



# نشریه علمی پژوهشهای علوم دامی ایران

جلد ۱۴ شماره ۱

سال ۱۴۰۱

۳۱۰۶-۲۰۰۸: شابا

(شماره پیاپی: ۴۹)

## عنوان مقالات

تغذیه اشخوار کنندگان

تأثیر استفاده از افزودنی‌های مختلف بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی و خصوصیات تخمیری سیلاز ذرت ..... ۳  
(اکبر تقی: زاده‌الناز مرادی، حمید محمدرزاده، مقصود بهارنی)

بررسی سطوح و روش‌های مختلف فرآوری دانه کتان بر عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی،

فراسجده‌های خونی و رفتار اشخوار کوسبند ..... ۱۵  
مصطفی حسین آبادی، تقی نورچی، عبدالحمید توخدری

بررسی ترکیب شیمیایی، تولید گاز و قابلیت هضم دانه خمر فرآوری شده با روش‌های مختلف حرارتی

در شرایط *in situ* و *in vitro* ..... ۴۹  
حسین راست پور، علیرضا وکیلی، عباسعلی ناصرپاد، محسن دانش مسگران، رضا ولی زاده

مقایسه عملکرد تولید مثلی میش‌های وارداتی و میش‌های ایرانی با استفاده از روش تلقیح مصنوعی ..... ۴۵  
سعود دینارخواه، نوسا وطن دوست

تأثیر افزودن پتوکی‌فلین بر بهبود پارامترهای حرکتی اسیرم فوج قزل در فصل غیر تولیدمثلی ..... ۵۷  
مهدی نظری، حسین دقن، کیا، ابرار نجفی

تغذیه طیور

اثر کتچاله سیاه دانه همراه با مولتی آنزیم بر عملکرد رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی ..... ۶۷  
(دود ارشادی، بهمن نورپاشاد، حسین محب‌الدینی، فرزاد میرزائی آقچه‌چشلاق، سیرا کرمانی جید دار)

تأثیر کفیر و عصاره نعنای لعلی در آب آشامیدنی بر عملکرد رشد، کیفیت گوشت، پروتئیل لیپیدی،

هورمون‌های پرورندگی و هورمون استوئروئید در بلدرچین زاپلی گوشتی ..... ۸۵  
شکیل میرزاده، امین کاظمی زاده، زریخت نصاری پورسرای

بررسی اثرات مکمل‌های معدنی و آلی منگنز بر عملکرد، وضعیت پاداکندگی، سیستم ایمنی و

استحکام استخوان در مرغ‌های تخم‌گذار لکه‌وزن سبده‌های لاین W-36 (۸۳ تا ۹۴ هفته) ..... ۹۹  
محمدرضا خوشبین، رضا وکیلی، عبدالمنصور طهماسبی

بهبود کیفیت اسیرم بنجمد-یخ‌کشایی شده خروس‌های گله مادر تجاری چالش داده شده با دگرانژون با

استفاده از مکمل غذایی ویتامین E ..... ۱۱۱  
ذبیح اله نعمتی، محمد ستاری، امیر کریمی مقصود بهارنی، نامدار کامرانی

بررسی کیفیت آب مصرفی مرغداری‌های شهرستان لورآباد استان فارس و مناطق روستایی مجاور ..... ۱۲۳  
سعید سلیمی، کیوش هوشمند، شهره طالبان مساکد خواجه

سایر

ارزیابی خصوصیات پروبیوتیکی باکتری‌های اسید لاکتیک جداشده از دستگاه گوارش زنبور های *Apis mellifera* ..... ۱۳۳  
سیرا کرمانی، نغمه مرگانی، ناصر حوزایی، میثی محرمی، لادن بخیرالرضا

## نشریه علمی پژوهشهای علوم دامی ایران

با شماره پروانه ۳۶۵۵ در تاریخ ۸۷/۸/۱۹ از وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی و درجه علمی-پژوهشی به شماره ۳/۳۱۴۹ در تاریخ ۸۹/۴/۳۰ از وزارت علوم تحقیقات و فناوری (از جلد ۱ سال ۱۳۸۸)

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

جلد ۱۴ شماره ۱ بهار ۱۴۰۱

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: دکتر حسن نصیری مقدم

سرمدبیر: دکتر رضا ولی زاده

اعضای هیئت تحریریه:

|                             |                             |                                            |
|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------------------------|
| دکتر رضا ولی زاده           | استاد تغذیه نشخوارکنندگان   | دانشگاه فردوسی مشهد                        |
| دکتر محسن دانش مسگران       | استاد تغذیه نشخوارکنندگان   | دانشگاه فردوسی مشهد                        |
| دکتر غلامرضا قربانی         | استاد تغذیه نشخوارکنندگان   | دانشگاه صنعتی اصفهان                       |
| دکتر سید محمد مهدی طباطبایی | استاد تغذیه نشخوارکنندگان   | دانشگاه بوعلی سینا همدان                   |
| دکتر مرتضی چاچی             | 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 ۹۱۷۷۵-۱۱۶۳

نمابر: ۰۵۱-۳۸۷۸۷۴۳۰

پست الکترونیکی: [ijasr@ferdowsi.um.ac.ir](mailto:ijasr@ferdowsi.um.ac.ir)

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

این نشریه در پایگاه های زیر نمایه می شود:

پایگاه استنادی جهان اسلام (ISC) پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID) بانک اطلاعات نشریات کشور (MAGIRAN)

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

اسامی ارزیابان جلد ۱۴ شماره ۱ (بهار ۱۴۰۱) نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران (به ترتیب الفبا)

|                                                              |                              |
|--------------------------------------------------------------|------------------------------|
| دانشگاه تهران                                                | دکتر علیرضا ایوبی            |
| دانشگاه بیرجند                                               | دکتر مسلم باشتنی             |
| دانشگاه پیام نور مشهد                                        | دکتر عطیه بهلولی قائن        |
| دانشگاه گنبد کاووس                                           | دکتر جواد بیات کوهسار        |
| سازمان جهاد کشاورزی خراسان رضوی                              | دکتر مجید جعفری              |
| دانشگاه فردوسی مشهد                                          | دکتر احمد حسن آبادی          |
| دانشگاه بیرجند                                               | دکتر سید جواد حسینی و اشان   |
| دانشگاه ایلام                                                | دکتر علی خطیب جو             |
| دانشگاه گیلان                                                | دکتر حسن درمانی کوهی         |
| دانشگاه آزاد اسلامی مشهد                                     | دکتر غلامرضا رحمانی          |
| دانش آموخته دکتری دانشگاه فردوسی مشهد                        | دکتر عطیه رحیمی              |
| دانشگاه بوعلی سینا همدان                                     | دکتر علی اصغر ساکی           |
| دانش آموخته دکتری دانشگاه فردوسی مشهد                        | دکتر علی اکبر سالاری         |
| دانشگاه فردوسی مشهد                                          | دکتر سعید سبحانی راد         |
| دانشگاه فردوسی مشهد                                          | دکتر محمد هادی سخاوتی        |
| دانشگاه محقق اردبیلی                                         | دکتر جمال سیف دواتی          |
| دانشگاه تهران                                                | دکتر سید داوود شریفی         |
| دانشگاه شهرکرد                                               | دکتر امین صادقی علیکلایه     |
| دانشگاه آزاد اسلامی - واحد ساوه                              | دکتر علیرضا علیزاده ماسوله   |
| دانشگاه فردوسی مشهد                                          | دکتر امیر هوشنگ فلاح راد     |
| دانش آموخته دکتری دانشگاه فردوسی مشهد                        | دکتر سعید فیروزه             |
| مجمع آموزش عالی تربت جام                                     | دکتر محسن کاظمی              |
| مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی | دکتر محمد نوروزی ابدال آبادی |
| مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گرگان                     | دکتر غلامعلی هلاکو           |





# بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## مندرجات

|                                                                                                                                   |      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| تغذیه نشخوار کنندگان                                                                                                              | صفحه |
| تأثیر استفاده از افزودنی های مختلف بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی و خصوصیات تخمیری سیلاژ ذرت                                          | ۳    |
| اکبر تقی زاده، الناز مرادی، حمید محمدزاده، مقصود بشارتی                                                                           |      |
| بررسی سطوح و روش های مختلف فرآوری دانه کتان بر عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه های خونی و رفتار                         | ۱۵   |
| نشخوار گوسفند                                                                                                                     |      |
| مصطفی حسین آبادی، تقی قورچی، عبدالحکیم توغدری                                                                                     |      |
| بررسی ترکیب شیمیایی، تولید گاز و قابلیت هضم دانه خلر فرآوری شده با روش های مختلف حرارتی در شرایط <i>in vitro</i> و <i>in situ</i> | ۲۹   |
| حسین راست پور، علیرضا وکیلی، عباسعلی ناصریان، محسن دانش مسگران، رضا ولی زاده                                                      |      |
| مقایسه عملکرد تولید مثلی میش های وارداتی و میش های ایرانی با استفاده از روش تلقیح مصنوعی                                          | ۴۵   |
| مسعود دیدارخواه، موسی وطن دوست                                                                                                    |      |
| تأثیر افزودن پنتوکی فیلین بر بهبود پارامترهای حرکتی اسپرم قوچ قزل در فصل غیر تولید مثلی                                           | ۵۷   |
| مهدی نظری، حسین دقیق کیا، ابوذر نجفی                                                                                              |      |
| تغذیه طیور                                                                                                                        |      |
| اثر کنجاله سیاه دانه همراه با مولتی آنزیم بر عملکرد رشد و شاخص های بیوشیمیایی خون جوجه های گوشتی                                  | ۶۷   |
| داود ارشادی، بهمن نویدشاد، حسین محب الدینی، فرزاد میرزائی آقچه قشلاق، سمیرا کرامتی جبه دار                                        |      |
| تأثیر کفیر و عصاره نعنای فلفلی در آب آشامیدنی بر عملکرد رشد، کیفیت گوشت، پروفیل لیپیدی، هورمون های تیروئیدی و                     | ۸۵   |
| هورمون تستوسترون در بلدرچین ژاپنی گوشتی                                                                                           |      |
| خلیل میرزاده، امین کاظمی زاده، زریخت انصاری پیرسرای                                                                               |      |
| بررسی اثرات مکمل های معدنی و آلی منگنز بر عملکرد، وضعیت پاداکسندگی، سیستم ایمنی و استحکام استخوان در مرغ های                      | ۹۹   |
| تخم گذار لگهرون سویه های لاین W-36 (۸۲ تا ۹۴ هفتگی)                                                                               |      |
| محمد رضا خوشبین، رضا وکیلی، عبدالمصور طهماسبی                                                                                     |      |
| بهبود کیفیت اسپرم منجمد-یخ گشایی شده خروس های گله مادر تجاری چالش داده شده با دگزامتازون با استفاده از مکمل                       | ۱۱۱  |
| غذایی ویتامین E                                                                                                                   |      |
| ذبیح اله نعمتی، محمد ستاری، امیر کریمی مقصود بشارتی، نامدار کامرانی                                                               |      |
| بررسی کیفیت آب مصرفی مرغداری های شهرستان نورآباد استان فارس و مناطق روستایی مجاور                                                 | ۱۲۳  |
| سعید سلامی، کیاوش هوشمند، شهره عالیان سماک خواه                                                                                   |      |
| سایر                                                                                                                              |      |
| ارزیابی خصوصیات پروبیوتیکی باکتری های اسید لاکتیک جدا شده از دستگاه گوارش زنبور های عسل <i>Apis mellifera</i>                     | ۱۳۳  |
| سمیرا طوطیایی، ناهید مژگانی، ناصر هرزندی، مجتبی محرمی، لادن مخبرالصفاء                                                            |      |



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

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

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

### نکات مهم:

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

### الف) فرم صفحه مشخصات مقاله

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

### ب) فرم تعهد نامه

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

### ت) دستورالعمل تهیه مقاله؛ روش تحریر

- ✓ کلیه قسمت‌های مقاله بایستی توسط Word 2007 و با فاصله خطوط ۱ و رعایت ۲/۵ سانتی متر حاشیه از هر طرف تهیه شده باشد.
- ✓ فونت B Mitra با اندازه فونت ۱۴ بکار رود.
- ✓ حداکثر تعداد صفحات مقاله ۱۵ صفحه باشد.
- ✓ از نشانه گذاری های متداول چون نقطه، 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 پاورقی‌ها به حداقل برسد و شماره پاورقی‌ها در هر صفحه از عدد یک آغاز شود.

### ث) ترتیب بخش‌ها

بخش‌های ضروری هر مقاله شامل: عنوان، چکیده فارسی، واژه‌های کلیدی، مقدمه، مواد و روش‌ها، نتایج و بحث، نتیجه‌گیری کلی، منابع، عنوان انگلیسی و چکیده مبسوط انگلیسی می‌باشند. بخش‌های پیشنهادات و سپاسگزاری بصورت اختیاری و کاملاً خلاصه شده می‌توانند به متن مقاله پس از بخش نتیجه‌گیری کلی اضافه شوند.

#### ۱- عنوان

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

#### ۲- چکیده فارسی

چکیده فارسی باید حداکثر در ۲۵۰ کلمه تهیه شود. در این بخش مقاله اهداف عمده، مواد و روش‌ها، نتایج و کاربردهای شاخص بصورت خلاصه و گویا ذکر شوند. از ذکر علائم آماری چون ( $P < 0.05$ ) و منابع مورد استفاده در این قسمت مقاله خودداری شود.

#### ۳- واژه‌های کلیدی

در انتهای متن چکیده فارسی حداکثر ۵ کلمه به عنوان واژه‌های کلیدی (به ترتیب حروف الفبا) نوشته شود.

#### ۴- مقدمه

مقدمه باید به معرفی و توجیه موضوع و هدف مورد پژوهش بپردازد و در آن به تحقیقات انجام یافته در زمینه مورد نظر به طور مختصر و کافی اشاره شده باشد. مقدمه باید حداکثر در یک صفحه ارائه شده باشد.

#### ۵- مواد و روش‌ها

شرح کامل مواد مورد استفاده و روش‌ها 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، می‌توانند به اختصار ذکر گردند. در صورت لزوم جهت معرفی تیمارها و یا روش‌های خاص آزمایش می‌توان از جدول یا شکل استفاده کرد.

#### ۶- نتایج و بحث

برای ارایه نتایج می‌توان از جدول، شکل، تصویر و منحنی استفاده کرد، اما باید از تکرار آنها به فرم‌های مختلف جدا خودداری شود. در هر قسمتی که نتایج ارائه می‌شوند 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 نتیجه‌گیری از هر مبحث در انتهای آن ذکر گردد.

#### ۶-۱- نحوه تهیه جدول‌ها و شکل‌ها

##### ۶-۱-۱- جدول

- ✓ **الگوی جدول باید دقیقاً مشابه جدول نمونه ذیل باشد.**
- ✓ **عنوان و اطلاعات نوشتاری درون جدول به دو صورت فارسی و انگلیسی نوشته شوند، اما اعداد فقط به انگلیسی نوشته شوند.**
- ✓ **فونت عنوان و محتویات جدول برای فارسی B Mitra و برای انگلیسی Times New Roman با اندازه ۱۰ باشد. زیرنویس با اندازه فونت ۹ نوشته شود.**
- ✓ **عنوان جدول در بالا و با فرمت وسط چین نوشته و گویای نتایج مندرج در آن باشد. عنوان از شماره جدول با خط تیره جدا شود. در کل جدول فقط عبارت **جدول و شماره آن** پررنگ گردد و از ارائه پررنگ سایر قسمت‌های جدول خودداری شود. (جدول ۱- تأثیر .....)**
- ✓ **هر جدول با یک خط افقی از عنوان آن و سر جدول با یک خط افقی از متن جدول جدا و در زیر متن جدول نیز یک خط افقی کشیده شود. در صورت لزوم می‌توان برای تقسیم سر جدول از خطوط افقی در داخل کادر سر جدول استفاده کرد.**
- ✓ **تیمارها در ردیف اول، سر جدول و به صورت وسط چین، اما متغیرها در سمت چپ جدول و به صورت چپ چین ارائه گردد.**
- ✓ **از کشیدن هر گونه خط عمودی در جدول خودداری شود.**
- ✓ **توضیحات اضافی عنوان و متن جدول باید بصورت زیر نویس ارائه شوند و ارتباط آنها با جدول و عنوان با استفاده از علامت‌های عددی در بالا و سمت راست جمله‌ها، اعداد و غیره به صورت توان و اندازه کوچکتر مشخص شود. برای نوشتن زیر نویس یک سطر به جدول اضافه و آن سطر را Merge کرده و زیر نویس‌ها را در آن بنویسید تا خطوط شروع جدول و زیر نویس هم‌راستا باشند.**
- ✓ **توضیحات زیرنویس در صورتی که به زبان فارسی است، راست چین و در صورتی که به زبان انگلیسی است، چپ چین باشند.**
- ✓ **واحدهای مربوط به هر پارامتر جدول روبروی آن نوشته شود و اگر کل پارامترهای جدول یک واحد دارند در عنوان جدول نوشته شود. (مانند مثال زیر):**

**جدول ۱- تأثیر سطوح مختلف محصولات فرعی در جیره بر متابولیت‌های پلاسما (بر حسب میلی‌گرم بر دسی لیتر)**

**Table1- Effect of different levels of by-products in dietary on plasma metabolites (mg/dl)**

| Plasma metabolites                                       | جیره های آزمایشی<br>Experimental diets |                    |        |      | P-value |       |              |
|----------------------------------------------------------|----------------------------------------|--------------------|--------|------|---------|-------|--------------|
|                                                          | Alfalfa                                | 5% BP <sup>1</sup> | 20% BP | SEM  | treat   | time  | Treat × time |
| گلوکز<br>Glucose (mg/dl)                                 | 10.0                                   | 10.0               | 10.0   | 10.0 | 0.002   | 0.002 | 0.002        |
| نیترژن اوره ای خون<br>BUN (%) <sup>2</sup>               | 10.0                                   | 10.0               | 10.0   | 10.0 | 0.002   | 0.002 | 0.002        |
| آسپاراتات آمینو ترانسفراز<br>AST (U/L) <sup>3</sup>      | 10.0                                   | 10.0               | 10.0   | 10.0 | 0.002   | 0.002 | 0.002        |
| آلاتین آمینو ترانسفراز<br>ALT (U/L) <sup>4</sup>         | 10.0                                   | 10.0               | 10.0   | 10.0 | 0.002   | 0.002 | 0.002        |
| لیپوپروتئین با دانسیته پایین<br>LDL (mol/L) <sup>6</sup> | 10.0                                   | 10.0               | 10.0   | 10.0 | 0.002   | 0.002 | 0.002        |

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

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

<sup>1</sup>By-Products were used instead of alfalfa in 5 and 10 % based on dry matter intake.

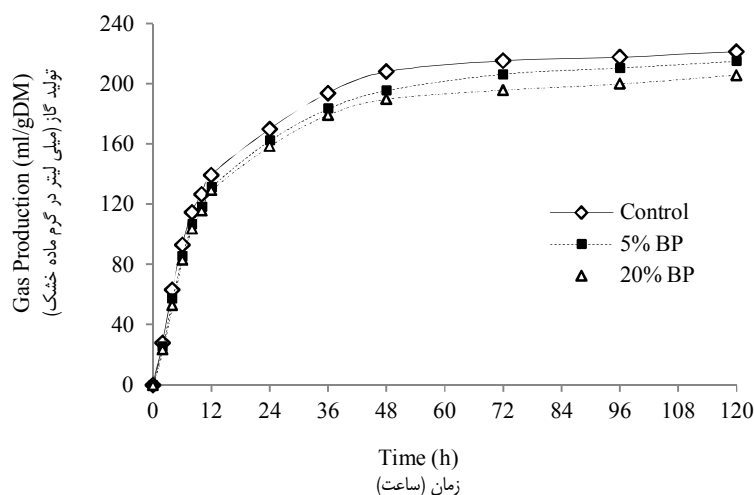
<sup>2</sup>Blood urea nitrogen

<sup>3</sup>Aspartate Aminotransferase

<sup>4</sup>Alanine Aminotransferase

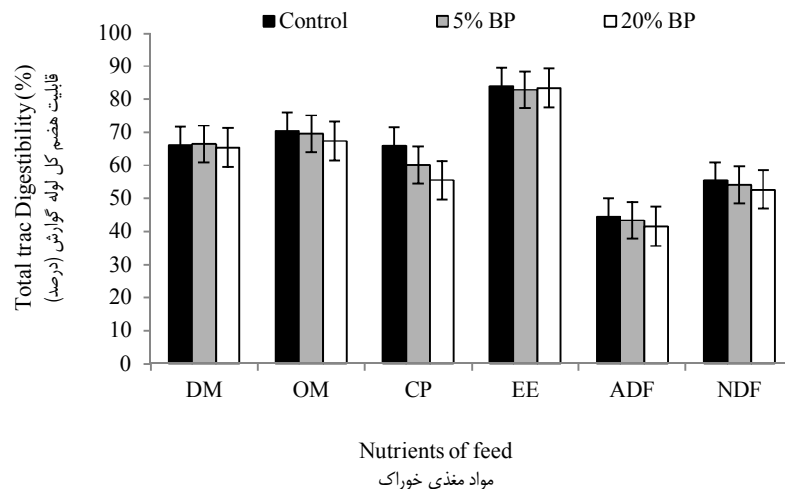
<sup>5</sup>Low density lipoprotein

- ✓ **الگوی شکل باید دقیقاً مشابه با شکل‌های نمونه ذیل باشد.**
- ✓ **عنوان شکل، عنوان محورهای افقی و عمودی شکل به دو صورت فارسی و انگلیسی نوشته شوند. اما اعداد به انگلیسی باشند.**
- ✓ هر محور افقی و عمودی باید حاوی توضیح کامل و واحد باشد. واحد پس از عنوان محور داخل پرانتز نوشته شود.
- ✓ عنوان شکل در پایین و با فرمت وسط چین نوشته و معرف محتوای آرایه شده در آن باشد.
- ✓ فونت عنوان و محتویات شکل برای فارسی B Mitra و برای انگلیسی Times New Roman با اندازه ۱۰ باشد. زیرنویس با اندازه فونت ۹ نوشته شود. در کل شکل **فقط عبارت شکل و شماره آن** پررنگ باشد و عنوان و توضیح شکل به صورت پررنگ نباشد. (شکل ۱- تأثیر .....)
- ✓ از اعداد انگلیسی در محورهای افقی و عمودی در شکل‌ها استفاده شود. توجه: در مورد شکل، از الگوهای سیاه و سفید استفاده شود و رنگ زمینه در کلیه شکل‌ها بایستی سفید باشد.
- ✓ در نمودارهای خطی می‌توان از علائمی نظیر (♦, ◇, ▲, △, +, ●, ○, ■, □) استفاده کرد.
- ✓ از آوردن کادر دور شکل و خطوط طولی در شکل خودداری شود.
- ✓ سعی شود با نرم افزار Excle روی شکل‌ها به خوبی کار شود تا بالاترین کیفیت برای شکل‌ها بدست آید.



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

Figure 1- Effects of different levels of by-products in dietary on extent of gas production *in vitro*



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف محصولات فرعی در جیره بر قابلیت هضم شکمبه ای مواد مغذی  
**Figure 1-** Effects of different levels of by-products in dietary on rumen digestibility of nutrients

## ۷- نتیجه گیری کلی

استنتاج های کلی و شاخص حاصل از تحقیق باید در این بخش ذکر شوند. چنانچه نویسنده (گان) پیشنهاداتی بر آمده از تحقیق برای خوانندگان داشته باشند، می توانند در این قسمت ذکر نمایند.

## ۸- سپاسگزاری

بخشی اختیاری است و در ذیل آن نگارنده (گان) می توانند از تأمین کنندگان بودجه، امکانات و اشخاصی که در انجام تحقیق کمک کرده اند حداکثر در ۳ سطر پس از پذیرش در مرحله ویراستاری تشکر و قدردانی نمایند، بنابراین توصیه اکید می شود نویسنده (گان) در کلیه مراحل قبل از پذیرش نهایی از اضافه کردن این بخش به مقاله خودداری نمایند.

## ۹- منابع

### الف) ارجاع به منابع

نحوه رجوع منابع در متن به صورت اسم نویسنده (نویسندگان) و تاریخ انتشار منبع باشد. در ارجاع به منابع باید تا حد ممکن از نام بردن افراد در شروع جمله خودداری و منابع در انتهای جمله و در پرانتز ارائه شوند.

- مثال برای ارجاع به منبعی که فقط یک نویسنده دارد: (Naserian, 2008)
- برای منبعی با دو نویسنده از کلمه "and" بین آن ها به صورت زیر استفاده شود:  
(Naserian and Valizadeh, 2009)
- برای مقاله ای با بیشتر از دو نویسنده از کلمه ایتالیک "et al." به صورت زیر استفاده شود:  
(Naserian et al., 2008)
- هنگام ارجاع همزمان به چند منبع از علامت ";" به صورت زیر استفاده شود:  
(Naserian, 1999; Naserian et al., 2008; Naserian and Valizadeh, 2009)
- زمان ارجاع به رفرنس در ابتدا یا وسط جمله مشابه مثال زیر استفاده شود:
- ناصریان و همکاران (Naserian et al., 2010)

- کلیه منابع فارسی و انگلیسی به زبان انگلیسی و با قلم Times New Roman اندازه ۱۲ در فهرست منابع نوشته شوند.
- همواره در نوشتن نام نشریات و منابع، اسم کامل آن‌ها آورده شود و از اسامی کوتاه شده آن‌ها استفاده نشود.
- از ذکر منابع بی‌نام و غیر قابل دسترس خودداری شود.
- **تمامی ارجاعات داخل متن باید به رفرنس مربوطه لینک شوند.**
- **درج شناسه DOI (در صورت وجود) در انتهای هر رفرنس الزامی است.**

## ب- منابع مورد استفاده

- منابع مورد استفاده باید شامل جدیدترین منابع در زمینه کار مورد نظر باشد. فهرست منابع به ترتیب حروف الفبای نام خانوادگی نویسنده(گان) مقاله مرتب و شماره‌گذاری شود. وقتی از چند اثر مختلف یک نویسنده استفاده می‌شود، ترتیب شماره‌گذاری این مقاله‌ها بر حسب سال انتشار آنها (از قدیم به جدید) انجام گیرد. **توجه شود که تمام منابع فارسی و انگلیسی مورد استفاده در قسمت منابع باید به انگلیسی نوشته شوند. سال‌های شمسی به میلادی تبدیل شوند. در برگردان اسامی افراد اطمینان حاصل شود که املاء آن‌ها و سال انتشار درست باشد. لازم است برای برگردان صحیح اسامی و عنوان مقالات و دیگر منابع به پایگاه‌های اطلاعاتی مثل SID، irandoc، Sciencedirect و غیره مراجعه شود و یا رأساً با شخص مورد نظر تماس گرفته شود.**
- **ضروری است در انتهای منابع فارسی که به انگلیسی برگردان شده است عبارت In Persian در انتهای منبع داخل پرانتز ذکر شود).**

## ۹-۱- نکات مهم در مورد نوشتن منابع

- ✓ نحوه نگارش منابع اتخاذ شده از نشریه های علمی، کتاب، همایش ها و یا درگاه الکترونیکی بایستی به صورت ذیل باشد.
  - ✓ **نام نشریه و یا همایش علمی** باید به صورت **کامل** نوشته شود و از نوشتن مخفف آنها جداً خودداری شود.
  - ✓ نام خانوادگی نویسنده اول، حرف اول اسم (اسامی) کوچک نویسنده اول، از نویسنده دوم به بعد حرف اول اسم (اسامی) کوچک و بعد نام خانوادگی. سال انتشار، عنوان، مشخصات ناشر، صفحه.
  - ✓ به نقطه و ویرگولها در نوشتن منابع بسیار توجه شود.
- به مثالها توجه نمایید:

## ۹-۱-۱- نشریه های علمی

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

## ۹-۱-۲- کتاب ها

6. AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19<sup>th</sup> ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.



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

۹-۱-۳- همایش ها

10. Barbano, D. M. 1996. Mozzarella cheese yield: Factors to consider. Page 29 in Proc. Wisconsin Cheese Markers **Meeting Center of Dairy Research**, University of Wisconsin, Madison.
11. National Mastitis council. 1995. Summary of peer-reviewed publications on efficacy of premilking and postmilking teat disinfections published since 1980. Pages 82-92 in Natl. **Mastitis Council Regional Meeting proceeding**, Harrisburg, PA. Natl. Mastitis council, Inc., Madison. WI.

۹-۱-۴- درگاه الکترونیکی (Web Site)

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

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

## ۱۰- چکیده انگلیسی

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

✓ ابتدای واژه‌های اصلی، عنوان انگلیسی، مقاله و کلمات کلیدی با حروف بزرگ نوشته شود.

✓ از ذکر اسامی و آدرس نویسندگان به انگلیسی در بخش چکیده مبسوط خودداری گردد.

