خاکستر و مقاومت در برابر شکست در سن ۲۱ روزگی در پرندگان تغذیه شده با ۰/۶ درصد کلسیم و ۰/۳ فسفر غیرفیتاته در مقایسه با پرندگان تغذیه شده با ۰/۱ درصد کلسیم و ۰/۴۵ درصد فسفر قابل‌دسترس کاهش یافت، در حالی که در سن ۳۵ روزگی هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری از نظر شاخص‌های استخوانی میان تیمارها مشاهده نشد. پژوهش شاو و همکاران (۲۶) نشان داد که بالا بردن سطوح فسفر قابل‌دسترس در جیره جوجه‌های گوشتی در سنین ۲۸-۰ روزگی، درصد خاکستر استخوان درشت‌نی را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. مصرف کلسیم بیش از مقدار احتیاجات باعث کاهش رشد، کاهش بازدهی مصرف خوراک و افزایش میزان خاکستر و کشش پذیری استخوان می‌شود. از طرفی افزایش میزان فسفر در جیره هم باعث ایجاد محدودیت در قابلیت دسترسی کلسیم در روده شده که این امر از طریق تحریک ترشح هورمون پاراتیروئید و در نتیجه افزایش بازجذب کلسیم از استخوان، موجب کاهش میزان خاکستر استخوان می‌شود (۹). در پژوهش گاتیر و همکاران (۱۴) مقاومت در برابر شکست و مقدار خاکستر درشت‌نی به‌طور معنی‌داری در تیمار حاوی ۰/۶ درصد کلسیم بیشتر از سایر تیمارها بود، همچنین بیشترین طول و عرض استخوان درشت‌نی در تیمارهای حاوی ۰/۴ و ۰/۶ درصد کلسیم مشاهده شد. گزارش شده است که مقاومت در برابر شکست و میزان خاکستر درشت‌نی در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با کمترین سطوح کلسیم و فسفر نسبت به جوجه‌های تغذیه شده با تیمارهای حاوی سطوح بالاتر این دو ماده معدنی مشابه بودند (۲۴). در یک آزمایش افزایش سطح کلسیم جیره از ۰/۶ تا ۱ گرم در کیلوگرم جیره جوجه‌های گوشتی، تاثیر معنی‌داری بر درصد خاکستر، کلسیم و فسفر و مقاومت در برابر شکست استخوان درشت‌نی نداشت (۱۷).

عدم تعادل کلسیم و فسفر در جیره غذایی می‌تواند شاخص‌های درشت‌نی مانند میزان کلسیم و فسفر را کاهش داده و سطح بیان mRNA کالبیندین و هم‌انتقالی (NaP_i-Iib) را در روده کوچک جوجه‌های گوشتی تحریک کند (۱۹). توسعه و رشد استخوان درشت‌نی در جوجه‌های گوشتی عموما توسط تراکم و محتوای مواد معدنی در استخوان، مقاومت در برابر شکست و میزان خاکستر آن تعیین می‌شود (۲۷). به‌طور کلی نشان داده شده است که تراکم مواد معدنی و محتوای خاکستر درشت‌نی در مقایسه با مقاومت در برابر شکست استخوان، شاخص‌های حساس‌تری در ارتباط با کلسیم و فسفر جیره می‌باشد (۲۳). پاسخ‌های متفاوت بین عملکرد رشد و شاخص‌های استخوانی این‌طور توضیح داده می‌شود که احتیاجات کلسیم و فسفر پرنده برای حداکثر عملکرد استخوان نسبت به رشد بافت نرم بالاتر است. در واقع استخوان حاوی ۹۹ درصد کلسیم و ۸۰ درصد فسفر بدن می‌باشد و هر دو به عنوان جزء اصلی هیدروکسی آپاتیت در مرحله معدنی شدن بافت نرم در ترکیب با ماتریکس آلی استخوان برای افزایش مقاومت مکانیکی استخوان شرکت می‌کنند (۲۵).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری نمود که کاهش درصد کلسیم و فسفر جیره در دوره رشد و پایانی علی‌رغم تأثیر معنی‌دار بر فراسنجه‌های خونی و استخوانی جوجه‌های گوشتی، هیچ‌گونه اثر معنی‌داری بر عملکرد رشد پرندگان نداشت. البته در برخی از صفات اندازه‌گیری شده مانند درصد خاکستر، کلسیم و فسفر استخوان درشت‌نی با کاهش درصد کلسیم و فسفر قابل‌دسترس جیره غذایی تا ۱۵ درصد در دوره رشد و ۱۰ درصد در دوره پایانی قابل قبول بوده ولی با کاهش بیشتر درصد کلسیم و فسفر جیره به مقدار ۳۰ درصد کمتر از حد استاندارد در هر دو دوره رشد و پایانی اثرات منفی آن مشاهده شد.

جدول ۸- تأثیر کاهش کلسیم و فسفر قابل دسترس جیره غذایی بر خصوصیات استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی در ۲۴ روزگی[1]

Table 8- Effects of reduction in dietary calcium and available phosphorus levels (%) on tibia characteristics at 24 d of age[1]

فراسنجه Parameter	میزان کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل دسترس در دوره ۲۴-۱۱ روزگی (درصد نسبت به شاهد) Reduction in dietary calcium and available phosphorus levels from 11 to 24d of age (% of standard diet)					مدل تابعیت Contrasts	
						خطی Linear	درجه ۲ Quadratic
	0	15	30	P-value	SEM	P-Value	
وزن(گرم) Weight (g)	2.20	2.15	2.11	0.1699	0.028	0.0670	0.9240
طول (میلی‌متر) Length (mm)	67.16	69.33	66.35	0.3281	1.368	0.6862	0.1593
قطر(میلی‌متر) Diameter (mm)	5.89	5.70	5.40	0.4602	0.269	0.2296	0.8594
میزان خاکستر(٪)* Ash * (%)	50.15[a]	49.38[ab]	47.14[b]	0.0733	0.831	0.0306	0.4870
کلسیم (٪) Calcium (%)	18.36[a]	17.61[ab]	16.91[b]	0.0550	0.357	0.0190	0.9556
فسفر (٪) Phosphorus (%)	8.56[a]	8.53[a]	7.73[b]	0.0120	0.172	0.0076	0.1000
مقاومت در برابر شکست (نیوتن) Breaking strength	153.90	139.15	128.43	0.2126	9.408	0.0878	0.8650

[1] در هر ردیف اعداد با حروف غیر مشابه از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P< ۰/۰۵).

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

جدول ۹- تأثیر کاهش کلسیم و فسفر قابل دسترس جیره غذایی بر خصوصیات استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی[1]

Table 9- Effects of reduction in dietary calcium and available phosphorus levels (%) on tibia characteristics at 42 d of age[1]

فراسنجه Parameter	میزان کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل دسترس در دوره ۲۴-۱۱ روزگی (درصد نسبت به شاهد) Reduction in dietary calcium and available phosphorus levels from 11 to 24d of age (% of standard diet)									P-value	SEM
	0	15				30					
	میزان کاهش سطح کلسیم و فسفر قابل دسترس در دوره ۴۲-۲۵ روزگی (درصد نسبت به شاهد) Reduction in dietary calcium and available phosphorus levels from 25 to 42 d of age (% of standard diet)										
	0	0	10	20	30	0	10	20	30		
وزن(گرم) Weight (g)	5.93	5.76	6.35	6.12	6.50	6.54	6.49	6.09	6.00	0.5087	0.293
طول (میلی‌متر) Length (mm)	95.87	94.51	98.59	96.74	98.60	97.13	96.32	97.78	96.04	0.5574	1.400
قطر(میلی‌متر) Diameter (mm)	8.45	8.12	8.79	8.37	8.54	8.39	8.78	8.35	8.47	0.9534	0.376
میزان خاکستر(٪)* Ash * (%)	49.04[a]	47.35[ab]	47.37[ab]	43.83[cd]	43.46[cd]	47.03[b]	44.93[cd]	43.97[de]	42.13[e]	<0.0001	0.592b
کلسیم (٪) Calcium (%)	17.79[a]	16.83[ab]	16.56[ab]	16.19[ab]	15.21[b]	17.69[a]	16.97[ab]	15.62[b]	15.67[b]	0.0421	0.588
فسفر(٪) Phosphorus (%)	8.36[a]	8.21[ab]	7.71[cd]	7.75[bcd]	7.32[d]	8.10[abc]	8.12[abc]	7.49[d]	7.60[d]	0.0003	0.151
مقاومت در برابر شکست (نیوتن) Breaking strength	342.63[a]	292.98[ab]	287.55[ab]	272.43[ab]	242.43[b]	339.55[a]	284.65[ab]	264.70[ab]	241.60[b]	0.0620	24.678

مدل تابعیت (P-value)
Contrasts (P-Value)

	خطی	درجه ۲	خطی	درجه ۲
وزن Weight	0.1963	0.7574	0.1489	0.9469
طول Length	0.1741	0.4912	0.7554	0.7242
قطر Diameter	0.6635	0.5683	0.9171	0.7108
میزان خاکستر Ash	0.0001	0.7156	0.0011	0.8709
کلسیم Calcium	0.0196	0.4301	0.0260	0.5685
فسفر Phosphorus	0.0002	0.7795	0.0106	0.7852
مقاومت در برابر شکست Breaking strength	0.2054	0.6669	0.0019	0.3889

[1] در هر ردیف اعداد با حروف غیر مشابه از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P< ۰/۰۵).

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

Refrences

1. AOAC. 2006. Method 990.08: Metals in Solid Wastes. In Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
2. Applegate, T. J., and R. Angel. 2008. Phosphorus requirements for poultry. A Key Ingredient in Livestock and Poultry Nutrient Management. USDA, Washington, DC.
3. Ashwell, C. M., and R. Angel. 2010. Nutritional genomics: a practical approach by early life conditioning with dietary phosphorus. Revista Brasileira de Zootecnia, 39: 268–278.
4. Assuena, V., O. M. Junqueira, K. F. Duarte, A. C. Laurentiz, R. S. Filardi, and S. Sgavioli. 2009. Effect of dietary phytase supplementation on the performance bone densitometry and phosphorus and nitrogen excretion of broilers. Brazilian Journal of Poultry Science, 11: 25 – 30.
5. Aviagen. 2014. Ross 308: Broiler Nutrition Specifications. Aviagen Inc., Huntsville, Alabama, USA.
6. Bar, A., M. Shani, C. S. Fullmer, M. E. Brindak, and S. Striem. 1990. Modulation of chick intestinal and renal calbindin gene expression by dietary vitamin D3, 1, 25-dihydroxyvitamin D3, calcium and phosphorus. Molecular and Cellular Endocrinology, 72: 23–31.
7. Brenes, A., A. Viveros, I. Arija, C. Centeno, M. Pizarro, and C. Bravo. 2003. The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. Animal Feed Science and Technology, 110: 201–219.
8. Carlos, A. L., O. M. Junqueira, R. S. Filardi, K. F. Duarte, V. Assuena, and S. Sgavioli. 2009. Performance, litter composition, tibia, liver and excreta of broilers fed diets containing reduced levels of phosphorus and phytase enzyme. Revista Brasileira de Zootecnia, 38: 1938-1947.
9. Coto, C. A., F. Yan, S. Cerrate, Z. Wang, P. Sacakli, and P. W. Waldroup. 2007. Effects of dietary levels of calcium and nonphytate phosphorus in broiler starter diets on total and water-soluble phosphorus excretion as influenced by phytase and addition of 25-hydroxycholecalciferol. International Journal of Poultry Science, 12: 937-943.
10. Dersjant-Lia, Y., C. Evansa, and A. Kumarb. 2018. Effect of phytase dose and reduction in dietary calcium on performance, nutrient digestibility, bone ash and mineralization in broilers fed corn-soybean meal-based diets with reduced nutrient density. Animal Feed Science and Technology, 242: 95–110.
11. Deyhim, F., and R. G. Teeter. 1993. Dietary vitamin and /or trace mineral premix effects on performance, humoral mediated immunity, and carcass composition of broilers during thermoneutral and high ambient temperature distress. Applied Poultry Research, 2: 347-355.
12. Dhandu, A. S., and R. Angel. 2003. Broiler non-phytin phosphorus requirement in the finisher and withdrawal phases of a commercial four-phase feeding system. Poultry Science, 82: 1257-1265.
13. Driver, J., G. Pesti, R. Bakalli, and H. Edwards Jr. 2005. Effects of calcium and nonphytate phosphorus concentrations on phytase efficacy in broiler chicks. Poultry science, 84: 1406-1417.
14. Gautier, A. E., C. L. Walk, and R. N. Dilger. 2017. Effects of a high level of phytase on broiler performance, bone ash, phosphorus utilization, and phytate dephosphorylation to inositol. Poultry Science, 97: 211-218.
15. Ghobadi, Y., A. Hassanabadi, and A. Shahrami. 2010. Effects of diets containing low calcium and low available phosphorus levels on male broiler chickens performance. Animal Science Researches, 4: 89-102. (in Persian)
16. Khiri, F., and H. R. Rahmani. 2006. The effect of reducing calcium and phosphorus on broiler performance. International Journal of Poultry Science, 5: 22-25.
17. Kim, J. H., G. P. Han, J. E. Shin, and D. Y. Kil. 2017. Effect of dietary calcium concentrations in phytase-containing diets on growth performance, bone mineralization, litter quality and footpad dermatitis score in broiler chickens. Animal Feed Science and Technology, 229: 13-18.
18. L'etourneau-Montminy, M. P., A. Narcy, P. Lescoat, J. F. Bernier, M. Magnin, C. Pomar, Y. Nys, D. Sauvant, and C. Jondreville. 2010. Meta-analysis of phosphorus utilisation by broilers receiving corn soyabean meal diets: influence of dietary calcium and microbial phytase. Animal, 4: 1844–1853.
19. Li, j., J. Yuan, Y. Guo1, Q. Sun, and X. Hu. 2012. The influence of dietary calcium and phosphorus imbalance on intestinal NaPi-IIb and Calbindin mRNA expression and tibia parameters of broilers. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 4: 552-558.
20. Li, W., R. Angel, S. W. Kim, E. Jimenez-Moreno, M. Proszkowiec-Weglarz, and P. W. Plumstead, 2014. Age and adaptation effects to Ca and P deficiencies: Effect on P digestibility. Poultry Science, 84: 2917-2931.
21. National Research Council. 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.
22. Oikeh, I., P. Sakkas, D. P. Blake, and I. Kyriazakis. 2019. Interactions between dietary calcium and phosphorus level, and vitamin D source on bone mineralization, performance, and intestinal morphology of coccidia-infected broilers. Poultry Science, 98: 5679-5690.
23. Onyango, E. M., P. Y. Hester, R. Stroshine, and O. Adeola. 2003. Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. Poultry Science, 82: 1787-1791.
24. Rama Rao, S. V., M. V. L. N. Raju, M. R. Reddy, and P. Pavani. 2006. Interaction between dietary calcium and non-phytate phosphorus levels on growth, bone mineralization and mineral excretion in commercial broilers. Animal Feed

Science and Technology, 131: 135-150.
25. Rousseau, X., A. S. Valable, M. P. Letourneau-Montminy, N. Meme, E. Godet, M. Magnin, Y. Nys, M. J. Duclos, and A. Narcy. 2016. Adaptive response of broilers to dietary phosphorus and calcium restrictions. Poultry Science, 12: 2849-2860.
26. Shaw, A. L., J. P. Blake, and E. T. Moran. 2010. Effects of flesh attachment on bone breaking and of phosphorus concentration on performance of broilers hatched from young and old flocks. Poultry Science, 89: 295–302.
27. Shim, M. Y., A. B. Karnuah, and A. D. Mitchell. 2012. The effects of growth rate on leg morphology and tibia breaking strength, mineral density, mineral content and bone ash in broilers. Poultry Science, 91: 1790-1795.
28. Valable, A. S., A. Narcy, M. J. Duclos, C. Pomar, G. Page, Z. Nasir, M. Magnin, and M. P. Létourneau-Montminy. 2018. Effects of dietary calcium and phosphorus deficiency and subsequent recovery on broiler chicken growth performance and bone characteristics. Animal, 12: 1555-1563.
29. Viveros, A., A. Brenes, I. Arija, and C. Centeno. 2002. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. Poultry Science, 81: 1172-1183.
30. Yan, F., R. Angel, C. M. Aschwell, A. Mitchell, and M. Christan. 2005. Evaluation of the broiler's ability to adapt to an early moderate deficiency of phosphorus and calcium. Poultry Science, 84: 1232-1241.
31. Zantop, D. W. 1997. Biochemistries in avian medicine: principles and applications. Wingers Publishing Inc., Lake Worth, FL.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 551-567

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۵۶۷-۵۵۱

Effect of dietary calcium and phosphorus restriction during grower period on growth performance, carcass traits, blood and bone parameters and broiler chickens adaptation in finisher period

Hadi Noruzi[1], Ahmad Hassanabadi[2*], Abolghasem Golian[2]

Submitted: 22-05-2020
Accepted: 02-01-2021

Noruzi, H., A. Hassanabadi, and A. Golian. 2022. Effect of dietary calcium and phosphorus restriction during grower period on growth performance, carcass traits, blood and bone parameters and broiler chickens adaptation in finisher period. Iranian Journal of Animal Science Research 13(4):551-567.

Introduction: In recent years, increasing feed costs in broiler production encouraged nutritionists to reduce feeding expenditure, along with maintaining optimal performance of broiler chickens and minimizing environmental pollution. Phosphorus and calcium are two important minerals in the poultry diets, which is necessary to accurately feeding these minerals in the poultry nutrition. Environmental contamination, as a result of over-feeding of phosphorus by poultry, is a matter of concern, which has urged researchers to seek solutions such as reducing dietary phosphorus concentrations without adversely affecting the growth performance. Also, due to the interaction effect of phosphorus and calcium in the gastrointestinal tract, the ratio and balance between these two elements is also important. It has been argued that broiler chicks, when fed by diets containing lower levels of phosphorus and calcium, absorb these materials with higher efficacy and thus reduce their excretion from the gastrointestinal tract. Yan et al. (2005) reported that feeding broiler chickens with diets containing reduced levels of phosphorus and calcium during starter phase, and then using diets containing sufficient levels of phosphorus and calcium, caused better utilization and bone mineralization. Birds respond to dietary phosphorus and calcium content, by increasing the expression of mRNA encoding calcium and phosphorus transporters in the small intestine.

More studies are needed to optimize the levels of phosphorus and calcium in the early stages of growth, as well as fine-tuning the appropriate time period for decreasing them with the aim of designing nutritional strategies that increase the utilization of phosphorus and improving the growth performance and mineralization of the bones. Therefore, the aim of this study was to determine the effect of phosphorus and calcium restriction during grower phase and its effect on growth performance, blood and bone parameters and adaptation response in broiler chicks.

Materials and Methods: A total of 648 one-day-old male broiler chicks of the Ross 308 strain were used in this study. The chicks were randomly distributed into floor pens (1.2 m × 1m). During the starter period (1-10 d), all birds were fed with a standard diet containing recommended nutrients of the Ross 308 strain. Then, the experimental diets in the grower period (11-24 d) were included: 1) standard diet as control 2) diets with 15% reduction in available phosphorus (aP) and calcium (Ca) and 3) diets with 30% reduction in aP and Ca. In this period, the control treatment included 6 replicates of 12 chicks, and the other two treatments included 24 replicates with 12 chicks each. On d 25 of age, each treatment group (except control) was divided into 4 treatment groups including 0, 10, 20 and 30% reduction in aP and Ca levels for the finisher period diets; so that a total of 9 dietary treatments with 6 replicates and 12 birds per pen were formed. Average body weight (BW), daily feed intake (DFI), daily weight gain (DWG) and feed conversion ratio (FCR) were measured at the end of grower and finisher periods. On day 24, one bird from each pen, weighing closest to the mean body weight was selected and slaughtered, and the carcass parts, as well as internal organs were weighted and expressed relative to live body weight. Blood samples were taken from wing vein of 5 chicks in each treatment on day 24 and serum Ca, Pi and

1- Ph.D. student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
*Corresponding Author Email: hassanabadi@um.ac.ir
Doi:10.22067/ijasr.2021.38295.0

ALP levels were analyzed. Percentage of ash, Ca, Pi and breaking strength of tibia, were measured at the ages of 24 and 42 days. Data were analyzed as a completely randomized design using the General Linear Model (GLM) procedure in SAS software (SAS, 2009). Statistical significance of differences among treatments was assessed using Duncan's test when the F-test from the ANOVA was declared significant (P< 0.05). The probability level between 0.05 and 0.1 was considered as a marginal trend toward significance. Linear and quadratic contrast was also investigated in response to dietary calcium and phosphorus reduction at the end of each experimental period (grower and finisher).

Results and Discussion: The results of this experiment showed that none of growth performance parameters were affected by the treatments during the grower, finisher and the whole experimental period. The relative liver weight was increased in a linear trend with dietary calcium and phosphorus reduction at 24 d of age. Similarly, serum alkaline phosphatase level was linearly increased with decreasing of calcium and phosphorus reduction at 24 d of age. Tibia ash, calcium and phosphorus percentage were significantly affected by experimental treatments; so that they were decreased in a linear trend when dietary calcium and phosphorus decreased at 24 and 42 d of age. Tibia breaking strength was not significantly affected at 24 d of age; nevertheless, it had a trend to be significant and was decreased in response to decreasing dietary calcium and phosphorus at 42 d of age. The different response between growth performance and bone characteristics can be due to the fact that calcium and phosphorus requirements are higher for maximum bone function than soft tissues growth. In fact, bone contains 99% and 80% of the body's calcium and phosphorus, respectively. Both act as the main component of hydroxyapatite during the hardening of soft tissue in combination with the organic bone matrix to increase the mechanical strength of bone.

Conclusion: The present study showed that reducing the percentage of dietary calcium and phosphorus, despite their significant effect on the blood and bone characteristics of broilers chicken had no significant effect on broilers growth performance. In general, available phosphorus and calcium can be reduced by 15% during the grower period and up to 10% in the finisher period. However, further reduction in the percentage of calcium and phosphorus of diet can lead to adverse effects on the measured traits.

Keywords: Alkaline phosphatase, Breaking strength, Feed intake, Tibia ash, Weight gain.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 569-583

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۵۸۳-۵۶۹

مقاله پژوهشی

اثرات سطوح مختلف ترئونین و تعادل الکترولیتی جیره بر عملکرد رشد، بیوشیمی خون و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط دمای بالای محیطی

حسینعلی قاسمی[1*]، ایمان حاج خدادادی[1]، محمد حسین مرادی[1]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۱۲

قاسمی، ح.، ا. حاج خدادادی، و م. ح. مرادی. ۱۴۰۰. اثرات سطوح مختلف ترئونین و تعادل الکترولیتی جیره بر عملکرد رشد، بیوشیمی خون و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط دمای بالای محیطی. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۳(۴): ۵۸۳-۵۶۹.

چکیده

به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف ترئونین و تعادل الکترولیتی جیره بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های بیوشیمی خون و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی، از تعداد ۶۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر یکروزه (سویه راس ۳۰۸) در شرایط دمایی فصل تابستان استفاده شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به‌صورت فاکتوریل ۲×۳ در ۵ تکرار (۲۰ جوجه در هر تکرار) انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل ۲ سطح ترئونین (سطح ۱۰۰ و ۱۱۰ درصد توصیه راهنمای سویه راس) و ۳ تعادل الکترولیتی جیره (۱۷۵، ۲۵۰ و ۳۲۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره) بودند. نتایج آزمایش نشان داد که اثر متقابل بین تعادل الکترولیتی و سطح ترئونین جیره بر وزن نسبی تیموس و عیار اولیه پادتن علیه واکسن برونشیت عفونی مشاهده شد. تعادل الکترولیتی پایین (۱۷۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره) در مقایسه با تعادل الکترولیتی بالا، موجب بهبود معنی‌دار میانگین افزایش وزن روزانه و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاهش ضریب تبدیل غذایی و تلفات گردید. همچنین کاهش معنی‌دار غلظت تری‌گلیسرید خون و افزایش غلظت اسید اوریک، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و غلظت هورمون تیروکسین در گروه‌های با سطح ترئونین بالا در مقایسه با تیمار حاوی سطح نرمال ترئونین مشاهده شد. با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد که کاهش تعادل الکترولیتی پایین جیره به میزان ۱۷۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره اثرات مفید بر بهبود عملکرد رشد و وضعیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین افزایش ترئونین جیره از ۱۰۰ به ۱۱۰ درصد سطح توصیه شده تجاری اثرات مثبتی بر وضعیت ایمنی و آنتی اکسیدانی در جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش حرارتی دارد. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که در شرایط مشابه، افزایش سطح ترئونین به میزان ۱۱۰ درصد سطح توصیه شده تجاری در جیره با تعادل الکترولیتی بالا سبب بهبود سیستم ایمنی می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: ترئونین، تعادل الکترولیتی جیره، جوجه‌های گوشتی، عملکرد رشد، دمای تابستان.

مقدمه

جوجه‌های گوشتی در درجه حرارت‌های بالاتر از منطقه آسایش حرارتی (۱۸ تا ۲۴ درجه سانتیگراد) دچار تنش گرمایی می‌شوند. گزارش‌های مختلفی وجود دارد که نشان می‌دهد تنش گرمایی باعث ایجاد یکسری تغییرات فیزیولوژیکی در طیور می‌شود که مهمترین آن شامل کاهش مصرف خوراک به منظور کم کردن تولید حرارت متابولیکی، کاهش فعالیت غده تیروئید، کاهش راندمان خوراک و افزایش درصد تلفات می‌باشد (۸، ۱۴، ۱۶). تغییر در pH و مقدار الکترولیت‌های خون از مهمترین این تغییرات می‌باشد (۱۰). در پرندگان با افزایش دمای محیط به منظور افزایش دفع حرارت از طریق تبخیر، سرعت تنفس افزایش می‌یابد و با له له زدن CO_2 بیشتری دفع می‌گردد و در نتیجه تعادل اسید و باز در بدن تغییر خواهد یافت (۸). این عوامل باعث می‌شود pH خون به ۷/۷ برسد و پرنده دچار آلکالوز قلیایی شود (۱۰). اگرچه راه‌های مختلفی همچون تغییر روش‌های خوراک‌دهی و استفاده از مواد افزودنی در جیره و آب آشامیدنی جهت کاهش اثر تنش

۱-داز شیار گروه علوم دامی، داز شکده ک شاورزی و محیط زیـ ست، داز شگاه اراک، اراک، ایران.

(*- نویسنده مسئول: (Email: h-ghasemi@araku.ac.ir or
Doi:10.22067/ijasr.v13i4.87115

گرمایی وجود دارد، با این حال اکثر این روش‌ها با کاهش عملکرد همراه هستند. تغییر در الکترولیتهای جیره در هنگام تنش حرارتی به عنوان یکی از راههای مؤثر جهت جلوگیری از اثرات مضر تنش حرارتی در طیور پیشنهاد شده است (۳۵).

در طیور معمولا تعادل الکترولیتی توسط فرمول ساده $Na^{+} + K^{+} - Cl^{-}$ و به‌صورت میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره بیان می‌شود. در اغلب موارد مقدار۲۵۰ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم برای اعمال فیزیولوژیکی طبیعی مطلوب است (۱۶، ۲۶). تعادل الکترولیت نقش مهمی در سنتز پروتئین بافت، حفظ هموستاز داخل و خارج سلولی، حفظ پتانسیل الکتریکی غشای سلولی، ایجاد فشار اسمزی (۱۱)، و به حداقل رساندن تأثیرات مضر تنش گرمایی بر عهده دارد (۳). از طرف دیگر، تغییرات در تعادل الکترولیتی جیره ممکن است تاثیر مستقیم بر مسیر متابولیکی و سرنوشت بسیاری از اسیدهای آمینه مانند سرین، گلایسین و اسیدهای آمینه با زنجیره جانبی داشته باشد (۲ و ۱۲). به طور مشابه گزارش شد که متابولیسم کلیوی و کبدی لایزین و لوسین می‌تواند تحت تاثیر تعادل اسید و باز جیره غذایی قرار گیرد (۳۱). در مقابل، هموستازی اسید و باز در کلیه و همچنین در کبد، ماهیچه و بافت احشایی تا حدودی به‌وسیله تغییر متابولیسم اسیدهای آمینه ایجاد می‌شود (۱ و ۱۶). این مطالعات نشان می‌دهد که متابولیسم اسید آمینه هم روی تعادل اسید و باز بدن تاثیر گذار است و هم تحت تأثیر آن قرار می‌گیرد.

ترئونین سومین اسیدآمینه محدودکننده در جیره طیور (بر پایه ذرت و کنجاله سویا) است که اعمال مهمی در بدن از جمله رشد پرها، پاسخ سیستم ایمنی و رشد دستگاه گوارشی را بر عهده دارد. عواملی نظیر درصد پروتئین خام جیره، نژاد، سن، جنس پرنده و مواد اصلی تشکیل دهنده جیره می‌توانند بر احتیاجات ترئونین تأثیر بگذارند دارد (۳۲). ترئونین در عملکردهای مختلفی از جمله سنتز اسید اوریک (به عنوان پیش ساز گلایسین و سرین)، سنتز آنزیم‌های پانکراس، سوخت و ساز پروتئین بدن، ساخت کلاژن و الاستین و همچنین تولید آنتی بادی دخالت دارد (۱۳). همچنین گزارش شده است که ترئونین یک نقش محوری برای مصرف بهینه اسیدهای آمینه حاوی گوگرد و لایزین در بدن دارد (۲۴). برخی از محققان نشان داده‌اند که ترئونین در جیره غذایی بیش از حد نیاز موجب افزایش عملکرد جوجه‌های گوشتی، بهبود پاسخ ایمنی از طریق افزایش وزن نسبی اندام‌های ایمنی و افزایش ترشح ایمونوگلوبولین A (IgA) و ایمونوگلوبولین G (IgG) می‌گردد (۱۳، ۳۲ و ۳۴). متابولیسم پروتئین (نیتروژن) و انرژی (کربن) و وضعیت اسید- باز در بدن فرآیندهایی هستند که با هم در ارتباط بوده و می‌توانند عملکرد جوجه‌های گوشتی را تحت تأثیر قرار دهند (۱۶). بنابراین، لازم است که بین تعادل الکترولیتی جیره، سطح پروتئین و اسیدهای آمینه تحت تنش گرمایی تعادل وجود داشته باشد تا از رشد و سلامت مطلوب در جوجه‌های گوشتی اطمینان حاصل شود (۳۱). با توجه به نقش تعادل الکترولیتی مناسب در جیره غذایی در کاهش تنش گرمایی در جوجه‌های گوشتی و نیازهای مختلف اسیدهای آمینه و سطح پروتئین خام در این شرایط، مطالعات گذشته به بررسی اثرات متقابل تعادل الکترولیتی جیره با سطوح لایزین و آرژنین (۱۲) و اسیدهای آمینه گوگرددار (۲۸) پرداختند. با این وجود، ارتباط میان تعادل الکترولیتی جیره و میزان غلظت ترئونین جیره غذایی در جوجه‌های گوشتی به خصوص در شرایط تنش گرمایی به خوبی روشن نشده است. بنابراین هدف آزمایش حاضر بررسی اثرات استفاده از سطوح مختلف تعادل الکترولیتی جیره و اسید آمینه ترئونین بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خونی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی، غلظت هورمون‌های تیروئیدی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط دمای بالای محیطی بود.

مواد و روشها

در این تحقیق از ۶۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس و از طرح کاملا تصادفی در قالب فاکتوریل۲ × ۳ استفاده شد. جوجه ها تا سن ۱۰ روزگی با جیره یکسان تغذیه شدند. از سن ۱۱ روزگی، جوجه ها به ۶ گروه آزمایشی (هر تیمار حاوی ۵ تکرار و ۲۰ جوجه در هر تکرار) تقسیم شدند. ۶ تیمار آزمایشی شامل ۲ سطح ترئونین (سطح ۱۰۰ و ۱۱۰ درصد توصیه راهنمای سویه راس) و ۳ تعادل الکترولیتی جیره (۳۲۵، ۲۵۰ و ۱۷۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره) بود. در همه تیمارهای آزمایشی میزان انرژی متابولیسمی و سطح پروتئین و اسید آمینه لایزین و اسیدهای آمینه گوگردار (متیونین + سیستئین) مطابق با سطح توصیه شده کاتالوگ پرورشی راس (Ross 308 Broiler Nutrition Specs 2014 EN-Aviagen) تنظیم شد. از مکمل‌های کاتیونی و آنیونی کلرید سدیم، بیکربنات سدیم، بیکربنات پتاسیم و کلرید آمونیوم برای تنظیم تعادل الکترولیتی جیره استفاده شد (۹، ۱۰). با استفاده از کلرید سدیم و بیکربنات سدیم غلظت سدیم در تمام تیمارهای آزمایشی یکسان در نظر گرفته شد و تغییر تعادل الکترولیتی جیره فقط بر اساس تغییر در غلظت پتاسیم و کلر جیره (تغییر بین غلظت بیکربنات پتاسیم و کلرید آمونیوم) حاصل گردید. اجزای مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و دوره پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) در جدول ۱ نشان داده شده است. غلظت‌های سدیم، پتاسیم و کلر (با روش تیتراسیون) در جیره‌های غذایی توسط روش AOAC (۶) اندازه‌گیری گردید.

شرایط محیطی داخل سالن با شرایط طبیعی تابستانی در خارج از سالن تقریبا یکسان بود. دمای محیط و رطوبت نسبی سه بار در روز در ساعت ۷:۳۰، ۱۳:۳۰ و ۲۰:۳۰ ساعت در طول آزمایش اندازه گیری شد. حداقل و حداکثر درجه حرارت سالن در طی دوره آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است. در طول دوره پرورش رطوبت نسبی در حدود ۵۰ تا ۶۰ درصد نگه داشته شد. برنامه نوردهی سالن بدین صورت بود که

۷۲ ساعت اول، روشنایی کامل، سپس ۱ ساعت تاریکی از سن ۴ تا ۴۲ روزگی تا آخر دوره پرورش اعمال گردید. از ۱۱ روزگی تا پایان دوره به منظور تأمین آب از آبخوری اتوماتیک پلاسون و به منظور تأمین خوراک از یک دانخوری ناودانی در طرف راست پن‌ها استفاده شد. آب و خوراک به صورت آزاد در دسترس پرنده بود. برای واکسیناسیون در روزهای سوم، دهم، یازدهم و بیستم آزمایش به ترتیب واکسنهای دوگانه نیوکاسل Clone + برونشیت H120 (آشامیدنی)، برونشیت ۹۱/۴ Intervet (آشامیدنی)، دوگانه نیوکاسل + آنفولانزا حاوی سروتیپ غیر فعال شده آنفلوانزای طیور (H9N2) و سروتیپ غیر فعال شده نیوکاسل (تزریقی) و واکسن نیوکاسل سویه لاسوتا ISOVAC (آشامیدنی) اعمال شد.