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

[illegible][illegible][illegible][illegible]

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



## The Effects of Different Biological Additives on Chemical Composition and Fermentation Characteristics of Corn Silage

Akbar Taghizadeh<sup>1\*</sup>, Elnaz Moradi<sup>2</sup>, Hamid Mohammadzadeh<sup>3</sup>,  
Maghsoud Besharati<sup>4</sup>

Received: 31-03-2020

Revised: 01-05-2020

Accepted: 05-05-2021

Available Online: 07-06-2022

### How to cite this article:

Taghizadeh, A., E. Moradi, H. Mohammadzadeh and M. Besharati. 2022. The Effects of Different Biological Additives on Fermentation and Chemical Composition of Corn Silage Iranian Journal of Animal Science Research 14(1):1-12.

[DOI:10.22067/ijasr.2021.38281.0](https://doi.org/10.22067/ijasr.2021.38281.0)

**Introduction:** Dried forage has long been used as a traditional method of storage of forage feedstuffs. However, the need to postpone forage harvest until maturity in order to obtain more dry matter reduces its digestibility. Adverse weather conditions can lead to loss of nutrients and overall decline in the nutritional value of dried fodder. One of the methods that is somewhat less dependent on climate conditions and used by ranchers to maintain plants. The product of fermentation under anoxic and acidic conditions is called silage. During forage ensiling due to the activity of lactic acid producing bacteria and in anaerobic conditions, water soluble carbohydrates in forage are converted to predominantly lactic acid acids, which reduce the pH and protect the forage against microbial spoilage. Corn as a plant with high production capacity and adaptability in most parts of the country can play an important role in providing forage to livestock, especially in winter. One of the main concerns in the preparation of a good silage is the rapid decrease in silage pH in the shortest time. Hay pH at harvest time is between 6 and 7 and after the incubation period with proper fermentation, pH can be equal to or less than 4, which this reduction in pH is due to production of lactic acid and other organic acids by bacteria. Accelerate the reduction of pH by adding lactic acid bacteria in food is very important to minimize depreciation. Recent studies have shown that inoculation with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and reduces the susceptibility to aerobic spoilage of various ensiled forages. This study was conducted to determine the effect of EM (containing yeast and lactobacillus) and Lalsil containing *Lactobacillus buchneri* inoculants on chemical composition, fermentation profile and degradability of corn silage.

**Materials and Methods:** This research was carried out to investigate the Effects of Different Biological Additives on Fermentation and Chemical composition of corn silage by using 2 experiments (Chemical composition assay, gas production) in a completely randomized design. The latest experiment was performed in a completely randomized design with 4 different treatments in three replications. The corn forage was harvested at the dough stage and then crushed by a chopper. The silage was kept at room temperature for 90 days. Dry matter, organic matter, crude protein, insoluble fiber in acidic and neutral detergent, lactic acid content, water soluble carbohydrate, ammonia nitrogen concentration and total volatile fatty acids, pH were measured with 3 replicates. The four various treatments in the running order incorporated as: 1. control (without any inoculant), 2. Corn silage treated with bacterial additive Lalsil  $1.8 \times 10^6$  CFU/g fresh forage (include *Lactobacillus buchneri*), 3. Corn silage treated with bacterial additive at 0.02 percent, and 4. Corn silage treated with bacterial additive at 0.04 percent (at fresh weight). Crops were ensiled in triplicate laboratory mini soils for 90 days at room temperature. The results were analyzed using SAS (2002) software with GLM procedure and using of Duncan's test for comparing the averages (at 5% level).

**Results and Discussion:** The results showed that the additive of the different Biological Additives used had

1- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

2- MSc of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

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

4- Assistant Professor, Department of Animal Science, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

\*Corresponding Author Email: [ataghius@yahoo.com](mailto:ataghius@yahoo.com)

the potential to positively change the chemical composition of corn silage. Treating corn silage with Lalsil and EM caused a significant decline in pH in comparison to control treatment ( $P < 0.001$ ). Supplementation of additives significantly increased dry matter content of corn silage ( $P < 0.05$ ). Statistical analysis of data from this experiment on corn silage pH showed that addition of Lalsil and EM significantly decreased corn silage pH ( $P < 0.05$ ). Also, the addition of EM to corn silage in 0.02 percent of supplementation had no significant difference with a control treatment. The EM treatments caused a significant decline in lactobacillus population in relation to Lalsil treatments ( $P < 0.05$ ). Experimental treatments in relation to control and the other treatments. Addition of Lalsil and EM to corn silage had no significant effect on neutral detergent fiber (NDF). Treating corn silage with Lalsil and EM caused a significant decline in pH in relation to control treatment ( $P < 0.05$ ). The lowest pH is related to inoculated bacterial treatment. Addition of Lalsil and EM had no significant effect on insoluble fiber in neutral detergent and acid detergent fiber. Lalsil additive reduced the amount of crude protein in the silage. The EM treatments caused a significant decline in lactobacillus population in relation to Lalsil treatments ( $P < 0.05$ ). DM disappearance was lower in EM treatments in at any level of supplementation in the early hours of incubation in relation to control treatment ( $P < 0.05$ ) as well as adding of Lalsil significantly reduced the DM disappearance ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Adding different biological additives to corn silage reduces pH and can improve the aerobic stability, quality of corn silage in laboratory silos by altering the availability of water soluble carbohydrates.

**Keyword:** Biological additives, Chemical composition, Corn silage, Effective microorganisms, Fermentation, Lalsil

## مقاله پژوهشی

## تاثیر استفاده از افزودنی‌های مختلف بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی و خصوصیات تخمیری سیلاژ ذرت

اکبر تقی‌زاده<sup>۱\*</sup>، الناز مرادی<sup>۲</sup>، حمید محمدزاده<sup>۳</sup>، مقصود بشارتی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۱۲

تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۰۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۵

تقی زاده، ا.، مرادی، ح.، محمدزاده و م. بشارتی. ۱۴۰۱. تاثیر استفاده از افزودنی‌های مختلف بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی و خصوصیات تخمیری سیلاژ ذرت. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۴(۱): ۱-۱۲.

## چکیده

متخصصین تغذیه نشوآرکنندگان، به دنبال استفاده از ترکیباتی هستند که با تغییر جمعیت و فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه، بازده استفاده از انرژی و پروتئین خوراک را افزایش دهند. هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر استفاده از دو محصول تجاری حاوی افزودنی‌های میکروبی لالسیل و افزودنی بیولوژیکی EM بر ترکیب شیمیایی، پروفایل تخمیری و میزان تولید گاز سیلاژ ذرت بود. این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل ۱. تیمار شاهد بدون افزودنی میکروبی، ۲. سیلاژ ذرت + افزودنی لالسیل به میزان  $1 \times 10^6$  CFU به ازای هر گرم علوفه تازه، ۳. سیلاژ ذرت + ۰/۰۲ درصد EM و ۴. سیلاژ ذرت + ۰/۰۴ درصد EM (EMH) بود. مکمل کردن لالسیل و EM به سیلاژ ذرت کاهش معنی‌داری بر pH سیلاژ ذرت در مقایسه با گروه شاهد داشت، به طوری که کمترین pH مربوط به گروهی بود که افزودنی لالسیل اضافه شده بود. افزودن لالسیل و EM تاثیر معنی‌داری بر الیاف نامحلول در شوینده‌ی خنثی نداشت. بیشترین مقدار گاز تولیدی مربوط به تیمارهای EMH و لالسیل بود. افزودنی EM در سطح ۰/۰۴ درصد و افزودنی لالسیل هر دو موجب افزایش تولید گاز سیلاژ ذرت شدند. ولی افزودنی EM در سطح ۰/۰۲ درصد تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. افزودن لالسیل و EM تاثیر معنی‌داری بر الیاف نامحلول در شوینده‌های خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نداشت.

**واژه‌های کلیدی:** افزودنی‌های میکروبی، ترکیب شیمیایی، سیلاژ ذرت، لالسیل، میکروارگانیسم‌های موثر.

## مقدمه

مدیریت بهینه سیلاژ ذرت سبب بهبود کیفیت سیلو، اتلاف کمتر مواد مغذی و عملکرد بهتر حیوانات شده و از لحاظ اقتصادی حائز اهمیت است. علوفه ذرت سیلو شده با تامین بخشی از انرژی، الیاف موثر فیزیکی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و شرکت در تشکیل تله

فیبری شکمبه، بر تولید و ترکیبات شیر اثر گذار است (Besharati, *et al.*, 2020a; Filya, 2003). برای بهبود کیفیت سیلاژ ذرت نیاز به مدیریت مناسب طی مراحل مختلف شامل ماده خشک مناسب هنگام برداشت، مقدار نشاسته، مقدار الیاف، قابلیت هضم الیاف، اندازه قطعات مناسب، فرآوری دانه‌ها و تلقیح میکروبی و افزودنی‌ها، تراکم مناسب سیلو، پوشاندن سریع و مناسب، حفظ شرایط بی‌هوازی و مدیریت

۱- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۲- کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۴- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

(\*)- نویسنده مسئول: (Email: [ataghius@yahoo.com](mailto:ataghius@yahoo.com))

برداشت از سیلو می‌باشد (Heinriches and Conrad, 1984). برخی از ارقام ذرت نشاسته (دانه‌ها) بیشتری تولید می‌کنند و قابلیت هضم الیاف آنها بالاتر است. ایجاد تراکم مناسب در سیلو سبب بهبود تخمیر، اتلاف کمتر ماده خشک، ذخیره مقدار بیشتر علوفه در ساختمان سیلو و فساد کمتر در سیلو می‌شود. پوشاندن مناسب، سیلو را طی زمان نگهداری و مصرف از فساد حفظ می‌کند، فساد و کپک‌زدگی سبب تولید آفلاتوکسین‌ها و مایکوتوکسین‌ها در سیلو می‌شود که بر سلامت حیوان اثر منفی دارد و از طریق شیر و گوشت به انسان منتقل می‌شود (Kung and Ranjit, 2001). مدیریت مناسب برداشت علوفه، تهیه سیلو و اندازه قطعات مناسب علوفه سیلویی جهت تامین الیاف موثر فیزیکی، فعالیت جویدن، افزایش مصرف ماده خشک، کاهش انتخاب-گری، کاهش خطر اسیدوز و افزایش تولیدشیر دارای اهمیت ویژه است. شرایط محیطی و تیمارهای طی پرورش گیاه بر کیفیت علوفه موثر هستند. فراوری دانه با افزایش قابلیت هضم نشاسته و افزایش ماده خشک مصرفی، اثر مثبت بر تولید شیر دارد. تلقیح میکروبی مناسب می‌تواند بازبایی ماده خشک و انرژی سیلو را بهبود دهد (Mohammadzadeh et al., 2012; Besharati et al., 2019).

افزودنی‌های میکروبی مهمترین افزودنی‌های بیولوژیکی سیلو هستند. هدف از اضافه نمودن افزودنی‌های بیولوژیکی، غالب نمودن باکتری‌های مفید بر میکروارگانیسم‌های مضر می‌باشد. جمعیت باکتریایی مولد اسیدلاکتیک موجود بر روی گیاهان اغلب کم بوده و بعلاوه ممکن است باکتری‌های هترولاکتیک بر باکتری‌های همولاکتیک غالب باشند (Ranjit and Kung, 2000). باکتری‌های هترولاکتیک اسید بوتیریک تولید کرده و اسیدآمینه را به فرآورده‌هایی با ارزش غذایی پایین تجزیه می‌کنند (Mahala and Khalifa, 2007). افزایش سطح اسید لاکتیک و کاهش قابل توجهی در pH در طول تخمیر سیلاژ ذرت، از فواید استفاده از افزودنی میکروبی است (Filya, 2003). در برخی موارد بهبود در عملکرد حیوانات تغذیه شده با سیلاژ تلقیح شده نیز مشاهده شده؛ به عنوان مثال، افزایش خوراک مصرفی، وزن زنده، بازده خوراک و تولید شیر در هنگام تلقیح میکروبی سیلاژ مشاهده شده است (Henderson and Gealser, 1970). میزان بهبود در کیفیت سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی میکروبی کمتر از سیلاژ یونجه است. کم بودن این مقدار را می‌توان به تعداد زیاد باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک موجود بر روی علوفه ذرت و مقدار کربوهیدرات محلول بیشتر در زمان سیلو کردن نسبت داد. استفاده از افزودنی‌های میکروبی معایبی نیز دارد. علاوه بر هزینه بالای این افزودنی‌ها، افزودنی‌های باکتریایی حاوی باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک همگن به اندازه کافی اسیدهای چرب فرار برای حفظ سیلاژ در مقابل کپک‌ها و مخمرهای هوازی تولید نکرده و لذا پایداری هوازی سیلاژ غلات

(سیلاژهای گندم، ذرت و سورگوم) را کاهش می‌دهند (McDonald et al., 1991). لاکتوباسیلوس‌های دارای تخمیر هترولاکتیک می‌توانند در مراحل نهایی تخمیر (مرحله ذخیره سازی) از اسید لاکتیک تولید اسید استیک کرده و پایداری هوازی سیلاژ را هنگام باز شدن سیلو افزایش دهند (Mohammadzadeh et al., 2012). هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر استفاده از افزودنی‌های میکروبی لالسیل با ترکیب باکتری لاکتوباسیلوس بوکتری و EM (حاوی باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر) بر ترکیب شیمیایی، پروفایل تخمیری و میزان تولید گاز سیلاژ ذرت بود.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار مختلف در سه تکرار اجرا گردید. ذرت علوفه‌ای در مرحله‌ی خمیری دانه برداشت و سپس توسط چابر خرد شد. تیمارها شامل: ۱) علوفه ذرت سیلویی شاهد (بدون افزودنی میکروبی)، ۲) علوفه ذرت سیلویی تلقیح شده با افزودنی باکتریایی با نام تجاری Lalsil Fresh (حاوی باکتری لاکتوباسیلوس بوکتری) به میزان  $1 \times 10^6$  CFU<sup>۱</sup> به ازای هر گرم علوفه تازه، ۳) علوفه ذرت سیلویی تلقیح شده با EM به میزان ۰/۰۲ درصد، ۴) علوفه ذرت سیلویی تلقیح شده با EM به میزان ۰/۰۴ درصد بودند. سیلوها به مدت ۹۰ روز در دمای اتاق نگهداری شدند.

پس از ۹۰ روز سیلوها باز شده و بعد از اندازه‌گیری pH در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد در فریزر برای انجام آزمایشات بعدی نگهداری شد. پس از خشک و آسیاب کردن، به منظور تعیین ماده خشک (DM) نمونه‌های سیلاژ ذرت بعد از خروج از فریزر در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت در آون خشک شده و با غربال ۱ میلی‌متر آسیاب شدند. از هر تیمار مقدار ۱ گرم در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت سوزانده و مقدار خاکستر آن‌ها اندازه‌گیری شد. دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی‌سلولز با روش ون سوست (Van Soest et al., 1991) اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری pH، عصاره استخراج شده سیلاژ استفاده شد. برای این منظور سیلاژهای آزمایشی مقدار ۳۰ گرم از هر نمونه در داخل یک مخلوط‌کن ریخته و به میزان ۲۷۰ سی‌سی آب مقطر به آن‌ها اضافه شد. مخلوط ایجاد شده از پارچه لمل دو لایه، عبور داده شد (Mohammadzadeh et al., 2012). جهت اندازه‌گیری ازت آمونیاکی از روش برودریک و کنگ (V) استفاده شد. اسید لاکتیک از طریق روش جوزفا و همکاران (Kalzendorf, 1992) اندازه‌گیری شد.

برای بررسی کینتیک تخمیر از روش آزمایش تولید گاز استفاده شد. اندازه‌گیری گاز تولید شده مطابق با روش فدوراک و هرودی (Fedorak and Hurdy, 1983) صورت گرفت. در این روش ابتدا مواد خوراکی

$Y_{ij}$  = مقدار هر مشاهده،  $\mu$  = میانگین کل،  $T_j$  = اثر تیمار،  $e_{ij}$  = خطای آزمایشی.

## نتایج و بحث

### اثرات لالسیل و EM بر ترکیب شیمیایی سیلاژ ذرت (درصد از ماده خشک)

اثرات ماده افزودنی لالسیل و EM بر ترکیب شیمیایی سیلاژ ذرت در جدول ۱ آمده است. نتایج بدست آمده نشان داد مکمل کردن افزودنی‌ها، اثر معنی‌داری بر مقدار ماده خشک سیلاژ ذرت گذاشت ( $P < 0.01$ ) به طوری که افزودن لالسیل و EM در هر دو سطح میزان ماده خشک سیلاژ را افزایش داد و سطوح مختلف EM بیشترین درصد ماده خشک را به خود اختصاص داد ( $P < 0.001$ ). همچنین نتایج مربوط به افزودنی لالسیل نیز نشان از اثر معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد داشت ( $P < 0.05$ ). این نتایج موافق با نتایج علیخانی و همکاران (Alikhani et al., 2005) بود. محمدزاده و همکاران (Mohammadzadeh et al., 2012) نیز با اضافه کردن افزودنی میکروبی *Lactisil Maize* تفاوت معنی‌داری در میزان ماده خشک سیلاژ ذرت مشاهده نکردند. در مطالعات ولفورد (Woolford, 1975) سیلاژهای تیمار شده با افزودنی حاوی اسید پروپیونیک و اسید فورمیک دارای ماده خشک بیشتری نسبت به گروه شاهد و سیلاژهای تیمار شده با افزودنی ملاس و ملاس+اوره دارای ماده خشک کمتری نسبت به گروه شاهد بودند. به نظر می‌رسد علت افزایش در ماده خشک سیلاژ ذرت متأثر از افزودنی‌های لالسیل و EM، کاهش اتلاف ماده خشک توسط این افزودنی‌ها و افزایش ماده خشک نهایی سیلاژهای تلقیح شده باشد.

آنالیز آماری داده‌های حاصل از این آزمایش بر pH سیلاژ ذرت نشان داد؛ افزودن لالسیل و EM اثر معنی‌داری بر pH سیلاژ ذرت داشت ( $P < 0.01$ ). مکمل کردن لالسیل و EM به سیلاژ ذرت کاهش معنی‌داری بر pH سیلاژ ذرت در مقایسه با گروه شاهد داشت. به طوری که کمترین pH مربوط به گروهی بود که افزودنی لالسیل اضافه شده بود ( $P < 0.001$ ) که این نتایج با نتایج هاشم‌زاده و همکاران (Hashemzadeh-Cigari et al., 2014) مطابقت و با نتایج محمدزاده و همکاران (Mohammadzadeh et al., 2012) مطابقت نداشت. افزودنی باکتریایی لاکتوباسیلوس بوکتری نسبت به سایر افزودنی‌ها به میزان بیشتری سبب کاهش pH شد. در آزمایش هاشم‌زاده و همکاران (Hashemzadeh-Cigari et al., 2014)، افزودنی باکتریایی لاکتوباسیلوس بوکتری سبب کاهش pH شد. کانگ و رنجیت (Kung and Ranjit, 2001) در اثر اضافه کردن لاکتوباسیلوس بوکتری بر سیلاژ جو پس از یک دوره ۶۹ روزه کاهش pH را گزارش کردند. بشارتی و همکاران (Besharati et al., 2020b, Besharati et al., 2020a)

توسط آسیاب با قطر منافذ الک ۲ میلی متری بصورت یکنواخت آسیاب شدند. مقدار ۳۰۰ میلی گرم از هر ماده خوراکی آسیاب شده با دقت توزین و به داخل شیشه‌های سرم استریل ۵۰ میلی‌لیتری منتقل گردید. برای هر نمونه ماده غذایی ۳ تکرار در نظر گرفته شد. مایع شکمبه مورد نیاز در آزمایش تولید گاز دو ساعت بعد از وعده خوراک صبحگاهی، از رأس گوسفند فیستولدار گرفته شد. این حیوانات به مدت یک ماه با جیره غذایی در سطح نگهداری شامل ۴۰ درصد کنسانتره و ۶۰ درصد علوفه و ترکیب جیره، شامل یونجه خشک، دانه جو و کنجاله سویا تغذیه شدند. مایع شکمبه جمع‌آوری شده با پارچه توری چهار لایه صاف شد و در داخل فلاسک حاوی گاز دی‌اکسید کربن، سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. قبل از انتقال مایع شکمبه به داخل شیشه‌های سرم، با بافر تهیه شده به روش مکدوگال (McDougall, 1948) به نسبت ۱ به ۲ (یک قسمت مایع شکمبه و دو قسمت بافر) مخلوط شد. شیشه‌های سرم قبل از انتقال مایع شکمبه و بافر، جهت جلوگیری از شوک حرارتی، به مدت نیم ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد گرم شد. در مرحله انتقال بافر و مایع شکمبه از ارلن به شیشه‌های سرم، جریان مداوم گاز دی‌اکسید کربن به ارلن قرار گرفته بر روی هیتر ۳۹ درجه سانتی‌گراد تزریق شد. در هر شیشه حاوی تیمار آزمایش مقدار ۲۰ میلی-لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر افزوده شد و بعد از بی‌هوازی نمودن داخل شیشه با تزریق گاز دی‌اکسید کربن، درب شیشه‌ها توسط درپوش لاستیکی و پرس فلزی، محکم بسته شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی با منشاء مایع شکمبه تعداد ۵ عدد شیشه بدون ماده غذایی و فقط دارای مایع شکمبه در نظر گرفته شدند. کل شیشه‌ها جهت اندازه‌گیری گاز تولیدی به داخل دستگاه انکوباتور شیکر با ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد، منتقل شده و عمل قرائت و ثبت میزان گاز تولیدی ناشی از تخمیر مواد غذایی از روش فدوراک و هرودی (Fedorak and Hurdy, 1983) (جابجایی آب) در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از عمل انکوباسیون انجام گرفت. و بر اساس حجم گاز تولیدی فراسنجه‌های تجزیه پذیری با روابط زیر محاسبه شدند:

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

که  $Y$  مقدار گاز تولید شده (میلی لیتر در زمان  $t$ )؛  $b$  گاز تولید شده از بخش نامحلول اما آهسته قابل تخمیر؛  $e$  عدد نپر؛  $c$  ثابت نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت) و  $t$  زمان تخمیر می‌باشد.  $b$  و  $c$  با مدل نمایی ارائه شده توسط اورسکوف و مکدونالد (Orskov and McDonald, 1979) محاسبه شد.

آنالیز آماری داده‌های بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی توسط SAS با رویه GLM تجزیه و تحلیل شدند و آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها (در سطح ۰/۰۵ درصد) به کار برده شد. مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

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



2019)، ویترو و همکاران (Winters et al., 2000) و کورتیس و همکاران (Curtis, 1996) نتایج مشابهی را گزارش نمودند. فیلیا (Filya, 2003) نتایجی عکس این نتایج را گزارش نمودند. به طور کلی می‌توان دلیل کاهش pH را افزایش باکتری‌های تولید کننده اسیدلاکتیک توسط این افزودنی‌ها دانست. علت دیگر کاهش pH احتمالاً میزان بالای ماده خشک در سیلاژهای تلقیح شده با افزودنی‌ها می‌باشد، که باعث کاهش بیشتر pH می‌شود.

در صورتی که کربوهیدرات‌های محلول در آب گیاه کافی باشد، اسیدهای تولید شده pH سیلاژ را به ۴ یا پایین‌تر می‌رسانند که در این حالت متناسب با ماده خشک گیاه از فعالیت‌های تخمیری بیشتر جلوگیری می‌شود و سیلاژ به صورت پایدار مانده و ترکیبات آن تغییر نمی‌کند (Coblentz and Muck, 2012). در نتیجه تولید این اسیدها و کاهش pH سیلاژ، رشد میکروارگانیسم‌های فاسد کننده سیلو متوقف می‌شود (Henderson and Gealser, 1970). فروال و همکاران (Frevel et al., 1985) بیان کردند که اسیدلاکتیک با افزایش غلظت  $H^+$  سبب کاهش pH سیلاژ تا سطح غیر قابل تحملی برای باکتری‌های مضر می‌گردد. مک آلیستر و همکاران (McAllister et al., 1995) به این نتیجه رسیدند که اگر افزودنی‌های باکتریایی، سیلاژ را به طرف تخمیر همگن هدایت نماید سبب بالا رفتن مقدار کربوهیدرات غیرساختمانی سیلاژ می‌گردد. در تحقیقات علیخانی و همکاران (Alikhani et al., 2005) pH سیلاژ آفتابگردان حاوی ملاس نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت و استفاده از افزودنی میکروبی باعث کاهش معنی‌داری در pH سیلاژ گردید. مقایسه بین تیمارهایی که با افزودنی‌های لالسیل و EM مکمل شده بودند، نسبت به یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند.

افزودن لالسیل و EM تاثیر معنی‌داری بر الیاف نامحلول در شوینده ی خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نداشت. این نتایج با نتایج هاشم‌زاده و همکاران (Hashemzadeh-Cigari et al., 2014) مطابقت داشت. افزودن EM با دوز کم به علوفه ذرت سبب کاهش عددی اندکی در میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده‌ی اسیدی گردید که این مقدار از نظر آماری معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ). احتمالاً این امر به دلیل مصرف قندهای محلول علوفه است که سبب افزایش در غلظت الیاف سیلاژ می‌گردد (Kalzendorf, 1992).

نتایج بدست آمده برای خاکستر سیلاژ ذرت نشان داد استفاده از افزودنی‌ها اثر معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد دارد ( $P < 0.001$ ). بطوری که افزودن EM در هر دو مقدار به سیلاژ ذرت کاهش معنی‌داری بر خاکستر سیلاژ ذرت در مقایسه با گروه شاهد دارد. بیشترین خاکستر سیلاژ ذرت مربوط به گروهی بود، که لالسیل اضافه شده بود. داده‌های مربوط به خاکستر سیلاژ ذرت ۷/۶۰، ۸/۳۴، ۶/۳۳ و ۶/۳۳ به ترتیب برای شاهد، لالسیل، EML و EMH

می‌باشد. در تحقیقات اوس و همکاران (Os et al., 1997) استفاده از افزودنی‌ها تفاوت معنی‌داری در میزان خاکستر سیلاژ تفاله چغندر قند ایجاد نکرد. در تحقیقات وینبرگ و ماک (Weinberg and Muck, 1996)، ویس (Weiss, 1992) نیز استفاده از افزودنی‌های میکروبی بر روی میزان خاکستر سیلاژ یونجه تفاوتی ایجاد نکرد. افزودنی ملاس باعث افزایش میزان خاکستر سیلاژ سورگوم می‌شود (Honig and Woolford, 1980). محمدزاده و همکاران (Mohammadzadeh et al., 2012) عنوان کردند که سیلاژهای دارای افزودنی میکروبی میزان بالاتری از خاکستر خام را داشتند.

افزودنی لالسیل باعث کاهش میزان پروتئین خام سیلاژ شد که با یافته‌های سایر محققین مطابقت دارد (Rowghani et al., 2008). نتایج این آزمایش با نتایج کانگ و رنجیت (Kung and Ranjit, 2001) و کالزندورف (Kalzendorf, 1992) که هر دوی این مطالعات افزودنی باکتریایی را بی‌تاثیر بر میزان پروتئین خام گزارش نمودند، مطابقت داشت. بیشترین میزان پروتئین خام مربوط به تیمار شاهد بود، افزودن EM در هر دو مقدار، کاهش معنی‌داری در میزان پروتئین خام ایجاد کرد. لشکری و همکاران (Lashkari et al., 2014)، نیز گزارش کردند که استفاده از افزودنی با منبع کربوهیدراتی مانند تفاله مرکبات، باعث افزایش در میزان پروتئین خام گردید.

## اثرات افزودنی لالسیل و EM بر پروفایل تخمیری سیلاژ ذرت

کربوهیدرات محلول سیلاژهای تلقیح شده با افزودنی لالسیل و EM در دوز پایین تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت، ولی استفاده از افزودنی EM در دوز بالا باعث افزایش معنی‌دار کربوهیدرات محلول در این سیلاژها گردید ( $P < 0.05$ ). درپهوس و همکاران (Driehuis et al., 1996) که اثر افزودنی باکتریایی بوکنری را به تنهایی و به همراه باکتری‌های تخمیرکننده همگن در سطوح مختلف در یک دوره ۹۰ روزه سیلویی بر روی علوفه چاودار چند ساله مورد آزمایش قرار دادند، کاهش در میزان کربوهیدرات محلول در تیمار لاکتوباسیلوس بوکنری را نسبت به تیمار شاهد گزارش نمودند. در آزمایش هاشم‌زاده و همکاران (McDonald et al., 1991) نیز استفاده از یک منبع کربوهیدراتی دیگر مانند ملاس سبب افزایش کربوهیدرات محلول نسبت به تیمار شاهد گردید. رنجیت و کانگ (Ranjit and Kung, 2000) که تاثیر افزودنی باکتریایی لاکتوباسیلوس بوکنری را در سطوح مختلف بر روی سیلاژ ذرت مورد بررسی قرار دادند، نیز کاهش در میزان کربوهیدرات محلول را در سطح بالاتر افزودنی بوکنری تا نصف تیمار شاهد گزارش نمودند، اما در سطوح پایین‌تر لاکتوباسیلوس بوکنری تغییرات معنی‌داری مشاهده نکردند. نتایج این



همولاکتیک موجود در آن، می‌تواند جلوی فعالیت پروتئازی آنزیم‌های گیاهی و باکتری‌ها را بگیرد (Yang et al., 1991; McDonald et al., 1991; Volanis et al., 2011; Behgar et al., 2010). ولانیس و همکاران (2004 et al.) تفاوتی بین سیلاژ دارای افزودنی میکروبی و شاهد در محتوای ازت آمونیاکی مشاهده نکردند. با این حال در این تحقیق تیمار لالسیل نسبت به تیمار شاهد از نظر آماری معنی‌دار بود. فیلیا (Filya, 2003)، درپهوس و همکاران (Driehuis et al., 1996) نشان دادند که، سطح نیتروژن آمونیاکی در سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی میکروبی حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس بوکتری پایین‌تر از گروه تلقیح شده و یا تلقیح شده فقط با لاکتوباسیلوس پلانتاروم بود.