در روزهای ۱۰، ۲۴ و ۴۲ وزن جوجه‌های هر واحد آزمایشی اندازه-گیری شد. برای محاسبه افزایش وزن هر واحد در هر دوره زمانی، اختلاف وزن انتها و ابتدای دوره پرورش تعیین و میانگین افزایش وزن روزانه و میانگین مصرف خوراک روزانه در دوره‌های زمانی مختلف محاسبه گردید. ضریب تبدیل غذایی از تقسیم میانگین خوراک مصرفی بر میانگین افزایش وزن جوجه‌ها برای هر دوره محاسبه شد. در طول آزمایش، روزانه و قبل از تخصیص خوراک به هر واحد آزمایشی، تعداد تلفات در کارتکس‌های هر واحد آزمایشی ثبت و وزن تلفات آن روز یادداشت گردید. از میزان تلفات روزانه در تعیین روز مرغ هر واحد آزمایشی استفاده گردید. با توجه به داده‌های بدست آمده شاخص عملکرد اروپایی نیز محاسبه شد (۵).

در ۴۲ روزگی ۲ پرنده به ازای هر تکرار (۱۰ پرنده به ازای هر تیمار) به طور تصادفی انتخاب و سپس با قطع ورید وداج کشتار گردیدند. پس از باز کردن شکم، اندام‌های لنفوئیدی (طحال، بورس فابریسیوس و تیموس) جدا و وزن آنها اندازه‌گیری شد. از تقسیم وزن اندام حاصله به وزن بدن و ضرب آن در عدد ۱۰۰، وزن نسبی هر اندام محاسبه گردید. با توجه به اهداف آزمایش حاضر در روز ۴۲ آزمایش جهت خون‌گیری برای آزمایش‌های خون‌شناسی از هر تکرار دو قطعه جوجه به صورت تصادفی انتخاب و خون‌گیری از طریق سیاهرگ زیر بال انجام گرفت. خون به داخل لوله‌های عاری از ماده ضد انعقاد به منظور جداسازی سرم خون جهت اندازه‌گیری متابولیت‌های بیوشیمیایی سرم منتقل شد. تفکیک سرم خون از طریق سانتریفیوژ کردن نمونه‌های خونی با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه انجام گردید. نمونه‌های سرم بلافاصله بعد از جداسازی و انتقال به میکروتیوب در فریزر تحت دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان ارزیابی پارامترهای مربوطه نگهداری شدند.

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره‌های آزمایشی

Table 1- Feed ingredient and nutrient composition of experimental diet

تعادل الکترولیتی جیره DEB (mEq/kg)	۱۱ تا ۲۴ روزگی 11 to 24 days						۲۵ تا ۴۲ روزگی 25 to 42 days					
	175		250		325		175		250		325	
سطح ترئونین Threonine level (%)	100	110	100	110	100	110	100	110	100	110	100	110
اجزای تشکیل دهنده (درصد) Diet ingredient (%)												
ذرت Corn	57.60	57.60	57.60	57.60	57.60	57.60	62.92	62.92	62.92	62.92	62.92	62.92
کنجاله سویا Soybean meal	28.56	28.56	28.56	28.56	28.56	28.56	22.95	22.95	22.95	22.95	22.95	22.95
کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal	5.16	5.16	5.16	5.16	5.16	5.16	5.21	5.21	5.21	5.21	5.21	5.21
روغن سویا Soybean oil	3.20	3.20	3.20	3.20	3.20	3.20	3.80	3.80	3.80	3.80	3.80	3.80
مونوکلسیم فسفات Monocalcium phosphate	1.32	1.32	1.32	1.32	1.32	1.32	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18
کربنات کلسیم Calcium carbonate	1.45	1.45	1.45	1.45	1.45	1.45	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34

Continuation of Table 1 **ادامه جدول ۱**

نمک Saline	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
بیکربنات پتاسیم Potassium bicarbonate	0.00	0.00	0.10	0.10	0.88	0.88	0.00	0.00	0.19	0.19	0.95	0.95
کلرید آمونیوم Ammonium Chloride	0.38	0.38	0.00	0.00	0.00	0.00	0.28	0.28	0.00	0.00	0.00	0.00
دی-ال متیونین DL-Methionine	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
ال-لایزین هیدروکلراید L-Lysin.HCl	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37
ال-ترئونین L-Threonine	0.16	0.25	0.16	0.25	0.16	0.25	0.14	0.23	0.14	0.23	0.14	0.23
مکمل معدنی[1] Mineral premix[1]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل ویتامینی[2] Vitamin premix[2]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
شن ساختمانی Building sand	0.77	0.68	1.05	0.96	0.27	0.18	0.79	0.70	0.88	0.79	0.12	0.03
انرژی قابل متابولیسم Metabolizable energy (kcal/kg)	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3200	3200	3200	3200	3200	3200
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	21.50	21.58	21.50	21.58	21.50	21.58	19.50	19.57	19.50	19.57	19.50	19.57
کلسیم (درصد) Ca (%)	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79
فسفر قابل دسترس (درصد) Available P (%)	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
سدیم (درصد) Sodium (%)	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
پتاسیم (درصد) Potassium (%)	0.80	0.80	0.82	0.82	1.12	1.12	0.74	0.74	0.83	0.83	1.11	1.11
کلر (درصد) Chloride (%)	0.53	0.53	0.28	0.28	0.28	0.28	0.46	0.46	0.27	0.27	0.25	0.25
تعادل الکترولیتی جیره[3] DEB[3]	175	175	250	250	325	325	175	175	250	250	325	325
لایزین قابل هضم (درصد) Digestible Lys (%)	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03

Continuation of Table 1 **ادامه جدول ۱**

متیونین+سیستئین قابل هضم Digestible Met+Cys (%)	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
ترئونین قابل هضم (درصد) Digestible Thr (%)	0.77	0.85	0.77	0.85	0.77	0.85	0.69	0.76	0.69	0.76	0.69	0.76
مقادیر آنالیز شده[۴] Analyzed values[4]												
سدیم (درصد) Sodium (%)	0.155 ± 0.008	0.156 ± 0.007	0.160 ± 0.011	0.165 ± 0.014	0.167 ± 0.008	0.165 ± 0.013	0.157 ± 0.005	0.158 ± 0.012	0.160 ± 0.011	0.162 ± 0.015	0.165 ± 0.009	0.168 ± 0.014
پتاسیم (درصد) Potassium (%)	0.821 ± 0.017	0.819 ± 0.011	0.843 ± 0.022	0.850 ± 0.019	1.100 ± 0.025	1.080 ± 0.028	0.755 ± 0.016	0.761 ± 0.026	0.860 ± 0.033	0.863 ± 0.022	1.085 ± 0.026	1.075 ± 0.031
کلر (درصد) Chloride (%)	0.501 ± 0.019	0.514 ± 0.024	0.272 ± 0.012	0.268 ± 0.016	0.265 ± 0.020	0.260 ± 0.017	0.445 ± 0.025	0.442 ± 0.021	0.261 ± 0.017	0.255 ± 0.014	0.240 ± 0.021	0.236 ± 0.019

[۱] هر کیلوگرم جیره شامل؛ منگنز، ۱۲۰ میلی گرم؛ روی، ۱۰۰ میلی گرم؛ آهن، ۴۰ میلی گرم؛ مس، ۱۶ میلی گرم، ید، ۱ میلی گرم و سلنیوم، ۰/۸ میلی‌گرم می باشد.

[۲] هر کیلوگرم جیره شامل؛ ویتامین A، ۶۰۰۰ واحد بین المللی؛ D_3، ۸۰۰ واحد بین المللی؛ ویتامین E، ۸۳ میلی گرم؛ K_3، ۲/۲ میلی گرم؛ B_1، ۱/۸۰ میلی گرم؛ B_2، ۶/۶ میلی گرم؛ B_3، ۳۰ میلی گرم؛ کلسیم د- پنتوتنات، ۱۰ میلی گرم؛ B_6، ۳ میلی گرم؛ B_9، ۱ میلی گرم؛ B_{12}، ۶ میلی‌گرم و کولین کلراید، ۱۶۰ میلی گرم.

[۳] تعادل الکترولیتی جیره بر حسب میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره (DEB): $DEB= (Na^+, mEq/kg + K^+, mEq/kg) - CL^-, mEq/kg$

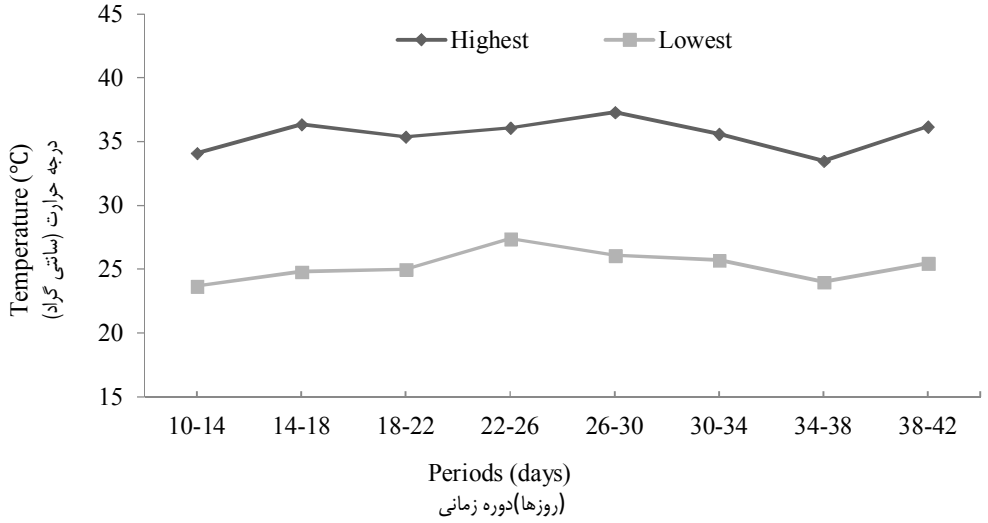
[۴] میانگین و امحراف معیار مربوط به ۳ نمونه از هر جیره می‌باشد.

[1]Supplied per kilogram of diet: manganese, 120 mg; zinc, 100 mg; iron, 40 mg; copper, 16 mg; iodine, 1 mg; selenium, 0.8 mg.

[2]Supplied per kilogram of diet:: vitamin A, 6,000 IU; vitamin D_3, 800 IU; vitamin E, 83 mg; vitamin K_3, 2.2 mg; vitamin B_1, 1.80 mg; vitamin B_2, 6.6 mg; vitamin B_3, 30 mg; D-calcium pantothenic acid, 10 mg; vitamin B_6, 3 mg; vitamin B9, 1 mg, vitamin B12, 6 mg and choline chloride.

[3]DEB = (Na+ , mEq/kg + K+ , mEq/kg) − CL− , mEq/kg

[4] Mean and standard deviation of 3 samples/diet



شکل ۱- درجه حرارت محیطی سالن آزمایشی

Figure 1- Environmental temperature (°C) of the experimental house

غلظت‌های گلوکز، پروتئین، آلبومین، اسید اوریک، تری گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL) و لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL) در سرم با استفاده از کیت‌های آنزیمی شرکت پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Ce1010 انگلستان اندازه‌گیری شد. قابل ذکر است که اندازه‌گیری گلوکز بلافاصله بعد از جداسازی سرم انجام گرفت تا میزان آن دستخوش تغییرات نگردد. اندازه گیری گلوتاتیون پراکسیداز به روش آنزیمی انجام شد (۳۶). در این روش سرعت اکسیداسیون گلوتاتیون توسط H_2O_2 که بوسیلهٔ گلوتاتیون پراکسیداز موجود در همولیزیت کاتالیز می‌گردد، سنجیده شد. فعالیت سوپراکسید دسموتاز با کمک کیت تخصصی راندوکس و دستگاه اسپکتروفتومتری (Jenway 6105 UV/ VIS) اندازه گیری شد (۳۶). برای اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز از گزانتین و گزانتین اکسیداز برای تولید رادیکال‌های سوپراکسید استفاده شد. برای تعیین مقادیر هورمون‌های تیروئیدی از دستگاه گاما کانتر مدل Curtis 340 scientilogic IC- ساخت کشور آمریکا و کیت RADIM ساخت کشور ایتالیا استفاده شد.

برای بررسی پاسخ ایمنی همورال جوجه‌ها، تیتر آنتی‌بادی علیه بیماری نیوکاسل از روش هماگلوتیناسیون (HI)[1] تعیین شد. جهت تشخیص عیار پادتن علیه واکسن برونشیت عفونی از الایزا مدل EL808 (Bio-Tek instruments, inc) استفاده شد. برای این منظور، در روزهای ۲۷ و ۳۵ روزگی (۷ و ۱۴ روز بعد از آخرین واکسیناسیون) از هر تکرار دو جوجه به صورت تصادفی انتخاب شد و از سیاهرگ زیر بال خونگیری انجام شد. نمونه‌های سرم بلافاصله بعد از جداسازی و انتقال به میکروتیوب در فریزر تحت دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان ارزیابی فراسنجه‌های مربوطه نگهداری شدند.

به منظور بررسی پاسخ ایمنی سلولی، تست حساسیت بازوفیلی پوستی[2] (CBH) در سن ۳۵ روزگی انجام شد. جهت این کار، از هر تکرار دو پرنده به صورت تصادفی انتخاب و میزان ۰/۱ میلی لیتر از محلول فیتوهماگلوتینین (PHA - P، بهارافشان، تهران، ایران) در بافر نمکی فسفاته (PBS) با غلظت ۱ میکروگرم در میکرولیتر به پای راست هر پرنده، بین انگشت سوم و چهارم تزریق شد. جهت تصحیح برای پاسخ به PBS تنها، به طور همزمان در هر پرنده میزان ۰/۱ میلی لیتر محلول PBS به پوست بین انگشت سوم و چهارم پای چپ تزریق شد. در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تزریق، میزان تورم حاصل اندازه گیری شد. پاسخ CBH از تفاضل میزان ضخامت پوست پای راست از ضخامت پوست پای چپ بعد از تزریق، محاسبه شد.

داده‌های مربوط به فراسنجه‌های عملکرد (افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل)، ترکیبات خون و ایمنی پس از ثبت و سازماندهی در برنامه اکسل وارد شدند. تجزیه داده‌ها بوسیله نرم افزار آماری SAS (SAS Institute, version 9.0; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) با استفاده از رویه GLM انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSMEANS در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت. در این تحقیق از طرح کاملا تصادفی در قالب آزمایش فاکتوریل استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج مرتبط با عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی تحت تنش حرارتی در جدول ۲ گزارش شده است. نتایج نشان داد که اثرات متقابل معنی-داری بین تعادل الکترولیتی و سطح ترئونین جیره بر پارامترهای عملکرد رشد در دوره‌های مختلف پرورش مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در مقابل سطح پایین تعادل الکترولیتی جیره (۱۷۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره) در مقایسه با سطح بالای تعادل الکترولیتی جیره (۳۲۵ میلی-اکی‌والان در کیلوگرم جیره) موجب افزایش میانگین افزایش وزن روزانه در طی دوره‌های ۱۱ تا ۲۴ روزگی و ۱۱ تا ۴۲ روزگی و کاهش ضریب تبدیل غذایی و نرخ تلفات در طی دوره ۱۱ تا ۴۲ روزگی گردید (P<۰/۰۵). بالاترین میزان شاخص عملکرد اروپایی در تیمار سطح پایین تعادل الکترولیتی جیره مشاهده شد که با سایر سطوح تعادل الکترولیتی جیره تفاوت معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). همچنین تمایل به افزایش وزن بدن در ۴۲ روزگی (P=۰/۰۵۸) و میانگین افزایش وزن روزانه در طی دوره‌های ۱۱ تا ۲۴ روزگی (P=۰/۰۸۸) و ۱۱ تا ۴۲ روزگی (P=۰/۰۷۹) در گروه حاوی سطح ۱۱۰ درصد ترئونین نسبت به سطح ۱۰۰ درصد ترئونین مشاهده شد.

نتایج عملکرد رشد نشان داد که اگرچه تفاوت معنی‌داری بین سطح تعادل الکترولیتی ۱۷۵ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم جیره و سطح ۲۵۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم جیره مشاهده نشد، اما کاهش تعادل الکترولیتی جیره نسبت به افزایش سطح تعادل الکترولیتی اثرات مثبتی بر عملکرد رشد و کاهش تلفات داشت که این می‌تواند از اثرات مثبت اسیدی کردن جیره در شرایط تنش حرارتی باشد. در شرایط تنش حرارتی، جوجه‌ها دچار آلکالوز تنفسی می‌شوند و بنابراین افزایش مصرف بیکربنات سدیم و یا بیکربنات پتاسیم که منجر به افزایش تعادل الکترولیتی جیره می‌گردد، سبب تشدید آلکالوز تنفسی می‌گردد (۲۸). بنابراین در این آزمایش کمترین عملکرد فارغ از میزان ترئونین جیره مربوط به گروه حاوی تعادل الکترولیتی ۳۲۵ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم جیره بود که با افزودن بیکربنات پتاسیم از سطح ۰/۸۸ درصد در جیره رشد و سطح ۰/۹۵ درصد در جیره پایانی حاصل شد. در مقابل، بررسی-های بدست آمده نشان داد که کاهش سطح تعادل الکترولیتی جیره بواسطه افزایش غلظت کلرید جیره با اثر بر حذف بیکربنات خون قادر است pH خون را کاهش داده و حتی اسیدوز متابولیکی ایجاد کند (۱۰). در آزمایش حاضر نیز به‌نظر می‌رسد کاهش سطح تعادل الکترولیتی

1- Hemagglutination inhibition

2- Cutaneous basophil hipersensitivity

به میزان ۱۷۵ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم جیره که با مصرف کلرید آمونیوم حاصل شد به نظر می‌رسد از طریق کاهش اثرات منفی آلکالوز تنفسی سبب بهبود رشد و راندمان غذایی گردد. مشابه نتایج این آزمایش بهبود عملکرد در جوجه‌های گوشتی با کاهش سطح تعادل الکترولیتی جیره حاصل گردید (۳، ۴).

جدول ۲- اثرات تعادل الکترولیتی و سطوح ترئونین جیره بر عملکرد رشد جوجه های گوشتی[۱]

Table 2- Effects of dietary electrolyte balance and threonine (Thr) levels on growth performance of broilers[1]

پارامترها Parameters	تعادل الکترولیتی جیره DEB (mEq/kg)				سطح ترئونین (درصد توصیه شده) Dietary Thr (%)			*P*-value		
	175	250	325	SEM	100	110	SEM	DEB	Thr	DEB×Thr
وزن بدن (گرم) Body weight (g)										
۲۴ روزگی 24 d	974.5	955.8	934.7	14.2	944.9	965.1	11.59	0.162	0.228	0.977
۴۲ روزگی 42 d	2424	2377	2341	23.3	2360	2401	19.0	0.139	0.058	0.828
متوسط وزن بدن (گرم/پرنده/روز) ADG (g/bird/d)										
۱۱ تا ۲۴ روزگی Days 11 to 24	50.77 a	49.27 ab	47.63 b	0.83	48.37	50.07	0.68	0.043	0.088	0.989
۲۵ تا ۴۲ روزگی Days 25 to 42	80.54	78.98	78.13	0.89	78.63	79.79	0.72	0.171	0.268	0.772
۱۱ تا ۴۲ روزگی Days 11 to 42	67.52a	65.98ab	64.78b	0.66	65.39	66.79	0.54	0.025	0.079	0.826
میانگین مصرف خوراک روزانه (گرم/پرنده/روز) ADFI (g/bird/d)										
۱۱ تا ۲۴ روزگی Days 11 to 24	77.85	77.40	76.92	1.27	76.94	77.83	1.03	0.874	0.547	0.504
۲۵ تا ۴۲ روزگی Days 25 to 42	156.4	155.7	157.1	1.78	156.4	156.3	1.45	0.855	0.991	0.800
۱۱ تا ۴۲ روزگی Days 11 to 42	122.0	121.4	122.0	0.85	121.6	122.0	0.70	0.857	0.686	0.539
ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم) FCR (g/g)										
۱۱ تا ۲۴ روزگی Days 11 to 24	1.54	1.57	1.62	0.036	1.59	1.56	0.029	0.282	0.424	0.753
۲۵ تا ۴۲ روزگی Days 25 to 42	1.94	1.97	2.01	0.019	1.99	1.96	0.016	0.062	0.200	0.412
۱۱ تا ۴۲ روزگی Days 11 to 42	1.81 b	1.84 ab	1.89 a	0.018	1.86	1.83	0.015	0.025	0.153	0.678
شاخص عملکرد Performance index	318.8a	298.7b	280.2c	6.46	295.8	302.6	5.27	0.001	0.372	0.831
تلفات نرخ Mortality rate (%)	3.18 b	5.91 ab	8.64 a	1.05	5.46	6.37	0.86	0.005	0.461	0.998

[۱] میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی دار می‌باشند (P<۰/۰۵)

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

در مطالعه حاضر افزایش میزان ترئونین جیره از ۱۰۰ درصد به ۱۱۰ درصد توصیه سویه راس سبب بهبود جزئی افزایش وزن جوجه‌های گوشتی در کل دوره آزمایش در شرایط تنش حرارتی گردید که می‌تواند مبین این نکته باشد که احتیاجات اسید آمینه گزارش شده توسط شرکت‌های تولید کننده جوجه‌های گوشتی یکروزه برای دامنه آسایش حرارتی می‌باشد. به طور مشابه نتایج سایر محققین نشان داد که عملکرد رشد همراه با افزایش ترئونین بهبود یافت (۲۵). از آنجائیکه ترئونین به میزان زیادی به طور مستقیم در موکوس دستگاه گوارش و آنزیم‌های

گوارشی وجود دارد و این آنزیم‌های گوارشی برای جذب موثر مواد مغذی لازم هستند، افزودن ترئونین به جیره غذایی ممکن است اثرات مثبتی بر جذب مواد مغذی و در نتیجه عملکرد بعدی پرنده داشته باشند (۳۲). موسین‌ها از اجزای اصلی لایه مخاطی هستند و واضح است که اکثر ترئونین مصرف شده توسط روده برای ساخت موکوس و پروتئین ترشحی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۳). به نظر می‌رسد با توجه به تاثیرات منفی تنش حرارتی بر ساختار مورفولوژیک دستگاه گوارش (۵)، افزودن ترئونین در جیره غذایی افزون بر سطح توصیه شده می‌تواند با بهبود سلامت دستگاه گوارش، موجب بهبود عملکرد رشد گردد.

اثرات تیمارهای مختلف آزمایشی بر متابولیت‌های خون، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و غلظت هورمون‌های تیروئیدی در جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ نشان داده شده است. اثرات تعادل الکترولیتی جیره و سطح ترئونین جیره بر مقادیر گلوکز، کلسترول، HDL، LDL، پروتئین، آلبومین، گلوبولین، گلوتاتیون پراکسیداز و هورمون T_3 معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). در مقابل، افزایش سطح ترئونین جیره غلظت تری-گلیسرید خون را کاهش داد ولی موجب افزایش غلظت اسید اوریک و هورمون T_4 و فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در سرم خون گردید (P<۰/۰۵). همچنین افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با افزایش سطح تعادل الکترولیتی جیره مشاهده شد (P<۰/۰۵). هیچ اثر متقابلی از سطح ترئونین و سطح تعادل الکترولیتی جیره بر این فراسنجه‌های ذکر شده مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

در آزمایش حاضر افزایش سطح ترئونین جیره از سطح ۱۰۰ به ۱۱۰ درصد سطح توصیه شده کاتالوگ سویه راس سبب کاهش غلظت تری-گلیسرید نسبت به تیمار شاهد گردید. در یک مطالعه در اردک‌های نژاد گوشتی، افزایش سطح ترئونین جیره غذایی به طور خطی سبب کاهش سطح تری‌گلیسرید سرم خون گردید، اما بر میزان کلسترول و HDL خون اثر معنی‌داری نداشت (۱۹)، که در تطابق با نتایج این آزمایش بود. اگرچه مکانیسم احتمالی کاهش سطح تری‌گلیسرید خون با افزایش سطح ترئونین جیره ناشناخته است، این اثر ممکن است مرتبط با نقش ترئونین بر بیان ژن فاکتورهای دخیل در سوخت و ساز لیپید باشد. در یک مطالعه افزایش تدریجی سطح ترئونین از ۰/۵۲ تا ۰/۸۰ درصد در جیره غذایی سبب کاهش میزان بیان ژن آنزیم لیپوپروتئین لیپاز، پروتئین باندشونده با اسید چرب (FABP) و آپولیپوپروتئین A4 در کبد گردید (۱۸). بنابراین انتظار می‌رود با کاهش میزان بیان ژن این فاکتورهای دخیل در جذب تری‌گلیسرید توسط کبد، غلظت تری-گلیسرید سرم خون نیز کاهش یابد. در این تحقیق سطح بالاتر استفاده از ترئونین در جوجه‌های گوشتی تحت تنش حرارتی سبب افزایش غلظت اسید اوریک خون نیز گردید که می‌تواند مرتبط با این موضوع باشد که میزان اسید اوریک خون در طیور ارتباط مستقیمی با سطح پروتئین جیره دارد.

در گونه های متعددی از جمله جوجه های گوشتی، غلظت پلاسمای T_3 در پاسخ به محدودیت مصرف خوراک یا محدودیت مواد مغذی کاهش می‌یابد (۲۱). نتایج نشان می‌دهد که افزایش سطح ترئونین جیره از ۱۰۰ به ۱۱۰ درصد سطح توصیه شده راس در گروه‌های آزمایشی روی عمل هورمون تیروئید از طریق افزایش غلظت سرمی T_3 اثر می‌گذارد. افزایش در غلظت T_3 خون ممکن است ناشی از افزایش در نرخ تبدیل T_4 به T_3 باشد. در یک مطالعه بین میزان غلظت هورمون T_3 خون با وزن بدن همبستگی بالایی مشاهد شد و گزارش شد که کاهش در میزان هورمون T_3 سبب کاهش وزن بدن می‌شود (۲۷) که با نتایج مطالعه حاضر در گروه حاوی سطح کمتر ترئونین سازگار بود.

در این آزمایش در شرایط تنش گرمایی، افزودن ترئونین در سطح ۱۱۰ درصد توصیه راس به جیره‌های غذایی سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز گردید. در یک تحقیق روی جوجه‌های گوشتی افزایش سطوح ترئونین از ۸۵ به ۱۲۵ درصد توصیه NRC (۲۹)، باعث افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز سرم گردید (۲۴). همچنین در آزمایش حاضر کاهش تعادل الکترولیتی جیره موجب افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز گردید. بهبود وضعیت آنتی-اکسیدانی در گروه‌های با تعادل الکترولیتی ۱۷۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره می‌تواند دلیل بهبود عملکرد رشد در این گروه‌ها باشد.

مقایسه میانگین وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی، عیار اولیه (۲۷ روزگی) و ثانویه (۳۵ روزگی) پادتن علیه واکسن بیماری نیوکاسل (روش HI) و واکسن برونشیت عفونی (روش الایزا) و همچنین میانگین شاخص تورم پوست پرده پا در پاسخ به تزریق PHA در جدول ۴ گزارش شده است. آنالیز فاکتوریل نشان داد که اثر متقابل بین سطح ترئونین و سطح تعادل الکترولیتی جیره بر وزن نسبی تیموس و عیار اولیه پادتن علیه واکسن بیماری برونشیت عفونی وجود داشت. همچنین بررسی اثرات اصلی دو فاکتور نشان داد که افزایش سطح ترئونین جیره سبب افزایش وزن نسبی تیموس و طحال، عیار ثانویه پادتن علیه واکسن بیماری نیوکاسل و میانگین تورم پا در پاسخ به تزریق PHA بعد از ۲۴ ساعت گردید (P<۰/۰۵). وزن نسبی تیموس و عیار اولیه پادتن علیه واکسن بیماری برونشیت عفونی نیز با افزایش سطح تعادل الکترولیتی جیره افزایش یافت (P<۰/۰۵).

در آزمایش حاضر اثر متقابل بین تعادل الکترولیتی و سطح ترئونین جیره بر وزن نسبی تیموس و عیار پادتن بر علیه واکسن بیماری برونشیت عفونی نشان داد که تاثیر مثبت افزایش سطح ترئونین بر پاسخ ایمنی در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی در معرض تنش حرارتی در جیره‌های با تعادل الکترولیتی بالا (۳۲۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره) بارزتر بود. دلیل این تغییر در پاسخ سیستم ایمنی به افزایش سطح ترئونین با تغییرات اسید-باز واضح نیست. این موضوع شاید مرتبط با تحریک تولید آمونیوم در کلیه به دلیل افزایش غلظت اسیدهای آمینه باشد که سبب تحریک سنتز پروتئین‌ها و ممانعت از تجزیه پروتئین بافتی می‌شود (۲۰)، که این موضوع احتمالا مرتبط با افزایش سنتز

آنتی‌بادی‌ها با افزودن ترئونین در شرایط قلیایی بدن باشد.

به طور مشابه در یک آزمایش روی جوجه‌های گوشتی، سطوح مختلف تعادل الکترولیتی جیره بر میزان تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل در ۸ روز بعد از واکسیناسیون تاثیر معنی‌داری داشت و بیشترین عیار پادتن در سطوح بالای تعادل الکترولیتی مشاهده شد (۷). موافق با نتایج ما، گزارش شد که تغییر در الکترولیت‌های بدن جوجه‌های گوشتی منجر به تغییرات pH خون می‌شود و این تغییرات می‌تواند بر عملکرد سیستم ایمنی حیوان نیز موثر باشد (۲۶). حتی بررسی‌ها نشان داد که تغییرات یون‌های مهم مانند سدیم، پتاسیم و کلر می‌تواند با تغییر pH مایعات بدن را تحت تاثیر قرار دهد و این تغییرات pH مایعات بدن به ویژه خون می‌تواند بر عملکرد آنتی‌بادی‌ها و لنفوسیت‌های B و T موثر باشد (۲۸، ۳۴).

جدول ۳- اثرات تعادل الکترولیتی و سطوح ترئونین جیره بر فراسنجه‌های بیوشیمی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و هورمون‌های تیروئیدی خون در جوجه‌های گوشتی[۱]

Table 3- Effects of dietary electrolyte balance and threonine (Thr) levels on blood biochemical parameters, antioxidant enzymes and thyroid hormones in broiler chickens[1]

	تعادل الکترولیتی جیره DEB (mEq/kg)				سطح ترئونین Dietary Thr (%)			*P*-value		
	175	250	325	SEM	100	110	SEM	DEB	Thr	DEB×Thr
بیوشیمی خون Blood biochemistry										
گلوکز Glucose (mg/dL)	268.6	265.3	258.7	6.83	265.2	263.3	5.58	0.588	0.812	0.643
تری‌گلیسرید TG (mg/dL)	88.05	88.63	90.96	4.10	96.51[a]	81.91[b]	3.35	0.899	0.005	0.359
کلسترول کل CHOL (mg/dL)	115.9	116.1	114.5	4.42	115.6	115.4	3.61	0.959	0.963	0.481
لیپوپروتئین با دانسیته بالا HDL-C (mg/dL)	58.7	59.1	53.4	2.79	58.35	55.78	2.28	0.287	0.433	0.366
لیپوپروتئین با دانسیته کم LDL-C (mg/dL)	39.61	39.31	42.91	2.89	37.99	43.23	2.36	0.625	0.130	0.984
پروتئین کل Total protein (g/dL)	4.52	4.77	4.31	0.229	4.43	4.64	0.187	0.382	0.427	0.980
آلبومین Albumin (g/dL)	2.82	2.86	2.59	0.166	2.79	2.72	0.135	0.470	0.739	0.466
گلوبولین Globulin (g/dL)	1.70	1.92	1.72	0.251	1.64	1.92	0.205	0.807	0.344	0.758
اسید اوریک Uric acid (mg/dL)	7.39	7.14	7.21	0.323	6.82[b]	7.67[a]	0.264	0.854	0.033	0.863
آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی Antioxidant enzymes										
گلوتاتیون پراکسیداز GSH-Px (U/mL)	1407	1309	1315	54.9	1298	1389	44.8	0.382	0.164	0.905
سوپراکسیددیسموتاز SOD (u/mL)	206.0[a]	199.9[ab]	189.3[b]	4.38	193.1[b]	203.7[a]	3.58	0.039	0.048	0.998
هورمون‌های تیروئیدی Thyroid hormones										
تری‌یدوتیرونین T3 (ng/mL)	2.28	2.25	2.11	0.080	2.10[b]	2.31[a]	0.065	0.296	0.040	0.905
تیروکسین T4 (ng/mL)	6.90	6.69	6.90	0.270	7.11	6.54	0.219	0.827	0.091	0.856

[۱] میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

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

جدول ٤- اثرات تعادل الکترولیتی جیره و سطوح ترئونین جیره بر وزن نسبی اندام‌های ایمنی، پاسخ آنتی‌بادی و ایمنی سلولی در پاسخ به تزریق فیتوهماگلوتنین در جوجه های گوشتی[۱]

Table 4- Effects of dietary electrolyte balance and threonine (Thr) levels on immune organ weight. antibody response, and cell-mediated immune response to phytohemagglutinin-P in broiler chickens[1]

	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments							*P*-value		
تعادل الکترولیتی جیره DEB (mEq/kg)	175		250		325					
سطح ترئونین Dietary Thr (%)	100	110	100	110	100	110	SEM	DEB	Thr	DEB×Thr
وزن اندام‌های ایمنی (درصد وزن بدن) Immune organ weight (% of BW)										
تیموس Thymus	0.257[c]	0.249[c]	0.289[bc]	0.313[b]	0.286[bc]	0.383[a]	0.018	<0.001	0.022	0.031
طحال Spleen	0.085	0.098	0.097	0.111	0.089	0.117	0.007	0.107	0.002	0.482
بورس فابریسیوس Bursa	0.156	0.157	0.184	0.170	0.181	0.163	0.013	0.280	0.320	0.735
عیار پادتن علیه بیماری نیوکاسل Anti-NDV titers (HI, Log2)										
عیار اولیه Primary titer	2.20	2.00	2.00	2.40	2.20	3.80	0.363	0.138	0.082	0.186
عیار ثانویه Secondary titer	3.60	4.20	4.20	4.40	3.40	6.00	0.586	0.719	0.032	0.099
عیار پادتن علیه بیماری برونشیت عفونی Anti-IB titers (ELISA, Log 10)										
عیار اولیه Primary titer	3.76[bc]	3.67[c]	3.75[bc]	3.83[ab]	3.80[b]	3.93[a]	0.039	0.003	0.316	0.036
عیار ثانویه Secondary titer	3.80	3.78	3.81	3.87	3.82	3.94	0.052	0.256	0.247	0.419
ضخامت پوست پرده پا (میکرومتر) (µm) CBH test										
۲۴ ساعت بعد تزریق 24 h post injection	0.514	0.536	0.530	0.640	0.524	0.704	0.048	0.210	0.017	0.300
۴۸ ساعت بعد تزریق 48 h post injection	0.350	0.366	0.394	0.404	0.428	0.476	0.044	0.127	0.503	0.900

[۱] میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

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

باتوجه به اینکه در بعضی مطالعات بهبود سیستم ایمنی سبب کاهش عملکرد پرندگان گردید، این موضوع می‌تواند کاهش عملکرد در گروه‌های حاوی سطح بالای تعادل الکترولیتی جیره را به واسطه بهبود سیستم ایمنی در این گروه‌ها توجیه کند (۱۵، ۲۵). افزایش پاسخ ایمنی ذاتی گزارش شده است که منجر به کاهش جذب اسیدهای آمینه توسط عضلات اسکلتی و برعکس افزایش جذب آنها توسط اندام‌های دیگر به‌خصوص کبد و لکوسیت‌ها می‌گردد (۱۷). همچنین مطالعات دیگر نشان داد که تحریک تولید آنتی‌بادی یا افزایش تیتر آنتی‌بادی در پاسخ به آنتی‌ژن‌ها موجب افزایش نیاز انرژی و مواد مغذی برای تولید آنتی‌بادی می‌گردد (۲۲، ۳۰). افزون بر این گزارش شد که در زمان تولید ایمنوگلوبولین‌های IgM و IgG، اتلاف حرارتی ناشی از سوخت و ساز مواد مغذی افزایش می‌یابد و در نتیجه به انرژی بالاتری در جیره غذایی نیاز هست (۳۳). بنابراین می‌توان گفت که با تغییر مسیر متابولیسم انرژی، پروتئین و سایر مواد مغذی در جهت تولید آنتی‌بادی‌ها

و سایر متابولیت‌های فعال سیستم ایمنی از ارائه این مواد مغذی برای رشد کاسته شده و در نتیجه عملکرد پرنده تا حدودی کاهش می‌یابد.

در مورد تاثیر ترئونین بر پاسخ ایمنی گزارش شد که با افزایش سطح ترئونین جیره غذایی جوجه‌های گوشتی از سطح ۱۰۰۰ درصد به ۱۱۰، ۱۲۰ و ۱۳۰ درصد توصیه NRC (۲۹) وزن نسبی بورس و تیموس، میزان ایمونوگلوبولین کل سرم و تیتر آنتی بادی بر علیه واکسن بیماری نیوکاسل به طور خطی افزایش یافت (۱۳). در این راستا مشخص شد که درصد ترئونین در گاماگلوبولین سرم جوجه‌های گوشتی بالا می‌باشد (۳۲). گاماگلوبولین نمایانگر بخشی از سرم است که حاوی بالاترین مقدار ایمنوگلوبولین می‌باشد. با توجه به اینکه در ساختمان ایمنوگلوبولینها مقادیر بالایی از ترئونین بکار رفته است، لذا افزایش سطح این اسید آمینه می‌تواند پاسخ‌های ایمنی را در جوجه‌های گوشتی تحت تنش حرارتی به طور مثبتی تحت تأثیر قرار دهد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد که کاهش تعادل الکترولیتی پایین جیره به میزان ۱۷۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم نسبت به سطح بالای تعادل الکترولیتی (۳۲۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره) اثرات مفید بر بهبود عملکرد رشد و وضعیت آنتی‌اکسیدانی در جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش حرارتی دارد. همچنین نتایج نشان داد که افزودن ترئونین در سطح ۱۱۰ درصد توصیه شده تجاری اثرات مثبتی بر پاسخ ایمنی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی دارد. اثر متقابل بین تعادل الکترولیتی و سطح ترئونین جیره نیز نشان داد که بهترین پاسخ ایمنی در بین گروه‌های آزمایشی در گروه با تعادل الکترولیتی بالا و سطح بالای ترئونین اتفاق افتاد که در تضاد با نتایج عملکرد رشد بود.

تشکر و قدردانی

هزینه و امکانات مورد استفاده در این پژوهش از محل اعتبارات معاونت پژوهشی دانشگاه اراک (طرح شماره ۹۶/۳۸۴۰) تأمین شده است که بدین وسیله نگارندگان مراتب قدردانی خود را ابراز می‌دارند.

Refrences

1. Abbas, A., M. Jamshed Khan, M. Naeem, M. Ayaz, A. Sufyan, and M. Hussain Somro. 2012. Cation anion balance in avian diet: a review. Agriculture Science Research Journal, 2:302-307.
2. Adekunmisi, A. A., and K. R. Robbins. 1987. Effect of dietary crude protein, electrolyte balance and photoperiod on growth of broiler chicks. Poultry Science, 66:299-305.
3. Ahmad, T., T. Khalid, M. Mushtaq, M. A. Mirza, A. Nadeem, M. E. Babar, and G. Ahmad. 2008. Effect of potassium chloride supplementation in drinking water on broiler performance under heat stress conditions. British Poultry Science, 87:1276-1280.
4. Ahmad, T., T. Mushtaq, Mahr-Un-M, M. Sarwar, D. M. Hooge, and M. A. Mirza. 2006. Effect of different non-chloride sodium sources on the performance of heat-stressed broiler chickens. British Poultry Science, 47:249-256.
5. Amiri, M., H. A. Ghasemi, I. Hajkhodadadi, and A. H. Khaltabadi Farahani. 2019. Efficacy of guanidinoacetic acid at different dietary crude protein levels on growth performance, stress indicators, antioxidant status, and intestinal morphology in broiler chickens subjected to cyclic heat stress. Animal Feed Science and Technology, 254:114208.
6. AOAC International. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC Int., Arlington, VA.
7. Ashrafi, B., A. Hesabi, and R. Vakeli. 2012. Effect of dietary electrolyte balance on performance and immune responses of broiler chickens reared in the heat stress environments. Iranian Journal of Animal Science Research, 3(4):376-384. (In Persian).
8. Attia, Y. A., R. A. Hassan, A. E. Tag El-Din, and B. M. Abou-Shehema. 2011. Effect of ascorbic acid or increasing metabolizable energy level with or without supplementation of some essential amino acids on productive and physiological traits of slow-growing chicks exposed to chronic heat stress. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 95:744-755.
9. Borges, S. A., A. V. Fischer da Silva, J. Ariki, and D. M. Hooge. 2003. Dietary electrolyte balance for broiler chickens exposed to thermoneutral or heat-stress environments. Poultry Science, 82:428-435.
10. Borges, S. A., A. V. Fischer da silva, J. Ariki, D. M. Hooge, and K. R. Cummings. 2004. Physiological responses of broiler chickens to heat stress and dietary electrolyte balance (sodium plus potasium minus chloride, milliequivalents per kilogram). Poultry Science, 83:1551-1558 .
11. Borges, S. A., A. V. Fischer Da Silva, and A. Majorka. 2007. Acid-base balance in broilers. World's Poultry Science Journal, 63:73-80.
12. Brake, J., D. Balnave, and J. J. Dibner. 1998. Optimum dietary arginine:lysine ratio for broiler chickens is altered during heat stress in association with changes in intestinal uptake and dietary sodium chloride. British Poultry Science, 39:639-647.

13. Debnath, B. C., P. Biswas, and B. Roy. 2019. The effects of supplemental threonine on performance, carcass characteristics, immune response and gut health of broilers in subtropics during pre-starter and starter period. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 103:29–40.
14. Ghasemi, H. A., R. Ghasemi, and M. Torki. 2014. Periodic usage of low-protein methionine-fortified diets in broiler chickens under high ambient temperature conditions: effects on performance, slaughter traits, leukocyte profiles and antibody response. International Journal of Biometerology, 58:1405-1414.
15. Ghasemi, H. A., N. Kasani, and K. Taherpour, 2014. Effects of black cumin seed (Nigella sativa L.), a probiotic, a prebiotic and a synbiotic on growth performance, immune response and blood characteristics of male broilers. Livestock Science, 164:128-134.
16. Ghasemi, R., M. Torki, and H. A. Ghasemi. 2014. Effects of dietary crude protein and electrolyte balance on production parameters and blood biochemical of laying hens under tropical summer condition. Tropical Animal Health Production, 46:717-723.
17. Humphrey, B., and K. Klasing, 2004. Modulation of nutrient metabolism and homeostasis by the immune system. World's Poultry Science Journal, 60:90-100.
18. Jiang, Y., X. D. Liao, M. Xie, J. Tang, S. Y. Qiao, Z. G. Wen, and S. S. Hou. 2018. Dietary threonine supplementation improves hepatic lipid metabolism of Pekin ducks. Animal Production Science, 59:673-680.
19. Jiang, Y., J. Tang, M. Xie, Z. G. Wen, S. Y. Qiao, and S. S. Hou. 2017. Threonine supplementation reduces dietary protein and improves lipid metabolism in Pekin ducks. British Poultry Science, 58:687-693.
20. Jurkovitz, C. T., B. K. England, R. G. Ebb, and W. E. Mitch. 1992. Influence of ammonia and pH on protein and amino acid metabolism in LLC-PK1 cells. Kidney International, 42:595-601.
21. Keagy, E. M., L. B. Carew, F. A. Alster, and R. S. Tyzbir. 1987. Thyroid function, energy balance, body composition and organ growth in protein-deficient chicks. Journal of Nutrition, 117:1532-1540.
22. Khodambashi Emami, N., A. Samie, H. R. Rahmani, and C. A. Ruiz-Feria. 2012. The effect of peppermint essential oil and fructooligosaccharides, as alternatives to virginiamycin, on growth performance, digestibility, gut morphology and immune response of male broilers. Animal Feed Science and Technology, 175:57-64.
23. Kidd, M. T., and B. J. Kerr. 1996. L-threonine for poultry: A review. Journal of Applied Poultry Research, 5:358-367.
24. Kidd, M. 2000. Nutritional considerations concerning threonine in broilers. World's Poultry Science Journal, 56:139-151.
25. Min, Y. N., S. G. Liu, G. H. Meng, and Y. P. Gaon. 2016. Effects of dietary threonine levels on growth performance, serum biochemical indexes, antioxidant capacities, and gut morphology in broiler chickens. Poultry Science, 96:1290-1297.
26. Mushtaq, M. M. H., T. N. Pasha, T. Mushtaq, and R. Parvin. 2013. Electrolytes, dietary electrolyte balance and salts in broilers: An updated review on growth performance, water intake and litter quality. World's Poultry Science Journal, 69:789-802.
27. Nari, N., and H. A. Ghasemi. 2020. Growth performance, nutrient digestibility, bone mineralization, and hormone profile in broilers fed with phosphorus-deficient diets supplemented with butyric acid and *Saccharomyces boulardii*. Poultry Science, 99:926-935.
28. Nikoofard, V., A. H. Mahdavi, A. Samie, and E. Jahanian. 2016. Effects of different sulphur amino acids and dietary electrolyte balance levels on performance, jejunal morphology, and immunocompetence of broiler chicks. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 100:189-199.
29. National Research Council. 1994. Nutrient requirements of poultry. 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
30. Parmentier, H. K., S. Bronkhorst, M. G. Nieuwland, G. V. de Reilingh, J. M. van der Linden, M. J. Heetkamp, B. Kemp, J. W. Schrama, M. W. Verstegen, and H. van den Brand. 2002. Increased fat deposition after repeated immunization in growing chickens. Poultry Science, 81:1308-1316.
31. Patience, J. F. 1990. A review of the role of acid-base balance in amino acid nutrition. Journal of Animal Science, 68:398-408.
32. Qaisrani, S. N., I. Ahmed, F. Azam, F. Bibi, T.N. Pasha, and F. Azam. 2018. Threonine in broiler diets: an updated review. Annals of Animal Science, 18:659-674.
33. Siegel, H. S., A. M. Henken, M. W. A. Verstegen, and W. van der Hel. 1982. Heat production during the induction of an immune response to sheep red blood cells in growing pullets. Poultry Science, 61:2296-2300.
34. Zarrin-Kavyani, S., A. Khatibjoo, F. Fattahnia, and K. Taherpour. 2018. Effect of threonine and potassium carbonate supplementation on performance, immune response and bone parameters of broiler chickens. Journal of Applied Animal Research, 46:1329-1335.

35. Veldkamp, T., C. Nixey, R. P. Kwakkel, and J. P. T. M. Noordhuizen. 2000. Interaction between ambient temperature and supplementation of synthetic amino acids on performance and carcass parameters in commercial male turkeys. Poultry Science, 79:1472-1477.
36. Woolliams, J. A., G. Wiener, P. A. Anderson, and C. H. McMurray. 1983. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood in various breed crosses of sheep. Research in Veterinary Science, 34:253-256.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 569-583

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۵۸۳-۵۶۹

Effect of different levels of threonine and dietary electrolyte balance on growth performance, blood biochemistry, and immune response of broiler chickens under high environmental temperature conditions

H. A. Ghasemi[1*], I. Hajkhodadadi[1], M. H. Moradi[1]
Submitted: 30-05-2020
Accepted: 02-12-2020

Ghasemi, H. A., I. Hajkhodadadi, and M. H. Moradi. 2022. Effect of different levels of threonine and dietary electrolyte balance on growth performance, blood biochemistry, and immune response of broiler chickens under high environmental temperature conditions. Iranian Journal of Animal Science Research 13(4):569-583.

Introduction Although there are different ways of reducing the adverse effects of heat stress, including changing feeding methods and using various supplements in feed and drinking water, most of these methods are associated with reduced performance. Changes in dietary electrolyte balance have been suggested as one of the effective ways to reduce the adverse effects of heat stress in poultry. Although most studies found that amino acid metabolism can both affect or be affected by the acid-base balance of the body, the relationship between the dietary electrolyte balance and the dietary threonine concentration in broilers has not been well explained, especially under high temperature condition. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of different DEB and threonine levels on growth performance, biochemical parameters, antioxidant status, thyroid hormones, and immune response of broiler chickens reared under high environmental temperature conditions.

Materials and Methods A total of 600 one-day-old male broiler chickens (Ross 308) were used to investigate the effect of different levels of threonine and dietary electrolyte balance (DEB) on performance, serum biochemical parameters and antibody response under summer temperature condition. All birds received a common starter diet in mash form and were raised conventionally up to 10 days of age, after which they were reared following a completely randomized, 3 × 2 factorial design experiment with 5 replicate pens of 20 birds each. Treatments consisted of two threonine levels (100 and 110 % of the commercially recommended levels) and 3 levels of DEB (175, 250 and 325 mEq/kg of diet). The average minimum and maximum temperatures inside the poultry house recorded from 11 to 42 days of age were 23.7 and 37.3 °C, respectively, with a relative humidity of 55 ± 3.45%. Average daily gain (ADG), average daily feed intake (ADFI) and feed conversion ratio (FCR) of birds were determined during the grower (11 to 24 days) and finisher (25–42 days) periods, and also for the total experimental period (11–42 days). Two birds per replicate pen were randomly selected to evaluate the cell-mediated immune response to phytohaemagglutinin-P (PHA-P) on days 36 and 37. Blood samples (2 samples per replicate) were collected for measuring antibody responses (days 28 and 35), and also for biochemical analysis (day 42).

Results The results showed that the low DEB group significantly increased ADG over 11 to 24 and 11 to 42 days, but reduced ($P<0.05$) feed conversion ratio and mortality rate over the entire experiment (11 to 42 days). An increase in the superoxide dismutase activity was also associated with an increase in the DEB of the diet ($P<0.05$). Increasing the threonine level in the diet decreased the blood triglyceride concentration, but elevated the values of blood uric acid, thyroxin, and superoxide dismutase, as well as the toe web thickness 24 hours after PHA-P injection ($P < 0.05$). The interactions between DEB and threonine levels were observed for relative thymus weight and primary antibody titers against infectious bronchitis vaccine, indicating that the effects of threonine on these traits were more marked in broiler chickens fed on the high DEB diets.

Discussion The chickens suffer from respiratory alkalosis in heat stress, and thus an increase in sodium bicarbonate or potassium bicarbonate, which leads to increased dietary DEB, exacerbates respiratory alkalosis. Accordingly, the lowest growth performance in this experiment belonged to the high DEB group (325 mEq/kg

1-Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Environment, Arak University, Arak, Iran.
(*- Corresponding Author Email: h-ghasemi@araku.ac.ir)
Doi:10.22067/ijasr.v13i4.87115

diet), which was achieved by adding potassium bicarbonate from 0.88% in the growth diet to 0.95% in the final diet. On the other hand, reducing dietary DEB value (with increasing the concentration of dietary chloride) has been reported to reduce blood pH by reducing the concentration of bicarbonate in the blood, and even cause metabolic acidosis, which could be a reason for improved growth performance of broilers that received the low DEB diet. In the present study, the high DEB diet could improve immune response, but those values were higher when birds were fed diets containing 110% threonine, as indicated by the interaction between DEB and threonine level. The reason for this change in the immune response to an increase in dietary threonine levels with modifications in acid-base balance is unknown. This may be linked to enhancing the production of ammonium in the kidney due to increased amino acid concentration, which stimulates protein synthesis and inhibits protein degradation of the tissues. This effect, in turn, may increase antibody synthesis by increasing threonine levels under alkaline conditions. Another factor for the negative effect of the high-DEB diet on growth performance could be the stimulation of the immune system. By stimulating the immune system, nutrients will be used to produce immunoglobulins and hence growth will be retarded. Under the condition of this study, the addition of threonine to the diet at 110% of the commercially recommended level increased the superoxide dismutase activity. Similarly, increasing dietary levels of threonine from 85 to 125% of the NRC recommendation increased serum glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in broilers. In addition, reducing the DEB increased blood superoxide dismutase activity, which could be a reason for improved growth performance in the related-groups under heat stress conditions.

Conclusion According to the results of this study, decreasing the DEB from 325 to 175 mEq/kg could have beneficial impacts on growth performance and antioxidant status, while increasing dietary threonine from 100 to 110% of the strain recommendation had positive effects on the immune response and antioxidant status in heat-stressed broiler chickens. In addition, using threonine at 110% of the commercially recommended level in a high DEB diet could improve the immunity of broiler chickens under heat stress conditions.

Key words: Threonine, dietary electrolyte balance, broilers, performance, summer.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 585-600

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۶۰۰-۵۸۵

مقاله پژوهشی

ارزش غذایی تفاله انگور سفید (*Vitis vinifera L.*) و تاثیر سطوح مختلف آن بر عملکرد رشد و شاخص های خونی جوجه‌های گوشتی

کریم قربانی[۱]، محمدرضا قربانی[۲و۳*]، احمد طاطار[۴]، حسن احمد وند[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۰

قربانی، ک.، م. ر. قربانی، ا. طاطار، و ح. احمدوند. ۱۴۰۰. ارزش غذایی تفاله انگور سفید (*Vitis vinifera L.*) و تاثیر سطوح مختلف آن بر عملکرد رشد و شاخص های خونی جوجه‌های گوشتی. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۳(۴): ۶۰۰-۵۸۵.

چکیده

در این آزمایش جهت تعیین ترکیبات شیمیایی تفاله انگورسفید از روش‌های معمول آزمایشگاهی استفاده شد و محتوای انرژی قابل سوخت و ساز آن با استفاده از خروس‌های بالغ لگهورن تعیین گردید. در آزمایش دوم اثر استفاده از سطوح مختلف تفاله انگور بر عملکرد جوجه‌های گوشتی با استفاده از۴۵۰ قطعه جوجه یک روزه سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار، پنج تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر تکرار مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح صفر (شاهد، جیره پایه براساس ذرت وکنجاله سویا) ۳، ۶، ۹، ۱۲و ۱۵ درصد تفاله انگور سفید بودند. نتایج بررسی ترکیبات شیمیایی تفاله انگور نشان داد مقدار پروتئین خام، چربی خام، خاکستر و فیبر خام تفاله انگور به ترتیب برابر با ۷/۱۳، ۴/۹۲، ۵/۸۶ و ۲۶/۸۵ درصد بود. مقادیر انرژی خام و انواع انرژی قابل سوخت و ساز تفاله انگورشامل TME، TMEn، AME و AMEn به ترتیب برابر ۳۳۷۱/۷۵، ۲۲۲۳/۵۸، ۲۲۲۱/۰۲، ۱۵۲۷/۶۳و۱۵۲۶/۱۳ کیلوکالری درکیلوگرم ماده خشک بودند. افزودن سطوح بالای تفاله انگور به جیره غذایی (۱۲و ۱۵درصد) سبب کاهش افزایش وزن بدن و افزایش ضریب تبدیل غذایی در کل دوره در مقایسه با گروه شاهد شد (P<۰/۰۵). وزن نسبی چربی محوطه شکمی با افزایش سطح تفاله انگورکاهش یافتند(P<۰/۰۵). غلظت گلوکز، اسیداوریک، تری‌گلیسرید،کلسترول و لیپوپروتئین با چگالی بالای سرم جوجه‌های گوشتی به هنگام استفاده ازتفاله انگورکاهش یافتند (P<۰/۰۵). نتایج تحقیق حاضر نشان داد استفاده ازتفاله انگور تا سطح ۹ درصد در کل دوره آزمایش تأثیر نامطلوبی بر ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی ندارد.

واژه‌های کلیدی: انرژی قابل سوخت و ساز، پروتئین خام، تفاله انگور، کلسترول.

مقدمه

امنیت غذایی پیوسته یکی از مهمترین دغدغه‌های بشر بوده و صنعت طیور با سرمایه‌گذاری هنگفت، نقش مهمی در تامین پروتئین مورد نیاز جامعه و دستیابی به امنیت غذایی کشور ایران دارد. یکی از مهم‌ترین چالش‌های این صنعت تامین مواد خوراکی است. از طرفی با توسعه صنایع فرآوری محصولات کشاورزی حجم انبوهی از پسماندها تولید می‌شود و بخش عمده این ترکیبات بدون استفاده در طبیعت رها می‌شوند (۱۰) و در مواقعی رها سازی حجم انبوهی از این ضایعات باعث ایجاد مشکلات زیست محیطی و هدر رفت سرمایه می‌شود؛ درحالی که این ضایعات علاوه بر ارزش غذایی مناسب، حاوی ترکیبات

۱-دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران.
۲- دانشیار،گروه مهندسی طبیعت، دانشکده کشاورزی شیروان، دانشگاه بجنورد، بجنورد، ایران.
۳- دانشیار،گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران.
۴- استادیار، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، گرگان، ایران.
۵- دانشیار، گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، لرستان، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: Ghorbani.mr2010@gmail.com)
Doi:10.22067/ijasr.2021.38315.0

زیست فعال با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و ضدالتهابی هستند (۶). شناخت دقیق از ترکیبات شیمیایی و خواص ضایعات کشاورزی، منجر به برنامه‌ریزی اصولی برای بکارگیری آنها در جیره غذایی دام و طیور می‌شود.

انگور *(Vitis vinifera L.)* یکی از مهمترین محصولات باغی ایران بوده و تولید سالیانه آن به بیش از دو میلیون تن می‌رسد (۱۲). بخش قابل توجهی از انگور تولیدی به منظور تولید آب‌میوه، سرکه و شیره، فرآوری می‌شود و پسماند حاصل تفاله نام دارد که در حدود ۲۰ درصد انگور اولیه است (۲) و تفاله انگور حاوی پروتئین خام (۸ تا ۱۳درصد)، چربی خام (۶/۲ تا ۸/۴ درصد) و فیبرخام (۲۲/۳ تا ۳۶/۸ درصد) است (۲، ۹، ۱۶). در پژوهشی میزان انرژی خام تفاله انگور ۴۳۹۷/۶۳ و TME و TMEn آن به ترتیب برابر با ۱۸۴۴/۱۴و۱۸۳۹/۸۳و AME و AMEn آن به ترتیب ۲۶۴۲/۱۹ و ۲۶۴۱/۰۸کیلوکالری درکیلوگرم گزارش شد (۹). تفاله انگور منبع غنی از ترکیبات فنلی با اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدمیکروبی است (۶، ۲۹). تحقیقات نشان داده‌اند که تفاله انگور حاوی مقادیر بالایی از ترکیبات پلی‌فنلی با فعالیت متنوع زیستی است و عصاره حاصل از تفاله و دانه انگور حاوی مقادیر شایان توجهی از ترکیبات فنلی مونومریک نظیر کاتچین، اپی‌کاتچین و اپی‌کاتچین ۳-او-گالات و پروآنتوسیانین دی، تری و تترامریک است (۲۴). پلی‌فنول‌های انگور می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قوی عمل کنند. آنها قادرند با تخریب رادیکال‌های آزاد و پایان دادن به واکنش‌های اکسیداتیو، باعث مهار فعالیت رادیکال‌های آزاد شوند (۱۰). محققین نشان دادند که ترکیبات فنولی انگور فعالیت ضد میکروبی دارند (۲۳) و استفاده از تفاله انگور با افزایش جمعیت باکتریهای مفید در ایلئوم و نیز افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت تأثیر مهمی بر شرایط فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی دارد (۲۹). در مطالعه‌ای به هنگام استفاده از سطوح ۵ ، ۷/۵ و ۱۰ درصد تفاله انگور در تغذیه جوجه‌های گوشتی، با وجود بهبود در پاسخ‌های ایمنی و آنتی‌اکسیدانی، اثر منفی بر عملکرد مشاهده نشد (۱۱). برخی از محققین نشان دادند که استفاده از تفاله انگور تا ۴/۵ درصد در جیره مرغان تخم‌گذار در دوره پس از تولک‌بری اجباری بدون اثر منفی بر عملکرد، به دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی باعث بهبود زمان نگهداری تخم‌مرغ می‌گردد (۱۸). در مطالعه‌ای دیگر استفاده از تفاله انگور تا سطح ۱۰ درصد جیره، تأثیر منفی بر عملکرد رشد (وزن بدن، افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل غذایی) جوجه‌های گوشتی در مراحل رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)، پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) و کل دوره پرورش (۰ تا ۴۲ روزگی) نداشت (۱۰).

با توجه به اهمیت موضوع در ارتباط با ارزش غذایی و خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی انگور و تنوع در ارقام آن، این آزمایش با هدف ارزیابی ارزش غذایی تفاله انگور سفید و بررسی اثرات افزودن سطوح مختلف آن بر عملکرد رشد، خصوصیات لاشه و برخی شاخص-های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۰ نمونه تفاله انگور سفید بی‌دانه رقم کشمشی که ترکیبی از پوست، خوشه‌ها و پالپ می باشد از چهارکارگاه تولید شیره انگورو ایستگاه تحقیقات انگور شهرستان ملایر (۵ نمونه تفاله انگور از هر کدام) تهیه شد. نمونه‌های تهیه شده در شرایط محیطی سایه خشک گردید و ترکیبات شیمیایی آنها بر اساس روش استاندارد (۳) تعیین شد. انرژی خام نمونه‌ها با استفاده از بمب کالریمتری (Parr-۱۲۶۳ ساخت کشور امریکا)، اندازه‌گیری شد. برای سنجش عناصر معدنی پتاسیم و منیزیم از دستگاه فلیم فتومتر (جن وی، مدل ۶۵۰۵ ، ساخت کشور انگلستان) استفاده شد. غلظت سایر عناصر معدنی به روش اسپکتروفتومتری اولتراسونیک (اسپکتروفتومتر مدلS2100- VIS، یونیکو ساخت کشور امریکا) اندازه‌گیری گردید.

نمونه تفاله جمع‌آوری شده از ایستگاه‌های مختلف به نسبت یکسان با هم مخلوط گردید و انرژی قابل سوخت و ساز آن‌ها با استفاده از خروس‌های بالغ لگهورن و براساس روش تغذیه اجباری سیبالد اندازه-گیری شد (۲۸). برای این منظور از۱۰ قطعه خروس بالغ لگهورن (با میانگین وزن ۳۵±۱۷۳۰گرم و سن ۲۸ هفتگی) به روش جمع‌آوری فضولات استفاده قرار گرفت. در دوره عادت‌پذیری پرندگان ابتداء به مدت دو هفته به‌صورت آزاد جیره پایه را دریافت کردند. پس از ۲۴ ساعت گرسنگی جهت تخلیه محتویات دستگاه گوارش، مقدار ۲۵ گرم تفاله انگور (از مخلوط تفاله‌ها)، با استفاده از قیف مخصوص سیبالد و به‌صورت تغذیه اجباری به پنج قطعه خروس خورانده شد. پس از انجام تغذیه اجباری، خروس‌ها مجدداً به مدت ۴۸ ساعت گرسنه نگه داشته شدند و فضولات آنها طی این مدت در چند نوبت به طورکامل جمع‌آوری شد. برای به دست آوردن فضولات از منشأ داخلی و تصحیح ارقام خوانده شده برای انرژی خام و ازت دفعی با منشأ داخلی، پنج قطعه دیگر از خروس‌ها به مدت ۴۸ ساعت گرسنگی داده شدند. فضولات مربوط به هر خروس درون ظرف‌های پلاستیکی که روی آنها شماره قفس مربوطه درج شده بود، ریخته شده و بوسیله فریزدرایر (مدل دنا وکیوم FD-5010-BT) خشک گردید. سپس انرژی خام و محتوای ازت آنها اندازه‌گیری شد. برای محاسبه اشکال انرژی قابل سوخت و ساز از روابط ذیل استفاده شد (۲۸).

رابطه (۱)

$$\text{AME (Kcal/g)} = \frac{(Fi \times GE_f) - (E \times GE_e)}{Fi}$$

رابطه (۲)

$$\text{AMEn (kcal/g)} = \frac{[(Fi \times GE_f) - (E \times GE_e) - (NR \times K)]}{Fi}$$

رابطه (۳)

$$TME\ (Kcal/g) = \frac{(Fi \times GE_f) - (E \times GE_e) + E_m}{Fi}$$

رابطه (۴)

$$TMEn\ (Kcal/g) = \frac{(Fi \times GE_f) - (E \times GE_e) - (NR \times K) + E_m + (8.73 NR_0)}{Fi}$$

رابطه (۵)

$$NR = (F_i \times Nf) - (E \times Ne)$$

در روابط ۱ تا ۴ Fi، مقدار خوراک مصرفی (گرم)؛ E، مقدار مدفوع (گرم)؛ GEf، انرژی خام یک گرم خوراک (کیلوکالری)؛ GEe، انرژی خام یک گرم مدفوع (کیلوکالری)؛ Em، انرژی خام دفع شده ازخروس-های گرسنه (کیلوکالری‌برکیلوگرم)؛Ne، درصد ازت فضولات؛ Nf، درصد ازت نمونه خوراکی؛ NR، ابقای ازت (گرم ماده خشک)؛ NR_0، ابقای ازت درخروس‌های گرسنه و K، معادل ۸/۲۲ کیلوکالری به ازای هرگرم ازت ابقاء شده است.

به منظور بررسی اثرات استفاده از سطوح متفاوت تفاله انگورسفید برعملکرد، خصوصیات لاشه و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی خون تعداد۴۵۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه راس–۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار، ۵ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه درهرتکرار به مدت ۴۹ روز استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح صفر (شاهد، جیره پایه بر اساس ذرت و کنجاله سویا)، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ درصد تفاله انگور سفید بودند. با توجه به محدودیت هضم فیبر در جوجه‌های جوان، پرندگان تا سن ده روزگی با جیره یکسان تغذیه شدند. سپس، جیره‌های آزمایشی برای سه دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)، پایانی اول (۲۵ تا ۳۹ روزگی) و پایانی دوم (۴۰ تا ۴۹ روزگی) بر پایه ذرت و کنجاله سویا برای تأمین احتیاجات جوجه‌ها براساس توصیه دفترچه راهنمای پرورش جوجه گوشتی سویه راس–۳۰۸، تنظیم شدند (جداول ۱ تا ۳). افزایش وزن، مصرف خوراک به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری و برای دوره‌های رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)، پایانی اول (۲۵ تا ۳۹ روزگی)، پایانی دوم (۴۰ تا ۴۹ روزگی) و کل دوره (۱۱ تا ۴۹ روزگی) محاسبه شدند. با توجه به مصرف خوراک و افزایش وزن، ضریب تبدیل خوراک نیز محاسبه گردید. در آخر دوره پرورش (۴۹ روزگی)، یک قطعه جوجه از هر تکرار با وزن نزدیک به میانگین تکرار انتخاب، توزین و کشتار شد. سپس وزن نسبی لاشه (نسبت به وزن زنده) و وزن نسبی اجزای لاشه (نسبت به وزن لاشه) و طول روده باریک و روده‌کور اندازه‌گیری شدند. لازم به ذکر است به منظور حداقل کردن اثر وزن محتویات دستگاه گوارش و خالی ماندن آن حدود ۶ ساعت قبل از کشتار به پرنده‌ها گرسنگی داده شد (۴). در پایان دوره پرورش (۴۹ روزگی) از هر تکرار یک قطعه پرنده به‌صورت تصادفی انتخاب و به منظور تعیین غلظت شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون شامل گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا و لیپوپروتئین‌های باچگالی پایین خون-گیری به عمل آمد. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و سرم آن‌ها جدا شد. صفات مذکور با استفاده از کیت‌های استاندارد شده تجاری (شرکت پارس آزمون) با استفاده از دستگاه اتوآنالایز آلیسون (مدل۳۰۰ آمریکا) اندازه‌گیری شدند.

آنالیز آماری داده ها

نرمال بودن داده‌های حاصل از این پژوهش توسط آزمون کولموگروف–اسمیرنف مورد تایید قرار گرفت (P>۰/۰۵). برای نسبت اجزای لاشه تبدیل داده صورت گرفت (ارکسینوس جذر داده). تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) (۲۶) برای طرح آزمایشی کاملا تصادفی برای مدل زیر انجام و میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند.

رابطه (۶)

$$Yij = \mu + Ti + eij$$

که دراین رابطه، Y_{ij}، مقدارهرمشاهده؛ μ، میانگین کل؛ T_i، اثر تیمار و e_{ij}، اثرخطای آزمایشی است.

جدول ۱- ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی در دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)

Table 1- The ingredients and chemical composition of experimental diet in grower period (11-24 d)

اجزاء (٪) Ingredient (%)	جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف تفاله خشک انگور سفید Experimental diet containing of different levels of grape pomace					
	0	3	6	9	12	15
ذرت Corn (%)	59.07	55.90	51.51	47.83	43.67	38.39
کنجاله سویا Soybean meal	33.81	33.15	33.13	33.38	33.45	33.35
کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal	0.92	1.35	2.06	2.62	3.18	4.38
تفاله انگور Grape pomace	0	3	6	9	12	15
روغن سویا Soybean oil	1.29	1.84	2.30	2.90	3.50	4.10

Continuation of Table 1 **ادامه جدول ۱**

نمک طعام Salt	0.25	0.25	0.26	0.26	0.26	0.26
مکمل ویتامین[۱] Vitamin permix[1]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی[۲] Mineral permix[2]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
جوش شیرین Sodium bicarbonate	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
دی- کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.41	1.41	1.41	1.41	1.41	1.41
سنگ آهک Limestone	1.10	1.05	1.00	0.95	0.95	0.78
دی – ال-متیونین DL- Methionine	0.28	0.28	0.27	0.28	0.28	0.26
ال- لیزین هیدروکلراید L- Lysine hydrochloride	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24
ال- تروئونین L- Threonine	0.08	0.08	0.07	0.07	0.08	0.08
آنزیم فیتاز ۵۰۰۰ Phytase enzyme 5000	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
ماسه sand	0.94	0.84	1.14	0.45	0.37	1.14
جمع Total	100	100	100	100	100	100
ترکیبات شیمیایی Chemical composition						
انرژی قابل سوخت و ساز (کیلو کالری برکیلوگرم) Metabolizable energy (Kcal/kg)	3000	3000	3000	3000	3000	3000
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90
فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorous (%)	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
متیونین+ سیستین قابل هضم (درصد) Digestible methionine + cystine (%)	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87
لیزین قابل هضم (درصد) Digestible lysine (%)	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15
ترئونین قابل هضم (درصد) Digestible threonine	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77
فیبر (درصد) Crude fiber (%)	3.64	4.37	5.11	5.84	6.57	7.27

[۱] مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم جیره مقادیر زیر را تامین می‌کرد: رتینیل استات، ۱/۵ میلی‌گرم؛ کوله کلسیفرول، ۰/۰۲۵ میلی‌گرم؛ α- توکوفریل استات، ۲۰ میلی‌گرم؛ منادیون، ۲ میلی‌گرم؛ تیامین، ۳ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین، ۶ میلی‌گرم؛ سیانوکوبالامین، ۰/۰۱۶ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۱۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۱/۷۵ میلی‌گرم؛ اسید پانتوتنیک، ۱۵ میلی‌گرم و کولین کلرید، ۲۵۰ میلی‌گرم.