آزمایش با نتایج آزمایشات کانگ و رنجیت (Kung and Ranjit, 2001) و بسیاری از آزمایشات دیگر که اثرات افزودنی باکتریایی لاکتوباسیلوس بوکتری را بر روی سیلاژ علوفه‌های متفاوت مورد بررسی قرار دادند، مطابقت داشت.

با توجه به جدول ۲ ازت آمونیاکی (درصد از کل نیتروژن) در بین نمونه شاهد از نظر آماری با نمونه‌های لالسیل و EM اختلاف مشاهده گردید ( $P = 0.01$ ). اما بین نمونه نمونه‌های لالسیل و EM اختلاف مشاهده نگردید. غلظت نیتروژن آمونیاکی سیلاژهای ذرت تلقیح شده با افزودنی میکروبی لاکتوباسیلوس بوکتری و EM کمتر از سیلاژ شاهد بود. افت سریع pH در مراحل اولیه سیلو کردن در سیلاژهای تلقیح شده با این افزودنی‌ها به دلیل تعداد بیشتر باکتری‌های اسید لاکتیک

جدول ۱- اثرات لالسیل و EM<sup>۱</sup> بر ترکیب شیمیایی سیلاژ ذرت (درصد از ماده خشک)  
Table 1- Effect of Lalsil and EM on Chemical Properties of corn silage (DM %)

| Treatments <sup>1</sup><br>تیمارها <sup>۱</sup> | ترکیبات شیمیایی <sup>۲</sup><br>Chemical composition <sup>2</sup> |                                        |                                         |                   |                    |                   |
|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
|                                                 | DM<br>ماده خشک                                                    | NDF<br>الیاف نامحلول در<br>شوینده خنثی | ADF<br>الیاف نامحلول در<br>شوینده اسیدی | CA<br>خاکستر خام  | CP<br>پروتئین خام  | pH                |
| شاهد<br>Control                                 | 18.90 <sup>b</sup>                                                | 43.3                                   | 20.86                                   | 7.60 <sup>a</sup> | 8.82 <sup>a</sup>  | 4.05 <sup>a</sup> |
| لالسیل<br>Lalsil                                | 20.61 <sup>a</sup>                                                | 46.73                                  | 22.06                                   | 8.34 <sup>a</sup> | 8.68 <sup>ab</sup> | 3.87 <sup>c</sup> |
| افزودنی باکتریایی ۰/۰۲<br>EML                   | 21.04 <sup>a</sup>                                                | 42.06                                  | 20.20                                   | 6.33 <sup>b</sup> | 8.02 <sup>b</sup>  | 3.96 <sup>b</sup> |
| افزودنی باکتریایی ۰/۰۴<br>EMH                   | 21.33 <sup>a</sup>                                                | 46.73                                  | 22.06                                   | 6.33 <sup>b</sup> | 8.21 <sup>b</sup>  | 3.88 <sup>c</sup> |
| میانگین معیار اشتباه<br>SEM                     | 0.35                                                              | 2.01                                   | 0.91                                    | 0.46              | 0.216              | 0.018             |
| سطح معنی داری<br>p-value                        | 0.0001                                                            | 0.05                                   | 0.089                                   | 0.0016            | 0.0059             | <.0001            |

<sup>۱</sup> تیمارها - Control: کنترل، Lalsil: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریایی Lalsil fresh (شامل لاکتوباسیلوس پلانتاروم)، EML: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریایی EM (شامل باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر) در سطح ۰/۰۲ درصد (بر اساس علوفه تازه)، EMH: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریایی EM در سطح ۰/۰۴ درصد (بر اساس علوفه تازه)

<sup>۲</sup> ترکیب شیمیایی: DM، ماده خشک؛ CP، پروتئین خام؛ CA، خاکستر خام؛ NDF، فیبر نامحلول در شوینده خنثی؛ ADF، فیبر نامحلول در شوینده اسیدی در هر ستون میانگین‌های با حروف لاتین متفاوت، در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار هستند.

<sup>1</sup>Treatments-Control: control (without any inoculant), Lalsil: corn silage treated with bacterial additive Lalsil fresh (include lactobacillus buchneri), EML: corn silage treated with bacterial EM (EM contains lactic acid bacteria and yeast) additive at 0.02 percent, EMH: corn silage treated with bacterial EM additive at 0.04 percent (at fresh forage)

<sup>2</sup>Chemical composition: DM, dry matter; CP, crude protein; CA, crude ash; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber;

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

## اثر افزودنی‌ها بر تولید گاز

نتایج حاصل از اثر افزودنی‌های بیولوژیکی در سیلاژ ذرت بر تولید گاز در زمان‌های مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. آنالیز آماری

داده‌ها نشان داد که افزودن EM به میزان ۰/۰۲ درصد به سیلاژ ذرت تفاوتی با تیمار شاهد ایجاد نکرد. اما وقتی از مقدار ۰/۰۴ درصد EM استفاده شد تولید گاز نسبت به تیمار شاهد، شدیداً افزایش معنی‌دار یافت

عمل آوری با مایع شکمبه در زمان ۲، ۴، ۱۶ و ۲۴ به طور معنی داری کمتر از تیمار شاهد بود. از آنجایی که همبستگی منفی بین دیواره سلولی گیاه و میزان گاز تولیدی وجود دارد (Behgar et al., 2011) لذا چون سیلاژ عمل آوری شده با مایع شکمبه حاوی میزان بیشتری NDF نسبت به سیلاژ شاهد بود، تولید گاز کمتری نسبت به تیمار شاهد داشت. این نتایج با یافته‌های ما همخوانی نداشت. ساریچیچک و کیلیک (Sariçiçek and Kilic, 2009) که از اسیدفرمیک و اوره برای عمل آوری سیلاژ ذرت استفاده کردند به این نتیجه رسیدند که این افزودنی‌ها باعث کاهش میزان گاز تولیدی نسبت به گروه شاهد می‌شود، که ناشی از محتوای بیشتر کربوهیدرات محلول سیلاژ است زیرا در محیط شکمبه، با افزایش بخش‌های سریع تخمیر سیلاژ میزان گاز تولیدی در نتیجه تولید میزان بیشتر پروپیونات، کاهش می‌یابد، زیرا این مسیر اتلاف انرژی کمتری نسبت به مسیر استات دارد (Sariçiçek and Kilic, 2009).

( $P < 0.001$ ). افزودنی لالسیل موجب افزایش تولید گاز نسبت به تیمار شاهد در تمام ساعات گردید ( $P < 0.001$ ). میزان تولید گاز در تیمار لالسیل از تیمار ۰/۰۲ درصد EM و تیمار شاهد بیشتر بوده ولی از تیمار ۰/۰۴ درصد EM پایین‌تر بود ( $P < 0.001$ ). نتایج کلی نشان می‌دهد افزودنی EM در سطح ۰/۰۴ درصد و افزودنی لالسیل، موجب افزایش تولید گاز سیلاژ ذرت شدند که این امر می‌تواند موجب افزایش انرژی قابل متابولیسم سیلاژهای حاصله گردد. پتانسیل تولید گاز سیلاژهای تلقیح شده با لالسیل و EM در دوز بالا نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری پیدا کرد. در این سیلاژها به علت اسیدی‌تر بودن محیط الیاف شکننده‌تر هستند و محل اتصال باکتری‌های تجزیه کننده به علوفه بیشتر می‌شود و در نتیجه تجزیه پذیری نسبی افزایش می‌یابد و تولید گاز بیشتر می‌شود. بهرگر و همکاران (Behgar et al., 2011) در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که میزان گاز تولیدی در سیلاژ

جدول ۲- اثرات متقابل افزودنی باکتریایی و EM<sup>۱</sup> بر پروفایل تخمیری سیلاژ ذرت  
Table 2- Effects of additives bacterial and EM on corn silage fermentation profile

| Treatments <sup>1</sup><br>تیمارها <sup>۱</sup> | NH <sub>3</sub> -N <sup>۲</sup> | WSC <sup>۳</sup>   |
|-------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------|
| شاهد<br>Control                                 | 8.01 <sup>a</sup>               | 1.63 <sup>bc</sup> |
| لالسیل<br>Lalsil                                | 6.20 <sup>b</sup>               | 1.49 <sup>c</sup>  |
| افزودنی باکتریایی ۰/۰۲<br>EML                   | 7.06 <sup>b</sup>               | 2.21 <sup>b</sup>  |
| افزودنی باکتریایی ۰/۰۴<br>EMH                   | 6.5 <sup>b</sup>                | 4.54 <sup>a</sup>  |
| اشتباه معیار میانگین<br>SEM                     | 0.343                           | 0.231              |
| سطح معنی داری<br>p-value                        | 0.001                           | <.0001             |

<sup>۱</sup> تیمارها – Control: کنترل، Lalsil: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریایی Lalsil fresh (شامل لاکتوباسیلوس پلانتراروم)، EML: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریایی EM (شامل باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر) در سطح ۰/۰۲ درصد (بر اساس علوفه تازه)، EMH: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریایی EM در سطح ۰/۰۴ درصد (بر اساس علوفه تازه)

<sup>۲</sup> NH<sub>3</sub>-N: نیتروژن آمونیاکی؛ WSC، کربوهیدرات محلول در آب

در هر ستون میانگین‌های با حروف لاتین متفاوت، در سطح ۰/۰۵ درصد معنی دار هستند.

<sup>1</sup>Treatments-Control: control (without any inoculant), Lalsil: corn silage treated with bacterial additive Lalsil fresh (include lactobacillus buchneri), EML: corn silage treated with bacterial EM (EM contains lactic acid bacteria and yeast) additive at 0.02 percent, EMH :corn silage treated with bacterial EM additive at 0.04 percent (at fresh forage)

<sup>2</sup>NH<sub>3</sub>-N: ammonium nitrogen, <sup>3</sup>WSC: water soluble carbohydrate.

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

جدول ۳- میزان تولید گاز در زمان‌های مختلف در سیلاژ ذرت تحت تاثیر افزودنی‌های میکروبی مختلف

Table 3- Gas production at different times (ml per 300 Mg of dry matter) in corn silage under the influence of various microbial additives

| Treatments <sup>1</sup><br>تیمارها <sup>۱</sup> | زمان انکوباسیون (ساعت)<br>Incubation times (h) |                     |                     |                    |                    |                    |                     |                     |                    |                     |                     |
|-------------------------------------------------|------------------------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
|                                                 | 2                                              | 4                   | 6                   | 8                  | 12                 | 16                 | 24                  | 36                  | 48                 | 72                  | 96                  |
| شاهد<br>Control                                 | 5.88 <sup>ab</sup>                             | 12.08 <sup>c</sup>  | 16.96 <sup>bc</sup> | 22.22 <sup>c</sup> | 26.56 <sup>c</sup> | 29.48 <sup>c</sup> | 32.16 <sup>c</sup>  | 34.06 <sup>c</sup>  | 34.92 <sup>c</sup> | 35.66 <sup>c</sup>  | 36.36 <sup>c</sup>  |
| لالسیل<br>Lalsil                                | 7.04 <sup>a</sup>                              | 15.64 <sup>ab</sup> | 24.14 <sup>ab</sup> | 30.74 <sup>b</sup> | 36.70 <sup>b</sup> | 42.34 <sup>b</sup> | 47.88 <sup>ab</sup> | 56.10 <sup>ab</sup> | 56.66 <sup>a</sup> | 57.34 <sup>ab</sup> | 58.28 <sup>ab</sup> |
| افزودنی<br>باکتریایی ۰/۰۲<br>EML                | 3.30 <sup>b</sup>                              | 8.82 <sup>c</sup>   | 13.96 <sup>c</sup>  | 19.40 <sup>c</sup> | 25.00 <sup>c</sup> | 30.52 <sup>c</sup> | 35.24 <sup>c</sup>  | 37.60 <sup>c</sup>  | 38.58 <sup>c</sup> | 39.32 <sup>c</sup>  | 40.00 <sup>c</sup>  |
| افزودنی<br>باکتریایی ۰/۰۴<br>EMH                | 7.94 <sup>a</sup>                              | 17.44 <sup>a</sup>  | 27.10 <sup>a</sup>  | 35.64 <sup>a</sup> | 42.90 <sup>a</sup> | 48.30 <sup>a</sup> | 52.96 <sup>a</sup>  | 56.72 <sup>a</sup>  | 58.54 <sup>a</sup> | 59.86 <sup>a</sup>  | 60.86 <sup>a</sup>  |
| معیار اشتباه<br>میانگین<br>SEM                  | 1.16                                           | 1.85                | 2.31                | 2.54               | 2.59               | 2.66               | 2.92                | 2.83                | 2.85               | 2.88                | 2/87                |
| سطح معنی داری<br>p-value                        | <.0001                                         | <.0001              | <.0001              | <.0001             | <.0001             | <.0001             | <.0001              | <.0001              | <.0001             | <.0001              | <.0001              |

۱ تیمارها - Control: کنترل، Lalsil: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریایی Lalsil fresh (شامل لاکتوباسیلوس پلاتاروم)، EML: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریایی EM (شامل باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر) در سطح ۰/۰۲ درصد (بر اساس علوفه تازه)، EMH: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریایی EM در سطح ۰/۰۴ درصد (بر اساس علوفه تازه)

در هر ستون میانگین‌های با حروف لاتین متفاوت، در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار هستند.

<sup>1</sup>Treatments-Control: control (without any inoculant), Lalsil: corn silage treated with bacterial additive Lalsil fresh (include lactobacillus buchneri), EML: corn silage treated with bacterial EM (EM contains lactic acid bacteria and yeast) additive at 0.02 percent, EMH: corn silage treated with bacterial EM additive at 0.04 percent (at fresh forage)

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

فرمیک، اثر این اسید بر دیواره سلولی به خصوص همی سلولز است که باعث افزایش تجزیه آن و در نتیجه افزایش میزان ثابت نرخ تجزیه‌پذیری سیلاژ شده است. با کاهش ضریب تجزیه‌پذیری میزان گاز تولیدی کاهش می‌یابد (Sarıççek and Kilic, 2009). در آزمایشی نشان دادند که تیمار لالسیل سرعت تجزیه‌پذیری کمتری برای ماده خشک نسبت به تیمار شاهد داشت. افزودن لالسیل منجر به افزایش بخش با تجزیه کند و کل بخش با پتانسیل تجزیه سیلاژ ذرت شد که این امر می‌تواند به ایجاد محیط اسیدی‌تر توسط لاکتوباسیلوس بوکتری و هیدرولیز اسیدی همی سلولز برگردد (McDonald et al., 1991).

محاسبات تجزیه پذیری سیلاژ ذرت با افزودن لالسیل و EM در جدول ۴ آمده است. نتایج نشان داد که بخش قابل تجزیه در تیمار ۲ و ۴ بالاتر بود ( $P = ۰/۰۰۰۱$ ). افزودن لالسیل و EM در سطح ۰/۰۴ تولید گاز بخش نامحلول قابل تجزیه را افزایش داد. ساریچیچک و کیلیک (Sarıççek and Kilic, 2009) به نتایج مشابهی دست یافتند، به طوری که آنان دریافتند افزودن سطوح مختلف اسید بر سیلاژ ذرت سبب کاهش نرخ تخمیر شده است. ساریچیچک و کیلیک (Sarıççek and Kilic, 2009) گزارش کردند که سطوح اسید فرمیک مصرفی و مرحله برداشت عوامل اثرگذار بر ثابت نرخ تجزیه سیلاژ ذرت می‌باشد. علت احتمالی افزایش بخش c سیلاژ حاوی اسید

جدول ۴- فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری (تولید گاز) سیلاژ ذرت تحت تأثیر افزودنی باکتریایی و EM<sup>1</sup>

Table 4- Degradability parameters (gas production) of corn silage under the influence of bacterial additives and EM

| Treatments <sup>1</sup><br>تیمارها <sup>۱</sup> | فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری<br>Degradability parameters |                   |
|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------|
|                                                 | b                                                   | c                 |
| شاهد<br>Control                                 | 117.44 <sup>b</sup>                                 | 0.12 <sup>a</sup> |
| لالسیل<br>Lalsil                                | 188.71 <sup>a</sup>                                 | 0.08 <sup>b</sup> |
| افزودنی باکتریایی ۰/۰۲<br>EML                   | 131.36 <sup>b</sup>                                 | 0.09 <sup>b</sup> |
| افزودنی باکتریایی ۰/۰۴<br>EMH                   | 196.53 <sup>a</sup>                                 | 0.11 <sup>a</sup> |
| میانگین معیار اشتباه<br>SEM                     | 2.85                                                | 0.009             |
| سطح معنی داری<br>p-value                        | 0.0001                                              | 0.0002            |

<sup>۱</sup> تیمارها - Control: کنترل، Lalsil: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریایی Lalsil fresh (شامل لاکتوباسیلوس پلاتناروم)، EML: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریایی EM (شامل باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر) در سطح ۰/۰۲ درصد (بر اساس علوفه تازه)، EMH: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریایی EM در سطح ۰/۰۴ درصد (بر اساس علوفه تازه)

در هر ستون میانگین‌های با حروف لاتین متفاوت، در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار هستند.

b گاز تولید شده از بخش غیر محلول ولی با قابلیت تخمیر متوسط (میلی‌لیتر بر گرم ماده خشک)

c نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر بر ساعت)

<sup>1</sup>Treatments-Control: control (without any inoculant), Lalsil: corn silage treated with bacterial additive Lalsil fresh (include lactobacillus buchneri), EML: corn silage treated with bacterial EM (EM contains lactic acid bacteria and yeast) additive at 0.02 percent, EMH: corn silage treated with bacterial EM additive at 0.04 percent (at fresh forage)

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

b is gas produced by insoluble but slowly fermentation fraction (ml/DM)

c is constant gas production rate (ml/h).

## References

- 1- Alikhani, M., A. A. Alamooti, G. R. Ghorbani, and N. Sadeghi. 2005. Effect of urea, molasses and a bacterial inoculants on chemical composition and dry matter degradability of sunflower silage. *Journal of Water and Soil Science*, 9(3): 171-183. <https://doi.org/20.1001.1.24763594.1384.9.3.14.6>
- 2- Abdulrazaka, S. A., T. Fujihara, J. k. Ondiekb, and E. R. Ørskov. 2000. Nutritive evaluation of some Acacia tree leaves from Kenya. *Animal Feed Science and Technology*, 85 (1-2): 89-98. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(00\)00133-4](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00133-4)
- 3- Behgar, M., S. Ghasemi, A. Naserian, A. Borzoie, and H. Fatollahi. 2011. Gamma radiation effects on phenolics, antioxidants activity and in vitro digestion of pistachio (*Pistachia vera*) hull. *Radiation Physics and Chemistry*, 80(9): 963-967. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2011.04.016>
- 4- Besharati, M., V. Palangi, M. Niazifar, and Z. Nemati. 2020a. Comparison study of flaxseed, cinnamon and lemon seed essential oils additives on quality and fermentation characteristics of lucerne silage. *Acta agriculturae Slovenica*, 115(2): 455-462. <http://dx.doi.org/10.14720/aas.2020.115.2.1483>
- 5- Besharati, M., M. Karimi, A. Taghizadeh, Z. Nemati, and A. Kaygisiz. 2020b. Improve quality of alfalfa silage ensiled with orange pulp and bacterial additive. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 23(6), 1669-1677.
- 6- Besharati, M., N. Shafipour, and Z. Nemati. 2019. Effect of supplementation of alfalfa silage with lactobacillus buchneri additive, orange pulp and molasses on dry matter, crude protein and organic matter degradability by nylon bags. *Research on Animal Production*, 10(23): 45-52. <http://dx.doi.org/10.29252/rap.10.23.45>
- 7- Broderick, G. A., and J. H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of Dairy Science*, 63: 64-75. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82888-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82888-8)
- 8- Coblenz, W. K., and R. E. Muck. 2012. Effects of natural and simulated rainfall on indicators of ensilability and

- nutritive value for wilting alfalfa forages sampled before preservation as silage. *Journal of Dairy Science*, 95(11):6635-6653. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5672>
- 9- Curtis, J. L. 1996. Effect of variety on the forage yield, ensiling characteristics, and nutritive value of alfalfa, and effects of cutting, stage of maturity, and silage additives on the preservation and nutritive value of alfalfa silage. Kansas State University.
- 10- Driehuis, F., and P. G. van Wikselaar. 1996. Effects of addition of formic, acetic or propionic acid to maize silage and low dry matter grass silage on the microbial flora and aerobic stability. p. 256-257. In: D.I.H. Jones, R. Jones, R. Dewhurst, R. Merry, and P.M. - Haigh (ed.) *Proc. 11th Int. Silage Conference*, Aberystwyth, UK. 8-11 September 1996. IGER, Aberystwyth, UK.
- 11- Fedorak, P. M. and D. E. Hurdy. 1983. A simple apparatus for measuring gas production by methanogenic cultures in serum bottles. *Environmental Technology*, 4: 425-432. <https://doi.org/10.1080/09593338309384228>
- 12- Filya, I. 2003. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. *Journal of Dairy Science*, 86: 3575-3581. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73963-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73963-0)
- 13- Frevel, H. J., G. Engel, and M. Teuber. 1985. Schimmelpilze in Silage und Rohmilch. *Milchwissenschaft* 40, 129-132.
- 14- Hashemzadeh-Cigari, F., M. Khorvash, G. R. Ghorbani, E. Ghasemi, A. Taghizadeh, S. Kargar, and W. Z. Yang 2014. Interactive effects of molasses by homofermentative and heterofermentative inoculants on fermentation quality, nitrogen fractionation, nutritive value and aerobic stability of wilted alfalfa (*Medicago sativa* L.) silage. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98: 290-299. <https://doi.org/10.1111/jpn.12079>
- 15- Heinrichs, A. J., and H. R. Conrad. 1984. Fermentation characteristics and feeding value of ammonia-treated corn silage. *Journal of Dairy Science*, 67: 82-87. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81269-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81269-2)
- 16- Henderson, H. E. and M. R. Gealser. 1970. Amino acid, Mineral additives to corn silage. *Journal of Animal Science*, 31:234-249.
- 17- Huchet, V., D. Thuault, and C. M. Bourgeois. 1995. Modélisation des effets du pH, de l'acide lactique, du glycérol et du NaCl sur la croissance des cellules végétatives de *Clostridium tyrobutyricum* en milieu de culture. *Lait*, 75: 585-593. <https://doi.org/10.1051/lait:1995645>
- 18- Honig, H., and M. K. Woolford. 1980. Changes in silage on exposure to air. p. 76-87. In: C. Thomas (ed.) *Forage Conservation in the 80s. Occasional Symposium No. 11*. British Grassland Society, Hurley, Berkshire, UK.
- 19- Kalzendorf, C. 1992. Über die Möglichkeiten einer kombinierten Anwendung von Milchsäurebakterien und Natriumformiat als Silierzusatz. Ph.D. diss. Humboldt University of Berlin, Germany.
- 20- Kung, L., and N. K. Ranjit. 2001. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on fermentation and aerobic stability of barley silage. *Journal of Dairy Science*, 84:1149- 1155. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74575-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74575-4)
- 21- Lashkari, S. H., A. Taghizadeh, J. Seifdavati, and A. Z. M. Salem. 2014. Qualitative characteristics, microbial population and nutritive values of orange pulp ensiled with nitrogen supplementation. *Slovak Journal of Animal Science*, 47: 90-99.
- 22- Mahala, A. G., and I. M. Khalifa. 2007. The effect of molasses on quality of sorghum (*Sorghum bicolor*) silage. *Research Journal of Veterinary Sciences*, 2:43-46.
- 23- May, J. J. 1993. Respiratory problems associated with work in silos. p. 283- 290. In: *Proc. NRAES National Silage Production Conference*. Syracuse, USA. 23-28 Feb. 1993. Syracuse, USA.
- 24- McAllister, T. A., L. B. Selinger, L. R. McMahon, H. D. Bae, T. J. Lysyk, and S. J. Oosting. 1995. Intake, digestibility and aerobic stability of barley silage inoculated with mixtures of *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus faecium*. *Canadian Journal of Animal Science*, 75(3):425-32. <https://doi.org/10.4141/cjas95-062>
- 25- McDonald, P., A. R. Henderson, and S. J. E. Heron. 1991. *The Biochemistry of Silage*. 2nd edition. Chalcombe Publications, Marlow, Bucks, UK.
- 26- McDougall, E. I. 1948. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemistry Journal*, 43(1):99-109
- 27- Mohammadzadeh, H., M. Khorvash, G. R. Ghorbani, and W. Z. Yang. 2012. Frosted corn silage with or without bacterial inoculants in dairy cattle ration. *Livestock Science*, 145(1-3):153-159. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.01.011>
- 28- O'Kiely, P., T. Turley, and P. A. M. Rogers. 1999. Exposure of calves to nitrogen dioxide in silage gas. *Veterinary*

- Record, 144, 352-353. <https://doi.org/10.1136/vr.144.13.352>
- 29- Ørskov, E. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92(02): 499-503. <https://doi.org/10.1017/S0021859600063048>
- 30- Os, M., A. M. van Vuuren, and S. F. Spoelstra. 1997. Mechanisms of adaptation in sheep to overcome silage intake depression induced by biogenic amines. *British Journal of Nutrition*, 77: 399-415. <https://doi.org/10.1079/BJN19970041>
- 31- Randby, Å. T., I. Selmer-Olsen, L. and Baevre. 1999. Effect of ethanol in feed on milk flavor and chemical composition. *Journal of Dairy Science*, 82: 420-428. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75248-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75248-3)
- 32- Ranjit, N. K., and L. Kung. 2000. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum* as a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 83:526-533. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74912-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74912-5)
- 33- Rowghani, E., M. J. Zamiri, M. Khorvash, and A. Abdollahipناه. 2008. The effects of *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on corn silage fermentation, ruminal degradability and nutrient digestibility in sheep. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 9(4):308-315.
- 34- 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. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- 35- Volanis, M., P. Zoiopoulos, and K. Tzerakis. 2004. Effects of feeding ensiled sliced oranges to lactating dairy sheep. *Small Ruminant Research*, 53: 15-21. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.07.011>
- 36- Weinberg, Z. G., and R. E. Muck. 1996. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiology Reviews*, 19: 53-68 <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1996.tb00253.x>.
- 37- Weiss, N. 1992. The Genera *Pediococcus* and *Aerococcus*. p. 1502-1507. In: Balows, A., H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, and K. H. Schleifer (ed.) *The Prokaryotes*. 2nd ed. Springer Verlag, New York, USA.
- 38- Whiter, A. G. and L. Kung. 2001. The effect of a dry or liquid application of *Lactobacillus plantarum* mtd1 on the fermentation of alfalfa silage. *Journal of Dairy Science*, 84:2195-2202. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74666-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74666-8)
- 39- Winters, A. L., J. E. Cockburn, M. S. Dhanoa, and R. J. Merry. 2000. Effects of lactic acid bacteria in inoculants on changes in amino acid composition during ensilage of sterile and nonsterile ryegrass. *Journal of Applied Microbiology*, 89: 442-451. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01133.x>
- 40- Woolford, M. K. 1975. Microbiological screening of the straight chain fatty acids (C1-C12) as potential silage additives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26: 219- 228. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740260213>
- 41- Yang, W. Z., C. Benchaar, B. N. Ametaj, and K. A. Beauchemin. 2010. Dose response to eugenol supplementation in growing beef cattle: Ruminal fermentation and intestinal digestion. *Animal Feed Science and Technology*, 158(1-2):57-64. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.03.019>
- 42- Zahiroddini, H., J. Baah, W. Absalom, and T. A. McAllister. 2004. Effect of an inoculant and hydrolytic enzymes on fermentation and nutritive value of whole crop barley silage. *Animal Feed Science and Technology*, 117: 317-330. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2004.08.013>
- 43- Zehra Sariççek, B., and U. Kilic. 2009. The effects of different additives on silage gas production, fermentation kinetics and silage quality. *Journal of Applied Sciences*, 62: 11-18.