[۲] مکمل معدنی در هر کیلوگرم جیره مقادیر زیر را تامین می‌کرد: منگنز، ۱۲۰ میلی‌گرم؛ روی، ۱۰۰ میلی‌گرم؛ مس، ۱۶ میلی‌گرم؛ سیلنیم، ۰/۳ میلی‌گرم و ید، ۱/۲۵ میلی‌گرم

[1]The vitamin premix supplied the following per kilogram of diet: retinyl acetate, 1.5 mg; cholecalciferol, 0.025 mg; α-tocopheryl acetate, 20 mg; menadione, 2 mg; thiamine, 3 mg; riboflavin, 6 mg; cyanocobalamin, 0.016 mg; niacin, 15 mg; folic acid, 1.75 mg; pantothenic acid, 15 mg and choline chloride, 250 mg.

[2] The mineral premix supplied the following per kilogram of diet: Mn, 120 mg; Zn, 100 mg; Cu, 16 mg; Se, 0.3 mg and I, 1.25 mg.

جدول ۲- ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی در دوره پایانی اول (۲۵ تا ۳۹ روزگی)

Table 2- The ingredients and chemical composition of experimental diet in first finisher period (25-39d)

اجزاء (٪) Ingredient (%)	جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف تفاله خشک انگور سفید Experimental diet containing of different levels of grape pomace					
	0	3	6	9	12	15
ذرت Corn	59.02	55.01	50.88	46.75	42.31	37.54
کنجاله سویا Soybean meal	31.70	31.78	31.89	31.90	31.73	31.33
کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal	2.60	3.16	4.02	4.89	6.18	7.91
تفاله انگور Grape pomace	0	3	6	9	12	15
روغن سویا Soybean oil	1.95	2.50	3.00	3.50	4.00	4.50
دی – ال–متیونین DL- Methionine	0.25	0.25	0.24	0.24	0.22	0.22
ال– لیزین هیدروکلراید L- Lysine hydrochloride	0.19	0.19	0.20	0.20	0.20	0.21
ال– تروئونین L- Threonine	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
نمک طعام Salt	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26
مکمل ویتامین[1] Vitamin permix[1]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی[2] Mineral permix[2]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
جوش شیرین Sodium bicarbonate	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
دی– کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.26	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
آهک Limeston	1.08	1.02	0.98	0.94	0.88	0.83
آنزیم فیتاز ۵۰۰۰ Phytase enzyme 5000	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
ماسه Sand	1.04	0.93	0.63	0.42	0.32	0.30
جمع Total	100	100	100	100	100	100
ترکیبات شیمیایی Chemical composition						
انرژی قابل سوخت و ساز (کیلو کالری برکیلوگرم) Metabolizable energy (Kcal/kg)	3060	3060	3060	3060	3060	3060
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85
فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorous (%)	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42
متیونین+ سیستین قابل هضم (درصد) Digestible methionine + cystine (%)	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
لیزین قابل هضم (درصد) Digestible lysine (%)	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02
ترئونین قابل هضم (درصد) Digestible threonine	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68

ادامه جدول ۲ **Continuation of Table 2**

فیبر (درصد) Crude fiber (%)	3.55	4.28	5.01	5.74	6.45	7.15

[1] مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم جیره مقادیر زیر را تامین می‌کرد: رتینیل استات، ۱/۵ میلی‌گرم؛ کوله کلسیفرول، ۰/۰۲۵ میلی‌گرم؛ α- توکوفریل استات، ۲۰ میلی‌گرم؛ منادیون، ۲ میلی‌گرم؛ تیامین، ۳ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین، ۶ میلی‌گرم؛ سیانوکوبالامین، ۰/۰۱۶ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۱۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۱/۷۵ میلی‌گرم؛ اسید پانتوتنیک، ۱۵ میلی‌گرم و کولین کلرید، ۲۵۰ میلی‌گرم.

[2] مکمل معدنی در هر کیلوگرم جیره مقادیر زیر را تامین می‌کرد: منگنز، ۱۲۰ میلی‌گرم؛ روی، ۱۰۰ میلی‌گرم؛ مس، ۱۶ میلی‌گرم؛ سیلنیم، ۰/۳ میلی‌گرم و ید، ۱/۲۵ میلی‌گرم

[1] The vitamin premix supplied the following per kilogram of diet: retinyl acetate, 1.5 mg; cholecalciferol, 0.025 mg; α-tocopheryl acetate, 20 mg; menadione, 2 mg; thiamine, 3 mg; riboflavin, 6 mg; cyanocobalamin, 0.016 mg; niacin, 15 mg; folic acid, 1.75 mg; pantothenic acid, 15 mg and choline chloride, 250 mg.

[2] The mineral premix supplied the following per kilogram of diet: Mn, 120 mg; Zn, 100 mg; Cu, 16 mg; Se, 0.3 mg and I, 1.25 mg.

جدول ۳- ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی در دوره پایانی دوم (۴۰ تا ۴۹ روزگی)

Table 3- The ingredients and chemical composition of experimental diet in second finisher period (40-49d)

اجزاء (٪) Ingredient (%)	جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف تفاله خشک انگور سفید Experimental diet containing of different levels of grape pomace					
	0	3	6	9	12	15
ذرت Corn	65.00	61.28	56.94	53.33	48.98	44.64
کنجاله سویا Soybean meal	29.00	29.49	30.12	28.89	27.21	29.52
کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal	0.10	0.10	0.10	1.59	3.97	2.34
تفاله انگور Grape pomace	0	3	6	9	12	15
روغن سویا Soybean oil	2.00	2.46	3.24	3.60	4.30	5.00
دی – ال–متیونین DL- Methionine	0.26	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27
ال– لیزین هیدروکلراید L- Lysine hydrochloride	0.20	0.20	0.19	0.22	0.22	0.22
ال– تروئونین L- Threonine	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
نمک طعام Salt	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.27
مکمل ویتامین[1] Vitamin permix[1]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی[2] Mineral permix[2]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
جوش شیرین Sudim bicarbunait	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
دی– کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.13	1.13	1.13	1.14	1.14	1.14
کلسیم کربنات Calcium Carbonait	1.04	0.99	0.94	0.88	0.83	0.78
آنزیم فیتاز ۵۰۰۰ Phytase enzyme 5000	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
ماسه Sand	0.34	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14
جمع Total	100	100	100	100	100	100

ادامه جدول ۳ **Continuation of Table3**

ترکیبات شیمیایی Chemical composition						
انرژی قابل سوخت و ساز (کیلو کالری برکیلوگرم) Metabolizable energy (Kcal/kg)	3100	3100	3100	3100	3100	3100
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorous (%)	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
متیونین+ سیستین قابل هضم (درصد) Digestible methionine + cystine (%)	0.75	0. 75	0. 75	0. 75	0. 75	0. 75
لیزین قابل هضم (درصد) Digestible lysine (%)	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96
ترئونین قابل هضم (درصد) Digestible threonine	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64
فیبر (درصد) Crude fiber (%)	3.46	4.22	4.97	5.63	6.26	7.11

[1] مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم جیره مقادیر زیر را تامین می‌کرد: رتینیل استات، ۱/۵ میلی‌گرم؛ کوله کلسیفرول، ۰/۰۲۵ میلی‌گرم؛ α- توکوفریل استات، ۲۰ میلی‌گرم؛ منادیون، ۲ میلی‌گرم؛ تیامین، ۳ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین، ۶ میلی‌گرم؛ سیانوکوبالامین، ۰/۰۱۶ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۱۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۱/۷۵ میلی‌گرم؛ اسید پانتوتنیک، ۱۵ میلی‌گرم و کولین کلرید، ۲۵۰ میلی‌گرم.

[2] مکمل معدنی در هر کیلوگرم جیره مقادیر زیر را تامین می‌کرد: منگنز، ۱۲۰ میلی‌گرم؛ روی، ۱۰۰ میلی‌گرم؛ مس، ۱۶ میلی‌گرم؛ سیلنیم، ۰/۳ میلی‌گرم و ید، ۱/۲۵ میلی‌گرم

[1] The vitamin premix supplied the following per kilogram of diet: retinyl acetate, 1.5 mg; cholecalciferol, 0.025 mg; α-tocopheryl acetate, 20 mg; menadione, 2 mg; thiamine, 3 mg; riboflavin, 6 mg; cyanocobalamin, 0.016 mg; niacin, 15 mg; folic acid, 1.75 mg; pantothenic acid, 15 mg and choline chloride, 250 mg.

[2] The mineral premix supplied the following per kilogram of diet: Mn, 120 mg; Zn, 100 mg; Cu, 16 mg; Se, 0.3 mg and I, 1.25 mg.

نتایج و بحث

ارزیابی ترکیبات شیمیایی و انرژی قابل سوخت و ساز تفاله انگور

ترکیبات شیمیایی تقریبی تفاله خشک انگورسفید بی‌دانه درجدول ۴ ارائه شده است. میانگین پروتئین خام، چربی خام، فیبر خام و خاکسترخام تفاله انگوربه ترتیب ۷/۱۳، ۴/۹۲، ۲۶/۸۵ و ۵/۸۶ درصد بود. مقادیر بدست آمده دراین مطالعه تا اندازه‌ای ازمقادیر سایر محققین (۹) پایین‌تر بود؛ بطوریکه آن‌ها مقادیر پروتئین خام، چربی خام و فیبر خام تفاله انگور را به ترتیب ۸/۹۴ ، ۷ و ۳۰/۲ درصد گزارش کردند. مقدار فیبرخام و چربی خام در تفاله انگور این محققین بالاست. به نظر می‌رسد وجود هسته انگور در تفاله، در میزان چربی و فیبرخام آن نقش داشته باشد. محتوای فیبر بالا سبب محدودیت استفاده از سطوح بالای تفاله انگور در جیره طیور می‌شود (۱۰). مقدار فیبرخام و اجزای آن بستگی به رقم انگور، وجود یا عدم وجود هسته و مرحله رسیدگی میوه دارد. فیبر بالاسبب رقیق‌شدن انرژی جیره وکاهش سرعت عبور خوراک ازدستگاه گوارش شده در نتیجه موجب کاهش مقدارخوراک مصرفی می‌شود (۱۵).

میانگین میزان عناصر معدنی نظیرکلسیم، فسفر، منیزیم و پتاسیم به ترتیب ۰/۵۸، ۰/۲۶، ۰/۴۶ و۱/۱۶ درصد بود. مطالعه دیگری میانگین مقادیرکلسیم و فسفر تفاله انگور را به ترتیب ۰/۵ و۰/۳ درصد (۷) و در جایی دیگر ۰/۵۲ و ۰/۲۹ درصد (۹) گزارش کردند که تا حدودی با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. خاکسترخام تفاله انگور در حدود ۵/۸۶ درصد است که تا حدودی از مقادیر بدست آمده از مطالعات پیشین (۳/۲۶ درصد، ۹) بالاتر است و نشان می‌دهد این ماده خوراکی محتوای مواد معدنی بالایی دارد. از جمله عواملی که بر ترکیب شیمیایی تفاله انگور می‌توانند تأثیرگذار باشند، تنوع گونه‌ای انگور، شرایط اقلیمی، حاصلخیزی خاک مزرعه و مصرف کودهای شیمیایی هستند (۱۰). حتی ممکن است اجزای ترکیب شیمیایی یک گونه از سالی به سال دیگر تغییر کند؛ بنابراین، لازم است در صورت استفاده از ضایعات گیاهی در حجم زیاد به خصوص در جیره طیور، حتماً ترکیب شیمیایی آن‌ها تعیین شود. محققین معتقدند که روش آبگیری، واریته انگور، مراحل رسیدگی و شرایط نگهداری قبل از مصرف بر ترکیبات شیمیایی تفاله انگور تأثیر دارد (۲۵).

جدول ٤- ترکیبات شیمیایی نمونه‌های تفاله انگور (درصد)

Table 4- Chemical composition of grape pomac in different parts (%)

موارد Items	کارگاه ۱ Part 1(n=5)	کارگاه۲ 2(n=5) Part	کارگاه۳ Part 3(n=5)	کارگاه ۴ Part 4(n=5)	میانگین Mean	SEM[1]
ماده خشک Dry matter	92.95±1.22	92.34±1.06	93.54±1.45	92.14±1.85	92.74	1.06
ماده آلی Organic Matter	94.31±1.77	95.12±1.68	94.81±1.26	94.26±1.35	94.62	1.51
پروتئین خام Crude Protein	8.12±0.85	6.84±0.78	6.54±0.34	7.05±0.72	7.13	0.63
چربی خام Ether extract	4.54±0.15	4.71±0.28	4.78±0.14	5.68±0.24	4.92	0.20
خاکستر خام Ash	5.71±0.26	6.19±0.19	5.61±0.14	5.93±0.54	5.86	0.28
فیبر خام Crude fiber	28.13±0.43	26.73±0.32	26.43±0.26	26.14±0.37	26.85	1.33
مواد عاری از ازت Nitrogen Free extract	47.11±1.36	48.71±2.43	50.18±1.15	47.34±1.38	48.33	1.75
کلسیم Calsium	0.57±0.05	0.59±0.03	0.61±0.09	0.56±0.02	0.58	0.04
فسفر Phosphorous	0.25±0.03	0.26±0.01	0.27±0.07	0.29±0.02	0.26	0.03
منیزیم Magnezioum	0.47±0.02	0.49±0.04	0.51±0.06	0.39±0.03	0.46	0.03
پتاسیم Potassium	1.21±0.11	1.19±0.18	1.14±0.16	1.09±0.12	1.16	0.14

[1] SEM: Standard error of means

[1] SEM خطای استاندارد میانگین.

مطالعات کمی درخصوص تعیین انرژی قابل سوخت و ساز تفاله انگور در طیور انجام گرفته است. در آزمایش حاضر میانگین محتوای انرژی خام و انواع مختلف انرژی قابل سوخت و ساز تفاله انگور یعنی TME، TMEn، AME وAMEn به ترتیب برابر ۳۳۷۱/۷۵، ۲۲۳۳/۵۸، ۲۲۲۱/۰۲، ۱۵۲۷/۶۳و۱۵۲۶/۱۳کیلوکالری درکیلوگرم حاصل شد (جدول ۵). در پژوهشی میزان انرژی خام تفاله انگور ۴۳۹۷/۶۳ و TME و TMEn آن به ترتیب برابر با ۱۸۴۴/۱۴و۱۸۳۹/۸۳و AME و AMEn آن به ترتیب ۲۶۴۲/۱۹ و ۲۶۴۱/۰۸کیلوکالری درکیلوگرم گزارش شد (۹) که درهمه موارد از مقادیر بدست آمده در آزمایش حاضر بالاتر است. در مطالعه‌ای دیگر فیبر خام و پروتئین خام تفاله انگور قرمز (شامل دانه، پالپ، پوسته و خوشه) به ترتیب ۳۸ و ۱۳/۷ درصد و انرژی خام و انرژی قابل سوخت و ساز تصحیح شده برای ازت آن به ترتیب ۲۶۹۰ و ۱۳۰۵کیلوکالری برکیلوگرم محاسبه شد که درخصوص فیبر و پروتئین خام از نتایج آزمایش حاضر بیشتر و در خصوص انرژی از نتایج آزمایش حاضرکمتر است (۱۸). این محققین فیبر بالا را دلیلی بر پایین بودن انرژی تفاله انگور دانستند (۱۸). دلیل این اختلاف در نتایج آزمایشات مختلف ممکن است به علت رقم انگور، وجود یا عدم وجود هسته و روش فرآوری باشد. در روش‌های سنتی چون آبگیری به طورکامل انجام نمی‌شود، در نتیجه بخش بیشتری از قندهای محلول موجود در تفاله انگور باقی می‌ماند، بنابراین، محتوای انرژی آن بیشتر از تفاله انگور تولید شده به روش صنعتی است. گزارش‌شده که مقدار انرژی در تفاله انگورسفید به دلیل وجود قندهای محلول بیشتر و فیبرخام کمتر، بالاتر از تفاله انگور قرمزاست (۱۵). نتایج تحقیقی نشان دادکه تفاله انگور پس از استخراج آب میوه حاوی۱۴/۵۴درصد ترکیبات قندی است که گلوکز و فروکتوز مهم‌ترین آنها هستند. تفاله انگورارقام هسته‌دار به علت وجود مقداربیشتری چربی درهسته آنها، حاوی مقدار انرژی بیشتری هستند (۱۸).

جدول ۵- محتوای انواع انرژی تفاله انگور (کیلوکالری برکیلوگرم ماده خشک)

Table 5- The energy content of grape pomace (Kcal/kg DM)

Items	انرژی خام Gross energy	انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری AME[1]	انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای ازت AMEn[2]	انرژی قابل سوخت و ساز حقیقی TME[3]	انرژی قابل سوخت و ساز حقیقی تصحیح شده برای ازت TMEn[4]
تفاله انگور Grape pomace	3371.75	1527.63	1526.13	2223.58	2221.02
خطای استاندارد میانگین SEM[5]	177.25	38.33	31.28	63.08	59.10

[1] AME: apparent metabolizable energy,
[2] AMEn: apparent metabolizable energy corrected for nitrogen,
[3] AME: apparent metabolizable energy,
[4] AMEn: apparent metabolizable energy corrected for nitrogen.
[5] SEM: Standard error of means

صفات عملکردی

تأثیر سطوح متفاوت تفاله انگورسفید بر صفات عملکردی جوجه-های گوشتی در جدول ۶ارائه شده است. افزایش وزن بدن، در دوره‌های رشد، پایانی اول، پایانی دوم و کل دوره تحت تأثیر استفاده از سطوح مختلف تفاله انگور قرارگرفت. در دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) به هنگام استفاده از سطوح ۹، ۱۲و ۱۵درصد تفاله انگور، افزایش وزن بدن نسبت به سایر سطوح کاهش یافت (P< ۰/۰۵). در دوره پایانی اول (۲۵ تا ۳۹ روزگی)، افزایش وزن بدن به هنگام استفاده از سطوح مختلف تفاله انگور به صورت خطی کاهش یافت به صورتی که بیشترین افزایش وزن بدن درگروه شاهد و کمترین مقدار آن در گروه دریافت کننده جیره حاوی ۱۵ درصد تفاله انگور مشاهده گردید (P<۰/۰۵). در دوره پایانی دوم (۴۰ تا ۴۹ روزگی)، افزایش وزن بدن تحت تأثیر سطوح مختلف تفاله انگور قرار نگرفت. در کل دوره پرورش (۱۱ تا ۴۹ روزگی)، افزایش وزن بدن بصورت خطی با افزایش سطوح تفاله انگور در جیره، کاهش یافت، بطوریکه بیشترین افزایش وزن در تیمار شاهد و کمترین افزایش وزن در تیمار حاوی ۱۵ درصد جایگزینی مشاهده گردید. در این دوره، سطوح ۳، ۶ و ۹ درصد جایگزینی تفاوتی آماری معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. خوراک مصرفی جوجه‌های گوشتی تنها در دوره پایانی دوم و به هنگام استفاده از سطح ۱۵ درصد تفاله انگور نسبت به شاهد و سطح ۳ درصد کاهش یافت (P< ۰/۰۵). در سایر دوره‌های پرورشی، خوراک مصرفی تحت تأثیر استفاده از سطوح مختلف تفاله انگور قرار نگرفت. ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی به هنگام استفاده از تفاله انگور در دوره‌های رشد، پایانی اول وکل دوره تحت تأثیر قرارگرفت. طی دوره رشد بالاترین ضریب تبدیل خوراک با مصرف ۱۵ درصد تفاله انگور درجیره به دست آمد و تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین سایر سطوح با شاهد وجود نداشت. طی دوره پایانی اول و کل دوره ضریب تبدیل خوراک به هنگام استفاده از سطوح ۱۲و ۱۵ درصد تفاله انگور به‌صورت معنی‌داری بالاتر از سایر سطوح بود (P< ۰/۰۵)؛ و این درحالی است که در این دوره‌ها بین سطوح صفر، ۳، ۶ و ۹ درصد تفاله تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در تحقیق حاضر استفاده از سطوح ۱۲ و ۱۵ درصدی از تفاله انگور سفید باعث کاهش وزن زنده، مصرف خوراک و افزایش ضریب تبدیل خوراک شد که با نتایج محققین دیگر برای دوره آغازین جوجه‌های گوشتی همخوانی دارد (۱۰). احتمالاً میزان بالای ترکیبات فنولی و فیبر موجود در تفاله انگور سبب کاهش بازده غذایی شده است (۹، ۱۰). به دلیل اثرات تحریکی ترکیبات فنولی و فیبر بر حرکات دیواره روده، فرآیند هضم و جذب مواد مغذی کاهش می‌یابد (۱۰). در بررسی مروری نشان داده شده است احتمالاً، کاهش عملکرد رشد جوجه‌ها، به هنگام استفاده از سطوح بالای تفاله، در نتیجه مقادیر بالای فیبر و پلی‌فنل‌های آن، از جمله تانن آن باشد (۷). گزارش شده است غلظت بالای پلی‌فنل‌ها درجیره سبب واکنش بین گروه‌های هیدروکسیل فعال پلی‌فنل‌ها با گروه کربنیل پروتئین‌ها و تشکیل کمپلکس‌های پلی‌فنل‌ها با پروتئین موجود در روده شده و در نتیجه قابلیت هضم پروتئین و اسیدهای آمینه کاهش می‌یابد (۲۰). گزارش شده است سطوح بالای دیواره سلولی لیگنینی شده و نیز محتوای تانن بالای تفاله انگور، از مهمترین عوامل محدود کننده استفاده آن در جیره حیوانات تک معده‌ای هستند (۷). در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که استفاده از سطوح ۱/۵، ۳ و ۶ درصد تفاله انگور در جیره جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری بر عملکرد نداشت (۶). این محققین معتقد بودند که در این سطوح مصرفی، احتمالا مقادیر ترکیبات پلی‌فنلی و تانن متراکم تفاله به حدی نبوده تا بتواند اثرات منفی بر عملکرد داشته باشد (۶).

مشابه نتایج مطالعه حاضرکه مصرف خوراک در دوره پایانی دوم و با افزایش تفاله کاهش یافت، نشان داده شده است که تانن و ترکیبات فنولی تفاله انگور باعث تعدیل اشتها وکاهش مصرف خوراک می‌شوند (۲۹). هم‌راستا با نتایج آزمایش حاضر نشان داده شده است که استفاده از سطوح بالای تفاله انگور قرمز (۴/۵ درصد) به دلیل دارا بودن برخی از عوامل ضد تغذیه‌ای همانند تانن، باعث کاهش اشتها و کاهش

مصرف خوراک در مرغ تخم گذار، می‌شود (۱۸). نتایج تحقیق دیگری نشان داد که افزودن اسانس مرزه خوزستانی به جیره جوجه‌های گوشتی به دلیل وجود ترکیبات فنولی به خصوص کارواکرول (به علت مزه تلخ و تند آن) با تأثیر بر سیستم عصبی مرکزی باعث کاهش اشتها و مصرف خوراک می‌شود (۴). جیره‌های با فیبر بالا ممکن است تأثیر منفی بر عملکرد داشته باشند. مشخص شده است که میزان فیبر بالا در جیره باعث افزایش نرخ عبور محتویات دستگاه گوارش شده (۸) و از این طریق باعث کاهش انرژی قابل سوخت و ساز واقعی جیره می‌گردد (۲۲). فیبر بالا باعث ریزش سلول‌های اپیتلیال و افزایش ترشح مخاط به داخل روده شده و در نتیجه آن اتلاف اسیدهای آمینه درون زادی را در پی خواهد داشت (۲۱).

جدول ٦- تأثیر سطوح مختلف تفاله انگور بر عملکرد جوجه‌های گوشتی[۱]

Table 6- Effect of different levels of grape pomace on broiler performance[1]

Items	سطوح تفاله انگور Levels of grape pomace						SEM[2]	P-Value
	0	3	6	9	12	15		
افزایش وزن بدن(گرم) Weight gain(gr)								
دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) Grower (11-24 d)	480.0[a]	480.8[a]	479.6[a]	463.0[b]	456.0[b]	454.6[b]	2.24	<0.01
دوره پایانی اول (۲۵ تا۳۹ روزگی) Finisher 1 (25-39 d)	819.2[a]	757.0 [ab]	733.7[abc]	695.8[bcd]	617.5[cd]	602.4[d]	17.34	<0.01
دوره پایانی دوم (۴۰ تا۴۹ روزگی) Finisher 2 (40-49 d)	1208.0	1211.6	1212.0	1115.4	1130.0	1126.2	13.25	0.13
کل دوره (۱۱ تا ۴۹ روزگی) Total priod (11-49 d)	2507.2[a]	2449.4[ab]	2425.3[ab]	2311.3[bc]	2203.5[c]	2183.2[c]	26.20	<0.01
مصرف خوراک (گرم) Feed intake(g)								
دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) Grower (11-24 d)	767.4	742.5	722.4	797.0	807.8	841.7	14.11	0.13
دوره پایانی اول (۲۵ تا۳۹ روزگی) Finisher 1 (25-39 d)	1228.6	1236.2	1227.8	1245.6	1236.2	1211.0	5.10	0.53
دوره پایانی دوم (۴۰ تا۴۹ روزگی) Finisher 2 (40-49 d)	2337.2[a]	2324.2[a]	2286.0[ab]	2251.4[ab]	2203.8[ab]	2195.0[b]	13.62	<0.01
کل دوره (۱۱ تا ۴۹ روزگی) Total priod (11-49 d)	4333.2	4302.9	4236.2	4294.0	4247.8	4247.7	16.38	0.49
ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم) Feed conversion ratio (gr:gr)								
دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) Grower (11-24 d)	1. 60[ab]	1.55[b]	1.51[b]	1.72[ab]	1.77[ab]	1. 85[a]	0.03	<0.01
دوره پایانی اول (۲۵ تا۳۹ روزگی) Finisher 1 (25-39 d)	1.51[b]	1.64[b]	1.69[b]	1. 80[ab]	2.01[a]	2.02[a]	0.04	<0.01
دوره پایانی دوم (۴۰ تا۴۹ روزگی) Finisher 2 (40-49 d)	1.95	1.92	1.89	1.95	1.95	1.96	0.02	0.93
کل دوره (۱۱ تا ۴۹ روزگی) Total priod (11-49 d)	1.73[b]	1.76[b]	1.75 [b]	1.86[b]	1.93[a]	1.95[a]	0.02	<0.01

[۱] حروف غیرمشابه در هر سطر نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار هستند (P< ۰/۰۵).

[۲] خطای استاندارد میانگین

[1] Means in the same row with different superscripts differ significantly (P<0.05)

[2] SEM: Standard error of means

خصوصیات لاشه

اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی اجزای لاشه و نیز اندام‌های گوارشی در جدول ۷ نشان داده شده است. درصد چربی محوطه شکمی تحت تأثیر استفاده از سطوح مختلف تفاله انگور قرارگرفت و با افزایش سطح استفاده از تفاله، کاهش یافت (P< ۰/۰۵). وزن نسبی لاشه، ران و سینه تحت تأثیر استفاده از تفاله قرار نگرفتند. وزن نسبی کبد و

پانکراس به هنگام استفاده از سطوح مختلف تفاله انگور در جیره افزایش یافتند به طوری که بیشترین مقادیر در تیمار ۱۵ درصد و کمترین مقدار در گروه شاهد مشاهده گردید (P< ۰/۰۵).

کاهش نسبی چربی محوطه شکمی احتمالاً بخاطر کاهش هضم و جذب مواد مغذی (پروتئین، لیپید و کربوهیدرات‌ها) بواسطه حضور ترکیبات فنلی و فیبر بالا در سطوح بالای استفاده از تفاله انگور باشد. محققین معتقدند پلی‌فنل‌ها بخصوص تانن متراکم با ایجاد کمپلکس‌های نامحلول با پروتئین‌های موجود در در دستگاه گوارش فعالیت تعدادی از آنزیم‌های گوارشی از جمله تریپسین، لیپاز و الفا–آمیلاز را در شرایط آزمایشگاهی مهار می‌کند (۶، ۲۰). وزن نسبی کبد به هنگام استفاده از سطوح بالای تفاله انگور افزایش یافت. به نظر می‌رسد ترکیبات فنولی موجود در تفاله انگور باعث افزایش فعالیت متابولیکی کبد شده در نتیجه وزن آنها تغییر یافته است. نشان داده شده است به هنگام استفاده از ۱۰ درصد تفاله انگور در جیره جوجه‌های گوشتی غلظت آنزیم اسپارتات آمینو ترانسفراز پلاسما افزایش می‌یابد (۱۰). این محققین معتقد بودند افزایش آنزیم‌های کبدی بیانگر آسیب‌های کبدی است (۱۰) که در نتیجه آن آنزیم‌های داخل سلولی به فضای بین سلولی وارد شده‌اند (۱۶). با افزایش سطح تفاله انگور در جیره وزن نسبی پانکراس نیز افزایش یافته است. افزایش وزن نسبی پانکراس احتمالا به خاطر غیر فعال شدن آنزیم‌های مترشحه آن بخصوص تریپسین، لیپاز و آلفا–آمیلاز با ترکیبات پلی فنلی موجود در تفاله می‌باشد (۶) . نشان داده شده است فرایند حرارتی دانه کامل سویا باعث بی‌اثر کردن آنتی‌تریپسین موجود در آن و کاهش اندازه پانکراس نسبت به تیمارهای بدون فرایند حرارتی می‌گردد (۲۶). همچنین افزودن تفاله انگور به جیره باعث افزایش طول سکوم شد. احتمالا فیبر بالای موجود درتفاله انگور باعث افزایش طول بخشهای مختلف دستگاه گوارش شده است (۱). موافق با بخشی از نتایج تحقیق حاضر، نشان داده شد، افزودن تفاله انگور تا سطح ۱۰ درصد به جیره جوجه‌های گوشتی (با و بدون آنزیم تاناز) بر روی درصد لاشه و وزن هر یک از اجزای لاشه تأثیر معنی‌داری ندارد (۱۰). همچنین در مطالعه‌ای نشان داده شد که استفاده از سطوح ۱/۵، ۳ و ۶ درصد تفاله انگور در جیره جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری بر وزن نسبی کبد، پانکراس، طحال و طول دوازدهه، ژژنوم، ایلئوم و روده کور نداشت. همچنین وزن نسبی چربی شکمی در سطح ۱/۵ درصد تفاله نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ولی تفاوتی باسایر سطوح تفاله نداشت (۶).

جدول ۷– تأثیر سطوح مختلف تفاله انگور بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی در سن ۴۹ روزگی[۱]

Table 7- Effect of different levels of grape pomace on carcass charactristics of broiler chickens at 49 days of age[1]

Items	سطوح تفاله انگور Levels of grape pomace						SEM[1]	P-Value
	0	3	6	9	12	15		
لاشه (درصد) Carcass (%)	68.90	67.18	67.56	67.52	67.74	68.77	0.24	0.18
سینه (درصد) Breast (%)	38.07	38.14	38.83	37.77	37.91	37.72	0.22	0.86
ران (درصد) Thigh (%)	29.63	29.35	28.92	28.45	27.92	27.57	0.28	0.32
کبد (درصد) Liver (%)	3.40[d]	3.69[cd]	3.93[c]	4.22[b]	4.44[ab]	4.64[a]	0.09	<0.01
پانکراس (درصد) Pancras (%)	0.37[b]	0.39[ab]	0.41[b]	0.43[ab]	0.45[ab]	0.46[a]	0.01	0.03
چربی محوطه شکمی (درصد) Abdominal fat (%)	4.01[a]	3.95[a]	4.08[a]	3.92[ab]	3.83[ab]	3.60[b]	0.04	0.05
طول روده کوچک (سانتی متر) Length of small intestine (cm)	174.7	175.9	175.1	176.2	176.4	176.8	0.42	0.83
طول سکوم (سانتی متر) Length of ceca (cm)	37.73[b]	37.01[b]	37.14[b]	38.30[b]	38.35[b]	39.68[a]	0.19	0.04

[۱]حروف غیرمشابه در هر سطر نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار هستند (P< ۰/۰۵).

[۲] خطای استاندارد میانگین

[1] Means in the same row with different superscripts differ significantly (P<0.05)

[2] SEM: Standard error of means

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون در جدول ۸ نشان داده شده است. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که افزودن سطوح مختلف تفاله انگور سفید باعث کاهش غلظت گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین با چگالی بالا و کلسیم و افزایش غلظت لیپوپروتئین با چگالی پایین سرم خون شد (P< ۰/۰۵). غلظت پروتئین کل، اسید اوریک و فسفر خون تحت تأثیر قرار نگرفت. کاهش غلظت گلوکز در سطوح بالای تفاله احتمالاً مربوط به کاهش هضم کربوهیدرات‌های جیره بواسطه ترکیبات فنلی و نیز فیبر بالای تفاله باشد (۶). موافق با نتایج آزمایش حاضر حاجتی و همکاران (۱۴) نشان دادند که به هنگام استفاده از عصاره هسته انگور (۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در جیره جوجه‌های گوشتی، غلظت گلوکز سرم کاهش می‌یابد. این محققین معتقد بودند فلاونوییدها یا ترکیبات گیاهی با سطوح بالای فلاونوییدی مانع بازجذب گلوکز از کلیه می‌شوند (۱۴). مغایر با نتایج آزمایش حاضر گزارش شده است که افزودن تفاله انگور تا ۱۰ درصد تأثیری برغلظت گلوکز خون ندارد (۱۰). مکانیزم اینکه چگونه افزودن تفاله انگور به جیره سبب کاهش چربی‌های پلاسمای خون می‌شود، هنوز بخوبی مشخص نشده است. محققین نشان دادند که گیاهان و محصولات فرعی آنها با کاهش فعالیت ۳- هیدروکسیل ۳- متیل-گلوتاریل-کوآنزیم آ و مهار فعالیت آنزیم کلسترول سنتتاز باعث کاهش ساخت چربی و غلظت کلسترول خون می‌شوند (۱۵). نعمتی و محمدی (۱۹) نشان دادند که استفاده از پودر سیر در تغذیه مرغان تخمگذار باعث کاهش کلسترول سرم خون گردید. همچنین موافق با بخشهایی از نتایج آزمایش حاضر نشان داده شد که به هنگام استفاده از ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد تفاله انگور در جیره جوجه‌های گوشتی، غلظت پروتئین کل و اسید اوریک سرم تغییری نکرد ولی غلظت تری‌گلیسرید سرم در تمامی سطوح کاهش یافت (۱۱).