## The effect of different levels and methods of flaxseed processing on growth performance, nutrient digestibility, blood parameters and sheep ruminant behavior

Mostafa Hossein Abadi<sup>1\*</sup>, Taghi Ghoorchi<sup>2</sup>, Abdolhakim Toghdory<sup>3</sup>

Received: 04-04-2021

Revised: 06-07-2021

Accepted: 13-07-2021

Available Online: 07-06-2022

### How to cite this article:

Hossein Abadi, M., T. Ghoorchi, and A. H. Toghdory. 2022. The effect of different levels and methods of flaxseed processing on performance, nutrient digestibility, blood parameters and sheep ruminant behavior. Iranian Journal of Animal Science Research 14(1):13-26.

[DOI:10.22067/ijasr.2021.69620.1014](https://doi.org/10.22067/ijasr.2021.69620.1014)

**Introduction:** Flax products (seeds and meal) are one of the sources of energy and protein for ruminants. Although flaxseed is a very inexpensive and affordable source of omega-3s, more than 50 percent of its fatty acids are made from alpha-linolenic acid, but it cannot be used at high levels due to its anti-nutritional properties. Flaxseed processing improves nutrient consumption while reducing the negative effects of anti-nutritional substances such as lentine and makes food more palatable. Various methods are used to process and improve the flaxseed digestion process, such as micronization and extrusion. The extrusion process is in fact the process of processing high temperature materials in a short time and is done by a combination of moisture, heat, mechanical energy and pressure. Extrusion is also a technical function by which feed is processed, extruded and cooked under a constant increase in pressure and then expanded due to a sudden drop in pressure. Heat treatment applied during the extrusion process reduces the access of rumen bacteria to the fat in the diet by denaturing the protein matrix around fat droplets in oilseeds such as flaxseed, and thus can reduce fatty acids. Protect unsaturated with several double bonds from ruminal biohydrogenation. Microwave by microwave can be done after adding 25% moisture to the grains for 3 minutes in a device containing an infrared lamp. It was also found that micronization could be used to increase the degradable protein content of the rumen. This study was performed to evaluate different levels and methods of flaxseed processing in the diet on performance, nutrient digestibility, blood parameters and sheep ruminant behavior.

**Materials and Methods:** 42 adult Moghani ewes with an average initial weight of  $47 \pm 2.8$  kg were divided into seven treatments and six replications in a completely randomized design. Treatments include: Control treatment without flaxseed, 5% of raw flaxseed (not processed), 10% of raw flaxseed (not processed), 5% of processed flaxseed Micronized method, 10% of flaxseed processed by micronized method, 5% of flaxseed processed by extrusion method and 10% of flaxseed processed by extrusion method. The duration of the course was 60 days, of which 15 days were habituation and 45 days were experimental. Diets were adjusted based on NRC (44). All ewes were placed under the same management and feeding conditions. Diets were given to the ewes twice daily, at 8 am and 4 pm after weighing the ewes. Livestock was also held individually in livestock cages and had free access to water. Feed was given and the remaining feed was weighed and recorded for each animal each day. Daily feed intake was calculated from the average difference of feed given for each livestock and the rest of

1- Ph.D graduated Department of Animal and Poultry nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources

2- Professor Department of Animal and Poultry nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran.

3- Assistant Professor Department of Animal and Poultry nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran.

(\*Corresponding author: [Mostafa\\_hosseiniabadi@yahoo.com](mailto:Mostafa_hosseiniabadi@yahoo.com))

the manager the next day. The mean of each treatment was calculated from the average feed consumption of each animal during the period. Dietary digestibility was measured by the internal marker of acid-insoluble ash in the last 3 days of the experiment and blood and ruminal fluid samples were taken on the last day of the experiment. Dietary digestibility was measured by internal marker of acid-insoluble ash in the last 3 days of the experiment and blood samples were taken on the last day of the experiment. In the last two days of the experiment, rumination behavior was measured by recording activity for a period of 24 hours. Data were analyzed using SAS software version 9.9 (54) using GLM procedure.

**Results and Discussion:** Different levels and processing of flaxseed had no significant effect on weight, dry matter intake, daily weight gain and feed conversion ratio. The highest dry matter intake and daily weight gain were related to treatments containing 10% extruded flax and 10% micronized flax, which indicates that the processing resulted in better flaxseed palatability. The use of different levels and methods of flaxseed processing in the present study did not have a negative effect on feed intake, which probably the amount of fatty acids and flaxseed fatty acid pattern used in this short-term study had minimal effect on the feed intake mechanism. Glucose and urea nitrogen levels were affected by experimental treatments. The addition of flaxseed increased blood glucose levels. This increase is likely due to the production of more propionic acid than rumen acetate. Studies have shown that ruminal fatty acids are biohydrogenation and increase propionate relative to acetate by altering ruminal fermentation pattern. The main precursor for gluconeogenesis activity in the liver is propionate, which stimulates glucose production. Propionate is a volatile fatty acid produced in the rumen that is a major precursor of glucose in animals. Increasing unsaturated fatty acids due to flaxseed consumption improves the energy status of the animal and reduces the deamination of tissue amino acids for energy supply and ultimately reduces the nitrogen level of blood urea. Dry matter and crude fat digestibility were affected by experimental treatments. The oil in flaxseed is coated and will not interfere with ruminal function, so it is not expected to have a negative effect on nutrient digestibility and even improve it in some cases. With increasing the use of flaxseed, the digestibility of insoluble fibers in neutral detergent decreased, which higher levels of unsaturated fatty acids in flaxseed can be a good reason to reduce the digestibility of insoluble fibers in neutral detergent and can be inferred as follows. Due to the increase in unsaturated fatty acids, ruminal fibrolytic activity is affected and due to the addition of flaxseed, cell wall digestibility is reduced. Experimental treatments could not have a significant effect on the ruminant behavior of ewes.

**Conclusion** According to the results of this experiment, extruded and micronized flaxseed at the level of 10% can be used as a source of energy and protein in ewes' diets.

**Keywords:** Blood parameters, Flaxseed, Nutrient digestibility, Performance, Sheep.





## مقاله پژوهشی

# بررسی سطوح و روش‌های مختلف فرآوری دانه کتان بر عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های خونی و رفتار نشخوار گوسفند

مصطفی حسین‌آبادی<sup>۱\*</sup>، تقی قورچی<sup>۲</sup>، عبدالحکیم توغدری<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۱۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۴/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۲

ح سین‌آبادی، م، ت. قورچی، و ع. توغدری. ۱۴۰۱. بررسی سطوح و روش‌های مختلف فرآوری دانه کتان بر عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های خونی و رفتار نشخوار گوسفند. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۴(۱): ۲۶-۱۳.

## چکیده

این آزمایش به منظور بررسی اثرات سطوح و روش‌های مختلف فرآوری دانه کتان بر عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های خونی و رفتار نشخوار در گوسفند انجام شد. ۴۲ رأس میش بالغ نژاد مغانی با میانگین وزن اولیه  $47 \pm 2/8$  کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی به هفت تیمار و شش تکرار تقسیم شدند. تیمارها شامل: گروه شاهد بدون دانه کتان، ۵ درصد دانه کتان خام، ۱۰ درصد دانه کتان خام، ۵ درصد دانه کتان میکرونیزه، ۱۰ درصد دانه کتان میکرونیزه، ۵ درصد دانه کتان اکستروود و ۱۰ درصد دانه کتان اکستروود بود. اندازه‌گیری قابلیت هضم جیره به روش نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید در ۳ روز آخر آزمایش و نمونه‌گیری از خون در روز آخر آزمایش انجام شد. سطوح و فرآوری دانه کتان اثر معنی‌داری بر مقدار ماده خشک مصرفی روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک نداشت. میزان گلوکز، نیترژن اوره‌ای خون، قابلیت هضم ماده خشک و چربی خام تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. با توجه به اینکه نتایج این آزمایش نشان می‌دهد استفاده از دانه کتان فرآوری شده در سطح ۱۰ درصد موجب بهبود قابلیت هضم و برخی فراسنجه‌های خونی گردید، می‌توان از دانه کتان اکستروود و میکرونیزه در سطح ۱۰ درصد به عنوان منبع انرژی و پروتئین در جیره میش‌ها استفاده نمود.

**کلمات کلیدی:** عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی، فرآوری دانه کتان، قابلیت هضم مواد مغذی، گوسفند.

## مقدمه

که در تغذیه انسان مهم می‌باشد (Didarkhah, 2014). دانه کتان زمانی که تقریباً ۹۰ درصد دانه به رنگ قهوه‌ای روشن باشند، برداشت می‌شود (Duguid et al., 2007). دانه‌های کتان بسیار کوچک هستند و موسیلاژ موجود در پوشش خارجی آنها سبب لغزندگی آن می‌شود که این دو، لمس کردن و فرآوری دانه کتان را مشکل می‌سازد. محصولات کتان (بذر و کنجاله) از اجزای مهم منابع انرژی و پروتئین برای

کتان یک گیاه چند ساله است که به‌منظور استخراج روغن و همچنین خوراک دام کشت می‌شود. کتان روغنی، گندم و جو از قدیمی‌ترین گیاهان جهان هستند که به‌طور وحشی در آسیای غربی یافت می‌شوند و بومی ایران می‌باشد (Didarkhah, 2014). این دانه روغنی که در ده استان کشور کشت می‌شود، دارای اسید چرب غیراشباع است

۱- فارغ التحصیل مقطع دکتری، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۲- استاد گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۳- استادیار گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

(نویسنده مسئول: [Mostafa\\_hosseiniabadi@yahoo.com](mailto:Mostafa_hosseiniabadi@yahoo.com))

مادون قرمز است، انجام می‌گیرد (National Research Council, 1973). در مطالعات گذشته، مصطفی و همکاران (Mustafa et al., 2002) نشان دادند که میکرونیزه کردن سبب کاهش تجزیه‌پذیری و افزایش قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای کتان را در گوساله‌های پرواری می‌شود. همچنین، در یک مطالعه پتیت و همکاران (Petit et al., 2004) اثرات مشابهی را بر تجزیه‌پذیری ماده خشک کتان با استفاده از میکرونیزه کردن در حرارت‌های مختلف گزارش کردند. با بررسی مقایسه‌ای فرآوری حرارتی کتان با روش‌های اکستروژن و میکرونیزه کردن گزارش شد که افزایش قابلیت هضم در نتیجه تیمار حرارتی اکستروژن سبب کاهش قابلیت هضم شکمبه‌ای نشد (Gonthier et al., 2004). همچنین، مشخص شد که میکرونیزه کردن می‌تواند برای افزایش محتوای پروتئینی تجزیه‌ناپذیر در شکمبه مورد استفاده قرار گیرد. لذا با توجه به مطالب ذکر شده، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر استفاده از سطوح و روش‌های مختلف فرآوری دانه کتان در جیره بر عملکرد، قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های خونی و رفتار نشخوار در گوسفند انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق در شهرستان سبزوار انجام شد. در این آزمایش ۴۲ رأس میش بالغ نژاد مغانی با میانگین وزن اولیه  $47 \pm 2/8$  کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی به هفت تیمار و شش تکرار تقسیم شدند. تیمارها شامل: تیمار شاهد بدون دانه کتان، تیمار حاوی ۵ درصد دانه کتان خام، تیمار حاوی ۱۰ درصد دانه کتان خام، تیمار حاوی ۵ درصد دانه کتان میکرونیزه شده، تیمار حاوی ۱۰ درصد دانه کتان میکرونیزه شده، تیمار حاوی ۵ درصد دانه کتان اکستروژن شده و تیمار حاوی ۱۰ درصد دانه کتان اکستروژن شده بود. کل دوره ۶۰ روز بود که شامل ۱۵ روز عادت‌پذیری و ۴۵ روز دوره آزمایشی می‌شد. تنها تفاوت جیره‌ها از نظر ترکیبات تشکیل‌دهنده، نوع فرآوری و مقدار کتان بود که در هر تیمار از کتان با مقدار و فرآوری مختلفی استفاده شد. با توجه به یکسان بودن اقلام جیره، انتظار می‌رود محتوای انرژی قابل متابولیسم، هم‌زمان بودن منابع در رهاسازی انرژی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شونده خنثی، الیاف نامحلول در شونده اسیدی، فیبر خام، کلسیم و فسفر در بالانس جیره‌های آزمایشی متناسب با یکدیگر و دارای کمترین تغییر باشد. تمام میش‌ها در شرایط یکسان مدیریتی و تغذیه‌ای قرار گرفتند. هر روز در دو نوبت، ساعت ۸ صبح و ۴ عصر خوراک پس از توزین در اختیار میش‌ها قرار می‌گرفت. همچنین دام‌ها به‌صورت انفرادی در قفس‌های نگهداری دام نگهداری می‌شدند و دسترسی آزاد به آب داشتند. اندازه‌گیری قابلیت هضم جیره به روش نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید در ۳ روز آخر آزمایش و نمونه‌گیری از خون در روز آخر آزمایش صورت پذیرفت. جیره‌های آزمایشی بر اساس نیازهای توصیه شده در NRC (۲۰۰۷) تهیه شدند. در جدول ۱ درصد مواد خوراکی و مقدار مواد مغذی جیره تیمارهای مختلف به تفکیک گزارش

نشخوارکنندگان هستند. مواد ضدتغذیه‌ای موجود نظیر موسیلاژ که در حیوانات تک معده‌ای تأثیرگذار هستند، در داخل شکمبه نشخوارکنندگان خنثی می‌شود و باعث تحریک عملکرد شکمبه می‌شوند (Ambrose et al., 2006). هدف اصلی استفاده از دانه کامل کتان، افزایش میزان اسیدهای چرب امگا ۳ و اسید لینولئیک مزدوج در محصولات گوشتی و لبنی است. اسید لینولئیک بیشترین مقدار اسید چرب موجود در روغن دانه کتان می‌باشد (Ambrose et al., 2006). ممکن است کمبود اسیدهای چرب ضروری برای نوزاد نشخوارکنندگان در شرایطی مانند عفونت‌های حاد یا استرس‌های محیطی خطرناک باشد (Geraeily, 2017). اسیدهای چرب علاوه بر تأمین منبع انرژی، دارای عملکردهای دیگری در پستانداران هستند. روغن بذرکتان دارای اسیدهای چرب مرغوب و مفیدی است که به‌طور متوسط ۹٪ آن را اسیدهای چرب اشباع تشکیل می‌دهد. اسیدهای چرب دارای دو پیوند دوگانه موسوم به اسیدهای چرب کونژوگه در حدود ۱۸٪ و اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه (PUFA) به‌طور طبیعی تا ۷۳٪ چربی موجود در روغن دانه کتان را تشکیل می‌دهد (Debbie and Thiessen, 2011). در مجموع با توجه به اهمیت استفاده از اسیدهای چرب غیراشباع در جیره نشخوارکنندگان، لازم است ترکیب جیره خصوصاً از لحاظ غلظت مواد مغذی، به نحوی باشد که استفاده از منابع حاوی این اسیدهای چرب اثر سوئی بر قابلیت هضم اجزای خوراک نداشته باشد. همچنین در کنار بهبود کیفیت فرآورده‌های دامی به واسطه استفاده از منابع حاوی اسیدهای چرب غیراشباع، ضروری است که کمیت تولیدات دامی خصوصاً از لحاظ شاخص‌های عملکرد و تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای نیز مورد توجه قرار گیرد.

دانه کتان به علت وجود مواد ضدتغذیه‌ای مشکلاتی را در سطوح هضم و بیهیدروژناسیون در شکمبه ایجاد می‌کند. روش‌های مختلفی برای فرآوری و بهبود فرآیند هضم دانه کتان استفاده می‌شود و می‌توان به روش‌هایی مانند میکرونیزه کردن و اکستروژن کردن اشاره کرد (Sabahi and Vafadar, 2009). فرآیند اکستروژن در حقیقت فرآیند پردازش مواد با دمای بالا در زمان کوتاه است و به‌وسیله عمل ترکیبی رطوبت، حرارت، انرژی مکانیکی و فشار انجام می‌شود. همچنین، اکستروژن یک عملکرد فنی است که طی آن خوراک تحت افزایش پیوسته فشار، فرآوری و پخته می‌شود و سپس به دلیل افت ناگهانی فشار منبسط می‌گردند (Sabahi and Vafadar, 2009). حرارت اعمال شده در طی فرآیند اکستروژن، باعث دناتوره شدن ماتریکس پروتئینی اطراف ذرات چربی در دانه‌های روغنی مانند دانه کتان شده و در نتیجه باعث کاهش دسترسی باکتری‌های شکمبه به چربی موجود در جیره می‌شود و می‌تواند اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه را از بیهیدروژناسیون شکمبه‌ای محافظت کند (Kennelly, 1996). میکرونیزه کردن با استفاده از اشعه میکروویو و بعد از افزودن ۲۵ درصد رطوبت به دانه‌ها به مدت ۳ دقیقه در یک دستگاهی که حاوی لامپ

شده است.

جدول ۱- اجزاء مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده (درصد ماده خشک)  
 Table 1- Food Ingredients and Chemical Composition of Experimental Diets Used (% of DM)

| ترکیب مواد خوراکی<br>Feedstuff ingredients              | جیره‌های آزمایشی<br>Experimental diets |             |              |                    |                     |                  |                   |
|---------------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------|--------------|--------------------|---------------------|------------------|-------------------|
|                                                         | Control                                | Raw flax 5% | Raw flax 10% | Micronized flax 5% | Micronized flax 10% | Extruded flax 5% | Extruded flax 10% |
| کاه گندم<br>Wheat straw                                 | 35                                     | 35          | 35           | 35                 | 35                  | 35               | 35                |
| جو<br>Barely grain                                      | 29.1                                   | 26.47       | 23.84        | 26.47              | 23.84               | 26.47            | 23.84             |
| ذرت<br>Corn grain                                       | 10                                     | 10          | 10           | 10                 | 10                  | 10               | 10                |
| سبوس گندم<br>wheat bran                                 | 10                                     | 10          | 10           | 10                 | 10                  | 10               | 10                |
| کنجاله سویا<br>soy bean meal                            | 11.02                                  | 9.24        | 7.45         | 9.24               | 7.45                | 9.24             | 7.45              |
| کتان<br>Flaxseed                                        | 0                                      | 5           | 10           | 5                  | 10                  | 5                | 10                |
| پودر چربی<br>Fat                                        | 1.88                                   | 1.29        | 0.71         | 1.29               | 0.71                | 1.29             | 0.71              |
| مکمل معدنی ویتامینی <sup>۱</sup><br>Primex <sup>1</sup> | 1                                      | 1           | 1            | 1                  | 1                   | 1                | 1                 |
| سنگ آهک<br>Limestone                                    | 1                                      | 1           | 1            | 1                  | 1                   | 1                | 1                 |
| نمک<br>Salt                                             | 0.5                                    | 0.5         | 0.5          | 0.5                | 0.5                 | 0.5              | 0.5               |
| سدیم بیکربونات<br>Sodium bicarbonate                    | 0.5                                    | 0.5         | 0.5          | 0.5                | 0.5                 | 0.5              | 0.5               |
| ترکیب شیمیایی<br>Chemical composition                   |                                        |             |              |                    |                     |                  |                   |
| انرژی قابل متابولیسم<br>Metabolisable energy (Mcal/kg)  | 2.45                                   | 2.45        | 2.45         | 2.45               | 2.45                | 2.45             | 2.45              |
| ماده خشک<br>Dry matter (%)                              | 87.42                                  | 87.42       | 87.42        | 87.42              | 87.42               | 87.42            | 87.42             |
| پروتئین خام<br>Crude Protein (%)                        | 12                                     | 12          | 12           | 12                 | 12                  | 12               | 12                |
| الیاف نامحلول در شوینده خنثی<br>NDF(%)                  | 37.68                                  | 37.91       | 38.15        | 37.91              | 38.15               | 37.91            | 38.15             |
| الیاف نامحلول در شوینده اسیدی<br>ADF (%)                | 23.84                                  | 23.98       | 24.11        | 23.98              | 24.11               | 23.98            | 24.11             |
| فیبر خام<br>Crude fiber (%)                             | 3.05                                   | 2.89        | 2.73         | 2.89               | 2.73                | 2.89             | 2.73              |
| کلسیم<br>Calcium (%)                                    | 0.56                                   | 0.55        | 0.55         | 0.55               | 0.55                | 0.55             | 0.55              |
| فسفر<br>Phosphorus (%)                                  | 0.4                                    | 0.37        | 0.35         | 0.37               | 0.35                | 0.37             | 0.35              |

<sup>۱</sup> مکمل ویتامین و معدنی شامل ویتامین A ۱۰۰۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین D3 ۲۵۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین E ۳۰۰۰ واحد بین المللی، منیزیم ۳۲۰۰۰ میلی گرم، منگنز ۱۰۰۰۰ میلی گرم، روی ۱۰۰۰۰ میلی گرم، مس ۳۰۰ میلی گرم، سلنیوم ۱۰۰ میلی گرم، ید ۱۰۰ میلی گرم، آهن ۳۰۰۰ میلی گرم، کبالت ۱۰۰ میلی گرم، فسفر ۳۰۰۰۰ میلی گرم، موننسن ۱۵۰۰ میلی گرم، آنتی اکسیدان ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم می باشد.

<sup>1</sup> Each kilogram of vitamin-mineral premix contained: Vitamin A (1000,000 IU), 250,000 international units of vitamin D3, 3,000 international units of vitamin E, 32,000 mg of magnesium, 10,000 mg of manganese, 10,000 mg of zinc, 300 mg of copper, 100 mg of selenium, 100 mg of iodine G, iron 3000 mg, cobalt 100 mg, phosphorus 30,000 mg, monensin 1500 mg, antioxidant 100 mg / kg.

### اندازه‌گیری عملکرد رشد

آخر آزمایش به میزان ۱۰ سی‌سی از ورید وداج گردن و بدون استفاده از ماده ضد انعقاد گرفته شد و در فلاسک حاوی یخ به سرعت به آزمایشگاه ارسال شد. لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه و ۳۰۰۰ دور در دقیقه برای جداسازی سرم، سانتریفیوژ شد. مقادیر گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، نیترژن اوره‌ای خون توسط کیت‌های تجاری پارس آزمون با استفاده از اتوآنالایزر (مدل BT 1500) ساخت کشور ایتالیا اندازه‌گیری شد.

### اندازه‌گیری رفتار نشخوار

در دو روز آخر دوره آزمایش رفتار نشخوار به صورت ثبت فعالیت طی مدت ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد. در روز آخر آزمایش به مدت ۲۴ ساعت می‌ش‌ها تحت نظر قرار گرفتند و پارامترهای خوردن، نشخوار و جویدن در فاصله زمانی هر ۵ دقیقه به صورت چشمی و با فرض اینکه آن فعالیت در ۵ دقیقه گذشته نیز ادامه داشته است، برای تمام دام‌ها در طی ساعات شبانه‌روز مشاهده و ثبت شد (Araujo et al., 2008).

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ (SAS, 2003) با استفاده از رویه GLM تجزیه و تحلیل شد. همچنین میانگین تیمارها از طریق آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد مقایسه شدند.

مدل استفاده شده برای این طرح به شرح زیر می‌باشد:  $y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$   
 $Y_{ij} = \mu$  مقدار مشاهده  $i$  ام در تکرار  $j$  ام،  $\tau_i$  = اثر میانگین،  $\varepsilon_{ij}$  = اثر تیمار  $i$  ام،  $\varepsilon_{ij}$  = اثر خطای آزمایشی مربوط به تیمار  $i$  ام در تکرار  $j$  ام

### نتایج و بحث

**تأثیر سطوح و فراوری مختلف دانه کتان بر عملکرد رشد:** اطلاعات مربوط به عملکرد رشد در جدول ۲ ارائه شده است. سطوح و فراوری مختلف دانه کتان اثر معنی‌داری بر مقدار ماده خشک مصرفی روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک نداشت که با سایر نتایج همخوانی دارد (Geraeily, 2017; Ghaffari, 2016; Ramezani, 2018; Naseriyan et al., 2017). همان‌طور که در جدول زیر آمده است، بیشترین میزان مصرف ماده خشک و افزایش وزن روزانه مربوط به تیمارهای حاوی ۱۰ درصد کتان اکستروود و ۱۰ درصد کتان میکرونیزه می‌باشد که نشان می‌دهد که فراوری باعث خوش‌خوراکی بهتر دانه کتان شده است. استفاده از سطوح و روش‌های مختلف فراوری دانه کتان در تحقیق حاضر اثر منفی بر مصرف خوراک

جیره‌های مورد استفاده در این آزمایش، هر روز در دو نوبت ساعت ۸ صبح و ساعت ۴ عصر در اختیار می‌ش‌ها قرار گرفت. خوراک داده شده و باقیمانده خوراک برای هر دام در هر روز توزین و ثبت شد. به‌طوری‌که ساعت ۸ صبح روز بعد، قبل از ریختن خوراک تازه، مابقی خوراک روز قبل جمع‌آوری می‌شد. مقدار خوراک مصرفی روزانه از اختلاف خوراک داده شده برای هر گوسفند و خوراک باقیمانده در آخر روز بعد همان گوسفند محاسبه گردید. همچنین میانگین هر تیمار نیز از میانگین خوراک مصرفی هر می‌ش در طول دوره آزمایش محاسبه گردید. همچنین افزایش مقدار خوراک داده شده به دام‌ها بر اساس پس‌آخور هر دام در روز بعد مشخص شد، به‌طوری‌که اگر دامی در سه روز متوالی پس‌آخور کمتر از ۲۰۰ گرم داشت، خوراک آن دام افزایش می‌یافت. همین روال تا انتهای دوره‌ی آزمایش انجام شد. وزن‌کشی دام‌ها ابتدا و انتهای دوره به صورت ناشتا، پس از ۱۶ ساعت گرسنگی با استفاده از باسکول دیجیتال دام‌کش ساخت شرکت ساترو انجام شد. برای محاسبه افزایش وزن روزانه از تقسیم نمودن تفاوت وزن در یک بازه زمانی بر تعداد روزهای همان بازه زمانی محاسبه شد. میزان ماده خشک مصرفی، افزایش وزن روزانه اندازه‌گیری و ضریب تبدیل خوراک نیز محاسبه شد. جهت محاسبه افزایش وزن روزانه، از تقسیم کردن اختلاف وزن در یک دوره زمانی بر تعداد روزهای همان بازه زمانی اندازه‌گیری شد. میزان ضریب تبدیل خوراک نیز از تقسیم نمودن میانگین مقدار ماده خشک مصرفی هر دام در آخر دوره بر افزایش وزن روزانه همان دام در کل دوره و به صورت میانگینی از ضریب تبدیل خوراک هر تیمار محاسبه شد (Hossein Abadi et al., 2020).

### اندازه‌گیری قابلیت هضم مواد مغذی

برای اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی از مارکر داخلی خاکستر نامحلول در اسید (AIA)<sup>۱</sup> استفاده شد (Van Keulen and Young., 1977). طی ۳ روز پایانی آزمایش، نمونه‌های مدفوع جمع‌آوری شده از هر می‌ش را مخلوط و یک نمونه ۱۰۰ گرمی مدفوع جهت تجزیه شیمیایی در نایلون پلاستیکی بسته بندی و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس درصد ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی نمونه‌ها در آزمایشگاه بر اساس روش‌های (AOAC, 2005) و ون‌سوست و همکاران (Van Soest et al., 1991) اندازه‌گیری شد.

### اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی

نمونه‌گیری خون جهت اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی در روز

مکانیسم مصرف خوراک بوده است.

نداشت که احتمالاً میزان اسیدهای چرب و الگوی اسید چرب دانه کتان مورد استفاده در این مطالعه، در کوتاه مدت دارای حداقل تأثیر بر

جدول ۲- تأثیر استفاده از سطوح و فرآوری مختلف دانه کتان بر عملکرد

Table 2- The effect of different levels and processing of flaxseed on performance

| فاکتورها<br>Parameters                                                     | جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup><br>Experimental diets <sup>1</sup> |        |        |        |        |        |       | SEM   | P-Value |
|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|---------|
|                                                                            | 1                                                                | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7     |       |         |
| ماده خشک مصرفی (گرم در روز)<br>Daily dry matter intake(g/day)              | 1320.8                                                           | 1326.8 | 1336.7 | 1334.2 | 1369.2 | 1363.8 | 1375  | 15.66 | 0.4621  |
| میانگین افزایش وزن روزانه (گرم در روز)<br>Average daily weight gain(g/day) | 229.8                                                            | 227    | 233.5  | 230.17 | 234.8  | 234.5  | 242.3 | 4.27  | 0.4995  |
| ضریب تبدیل خوراک<br>Feed conversion ratio                                  | 5.8                                                              | 5.7    | 5.8    | 5.6    | 5.5    | 5.4    | 5.4   | 0.12  | 0.2850  |

<sup>۱</sup> ۱- جیره شاهد بدون دانه کتان، ۲- جیره حاوی ۵ درصد دانه کتان خام، ۳- جیره حاوی ۱۰ درصد دانه کتان خام، ۴- جیره حاوی ۵ درصد دانه کتان میکرونیزه، ۵- جیره حاوی ۱۰ درصد دانه کتان میکرونیزه، ۶- جیره حاوی ۵ درصد دانه کتان اکستروود، ۷- جیره حاوی ۱۰ درصد دانه کتان اکستروود.