جدول ۸- تأثیر سطوح مختلف تفاله انگور بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون جوجه‌های گوشتی (میلی گرم بر دسی لیتر سرم)[۱]

Table 8- Effect of different levels of grape pomace on blood biochemical parameters of broiler chickens (mg/dl)[1]

Items	سطوح تفاله انگور Levels of grape pomace						SEM[2]	P-Value
	0	3	6	9	12	15		
کل پروتئین Total protein	5.12	5.36	5.27	5.58	5.53	5.31	1.69	0.67
اسید اوریک Uric acid	4.45	4.17	4.28	4.25	4.19	4.17	0.07	0.89
کلسترول Cholesterol	129.4[a]	122.4[b]	120.4[bc]	114.6[cd]	109.8[d]	106.6[d]	1.66	<0.01
گلوکز Glucose	219.4[a]	217.4[ab]	209.8[bc]	208.6[c]	206.0[c]	196.4[d]	1.76	<0.01
تری‌گلیسرید Triglyceride	96.2[a]	82.2[b]	76.0[bc]	70.6[dc]	64.0[d]	63.2[d]	2.44	<0.01
لیپوپروتئین با چگالی بالا HDL[3]	68.4[a]	64.5[ab]	61.7[abc]	58.8[bcd]	53.7[cd]	53.1[d]	1.41	<0.01
لیپوپروتئین با چگالی پایین LDL[4]	18.4[b]	18.4[b]	18.5[b]	17.8[b]	19.1[ab]	19.8[a]	0.14	<0.01
کلسیم Ca	8.25[a]	8.23[a]	7.90[ab]	7.78[ab]	7.83[b]	7.79[b]	0.06	0.04
فسفر p	3.12	2.69	2.93	2.88	2.56	2.82	0.12	0.51

[۱] حروف غیرمشابه در هر سطر نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار هستند (P< ۰/۰۵).

[۲] خطای استاندارد میانگین

[1] Means in the same row with different superscripts differ significantly (P<0.05)
[2] SEM: Standard error of means
[3] HDL: High density lipoprotein
[4] LDL: Low density lipoprotein

همچنین در این مطالعه غلظت لیپوپروتئین با چگالی بالا در سطح ۱۰ درصد افزایش و لیپوپروتئین با چگالی پایین در همه سطوح کاهش یافت که مغایر با نتایج آزمایش حاضر بود (۱۱). در راستای نتایج آزمایش حاضر در تحقیقی نشان داده شد که افزودن عصاره هسته تفاله انگور به مقدار ۲/۵ گرم در کیلوگرم به جیره جوجه‌های گوشتی باعث کاهش غلظت کلسترول سرم خون می‌شود (۱۲). نتایج تحقیق دیگری نشان

داد که افزودن عصاره هسته انگور به جیره جوجه‌های گوشتی باعث کاهش غلظت تری‌گلیسرید و لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین و افزایش غلظت لیپوپروتئین‌های با چگالی بالای خون گردید (۱۴). در ارتباط با مکانیسم فعالیت پلی‌فنل‌ها بر سوخت و ساز چربی‌ها اطلاعات زیادی در درسترس نیست. نشان داده شده است که تانن‌های متراکم با نمک‌های صفراوی و کلسترول اتصال برقرار کرده و باعث کاهش جذب آنها و حضور در فضولات می شوند (۶). در آزمایش حاضر غلظت کلسیم خون در سطوح بالای استفاده از تفاله انگور کاهش یافت. افزایش سطح روغن گیاهی استفاده شده در جیره‌های با سطوح بالای تفاله (به منظور همسان‌سازی انرژی جیره‌ها) از یک طرف و کاهش هضم و جذب لیپیدها بواسطه کم شدن فعالیت لیپاز (۶) از طرف دیگر، احتمالا باعث دفع چربی جیره بصورت ترکیب با کلسیم شده (تشکیل صابون) و جذب کلسیم کاهش یافته است. همچنین نشان داده شده است که تانن موجود در تفاله انگور در سطوح بالا سمی بوده (۲۹) و می‌تواند با مواد معدنی باند شود (۱۷).

نتیجه‌گیری کلی

به طورکلی نتایج حاصل از آزمایش حاضر نشان می‌دهند که میزان فیبر خام تفاله انگور سفید بالا و سطح پروتئین خام آن پایین است. انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری و حقیقی تفاله انگور به ترتیب ۱۵۲۷/۶۳ و ۲۲۲۳/۵۸ کیلوکالری می‌باشد. استفاده از تفاله خشک انگور سفید تا سطح ۹ درصد در جیره غذایی تأثیر منفی بر ضریب تبدیل غذایی جوجه های گوشتی نداشت اما در سطوح بالاتر سبب کاهش افزایش وزن شد.

Refrences

1. Aditya, S., S. J. Ohh, M. Ahammed, and J. Lohakare. 2018. Supplementation of grape pomace (*Vitis vinifera*) in broiler diets and its effect on growth performance, apparent total tract digestibility of nutrients, blood profile, and meat quality. Animal Nutrition, 4(2): 210-214.
2. Alipour, D., and Y. Rouzbehan. 2007. Effects of ensiling grape pomace and addition of polyethylene glycol on in vitro gas production and microbial biomass yield. Animal Feed Science and Technology, 137(1-2): 138-149.
3. AOAC, 2005. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis (18th ed.) Association of Official Analytical Chemistry. Gaithersburg, MD, USA.
4. Azarbad, E., H. Kermanshahi, A. Yaghobfar, and A. Meimandipor. 2019. Effect of different levels of *Satureja khuzistanica* essential oil in conventional and microcapsulated forms on intestinal morphology and performance of broiler chickens. Journal of Animal Production, 21(1): 87-97. (In Persian).
5. Besharati, M., and A. Taghizade. 2009. Evaluation of dried grape by-product as a tanniniferous tropical feedstuff. Animal Feed Science and Technolgy, 152:198-203.
6. Brenes A., A. Viveros, I. Goni, C. Centeno, S. G. Sayago-Ayerdi, I. Arija, and F. Saura-Calixto. 2008. Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens. Poultry Science, 87(2): 307-316.
7. Brenes, A., A.Viveros, C. Saura, and I. Arija. 2016. Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition. A review. Animal Feed Science and Technolgy, 211: 1-17.
8. Connell, A. M. 1981. Dietary fiber. Pages 1291–1299 in Physiology of Gastrointestinal Tract. L.R. Johnson, ed. Raven Press, New York.
9. Ebrahimzadeh, S. K., B. Navidshad, P. Farhoomand, and F. MirzaeiAghjehgheshlagh. 2017. The metabolizable energy content and effect of grape pomace with and without tannase enzyme treatment in broiler chickens. Iranian Journal of Applied Animal Science, 7(3): 479- 486.
10. Ebrahimzadeh, S. K., B. Navidshad, P. Farhoomand, and F. MirzaeiAghjehgheshlagh. 2018a. Effects of exogenous tannase enzyme on growth performance, antioxidant status, immune response, gut morphology and intestinal microflora of chicks fed grape pomace. South African Journal of Animal Science, 48(1): 2-18.
11. Ebrahimzadeh, S. K., B. Navidshad, P. Farhoomand, and F. MirzaeiAghjehgheshlagh. 2018b. Effects of grape pomace and vitamin E on performance, antioxidant status, immune response, gut morphology and histopathological responses in broiler chickens. South African Journal of Animal Science, 48(2): 324-336.
12. FAO, 2018. STAT-FAO Stastical Data-base, https://www.fao.org/faostat.
13. Hajati, H., A. Hassanabadi, A. G. Golian, H. Nassiri-Moghaddam, and M. R. Nassiri. 2015a. The effect of grape seed extract and vitamin C feed supplements carcass characteristics, gut morphology and ileal microflora in broiler chickens exposed to chronic heat stress. Iranian Journal of Applied Animal Science, 5(1):155-165. (In Persian).
14. Hajati, H., A. Hassanabadi, A. Golian, H. Nassiri-Moghaddam, and M. R. Nassiri. 2015. The effect of grape seed extract and vitamin C feed supplementation on some blood parameters and HSP70 gene expression of broiler chickens suffering from chronic heat stress. Italian Journal of Animal Science, 14 (3): 3273-3282.
15. Kara, K., K. G. Berrin, B. Erol, and S. Meryem. 2016. Effects of grape pomace supplementation to laying hen diet on performance, egg quality, egg lipid peroxidation and some biochemical parameters. Journal of Applied Animal

Research, 44(1): 303-310.
16. Kristensen, S.R. 1994. Mechanisms of cell damage and enzyme release. Denmark Medical Bulletin, 41: 423-433.
17. McSweeney, C. S., B. Palmer, D. M. McNeill, and D. O. Krause. 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. Animal Feed Science and Technolgy, 91:83-93.
18. Mirghelenj, S. A., R. Kianfar, R. H. Janmohammadi, and A. Taghizadeh. 2017. Effect of different levels of grape pomace on egg production performance and egg internal quality during different keeping times and temperatures. Animal Production Research, 6(4):81-91. (In Persian).
19. Nemati, Z., and R. Mohammadi. 2017. The effects of different levels of dietary garlic powder on productive performance, egg quality traits and blood parameters of laying hens. Journal of Animal Production, 19(3): 657-670. (In Persian).
20. Ortiz, L. T., C. Centeno, and J. Trevino. 1993. Tannin in faba bean seeds: Effects on the digestion of protein and amino acids in growing chicks. Animal Feed Science and Technology, 41:271–278.
21. Parsons, C. M., L. M. Potter, and R. D. Brown. 1983. Effect of dietary carbohydrates and of intestinal microflora on excretion of endogenous amino acids by poultry. Poultry Science, 62: 483–489.
22. Perez, J. F., A. G. Gernat, and J. G. Murillo. 2000. Research notes: The effect of different levels of palm kernel meal in layer diets. Poultry Science, 79(1): 77-79.
23. Perumalla, A. V. S., and N. S. Hettiarachchy. 2011. Green tea and grape seed extracts-potential applications in food safety and quality. Food Research International, 44: 827-839.
24. Saito, M., H. Hosoyama, T. Ariga, S. Kataoka, and N. Yamaji. 1998. Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(4):1460-1464.
25. Saremi, V., D. Alipour, A. Azarfar, and R. Sedighi. 2014. Effect of different levels of raisin waste on performance, nutrients digestibility and protozoal population of Mehraban growing lambs. Spanish Journal of Agricultural Research, 12(1): 159-166
26. SAS Institute. 2001. STATSoftware, Release9.1.SASInstitute, Inc., Cary, NC. USA.
27. Shahrami, E., and M. Shivazad. 2013. The effect of dry heat processing of full fat soybean on trypsin inhibitor activity, urease activity, protein solubility in KOH and broilers performance. Animal Science Research, 23 (4): 115-127.
28. Sibbald, I. R. 1986. The TME system of feed evaluation: methodology, feed composition data and bibliography. Animal Research Center, Ottawa, Ontario, Canada.
29. Viveros, A., S. Chamorro, M. Pizarro, I. Arija, C. Centeno, and A. Brenes. 2011. Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks. Poultry Science, 90(3): 566-578.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 585-600

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۶۰۰-۵۸۵

Nutritional Value of White Grape Pomace (*Vitis Vinifera* L.) and Effect of its Varying Levels on Growth Performance and Blood Charactristics of Broiler Chickens

Karim Ghorbani[1], Mohammad Reza Ghorbani[2,3*], Ahmad Tatar[4], Hassan Ahmadvand[5]
Submitted: 01-10-2020
Accepted: 08-02-2021

Ghorbani, K., M. R. Ghorbani, A. Tatar, and H. Ahmadvand. 2022. Nutritional Value of White Grape Pomace (*Vitis Vinifera* L.) and Effect of its Varying Levels on Growth Performance and Blood Charactristics of Broiler Chickens. Iranian Journal of Animal Science Research 13(4):585-600.

Introduction One of the most important challenges in poultry industry is supplying of feedstuff. The international prices of this feedstuff have increased the costs of poultry production, and therefore, reduced marketing margins. Additionally, due to the high amount of wastes from the agricultural sector and food industry, proper management of these resources and identifying the nutritional value, makes it possible to produce cheap and suitable ingredients for poultry which are not competitive with human food. Grapes (*Vitis vinifera* L.) are one of the largest fruit crop in Iran with annual production of 2.5 million metric tons. Grape pomace (GP) is a by-product of grape processing for ethanol, fruit juice and vinegar production and including stems, skins, seeds and peels and these residues are about 20-25% of the weight of the original grape. Considerable production of this by-product encourages animal nutritionists to study its nutritive value. It has shown that GP has about 8-13 % crude protein (CP), 6.2-8.4 % ether extract (EE) and 22.3-36.8 % crude fiber (CF) and 2642.19 kcal/kg apparent metabolizable energy (AME). Grape skins and seeds are rich sources of flavonoids. Studies have shown flavonoids have the capacity to act as powerful antioxidants by scavenging free radicals and terminating oxidative reactions. Also, phenolic component of grapes have shown inhibitory effect on bacteria. It was reported that inclusion of up to 10% GP in diets did not adversely affect broiler chickens' performance and improved their antioxidant and immune responses.

Materials and Methods Two independent experiments were conducted to determine the nutritional value and metabolizable energy of GP and study its effect on performance of broiler chicken. In the first experiment, AOAC method (3) was used for determination of proximate analysis of GP. Forced feeding method was used for determination of GP metabolizable energy. In the second experiment, a total of 450, one day old broiler chicks (Ross -308 strain) were used in a completely randomized design with six treatments, five replicates and 15 birds per replicate. Experimental treatments were the levels of 0 (control, basal diet, based on corn and soybean meal), 3, 6, 9, 12, and 15 % of GP included to basal diet. The diets were in mash form and formulated according to Ross -308 strain recommendations. Feed and water were provided *ad libitum* during the experiment. All broilers fed same diet in stater period (1-10 d of age) and turned to experimental diets from day 11. Feed intake (FI), body weight gain (BWG) and feed conversion ratio (FCR) of birds in each pen was recorded weekly and calculated for grower (11-24 d), finisher 1 (25–39 d), finisher 2 (40-49 d) and total periods (11-49 d) for each bird. On day 49, one chick per replicate was slaughtered after 5 hours starvation and carcass characteristics were determined. At the end of experiment (49 d), blood samples were collected from one bird per replicate to determine blood biochemical characteristics.

1-PhD Student, Department of Animal Science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran.
2-Associate Professor, Department of Nature Engineering, Shirvan Faculty of Agriculture, University of Bojnord, Bojnord, Iran.
3-Associate Professor, Department of Animal Science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran
4-Assistant Professor, Animal Science Research Department, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Gorgan, Iran.
5-Associate Professor, Department of Biochimestry, lorestan University of Medical Sciences, lorestan, Iran.
*Corresponding Author Email: Ghorbani.mr2010@gmail.com
Doi:10.22067/ijasr.2021.38315.0

Results and Discussion The results of this experiment showed that the GP contains about 7.13% CP, 4.92 % EE, 26.85 % CF and 5.86 % ash. Its gross energy and different terms of metabolizable energy such as AME, AMEn, TME and TMEn were 3371.75, 2223.58, 2221.04, 1527.63 and 1526.13 kcal/kg DM respectively. In biological part of experiment, and in total period, broiler BWG was decreased and FCR was increased when higher levels of GP (12 and 15%) were added to their diets in comparison with control. It was reported that GP contains high level of fiber and polymeric polyphenols as procyanidins could be bound and precipitated both dietary and endogenous proteins, and negatively affected poultry performance. Also, it was reported that GP tannins have adverse effects on nutrient utilization, and are toxic at high intake levels, due to their ability to bind proteins, minerals and carbohydrates. Relative weight of abdominal fat was decreased when high level of (15 %) GP used in broiler diet ($P<0.05$). The reduction in relative weight of thighs and abdominal fat, is probably due to reduced digestion and absorption of nutrients. It was indicated that polyphenols (specially condensed tannin) are able to inhibit a range of enzymes including α-amylase, α-glucosidase, lipase and trypsin activity, therefore the digestion of charbohydrate, lipid and protein were adversely affected. Blood serum concentration of triglyceride, cholesterol and HDL were decreased and LDL concentration was increased when GP levels were increased in broiler diets ($P<0.05$). The mechanism by which dietary GP supplements affect the concentrations of plasma lipids is not fully understood. However, it was showed that herbs and herbal products induce hypocholesterolemic effects by reducing the activity of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, the rate limiting enzyme in cholesterol synthesis.

Conclusion In conclusion, the results of the present experiment shows that the crude fiber content of grape pomace is high and its crude protein content is low. Due to the high level of fiber content of grape pomace, its metabolizable energy is relatively low (1527.63 kcal/kg DM). Inclusion of up to 9% grape pomace in broiler diets had no negative effect on feed conversion ratio. Although, broiler performance, was depressed by dietary inclusion in higher levels.

Keywords: Cholesterol, Crude protein, Grape pomace, Growth performance, Metabolizable energy.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 601-614

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۶۱۴-۶۰۱

مقاله پژوهشی

بررسی اثر عصاره مالت جو بر عملکرد، پاسخ‌های ایمنی و تغییرات هیستولوژیک ژژنوم مرغ-های تخمگذار

محمد صدقی[1*]، مجتبی دلوی اصفهانی[2] ، سیدامیرحسین مهدوی[3] و راضیه قاسمی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۱۴

صدقی، م.، م. دلوی اصفهانی، ا. ح. مهدوی، و ر. قاسمی. ۱۴۰۰. بررسی اثر عصاره مالت جو بر عملکرد، پاسخ‌های ایمنی و تغییرات هیستولوژیک ژژنوم مرغ‌های تخمگذار. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۳(۴): ۶۱۴-۶۰۱.

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر افزودن سطوح مختلف عصاره مالت جو (BME) بر عملکرد، کیفیت تخم‌مرغ، پاسخ سیستم ایمنی و هیستولوژی روده مرغ‌های تخمگذار از سن ۲۹ تا ۴۶ هفتگی انجام گردید. بدین منظور، تعداد ۴۳۲ قطعه مرغ تخمگذار سویه های‌لاین W۳۶ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۶ تکرار و ۲۴ جوجه در هر تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح صفر، ۰/۲ و ۰/۴ درصد BME بود. تولید تخم‌مرغ به صورت روزانه، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک به صورت هفتگی و کیفیت تخم‌مرغ در دو سن ۳۸ و ۴۴ هفتگی اندازه گیری شد. هم‌چنین تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز خون گوسفندی (SRBC)، ویروس نیوکاسل و آنفولانزا اندازه‌گیری شد. در انتهای دوره آزمایش تغییرات هیستومورفولوژیک ژژنوم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که درصد تولید، وزن و توده تخم‌مرغ، ضریب تبدیل غذایی و مصرف خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. ضخامت، استحکام پوسته و صفات داخلی تخم‌مرغ (واحد هاو و ارتفاع زرده) در تیمارهای دریافت‌کننده BME نسبت به تیمار شاهد بهبود یافت. تولید آنتی‌بادی کل و IgG علیه SRBC در تیمارهای دریافت‌کننده ۰/۲ و ۰/۴ درصد BME افزایش یافت. تولید آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل و آنفولانزا تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. هم‌چنین نتایج نشان داد که افزودن BME در جیره سبب افزایش طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت شد؛ هرچند بر عرض پرز و عمق کریپت اثر معنی‌داری نداشت. به طور کلی افزودن BME به جیره می‌تواند سبب تداوم بهتر درصد تولید بعد از پیک و بهبود شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ، افزایش تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC و افزایش طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت در روده کوچک مرغ‌های تخمگذار شود.

واژه‌های کلیدی: سیستم‌ایمنی، عصاره مالت جو، عملکرد، مرغ تخمگذار، هیستولوژی روده

مقدمه

تاکنون مطالعات گسترده‌ای به منظور بهبود استفاده از خوراک و نیز کاهش هزینه‌های آن انجام شده است. در این راستا، مواد افزودنی متعددی به منظور بهبود شاخص‌های سلامت و عملکرد پرنده مورد استفاده قرار گرفته است (۱۱). مالت جو یکی از افزودنی‌هایی است که اخیراً جهت استفاده در خوراک دام و طیور معرفی شده است. این محصول از دانه‌های جو، طی فرآیندی به نام مالتینگ تولید می‌شود. فرآیند مالتینگ شامل مجموعه تغییراتی است که در دانه جو و مالت

۱- استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.
۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.
۳- دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.
۴-دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان اصفهان، ایران.

(*- نویسنده مسئول: Email: mo.sedghi@iut.ac.ir)
Doi:10.22067/ijasr.2021.38287.0

حاصل از آن اعمال می شود تا به دنبال تغییر و تخریب ترکیبات فنولی (۲۱) و تولید محصولات واکنش مایلارد (MRPs[1])، محتوای آنتی‌اکسیدان مالت به شکل چشمگیری افزایش یابد (۸). پلی‌فنول‌ها و اسیدهای فنولیک موجود در مالت، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی آن بوده که می‌توانند فرآیندهای اکسیداسیون را به تأخیر انداخته و یا از این فرآیندها جلوگیری نمایند (۴ و ۶). ترکیبات فنولی موجود در جو شامل اسیدهای فنولیک (مشتقات اسیدهای بنزوئیک و سینامیک اسید)، فلاوونوئیدها، پرونتوسیانیدین‌ها، تانن‌ها و ترکیبات آمینو فنولیک هستند (۱). مکانیسم اثرات آنتی‌اکسیدانی محصولات واکنش مایلارد هنوز مشخص نیست. از آنجا که ساختار آنها هنوز ناشناخته است فرض بر آن است که این مکانیسم‌ها براساس توانایی به دام انداختن (۳) و مهار رادیکال‌های آزاد اکسیژن، کاهش قدرت کلاته نمودن فلزات (۷) و تشکیل کمپلکس‌های غیرفعال عمل نمایند (۱۷ و ۱۸). آنتی‌اکسیدان‌های مالت می‌توانند رادیکال‌های آزاد اکسیژن را از بین برده و بدون نیاز به آنتی‌اکسیدان‌های خارجی از واکنش‌های اکسیداتیو جلوگیری کنند (۳۰). بر اساس اطلاعات موجود، ترکیبات آنتی-اکسیدانی که در جو و مالت شناسایی شده‌اند عمدتاً پلی‌فنول‌هایی از جمله کاتچین و اسید فرولیک است. عصاره مالت جو در محیط‌های آزمایشگاهی و درون تنی، فعالیت قوی آنتی‌اکسیدان از خود نشان داده و توانایی مهار رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید را دارا می‌باشد (۲۳). در طول مرحله جوانه‌زنی جو، سطوح فنولیک و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن افزایش می‌یابد (۲۳). بنابراین مالت جو به‌عنوان یک منبع طبیعی از آنتی‌اکسیدان‌ها، ویتامین‌های گروه ب، مواد معدنی مثل آهن، روی، کلسیم، منیزیم و فسفر شناخته می‌شود (۱۹ و ۲۴). جوانه‌زنی، زمان فرآیند، درجه حرارت و فیلتراسیون در تولید مالت از عوامل اصلی و موثر در میزان پروتئین محصول نهایی است. عصاره مالت به دو فرم پودر و مایع موجود می‌باشد که فرم مایع آن به صورت شربت غلیظی است که برای ساخت انواع نوشیدنی، مخمرسازی، پخت نان و شیرینی یا به عنوان یک طعم‌دهنده مواد خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۳). با توجه به اینکه این محصول اخیراً به عنوان افزودنی جهت خوراک دام و طیور معرفی شده است تحقیقات محدودی بر روی این محصول صورت گرفته است. صدقی و اکبری مقدم کاخکی (۲۸) از عصاره مالت جو و سرکه مالت در تغذیه جوجه‌های گوشتی استفاده کردند و نتایج این تحقیق نشان داد که هرچند شاخص های عملکردی در طول دوره استارتر و رشد تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند، اما در کل دوره آزمایشی، افزودن ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو به همراه ۴ کیلوگرم در تن سرکه مالت به طور معنی‌داری سبب بهبود افزایش وزن روزانه، شاخص تولید اروپایی و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی شد. به‌علاوه تحت تاثیر افزودن عصاره مالت جو و سرکه مالت، عرض پرز و مساحت جذب پرزهای روده، افزایش و تولید مالون‌دی‌آلدهید در بافت ران و سینه کاهش یافت.

تاکنون مطالعه‌ای مبنی بر اثر استفاده از عصاره مالت جو در جیره مرغ‌های تخمگذار گزارش نشده است. لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر عصاره مالت جو بر عملکرد، کیفیت تخم‌مرغ، پاسخ‌های سیستم ایمنی و هیستولوژی دستگاه گوارش مرغ‌های تخمگذار در مرحله پیک تولید و پس از آن طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

برای اجرای این آزمایش از تعداد ۴۳۲ قطعه مرغ تخمگذار سویه های‌لاین W۳۶ در سن ۲۸ هفتگی استفاده شد که به ۳ تیمار و ۶ تکرار و ۲۴ پرنده در هر تکرار تقسیم شدند. هر قفس حاوی۶ قطعه مرغ و هر چهار قفس مجاور یک تکرار را تشکیل می‌دادند. به منظور یکنواخت‌سازی واحدهای آزمایشی (قبل از شروع آزمایش اصلی و افزودن عصاره مالت جو به جیره) به مدت یک هفته، درصد تولید و وزن تخم‌مرغ ثبت شد. آزمایش اصلی از شروع ۲۹ هفتگی آغاز و تیمارها تا ۴۶ هفتگی به مدت ۱۸ هفته در قالب طرح کاملاً تصادفی بررسی شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱)جیره شاهد بدون هیچ‌گونه افزودنی غذایی از ابتدا تا پایان دوره؛ ۲)جیره پایه + ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو از ابتدا تا انتهای دوره و ۳)جیره پایه + ۴ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو از ابتدا تا انتهای دوره بودند. عصاره مالت جو توسط شرکت نیرو مالت خراسان با نام تجاری کنسانتره ماءالشعیر طیور جهت انجام آزمایش اهدا شد. جهت تهیه جیره‌های آزمایشی، عصاره مالت جو با حجم یکسان آب مخلوط و بر روی خوراک ساخته شده اسپری شد و سپس به خوبی مخلوط گردید. ترکیب شیمیایی عصاره مالت بر اساس روش AOAC[2] (۱۴) تعیین شد (جدول ۱). کل محتوای فنولی عصاره مالت جو نیز به وسیله معرف Folin–Ciocalteu اندازه‌گیری شد (۲۳). جیره‌ها بر پایه ذرت و کنجاله سویا تنظیم گردید (جدول ۲). مواد مغذی بر اساس مصرف روزانه ۱۰۰ گرم خوراک و مطابق نیازهای توصیه شده کاتالوگ سویه های‌لاین۳۶ Wفرموله شدند

جمع‌آوری داده‌ها و نمونه‌گیری

تخم‌مرغ‌های تولیدی هر تکرار به صورت روزانه شمارش، توزین و ثبت گردید. میانگین مصرف خوراک و ضریب تبدیل به صورت هفتگی اندازه‌گیری و محاسبه شد. میانگین وزن تخم‌مرغ از تقسیم وزن کل تخم‌مرغ‌ها بر تعداد تخم‌مرغ روزانه در هر تکرار محاسبه شد.

1- Maillard reaction products

2- Association of official analytical chemists

برای ارزیابی صفات کیفی تخم‌مرغ مانند ضخامت پوسته، استحکام پوسته، وزن پوسته، کیفیت زرده و شاخص هاو، در سن ۳۸ و ۴۴ هفتگی از هر تکرار، ۴ تخم‌مرغ به صورت تصادفی انتخاب و مورد ارزیابی قرار گرفت. ضخامت پوسته از ۳ نقطه ابتدا، انتها و وسط تخم‌مرغ به وسیله کولیس دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها به عنوان ضخامت پوسته ثبت شد. استحکام پوسته تخم‌مرغ با استفاده از دستگاه استحکام‌سنج، با دقت ۰/۱ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری ارتفاع سفیده، با میکرومتر سه پایه با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر از سه نقطه در شعاع اطراف زرده اندازه‌گیری و میانگین ارتفاع سفیده ثبت شد. ارتفاع زرده نیز از بلندترین نقطه با استفاده از کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد. شدت رنگ زرده نیز با استفاده از شابلون رنگ (Company Veterinaria Digital) با ۱۵ رنگ تعیین شد. شاخص هاو نیز به وسیله نسبت ارتفاع سفیده به وزن تخم‌مرغ محاسبه شد.

جدول ۱- ترکیب مواد مغذی عصاره مالت جو (بر اساس ماده خشک)

Table 1- Nutrient composition of malt extract (Dry matter)

مواد مغذی Nutrient	میزان ترکیبات Amount of compounds
انرژی محاسبه شده (کیلوکالری/کیلوگرم) Calculated energy (kcal/kg)	3450
پروتئین خام Crude protein (%)	6.70
چربی خام Ether extract (%)	0.80
خاکستر Ash (%)	2.10
رطوبت Moisture (%)	28/70
ویتامین B_1 Vitamin B_1 (mg/100g)	1.50
ویتامین B_2 Vitamin B_2 (mg/100g)	5.21
ویتامین B_5 Vitamin B_5 (mg/100g)	14.32
ویتامین B_6 Vitamin B_6 (mg/100g)	4.99
ویتامین B_9 Vitamin B_9 (mg/100g)	72.2
کل محتوای فنولی Total phenol content (mg GAE/100 G)[1]	350

[1]milligram gallic acid per 100 gram (Gallic Acid Equivalents)

همچنین برای اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی کل، IgG و IgA علیه گلبول قرمز خون گوسفندی (SRBC[1])، محلول سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفندی تهیه و در سن ۴۱ و ۴۲ هفتگی به ۲ پرنده از هر تکرار، به صورت تصادفی، تزریق شد. پس از گذشت ۷ روز از هر نوبت تزریق، نمونه خون پرنده‌ها جمع‌آوری و سرم آن‌ها جداسازی شد و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی به روش هماگلوتیناسیون اندازه‌گیری شد (۹). به منظور تعیین تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل و آنفولانزا، در سن ۳۵ و ۴۲ هفتگی، نمونه‌های سرم خون (۲ پرنده از هر تکرار) جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تیتر تولید آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل و آنفولانزا نیز به روش هماگلوتیناسیون (۲ و ۲۲) محاسبه شد.

برای بررسی تغییرات هیستولوژیک روده، در پایان دوره آزمایشی (۴۶ هفتگی) از هر تکرار یک پرنده کشتار و حدود یک سانتی‌متر از قسمت میانی ژژنوم برش داده شد و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شد. تهیه گسترش بافتی با روش توضیح داده شده توسط ایجی (۱۵) انجام شد.

1- Sheep red blood cells

جدول ۲- ترکیب اقلام خوراکی برحسب درصد (As-fed) و مواد مغذی در جیره‌های آزمایشی

Table 2- Ingredients and composition of the experimental diets

اقلام خوراکی (درصد) Ingredient (%)	۲۸-۴۰ هفتگی 28-40 weeks	۴۱-۴۶ هفتگی 41-46 weeks
ذرت Corn	59.50	62.85
کنجاله سویا Soybean Meal	24.80	22.25
روغن سویا Soybean Oil	2.50	1.85
کربنات کلسیم Carbonate Calcium	10.30	10.30
دی‌کلسیم‌فسفات Dicalcium phosphate	1.53	1.46
نمک طعام Salt	0.40	0.40
مکمل معدنی[1] Mineral premix[1]	0.35	0.35
مکمل ویتامینی[2] Vitamin premix[2]	0.35	0.35
دی‌ال-متیونین DL-Methionine	0.21	0.16
ال-لیزین هیدروکلراید L-lysine HCL	0.05	0.01
آنزیم فیتاز Phytase enzyme	0.01	0.01
رنگدانه Pigment	0.005	0.005
مواد مغذی جیره Nutrient composition		
انرژی قابل متابولیسم Metabolizable energy (kcal/kg)	2850	2850
پروتئین خام Crude protein (%)	16.15	15.25
لیزین Lysine (%)	0.86	0.79
متیونین Methionine (%)	0.46	0.38
متیونین+سیستئین Methionine+cysteine (%)	0.74	0.67
ترئونین Threonine (%)	0.64	0.60
کلسیم Calcium (%)	4.40	4.40
فسفر قابل دسترس Available phosphorous (%)	0.49	0.45
سدیم Sodium (%)	0.17	0.17
حداقل کلر Minimum Chloride (%)	0.19	0.19

[1] هر کیلوگرم مکمل معدنی جیره حاوی: ۱۲۳mg منگنز، ۷۷mg آهن، ۱۲۳ mg روی، ۰/۴۲ mg سلنیوم، ۷/۷ mg مس، ۲/۳۸ mg ید می‌باشد.

[2] هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی ۱۲۳۲۰ IU ویتامین A، ۴۶۲۰IU ویتامین D_3، ۲۳ IU ویتامین E، ۳mg ویتامین K_3، ۲/۳۸ mg تیامین، ۷/۷ mg ریبوفلاوین، ۳۹/۲ mg نیاسین، ۹/۲۴ mg پانتوتنیک اسید، ۴/۶۲ mg پیرودوکسین، ۰/۸۴ mg اسید فولیک، ۰/۰۳۱ mg کوبالامین، ۰/۰۸ mg بیوتین، ۱۵۴ mg کولین و ۱/۴ mg آنتی اکسیدان بود.

[1] The Mineral premix supplied the following per kilogram of feed: Mn: 123 mg; Fe: 77 mg; Zn: 123 mg; Se: 0.42 mg; Cu: 7.7 mg; Iodine: 2.38 mg.

[2] The vitamin premix supplied the following per kilogram of feed: vitamin A: 12000 IU; vitamin D3: 4620 IU; vitamin E: 23 IU; vitamin K_3: 3 mg; vitamin B1: 2.38 mg; vitamin B2: 7.7 mg; Niacin: 39.2 mg; Pantothenic acid: 9.24 mg; Pyridoxine: 4.62 mg; Folic acid: 0.84 mg; Cobalamin: 0.031 mg; Biotin: 0.08 mg; Choline: 154 mg; Antioxidant: 1.4 mg.

جدول ۳- اثر سطوح مختلف عصاره مالت جو بر مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک در هفته‌های مختلف تولید

Table 3- Effect of different levels of barley malt extract on feed intake and feed conversion ratio at different weeks of production

مصرف خوراک (گرم به ازای هر پرنده در هر روز) Feed intake (g/bird/d)	تیمارها[1] Treatment[1]			SEM	p-value
	شاهد Control	۲ کیلوگرم/تن 2 kg/ton	۴ کیلوگرم/تن 4 kg/ton		
۲۹-۳۷ هفتگی 29-37 weeks	95.72	95.22	94.85	0.98	0.93
۳۸-۴۶ هفتگی 38-46 weeks	104.54	105.42	104.16	0.56	0.65
کل دوره Total period	101.14	101.32	100.05	0.59	0.88
ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio					
۲۹-۳۷ هفتگی 29-37 weeks	1.85	1.79	1.79	0.023	0.42
۳۸-۴۶ هفتگی 38-46 weeks	1.88	1.87	1.87	0.007	0.74
کل دوره Total period	1.87	1.84	1.83	0.010	0.34

[1]تیمار شاهد، جیره پایه به همراه ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو، جیره پایه به همراه ۴ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو

[1]Control treatment, control treatment plus 2 kg/ton barley malt extract, control treatment plus 4 kg/ton barley malt extract.