1- Control without flaxseed, 2- 5% flaxseed and 3- 10% flaxseed, 4- 5% micronized flaxseed, 5- 10% micronized flaxseed, 6- 5% extruded flaxseed and 7- 10% extruded flaxseed.

و کارچر و همکاران (Karcher et al., 2014) موافقت داشت. در پژوهشی تغذیه روغن‌های با منشأ گیاهی تأثیر معنی‌داری بر رشد و بازده مصرف خوراک گوساله‌ها نداشت (Hill et al., 2011). با این حال در برخی آزمایشات افزایش نرخ رشد و بهبود بازده مصرف خوراک گزارش شده است (Hill et al., 2009). دانه‌های روغنی مانند دانه کتان حاوی اسیدهای چرب ایکوزاپنتانویک و دوکوزاهگزانوئیک هستند که هر دو آنها از مشتقات فعال اسید لینولنیک هستند. مشخص شده است که این متابولیت‌های اکسیژنه نقش مهمی در رشد و توسعه حیوانات نوزاد به ویژه تکامل سیستم عصبی آنها دارد (Innis., 2007). با این حال ممکن است اسیدهای چرب ایکوزاپنتانویک و دوکوزاهگزانوئیک در طی این دوره از حیات، تأثیر کمتری بر بازده مصرف خوراک داشته باشد (Karcher et al., 2014). محققین گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری بین بره‌های تغذیه شده با روغن کتان در عملکرد رشد وجود ندارد (Harfoot, 1981). بره‌هایی که با جیره‌های حاوی چربی زرد یا روغن سویا تغذیه شدند در مقایسه با گروه شاهد، رشد سریع‌تر و افزایش وزن بیشتری داشتند (Wachira et al., 2002). در تحقیقی دیگر گزارش شده است که نوع چربی جیره اثری بر مصرف خوراک در گوسفند ندارد (Demirel et al., 2004). تحقیقات نشان داد که ممکن است که چربی‌ها، به‌ویژه در فرم غیراشباع با اختلال در تخمیر شکمبه‌ای، در کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای الیاف و پرشدگی شکمبه سهیم باشند و در نهایت منجر به کاهش سرعت عبور مواد خوراکی و کاهش مصرف خوراک شوند (Palmquist and Jenkins.,

Naseriyan et al., 2017) اعلام کردند که استفاده از دانه کتان و کلزا تأثیر معنی‌داری بر میزان ماده خشک مصرفی ندارد. در تحقیقی که توسط حسین‌آبادی و همکاران (Hossein Abadi et al., 2020) انجام شد، استفاده از سطوح مختلف دانه کتان تأثیر معنی‌داری بر میزان ماده خشک مصرفی روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در گوساله‌های شیرخوار نداشت. لشکری و همکاران (Lashkari et al., 2017) بیان نمودند استفاده از روش‌های مختلف فرآوری دانه کتان تأثیر معنی‌داری بر میزان ماده خشک مصرفی نداشت. در تحقیقی توسط چاشنی‌دل و همکاران (Chashnidel et al., 2019) تأثیر سطوح مختلف روغن کتان در بره‌های پرواری بررسی شد و نویسندگان گزارش کردند که استفاده از روغن دانه کتان تأثیر معنی‌داری بر میزان ماده خشک مصرفی داشت. اسپولار و همکاران (Spolare et al., 2005) ارزش نسبی کنجاله کتان را در افزایش رشد و ضریب تبدیل خوراک مورد مطالعه قرار داده و اعلام کردند، مصرف ۱۲ درصدی کنجاله کتان در جیره غذایی گوساله‌های پرواری اثرات منفی نداشت. دانه کتان حاوی مقادیر زیادی روغن می‌باشند و در نتیجه علاوه بر افزایش میزان امگا-۳ جیره، باعث افزایش انرژی قابل متابولیسمی جیره می‌گردد. غفاری (Ghaffari, 2016) گزارش کرد افزایش وزن روزانه و وزن نهایی گوساله‌های شیرخوار تحت تأثیر تیمارهای حاوی کتان عمل‌آوری شده قرار نگرفت. همچنین تیمارهای آزمایشی نتوانست بر ضریب تبدیل خوراک تأثیر معنی‌داری داشته باشد که با یافته‌های رمضانی (Ramezani, 2018)

(1980). همچنین در مطالعه‌ای دیگر گزارش شده که افزودن ۱۰ درصد دانه کتان اکستروده شده به جیره‌های آزمایشی، تأثیری معنی‌داری بر مصرف ماده خشک نسبت به تیمار بدون دانه کتان نداشت (Neveu et al., 2014). در مقایسه دانه کتان فرآوری نشده با دانه کتان غلطک شده، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی گزارش نکردند (Oba et al., 2009).

#### تأثیر استفاده از سطوح و فرآوری مختلف دانه کتان بر قابلیت

**هضم مواد مغذی:** نتایج حاصل از قابلیت هضم مواد مغذی در جدول ۳ گزارش شده است. طبق نتایج این مطالعه قابلیت هضم ماده خشک و چربی خام تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ( $P < 0.05$ )، به طوری که استفاده از دانه کتان باعث بهبود قابلیت هضم مواد مغذی شد. بیشترین میزان قابلیت هضم ماده خشک و چربی خام مربوط به تیمار حاوی ۱۰ درصد کتان اکستروده بود. مطالعه انجام شده توسط ناصریان و همکاران (Naseriyan et al., 2017) نشان داد که استفاده از دانه کتان و کلزا در جیره میش‌ها باعث افزایش قابلیت هضم چربی شد. همچنین اعلام شد که استفاده از دانه کتان (۱۲/۶٪ ماده خشک) بدون تأثیر منفی بر عملکرد شکمبه، باعث بهبود غیرمعنی‌دار قابلیت هضم مواد مغذی شد (Gonthier et al., 2004). حسین‌آبادی و همکاران (Hossein Abadi et al., 2020) در گزارش خود بیان کردند که استفاده از سطوح مختلف دانه کتان سبب افزایش معنی‌دار قابلیت هضم ماده خشک شد. آنها همچنین اعلام کردند که استفاده از کتان در سطح ۵ درصد باعث بهبود غیرمعنی‌دار قابلیت هضم چربی خام شد. در تحقیقی دیگر عدم تأثیر جیره‌های حاوی دانه کتان در مقایسه با جیره فاقد دانه کتان بر قابلیت هضم ماده آلی و چربی خام در گاوهای شیرده را گزارش شده است (Côtés et al., 2010). در مطالعه دیگری استفاده از کتان اکستروده در گوساله‌های شیرخوار باعث بهبود قابلیت هضم چربی خام شد (Ghaffari, 2016). افزایش چربی جیره عموماً سبب افزایش قابلیت هضم ظاهری چربی می‌شود که علت آن می‌تواند رقیق شدن اسیدهای چرب صفرا و اسیدهای چرب باکتریایی که در روده بزرگ تولید می‌شوند و سایر چربی‌های متابولیک مدفوع باشد (Ward et al., 2002). روغن موجود در دانه کتان به صورت پوشش‌دار بوده و در عملکرد شکمبه دخالت نخواهد داشت، بنابراین انتظار می‌رود تأثیر منفی بر قابلیت هضم مواد مغذی نداشته باشد و حتی در برخی اوقات سبب بهبود آن گردد. همچنین تیمارهای آزمایشی نتوانست بر قابلیت هضم پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی تأثیر معنی‌داری داشته باشد. کمترین مقدار قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی مربوط به تیمارهای حاوی ۱۰ درصد دانه کتان بود. محققین در موافقت با نتایج این تحقیق اعلام کردند که استفاده از روش‌های مختلف فرآوری دانه کتان در جیره باعث کاهش معنی‌دار قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی نسبت به تیمار شاهد شد (Lashkari

et al., 2017). حسین‌آبادی و همکاران (Hossein Abadi et al., 2020) گزارش کردند که استفاده از دانه کتان در سطح ۱۰ درصد سبب کاهش معنی‌دار قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی شد. با افزایش سطح استفاده از دانه کتان میزان قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاهش یافت که بالاتر بودن مقادیر اسیدهای چرب غیراشباع در دانه کتان می‌تواند دلیل مناسبی بر کاهش قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی باشد و می‌توان اینگونه استنباط کرد به دلیل افزایش میزان اسیدهای چرب غیراشباع، فعالیت فیبرولیتیکی شکمبه تحت تأثیر قرار گرفته و در اثر افزودن دانه کتان، قابلیت هضم دیواره سلولی کاهش پیدا کرده است (Doreau and Ferlay, 1995). پژوهشگران گزارش کردند که افزودن دانه کتان با عمل‌آوری‌های مختلف (۱۰ درصد) تأثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ندارد (Schroeder et al., 2014). از عوامل مؤثر بر قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، خاصیت کشندگی اسیدهای چرب غیراشباع برای باکتری‌های سلولولیتیک و پروتوزوآها (Doreau et al., 1995) می‌تواند باشد. پتیت (Petit, 2002) کاهش در قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی در گاوهای تغذیه شده با دانه کتان در مقایسه با یک منبع تجاری پودر چربی را گزارش کرد، در حالی که کورتس و همکاران (Côtés et al., 2010) عدم تأثیر و گاندیر و همکاران (Gonthier et al., 2004) افزایش در قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در جیره‌های حاوی دانه کتان را گزارش شد. اختلافات مشاهده شده ممکن است به دلیل اختلاف در میزان دانه کتان در جیره و ترکیب جیره پایه در آزمایشات مختلف باشد.

لیپیدها ممکن است سبب کاهش هضم الیاف نشخوارکنندگان شوند (Ward et al., 2002). استفاده از دانه کتان بدون تأثیر منفی بر عملکرد، باعث بهبود غیرمعنی‌دار قابلیت هضم مواد مغذی در گاوهای شیری شد (Gonthier et al., 2004). در تحقیقی گزارش شد تیمارهای آزمایشی حاوی روغن کتان باعث افزایش پروتئین خام، ماده آلی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نسبت به سایر تیمارها شد (Geraiely, 2017). در پژوهشی با عنوان تأثیر دانه کلزا و کتان بر قابلیت هضم و برخی فراسنجه‌های خونی در میش‌های کردی، گزارش شد که تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر میزان قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی نداشت (Elmi et al., 2020).

#### تأثیر استفاده از سطوح و فرآوری مختلف دانه کتان بر

**فراسنجه‌های خونی:** اطلاعات مربوط به فراسنجه‌های در جدول ۴ گزارش شده است. طبق نتایج میزان گلوکز و نیترژن اوره‌ای تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت ( $P < 0.05$ ). میزان گلوکز خون



1988). پیش‌ماده اصلی برای فعالیت گلوکونوژنری در کبد پروپیونات است که موجب تولید گلوکز می‌شود. همچنین گلیسرول حاصل از هیدرولیز چربی در دانه‌های روغنی به پروپیونات تبدیل می‌شود که از طریق فرآیند گلوکونوژنر باعث افزایش گلوکز سرم می‌شود (Hill et al., 2011). پروپیونات یک اسید چرب فرار تولیدی در شکمبه است که به‌عنوان پیش‌ساز عمده‌ی گلوکز در حیوانات محسوب می‌شود (Ghoorchi and Ghorbani, 2011).

میش‌های تغذیه شده با جیره حاوی کتان اکستروود و میکرونیزه در سطح ۱۰ درصد بیشتر بود. این آزمایشات با نتایج قبلی (Dirandeh et al., 2013; Jahani- Moghadam et al., 2015) که در آن افزودن دانه کتان سبب افزایش میزان گلوکز خون شد، مطابقت دارد که این افزایش به احتمال زیاد در نتیجه تولید بیشتر اسید پروپیونیک نسبت به استات در شکمبه است. مطالعات نشان داده است که در شکمبه اسیدهای چرب بیوهیدروژنه شده و با تغییر الگوی تخمیر شکمبه، موجب افزایش پروپیونات نسبت به استات می‌شوند (Byers and Schelling, 2011).

جدول ۳- تأثیر استفاده از سطوح و فرآوری مختلف دانه کتان بر قابلیت هضم مواد مغذی  
Table 3- The effect of different levels and processing of flaxseed on nutrient digestibility

| فاکتورها<br>parameters                                  | جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup><br>Experimental diets <sup>1</sup> |                   |                    |                    |                    |                    |                   | SEM  | P-Value |
|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|------|---------|
|                                                         | 1                                                                | 2                 | 3                  | 4                  | 5                  | 6                  | 7                 |      |         |
| ماده خشک<br>Dry matter                                  | 70.50 <sup>b</sup>                                               | 72 <sup>b</sup>   | 73.2 <sup>ab</sup> | 73.3 <sup>ab</sup> | 74.2 <sup>ab</sup> | 74.3 <sup>ab</sup> | 77 <sup>a</sup>   | 1.21 | 0.0235  |
| پروتئین خام<br>Crude protein                            | 62.5                                                             | 60.5              | 60.5               | 63.8               | 65.5               | 64                 | 66.1              | 2.03 | 0.3396  |
| الیاف نامحلول در شوینده خنثی<br>Neutral detergent fiber | 64                                                               | 64.7              | 61.8               | 65.5               | 60.8               | 62.7               | 59.2              | 1.47 | 0.4627  |
| چربی خام<br>Crude fat                                   | 63 <sup>b</sup>                                                  | 64.3 <sup>b</sup> | 65.7 <sup>b</sup>  | 65.3 <sup>b</sup>  | 65.5 <sup>b</sup>  | 65.2 <sup>b</sup>  | 69.3 <sup>a</sup> | 1.09 | 0.0139  |

<sup>a,b</sup> حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

<sup>۱</sup> ۱- جیره شاهد بدون دانه کتان، ۲- جیره حاوی ۵ درصد دانه کتان خام، ۳- جیره حاوی ۱۰ درصد دانه کتان خام، ۴- جیره حاوی ۵ درصد دانه کتان میکرونیزه، ۵- جیره حاوی ۱۰ درصد دانه کتان میکرونیزه، ۶- جیره حاوی ۵ درصد دانه کتان اکستروود، ۷- جیره حاوی ۱۰ درصد دانه کتان اکستروود.

<sup>a,b</sup> Values with differing letters within the same column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup> 1- Control without flaxseed, 2- 5% flaxseed and 3- 10% flaxseed, 4- 5% micronized flaxseed, 5- 10% micronized flaxseed, 6- 5% extruded flaxseed and 7- 10% extruded flaxseed.

استفاده از دانه‌های روغنی بذرك و سویا باعث افزایش معنی‌دار غلظت گلوکز شد (Daghighi Kia et al., 2012). جیره‌های آزمایشی نتوانست بر میزان کلسترول تأثیر معنی‌داری داشته باشد، ولی باعث بهبود غلظت کلسترول شد که موافق با نتایج (Akbarinejad et al., 2020; Elmi et al., 2020) است. گزارش شده است که جیره‌های حاوی دانه‌های روغنی، میزان کلسترول را افزایش می‌دهند (Akbarinejad et al., 2012). در تأیید نتایج پژوهش حاضر گزارش شد مکمل اسیدهای چرب امگا-۳ (روغن کتان) یا امگا-۶ (روغن آفتابگردان) بر غلظت کلسترول اثر معنی‌داری ندارد (Petit et al., 2004). همچنین در پژوهشی دیگر گزارش شد جیره‌های دارای مکمل اسیدهای چرب (روغن ماهی و دانه کتان) تأثیری بر غلظت کلسترول نداشت (Petit, 2002). حسین‌آبادی و همکاران (Hossein Abadi et al., 2020) گزارش کردند که استفاده از دانه کتان تأثیر معنی‌داری بر غلظت کلسترول در گوساله‌های شیرخوار نداشت. مطالعات نشان داد که جیره‌های حاوی دانه‌های گیاهی، کلسترول پلاسما را افزایش می‌دهند (Akbarinejad et al., 2012). این نتیجه مطابق با مطالعات

غلظت گلوکز خون در گاوهای هلستاین شیرده تغذیه شده با دانه کتان اکستروود شده و دانه سویا برشته به‌صورت معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود (Rajabi et al., 2016). دانه کتان اکستروود شده با کاهش مقاومت به انسولین سبب افزایش غلظت گلوکز خون شد (Dirandeh et al., 2016). نتایج امینی و همکاران (Amini et al., 2016) نشان داد در گوسفندانی که از دانه کتان، کتان اکستروود و کتان میکروویو شده تغذیه کردند، اختلاف معنی‌داری در میزان گلوکز مشاهده نشد. حسین‌آبادی و همکاران (Hossein Abadi et al., 2020) گزارش کردند که استفاده از دانه کتان باعث افزایش غیرمعنی‌دار غلظت گلوکز در گوساله‌های شیرخوار شد. در تحقیقی اعلام شد که گرچه استفاده از روغن دانه کتان تأثیر معنی‌داری بر روی گلوکز خون گوساله‌های شیرخوار نداشت، ولی باعث افزایش مقدار گلوکز خون شد (Geraiely, 2017). علمی و همکاران (Elmi et al., 2020) در تحقیقی تأثیر دانه کلزا و کتان بر قابلیت هضم و برخی فراسنجه‌های خونی میش‌های کردی را بررسی و گزارش کردند که در تیمارهای حاوی دانه‌های روغنی، میزان گلوکز افزایش معنی‌داری داشته است.

([al., 2012](#)) و آرندا آویلا و همکاران ([Aranda-Avila et al., 2010](#)) مطابقت دارد. جیره‌های آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر میزان تری-گلیسرید خون نداشت که موافق با نتایج ([Ghaffari, 2016](#); [Ramezani, 2018](#); [Hossein Abadi et al., 2020](#)) بود. جیره‌های آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر میزان نیتروژن اوره‌ای داشت ( $P < 0.05$ ) که موافق با نتایج ([Hossein Abadi et al., 2020](#)) بود. حسین‌آبادی و همکاران ([Hossein Abadi et al., 2020](#)) گزارش کردند که جیره‌های آزمایشی حاوی کتان تأثیر معنی‌داری بر میزان نیتروژن اوره‌ای خون نداشت. ناصریان و همکاران ([Naseriyan et al., 2017](#)) گزارش کردند که جیره‌های حاوی دانه روغنی به‌ویژه دانه کتان در پنج و سه هفته قبل از زایش به‌طور معنی‌داری باعث کاهش سطح نیتروژن اوره‌ای خون شد. افزایش نیتروژن اوره‌ای خون، نشان‌دهنده اکسیداسیون و دامیناسیون بیش از نیاز می‌باشد و زمانی که خوراک حاوی پروتئین بالا توسط دام مصرف می‌شود، این حالت مشاهده می‌شود. غلظت آمونیاک موجود در شکمبه، اصلی‌ترین سازه مشخص‌کننده غلظت نیتروژن اوره‌ای خون حیوان می‌باشد. نتایج ([Badiei et al., 2004](#); [Geraeily, 2017](#); [Lashkari et al., 2017](#)) نشان داده که غلظت نیتروژن اوره‌ای خون تحت تأثیر جیره‌های حاوی دانه کتان قرار نگرفته است که نشان‌دهنده این است که جیره‌های مصرفی تأثیری بر نیتروژن آمونیاکی شکمبه ندارد که مخالف با نتایج تحقیق حاضر می‌باشد.

قبلی بود که با افزایش سطح استفاده از روغن‌های گیاهی در جیره‌ی گاوها، سطح کلسترول افزایش یافت ([Spolare et al., 2005](#)). گرایلی ([Geraeily, 2017](#)) گزارش کرد که استفاده از روغن دانه کتان تأثیر معنی‌داری بر مقدار کلسترول خون گوساله‌های شیرخوار نداشت، اما باعث افزایش جزئی در مقدار کلسترول خون شد. به نظر می‌رسد افزایش غلظت کلسترول خون با تغذیه مکمل‌های غنی از چربی برای حمل و نقل تری‌گلیسریدها در خون ضروری است. همچنین، در این زمان فرآیندهای تولیدکننده کلسترول در کبد افزایش و از طرفی دفع کلسترول در مدفوع نیز کاهش می‌یابد و در نتیجه منجر به افزایش غلظت کلسترول خون می‌گردد. تولید کلسترول (به دلیل نبود کلسترول در منبع چربی) دلیلی است که می‌توان برای آن بیان کرد. در این حالت افزایش کلسترول خون ناشی از رها شدن کلسترول از لیپوپروتئین‌ها می‌باشد ([Drackley, 1999](#)). رجبی و همکاران ([Rajabi et al., 2016](#)) نشان دادند که مقدار کلسترول تحت تأثیر تیمار حاوی دانه کتان اکستروید قرار نگرفت. در تأیید نتایج پژوهش حاضر، طی تحقیقی گزارش شد که کتان اکستروید شده، تأثیر معنی‌داری بر مقدار کلسترول خون گوساله‌های شیرخوار نداشت ([Ramezani, 2018](#)). افزایش غلظت کلسترول احتمالاً با افزایش جذب روده‌ای اسیدهای چرب بلند زنجیر ارتباط مستقیم دارد ([Akbarinejad et al., 2012](#); [Drackley, 1999](#)). نتایج این بخش با دقیق‌کیا و همکاران ([Daghigh Kia et al., 2012](#))

جدول ۴- تأثیر استفاده از سطوح و فرآوری مختلف دانه کتان بر متابولیت‌های خونی (میلی گرم بر دسی لیتر)

Table 4- The effect of different levels and processing of flaxseed on blood serum metabolite (mg / dl)

| فاکتورها<br>parameters          | جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup><br>Experimental diets <sup>1</sup> |                    |                    |                    |                    |                    |                   | SEM  | P-Value |
|---------------------------------|------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|------|---------|
|                                 | 1                                                                | 2                  | 3                  | 4                  | 5                  | 6                  | 7                 |      |         |
| گلوکز<br>Glucose                | 61.5 <sup>b</sup>                                                | 63.67 <sup>b</sup> | 66.2 <sup>ab</sup> | 67.7 <sup>ab</sup> | 67 <sup>ab</sup>   | 65.5 <sup>ab</sup> | 71.5 <sup>a</sup> | 2.38 | 0.1368  |
| تری‌گلیسرید<br>Triglyceride     | 33                                                               | 31.8               | 34.5               | 33.7               | 32.8               | 35.1               | 32                | 1.85 | 0.3687  |
| کلسترول<br>Cholesterol          | 60.3                                                             | 61.7               | 62.8               | 60.8               | 64.2               | 61.3               | 62.5              | 2.04 | 0.8659  |
| نیتروژن اوره‌ای<br>Urea nitroge | 15.7 <sup>a</sup>                                                | 13.8 <sup>ab</sup> | 14.1 <sup>ab</sup> | 14 <sup>ab</sup>   | 12.3 <sup>ab</sup> | 12.5 <sup>bc</sup> | 11.7 <sup>c</sup> | 0.71 | 0.0096  |

<sup>a,b</sup> حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

<sup>۱</sup> ۱- جیره شاهد بدون دانه کتان، ۲- جیره حاوی ۵ درصد دانه کتان خام، ۳- جیره حاوی ۱۰ درصد دانه کتان خام، ۴- جیره حاوی ۵ درصد دانه کتان میکرونیزه، ۵- جیره حاوی ۱۰ درصد دانه کتان میکرونیزه، ۶- جیره حاوی ۵ درصد دانه کتان اکستروید، ۷- جیره حاوی ۱۰ درصد دانه کتان اکستروید.

<sup>a,b</sup> Values with differing letters within the same column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup> 1- Control without flaxseed, 2- 5% flaxseed and 3- 10% flaxseed, 4- 5% micronized flaxseed, 5- 10% micronized flaxseed, 6- 5% extruded flaxseed and 7- 10% extruded flaxseed.

خون می‌شود ([Naseriyan et al., 2017](#)). از طرفی بیان شده است که دانه‌های روغنی در کنترل جمعیت پروتوزوایی شکمبه و افزایش بازدهی مصرف پروتئین جیره مؤثر می‌باشد ([Naseriyan et al., 2017](#)).

افزایش اسیدهای چرب غیراشباع ناشی از مصرف دانه کتان سبب بهبود وضعیت انرژی حیوان و کاهش میزان دامیناسیون اسیدهای آمینه بافتی برای تأمین انرژی و در نهایت سبب کاهش سطح نیتروژن اوره‌ای



به دلیل تحریک ترشح بزاق در نظر گرفته می‌شود (Maekawa et al., 2002). مدت زمان صرف شده برای فعالیت جویدن (مجموع خوردن و نشخوار کردن) معیار خوبی از سلامت شکمبه است. افزایش سطح علوفه، زمان جویدن را افزایش می‌دهد، فعالیت جویدن، ترشح بزاق را تحریک می‌کند و بیکربنات موجود در آن در ایجاد محیط بافری شکمبه برای فرآیند تخمیر مفید است. در نشخوارکنندگان انرژی صرف شده برای عمل خوردن غذا معادل ۳-۶ درصد از انرژی متابولیسمی مصرفی تخمین زده می‌شود. با این وجود انرژی صرف شده برای نشخوار کردن به مراتب کمتر از انرژی مصرفی برای خوردن خوراک بوده و در حدود ۳/۰ درصد از انرژی متابولیسمی مصرفی برآورد می‌گردد (McDonald et al., 2012). انرژی صرف شده برای خوردن متناسب با کمیت غذای خورده شده نمی‌باشد، بلکه مدت زمان سپری شده برای خوردن به ماهیت، فیبر و شکل فیزیکی جیره‌ای که مصرف می‌شود بستگی دارد (Lachica et al., 1997; Retnani et al., 2009). به طور کلی مدت زمان جویدن با کاهش اندازه ذرات و محتوای الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاهش می‌یابد (Grant et al., 1990). ممکن است محتوای کمتر الیاف نامحلول در شوینده خنثی و ماهیت شیمیایی و فیزیکی آن موجب کاهش فعالیت نشخوار کردن و جویدن شده باشد (Van Soest, 1994).

علمی و همکاران (Elmi et al., 2020) با مصرف جیره‌های حاوی دانه کتان و کلزا نشان دادند که میش‌های مصرف‌کننده دانه کتان و کلزا نسبت به سایر حیوانات غلظت نیتروژن اوره‌ای خون کمتری داشتند که با نتایج پتیت (Petit, 2002) مطابقت دارد.

**تأثیر استفاده از سطوح و فرآوری مختلف دانه کتان بر رفتار نشخوار:** نتایج حاصل از بررسی تأثیر استفاده از سطوح و فرآوری مختلف دانه کتان بر رفتار نشخوار در جدول ۵ آمده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود جیره‌های آزمایشی نتوانست بر رفتار نشخوار میش‌ها تأثیر معنی‌داری داشته باشد. در این پژوهش نسبت علوفه به کنسانتره در همه جیره‌های آزمایشی یکسان در نظر گرفته شد و اندازه ذرات علوفه مورد استفاده در تمام گروه‌ها یکسان بود. ویژگی‌های فیزیکی مواد خوراکی می‌تواند رفتار تغذیه‌ای و عملکرد دام را تحت تأثیر قرار دهد (Mertens, 1997). همچنین الیاف جیره شامل علوفه‌ای و غیرعلوفه‌ای در تحریک فعالیت نشخوار متفاوت عمل می‌کنند، زیرا اندازه ذرات و زمان ماندگاری متفاوتی در شکمبه دارند (Mertens, 1997). اندازه ذرات علوفه‌ای مورد استفاده و مقدار الیاف مؤثر فیزیکی نامحلول در شوینده خنثی می‌تواند بر فعالیت جویدن مؤثر باشد (Sadr Erhami et al., 2015). تغییر در زمان نشخوار ممکن است مرتبط با تفاوت در ماده خشک مصرفی و نیز گوارش‌پذیری مواد مغذی باشد و نیز فعالیت نشخوار به عنوان فاکتوری برای تشخیص سلامت شکمبه

جدول ۵- تأثیر استفاده از سطوح و فرآوری مختلف دانه کتان بر رفتار نشخوار

Table 5- The effect of different levels and processing of flaxseed on Ruminal behavior (min/day)

| فاکتورها<br>Parameters | جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup><br>Experimental diets <sup>1</sup> |       |       |       |       |       |       | SEM   | P-Value |
|------------------------|------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
|                        | 1                                                                | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     |       |         |
| خوردن<br>Eat           | 358.3                                                            | 355.7 | 374.2 | 360.5 | 358.8 | 361.7 | 368   | 7.55  | 0.6396  |
| نشخوار<br>Rumination   | 233.7                                                            | 248   | 227.7 | 240.3 | 258.5 | 244.2 | 217.7 | 13.94 | 0.4765  |
| جویدن<br>Chew          | 592                                                              | 603.7 | 601.9 | 600.8 | 617.3 | 605.9 | 585.7 | 14.02 | 0.7943  |
| استراحت<br>Rest        | 848                                                              | 836.3 | 838.1 | 839.2 | 822.7 | 834.1 | 854.3 | 14.02 | 0.7943  |

<sup>۱</sup> ۱- جیره شاهد بدون دانه کتان، ۲- جیره حاوی ۵ درصد دانه کتان خام، ۳- جیره حاوی ۱۰ درصد دانه کتان خام، ۴- جیره حاوی ۵ درصد دانه کتان میکرونیزه، ۵- جیره حاوی ۱۰ درصد دانه کتان میکرونیزه، ۶- جیره حاوی ۵ درصد دانه کتان اکستروود، ۷- جیره حاوی ۱۰ درصد دانه کتان اکستروود.