برش های تهیه شده از بافت‌ها بـا اسـتفاده از هماتوکسـیلین[1] و ائوزین[2] رنگ‌آمیزی شدند. سپس نمونه‌های فیکس شده بـر روی لام استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی شدند.

آنالیز آماری

داده‌های به‌دست آمده توسط نرم افـزار آمـاری SAS 9.1 (۲۷) رویه GLM در قالب طرح کاملا تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. هم‌چنین داده های مربوط به پاسخ‌های سیستم ایمنی بـا استفاده از طرح کاملاً تصادفی با چند مشاهده در هـر تکـرار صـورت گرفت و تجزیه و تحلیل آنها از روند خطی نمونه‌های تکـراری (چنـد مشاهده‌ای) انجام شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون تـوکی در سطح معنی‌داری ۵٪ استفاده شد.

نتایج و بحث

پارامترهای عملکردی

نتایج مربوط به تأثیر افزودن سطوح مختلف عصاره مالت جو بـر میانگین مصرف خوراک و ضریب تبـدیل خـوراک از سـن ۲۹ تـا ۴۶ هفتگی در جدول ۳ گزارش شده است. همان‌گونه کـه نتـایج نشـان می‌دهد، افزودن عصاره مالت جو در کل دوره هیچ‌گونه تأثیر معنـی-داری بر میانگین مصرف خـوراک روزانـه و ضـریب تبـدیل خـوراک نداشت. هرچند صدقی و اکبـری مقـدم کـاخکی (۲۸) دریافتنـد کـه عصاره مالت در کل دوره به طور معنی‌داری سبب افزایش وزن روزانه،

1- Haematoxylin
2- Eosin

ضریب تبدیل خوراک، کاهش مصرف خوراک و مرگ و میر در جوجه‌های گوشتی شد که در تناقض با نتایج مطالعه حاضر است. به طور کلی مصرف عصاره مالت جو در مقایسه با گروه شاهد تاثیر معنی‌داری بر خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی نداشت.

عملکرد تولیدی

روند درصد تخم‌گذاری از ۲۹ تا ۴۶ هفتگی در جدول ۴ نشان داده شده است. همان‌گونه که قابل مشاهده است، بین تیمارهای مختلف از لحاظ درصد تولید هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. در هفته‌های ۴۳ تا ۴۶، درصد تولید کاهش یافت که احتمالا به دلیل شیوع بیماری ویروسی نیوکاسل در گله بود. در تیمارهایی که ۲ و ۴ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو به جیره اضافه شده بود، درصد تولید بعد از پیک، تداوم بهتری را نسبت به تیمار شاهد نشان داد. هم‌چنین با توجه به درگیری گله با بیماری ویروسی در هفته‌های ۴۳ تا ۴۶، اُفت درصد تولید در دو تیمار دریافت‌کننده عصاره مالت جو نسبت به تیمار شاهد کمتر بود. بنابراین به نظر می‌رسد که این افزودنی تحت شرایط تنش هم‌چون حضور میکروارگانیسم‌های نامطلوب، بیماری‌ها، تراکم و یا ضعف مدیریت، که در گله‌های تجاری همواره یک یا بیشتر این شرایط وجود دارد، بیشترین اثر مثبت را از خود نشان می‌دهد (۱۲). تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد، تفاوت معنی‌داری را در عملکرد تولیدی نشان ندادند اگرچه در شرایط آلودگی و حضور ویروس نیوکاسل، عصاره مالت جو سبب جلوگیری از افت تولید شد.

جدول ٤- اثر سطوح مختلف عصاره مالت جو بر تولید تخم‌مرغ (٪) از ۲۹ تا ۴۶ هفتگی

Table 4- Effect of different levels of barley malt extract on egg production from 29 to 46 weeks

تیمارها[1] Treatment					
هفته Week	شاهد Control	۲ کیلوگرم/تن 2 kg/ton	۴ کیلوگرم/تن 4 kg/ton	SEM	p-value
29	96.439	95.138	94.531	0.802	0.260
30	96.597	95.486	95.902	0.631	0.471
31	95.416	95.621	95.000	0.797	0.855
32	95.572	95.637	96.614	0.500	0.286
33	95.301	95.211	95.100	0.227	0.824
34	96.093	95.868	94.965	0.645	0.444
35	94.704	95.014	94.210	0.993	0.848
36	94.791	94.936	95.701	0.738	0.653
37	95.138	94.418	94.142	0.566	0.456
38	93.142	95.059	93.534	1.059	0.422
39	91.753	91.859	91.919	1.073	0.993
40	92.168	93.281	92.451	1.350	0.834
41	92.866	92.393	91.465	0.949	0.580
42	92.746	94.315	91.504	1.021	0.189
43	88.824	91.094	91.308	1.494	0.447
44	88.032	88.726	91.277	0.897	0.051
45	89.483	92.149	92.202	1.381	0.392
46	78.645	80.001	82.422	2.664	0.607

[1]تیمار شاهد، جیره پایه به همراه ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو، جیره پایه به همراه ۴ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو.

[1]Control treatment, control treatment plus 2 kg/ton barley malt extract, control treatment plus 4 kg/ton barley malt extract.

ضخامت و استحکام پوسته تخم مرغ

نتایج مربوط به تاثیر عصاره مالت جو بر ضخامت و استحکام پوسته از سن ۲۹ تا ۴۶ هفتگی در جدول ۵ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، افزودن ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو سبب افزایش معنی‌دار ضخامت پوسته نسبت به تیمار شاهد در کل دوره از سن ۲۹ تا ۴۶ هفتگی شد (P<۰/۰۱). همچنین تیمارهای مکمل شده با ۲ و ۴ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو، باعث بهبود استحکام پوسته تخم‌مرغ نسبت به تیمار شاهد شد (P=۰/۰۷۶). هرچند افزودن عصاره مالت جو در طی دوره آزمایش (سن ۲۹ تا ۴۶ هفتگی) هیچ‌گونه تأثیری بر روی درصد پوسته تخم‌مرغ نداشت.

ضخامت و استحکام پوسته تخم‌مرغ، از شاخص‌های تعیین کیفیت پوسته تخم‌مرغ می باشند. احتمالا افزایش ضخامت پوسته تخم‌مرغ مشاهده شده در این آزمایش می‌تواند با افزایش هضم - βگلوکان در ارتباط باشد. β-گلوکان ترکیب اصلی دیواره‌های سلولی

آندوسپرم جو است. در طی فرآیند جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم‌های داخلی مانند β-گلوکاناناز افزایش می‌یابد (۳۲) و بنابراین این افزایش فعالیت آنزیم‌های درونزادی ممکن است بـر هضـم سـایر مـواد خـوراکی در دستگاه گوارش تاثیر بگذارد. گزارشات متعددی مبنی بر افزودن آنزیم-βگلوکاناز تجاری به جیره‌های غذایی وجود دارد که نشان مـی‌دهـد حضور این آنزیم سبب تجزیه β-گلوکان و در نتیجه کاهش اثرات ضد تغذیه‌ای NSP (۵)، بهبود کیفیت تخم‌مرغ (۲۶)، تولیـد تخـم‌مـرغ و بازده خوراک (۲۰) در مرغ‌های تخم‌گذار مـی‌شـود. نتـایج حاصـل از مطالعات تیان و همکاران (۲۹) نشان داد که در طول جوانه‌زنی، اسید فایتیک به میزان ۶۸ درصد کاهش می‌یابد. کاهش اسید فایتیک منجر به افزایش فعالیت آنزیم فیتاز می‌شود که افزایش فعالیت این آنزیم را می‌توان به پیشـرفت مراحـل جوانـه‌زنـی نسـبت داد. ریمسـتن (۲۵) گزارش کرد که فعال شدن آنزیم فیتاز در طـی جوانـه زدن، هضـم و جذب کلسیم و فسفر را افزایش می‌دهد. کبده و همکاران بیان کردند که استفاده از مالت جو به جای ذرت سبب افزایش ضـخامت پوسـته تخم‌مـرغ در مـرغ‌هـای تخمگـذار شـده اسـت (۱۶). افـزودن ۲ و ۴ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو در جیره مـرغ‌هـای تخمگـذار سـبب افزایش ضخامت پوسته تخم‌مرغ شد و بیشترین و کمترین ضـخامت پوسته به ترتیب مربوط به پرنده های تغذیه شده با ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو و تیمار شاهد بود (P<۰/۰۱). استحکام پوسته تخـم مرغ نیز در گروه های دریافت کننده عصاره مالت جو نسبت به شاهد افزایش یافت (P=۰/۰۷۶). عصاره مالت جو بر درصد پوسته تخم‌مرغ تاثیر معنی‌داری نداشت.

جدول ۵- اثر سطوح مختلف عصاره مالت جو بر کیفیت پوسته تخم مرغ[۱]

Table 5- Effect of different levels of barley malt extract on egg shell quality[1]

کیفیت پوسته تخم مرغ Egg shell quality	تیمارها[۲] Treatment[2] شاهد Control	۲ کیلوگرم/تن 2 kg/ton	۴ کیلوگرم/تن 4 kg/ton	SEM	p-value
ضخامت پوسته تخم‌مرغ (میلیمتر) Egg shell thickness (mm)	0.372[b]	0.398[a]	0.382[ab]	0.43	<0.0001
استحکام پوسته تخم‌مرغ (kg/cm^2) Egg shell strength (kg/cm^2)[2]	2.767	2.875	2.962	0.59	0.0076
درصد پوسته تخم‌مرغ Egg shell (%)	11.53	11.52	11.71	0.71	0.62

[۱]میانگین‌هایی با حروف متفاوت در هر یک از اثرات، از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشند.

[۲]تیمار شاهد، جیره پایه به همراه ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو، جیره پایه به همراه ۴ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو

[1]Mean with different superscript letters in each effect are statistically significant (p<0.05).

[2]Control treatment, control treatment plus 2 kg/ton barley malt extract, control treatment plus 4 kg/ton barley malt extract

[3]kilogram per square centimeter.

جدول ٦- اثر سطوح مختلف عصاره مالت جو بر صفات کیفی داخلی تخم‌مرغ[۱]

Table 6- Effect of different levels of barley malt extract on internal quality characteristics of eggs[2]

	تیمارها[۲] Treatment[2] شاهد Control	۲ کیلوگرم/تن 2 kg/ton	۴ کیلوگرم/تن 4 kg/ton	SEM	p-value
شاخص واحد هاو Hu index	76.02[b]	81.32[a]	80.27[ab]	1.48	0.012
ارتفاع زرده (میلی‌متر) yolk height (mm)	17.725[b]	18.600[a]	18.387[ab]	0.227	0.01
رنگ زرده yolk color	13.62[a]	13.08[b]	13.33[ab]	0.16	0.026

[۱]میانگین‌هایی با حروف متفاوت در هر یک از اثرات، از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشند.

[۲]تیمار شاهد، جیره پایه به همراه ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو، جیره پایه به همراه ۴ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو

[1]Mean with different superscript letters in each effect are statistically significant (p<0.05).

[2]Control treatment, control treatment plus 2 kg/ton barley malt extract, control treatment plus 4 kg/ton barley malt extract

صفات داخلی تخم‌مرغ

نتایج مربوط به تأثیر عصاره مالت جو بر صفات داخلی تخم‌مرغ از جمله شاخص هاو، شدت رنگ زرده و ارتفاع زرده از سن ۲۹ تا ۴۶ هفتگی در جدول ۶ گزارش شده است. افزودن ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو به جیره سبب افزایش شاخص هاو (P<۰/۰۵) و ارتفاع زرده (P<۰/۰۱) شد. همچنین بیشترین و کمترین شاخص رنگ زرده به ترتیب مربوط به تیمار شاهد و ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو بود. (P<۰/۰۵). در مطالعه‌ای که کبده و همکاران (۱۶) بر روی مالت جو انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که جایگزین کردن مالت جو با ذرت در جیره پولت‌های تخمگذار اثر معنی‌داری بر وزن زرده، ارتفاع زرده و شاخص هاو ندارد.

تیتر آنتی‌بادی کل و اختصاصی علیه گلبول قرمز گوسفند (SRBC)

اثرات تیمارهای آزمایشی بر میانگین آنتی‌بادی تولیدی کل و اختصاصی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی در جدول ۷ نشان داده شده است. تولید آنتی‌بادی کل (P<۰/۰۵) و IgG (P<۰/۰۱) علیه گلبول‌های قرمزگوسفندی در دوره اول (سن ۴۲ هفتگی) در تیمارهای دریافت‌کننده عصاره مالت جو نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. به طور مشخص بالاترین میزان تیتر آنتی‌بادی کل و IgG در دوره اول مربوط به تیمار دریافت‌کننده ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو بود. با این وجود در دوره دوم (سن ۴۳ هفتگی) مصرف عصاره مالت جو بر تولید آنتی‌بادی کل و IgG اثر معنی‌داری نداشت.

تولید آنتی‌بادی اختصاصی IgM در هیچ دوره‌ای تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. هرچند در دوره دوم بالاترین میزان غلظت سرمی آنتی‌بادی اختصاصی IgM به صورت عددی مربوط به تیمار دریافت کننده ۴ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو بود (P=۰/۰۵). به طورکلی همان‌گونه که قابل مشاهده است در همه گروه‌های آزمایشی، میزان تولید آنتی‌بادی کل و آنتی‌بادی اختصاصی G در دوره دوم نسبت به دوره اول افزایش یافت. افزایش آنتی‌بادی می‌تواند به دلیل گذشت زمان و افزایش تیتر در طول دوره پرورش باشد که نشان‌دهنده افزایش عملکرد ایمنی پرندگان است. این افزایش عملکرد می‌تواند در اثر افزایش قابلیت هضم و جذب مواد غذایی و یا افزایش دسترسی به مواد مغذی باشد چرا که از همین طریق ممکن است آمینواسیدهای بیشتری را جهت سنتز ایمونوگلوبین‌ها در دسترس پرنده قرارداده باشد (۱۳).

جدول ۷- اثر سطوح مختلف عصاره مالت جو بر میانگین تیتر آنتی بادی علیه گلبول قرمز (SRBC) گوسفندی۱

Table 7- Effect of different levels of barley malt extract on antibody titers against SRBC[1]

		تیمارها[۲] Treatment[2]				
	SRBC[3]	شاهد Control	۲ کیلوگرم/تن 2 kg/ton	۴ کیلو/تن 4 kg/ton	SEM	p-value
دوره اول Primary	تیتر آنتی بادی علیه SRBC (log_2) antibody titers against SRBC (log_2)	1.42^{b}	1.70^{a}	1.57^{ab}	0.059	0.045
	غلظت IgG (log_2) IgG concentration (log_2)[4]	0.68^{b}	1.23^{a}	1.03^{a}	0.087	0.007
	غلظت IgM (log_2) IgA concentration (log_2)[5]	0.74	0.47	0.56	0.060	0.052
دوره دوم Secondary	تیتر آنتی بادی علیه SRBC (log_2) antibody titers against SRBC (log_2)	1.62	1.77	1.62	0.056	0.24
	غلظت IgG (log_2) IgG concentration (log_2)[4]	1.14	1.11	0.83	0.060	0.094
	غلظت IgM (log_2) IgA concentration (log_2)[5]	0.47	0.65	0.79	0.078	0.085

[۱]میانگین‌هایی با حروف متفاوت در هر یک از اثرات، از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشند.

[۲]تیمار شاهد، جیره پایه به همراه ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو، جیره پایه به همراه ۴ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو

[1]Mean with different superscript letters in each effect are statistically significant (p<0.05).

[2]Control treatment, control treatment plus 2 kg/ton barley malt extract, control treatment plus 4 kg/ton barley malt extract

[3]Sheep Red Blood Cell

[4] Immunoglobulin G (mercaptoethanol-resistant anti-SRBC antibodies)

[5] Immunoglobulin M (mercaptoethanol-sensitive anti-SRBC antibodies)

تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل و آنفولانزا

نتایج مربوط به تأثیر افزودن عصاره مالت جو در سطوح مختلف به جیره مرغ‌های تخمگذار بر میانگین تیتر آنتی‌بادی کل علیه ویروس نیوکاسل و آنفولانزا در سن ۳۵ و ۴۲ هفتگی در جدول ۸ ارائه شده است. افزودن عصاره مالت جو بر تیتر تولیدی آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل در سنین ۳۵ و ۴۲ هفتگی تاثیر معنی‌داری نداشتند. برخلاف انتظار، تیتر تولیدی آنتی‌بادی علیه ویروس آنفولانزا در دوره اول در گروه شاهد نسبت به دو تیمار دریافت‌کننده عصاره مالت جو به صورت معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۱)، ولی در دوره دوم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها مشاهده نشد. به طور کلی، افزایش آنتی-بادی تولیدی علیه ویروس نیوکاسل و آنفولانزا در سرم خون پرنده، نشان‌دهنده افزایش سطح ایمنی در بدن پرنده است که منجر به بالا رفتن مقاومت پرنده در برابر این دو بیماری رایج در صنعت مرغداری می‌شود. استفاده از عصاره مالت جو بر تیتر تولیدی آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل در مرغ‌های تخمگذار معنی‌دار نبود. اگرچه تیتر تولیدی آنتی‌بادی علیه ویروس آنفولانزا در دوره اول در سایر تیمارها نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵) ولی در دوره دوم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۸- اثر سطوح مختلف عصاره مالت جو بر میانگین تیتر آنتی بادی علیه ویروس نیوکاسل و آنفولانزا[1]

Table 8- Effect of different levels of barley malt extract on antibody titers against NDV[2] and AI[3]

		تیمارها[4] Treatment[4]				
		شاهد Control	۲ کیلوگرم/تن 2 kg/ton	۴ کیلوگرم/تن 4 kg/ton	SEM	p-value
تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل (log_2) Antibody titers against NDV (log_2)	۳۵ هفتگی 35 week	3.23	3.29	3.22	0.038	0.36
	۴۲ هفتگی 42week	3.20	3.14	3.19	0.032	0.29
تیتر آنتی‌بادی علیه آنفولانزا (log_2) Antibody titers against AI (log_2)	۳۵ هفتگی 35 week	2.80[a]	2.66[b]	2.54[b]	0.041	0.001
	۴۲ هفتگی 42week	2.47	2.54	2.50	0.033	0.568

[1]میانگین‌هایی با حروف متفاوت در هر یک از اثرات، از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشند.

[4]تیمار شاهد، جیره پایه به همراه ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو، جیره پایه به همراه ۴ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو

[1]Mean with different superscript letters in each effect are statistically significant (p<0.05).

[2] Newcastle disease virus

[3] Avian influenza

[4] Control treatment, control treatment plus 2 kg/ton barley malt extract, control treatment plus 4 kg/ton barley malt extract

هیستولوژی ژژنوم

نتایج مربوط به تأثیر مکمل نمودن عصاره مالت جو در جیره بر پارامترهای هیستولوژیک روده کوچک مرغ‌های تخمگذار در جدول ۹ ارائه شده است. تیمارهای حاوی عصاره مالت جو سبب افزایش طول پرز[3] و نسبت طول پرز به عمق کریپت (VH:CD)[4] ژژنوم شدند (P<۰/۰۵). شاخص‌های عرض پرز[5] و عمق کریپت[6] تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. اگرچه مساحت پرز در تیمار مکمل شده با ۴ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو افزایش یافته بود ولی با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت. قطر لایه ماهیچه‌ای و اپیتلیومی در تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای مکمل شده با عصاره جو بالاتر بود (P<۰/۰۵).

یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مکمل کردن عصاره مالت جو به جیره مرغ‌های تخمگذار می‌تواند سبب افزایش سلامت روده مرغ‌های تخمگذار شود. در مقابل، صدقی و اکبری مقدم کاخکی (۲۸) بیان کردند که ارتفاع پرز، عمق کریپت و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در جوجه‌های گوشتی، تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت اما مساحت جذب ژژنوم در تیمارهای دریافت‌کننده عصاره مالت جو تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد داشت. یکی از روش‌های معمول برای بررسی اثرگذاری یک تیمار بر خصوصیات هیستولوژیک روده، اندازه‌گیری ارتفاع پرز و عمق کریپت می‌باشد که معمولاً با شاخص نسبت طول پرز به عمق کریپت بیان می‌شود و نشانگر یکپارچگی و سلامت در قسمت‌های مختلف روده است (۳۳). افزایش

1- Villus height
2- Villus height:crypt depth ratio
3- Villi width
4- Crypt depth

طول پرز سبب افزایش سطح جذب مواد مغذی (۱۰) و در مقابل پرزهای کوتاهتر و کریپت‌های عمیق‌تر منجر به کاهش جذب مواد مغذی و عملکرد پایین پرنده می‌شود (۳۴). علاوه بر این، کریپت‌های عمیق‌تر می‌توانند نشان‌دهنده جایگزینی سریع انتروسیت ها باشند که احتمالا در پاسخ به آسیب ناشی از پاتوژن‌ها یا سموم در سطح اپتلیال است (۳۱).

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی از یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که افزودن عصاره مالت جو به جیره سبب بهبود شاخص‌های کیفی تخم-مرغ، پاسخ‌های ایمنی هومورال، طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت در روده کوچک مرغ‌های تخمگذار می‌شود. با توجه به اینکه سطوح ۲ و ۴ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو در جیره دارای اثرات مشابهی بودند، لذا برای اقتصادی کردن جیره، افزودن ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو به جیره مرغ‌های تخمگذار توصیه می‌گردد.

جدول ۹- اثر سطوح مختلف عصاره مالت جو بر مورفولوژی ژژنوم[۱]

Table 9- Effect of different levels of barley malt extract on morphology of jejunum[1]

	تیمار[۲] Treatments[2]				
	شاهد control	۲ کیلوگرم/تن 2 kg/ton	۴ کیلوگرم/تن 4 kg/ton	SEM	P-value
طول پرز Villi height (µm)	687.83[b]	713.83[a]	741.83[a]	10.867	0.0001
عرض پرز Villi width (µm)	137.167	139.333	131.167	2.344	0.07
عمق کریپت Crypt depth (µm)	112.167	112.333	114.150	6.22	0.64
نسبت طول پرز به عمق کریپت VH:CD[3]	6.150[c]	7.417[b]	8.330[a]	0.150	0.0001
قطر لایه ماهیچه‌ای Muscular layer (µm)	177.667[a]	150.333[b]	137.833[c]	13.44	0.0001
قطر لایه اپیتلیوم Epithelial layer (µm)	37.500[b]	42.000[a]	43.667[a]	3.61	0.0006
مساحت پرز Villi surface area (mm^2)	0.352	0.296	0.385	0.0054	0.0906

[۱]میانگین‌هایی با حروف متفاوت در هر یک از اثرات، از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشند.

[۲]تیمار شاهد، جیره پایه به همراه ۲ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو، جیره پایه به همراه ۴ کیلوگرم در تن عصاره مالت جو

[1]Mean with different superscript letters in each effect are statistically significant (p<0.05).

[2]Control treatment, control treatment plus 2 kg/ton barley malt extract, control treatment plus 4 kg/ton barley malt extract

[3]villus height:crypt depth ratio

Refrences

1. Adhikari, P., and W. Kim. 2017. Overview of prebiotics and probiotics: focus on performance, gut health and immunity. Annals of Animal Science, 17.4: 949-966.
2. Akhlaghi, A., M. J. Zamiri, Y. J. Ahangari, H. Atashi, Z. A. Pirsaraei, H. Deldar, and S. R. Hashemi. 2013. Oral exposure of broiler breeder hens to extra thyroxine modulates early adaptive immune responses in progeny chicks. Poultry Science, 92: 1040-1049.
3. Andersen, M. L., and L. H. Skibsted. 1998. Electron spin resonance spin trapping identification of radicals formed during aerobic forced aging of beer. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46 (4): 1272-5.1.
4. Bailey, J. S. 1987. Factors affecting microbial competitive exclusion in poultry. Food Technology, 41- 88.
5. Bedford, M. R. 1995. Mechanism of action and potential environmental benefits from the use of feed enzymes. Animal Feed Science and Technology, 53: 145-155.
6. Briggs, D. E., C. A. Boulton, P. A. Brookes, and R. Stevens. 2004. Malts, adjuncts and supplementary enzymes. Brewing science and practice. CRC Press: Boca Raton, FL, USA.
7. Carvalho, D. O., E. Correia, L. Lopes, and L. F. Guido. 2014. Further insights into the role of melanoidins on the

antioxidant potential of barley malt. Food Chemistry, 160: 127-33.
8. Carvalho, D. O., L. M. Goncalves, and L. F. Guido. 2016. Overall antioxidant properties of malt and how they are influenced by the individual constituents of barley and the malting process. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 15: 227-943.
9. Cheema. M. A., M. A. Qureshi, and G. B. Havenstein. 2003. A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 randombred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. Poultry Science, 82: 1519-1529.
10. Chichlowski, M., W. J. Croom, F. W. Edens, B. W. MacBride, R. Qiu, C. C. Chiang, L. R. Daniel, G. B. Havenstein, and M. D. Koci. 2007. Microarchitecture and spatial relationship between bacteria and ileal, cecal and colonic epithelium in chicks fed a direct-fed microbial, PrimaLac and Salinomycin. Poultry Science, 86: 1121-1132.
11. Cleveland, J., T. J. Montville, I. F. Nes, and M. L. Chikindas. 2001. Bacteriocins: Safe, natural antimicrobials for food preservation. International Journal of Food Microbiology, 71: 1-20.
12. Fox, S. M. 1988. Probiotics intestinal inoculents for production animals. Veterinary Medicine, 83: 806-830.
13. Guo, Y., R. A. Ali, and M. A. Qureshi. 2003. The influence of beta-glucan on immune responses in broiler chicks. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 25: 461-72.
14. Horwitz, W. 2010. Official methods of analysis of AOAC International. AOAC International. Gaithersburg.
15. Iji, P., A. Saki, and D. Tivey. 2001. Intestinal development and body growth of broiler chicks on diets supplemented with non-starch polysaccharides. Animal Feed Science and Technology, 89: 75-188.
16. Kebede, H., M. Urge, and K. Kebede. 2015. Effect of replacing maize with malted barley grain on egg quality and laying hen's performance of white leghorn. Global Journal of Science Frontier Research, 15: 74-86.
17. Kunz, T., A. Strahmel, N. Cortes, L. W. Kroh, and F. J. Methner. 2013. Influence of intermediate Maillard reaction products with enediol structure on the oxidative stability of beverages. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 71(3): 114-23.
18. Kunz, T., C. Muller, D. Mato-Gonzales, and F. J. Methner. 2012. The influence of unmalted barley on the oxidative stability of wort and beer. Journal of the Institute of Brewing, 118(1): 32-9.
19. Landete, J. M. 2013. Dietary intake of natural antioxidants: vitamins and polyphenols. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 53 (7):706-21.
20. Lazaro, R., M. Garcia, M. J. Aranibar, and G. G. Mateos. 2003. Effect of enzyme addition to wheat, barley and ryebased diets on nutrient digestibility and performance of laying hens. British Poultry Science, 44: 256-265.
21. Leitao, C., E. Marchioni, M. Bergaentzle, M. Zhao, L. Didierjean, L. Miesch, E. Holder, M. Miesch, and S. Ennahar. 2012. Fate of polyphenols and antioxidant activity of barley throughout malting and brewing. Journal of Cereal Science, 55(3): 318-22.
22. Ma, X., Z. Guo, D. Wang, Y. Hu, and Z. Shen. 2010. Effects of sulfated polysaccharides and their prescriptions on immune response of ND vaccine in chicken. Carbohydrate Polymers, 82(1): 9-13.
23. Qingming, Y., P. Xianhui, K. Weibao, Y. Hong, S. Yidan, Z. Li, Z. Yanan, Y. Yuling, D. Lan, and L. Guoan. 2010. Antioxidant activities of malt extract from barley (Hordeum vulgare L.) toward various oxidative stress in vitro and in vivo. Food Chemistry, 118: 84-89.
24. Reinhard, T. 2014. Superfoods: The healthiest foods on the planet. 2nd ed. Firefly Books, North American.
25. Rimsten, L. 2003. Extractable cell-wall polysaccharides in cereals, with emphasis on β-glucan in steeped and germinated barley. Diss. (sammanfattning/summary) Uppsala: Sveriges lantbruksuniv., Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. Agraria, 401: 1401-6249.
26. Roberts, J. R., and M. Choct. 2006. Effects of commercial enzyme preparations on egg and eggshell quality in laying hens. British Poultry Science, 47: 501-510.
27. SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT®9.1 User Guids. Cary, NC: SAS Institute Inc.
28. Sedghi, M., and R. A. M. Kakhki. 2018. Effects of dietary supplementation of barley malt extract and malt vinegar on growth performance, jejunal morphology and meat quality of broiler chickens. Poultry Science Journal, 6(2): 129-137.
29. Tian, B., B. Xie, J. Shi, J. Wua, Y. Cai, T. Xu, S. Xue, and Q. Deng. 2010. Physicochemical changes of oat seeds during germination. Food Chemistry, 119: 1195-1200.
30. Vanderhaegen, B., H. Neven, H. Verachtert, and G. Derdelinckx. 2006. The chemistry of beer aginga critical review. Food Chemistry, 95(3): 357-81.
31. Vicente, J. L., A. Torres-Rodriguez, S. E. Higgins, C. Pixley, G. Tellez, A. M. Donoghue, and B. M. Hargis. 2008. Effect of a selected Lactobacillus spp.-based probiotic on Salmonella enterica serovar Enteritidis-infected broiler chicks. Avian Disease Journal, 52: 143-146.
32. Von Wettstein, D., G. Mikhaylenko, J. A. Froseth, and G. Kannangara. 2000. Improved barley broiler feed with transgenic malt containing heat-stable (1,3-1,4)-b-glucanase. Proceedings of the National Academy of Sciences,

97(25): 13512-13517.
33. Wilson, F. D., T. S. Cummings, T. M. Barbosa, C. J. Williams, P. D. Gerard, and E. D. Peebles. 2018. Comparison of two methods for determination of intestinal villus to crypt ratios and documentation of early age-associated ratio changes in broiler chickens. Poultry Science, 97(5): 1757-1761.
34. Xu, Z. R., C. H. Hu, M. S. Xia, X. A. Zhan, and M. Q. Wang. 2003. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. Poultry Science, 82: 1030-1036.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 601-614

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۶۱۴-۶۰۱

Effects of Barley Malt Extract on Performance, Immune Responses and Jejunal Histology of Laying Hens

Mohammad Sedghi[1*], Mojtaba Dalvi Esfahani[2], Amir Hossein Mahdavi[3], Raziye Ghasemi[4]

Submitted: 13-04-2020
Accepted: 05-11-2021

Sedghi, M., M. Dalvi Esfahani, A. H. Mahdavi and R. Ghasemi. 2021. Effects of Barley Malt Extract on Performance, Immune Responses and Jejunal Histology of Laying Hens. Iranian Journal of Animal Science Research 13(4):601-614.

Introduction: Several studies have been performed in order to improve feed utilization and reduce the feed costs. For this purpose, various additives have been used to improve the health and production performance of poultry. Barley malt extract is one of the additives that has recently been introduced for using in domestic animal feeds. Barley malt extract is produced from barley grains through a process called the malting. Malting is the process of cereal grains germination that have been dried. The germination starts by soaking barley grains in water. The malting process make changes in barley, which involves the alteration and degradation of phenolic compounds and the production of Maillard reaction products, which have a significant effect on the antioxidant content of malt. Malt is known as a natural source of antioxidants, B vitamins and minerals such as iron, zinc, calcium, magnesium and phosphorus. Malt extract is available in both powder and liquid forms, the liquid form of that is thick syrup and has been used extensively for several applications, such as brewing, baking, food flavoring or as an appetizer. The results of previous study showed that adding malt extract to the broiler diet can improve performance of broiler as well as villus width and villi surface area. However, based on our literature review there is no data available to evaluate the effect of adding barley malt extract on the performance of laying hens. Therefore, the aim of this study is to evaluate the effects of adding different levels of barley malt extract to the diet on performance, egg quality, immune response and intestinal morphology of laying hens during 29 to 46 weeks of age.

Materials and Methods: In this study, 432 Hyline W36 laying hens were used in a completely randomized design with three treatments and six replicates of 24 birds each, for 18 weeks. The experimental treatments included 0, 0.2 and 0.4% barley malt extract levels. Feed intake, feed conversion ratio, egg production, egg mass, egg weight, shell thickness and strength, shell weight and internal quality CHARACTERISTICS of eggs were evaluated during the experiment. In addition, antibody titers against sheep red blood cells (SRBC), Newcastle and influenza viruses were measured two times at specific intervals after the respective vaccinations. At the end of the experimental period after slaughter, 2-cm segment was separated from the jejunal region anterior to Meckel's diverticulum. Tissue samples were evaluated for the villus height, villus width, crypt depth, villus height:crypt depth ratio (VH:CD), villus surface area, muscular layer and epithelial layer.

Results and Discussion: The results showed that although percentage of egg production, egg weight and egg mass were not affected by the experimental treatments, but adding malt extract numerically showed better egg production persistency at the end of experimental period. Also feed conversion ratio and feed intake in the laying hens at 28 to 46 weeks of age (peak production and post-peak) were not affected by the experimental treatments. Egg shell thickness ($P<0.001$), haugh unit(HU) index and yolk height ($P<0.01$) were affected by experimental

1- Assistant professor, Department of Animal Sciences, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

2- Master of Science of Poultry Nutrition, Department of Animal Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

3-Associate professor, Department of Animal Sciences, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

4-Master of Science of Poultry Nutrition, Department of Animal Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

(*- Corresponding Author Email: mo.sedghi@iut.ac.ir)

Doi:10.22067/ijasr.2021.38287.0

treatments, briefly treatments supplemented with malt extract showed higher egg quality for mentioned criteria as compared to the control group. Furthermore the treatments supplemented with barley malt extract numerically increased eggshell strength (P=0.076). Total antibody concentration against SRBC and Immunoglobulin G (IgG) increased in the treatments supplemented with 0.2 and 0.4% barley malt extract during the primary period ($p < 0.05$). Antibody productions were not affected against the Newcastle viruses. In the first period of the experimental treatment antibody production were affected against influenza viruses; briefly, the highest antibody production was related to those birds that fed with the control diet. In addition, the results show that supplementation of barley malt extract in the diet can increase the villi height, villi height to crypt depth ratio and villi surface area. Villus width, crypt depth and muscular and epithelial layer were not influenced by adding barley malt extract to the laying hen diet.

Conclusion: The results of this study showed that adding barley malt extract to the diet of laying hen may improve egg quality and antibodies production against SRBC. Furthermore, barley malt extract may increase the villus height, villus height: crypt depth ratio and villi surface area, and consequently improve the digestive capacity of laying hens.