<sup>1</sup> 1- control without flaxseed, 2- 5% flaxseed and 3- 10% flaxseed, 4- 5% micronized flaxseed, 5- 10% micronized flaxseed, 6- 5% extruded flaxseed and 7- 10% extruded flaxseed.

اکستروود و میکرونیزه در سطح ۱۰ درصد به عنوان منبع انرژی و پروتئین در جیره میش‌ها استفاده نمود. همچنین پیشنهاد می‌شود در مطالعه‌ای بلند مدت، اثر تغذیه با این جیره‌ها بر روی بره‌ها بررسی شود.

## نتیجه‌گیری کلی

با توجه به اینکه نتایج این آزمایش نشان می‌دهد استفاده از دانه کتان فرآوری شده در سطح ۱۰ درصد موجب بهبود قابلیت هضم مواد مغذی و نیز برخی فراسنجه‌های خونی گردید، می‌توان از دانه کتان

## تقدیر و تشکر

در پایان از مدیرعامل محترم و کارکنان زحمتکش شرکت پژوهش

پرور زاینده اصفهان و همچنین دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم  
کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که به ما در انجام این پژوهش یاری  
رسانده‌اند قدردانی به عمل می‌آوریم.

## References

1. Akbarinejad, V., A. Niasari-Naslaji, H. Mahmoudzadeh, and M. Mohajer. 2012. Effects of diets enriched in different sources of fatty acids on reproductive performance of Zel sheep. *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz University. 13: 4-41. (In Persian).
2. Ambrose, D. J., J. P. Kastelic, R. Corbett, P. A. Pitney, H. V. Petit, J. A. Small, and P. Zalkovic. 2006. Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed a diet enriched in  $\alpha$ -linolenic acid. *Journal of Dairy Science*, 89: 3066-3074.
3. Amini, J., M. Danesh Mesgaran, S. A. Vakili, and A. Heravi Mosavi. 2016. Antioxidant activity of linseed products: effects on metabolism and immune responses using in vitro and in vivo model systems. 7th Iranian Congress of Animal Sciences. (In Persian).
4. AOAC. 2005. Official Method of Analysis, 15 ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, USA.
5. Aranda-Avila, I., J. Herrera-Camacho, J. R. Ake-Lopez, R. A. Delgado-Leon, and J. C. Ku-Vera. 2010. Effect of supplementation with corn oil on postpartum ovarian activity. Pregnancy rate and serum concentration of progesterone and lipid metabolites in F1 (*Bos-taurus*  $\times$  *Bos-indicus*) cows. *Journal of Tropical Animal Health and Production*, 42: 1435-1440.
6. Araujo, R. C., A. V. Pires, I. Susin, C. Q. Mendes, G. H. Rodrigues, I. U. Packer, and M. L. Eastridge. 2008. Milk yield, milk composition, eating behavior, and lamb performance of ewes fed diets containing soybean hulls replacing coast cross (*Cynodon* species) hay. *Journal of Animal Science*, 86:3511-3521.
7. Badiei, A., A. Aliverdilou, H. Amanlou, M. Beheshti, E. Dirandeh, R. Masoumi, F. Mosakhani, and H. V. Petit. 2014. Postpartum responses of dairy cows supplemented with n-3 fatty acids for different durations during the peripartur period. *Journal of Dairy Science*, 95:6391-6399.
8. Byers, F. M., and G. T. Schelling. 1988. Lipids in ruminant nutrition. In: D. C. Church (ED) *The Ruminant Animal: Journal of Digestive Physiology and Nutrition*, 298-310.
9. Chashnidel, Y., S. M. Kazemi, and A. Teymuri Yanesari. 2019. Effect of different levels of linseed oil on performance, degradability, digestibility, some blood parameters, quantitative and qualitative traits of meat in fattening lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 11( 1): 133-149. (In Persian).
10. Côrtes, C., D. C. Da Silva-Kazama, R. Kazama, N. Gagnon, C. Benchaar, G. T. D. Santos, L. M. Zeoula, and H. V. Petit. 2010. Milk composition, milk fatty acid profile, digestion, and ruminal fermentation in dairy cows fed whole flaxseed and calcium salts of flaxseed oil. *Journal of Dairy Science*, 93: 3146-3157.
11. Daghigh Kia, H., Gh. R. Aslani Kordkand., Gh. A. Moghadam., S. Alijani, and A. H. Khani. 2012. The effect of flaxseed and soybean on the diet of flushing of reproductive performance of Moghani sheep out of the breeding season. *Journal of Animal Science Research*, 23(2): 174-184. (In Persian).
12. Debbie, L., and D. Thiessen. 2011. Optimization of feed peas, canola and flaxseed for aqua feeds. The Canadian prairie perspective. MCN Bioproducts Inc, 259-277.
13. Demirel, G., A. M. Wachira., L. A. Sinclair., R. G. Wilkinson., J. D. Wood, and M. Enser. 2004. Effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids, breed and dietary vitamin E on the fatty acids of lamb muscle, liver and adipose tissue. *British Journal of Nutrition*, 91: 551-565.
14. Didarkhah, M. 2014. Evaluation of in vitro digestibility characteristics of glucogenic and lipogenic diets containing flaxseed and its effect on physiological parameters of Baluchi ewes' pregnancy. Doctoral dissertation on ruminant nutrition. Ferdowsi University of Mashhad.
15. Dirandeh, E., A. Towhidi., S. Zeinoaldini., M. Ganjkanlou., Z. Ansari Pirsaraei, and A. Fouladi-Nashta. 2013. Effects of different polyunsaturated fatty acid supplementations during the postpartum periods of early lactating dairy cows on milk yield, metabolic responses, and reproductive performances. *Journal of Animal Science*, 91: 713-721.
16. Dirandeh, E., A. Towhidi., Z. Ansari Pirsaraei., S. Zeinoaldini, and M. Ganjkanlou. 2016. Effect of dietary supplementation with different polyunsaturated fatty acid on expression of genes related to somatotrophic axis function in the liver, selected blood indicators, milk yield and milk fatty acids profile in dairy cows. *Annals of Animal Science*, 16:1045-1058.
17. Doreau, M., and A. Ferlay. 1995. Effect of dietary lipids on nitrogen metabolism in the rumen: A review. *Livestock Production Science*, 43: 97-110.
18. Drackley, J. K. 1999. ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period the final frontier. *Journal of Dairy Science*, 82: 2259-2273.

19. Duguid, S., G. Lafond., D. W. McAndrew., K. Y. Rashid, and A. Ulrich. 2007. Growing Flax: Production, Management & Diagnostic Guide. Winnipeg, MB: Flax Council of Canada.
20. Elmi, H., A. A. Naseriyan, and A. M. Tahmasebi. 2020. Effect of flaxseed and cannula seed on digestibility and some of blood parameters in Kurdish ewes durring postpartum period. *Journal of Ruminant Research*, 8(1):63-76. (In Persian).
21. Geraeily, M. 2017. The effect of flaxseed oil on performance of dairy calves under heat stress conditions. MSc thesis. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.Iran. 106pp. (In Persian).
22. Ghaffari, M. 2016. The effects of feeding processed Flaxseed on performance of Holstein calves. MSc thesis Department of Animal Science, Tehran University. (In Persian).
23. Ghoorchi, T, and B. Ghorbani. 2011. Rumen Microbiology. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources Publications.
24. Gonthier, C., A. F. Mustafa, R. Berthiaume, H. V. Petit., R. Martineau, and D. R. Ouellet. 2004. Effects of feeding micronized and extruded flaxseed on ruminal fermentation and nutrient utilization by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87:1854-1863.
25. Gonthier, C., A. F. Mustafa., D. R. Ouellet., P. Y. Chouinard., R. Ber- thiaume, and H. V. Petit. 2005. Feeding micronized and extruded flaxseed to dairy cows: Effects on blood parameters and milk fatty acid composition. *Journal of Dairy Science*, 88:748–756.
26. Grant, R. J., V. F. Colenbrander, and D. R. Mertens. 1990. Milk fat depression in dairy cows: role of particle size of alfalfa hay. *Journal of Dairy Science*, 73:1823-1833.
27. Harfoot, C. G. 1981. Lipid metabolism in the rumen. Pages 21-55 in lipid metabolism in ruminant animals.1 st ed. W. W. Christie, ed. Pergamon Press, Oxford, United Kingdom.
28. Hill, T. M., H. G. Bateman., J. M. Aldrich, and R. L. Schlotterbeck. 2009. Effect of changing the essential and functional fatty acid intake of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 92: 670-676.
29. Hill, T. M., M. J. VandeHaar., L. M. Sordillo., D. R. Catherman., H. G. Bateman, and R. L. Schlotterbeck. 2011. Fatty acid intake alters growth and immunity in milk-fed calves. *Journal of Dairy Science*, 94:3936–3948.
30. Hossein Abadi, M., N. M. Torbatinejad., T. Ghoorchi, and A. H. Toghdory. 2020. Effects of Feeding Different Levels of Flaxseed on Performance, Nutrient Digestibility and Blood Parameters of Pre-Weaning Calves. *Research on Animal Production*, 11(28): 67-74. (In Persian).
31. Innis, S. M. 2007. Dietary (n-3) fatty acids and brain development. *The Journal of nutrition*, 137: 855-859.
32. Jahani- Moghadam, M., E. Mahjoub., and E. Dirandeh. 2015. Effect of linseed feeding on blood metabolites, incidence of cystic follicles, and productive and reproductive performance in fresh Hlstein dairy coes. *Journal of Dairy Scince*, 98:1828-1835.
33. Karcher, E. L., T. M. Hill., H. G. Bateman., R. L. Schlotterbe., N. Vito., L. M. Sordillo, and M. J. VandeHaar. 2014. Comparison of supplementation of n-3 fatty acids from fish and flax oil on cytokine gene expression and growth of milk-fed Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 97: 2329-2337.
34. Kennelly, J. J. 1996. The fatty acid composition of milk fat as influenced by feeding oilseeds. *Animal Feed Science Technology*, 60: 137–152.
35. Lachica, M., J. F. Aguilera, and C. Prieto. 1997. Energy expenditure related to the act of eating in Granadina goats given diets of different physical form. *British Journal of Nutrition*, 77: 417-426.
36. Lashkari, S., A. Azizi, and H. Jahani Azizabadi. 2017. The Effects of Different Flax Seed Processing Methods on Yield, Milk Fatty Acids Pattern and Nutrient Digestibility in Lactating Cows. *Journal of Animal Production Research*, 27(4) 105 -119. (In Persian).
37. Maekawa, M., K. A. Beauchemin, and D. A. Christensen. 2002. Chewing activity, saliva production, and ruminal pH of primiparous and multiparous Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 85: 1176–1182.
38. McDonald, P., R. A. Edwards., J. F. D. Greenhalgh., C. A.Morgan, L. A. Sinclair, and R. G. Wilkinson. 2011. *Animal Nutrition*. 7th ed., Longman Group United Kingdom Harlow. P: 693.
39. Mertens, D. R. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80(7):1463-1481.
40. Moura, L.V., E. R. Oliveira, and A. R. M. Fernandes. 2017. Feed efficiency and carcass traits of feedlot lambs supplemented either monensin or increasing doses of copaiba (Copaifera spp.) essential oil. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 232: 110-118.
41. Mustafa, A. F., J. J. McKinnon., D. A. Christensen, and T. He. 2002. Effects of micronization of flaxseed on nutrient disappearance in the gastrointestinal tract of steers. *Animal Feed Science Technology*, 95: 123–132.
42. Naseriyan, A. A., H. Elmi., A. M. Tahmasebi, and N. Farzaneh. 2017. Effect of flaxseed and rapeseed on digestibility and some blood parameters of Kurdish ewes during late pregnancy period. *Journal of Animal Science (Pajouhesh & Sazandegi)*, 115: 167-178. (In Persian).
43. National Research council. 1973. Effect of processing on the nutritional value of feeds. *National Academy of Science*. Washington. D. C. P 519.
44. Neveu, C., B. Baurhoo, and A. Mustafa. 2014. Effect of feeding extruded flaxseed with different grains on the

- performance of dairy cows and milk fatty acid profile. *Journal of Dairy Science*, 97: 1-9.
45. NRC. 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants*. 7th edition. Nattiona. Academy Press, Washington, DC.
  46. Oba, M., G. Thangavelu., M. Dehghan-banadaky, and D. J. Ambrose. 2009. Unprocessed whole flaxseed is as effective as dry-rolled at increasing (-linolenic acid concentration in milk of dairy cows. *Livestock. Science*, 122: 73-76.
  47. Palmquist, D. L, and T. C. Jenkins. 1980. Fat in lactation rations: A review *Journal of Dairy Science*, 63: 1-14.
  48. Petit, H. V. 2002. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. *Journal of Dairy Science*, 85: 1482-1490.
  49. Petit, H. V., C. Germiquet, and D. Lebel. 2004. Effect of feeding whole, unprocseed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87:591-600.
  50. Rajabi, Y., Y. Chashni Dell, and A. Dirandeh. 2016. The effect of feeding different sources of fat during the transition period on milk production and composition and blood parameters of Holstein dairy cows. *Journal of Animal Production Research, University of Gilan*, 9: 92-100. (In Persian).
  51. Ramezani, M. 2018. The Effect of Extruded Flaxseed and Conjugated Linoleic Acid on Performance, Blood Metabolites and Immune Response in milk-fed calves. Msc thesis University of Mohaghegh Ardabili.
  52. Retnani, Y., W. Widiarti, I. Amiroh., L. Herawati, and K. B. Satoto. 2009. Ujidaya simpan dan palatabilitas wafer ransum komplit pucuk dan ampas tebu untuk sapi pedet. *Media Peternakan*, 32: 130-136.
  53. Sabahi, N, and M. R. Vafadar. 2009. *Principles of New Technology of Livestock, Poultry and Aquaculture Food Industries*. Sepehr Publishing Center. (In Persian).
  54. Sadr Erhami E., Gh. R. Ghorbani., Sh. Kargar., A. Sadeghi sefid Mazgi, and N. Naderi. 2015. Effect of feeding processed soybean as replacement for soybean meal on performance, physically effective fiber of diet, feed intake, and chewing behavior of mid-lactating Holstein dairy cows. *Journal of Ruminant Research*, 2(4):87-102. (In Persian).
  55. SAS. 2003. *Statistical Analysis System, User's Guide: Statistics*. Version 9.1. SAS Institute, Cary, NC, USA.
  56. Schroeder, J. W., M. L. Bauer, and N. R. Bork. 2014. Effect of flaxseed physical form on digestibility of lactation diets fed to Holstein steers. *Journal of Dairy Science*, 97: 5718-5728.
  57. Spolare, P., C. Joannis-Cassan, and E. Duran. 2005. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101: 87-96.
  58. Van Keulen J, and B. A. Young. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44(2): 282-287.
  59. Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, NY.
  60. Van Soest, P. J., J. 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.
  61. Wachira, A. M., L. A. Sinclair., R. G. Wilkinson., M. Enser., J. D. Wood, and A. V. Fisher. 2002. Effects of dietary fat source and breed on the carcass composition, n-3 polyunsaturated fatty acid and conjugated linoleic acid content of sheep meat and adipose tissue. *British Journal of Nutrition*, 88: 697-709.
  62. Ward, A. T., K. M. Wittenberg, and R. Przybylski. 2002. Bovine milk fatty acid profiles produced by feeding diets containiding solin, flax and canola. *Journal of Dairy Science*, 85: 1191-1196.



## Evaluation of chemical composition, gas production and digestibility of *Lathyrus sativus* grain treated using different heat-processing by *in vitro* and *in situ* experiments

Hossein Rastpoor<sup>1</sup>, Alireza Vakili<sup>2\*</sup>, Abbasali Naserian<sup>3</sup>, Mohsen Danesh Mesgaran<sup>3</sup>,  
Reza Valizade<sup>3</sup>

Received: 18-04-2020

Revised: 14-07-2021

Accepted: 19-07-2021

Available Online: 07-06-2022

### How to cite this article:

Rastpoor, H., A. Vakili, A. Naserian, M. Danesh Mesgaran and R. Valizadeh. 2022. Evaluation of chemical composition, gas production and digestibility of *Lathyrus sativus* grain treated using different heat-processing by *in vitro* and *in situ* experiments. Iranian Journal of Animal Science Research 14(1):27-41.  
[DOI:10.22067/ijasr.2021.38285.0](https://doi.org/10.22067/ijasr.2021.38285.0)

**Introduction** Providing the energy and protein in the diet of livestock, due to the high cost of its sources makes the highest cost of feed. Therefore, new and cheap domestic resources should be used in order to reduce costs and independency. *Lathyrus sativus* as a source of protein has been used in ruminants' diet and because of similar amino acids profile to soybean meal can be used instead of soybean meal in ruminants' diet. The protein content of *Lathyrus sativus* is 25.6-35.9 % of its dry matter. It is also reported that heat-processed soybeans are used as an important source of protein and energy in ruminants because heating reduces the breakdown of protein in the rumen and the passage of essential amino acids into the intestine (5). On the other hand, the reduction of anti-nutrients due to heat treatment, especially extrusion in soybean, has been reported in several studies. There is limited information about the effect of heat-processing on the nutritional value of *Lathyrus sativus*. The purpose of this experiment was to investigate the chemical composition, anti-nutrients, extent and rate of gas production and protein digestibility of *Lathyrus sativus* treated with different heat-processing by *in vitro* and *in situ* experiments.

**Materials and methods** The *Lathyrus sativus* seed were processed by 1) Autoclave at 120 °C, 2) Oven at 100 °C, 3) Extruding at 110 °C, 4) Roasting on direct heat, 5) Furnace at 120 °C and 6) Furnace at 200 °C. Chemical composition including dry matter, organic matter, crude protein, crude fat, calcium and phosphorus was performed using AOAC methods. Tannin and total phenolic compounds were measured by Folin and Ciocalteu (12). Extent and rate of gas production were done based on Menk and Stingas. Mobile nylon bag technique was applied for determination of protein digestibility in the rumen and intestine. Data were analyzed using GLM procedure of SAS using a completely randomized design with 5 replications.

**Results and Discussion** Dry matter, ash, crude protein, crude energy, crude fat, calcium and phosphorus were not affected by different processing methods ( $P < 0.05$ ). However the amount of acid detergent fiber (ADF) and natural detergent fiber (NDF) with heat processing methods was significantly lower than non-processing method ( $P < 0.05$ ). Autoclaving and extrusion of *Lathyrus sativus* reduced the amount of phenolic compounds compared to the control ( $P < 0.05$ ). In addition, the furnace at 120 °C and roasting even more than autoclaving and extrusion reduced the total phenolic compounds. The amount of gas production during various hours and its rate were significantly affected by the different processing procedures ( $P < 0.05$ ). At the initial hours (2 and 8 h) of incubation, the amount of gas produced in *Lathyrus sativus* unprocessed and processed in oven 100 °C was higher than

1-PhD student in Animal Nutrition, International Campus, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

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

3- Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

\*Corresponding Author Email: [savakili@um.ac.ir](mailto:savakili@um.ac.ir)

autoclave 120 °C, furnace 120 °C, and roasted seeds. Extruded seeds were reduced gas production in initial hours than any other processed methods except those put in the furnace 200 °C. The *Lathyrus sativus* placed in 200 °C furnace severely diminished gas production of the incubation at primary hours. The extruded *Lathyrus sativus* showed higher gas at the 12<sup>th</sup> and 24<sup>th</sup> hours of incubation compared with primary hours. This trend continued up to the 96<sup>th</sup> hour of incubation. The results of gas production had conformity with rumen and intestine digestibility. It seems that the steam pressure in extrude and autoclave process can influence *Lathyrus sativus* fermentation. This effect in extrude process was higher than autoclave. The rumen and intestine dry matter and protein digestibility in extruded process was higher than the others. *Lathyrus sativus* with no process, at oven 100 °C and furnace 200 °C were shown equal dry matter and protein digestibility. The findings of the present research revealed that extruding, autoclaving and roasting procedures lead to increase of dry matter through decreasing water content and that it had no significant effect on other chemical composition. Also, the findings showed that place of *Lathyrus sativus* in furnace 200 °C decreased ADF and NDF *Lathyrus sativus* which might be due to the removal of some of the shells in this processing. Consequently, the process of extruding, autoclaving and roasting reduced the rapid part degradation of dry matter and protein of *Lathyrus sativus* and caused the slow part of degradation to increase, which is in consistent to other researcher about increasing of intestine protein digestibility in extruded and roasted soybean seed.

**Conclusion** Extruded, autoclaved and roasted *Lathyrus sativus* with the reduction of the amount of ruminal disappearance and the increase of the post ruminal digestibility of dry matter and crude protein transferred the place of the digestion of protein from the rumen to the small intestines. In furnace 200 °C, due to the intense denaturation of the protein or the formation of a protein-carbohydrate complex, the digestibility of dry matter and crude protein of *Lathyrus sativus* in the rumen and intestine was reduced. In addition, the results of our studies in confirming the studies of others reduced the concentration of total tannin and total phenolic compounds in *Lathyrus sativus*.

**Key words:** Gas production, Heat processing, *Lathyrus sativus*, Rumen and intestine digestibility.



## مقاله پژوهشی

# بررسی ترکیب شیمیایی، تولید گاز و قابلیت هضم دانه خلر فرآوری شده با روش‌های مختلف حرارتی در شرایط *in situ* و *in vitro*

حسین راست پور<sup>۱</sup>، علیرضا وکیلی<sup>۲\*</sup>، عباسعلی ناصریان<sup>۳</sup>، محسن دانش مسگران<sup>۳</sup>، رضا ولی زاده<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۳۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۴/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۸

راست پور، ح.، ع. وکیلی، ع. ناصریان، م. دانش مسگران، و ر. ولی زاده. ۱۴۰۱. بررسی ترکیب شیمیایی، تولید گاز و قابلیت هضم دانه خلر فرآوری شده با روش‌های مختلف حرارتی در شرایط *in situ* و *in vitro*. پژوهشهای علوم دامی ایران. ۱۴(۱): ۲۷-۴۱.

## چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثرات فرآوری دانه خلر با روش‌های مختلف حرارتی بر ترکیب شیمیایی، فرآیندهای تولید گاز و قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل (۱) دانه خلر فرآوری نشده (شاهد)، (۲) اتوکلاو شده در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد، (۳) تونل حرارتی گذاری شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، (۴) تونل حرارتی گذاری شده در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد، (۵) آون گذاری در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد، (۶) اکستروود شده در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و (۷) برشته شده در دمای ۱۸۰ درجه بودند. نتایج نشان داد که ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام، انرژی خام، چربی خام، کلسیم و فسفر تحت تأثیر روش‌های مختلف فرآوری قرار نگرفت ( $P < 0.05$ ). اما مقدار ADF و NDF با روش‌های فرآوری حرارتی به طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود ( $P < 0.05$ ). اتوکلاو کردن، اکستروود کردن، برشته کردن و تونل حرارتی گذاری در هر دو دمای ۱۲۰ و ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش غلظت تانن و کل ترکیبات فنلی در دانه خلر گردید ( $P < 0.05$ ). فرآیندهای اکستروود کردن در ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد، اتوکلاو کردن در ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و برشته کردن منجر به کاهش میزان تولید گاز در ساعات اولیه انکوباسیون و کاهش هضم پروتئین دانه خلر در شکمبه شدند، اما افزایش نرخ و میزان تولید گاز در ساعات پایان انکوباسیون و افزایش قابلیت هضم روده‌ای و کل دستگاه گوارش برای پروتئین خام اتفاق افتاد ( $P < 0.05$ ) که نشان دهنده تغییر مکان هضم پروتئین از شکمبه به سمت روده باریک بود. در عمل آوری درون تونل حرارتی با دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به دلیل دنا توره شدن شدید پروتئین یا تشکیل کمپلکس پروتئین-کربوهیدرات، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام دانه خلر در شکمبه و روده کاهش یافت.

**واژه‌های کلیدی:** تولید گاز، خلر، فرآوری حرارتی، قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای

## مقدمه

روش‌های مناسب برای حفظ و یا بهبود تولیدات دامی ضروری می‌باشد. تأمین انرژی و پروتئین در جیره‌ی دام‌ها به دلیل گران بودن منابع تأمین کننده‌ی آن، بیشترین هزینه خوراک مصرفی را شامل می‌شود، بنابراین باید دنبال منابع جدید داخلی و ارزان قیمت در جهت کاهش هزینه‌ها و

در کشور ایران به دلیل افزایش نوسانات قیمت نهاده‌های دامی و بروز مشکلاتی چون خشکسالی‌های متناوب و تحریم‌ها، استفاده از

۱- دانشجوی دکتری تغذیه دام پردیس بین الملل، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۲- دانشیار تغذیه دام گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۳- استاد تغذیه دام گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

(Email: [savakili@um.ac.ir](mailto:savakili@um.ac.ir))

\*- نویسنده مسئول:

عدم وابستگی بود. دانه گیاه خلر (*Lathyrus sativus*) یکی از بقولات دانه‌ای و منبع خوب پروتئین می‌باشد که می‌تواند جایگزین مناسب کنجاله سویا شود. این گیاه در شرایط آب و هوایی خشک و در خاکهای قلیایی به خوبی رشد می‌کند (Amirabadi et al, 2010) و در مناطق غرب و شمال غرب ایران برای تولید دانه جهت مصارف انسانی و همچنین تهیه علوفه دام کشت می‌شود (Razm-Azar et al, 2012). دانه خلر به عنوان منبع پروتئین در جیره نشخوارکنندگان در آزمایشات متعدد مورد بررسی قرار گرفته است (Amirabadi et al, 2010; Razm-Azar et al, 2012). میزان پروتئین آن ۲۵/۶ تا ۳۵/۹ درصد، خاکستر ۲/۸ تا ۳/۵ درصد، چربی ۰/۷ تا ۱/۷ درصد و میزان فیبر ۵/۳ تا ۵/۹ درصد گزارش شده است (Yan, Z. Y et al, 2006). این دانه سرشار از اسید آمینه لیزین می‌باشد، اما مقدار اسیدهای آمینه گوگردار (متیونین، سیستئین و تریپتوفان) آن محدودیت دارد (Gatel, 1994; Hanbury et al, 2010). ترکیب مواد معدنی دانه خلر تا حدودی مشابه گندم و مقدار منیزیم و سلنیوم آن از گندم و کنجاله سویا کمتر است (Low et al, 1990). بر اساس مطالعات، دانه خلر به عنوان یک منبع پروتئین قابل استفاده در جیره دام مطرح است و بدلیل شباهت پروفایل اسیدهای آمینه آن با کنجاله سویا می‌تواند جایگزین مناسبی برای سویا در جیره دام باشد (Ramachandran and Ray, 2008).

نشان داده شده است که فرآوری حرارتی کنجاله سویا سبب افزایش میزان عبور اسیدهای آمینه ضروری به روده در گاوهای شیری می‌شود (Noerooz Devarjan et al, 2017). چوپنارد و همکاران (Chouinard et al, 1997) نیز گزارش کردند که دانه سویا فرآوری شده با حرارت به عنوان یکی از منابع مهم حاوی پروتئین عبوری و انرژی در نشخوارکنندگان استفاده می‌شود، زیرا حرارت دادن سبب کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه و عبور اسیدهای آمینه ضروری به روده می‌شود. از بین روش‌های مختلف فرآوری حرارتی، اکستروژن کردن به عنوان یکی از بهترین روش‌ها برای بهبود ارزش تغذیه‌ای سویا مطرح است (Chouinard et al, 1997). نشان داده شده است که فرآیند اکستروژن سبب تخریب گلوبول‌های چربی درون دانه شده و لذا منجر به رهایی سریعتر روغن در محیط شکمبه می‌شود (Reddy et al, 1993) و این امر به طور بالقوه تجزیه پروتئین در شکمبه را کاهش می‌دهد (گیالونگو و همکاران، ۲۰۱۵). طحان و همکاران (Tahan et al, 2012) در آزمایش پرتوتابی کنجاله سویا، کنجاله کلزا و دانه خلر نشان دادند که پرتوتابی در مقادیر کمتر از ۱۵۰ کیلوگرمی باعث کاهش بخش سریع تجزیه و افزایش بخش کند تجزیه در پروتئین خام کنجاله سویا شد. قابلیت هضم پس از شکمبه‌ای و قابلیت هضم کل دستگاه گوارش

پروتئین خام دانه خلر در هر سه مقدار پرتو تابی شده با مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرمی نسبت به دانه خلر پرتو تابی نشده افزایش یافت و مناسبترین مقدار پرتوتابی برای بهبود کیفیت پروتئین ۱۰۰ کیلوگرمی بود. به گفته این محققین پرتوتابی الکترونی بر هضم پذیری پروتئین در کنجاله سویا، کنجاله کلزا و دانه خلر اثرات متفاوتی داشت، ولی در مجموع به ویژه در مورد دانه خلر باعث بهبود کیفیت پروتئین شد. با این وجود، مطالعات در زمینه اثر فرآوری حرارتی بر میزان تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و قابلیت هضم روده‌ای پروتئین در دانه خلر بسیار محدود می‌باشد. از طرف دیگر کاهش مواد ضدتغذیه‌ای در اثر فرآوری حرارتی به خصوص اکستروژن کردن در سویا در مطالعات متعددی گزارش شده است (Hanbury et al, 2010; Riasi et al, 2014; Tadellet al, 2003). ترکیبات ضدتغذیه‌ای موجود در خلر شامل یک آمینواسید غیر پروتئینی ایجادکننده لاتیروسم<sup>۱</sup> به نام ODAP (ال-اگزالیل دی آمینوپروپیونیک اسید) و ترکیبات پلی فنولیک به نام تانن می‌باشند (Riasi et al, 2014) که می‌توانند بر میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام تاثیرگذار باشند (Mccann et al, 2006). بخشی از ترکیبات پلی فنولیک توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه تجزیه می‌شوند، اما به نظر می‌رسد فرآوری حرارتی سبب تخریب ترکیبات ضد تغذیه‌ای موجود در دانه خلر شود و اطلاعات در این زمینه محدود می‌باشد. با توجه به اهمیت استفاده از دانه خلر به عنوان یک منبع خوراکی جایگزین سویا به عنوان یک خوراک رایج و گران قیمت هدف از انجام این آزمایش بررسی ترکیب شیمیایی، مواد ضدتغذیه‌ای، میزان و نرخ تولید گاز و قابلیت هضم شکمبه‌ای، روده‌ای و کل دستگاه گوارش در دانه خلر فرآوری شده به روش‌های مختلف فرآوری شامل ۱) اتوکلاو کردن در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد، ۲) قرار دادن در آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد، ۳) اکستروژن کردن در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد، ۴) برشته کردن روی حرارت مستقیم، ۵) تونل حرارتی در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد و ۶) تونل حرارتی در دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد بود.

## مواد و روش‌ها

### تهیه نمونه

واریت *Lathyrus sativus L* دانه خلر از کرمانشاه تهیه شد.

### تیمارهای آزمایش

تیمارهای آزمایشی شامل ۱) دانه خلر بدون فرآوری (شاهد)، ۲) خلر اتوکلاو شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد، ۳) خلر حرارت دیده در تونل حرارتی با دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد، ۴) خلر حرارت دیده

۱- بیماری است که در اثر مصرف خانواده بقولات به خصوص نوعی نخود هندی ایجاد می‌شود که باعث جراحات بافتی، به تاخیر افتادن تکامل جنسی و درجات مختلفی از فلجی می‌شود که در برخی مواقع با مبتلا شدن حنجره، کشنده است.



تجزیه تقریبی دانه خلر فرآوری شده با روش‌های مختلف شامل ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام، کلسیم و فسفر با استفاده از روش AOAC (1995) انجام شد. ماده خشک درون آون (مدل Memmer854 شرکت Schwabch کشور آلمان) با درجه حرارت  $5 \pm 55$  درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد. خاکستر در کوره الکتریکی (مدل Hot Spot Gallen Kamp کشور انگلستان) به مدت ۸ ساعت با دمای ۴۵۰ درجه سانتیگراد تعیین شد. برای تعیین درصد پروتئین خام نمونه آزمایشی از روش ماکروکج‌دال (با دستگاه هضم مدل ۱۰۱۵ و دستگاه تیتراسیون مدل ۱۰۳۰ شرکت tecator کشور سوئد) استفاده گردید. میزان چربی خام (عصاره اتری) نمونه‌ها با استفاده از روش سوکسله و دستگاه (Tecato Soxetc) اندازه‌گیری شد. میزان فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) و فیبر نامحلول در شوینده خنثی (NDF) با استفاده از روش ون سوست و همکاران (Van Soest et al, 1997) و توسط دستگاه (Fibertec System Tecator 1010, Sweden) اندازه‌گیری گردید. انرژی خام نمونه‌ها با استفاده از دستگاه بمب کالری متر مدل 1266 PARR ساخت کشور آمریکا تعیین شد.

مقدار کل ترکیبات فنولی بر اساس روش فولین شیکالتو (Folin and Ciocalteu) اندازه‌گیری شد (Makkar, H. P. S. 2005). مقدار تانن کل از طریق محاسبه میزان اختلاف ترکیبات فنولی قبل و بعد از واکنش با پلی‌وینیل‌پیرولیدون (PVP) به دست آمد. با استفاده از محلول اسید تانیک در غلظت‌های مختلف و سپس قرائت در در طول موج ۷۲۵ نانومتر، منحنی استاندارد رسم شده و سپس مقدار ترکیبات فنولی نمونه محاسبه گردید.

### پتانسیل و نرخ لحظه‌ای تولید گاز

آزمایش تولید گاز بر اساس روش منک و استینگاس (Menke and Steingass, 1988) انجام شد. مقدار ۲۰۰ میلی گرم از هر نمونه خوراک آسیاب شده با الک دارای قطر منافذ ۱ میلی‌متری توزین و به داخل بطری‌های شیشه‌ای ۱۲۵ میلی‌لیتری منتقل گردید، برای هر نمونه خوراک ۵ تکرار در نظر گرفته شد و آزمایش در دو ران تکرار شد. مایع شکمبه ۲ ساعت بعد از خوراک دهی صبح، از ۳ رأس گاو شیری فیستولا گذاری شده در آزمایشگاه متابولیسمی - تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی که به مدت ۲ هفته از جیره‌ای ثابت با مقدار پروتئین ۱۶ درصد تغذیه شدند، جمع آوری شد. گاو‌ها با استفاده از جیره حاوی نسبت علوفه به کنسانتره ۵۰ به ۵۰ و در طی دو وعده تغذیه شدند و به طور آزاد به آب دسترسی داشتند. مایع شکمبه توسط پارچه متقالی چهار لایه صاف شده و داخل فلاسک ریخته و سریعاً به آزمایشگاه منتقل و در حمام بن ماری با دمای ۳۹ درجه‌ی سانتیگراد تحت جریان گاز دی اکسید کربن قرار گرفت. قبل از انتقال به داخل

در تونل حرارتی با دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد، ۵) خلر حرارت دیده در آون با دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد، ۶) خلر اکسترود در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و ۷) خلر برشته شده در ظرف چدن در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد (دماسنج صنعتی) بودند.

### فرآوری دانه خلر

در فرآیند اتوکلاو از دستگاه اتوکلاو ریچان طب با ظرفیت ۷۵ لیتر استفاده شد و مقدار ۲ کیلوگرم نمونه داخل دستگاه گذاشته شد، آب درون اتوکلاو به اندازه‌ای پر شد که ۲ تا ۳ سانتیمتر بالاتر از صافی کف اتوکلاو بود و سپس در حرارت ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد. سپس بعد از خروج از اتوکلاو نمونه‌ها خشک و با آسیاب در اندازه ۱ و ۲ میلی‌متر آسیاب شدند و درون ظروف مخصوص نمونه گیری تا زمان انجام آنالیزهای مورد نظر نگهداری شد.

در فرآوری با استفاده از تونل حرارتی مقدار ۱ کیلوگرم از دانه خلر داخل ظرف آلومینیومی قرار گرفته و به مدت ۲۰ دقیقه در تونل حرارتی الکتریکی با دمای ۱۲۰ و ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب برای تیمار ۳ و ۴ حرارت داده شد. سپس بعد از سرد شدن با آسیاب در اندازه ۱ و ۲ میلی‌متر آسیاب شدند. لازم به ذکر است در فرآوری خلر توسط تونل حرارتی با دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد تغییر رنگ دانه به سمت قهوه ای شدن اتفاق افتاد.

به منظور فرآوری در آون، مقدار ۱ کیلوگرم دانه خلر داخل ظرف آلومینیومی منتقل و سپس به درون آون با دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد و سپس از آون خارج و سرد شدند. در فرآیند اکسترود، ابتدا دانه خلر بوسیله آسیاب با توری ۲ میلی‌متر آسیاب شد. سپس رطوبت محصول با افزودن آب و مخلوط کردن آن به ۲۰ درصد افزایش یافت. با استفاده از دستگاه اکسترودر (مدل Pasen, PDXY85, China) مواد آسیاب شده در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد در طی عبور از میان شافت و با فشار بالای تا ۸۰ بار پخته شدند. دمای رسیدن مواد به دای تا ۱۷۰ درجه سانتیگراد افزایش یافت و سپس به دلیل عبور از میان روزنه‌های دای و روبرو شدن با دما و فشار پایین اتمسفر عمل اکسپند شدن یا پفکی شدن اتفاق افتاد. جهت برشته کردن خلر، مقدار یک کیلوگرم دانه پس از توزین به داخل ظرف چدن ریخته شد و با حرارت مستقیم گاز شهری فرآوری شد. در حین حرارت دادن دانه خلر مخلوط می‌شد تا حرارت به تمام نقاط دانه برسد و به محض اینکه رنگ کرمی به خود گرفت حرارت قطع شد.

تمامی نمونه‌ها با استفاده از آسیاب با توری ۱ و ۲ میلی‌متر آسیاب شدند و درون ظروف مخصوص نمونه‌گیری تا زمان انجام آزمایش‌های مورد نظر نگهداری شدند.

### ترکیبات شیمیایی و مواد ضدتغذیه‌ای

درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس ۱ گرم از نمونه‌های باقیمانده به‌درون کیسه‌های با ابعاد ۳×۶ سانتیمتر با قطر منافذ ۲۴ میکرومتر ریخته و درب آن با استفاده از حرارت بسته شد. در فواصل هر نیم‌ساعت یک کیسه وارد ابتدای روده باریک شد و سپس کیسه‌ها از مدفوع جمع‌آوری گردید و شسته شده و در آن با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک قرار داده شد. مقدار پروتئین نمونه‌های باقیمانده با استفاده از روش کج‌لدال تعیین گردید. سپس قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای بر اساس فرمول‌های مربوطه محاسبه شد.

معادله (۱)

۱۰۰ \* (وزن ماده خشک نمونه اولیه / (وزن ماده خشک باقیمانده بعد از انکوباسیون شکمبه‌ای - وزن ماده خشک نمونه اولیه) = قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک (%)

معادله (۲)

۱۰۰ \* (مقدار پروتئین نمونه اولیه / (مقدار پروتئین باقیمانده بعد از انکوباسیون شکمبه‌ای - مقدار پروتئین نمونه اولیه) = قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام (%)

معادله (۳)

۱۰۰ \* (وزن ماده خشک نمونه بعد از شکمبه / (وزن ماده خشک باقیمانده بعد از انکوباسیون روده‌ای - وزن ماده خشک نمونه بعد از شکمبه) = قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک (%)

معادله (۴)

۱۰۰ \* (مقدار پروتئین نمونه بعد از شکمبه / (مقدار پروتئین باقیمانده بعد از انکوباسیون روده‌ای - مقدار پروتئین نمونه بعد از شکمبه) = قابلیت هضم روده‌ای پروتئین خام (%)

### تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با رویه GLM و توسط نرم‌افزار SAS (SAS, 2003) نسخه ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مدل آماری مورد استفاده  $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$  بود که در این مدل  $Y_{ij}$  متغیر وابسته،  $\mu$  میانگین کل،  $T_i$  اثر جیره و  $e_{ij}$  اثر باقی‌مانده می‌باشد.

### نتایج و بحث

#### ترکیبات شیمیایی

جدول (۱) ترکیب شیمیایی دانه خلر فرآوری شده با روش‌های مختلف حرارتی را نشان می‌دهد. ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام، انرژی خام، چربی خام، کلسیم و فسفر تحت تأثیر روش‌های مختلف فرآوری قرار نگرفت ( $P < 0.05$ ). اما مقدار ADF و NDF با روش‌های فرآوری حرارتی به طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود ( $P < 0.05$ ). روش تونل حرارتی‌گذاری در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش معنی‌دار در مقدار ADF و NDF نسبت به سایر روش‌های فرآوری

بطری‌های شیشه‌ای، مایع شکمبه با بافر تهیه شده به روش منک و استینگاس (Menke and Steingass, 1988) به نسبت ۱ به ۲ (یک قسمت مایع شکمبه و دو قسمت بافر) مخلوط شد. بطری‌ها قبل از انتقال مایع شکمبه و بافر، جهت جلوگیری از شوک حرارتی، به مدت نیم ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد گرم شدند. در مرحله انتقال بافر و مایع شکمبه از ارلن به بطری‌ها، جریان مداوم گاز دی‌اکسید کربن به ارلن که در بن ماری ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داشت، تزریق شد. درون هر بطری، مقدار ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر افزوده شد و بعد از بی‌هوازی نمودن داخل بطری به وسیله تزریق گاز دی‌اکسید کربن درب بطری‌ها توسط درپوش لاستیکی و پرس آلومینیومی، به طور محکم بسته شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی با منشاء مایع شکمبه و بافر، ۳ بطری بدون اینکه ماده خوراکی ریخته شود و فقط دارای مایع شکمبه و بافر بودند (بلانک)، در نظر گرفته شد. کل شیشه‌ها جهت اندازه‌گیری گاز تولیدی به داخل دستگاه انکوباتور شیکردار (GFL مدل ۳۰۳۳) با ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد، منتقل شد و فشار گاز تولیدی با استفاده از دستگاه فشارسنج در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ انکوباسیون قرائت و سپس حجم گاز تولیدی با تصحیح بر اساس بلانک و به صورت تجمعی از تبدیل فشار به حجم تصحیح شده محاسبه شد. پتانسیل و نرخ تولید گاز با استفاده از معادله ارسکوف و مکدونالد (۱۹۹۷) به شرح زیر محاسبه گردید.

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

که  $p$  گاز تولیدی در زمان  $t$ ،  $a$  گاز تولیدی از بخش محلول بر اساس میلی‌متر،  $b$  گاز تولیدی از بخش غیر قابل حل بر حسب میلی‌متر،  $c$  ثابت نرخ تولید گاز،  $a+b$  پتانسیل گاز تولیدی بر حسب میلی‌متر و  $t$  زمان انکوباسیون بر حسب ساعت می‌باشند.

#### قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام

برای تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای، روده‌ای و کل دستگاه گوارش در دانه خلر فرآوری شده به روش‌های مختلف، از دو رأس گاو نر هلشتاین مجهز به فیستولای شکمبه و کانولای روده‌ای  $T$  شکل و با استفاده از کیسه‌های نایلونی متحرک (*in situ mobile bag*) بر اساس روش مهرز و اورسکوف انجام شد (۱۴). حیوانات جیره‌ای حاوی ۵/۳ کیلوگرم یونجه، ۳/۳ کیلوگرم سیلاژ ذرت، ۲/۶ کیلوگرم کنسانتره بر اساس ماده خشک طی دو وعده غذایی ساعات ۸ و ۱۸ دریافت کردند. جیره طوری تنظیم شده که سطح پروتئین آن ۱۷ درصد بود. نمونه‌های آزمایشی با آسیاب دارای مش ۲ میلی‌متری خرد شده و ۵ گرم در ۱۶ تکرار برای هر نمونه درون کیسه‌های پلی‌استری با ابعاد ۱۷×۹ سانتیمتر با قطر منافذ ۵۰ میکرومتر به مدت ۱۲ ساعت درون شکمبه انکوبه شده و پس از خروج توسط ماشین لباسشویی شسته شده و در دمای ۶۰

سویا کمتر بود، اما مقادیر ADF، NDF و خاکستر دانه خلر مشابه با دانه سویا بود. خراسانی و همکاران ([Khorasani et al, 2020](#)) نشان دادند که مقدار پروتئین، انرژی، چربی و کلسیم و فسفر در دانه سویای خام، برشته شده و اکستروود شده اختلاف معنی‌داری نداشتند. همچنین خراسانی و همکاران ([Khorasani et al, 2020](#)) گزارش کردند که مقادیر ADF و NDF تحت تأثیر فرآیند اکستروود و برشته شدن دانه سویا قرار نگرفت، در حالیکه در مطالعه حاضر شاخص‌های فیبری دانه خلر با فرآوری حرارتی نسبت به دانه خلر خام کاهش معنی‌داری داشت.

حرارتی شد که به احتمال زیاد به دلیل سوختن دیواره سلولی دانه خلر در دمای بالا است که منجر به کاهش مقدار سلولز و همی سلولز شده است. میزان ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام و چربی خام در دانه خلر در مطالعه حاضر با مطالعات رزم آذر و همکاران ([Razm-Azar et al, 2012](#)) همخوانی داشت، اما مقادیر ADF و NDF دانه خلر در مطالعه حاضر بیشتر از مطالعه آن محققین بدست آمد. آلتور و همکاران (۱۹۹۴) گزارش کردند که میانگین پروتئین خام دانه خلر ۳۲/۵ درصد بود و تفاوت بین مطالعات را به ژنتیک واریته دانه خلر نسبت دادند. همچنین این محققین بیان کردند که پروتئین دانه خلر نسبت به دانه

جدول ۱- ترکیب شیمیایی دانه خلر فرآوری شده با روش‌های مختلف حرارتی

Table 1- Chemical composition of *Lathyrus sativus* with different thermal processing methods

| روش‌های مختلف<br>فرآوری<br>Different<br>processing<br>methods | ماده خشک<br>(%)<br>Dry<br>matter<br>(%) | خاکستر<br>(%)<br>Ash<br>(%) | پروتئین<br>(%)<br>Protein<br>(%) | انرژی خام<br>(کیلوکالری)<br>Gross<br>Energy<br>(kcal) | چربی<br>(%)<br>Fat<br>(%) | الیاف نامحلول<br>در شوینده<br>اسیدی (%)<br>ADF (%) | الیاف نامحلول<br>در شوینده<br>خنثی (%)<br>NDF (%) | کلسیم (%)<br>Calcium<br>(%) | فسفر (%)<br>Phosphorus<br>(%) |
|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| بدون فرآوری<br>No processing                                  | 92.33                                   | 3.65                        | 27.44                            | 3770                                                  | 2.96                      | 35.44 <sup>a</sup>                                 | 48.13 <sup>a</sup>                                | 0.19                        | 0.34                          |
| اتوکلاو ۱۲۰ درجه<br>Autoclaved at<br>120 °C                   | 93                                      | 2.80                        | 26.81                            | 3828                                                  | 2.07                      | 34.10 <sup>b</sup>                                 | 42.33 <sup>b</sup>                                | 0.20                        | 0.30                          |
| اکستروود ۱۱۰ درجه<br>Extruded at 110<br>°C                    | 94.21                                   | 3.20                        | 27.12                            | 3984                                                  | 2.77                      | 34.21 <sup>b</sup>                                 | 43.07 <sup>b</sup>                                | 0.30                        | 0.31                          |
| آون ۱۰۰ درجه<br>Oven drying at<br>100°C                       | 97.66                                   | 2.97                        | 26.72                            | 3730                                                  | 2.33                      | 34.38 <sup>b</sup>                                 | 41.83 <sup>bc</sup>                               | 0.30                        | 0.30                          |
| تول حرارتی ۱۲۰ درجه<br>Furnaced at 120<br>°C                  | 97.92                                   | 2.97                        | 26.68                            | 3794                                                  | 2.38                      | 33.42 <sup>b</sup>                                 | 37.91 <sup>c</sup>                                | 0.20                        | 0.32                          |
| تول حرارتی ۲۰۰ درجه<br>Furnace at 200<br>°C                   | 99.12                                   | 2.73                        | 26.89                            | 4045                                                  | 2.47                      | 27.45 <sup>c</sup>                                 | 29.41 <sup>d</sup>                                | 0.20                        | 0.32                          |
| برشته شده<br>Roasted                                          | 99.1                                    | 3.03                        | 26.94                            | 3857                                                  | 2.81                      | 31.26 <sup>bc</sup>                                | 32.37 <sup>c</sup>                                | 0.30                        | 0.35                          |
| خطای استاندارد<br>SEM                                         | 2.114                                   | 1.147                       | 1.098                            | 210                                                   | 0.685                     | 0.139                                              | 0.121                                             | 0.012                       | 0.028                         |
| سطح معنی‌داری<br>P-Value                                      | 0.219                                   | 0.487                       | 0.089                            | 0.198                                                 | 0.296                     | 0.028                                              | 0.019                                             | 0.419                       | 0.327                         |

<sup>a,b</sup> حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Means within same column with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

همکاران ([Khorasani et al, 2020](#)) نشان داد که فرآوری حرارتی اکستروود و برشته کردن سبب کاهش مقدار نیتروژن غیر پروتئینی و

در مطالعه حاضر بخش‌های نیتروژنی دانه خلر هنگام فرآوری با روش‌های مختلف حرارتی اندازه‌گیری نشد، اما مطالعات خراسانی و

افزایش میزان پروتئین حقیقی در دانه سویا گردید که نشان دهنده افزایش میزان پروتئین عبوری هنگام فرآوری دانه سویا با حرارت است. فتاح نیا و همکاران ([Fatahnia et al, 2014](#)) نشان دادند که حرارت دادن سویا بر مقدار ماده آلی اثری نداشت، اما فرآوری حرارتی سبب افزایش درصد ماده خشک، پروتئین خام و عصاره اتری دانه سویا در مقایسه با سویای خام شد و به گزارش آنها تفاوت در محتوای پروتئین خام و ماده خشک میتواند به ترتیب بیانگر تفاوت در روش فرآوری و اثر حرارت بر تبخیر آب موجود در دانه سویا باشد. مقادیر کلسیم و فسفر دانه خمر در مطالعه حاضر نسبت به مطالعه ریاسی و همکاران ([Riasi et al, 2014](#)) کمتر بود. طحان و همکاران ([Tahan et al, 2012](#)) اثر پرتوتابی الکترونی بر فراسنجه‌های تجزیه پذیری و قابلیت هضم شکمبه‌ای و پس از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام کنجاله سویا، کنجاله کلزا و دانه خمر با مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم بررسی کردند. پرتوتابی بر مقدار ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر مواد خوراکی اثری نداشت.

دانه خمر فرآوری نشده و فرآوری شده در آون ۱۰۰ درجه سانتیگراد تفاوتی در کل ترکیبات فنلی و مقدار تانن نشان ندادند ( $P > 0.05$ )، اما اتوکلاو و اکستروود کردن به طور مشابهی سبب کاهش مقدار ترکیبات فنلی موجود در دانه خمر نسبت به شاهد شدند ( $P < 0.05$ ). همچنین روش تونل حرارتی در ۱۲۰ درجه سانتیگراد و برشته کردن حتی بیشتر از اتوکلاو و اکستروود کردن سبب کاهش کل ترکیبات فنلی شد. مقدار تانن دانه خمر با روش‌های اکستروود، تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتیگراد و برشته کردن به طور معنی‌داری کمتر از مقدار تانن موجود در دانه خمر شاهد و فرآوری شده در آون ۱۰۰ درجه سانتیگراد بود ( $P < 0.05$ ). فرآوری دانه خمر در تونل حرارتی با دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد نسبت به سایر روش‌های فرآوری حرارتی مقدار تانن و کل ترکیبات فنولی را به طور معنی‌داری کاهش داد ( $P < 0.05$ ).

دانه خمر دارای برخی از فاکتورهای ضد تغذیه‌ای مانند تانن‌ها، ممانعت کننده پروتئازها، ممانعت کننده آمیلاز و بتا اگزالیل دی آمینو پروپیونیک اسید ( $\beta$ -ODAP) است ([Hanbury et al, 2010](#); [Sharma et al, 2003](#)). گزارش‌هایی وجود دارد که پوسته‌گیری، خیساندن، عمل‌آوری حرارتی و استفاده از مکمل‌های آنزیمی ممکن است اثر ترکیبات ضد تغذیه‌ای دانه خمر را به مقدار زیادی کاهش دهد ([Tadelle et al, 2003](#)). رامانچاندان و رای ([Ramachandran and Ray, 2008](#)) نیز گزارش نمودند که با اتوکلاو کردن دانه خمر میزان تانن آن کاهش یافت، اما عوامل ضد تغذیه‌ای دیگر آن تحت تاثیر این روش عمل‌آوری قرار نگرفت.

نتایج مطالعه حاضر از لحاظ مقدار تانن کل دانه خمر مشابه با

مطالعات ریاسی و همکاران ([Riasi et al, 2014](#)) بود. عمل‌آوری حرارتی در آون با دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱، ۲ و ۳ ساعت در مطالعه آن محققین سبب کاهش مقدار تانن کل و تانن متراکم شد که این نتایج با مطالعه حاضر هنگام فرآوری حرارتی دانه خمر با اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتیگراد، اکستروود ۱۱۰ درجه سانتیگراد، تونل حرارتی در هر دو دمای ۱۲۰ و ۲۰۰ درجه سانتیگراد و برشته کردن همخوانی داشت که سبب کاهش معنی‌دار در غلظت تانن کل و غلظت ترکیبات فنلی کل شد. مقدار تانن متراکم موجود در دانه خمر بین صفر تا ۴/۳۸ درصد گزارش شده است و فرآوری‌های حرارتی سبب غیر فعال شدن تانن‌های متراکم درون دانه می‌شود ([Tahan et al, 2012](#)). شارما و همکاران ([Sharma et al, 2003](#)) نیز نشان دادند که راندمان غذایی به طور معکوسی تحت تاثیر مقدار دانه خمر در جیره جوجه‌های گوشتی قرار می‌گیرد و عمل‌آوری دانه خمر از طریق اتوکلاو کردن به دلیل کاهش عوامل ضدتغذیه‌ای سبب بهبود قابلیت هضم نشاسته، پروتئین خام، فیبر و به دنبال آن بهبود در عملکرد و رشد جوجه‌های گوشتی شده است. اما زید علی نژاد ([ZeidAli-Nejad et al, 2018](#)) نشان داد که استفاده از مقادیر ۲۵ و ۵۰ درصد کنجاله سویای اکستروود شده نسبت به جیره شاهد منجر به کاهش قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام شد ([ZeidAli-Nejad et al, 2018](#)).

در مطالعه حاضر مقدار ODAP اندازه‌گیری نشد، اما ریاسی و همکاران ([Riasi et al, 2014](#)) نشان دادند که غلظت ODAP با اعمال فرآوری حرارتی در دانه خمر کاهش یافت. تادل و همکاران ([Tadelle et al, 2003](#)) نشان دادند که از بین روش‌های مختلف فرآوری حرارتی، برشته کردن سبب کاهش معنی‌دار در غلظت ODAP می‌شود. اگرچه گزارش شده است که باکتری‌های شکمبه سبب تخریب تانن‌ها و ODAP می‌شوند، اما پنگ و بروکر ([Peng and Brooker, 2000](#)) نشان دادند که برخی گونه‌های باکتریایی مثل *Prevotella* و *P. ruminicola* قادر به تجزیه این ترکیبات ضد تغذیه‌ای نیستند و حرارت دادن به عنوان راهکار مفیدی برای کاهش ترکیبات ضد تغذیه‌ای است.

### پتانسیل و نرخ لحظه‌ای تولید گاز

میزان تولید گاز در ساعات مختلف انکوباسیون و ثابت نرخ تولید گاز به طور معنی‌داری تحت تاثیر روش‌های مختلف فرآوری حرارتی قرار گرفت ( $P < 0.05$ ) (جدول ۳). در ساعات اولیه انکوباسیون (۲ و ۸ ساعت) مقدار تولید گاز در دانه خمر فرآوری نشده و فرآوری شده در آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد مشابه و بالاتر از روش اتوکلاو، تونل حرارتی در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد و برشته کردن بود.