Keywords: Barley malt extract, Immune system, Intestinal Histology, Laying hens, Performance

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 615-627

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۶۲۷-۶۱۵

مقاله پژوهشی

بررسی اثر پرسپترون چند لایه در صحت انتخاب ژن های ریز RNA کرم ابریشم (*Bombyx mori*)

عاطفه سیددخت [۱*]، جواد رحمانی نیا [۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۲۹

سیددخت، ع.، و ج. رحمانی نیا. ۱۴۰۰. بررسی اثر پرسپترون چند لایه در صحت انتخاب ژن های ریز RNA کرم ابریشم (*Bombyx mori*) . پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۳(۴): ۶۲۷-۶۱۵.

چکیده

ریز RNA ها خانواده ای گسترده از مولکول های RNA کوتاه غیر کد کننده پروتئینی (ncRNA) و دارای وظایفی مهم در تنظیم فرآیندهای رشد در گیاهان و حیوانات هستند. مطالعات اندکی در ارتباط با ریز RNA های کرم ابریشم که از نظر اقتصادی بسیار مهم نیز هستند، با تمرکز بر شناسایی، آنالیز بیان و پیش بینی عملکرد انجام شده است. به طور کلی توالی ریز RNA ها در سرتاسر گونه ها بسیار محافظت شده هستند و از ساختار ساقه-حلقه اولیه در هسته که از ویژگی های بسیار مهم ریز RNA ها است، تولید می شوند. ریز RNA ها از مهمترین عوامل تنظیمی دخیل در سطوح پس از رونویسی پس از بیان ژن هستند که در تنظیم تعداد زیادی از فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند رشد و نمو، متابولیسم و وقوع بیماری ها مشارکت می کنند. با اینکه هزاران ریز RNA در گونه های مختلف شناسایی شده اند، تعداد خیلی زیادی هنوز هم ناشناخته باقی مانده است. بنابراین کشف ژن های جدید ریز RNA یک گام مهم برای درک ریز RNA هایی است که مکانیسم های تنظیم پس از رونویسی را واسطه گری می کنند. روش های بیولوژیکی برای شناسایی ژن های ریز RNA ممکن است در شناسایی تشخیص ریز RNA های نادر محدودیت داشته باشند و بیشتر محدود به بافت های خاص و مراحل رشد و نموی ارگانیسم تحت آزمایش می شوند. این محدودیت ها منجر به پیشرفت روش های محاسباتی پیشرفته برای شناسایی ریز RNA های احتمالی جدید شده است. استفاده از روش های محاسباتی باعث افزایش دقت در شناسایی ریز RNA های کرم ابریشم خواهد شد. در این پژوهش، انواع مدل های محاسباتی برای شناسایی توالی های ریز RNA استفاده شد. با استفاده از داده های مناسب و استخراج ویژگی های بیولوژیکی مؤثر، عملکرد این روش ها ارزیابی شد. در مقایسه با سایر مدل های استفاده شده در این تحقیق، مدل پرسپترون چند لایه با بیشترین مقادیر دقت، معیار F و ضریب همبستگی متیو به عنوان روشی مناسب جهت پیش بینی توالی های ریز RNA در کرم ابریشم معرفی شد.

واژه های کلیدی: روش های محاسباتی، عوامل تنظیمی، کرم ابریشم، ریز RNA

مقدمه

تلاش های اخیر برای رهگیری ژن های ریز RNA سبب کشف هزاران ریز RNA در گونه های مختلف شده است، اما بسیاری از آن ها هنوز شناسایی نشده اند (۶). بیشتر این کوشش ها از روش های آزمایشگاهی مانند همسانه سازی مستقیم RNA های کوچک با منشأ داخلی که زمان بر، پر هزینه و نیازمند کار بسیار هستند، استفاده می کنند (۳۳). این واقعیت که ریز RNA ها در انواع سلول های ویژه در سطوح پایین یا فقط در یک شرایط خاص بیان می شوند و تشخیص

۱-بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.
۲-مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

(*- نویسنده مسئول: (Email: a.seyeddokht@areeo.ac.ir
Doi:10.22067/ijasr.2020.38276.0

آزمایشگاهی آن ها را پیچیده می کند، نشان دهنده ناکافی بودن روش های آزمایشگاهی جهت شناسایی ریز RNA های جدید است. برای رفع این مشکلات چندین روش محاسباتی جهت تشخیص ژن های ریز RNA طراحی و استفاده شده است.

شناسایی ریز RNA ها پیچیده است و به یک استراتژی بین رشته ای نیاز دارد. پیشرفت های کنونی فن آوری مانند تعیین توالی پربازده سبب شده است تا الگوهای بیان آن ها آسان تر شناسایی شود (۲۹). در سال های اخیر رویکردهای بیوانفورماتیکی و زیست شناختی امکان کشف هزاران ریز RNA را در گیاهان (۴۹)، حیوانات (۱)، یوکاریوت های تک سلولی (۲۶، ۴۲) و ویروس ها (۲۲، ۴۵) فراهم کرده اند. بسیاری از توالی های آزمایشگاهی آن ها، اکنون در miRBase، مخزن اصلی توالی ها و حاشیه نویسی ریز RNA ها جمع آوری شده اند. آخرین نسخه miRBase نسخه ۲۲ می باشد که شامل تعداد ۳۵۵۸۹ ریز RNA پیش ساز مربوط به ۲۷۱ گونه می باشد (۱۸). راهکارهای معمولی که برای کشف ریز RNA ها استفاده می شود، شامل همسانه سازی (۶)، وسترن بلات (۴۶)، ریزآرایه (۲۵) و هیبریداسیون درجا (۳۲) است که زمان بر و پر هزینه هستند (۲۸). فن آوری تعیین توالی نسل بعدی (NGS)، روشی قابل اعتماد و حساس برای تعیین مقدار ریز RNA های شناخته شده و شناسایی مواردی است که کمتر رایج هستند (۴). بسیاری از الگوریتم ها برای کشف ریز RNA های جدید از داده های NGS استفاده می کنند. الگوریتم های محاسباتی برای افزایش دقت در روش های آزمایشگاهی جهت شناسایی و اعتبارسنجی ریز RNA های جدید سازگار شده اند. این ابزارها برخی از ویژگی های مهم ریز RNA را مانند حفاظت توالی در بین گونه ها و ویژگی های ساختاری مانند ساختار سنجاق سر و حداقل انرژی آزاد فولدینگ را در نظر می گیرند (۲۱). چندین ابزار مانند RNAfold و Mfold برای به دست آوردن ساختار ثانویه مبتنی بر حداقل انرژی آزاد، ابزارهای محاسباتی اصلی هستند که برای یافتن ژن های ریز RNA مورد استفاده قرار می گیرند. روش های بیوانفورماتیک مقدماتی، ریز RNA های مورد نظر در توالی های ژنوم را با هدف قرار دادن ساختار RNA ثانویه، یعنی ساختارهای سنجاق سر محافظت شده که مشخصه توالی های پیش ساز ریز RNA در گونه های مرتبط هستند، پیش بینی می کنند. MiRscan (۲۳) و miRseeker (۱۹) اصلی ترین ابزارهایی هستند که توالی های درون ژنی محافظت شده را که می توانند ساختارهای سنجاق سر را براساس RNAfold و Mfold تشکیل دهند، مورد هدف و شناسایی قرار می دهند. آن گاه MiRscan ساختارهای شناسایی شده را با ویژگی های ریز RNA های شناخته شده همانند حفاظت ساقه '۳ و '۵ مقایسه می کند، در حالی که miRseeker سنجاق سرهایی را که الگوهای واگرایی نوکلئوتیدی مشابه را با مجموعه مرجع به اشتراک می گذارند، انتخاب می کند. MiRscan و miRseeker اولین مرتبه برای شناسایی ریز RNA ها در نماتدها و مگس ها استفاده شدند و تعداد زیادی از کاندیدهای پیش بینی شده به صورت آزمایشگاهی تأیید شدند. با این حال، از آن جایی که ابزارهای مبتنی بر روش های مقایسه ای اساساً روی ریز RNA های محافظت شده تکامل یافته تمرکز می کنند، محدود به کشف ریز RNA های جدید هستند. در ادامه، راهکارهای یادگیری ماشینی برای پیش بینی ریز RNA های جدید ابداع شده است. این راهکارها با گسترش تجزیه و تحلیل های فراتر از خصوصیات توالی و ساختار، پیش بینی ریز RNA های ناشناخته را بهبود بخشیده اند. الگوریتم های فراگیری ماشینی به برنامه های رایانه ای اجازه می دهند تا از اطلاعات جمع آوری شده از ریز RNA های تأیید شده قبلی به عنوان استانداردهای ریز RNA مثبت استفاده کنند. الگوریتم هایی همچون مدل پنهان مارکوف (HMM)، طبقه بندی کننده بیز (NBC) و ماشین بردار پشتیبان (SVM) (۲۸) از این دسته اند. روش های HMM شناخت الگو را در بین مجموعه داده ها به ویژه توالی های نوکلئوتیدی ارائه می دهند (۲). مدل NBC، مدلی طبقه بندی کننده است که با استفاده از روشی نسبتاً ساده در یک مجموعه داده آموزشی بدست آمده است. NBC احتمال اینکه محاسبه یک نمونه متعلق به طبقه ای خاصی باشد (۵۱) را محاسبه می کند. SVM طبقه بندی کننده ای است که اشیاء را بر اساس مجموعه ای از ویژگی ها برای هر شی دسته بندی می کند. این طبقه بندی کننده، بردارها را از یک طبقه مثبت و یک طبقه منفی مقایسه می کند و یک ابر صفحه[1] برای تولید بهترین حاشیه جدا کننده بین آن ها فراهم می کند (۴۰،۵). ابزارهای مختلفی براساس این رویکردها برای پیش بینی ریز RNA ها از گونه های مختلف تهیه شده است. به عنوان مثال، HMM مبتنی بر ابزار ProMir (۳۱) یک مدل احتمالاتی یادگیری مشترک مبتنی بر توالی های محافظت شده و ساختارهای ثانویه است که برای پیش بینی ژن های ریز RNA انسانی استفاده می شود. نسخه بهبود یافته ProMiR II (۳۰) ، معیارهای فیلتر اضافی دیگری مانند نسبت G/C، نمره حفاظت، آنتروپی و انرژی آزاد توالی های کاندید را ارائه می دهد. پیش بینی ژن های ریز RNA محافظت شده و غیر محافظت شده همچنین با تنظیم معیارهای فیلتر امکان پذیر است. استفاده از مجموعه های داده های آموزشی مناسب، امکان استفاده از همه گونه ها را فراهم می کند. MiRRim (۴۳) یکی دیگر از ابزارهای مبتنی بر HMM است که هر دو ویژگی ساختار تکاملی و ثانویه ژن ریز RNA را برای دستیابی به توالی های جدید در نظر می گیرد. این ابزار شناسایی با کارآیی زیادی ریز RNA های جدید انسانی، به ویژه آن هایی که با ریز RNA های شناخته شده خوشه بندی شده اند، را در نظر می گیرد. HHMMiR (۱۷) به صورت *de-*

1- Hyperplane

novo سنجاق سرهای ریز RNA را در غیاب حفاظت تکاملی پیش بینی می کند. در این روش از یک HMM سلسله مراتبی بهره گیری می شود که از توالی مبتنی بر ناحیه به عنوان اطلاعات ساختاری پیش سازهای ریز RNA استفاده می کند. ابزار دیگری که آزادانه در دسترس است، ابزار پیش بینی SSCprofiler (۳۵) می باشد که از یک روش احتمالی مبتنی بر HMM برای پروفایل آموزش داده شده، در تشخیص ریز RNA ها استفاده می کند.

جمع آوری مجموعه داده های مناسب برای اغلب الگوریتم های یادگیری ماشین برای تولید یک طبقه بندی گر خوب آموزش دیده، بسیار ضروری است. اگر توالی ها خیلی مصنوعی باشند، آن گاه احتمال زیادی وجود دارد که روش یادگیری ماشین برای اینکه بین ریز RNA های واقعی و توالی های غیر ریز RNA تفکیک قائل شود، به اندازه کافی آموزش داده نشود (۴۸). از سویی دیگر، اگر مجموعه داده های منفی دارای تشابه زیادی با مجموعه داده های مثبت باشند، روش یادگیری ماشین ناتوان از تمایز بین این دو مجموعه داده خواهد بود (۴۸).

در پژوهش حاضر، مدل های طبقه بندی کننده مختلفی پیشنهاد شده اند که قادر به طبقه بندی ریز RNA های پیش ساز واقعی از ساختارهای سنجاق سر کاذب[1] و همچنین از سایر RNA های غیر کد کننده می باشند.

مواد و روش‌ها

داده های مثبت برای پیش بینی ژن های ریز RNA از نسخه ۲۲ miRBase(۱۸) استخراج شد. با این حال برخی از ورودی ها در سایر پایگاه های داده وجود دارد که به عنوان ریز RNA ها پیشنهاد می شوند، اما آن ها خواص لازم برای طبقه بندی به عنوان ریز RNA ها را از جمله داشتن بیش از یک حلقه برآورده نمی کنند. مشخص شده است که مجموعه توالی هایی که به عنوان کنترل مثبت های مرجع، از miRBase گرفته شده است، برای ایجاد یک مجموعه با اطمینان بالا برای استفاده به عنوان کنترل مثبت دارای اعتبار می باشد. همچنین مشخص شده است که دقت پیش بینی پس از فیلتر ریز RNA های غیر محتمل می تواند بهبود یابد (۳۹). به جز این مشکلات کوچک، در مطالعات پیش بینی ژن ریز RNA، انتخاب نمونه های مثبت (به عنوان نمونه با استفاده از نمونه های ریز RNA های شناخته شده) معمولاً مشکل نیست، در حالی که ایجاد نمونه های منفی چالش برانگیز است (۲۴). در پژوهش حاضر داده های مثبت شامل ۳۹۰ توالی های ریز RNA پیش ساز کرم ابریشم (*Bombyx mori*) است که از پایگاه miRBase نسخه ۲۲ (۱۸) استخراج شده است.

ویژگی های استفاده شده، شامل ویژگی های ترمودینامیکی مانند حداقل انرژی آزاد با شاخص های مختلف، ویژگی های موقعیتی و درصد G+C می باشد. کد های لازم برای محاسبه این ویژگی ها در نرم افزار C# پیاده سازی شد. ویژگی های ترمودینامیکی و ساختار ثانویه با استفاده از وب سرور (http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi) RNAfold استخراج شد.

همچنین ساختار ثانویه، حداقل انرژی آزاد (MFE) و ویژگی های وابسته به جفت بازی شامل تعداد جفت بازها و میانگین جفت بازها به ازای هر توالی، محاسبه و برای آموزش مدل ها مورد استفاده قرار گرفت.

در ساختار ثانویه پیش بینی شده، برای هر نوکلئوتید فقط دو موقعیت جفت شده یا جفت نشده وجود دارد و به ترتیب توسط براکت های ')' یا '(' و نقطه '. ' نشان داده می شود. براکت چپ ')' نشان می دهد که نوکلئوتید جفت شده در نزدیک انتهای ´۵ قرار دارد و با یک نوکلئوتید دیگر در انتهای ´۳ می تواند جفت شود که به عنوان یک براکت راست '(' نشان داده می شود. در RNAFold این دو وضعیت از هم تفکیک نشده است و از ')' برای هر دو موقعیت استفاده شده است. برای هر سه نوکلئوتید مجاور، هشت ترکیب ساختار احتمالی (۲^۳) وجود دارد: ')))' ، '.))'، '..)'، '...'، ')).'، ')..'، '.).'و ').).'. با در نظر گرفتن یک نوکلئوتید میانی در میان این سه نوکلئوتید، (۸×۴) ۳۲ ترکیب از توالی های ساختاری وجود دارد، که به شکل ')))U'، A'))'. و غیره علامت گذاری می شود (۱۶) (شکل ۱).

معیار های ویژگی های مورد استفاده

یکی از معیارهایی که توالی های RNA کوتاه باید دارا باشند تا بتوانند به عنوان ریز RNA طبقه بندی شوند، این است که باید توسط آنزیم Dicer شناخته و پردازش شده باشد. این در حالی است که وقتی یک مجموعه داده منفی تعریف می شود، این معیار باید برای اینکه کنترل منفی های انتخاب شده توسط آنزیم Dicer تشخیص داده نشوند، به طور مؤثر مورد استفاده قرار گیرد (۳۷). بنابراین این فرض که سنجاق سرهای مناطق اگزونی داده های منفی خوبی هستند، بسیار غیر قابل اطمینان است. در این پژوهش از چند نوع توالی های RNA غیر کد کننده کوتاه، به عنوان توالی های منفی استفاده شد.

مدل های محاسباتی

مدل های آموزشی مختلفی با استفاده از ویژگی های محاسبه شده برای توالی های ریز RNA کرم ابریشم توسط نرم افزار وکا مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند که عبارتند از:

1- pseudo hairpins

شبکه بیزی (Bayesian network)

یک گراف جهت دار غیرمدور است که مجموعه‌ای از متغیرهای تصادفی و نحوه ارتباط مستقل آن‌ها را نشان می‌دهد. شبکه بیزین یک ابزار مناسب برای شناسایی روابط احتمالی به منظور پیشگویی یا ارزیابی کلاس عضویت است (۲۷).

دسته‌بندی کننده بیز ساده (Naive Bayes classifier)

در یادگیری ماشین به گروهی از دسته‌بندی‌کننده‌های ساده بر پایه احتمالات گفته می‌شود که با فرض استقلال متغیرهای تصادفی و براساس قضیه بیز ساخته می‌شوند. به طور ساده روش بیز روشی برای دسته‌بندی پدیده‌ها، بر پایه احتمال وقوع یا عدم وقوع یک پدیده است. این روش از ساده ترین الگوریتم های پیش‌بینی است که دقت قابل قبولی هم دارد (۱۵).

پرسپترون چند لایه (Multilayer perceptron)

دسته ای از شبکه‌های عصبی مصنوعی پیشخور است. یک MLP شامل حداقل سه لایه گره است: یک لایه ورودی، یک لایه پنهان و یک لایه خروجی. به جز گره‌های ورودی، هر گره یک نورون است که از یک تابع فعال‌سازی غیر خطی استفاده می‌کند.MLP از تکنیک یادگیری نظارت شده به نام باز پرداخت برای آموزش استفاده می‌کند. لایه‌های متعدد آن و فعال‌سازی غیر خطی آن MLP را از یک پرسپترون خطی متمایز می‌کند. در واقع می تواند داده هایی را متمایز کند که به صورت خطی قابل تفکیک نیستند (۴۱).

گرادیان کاهشی تصادفی ((Stochastic Gradient (SGD))

روشی مبتنی بر تکرار برای بهینه سازی یک تابع مشتق پذیر به نام تابع هدف (تابع هزینه) است که یک تقریب تصادفی از روش گرادیان کاهشی می‌باشد. در حقیقت گرادیان کاهشی تصادفی الگوریتمی در اختیار ما قرار می‌دهد که طی چند حلقه تکرار مقدار کمینه یک تابع و مقادیری را که به ازای آنها تابع کمینه مقدار خود را می گیرد، بدست بیاوریم (۵۳).

رگرسیون لجستیک (Logistic regression)

یک مدل آماری رگرسیون برای متغیرهای وابسته دوسویی است. این مدل را می‌توان به عنوان مدل خطی تعمیم یافته‌ای که از تابع لوجیت به عنوان تابع پیوند استفاده می‌کند و خطایش از توزیع چند جمله‌ای پیروی می‌کند، به‌حساب آورد. منظور از دو سویی بودن، رخ داد یک واقعه تصادفی در دو موقعیت ممکنه است. زمانی که متغیر وابسته ما دو وجهی است و می‌خواهیم از طریق ترکیبی از توابع منطقی دست به پیش بینی بزنیم، از رگرسیون لجستیک استفاده می کنیم (۳۴).

یادگیری درخت تصمیم (Decision tree learning)

گروهی از الگوریتم های یادگیری ماشین هستند که در طبقه‌بندی آماری کاربرد دارند. درخت‌های تصمیم به گروه الگوریتم های یادگیری تحت نظارت تعلق دارند و بیشتر آنها بر اساس حداقل سازی کمیتی به نام آنتروپی ساخته می‌شوند. هرچند توابع دیگری هم برای یادگیری درخت تصمیم وجود دارند. نمونه های قدیمی درخت تصمیم تنها قادر به استفاده از متغیرهای گسسته بودند، اما الگوریتم های جدیدتر هر دو نوع متغیر گسسته و پیوسته را در یادگیری به کار می‌برند. یکی از مزایای مهم الگوریتم درخت تصمیم قابلیت فهم و تفسیر آسان است که محبوبیت این الگوریتم را بالا برده است (۳).

رگرسیون (Regression)

رگرسیون یک نوع مدل آماری است که برای پیش‌بینی یک متغیر از روی یک یا چند متغیر دیگر استفاده می شود. رگرسیون خطی نوعی تابع پیش بینی کننده خطی است که در آن متغیر وابسته، متغیری که قرار است پیش بینی شود، به صورت ترکیبی خطی از متغیرهای مستقل پیش بینی می شود، بدین معنی که هر کدام از متغیرهای مستقل در ضریبی که در فرایند تخمین برای آن متغیر به دست آمده ضرب می شود. جواب نهایی مجموع حاصل‌ضرب ها به علاوه یک مقدار ثابت خواهد بود که آن هم در فرایند تخمین به دست آمده است (۵۰).

آدابوست (AdaBoost)

این الگوریتم یک متا الگوریتم تطبیقی بوده که به منظور ارتقاء عملکرد و رفع مشکل رده های نامتوازن، همراه دیگر الگوریتم های یادگیری استفاده می‌شود. در این الگوریتم، طبقه بند هر مرحله جدید به نفع نمونه های غلط طبقه بندی شده در مراحل قبل تنظیم می‌گردد. آدابوست نسبت به داده‌های نویزی و پرت حساس است. ولی نسبت به مشکل بیش برازش از بیشتر الگوریتم های یادگیری برتری دارد. طبقه بند پایه که در اینجا استفاده می‌شود، فقط کافیست از طبقه‌بند تصادفی (۵۰ درصد) بهتر باشد و به این ترتیب بهبود عملکرد الگوریتم با تکرارهای بیشتر بهبود می یابد. حتی طبقه بندهای با خطای بالاتر از تصادفی با گرفتن ضریب منفی عملکرد کلی را بهبود می بخشند (۵۷).

اعتبارسنجی داده های مورد آنالیز

در این پژوهش از روش اعتبار سنجی متقاطع ده تایی برای تأیید داده های مورد آنالیز، استفاده شد. در این نوع اعتبارسنجی داده‌ها به K زیر مجموعه افراز می‌شوند. از این K زیر مجموعه، هر بار یکی برای آزمون و K-1 مورد دیگر برای آموزش به کار می‌روند. این روال K مرتبه تکرار می‌شود و همه داده‌ها دقیقاً یک بار برای آموزش و یک بار

برای آزمون به کار می‌روند. در نهایت میانگین نتیجه این K بار اعتبارسنجی به عنوان یک تخمین نهایی برگزیده می‌شود.

نتایج

بررسی ویژگی های ساختاری و ترمودینامیکی برای توالی های ریز RNA

خروجی نرم افزار RNAfold به عنوان نمونه، برای ریز RNA مربوط به let-7 (bmo-let-7 MI0004968) در شکل ۱ آورده شده است.

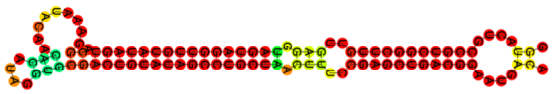
از این خروجی ها به عنوان ورودی به ازای هر توالی برای آموزش مدل های آموزشی استفاده شد.

```
1
GGUACUGCCGUCGGCUUGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUACGGAAAUACAACACAUAGGUGCGACUGUAUAGCCUGCUA
ACUUUCCGAGCUGACGGAAUGACA
1
.((....((((((((((..(((.((((((((((((((((.((....................)))))))))))))))))))))
.)))..))))))))))).....)).
```

شکل ۱– ساختار ثانویه برای توالی ریز RNA جایگاه Let-7 کرم ابریشم در نماد نقطه براکت (dot-bracket) با حداقل انرژی آزاد ۴۶/۳۰- kcal / mol

Figure 1- Secondary structure for Let-7 microRNA sequence of silkworm in dot-bracket symbols with a minimum free energy of -46/30 kcal/mol

شکل ۲، ساختار ثانویه برای توالی ریز RNA جایگاه Let-7 کرم ابریشم را نشان می دهد. رنگ ها در شکل ۲ نشان دهنده اندازه گیری های اعتبارسنجی برای موقعیت هر باز می باشد و هر باز توسط آنتروپی موقعیتی رنگ آمیزی شده است.



شکل ۲– ساختار ثانویه برای توالی ریز RNA جایگاه Let-7 کرم ابریشم

Figure 2- Secondary structure for Let-7 silkworm microRNA sequence

مدل های یادگیری ماشین

یادگیری ماشین در بسیاری از برنامه ها و مطالعات بیوانفورماتیک استفاده می شود. ایجاد روزافزون داده هایی که توسط تکنیک های زیست شناسی مولکولی مدرن ایجاد شده است، باعث شده تا نیاز به الگوریتم های طبقه بندی و پیش بینی دقیق احساس شود و از زمان دستیابی به آن ها روش های سنتی دیگر عملی نیست (۷). تعداد بیشماری از رشته های زیست شناسی از روش های یادگیری ماشین برای استخراج اطلاعات از داده هایی مانند ژنومیک، سیستم بیولوژی، تکامل، ریزآرای و پروتئومیکس (۲۰) استفاده می کنند. مدل های یادگیری ماشین در تشخیص ریز RNA ها با استفاده از الگوریتم های پیش بینی متمایز، مبتنی بر استفاده از قوانین متفاوتی می باشد. قوانینی مانند تعیین اینکه آیا یک توالی مشخص، ریز RNA است و به صورت دستی ایجاد نشده اند. در نتیجه این قوانین متناسب و آموزش دیده هستند و یا از نمونه ها آموزش دیده اند (۲۰). معمولاً روش های مبتنی بر یادگیری ماشینی با فرایند یادگیری توالی، ساختار یا ویژگی های ترمودینامیکی ریز RNA ها شروع می شوند. در مرحله بعد یک طبقه بندی کننده مبتنی بر اطلاعات بدست آمده از طریق مجموعه داده های مثبت و منفی برای تصمیم گیری در مورد اینکه توالی های ناشناخته، ریز RNA های واقعی هستند، تشکیل می شود و پارامترهای حاصل، مجموعه ای از ویژگی های عددی هستند که ریز RNA های کاندید را براساس به عنوان مثال حداقل انرژی آزاد پیچش آن ها تعریف می کنند.

یادگیری ماشین برای پیش بینی ژن ریز RNA به طور انحصاری، مبتنی بر یادگیری با نظارت است که در آن یک الگوریتم برای یادگیری آموزش داده می شود، یعنی یک تابع که داده های ورودی را به داده های خروجی مورد نیاز نگاشت می کند (۵۴). معمولاً مجموعه ای از پارامترهای تعیین کننده یک کاندید (به عنوان مثال، MFE، تعداد دی نوکلئوتیدها، طول ساقه و غیره) به عنوان ورودی و ریز RNA یا غیر ریز RNA خروجی هستند. با وجود این که خروجی پیش بینی شده ناشناخته است، این دستگاه توسط ورودی آموزش داده می شود. ایده اصلی این فرایند این است که یادگیرنده ماشین باید توانایی ساده کردن

این نمونه ها را داشته باشد (داده های ورودی : نمونه های مثبت و منفی) و به درستی کاندیدها را طبقه بندی کند (۲۴). مهمترین عاملی که بر صحت نتایج تأثیر می گذارد، انتخاب ویژگی ها است، زیرا پارامتر کردن نمونه ها به ویژگی ها به طور خودکار (۱۰، ۲۴) انجام نمی شود. برای آزمون صحت و دقت فرآیند یادگیری ماشین، یک سیستم موسوم به اعتبار سنجی متقاطع استفاده شد. اعتبار سنجی متقاطع برای جلوگیری از خطاهای نوع III –رد اشتباه فرض صفر– مهم است (۳۸). اعتبار سنجی متقاطع شامل تقسیم یک نمونه از داده ها به زیر مجموعه های مربوطه و انجام تجزیه و تحلیل در یک زیر مجموعه (مجموعه آموزش یا یادگیری) و اعتبار یابی تجزیه و تحلیل بر مجموعه مورد آزمون است. مجموعه های نمونه را می توان به درصدهای مشخص (به عنوان مثال ۷۰ درصد از نمونه های موجود در مجموعه یادگیری، ۳۰ درصد باقی مانده در مجموعه تست) تقسیم کرد. نکته اساسی این است که این مجموعه داده ها نباید دارای نمونه های مشترک باشند. پس از اعتبارسنجی متقاطع، بهترین مدل برای انجام پیش بینی ها انتخاب و استفاده خواهد شد.

خروجی مدل ها

نتایج خروجی الگوریتم های بیز، لجستیک، پرسپترون چند لایه، گرادیان کاهشی تصادفی، ریشه های تصمیم، رگرسیون و آدابوست در جدول ۱ آمده است.

با توجه به مقادیر برآوردهای روش‌های مختلف در شناسایی ریز RNA ها می‌توان نتیجه گرفت که بین روش‌های لجستیک، بیزی، آدابوست، پرسپترون چند لایه، درخت تصمیم گیری، گرادیان کاهشی تصادفی و رگرسیون، مدل پرسپترون چند لایه با بیشترین میزان MCC و کمترین مقدار مثبت کاذب (شکل ۴) به عنوان یک روش برتر در شناسایی ریز RNA های کرم ابریشم نسبت به سایر روش‌ها انتخاب می شود.

جدول۱– آنالیز مدل های مختلف برای ریز RNA های پیش ساز کرم ابریشم

Table 1- Analysis of different models for silkworm precursor microRNAs

روش ها Methods	دقت Accuracy	معیار F F-Measure	ضریب همبستگی متیو Matthews Correlation Coefficient	ناحیه ROC[1] ROC Area	ناحیه PRC[2] PRC Area
شبکه بیز Bayes Net	۰/۸۶۴	۰/۸۶۳	۰/۷۲۵	۰/۹۴۸	۰/۹۵۰
بیز ساده Naive Bayes	۰/۷۸۴	۰/۷۳۵	۰/۵۲۷	۰/۸۳۷	۰/۸۲۸
لجستیک Logistic	۰/۹۱۱	۰/۹۰۹	۰/۸۲۰	۰/۹۵۶	۰/۹۴۸
پرسپترون چند لایه Multi layer Perceptron	۰/۹۶۲	۰/۹۶۱	۰/۹۲۳	۰/۹۷۵	۰/۹۶۶
گرادیان کاهشی تصادفی Stochastic gradient descent	۰/۸۸۹	۰/۸۸۴	۰/۷۷۳	۰/۸۸۵	۰/۸۴۲
لجستیک ساده Simple Logistic	۰/۹۱۲	۰/۹۱۰	۰/۸۲۲	۰/۹۵۱	۰/۹۴۵
ریشه تصمیم Decision Stump	۰/۷۳۴	۰/۷۱۶	۰/۴۵۴	۰/۷۲۰	۰/۶۶۲
رگرسیون Regression	۰/۹۲۵	۰/۹۲۴	۰/۸۴۹	۰/۹۸۴	۰/۹۸۵
آدابوست Ada Boost	۰/۸۳۳	۰/۸۳۲	۰/۶۶۵	۰/۹۰۸	۰/۹۰۰

۱. ناحیه منحنی مشخصه عملکرد سیستم یا منحنی عملیاتی گیرنده.

۲. ناحیه منحنی دقت

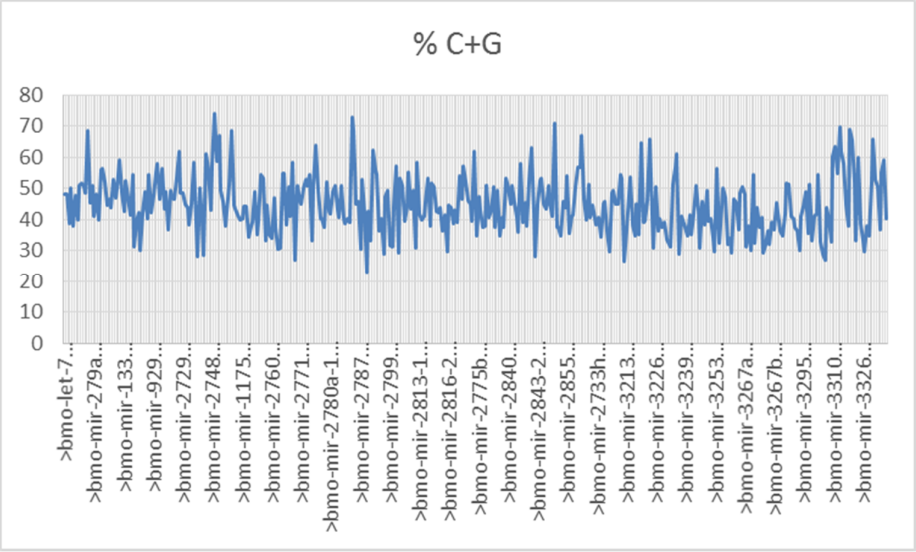
1. Receiver Operating Characteristic curve.
2. Precision-Recall curve.

با توجه به جدول ۱، بهترین مدل پیش بینی کننده، مدل پرسپترون چند لایه با دقت ۰/۹۶۲ و ضریب همبستگی ۰/۹۲۳ تعیین شد. پارامترهای این مدل شامل نرخ یادگیری ۰/۳، نرخ حرکت ۰/۲، زمان آموزش ۵۰۰ و آستانه تأیید ۲۰ در نظر گرفته شدند. تابع نرون های لایه خروجی این مدل برخلاف تابع خطی شبکه پیشرو پس انتشار، تابع tansig می‌باشد. به علاوه تعداد نرون های لایه خروجی برابر تعداد

کلاس ها درنظر گرفته شده و ویژگی ها به صورت برداری برای آموزش به شبکه معرفی می شوند. در طی این آنالیز از داده های اعتبار سنجی برای ارزیابی میزان بهینه بودن ساختار یک شبکه نسبت به شبکه‌ای دیگر استفاده می‌شود. مقادیر اولیه پارامترهای شبکه نقش مهمی در حرکت شبکه به سمت جواب بهینه دارند. با توجه به اینکه داده های آموزشی ممکن است نتیجه مدل را اریب کنند، از روش اعتبارسنجی ضربدری۱۰ تایی استفاده شد.

اختلاف نظر بسیاری در مورد اهمیت محتوای نوکلئوتیدی در پردازش ریز RNA وجود دارد. در این پژوهش با توجه با نتایج می توان بیان نمود که محتوای نوکلئوتیدهای G و C پارامترهای اصلی برای شناسایی توالی های ریز RNA های پیش ساز می باشند (شکل ۳) و احتمالاً به این دلیل است که مدل های آموزشی به جای آنالیز این پارامترها به طور مستقل، آن ها را در فرایند آموزشی ترکیب می کنند.

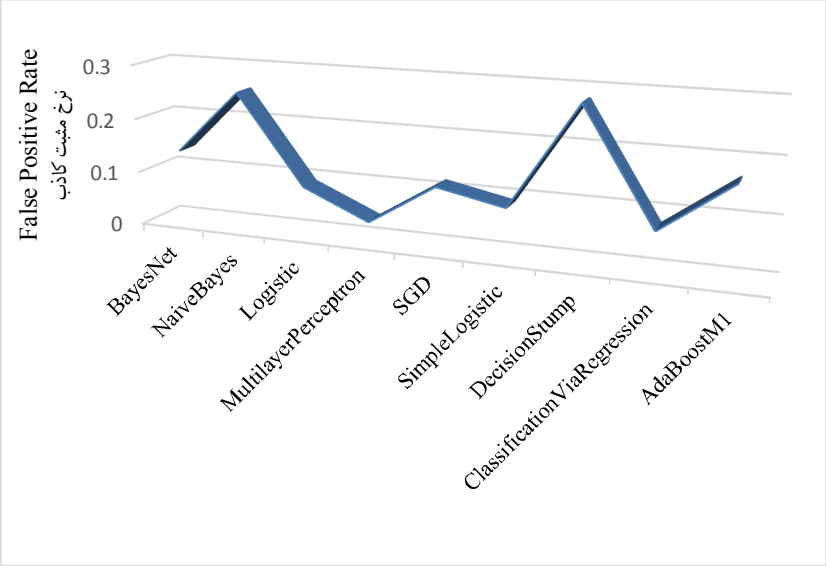
شکل ۳ محتوای نوکلئوتیدی ریز RNA های کرم ابریشم را از نظر درصد گوانین و سیتوزین نشان می دهد. این ویژگی در ردیابی مولکول های ریز RNA به عنوان یک خصوصیت مؤثر به حساب می آید. این شکل به ویژگی های شناسایی شده در توالی های ریز RNA کرم ابریشم اشاره می کند و نشان می دهد درصد نوکلئوتیدهای G+C یک ویژگی مهم در شناسایی ریز RNA ها است.



شکل۳- درصد نوکلئوتیدهای G+C در تعدادی از توالی های ریز RNA کرم ابریشم

Figure 3- Percentage of G + C nucleotides in some of silkworm microRNA sequences

همچنین با توجه به برآورد مقادیر نرخ مثبت کاذب که در شکل ۴ آورده شده است، می توان نتیجه گرفت که مدل پرسپترون چند لایه با نرخ مثبت کاذب ۰/۰۳۸ دارای کمترین مقدار مثبت کاذب و درنتیجه دارای بیشترین میزان دقت می باشد.



شکل ٤- مقایسه نرخ مثبت کاذب در انواع الگوریتم های آموزشی

Figure 4- Comparison of false positive rates in a variety of training algorithms

بحث

در این پژوهش مدل ها و ویژگی های ساختاری مختلف برای پیش بینی ریز RNA ها استفاده شد. نتایج مطالعه ما نشان داد که مدل پرسپترون چند لایه این توانایی را دارد که ویژگی ها را از توالی های RNA یاد بگیرد و در نتیجه با دقت بالا برای تشخیص محاسباتی ریز RNA های کرم ابریشم استفاده شود. در آزمایش ما، از توالی های RNA های غیر کد کننده برای انجام پیش بینی استفاده شد. انتخاب داده های مناسب برای عملکرد بهینه مدل ها ضروری است، اگرچه مدل های یادگیری می توانند ویژگی ها را از داده ها یاد بگیرند. به دلیل کوچک بودن مجموعه داده، کیفیت داده ها و روش بردارسازی از توالی های ورودی تأثیر زیادی در عملکرد طبقه بندی کننده دارد. نتایج نشان داد که مدل پرسپترون چند لایه پیشنهاد داده شده در این پژوهش می تواند با موفقیت بیشتری نسبت به سایر مدل ها در مجموعه داده های آموزشی، استفاده شود. نرخ خطای پیش بینی کم در مجموعه داده های این پژوهش، نشان دهنده توانایی تعمیم بالای مدل پیش بینی مورد استفاده است.

پژوهش های جدیدی برای شناسایی ریز RNA ها بر اساس روش های مشابه مورد استفاده در پژوهش حاضر انجام شده است. زنگ و همکاران (۲۰۲۰) از شبکه های عصبی پیچشی (CNN) و شبکه های عصبی مکرر (RNN) برای پیش بینی ریز RNA های انسانی استفاده کردند. برای هر دو مدل مقادیر حساسیت، اختصاصیت، معیار F و دقت بیشتر در محدوده ۸۰ تا ۹۰ درصد بود، در حالی که ضریب همبستگی متیو بین ۷۰ تا ۸۰ درصد برآورد شد (۵۳). کوردرو و همکاران (۲۰۱۹) با استفاده از شبکه های عصبی پیچشی براساس پردازش تصویر ریز RNA های پیش ساز، توالی های کد گذاری شده، ساختار توالی ها و بعضی از ویژگی های ترمودینامیکی در گونه های مختلف، مقدار صحت را ۹۲ درصد برآورد کردند (۹). فو و همکاران (۲۰۱۹) از ماشین بردار پشتیبان برای شناسایی ریز RNA ها از طریق اطلاعات دو جانبه توالی های ریز RNA های پیش ساز و ساختارهای ثانویه استفاده کردند. آنها با استفاده از الگوریتم ماشین بردار پشتیبان و تابع کرنل سیگموئید در داده های پایه، مقادیر حساسیت ۸۸ درصد، صحت ۹۰ درصد و ضریب همبستگی متیو را ۸۰ درصد برآورد کردند (۱۲). زنگ و همکاران (۲۰۱۹) از الگوریتم جنگل تصادفی که یک روش یادگیری ترکیبی برای دسته بندی می باشد، جهت شناسایی ریز RNA های مرتبط با بیماری ها استفاده کردند و میانگین های بدست آمده برای صحت و معیار F به ترتیب ۸۳ و ۸۲ درصد با استفاده از اعتبار سنجی متقاطع ۵ تایی برآورد شد (۵۵).

دانهدو و همکاران (۲۰۱۸) از روش یادگیری عمیق برای شناسایی اینکه توالی های RNA غیر کد کننده کوتاه، ریز RNA پیش ساز هستند یا اینکه به این گروه تعلق ندارند، استفاده کردند. آنها از ماتریس ساختار ثانویه پیش بینی شده به عنوان ورودی استفاده کردند و با معرفی آن به شبکه عصبی پیچشی دو بعدی، ویژگی های توالی ها را استخراج نمودند. نتایج آنالیز آنها بر روی داده های انسانی در ورودی های با سایز ثابت، مقدار حساسیت را ۸۷ درصد و معیار F را ۸۴ درصد نشان داد. در تحقیق آنها مقادیر حساسیت و معیار F برای ورودی های با سایز متغیر به ترتیب ۸۳ و ۸۵ درصد بدست آمد. همچنین آنها این آنالیز را برای سایر گونه ها نیز انجام دادند که در ورودی های با سایز ثابت این معیارها به ترتیب ۹۰ و ۸۹ درصد و برای ورودی هایی با سایز متغیر

۸۸ و ۸۹ درصد تخمین زده شد (۱۱).

به طور کلی ریز RNA ها حفاظت توالی بالایی در بین گونه ها نشان می دهند و از ساختار اولیه ساقه–حلقه در هسته تولید می شوند که از ویژگی های بسیار مهم ریز RNA ها می باشد. در روش های in-silico برای پیش بینی ریز RNA های جدید، انجام یک جستجوی همسانی در کل ژنوم کرم ابریشم لازم است. با توجه به ریز RNA های اولیه پیش فرض، این روش به طور کلی منجر به تعداد زیادی توالی می شود و سپس از طریق آنالیز ساختار ثانویه RNA، آنالیز نرم افزار پیش بینی و آنالیز دینامیک، غربال گری می شوند. تونگ و همکاران (۲۰۰۶) به جستجوی هومولوژی برای شناسایی ریز RNA های قبلاً تأیید شده پرداختند و ۲۴ ژن با پتانسیل ریز RNA را شناسایی کردند (۴۴). یو و همکاران (۲۰۰۸) ۱۱۴ ریز RNA حفاظت شده غیر تکراری را شناسایی کردند و ۱۴۸ ریز RNA از ژنوم کرم ابریشم را با یک سیستم پیش بینی پیشرفته بر اساس حلقه sRNA و ویژگی های ساختاری شناخته شده از ریز RNA های اولیه حیوانات شناسایی کردند (۵۲). یائو (۲۰۰۸)RNomics محاسباتی و آزمایشگاهی را برای پیش بینی و اعتبار یابی ریز RNA های کرم ابریشم بر اساس حفاظت توالی ریز RNA های بالغ و پیش سازهای آن ها با نشان دادن ساختارهای سنجاق سر به کار برد که منجر به شناسایی ۶۲ ریز RNA محفاظت شده بالقوه شد (۵۲). کائو و همکاران (۲۰۰۸) ۴۱ ریز RNA محافظت شده را با استفاده از یک رویکرد جستجوی همسانی محاسباتی شناسایی کردند که بیشتر آن ها انتخاب و هویت آن ها به صورت آزمایشگاهی تأیید شد (۸). بر اساس حفاظت توالی های ریز RNA، با استفاده از یک جستجوی همسانی محاسباتی بر اساس یک آنالیز توالی پیمایشی ژنومی، هوانگ و همکاران (۲۰۱۰)، ۱۶ ریز RNA جدید را شناسایی و توصیف کردند (۱۴). علاوه بر این هی و همکاران (۲۰۰۸) از ترکیبی از یک روش محاسباتی مبتنی بر جستجوهای همسانی توالی استفاده نمودند و از روش های آزمایشگاهی مبتنی بر ارزیابی ریزآرای و نوردرن بلات برای شناسایی آن ها استفاده کردند. با استفاده از این رویکرد ترکیبی، ۴۶ ریز RNA، ۲۱ ریز RNA محتمل و یک RNA کوچک جدید درکرم ابریشم مشخص شد. در میان نمونه های شناسایی شده، ۱۲ جفت ریز RNA[1] نیز وجود داشت (۱۳). در این پژوهش با استفاده از الگوریتم های مختلف بهترین مدل شناسایی ریز RNA های کرم ابریشم ارائه شد که تاکنون روی این گونه به طور اختصاصی این مطالعات انجام نشده است و با توجه به دقت بالای نتایج به دست آمده، استفاده از این مدل به عنوان یک روش با دقت بالا در صحت شناسایی ریز RNA های ژنوم کرم ابریشم پیشنهاد می شود.

نتیجه گیری کلی

به عنوان فاکتورهای کلیدی در تنظیم ژنی پس از رونویسی، ریز RNA ها به خوبی شناخته شده اند، زیرا عملکردهای تنظیمی بسیار مهم در فرآیندهای بیولوژیکی قابل توجهی مانند تمایز سلولی، تکثیر، آپوپتوز، رشد و بروز بیماری دارند.

تحقیقات کاربردی که به طور مستقیم در ریز RNA های کرم ابریشم انجام شده است، نشان داده است که ریز RNA ها می توانند اثرات قابل توجهی در مکانیسم های اساسی فرآیندهای رشد کرم های ابریشم ایجاد کنند. علاوه بر این پژوهش هایی که تاکنون انجام شده است، پایه پیشرفت در بهبود درک ما از شبکه های تنظیمی RNA و مکانیسم های مولکولی درگیر در الگوهای بیان ژن در طول مراحل مختلف زندگی را رائه می دهد. با توجه به تحقیقات محاسباتی ناکافی صورت گرفته در زمینه ریز RNA های کرم ابریشم، تحقیقات بیشتر در زمینه ریز RNA های این گونه، نشان دهنده پیشرفت مهمی در مطالعه RNA های غیر کدکننده دارای عملکرد های مهم بیولوژیکی در این گونه است که می تواند اطلاعات بیشتری در مورد فعالیت های RNA های غیر کد کننده ناشناخته ارائه دهد.

Refrences

1. Abbasi, V., M. R. Nasiri, and A. Javadmanesh. 2018. Prediction and In Silico Validation of Micro-RNAs in Different Tissues Originated from Ovine Chromosome 20. Iranian Journal of Animal Science Research, 11(2): 233-245. (In Persian).
2. Agarwal, S., C. Vaz, A. Bhattacharya, and A. Srinivasan. 2010. Prediction of novel precursor miRNAs using a context-sensitive hidden Markov model (CSHMM). BMC Bioinformatics, 11(1): S29.
3. Arowolo, M. O., M. Adebiyi, A. Adebiyi, and O. Okesola. 2020. PCA Model For RNA-Seq Malaria Vector Data Classification Using KNN And Decision Tree Algorithm. International Conference in Mathematics, Computer Engineering and Computer Science (ICMCECS), 1–8.
4. Bar, M., S. K. Wyman, B. R. Fritz, J. Qi, K. S. Garg, R. K. Parkin, E. M. Kroh, A. Bendoraite, P. S. Mitchell, and A. M. Nelson. 2008. MicroRNA discovery and profiling in human embryonic stem cells by deep sequencing of small RNA libraries. Stem Cells, 26(10): 2496–2505.
5. Ben-Hur, A., and J. Weston. 2010. A user's guide to support vector machines. In Data mining techniques for the life sciences Springer, Chapter 13, pages 223–239.

1- miRNA*s miRNA

6. Bentwich, I., A. Avniel, Y. Karov, R. Aharonov, S. Gilad, O. Barad, A. Barzilai, P. Einat, U. Einav, E. Meiri, E. Sharon, Y. Spector, and Z. Bentwich. 2005. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. Nature Genetics, 37(7): 766–770.
7. Bhaskar, H., D. C. Hoyle, and S. Singh. 2006. Machine learning in bioinformatics: A brief survey and recommendations for practitioners. Computers in Biology and Medicine, 36(10): 1104–1125.
8. Cao, J., C. Tong, X. Wu, J. Lv, Z. Yang, and Y. Jin. 2008. Identification of conserved microRNAs in Bombyx mori (silkworm) and regulation of fibroin L chain production by microRNAs in heterologous system. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 38(12): 1066–1071.
9. Cordero, J., V. Menkovski, and J. Allmer. 2019. Detection of pre-microRNA with Convolutional Neural Networks. bioRxiv, Europe PMC, 1-12.
10. Ding, J., S. Zhou, and J. Guan. 2010. MiRenSVM: towards better prediction of microRNA precursors using an ensemble SVM classifier with multi-loop features. BMC Bioinformatics, 11 Suppl 1(Suppl 11): S11.
11. Do, B. T., V. Golkov, G. E. Gürel, and D. Cremers. 2018. Precursor microRNA Identification Using Deep Convolutional Neural Networks. BioRxiv, 414656.
12. Fu, X., W. Zhu, L. Cai, B. Liao, L. Peng, Y.Chen, and J. Yang. 2019. Improved pre-miRNAs identification through mutual information of pre-miRNA sequences and structures. Frontiers in Genetics, 10(FEB): 1–12.
13. He, P., Z. Nie, J. Chen, Z. Lv, Q. Sheng, S. Zhou, X. Gao, L. Kong, and X. Wu. 2008. Identification and characteristics of microRNAs from Bombyx mori. BMC Genomics, 9(1): 248.
14. Huang, Y., Q. Zou, S. Tang, L. Wang, and X. Shen. 2010. Computational identification and characteristics of novel microRNAs from the silkworm (Bombyx mori L.). Molecular Biology Reports. 37: 3171–3176.
15. Jabbar, M. A., and S. Samreen. 2016. Heart disease prediction system based on hidden naïve bayes classifier. International Conference on Circuits, Controls, Communications and Computing (I4C): 1–5.
16. Jiang, P., H. Wu, W. Wang, W.Ma, X. Sun, and Z. Lu. 2007. MiPred: Classification of real and pseudo microRNA precursors using random forest prediction model with combined features. Nucleic Acids Research, 35(SUPPL.2): W339-W344.
17. Kadri, S., V. Hinman, and P. V. Benos. 2009. HHMMiR: efficient de novo prediction of microRNAs using hierarchical hidden Markov models. BMC Bioinformatics, 10(Suppl 1): S35.
18. Kozomara, A., M. Birgaoanu, and S. Griffiths-Jones. 2018. miRBase: from microRNA sequences to function. Nucleic Acids Research, 47(D1): D155–D162.
19. Lai, E. C., P. Tomancak, R. W. Williams, and G. M. Rubin. 2003. Computational identification of Drosophila microRNA genes. Genome Biology, 4(7): R42.
20. Larranaga, P., B. Calvo, R. Santana, C. Bielza, J. Galdiano, I. Inza, J. A. Lozano, R. Armananzas, G. Santafé, and A. Pérez. 2006. Machine learning in bioinformatics. Briefings in Bioinformatics, 7(1): 86–112.
21. Li, L., J. Xu, D. Yang, X. Tan, and H. Wang. 2010. Computational approaches for microRNA studies: a review. Mammalian Genome, 21(1–2): 1–12.
22. Li, S.C., C.K. Shiau, and W. Lin. 2007. Vir-Mir db: prediction of viral microRNA candidate hairpins. Nucleic Acids Research, 36(suppl_1): D184–D189.
23. Lim Lee, P., C. Lau Nelson, G. Weinstein Earl, Y. S. Abdelhakim Aliaa, W. Rhoades Matthew, B. Burge Christopher, and P. Bartel David. 2003. The microRNAs of Caenorhabditis elegans. Genes Dev, 17(8): 991–1008.
24. Lindow, M., and J. Gorodkin. 2007. Principles and limitations of computational microRNA gene and target finding. DNA and Cell Biology, 26(5): 339–351.
25. Liu, C.G., G. A. Calin, B.Meloon, N. Gamliel, C. Sevignani, M. Ferracin, C. D. Dumitru, M. Shimizu, S. Zupo, and M. Dono. 2004. An oligonucleotide microchip for genome-wide microRNA profiling in human and mouse tissues. Proceedings of the National Academy of Sciences, 101(26): 9740–9744.
26. Lou, S., T. Sun, H. Li, and Z. Hu. 2018. Mechanisms of microRNA-mediated gene regulation in unicellular model alga Chlamydomonas reinhardtii. Biotechnology for Biofuels, 11(1): 244.
27. Magyar, L. 2018. A Review of the Utility of Bayesian Network Models. The University of Akron, ideaexchange.uakron.edu.1-28.
28. Mendes, N. D., A. T. Freitas, and M.F. Sagot. 2009. Current tools for the identification of miRNA genes and their targets. Nucleic Acids Research, 37(8): 2419–2433.
29. Milagro, F. I., J. Miranda, M. P. Portillo, A. Fernandez-Quintela, J. Campion, and J. A. Martínez. 2013. High-throughput sequencing of microRNAs in peripheral blood mononuclear cells: identification of potential weight loss biomarkers. PloS One, 8(1): e54319.
30. Nam, J. W., J. Kim, S. K. Kim, and B. T. Zhang. 2006. ProMiR II: a web server for the probabilistic prediction of clustered, nonclustered, conserved and nonconserved microRNAs. Nucleic Acids Research, 34(suppl_2): W455–W458.
31. Nam, J. W., K. R. Shin, J. Han, Y. Lee, V. N. Kim, and B. T. Zhang. 2005. Human microRNA prediction through a probabilistic co-learning model of sequence and structure. Nucleic Acids Research, 33(11): 3570–3581.
32. Nelson, P. T., D. O. N. A. Baldwin, W. P. Kloosterman, S. Kauppinen, R. H. A. Plasterk, and Z. Mourelatos .2006.

RAKE and LNA-ISH reveal microRNA expression and localization in archival human brain. Rna, 12(2): 187–191.
33. Ng, K. L. S., and S. K. Mishra. 2007. De novo SVM classification of precursor microRNAs from genomic pseudo hairpins using global and intrinsic folding measures. Bioinformatics, 23(11): 1321–1330.
34. Ntranos, V., L. Yi, P. Melsted, and L. Pachter. 2019. A discriminative learning approach to differential expression analysis for single-cell RNA-seq. Nature Methods, 16(2): 163-166.
35. Oulas, A., A. Boutla, K. Gkirtzou, M. Reczko, K. Kalantidis, and P. Poirazi. 2009. Prediction of novel microRNA genes in cancer-associated genomic regions—a combined computational and experimental approach. Nucleic Acids Research, 37(10): 3276–3287.
36. Paicu, C., I. Mohorianu, M. Stocks, P. Xu, A. Coince, M. Billmeier, T. Dalmay, V. Moulton, and S. Moxon. 2017. miRCat2: accurate prediction of plant and animal microRNAs from next-generation sequencing datasets. Bioinformatics, 33(16): 2446-2454.
37. Ritchie, W., D. Gao, and J. E. J. Rasko. 2012. Defining and providing robust controls for microRNA prediction. Bioinformatics, 28(8): 1058–1061.
38. Saçar, M. D., and J. Allmer. 2014. Machine learning methods for microRNA gene prediction. In miRNomics: MicroRNA Biology and Computational Analysis. Springer, 1107:177-87
39. Saçar, M. D., H. Hamzeiy, and J. Allmer. 2013. Can MiRBase provide positive data for machine learning for the detection of MiRNA hairpins? Journal of Integrative Bioinformatics, 10(2): 1–11.
40. Sheng, Y., P. G. Engström, and B. Lenhard. 2007. Mammalian microRNA prediction through a support vector machine model of sequence and structure. PloS One, 2(9): e946.
41. Singh, S., and R. Singh. 2017. Application of supervised machine learning algorithms for the classification of regulatory RNA riboswitches. Briefings in Functional Genomics, 16(2): 99–105.
42. Siomi, H., and M. C. Siomi. 2010. Posttranscriptional regulation of microRNA biogenesis in animals. Molecular Cell, 38(3): 323–332.
43. Terai, G., T. Komori, K. Asai, and T. Kin. 2007. miRRim: a novel system to find conserved miRNAs with high sensitivity and specificity. Rna, 13(12): 2081–2090.
44. Tong, C., Y. Jin, and Y. Zhang. 2006. Computational prediction of microRNA genes in silkworm genome. Journal of Zhejiang University Science B, 7(10): 806–816.
45. Tran, V. D. T., S. Tempel, B. Zerath, F. Zehraoui, and F. Tahi. 2015. miRBoost: boosting support vector machines for microRNA precursor classification. RNA (New York, N.Y.), 21(5): 775-785.
46. Várallyay, E., J. Burgyán, a nd Z. Havelda. 2007. Detection of microRNAs by Northern blot analyses using LNA probes. Methods, 43(2): 140–145.
47. Wang, X., S. M. Tang, and X. J. Shen. 2014. Overview of research on Bombyx mori microRNA. Journal of Insect Science, 14(133): 133.
48. Wu, Y., B. Wei, H. Liu, T. Li, and S. Rayner. 2011. MiRPara: a SVM-based software tool for prediction of most probable microRNA coding regions in genome scale sequences. BMC Bioinformatics, 12(1): 107.
49. Xue, C., F. Li, T. He, G.P. Liu, Y. Li, and X. Zhang. 2005. Classification of real and pseudo microRNA precursors using local structure-sequence features and support vector machine. BMC Bioinformatics, 6: 310.
50. Xue, H., Z. Wei, K. Chen, Y. Tang, X. Wu, J. Su, and J. Meng. 2020. Prediction of RNA methylation status from gene expression data using classification and regression methods. Evolutionary Bioinformatics, 16: 1176934320915707.
51. Yousef, M., S. Jung, A. V. Kossenkov, L. C. Showe, and M. K. Showe. 2007. Naïve Bayes for microRNA target predictions—machine learning for microRNA targets. Bioinformatics, 23(22): 2987–2992.
52. Yu, X., Q. Zhou, S.C. Li, Q. Luo, Y. Cai, W. Lin, H. Chen, Y. Yang, S. Hu, and J.Yu. 2008. The silkworm (Bombyx mori) microRNAs and their expressions in multiple developmental stages. PloS One, 3(8): e2997.
53. Zhang, G., Y. Deng, Q. Liu, B. Ye, Z. Dai, Y. Chen, and X. Dai. 2020. Identifying circular RNA and predicting its regulatory interactions by machine learning. Frontiers in Genetics, 11: 655.
54. Zhang, Y. Q., J. C. Rajapakse, and B. T. Zhang. 2008. Supervised Learning Methods for MicroRNA Studies. Machine Learning in Bioinformatics, Chapter 16, page 339.
55. Zheng, K., Z. H. You, L. Wang, Y. Zhou, L. P. Li, and Z. W. Li. 2019. MLMDA: A machine learning approach to predict and validate MicroRNA-disease associations by integrating of heterogenous information sources. Journal of Translational Medicine, 17(1): 1–14.
56. Zheng, X., X. Fu, K. Wang, and M. Wang. 2020. Deep neural networks for human microRNA precursor detection. BMC Bioinformatics, 21(1): 1-7.
57. Zhong, L., and J. T. L. Wang. 2016. Effective Classification of MicroRNA Precursors Using Combinatorial Feature Mining and AdaBoost Algorithms. ArXiv:1610.02281,ui.adsabs.harvard.edu.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 4, Winter 2022, p. 615-627

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۶۲۷-۶۱۵

A survey on effect of multilayer perceptron on the accuracy of selection of silkworm (*Bombyx mori*) microRNA genes

Atefeh Seyeddokht[1*], Javad Rahmaninia[2]
Submitted: 07-03-2020
Accepted: 19-12-2020

Seyeddokht, A., and J. Rahmaninia. 2022. A survey on effect of multilayer perceptron on the accuracy of selection of silkworm (*Bombyx mori*) microRNA genes. Iranian Journal of Animal Science Research 13(4):615-627.

Introduction MicroRNAs (miRNAs) constitute a large family of non-protein-coding small RNA (ncRNA) molecules and have important roles in the regulation of both plant and animal developmental procedures. Generally, sequences of miRNA demonstrate high sequence conservation across animals and are produced from the primary stem-loop structure in the nucleus, which is an important feature of miRNAs. MiRNAs are one of the most important regulatory factors involved in post-transcriptional levels of gene expression that contribute to the modulation of a large number of physiological processes such as development, metabolism and disease occurrence. To date, A few studies related to miRNAs of the economically important silkworm, *Bombyx mori*, have been carried out, focusing on detection, expression study, and prediction of function. Machine learning approaches are crucial for prediction success. These methods can solve classification problem.

Materials and Method Although hundreds of miRNAs have been detected in different animals, a lot of them are still unknown. Then, finding of novel miRNA genes is an essential step for understanding miRNA intervened post transcriptional regulation processes. It appears that biological methods to recognize miRNA genes might be inadequate in their capacity to identify uncommon miRNAs and are further limited to the tissues surveyed and the developmental phase of the animal under experiment. These restrictions have led to the development of new computational methods attempting to detect potential miRNAs. Experimentally verified miRNA sequences in miRBase release 22.0 were extracted for inclusion in the positive data set. In the miRBase, the reported secondary structures were predicted by a collection of RNA folding software packages. Consequently, in this study for uniformity, all miRNA secondary structures analyzed using RNAfold packages. The major step for machine learning approaches is the selection of a suitable negative dataset. It is important for a well-trained classifier. If the sequences are too artificial, e.g. completely random sequences, then there is a risk that the classifiers will not be well trained to differentiate between different categories of real biological sequences. Conversely, if the negative dataset is too similar to the positive dataset, the classifiers will be unable to find a way to adequately differentiate between these two data sets. We investigated several different types of negative sequences and finally selected negative sequences which made the best distinction with positive data set. The positive training dataset for our classifier development composed of known silkworm pre miRNAs, while the negative training dataset composed of other ncRNA sequences. Our feature set composed of various features and selecting the most discriminative set of features would increase the performance, efficiency and comprehensibility of a classifier method by reducing its complexity.

Results and Discussion Secondary structural patterns of pre miRNA used in this study such as the intramolecular base pairing of pre miRNA is an important beneficial feature for miRNAs classification. The selective powers of the two different classes of miRNAs secondary structural conformation (dot-bracket notation) were analyzed. Secondary structural feature of miRNA such as Minimum Free Energy, Watson-crick base pairing (AU, GC), Wobble base pairing (G-U) and unpaired bases (A, G, C, U) is analyzed by different algorithms. Here

1-Animal Science Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran
2-Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
*Corresponding Author: Email: a.seyeddokht@areeo.ac.ir
Doi:10.22067/ijasr.2020.38276.0

we could successfully solve classification problem by developing an effective classification system using machine learning techniques. Our approach includes introducing more representative datasets, extracting new effective biological features, and comprehensive evaluating of classification performance through these methods via cross-validation. Performance of different algorithms was measured by the total number of true negatives (TN), true positives (TP), false positives (FP), false negatives (FN), and accuracy (ACC). In order to evaluate the efficiency of various methods developed in this study, various parameters like F-measure, Matthews correlation coefficient (MCC), accuracy (ACC) and, ROC area were calculated. Performance measurement of various models tested with data from miRBase in release 22 in ten-fold cross validation. Multilayer Perceptron model could predict pre miRNAs from non-coding sequences that can be important for detecting the true pre miRNAs in genomic sequences. Consequently a new method on miRNA prediction model could be favorable to understand the characteristics miRNA associated with miRNA biogenesis.

Conclusion Research on miRNA represents important progress in the study of ncRNAs and may provide further information on understanding of RNA regulation networks. Practical research on silkworm microRNAs has shown that microRNAs can have significant effects on the underlying mechanisms of silkworm growth processes. In addition to the research that has been done so far, it provides the basis for advances in improving our understanding of RNA regulatory networks and the molecular mechanisms involved in gene expression patterns during different stages of silkworm life. Due to insufficient computational research in the field of silkworm microRNAs, further research on the microRNAs of this species represents an important advance in the study of noncoding RNAs, which can provide further information on the activity of noncoding RNAs. Machine learning algorithms will help the researcher discover the uncover miRNA that many researchers were not able to explore.

Key words: Computational Methods, MicroRNA, Regulatory Factors, Silkworm.

Contents

Ruminant Nutrition

Effect of Green Silver Nanoparticles Synthesized via *Phlomis cancellata Bunge* Extract on *in vitro* Ruminal Fermentation **487**
Elias Ibrahimi Khoram Abadi, Mohsen Kazemi, Somayeh Heydari

The Effect of Protexin Probiotics in the Last Month of Pregnancy on the Colostrum Compositions and Milk Yield of Lori Bakhtiyari Ewes **497**
Mohammad Doralibeni , Fariba Rezai-Sarteshnizi, Saeid Karimi Dehkordi, Ali Moharrery, Hossien Mehrban

The Effect of Palm Kernel Powder on Performance, Microbial Fermentation, Digestibility and Some Blood Parameters of Arabi sheep **511**
Mohammadabadi, Tahereh, Ghezi, Zainab, Tabatabai Vakili, Saleh

The effect of adding different levels of *Ziziphora clinopodioides* to the diet on the *in vitro* digestion and fermentation activity of anaerobic bacteria and fungi in the rumen of fattening Arabi lambs **523**
Morteza Chaji and Parvin Alimirzaii

Poultry Nutrition

Digestible Threonine Requirement of Hy-line W36 Laying Hen Fed a Wheat-Soybean Meal Diet in the Second Cycle of Production **535**
Seyed Amir Hossany Nejad, Heydar Zarghi and Abolghasem Golian

Effect of the substitution of different levels of Biochar with mineral premix in diet on growth performance variables, meat quality and bone ash of broiler **548**
Motahareh Kashif, Mohsen Afsharmanesh, Mohammad Salarmoini

Effect of dietary calcium and phosphorus restriction during grower period on growth performance, carcass traits, blood and bone parameters and broiler chickens adaptation in finisher period **566**
Hadi Noruzi, Ahmad Hassanabadi*, Abolghasem Golian

Effect of different levels of threonine and dietary electrolyte balance on growth performance, blood biochemistry, and immune response of broiler chickens under high environmental temperature conditions **582**
H. A. Ghasemi, I. Hajkhodadadi, M. H. Moradi

Nutritional Value of White Grape Pomace (*Vitis Vinifera* L.) and Effect of its Varying Levels on Growth Performance and Blood Charactristics of Broiler Chickens **599**
Karim Ghorbani, Mohammad Reza Ghorbani, Ahmad Tatar, Hassan Ahmadvand

Effects of Barley Malt Extract on Performance, Immune Responses and Jejunal Histology of Laying Hens **613**
Mohammad Sedghi, Mojtaba Dalvi Esfahani, Amir Hossein Mahdavi, Raziye Ghasemi

Genetic and Breeding

A survey on effect of multilayer perceptron on the accuracy of selection of silkworm (*Bombyx mori*) microRNA genes **626**
Atefeh Seyeddokht, Javad Rahmaninia

« Scientific Journal»
Iranian Journal of Animal Science Research

Vol. 13 **No. 4** **Winter 2022**

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

Ferdowsi University of Mashhad

Vol. 13 No. 4

2022

Iranian Journal of Animal Science Research

ISSN:2008-3106

Contents

Ruminant Nutrition

Effect of Green Silver Nanoparticles Synthesized via *Phlomis cancellata Bunge* Extract on *in vitro* Ruminal Fermentation 487
Elias Ibrahimi Khoram Abadi, Mohsen Kazemi, Somayeh Heydari

The Effect of Protexin Probiotics in the Last Month of Pregnancy on the Colostrum Compositions and Milk Yield of Lori Bakhtiyari Ewes 497
Mohammad Doralibeni , Fariba Rezai-Sarteshnizi, Saeid Karimi Dehkordi, Ali Moharrery, Hossien Mehrban

The Effect of Palm Kernel Powder on Performance, Microbial Fermentation, Digestibility and Some Blood Parameters of Arabi sheep 511
Tahere Mohammadabadi, Zainab Ghezi, Saleh Tabatabai Vakili

The effect of adding different levels of *Ziziphora clinopodioides* to the diet on the *in vitro* digestion and fermentation activity of anaerobic bacteria and fungi in the rumen of fattening Arabi lambs 523
Morteza Chaji , Parvin Alimirzaii

Poultry Nutrition

Digestible Threonine Requirement of Hy-line W36 Laying Hen Fed a Wheat-Soybean Meal Diet in the Second Cycle of Production 535
Seyed Amir Hosseini Nejad, Heydar Zarghi, Abolghasem Golian

Effect of the substitution of different levels of Biochar with mineral premix in diet on growth performance variables, meat quality and bone ash of broiler 548
Motahareh Kashef, Mohsen Afsharmanesh, Mohammad Salarmoini

Effect of dietary calcium and phosphorus restriction during grower period on growth performance, carcass traits, blood and bone parameters and broiler chickens adaptation in finisher period 566
Hadi Noruzi, Ahmad Hassanabadi, Abolghasem Golian

Effect of different levels of threonine and dietary electrolyte balance on growth performance, blood biochemistry, and immune response of broiler chickens under high environmental temperature conditions 582
Hossein Ali Ghasemi, Iman Hajkhodadadi, Mohammad Hossein Moradi

Nutritional Value of White Grape Pomace (*Vitis Vinifera* L.) and Effect of its Varying Levels on Growth Performance and Blood Charactristics of Broiler Chickens 599
Karim Ghorbani, Mohammad Reza Ghorbani, Ahmad Tatar, Hassan Ahmadvand

Effects of Barley Malt Extract on Performance, Immune Responses and Jejunal Histology of Laying Hens 613
Mohammad Sedghi, Mojtaba Dalvi Esfahani, Amir Hossein Mahdavi, Raziye Ghasemi

Genetic and Breeding

A survey on effect of multilayer perceptron on the accuracy of selection of silkworm (*Bombyx mori*) microRNA genes 626
Atefeh Seyeddokht, Javad Rahmaninia