جدول ۲- مقدار ترکیبات فنولیک و تانن موجود در دانه خلر فرآوری شده به روش‌های مختلف حرارتی

| روش‌های مختلف فرآوری            | ترکیبات فنلی (%)             | تانن (%)          |
|---------------------------------|------------------------------|-------------------|
| Different processing methods    | Polyphenolic composition (%) | Tannin (%)        |
| بدون فرآوری                     | 0.56 <sup>a</sup>            | 0.34 <sup>a</sup> |
| No processing                   |                              |                   |
| اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد     | 0.44 <sup>b</sup>            | 0.24 <sup>b</sup> |
| Autoclaved at 120 °C            |                              |                   |
| اکستروود ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد    | 0.39 <sup>b</sup>            | 0.14 <sup>c</sup> |
| Extruded at 110 °C              |                              |                   |
| آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد         | 0.56 <sup>a</sup>            | 0.34 <sup>a</sup> |
| Oven drying at 100°C            |                              |                   |
| تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد | 0.27 <sup>c</sup>            | 0.16 <sup>c</sup> |
| Furnaced at 120 °C              |                              |                   |
| تونل حرارتی ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد | 0.18 <sup>d</sup>            | 0.10 <sup>d</sup> |
| Furnace at 200 °C               |                              |                   |
| برشته شده                       |                              |                   |
| Roasted                         | 0.29 <sup>c</sup>            | 0.17 <sup>c</sup> |
| خطای استاندارد میانگین‌ها       |                              |                   |
| SEM                             |                              |                   |
| سطح معنی‌داری                   | 0.101                        | 0.118             |
| P-Value                         | 0.034                        | 0.028             |

<sup>a,b</sup> حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Means within same column with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

نمودند که وقتی از روش تولید گاز برای تعیین خصوصیات هضمی مواد خوراکی استفاده می‌شود، فرض بر این است که گاز تولیدی تحت تأثیر هیچ عامل دیگری جز ترکیبات شیمیایی و یا نوع فرآوری خاص روی خوراک مورد نظر قرار نمی‌گیرد. طی فرآیند تخمیر در شرایط تولید گاز، کربوهیدرات‌ها به اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و گازهای متان و دی اکسید کربن تبدیل می‌شوند. تولید گاز در شرایط عمل‌آوری حرارتی در صورتیکه واکنش میلارد شدید صورت گرفته باشد کاهش می‌یابد. یا در مواردی که خوراک دارای دیواره سلولی قوی‌تری باشد، تولید گاز کاهش می‌یابد. مطالعات رزم‌آذر و همکاران ([Razm-Azar et al, 2012](#)) روی تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت نشان داد که در تمام زمان‌ها به جز ۲ ساعت انکوباسیون، میزان گاز تولید بین دانه خلر، دانه ماشک و گاودانه تفاوت معنی‌داری داشت. دانه گاودانه نسبت به دانه خلر و ماشک میزان و ثابت نرخ تولید گاز بیشتری داشت. صادقی و همکاران (۲۶) گزارش کردند که قابلیت هضم پروتئین خام به روش *in vitro* در ساعات مختلف انکوباسیون ۰، ۸، ۱۲ و ۲۴ به ترتیب برای کنجاله سویای تف داده نشده ۶۸/۲۷، ۸۰/۶۸، ۹۴/۸۱ و ۹۵/۵۳ درصد و برای کنجاله سویای تف داده شده به ترتیب ۶۴/۳۲، ۸۴/۲۸، ۸۹/۰۳ و ۹۲/۲۸ درصد بود. این محققین کاهش قابلیت هضم پروتئین خام در کنجاله سویای برشته شده را به واکنش میلارد بین پروتئین و قندهای موجود در کنجاله سویا نسبت دادند. بنابراین کاهش میزان تولید گاز در ساعات مختلف

اکستروود کردن میزان تولید گاز را در ساعات اولیه انکوباسیون نسبت به همه روش‌های فرآوری به جز تونل حرارتی گذاری در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد کاهش داد ( $P < 0.05$ ). روش تونل حرارتی گذاری در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد تولید گاز در ساعات اولیه انکوباسیون را به شدت کاهش داد ( $P < 0.05$ ). در زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت خلر اکستروود مقدار تولید گاز را نسبت به ساعات اولیه انکوباسیون افزایش داد و تا ساعت ۹۶ انکوباسیون این روند ادامه یافت. همچنین روش اتوکلاو در ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد نیز چنین روندی را نشان داد. اما خلر بدون فرآوری و تونل حرارتی گذاری شده در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد در ساعات انتهایی انکوباسیون مقدار تولید گاز کمتری نسبت به ساعات اولیه انکوباسیون نشان دادند. روش برشته کردن نیز در ساعات ابتدایی انکوباسیون مقدار گاز کمتری تولید کرد، ولی در زمان ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون مقدار تولید گاز را افزایش دادند. روش تونل حرارتی گذاری در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد در همان ساعات اولیه انکوباسیون و تا انتهای زمان انکوباسیون مقدار گاز کمتری نسبت به سایر روش‌ها تولید کرد. نرخ تولید گاز در هر دو روش اکستروود در ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و اتوکلاو در ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد بالاتر از روش‌های بدون فرآوری، آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. نرخ تولید گاز در خلر فرآوری شده با روش تونل حرارتی گذاری در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به سایر روش‌ها به طور معنی‌داری کمتر بود ( $P < 0.05$ ). منک و استینگاس ([Menke and Steingass, 1988](#)) گزارش

انکوباسیون طی فرآوری‌های شدید مثل تونل حرارتی‌گذاری می‌تواند به تشکیل واکنش میلارد قوی بین پروتئین دانه خمر و قندهای احیا کننده ارتباط داشته باشد.

در مطالعه حاضر روش اکستروژن، اتوکلاو و به مقدار کمتر برشته کردن سبب کاهش تخمیر در ساعات اولیه انکوباسیون و افزایش تخمیر از ساعت ۲۴ تا انتهای زمان انکوباسیون شد. این نتایج در راستای مطالعات خراسانی و همکاران (Khorasani et al, 2020) بود که گزارش کردند فرآیندهای حرارتی سبب افزایش بخش کند تجزیه و کاهش در تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا می‌شود. این محققین معتقدند که کاهش میزان هضم دانه سویا در ساعات اولیه انکوباسیون در شکمبه توسط عمل آوری حرارتی (تف دادن و اکستروژن کردن)، با افزایش در قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای جبران گردید که نشان دهنده تغییر مکان هضم پروتئین از شکمبه به سمت روده باریک می‌باشد. پیشنهاد شده است که فرآیندهای حرارتی

مثل تف دادن و اکستروژن کردن راهبرد مناسبی در کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای دانه سویا و تأمین پروتئین عبوری مورد نیاز گاوهای شیری می‌باشد. نوک و همکاران (Nowak et al, 2005) نشان دادند که دمای مورد استفاده جهت عمل آوری حرارتی مهم بوده به طوری که حرارت بیش از حد مطلوب (بالای ۱۶۵ درجه طبق اکثر آزمایشات) اگر چه ممکن است پروتئین سویا را در برابر فعالیت میکروبی در شکمبه محافظت کند، ولی پروتئین غیرقابل هضم در روده تشکیل می‌شود. ثابت نرخ تولید گاز پایین و کاهش میزان گاز تولیدی در تمام ساعات انکوباسیون هنگام فرآوری در تونل حرارتی با دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد گواه بر این ادعا است که دمای بالا سبب ایجاد کمپلکس‌های محکمی از پروتئین در دانه خمر و کاهش تجزیه آن از همان ابتدا تا ساعات پایانی انکوباسیون گردید. نتایج آزمایش تولید گاز در راستای نتایج آزمایش تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای، روده‌ای و کل دستگاه گوارش برای ماده خشک و پروتئین خام بود.

**جدول ۳-** میزان تولید گاز (میلی لیتر در گرم ماده خشک) در زمان‌های مختلف و ثابت نرخ تولید گاز (میلی لیتر در گرم ماده خشک در ساعت) در دانه خمر فرآوری شده با روش‌های مختلف حرارتی

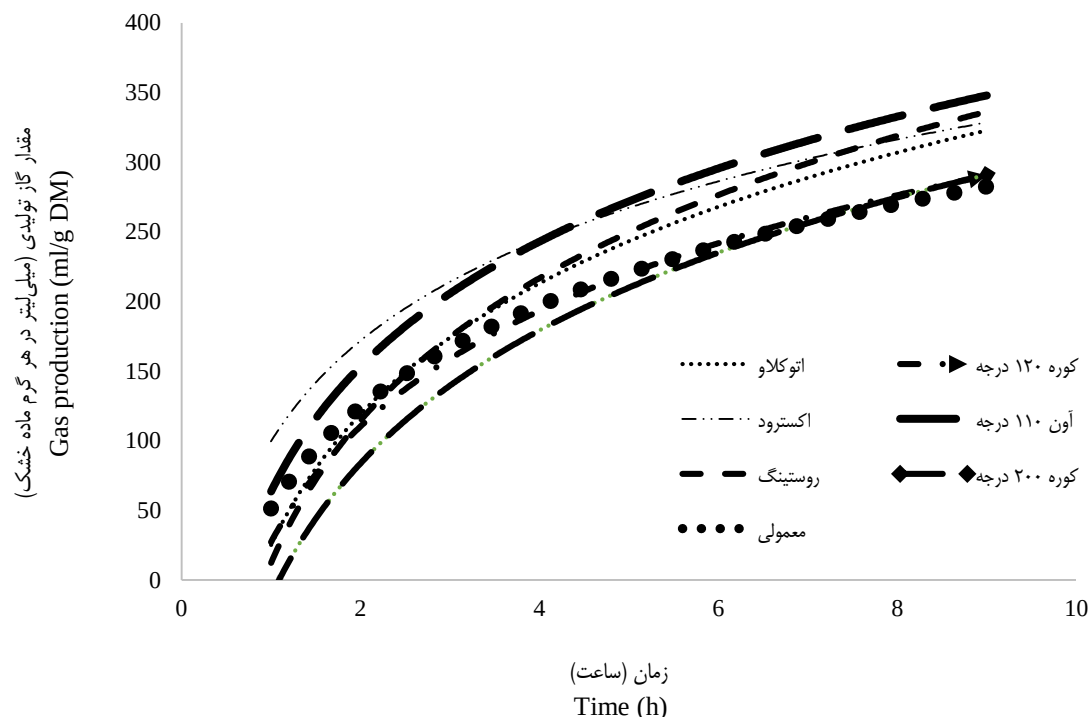
**Table 3-** Gas production (ml/g DM) and rate of gas production (ml/h/g DM) in *Lathyrus sativus* with different thermal processing methods

| روش‌های مختلف فرآوری<br>Different process             | 2                  | 8                   | 12                  | 24                   | 48                   | 72                  | 96                  | نرخ تولید گاز<br>rate of gas<br>production |
|-------------------------------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|--------------------------------------------|
| بدون فرآوری<br>No processing                          | 82.48 <sup>a</sup> | 187.30 <sup>a</sup> | 199.39 <sup>b</sup> | 236.48 <sup>b</sup>  | 269.35 <sup>ab</sup> | 285.11 <sup>b</sup> | 291.79 <sup>b</sup> | 0.08 <sup>b</sup>                          |
| اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد<br>Autoclaved at 120 °C   | 57.76 <sup>b</sup> | 173.37 <sup>b</sup> | 198.86 <sup>b</sup> | 277.86 <sup>ab</sup> | 317.95 <sup>b</sup>  | 332.38 <sup>a</sup> | 340.13 <sup>a</sup> | 0.10 <sup>a</sup>                          |
| اکستروژن ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد<br>Extruded at 110 °C    | 41.19 <sup>c</sup> | 162.40 <sup>c</sup> | 231.10 <sup>a</sup> | 298.13 <sup>a</sup>  | 338.48 <sup>a</sup>  | 337.99 <sup>a</sup> | 349.48 <sup>a</sup> | 0.13 <sup>a</sup>                          |
| آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد<br>Oven drying at 100 °C      | 84.38 <sup>a</sup> | 227.61 <sup>a</sup> | 251.53 <sup>a</sup> | 298.82 <sup>a</sup>  | 333.30 <sup>a</sup>  | 343.98 <sup>a</sup> | 354.67 <sup>a</sup> | 0.08 <sup>b</sup>                          |
| تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد<br>Furnaced at 120 °C | 58.58 <sup>b</sup> | 175.85 <sup>b</sup> | 182.46 <sup>b</sup> | 266.84 <sup>b</sup>  | 286.08 <sup>b</sup>  | 290.09 <sup>b</sup> | 296.24 <sup>b</sup> | 0.09 <sup>b</sup>                          |
| تونل حرارتی ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد<br>Furnace 200 °C     | 20.60 <sup>d</sup> | 127.10 <sup>d</sup> | 147.80 <sup>c</sup> | 229.76 <sup>c</sup>  | 230.69 <sup>c</sup>  | 292.87 <sup>b</sup> | 289.44 <sup>b</sup> | 0.04 <sup>d</sup>                          |
| برشته شده<br>Roasted                                  | 57.5 <sup>b</sup>  | 171.18 <sup>b</sup> | 201.01 <sup>b</sup> | 280.28 <sup>ab</sup> | 339.99 <sup>a</sup>  | 348.16 <sup>a</sup> | 361.79 <sup>a</sup> | 0.06 <sup>c</sup>                          |
| میانگین خطای استاندارد<br>SEM                         | 5.874              | 19.948              | 21.345              | 25.211               | 30.128               | 31.214              | 32.109              | 0.003                                      |
| سطح معنی داری<br>P-Value                              | 0.001              | 0.009               | 0.008               | 0.029                | 0.030                | 0.048               | 0.046               | 0.039                                      |

<sup>a,b</sup> حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Means within same column with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).





شکل ۱- روند تولید گاز دانه خلر فرآوری نشده و فرآوری شده با روش‌های مختلف حرارتی  
Figure 1- Gas production trend in *Lathyrus sativus* with different thermal processing methods

شکمه‌ای پروتئین خام کمتر از دانه خلر فرآوری نشده و فرآوری شده در آون ۱۰۰ درجه مشاهده شد. اما روش اکستروژن کردن و تونل حرارتی‌گذاری در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد مقدار قابلیت هضم شکمه‌ای پروتئین خام را به شدت کاهش داد. قابلیت هضم روده‌ای پروتئین خام در روش اتوکلاو، اکستروژن و برشته کردن بالاتر از سایر روش‌ها بود، اما در روش تونل حرارتی‌گذاری در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد کمتر از سایر روش‌ها بود ( $P < 0.05$ ). قابلیت هضم پروتئین خام در کل دستگاه گوارش در روش اکستروژن بالاتر از همه روش‌ها و در روش تونل حرارتی‌گذاری در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد کمتر از سایر روش‌ها بود.

نواک و همکاران (Nowak et al, 2005) مشاهده کردند فرآیند حرارتی اکستروژن کردن در دمای ۱۵۵ و ۱۶۵ درجه سانتی‌گراد باعث کاهش تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین در شکمه شد. استرن (Stern et al, 1985) نشان داد که فرآوری حرارتی سویا به روش اکستروژن کردن در دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمه را در مقایسه با سویای خام، کاهش داد. استرن (Stern et al, 1985) گزارش کرد که اکستروژن کردن در دمای پایین‌تر (۱۳۲ درجه سانتی‌گراد) جهت کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین مفید نیست، درحالی‌که در مطالعه حاضر دمای اکستروژن ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و دمای خروجی از دای در ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام شد. در مطالعه فتحی نسری (Fathi Nasri, 2005) مطابق نتایج حاضر میزان ناپدید شدن شکمه‌ای ماده خشک و پروتئین

#### قابلیت هضم شکمه‌ای و روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام

همانطور که در جدول (۴) مشاهده می‌شود، قابلیت هضم شکمه‌ای، روده‌ای و کل دستگاه گوارش برای ماده خشک به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر روش‌های مختلف فرآوری قرار گرفت ( $P < 0.05$ ). مقدار قابلیت هضم شکمه‌ای، روده‌ای و کل دستگاه گوارش برای ماده خشک در خلر اکستروژن شده نسبت به سایر روش‌های فرآوری بالاتر بود. قابلیت هضم شکمه‌ای در دانه خلر بدون فرآوری، فرآوری شده در آون و تونل حرارتی ۱۲۰ مشابه بودند. اما روش اتوکلاو در ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و برشته کردن قابلیت هضم شکمه‌ای ماده خشک دانه خلر را نسبت به فرآوری در آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد کاهش داد. تونل حرارتی‌گذاری در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش شدید قابلیت هضم شکمه‌ای در دانه خلر شد. قابلیت هضم روده‌ای در دانه خلر بدون فرآوری و در آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به سایر روش‌ها کمتر بود.

در راستای ماده خشک، قابلیت هضم شکمه‌ای، روده‌ای و کل دستگاه گوارش برای پروتئین خام نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر روش‌های مختلف فرآوری حرارتی قرار گرفت ( $P < 0.05$ ). میزان قابلیت هضم شکمه‌ای در دانه خلر خام و فرآوری شده در آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد بالاتر از سایر روش‌ها بود. با استفاده از تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد مقدار قابلیت هضم

شکمه‌ای پروتئین خام و اسیدهای آمینه دانه سویا شد. همچنین فعالیت بازدارنده تریپسین را قبل و بعد از انکوباسیون شکمه‌ای مورد مطالعه قرار دادند و نتایج آنها نشان داد که تخمیر شکمه‌ای نمیتواند سبب حذف اثرات منفی فعالیت بازدارنده تریپسین بر قابلیت هضم اسیدهای آمینه دانه سویا در روده باریک شود. فرآیندهای تف دادن و اکستروود کردن سبب کاهش در میزان فعالیت بازدارنده تریپسین دانه سویا شد و یکی از دلایل افزایش قابلیت هضم روده‌ای اسیدهای آمینه بود. طحان و همکاران (Tahan et al, 2012) درآزمایش پرتوتابی کنجاله سویا، کنجاله کلزا و دانه خلر نشان دادند که پرتوتابی در مقادیر کمتر از ۱۵۰ کیلوگری باعث کاهش بخش سریع تجزیه و افزایش بخش کند تجزیه در پروتئین خام کنجاله سویا شد. قابلیت هضم پس از شکمه‌ای و قابلیت هضم کل دستگاه گوارش پروتئین خام دانه خلر در هر سه مقدار پرتوتابی شده با مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگری نسبت به دانه خلر پرتوتابی نشده افزایش یافت و مناسبترین مقدار پرتوتابی برای بهبود کیفیت پروتئین ۱۰۰ کیلوگری بود. به گفته این محققین پرتوتابی الکترونی بر هضم پذیری پروتئین در کنجاله سویا، کنجاله کلزا و دانه خلر اثرات متفاوتی داشت، ولی در مجموع به ویژه در مورد دانه خلر باعث بهبود کیفیت پروتئین شد.

خام دانه سویا تحت تأثیر عمل‌آوری تف دادن کاهش یافت. گزارش شده است که اکستروود کردن (Reddy et al, 1993) و برشته کردن (Owens et al, 1997) دانه سویا سبب افزایش جریان پروتئین و اسیدهای آمینه به روده باریک شده و همچنین فعالیت فاکتورهای ضدتغذیه‌ای را کاهش می‌دهد. بهبود در تولید شیر در سویای حرارت دیده شده نسبت به سویای خام مشاهده شده است (Reynal and Broderick, 2005) که به افزایش عبور پروتئین به روده و قابلیت هضم روده‌ای بالاتر پروتئین نسبت داده شده است. گزارشی هست که اکستروود کردن سویا در دمای ۱۱۶، ۱۳۸ و ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد ناپذیری ماده خشک در شکمه را کاهش داده است. اما حرارت بالاتر از ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش هضم روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام شد (Owens et al, 1997). بنچار و مونکولن (Benchaa and Moncoulon, 1993) گزارش کردند که فرآیند اکستروود کردن دانه سویا در دمای ۱۹۵ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمه از ۹۰ به ۵۸ درصد و افزایش قابلیت دسترسی پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمه از ۷۸ به ۹۱ درصد شد. آلدريچ و همکاران (Aldrich et al, 1997) گزارش کردند عمل‌آوری حرارتی تف دادن و اکستروود کردن سبب بهبود در میزان قابلیت هضم بعد از

جدول ۴- قابلیت هضم شکمه‌ای و روده‌ای برای ماده خشک در دانه خلر فرآوری شده به روش‌های مختلف حرارتی (بر حسب درصد)

Table 4- Digestibility of Rumen and intestine for dry matter in *Lathyrus sativus* with different thermal processing methods (based on percentage)

| روش‌های مختلف فرآوری<br>Different process             | قابلیت هضم شکمه‌ای<br>Ruminal digestibility | قابلیت هضم روده‌ای<br>Intestinal digestibility |
|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------------------|
| بدون فرآوری<br>No processing                          | 61.02 <sup>b</sup>                          | 34.27 <sup>c</sup>                             |
| اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد<br>Autoclaved at 120 °C   | 51.09 <sup>c</sup>                          | 57.04 <sup>a</sup>                             |
| اکستروود ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد<br>Extruded at 110 °C    | 69.93 <sup>a</sup>                          | 55.94 <sup>a</sup>                             |
| آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد<br>Oven drying at 100 °C      | 58.89 <sup>b</sup>                          | 30.80 <sup>c</sup>                             |
| تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد<br>Furnaced at 120 °C | 51.13 <sup>b</sup>                          | 50.92 <sup>ab</sup>                            |
| تونل حرارتی ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد<br>Furnace 200 °C     | 40.39 <sup>d</sup>                          | 41.29 <sup>b</sup>                             |
| برشته شده<br>Roasted                                  | 46.75 <sup>c</sup>                          | 59.34 <sup>a</sup>                             |
| میانگین خطای استاندارد<br>SEM                         | 1.768                                       | 1.996                                          |
| سطح معنی داری<br>P-Value                              | <0.0001                                     | <0.0001                                        |

<sup>a,b</sup> حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Means within same column with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).



**جدول ۵-** قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای برای پروتئین خام در دانه خلر فرآوری شده به روش‌های حرارتی (بر حسب درصد)

**Table 5-** Digestibility of Rumen and intestine for protein in *Lathyrus sativus* with different thermal processing methods (based on percentage)

| روش‌های مختلف فرآوری<br>Different process             | قابلیت هضم شکمبه‌ای<br>Rumen digestibility | قابلیت هضم روده‌ای<br>Intestine digestibility |
|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| بدون فرآوری<br>No processing                          | 82.01 <sup>a</sup>                         | 70.76 <sup>b</sup>                            |
| اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد<br>Autoclaved at 120 °C   | 54.16 <sup>c</sup>                         | 79.96 <sup>a</sup>                            |
| اکستروود ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد<br>Extruded at 110 °C    | 42.22 <sup>e</sup>                         | 83.90 <sup>a</sup>                            |
| آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد<br>Oven drying at 100°C       | 82.17 <sup>a</sup>                         | 68.83 <sup>b</sup>                            |
| تونل حرارتی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد<br>Furnaced at 120 °C | 62.72 <sup>b</sup>                         | 75.95 <sup>ab</sup>                           |
| تونل حرارتی ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد<br>Furnace °C         | 41.11 <sup>e</sup>                         | 56.27 <sup>c</sup>                            |
| برشته شده<br>Roasted                                  | 47.73 <sup>d</sup>                         | 79.50 <sup>a</sup>                            |
| میانگین خطای استاندارد<br>SEM                         | 2.515                                      | 1.514                                         |
| سطح معنی داری<br>P-Value                              | <0.0001                                    | <0.0001                                       |

<sup>a,b</sup> حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Means within same column with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

درحالی‌که عمل آوری حرارتی شدید مثل تونل حرارتی گذاری در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش هضم شکمبه‌ای، روده‌ای و کل دستگاه گوارش شد که ممکن است به دلیل دناتوره شدن پروتئین یا تشکیل کمپلکس پروتئین - کربوهیدرات باشد که تجزیه مواد را در شکمبه و روده کاهش داده است.

### نتیجه‌گیری کلی

آزمایشات *in situ* و *in vitro* در مطالعه حاضر نشان داد که فرآورده‌های اکستروود کردن در ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد، اتوکلاو کردن در ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و برشته کردن منجر به کاهش میزان تولید گاز در ساعات اولیه انکوباسیون و کاهش هضم پروتئین دانه خلر در شکمبه می‌شوند، اما افزایش نرخ و میزان تولید گاز در ساعات پایان انکوباسیون و افزایش قابلیت هضم روده‌ای و کل دستگاه گوارش برای پروتئین خام نشان دهنده تغییر مکان هضم پروتئین از شکمبه به سمت روده باریک است. در عمل آوری درون تونل حرارتی با دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به دلیل دناتوره شدن شدید پروتئین یا تشکیل کمپلکس پروتئین - کربوهیدرات، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام دانه خلر در شکمبه و روده کاهش یافت. همچنین نتایج مطالعات ما در تأیید مطالعات سایرین سبب کاهش غلظت تانن کل و ترکیبات فنلی کل در دانه خلر گردید.

در توافق با مطالعه حاضر، خراسانی و همکاران ([Khorasani et al., 2020](#)) گزارش کردند که تحت تأثیر عمل آوری حرارتی تف دادن و اکستروود کردن میزان قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا افزایش یافت. این محققین گزارش کردند که میزان قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا تحت فرآیند تف دادن به ترتیب ۵۶/۶ و ۵۷/۵ درصد افزایش و تحت فرآیند اکستروود کردن ۷۱/۵ و ۷۳/۱ درصد افزایش یافت. اکستروود کردن در مقایسه با فرآیند تف دادن سبب افزایش بیشتری در میزان قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام دانه سویا شد. به گفته این محققین قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین در کل دستگاه گوارش تحت تأثیر فرآیند تف دادن بطور اندکی افزایش یافت، اما اکستروود کردن بطور معنی‌داری سبب افزایش قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش شد. به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر اکستروود کردن، اتوکلاو کردن و برشته کردن با کاهش میزان قابلیت هضم شکمبه‌ای و افزایش قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای و کل دستگاه گوارش سبب بهبود استفاده از مواد مغذی دانه خلر می‌شود به طوری که محل هضم مواد مغذی را از شکمبه به روده باریک انتقال داده و سبب افزایش میزان مواد مغذی قابل هضم در روده می‌شود. افزایش قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش نشان می‌دهد کاهش هضم شکمبه‌ای دانه خلر تحت تأثیر فرآورده‌های اکستروود کردن، اتوکلاو کردن و برشته کردن توسط افزایش قابلیت هضم بعد از شکمبه‌ای جبران شده است.

## References

1. Aldrich, C. G., N. R. Merchen, C. M. Parsons, H. S. Hussein, S. Ingram, and J. R. Clodfelter. 1997. Assessment of postruminal amino acid digestibility of roasted and extruded whole soybeans with the precision-fed rooster assay. *Journal of Animal Science*, 75: 3046–3051.
2. Amirabadi, Z., A. Riasi, H. Janmohammadi, H. Farhangfar, M. H. Fathi Nasri. 2010. The Effect of Raw and Heated Grass Pea (*Lathyrus sativus*) Seed on Growth Performance and some Blood Metabolites of Broiler Chickens. *Animal Science Researches*, 20 (4): 53-66. (In Persian).
3. AOAC. 1995. Official methods of analysis. (16th ed). Arlington VA., Association of Official Analytical Chemists.
4. Benchaar, C., and R. Moncoulon. 1993. Effet de l'extrusion à 195°C sur la disparition des acides aminés du lupin dans le rumen et l'intestin in situ chez la vache. *Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences*, 42: 128–129.
5. Chouinard, P. Y., J. Lévesque, V. Girard, and G. J. Brisson. 1997. Dietary Soybeans Extruded at Different Temperatures: Milk Composition and In Situ Fatty Acid Reactions. *Journal of Dairy Science*, 80: 2913–2924.
6. Fatahnia, F., S. G. Mosavi, E. Abdi, and A. N. Shokri. 2014. Effect of Roasting and Extruding on Nitrogen Fractions and Ruminal Degradability of Soybean Seed Protein. *Research on Animal Production*, 5(10): 84-97. (In Persian).
7. Fathi Nasri, M. H. 2005. Impact of the use of raw and heated soybeans on digestive factors, milk production and composition Holstein cows. PhD thesis. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian).
8. Gatel, F. 1994. Protein quality of legume seeds for non-ruminant animals: a literature review. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 45: 317–348.
9. Hanbury, C. D., C. L. White, B. P. Mullan, and K. H. M. Siddique. 2000. A Review of the Potential of *Lathyrus sativus* L. and *Lathyrus Cicera* L. Grain for use as Animal Feed. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 87: 1-27.
10. Khorasani, H., M. Bashtani, A. Foroghi, H. FarhangFar, and F. Ganji. 2020. Effects of roasting and extruding heat processes on chemical composition, degradability fractions and intestinal digestibility of dry matter and crude protein of whole soybeans. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 11 (4): 399-412.
11. Low, R. K. C., R. G. Rotter, R. R. Marquardt, and C. G. Campbell. 1990. Use of *Lathyrus sativus* L. (var. *Seminis albi*) as a foodstuff for poultry. *Journal of British Poultry Science*, 31: 615-625.
12. Makkar, H. P. S. 2005. In vitro Gas Methods for Evaluation of Feeds Containing Phytochemicals. *Animal Feed Science and Technology*, 123: 365-377.
13. McCann, M. E. E., E. Newell, C. Preston, and K. Forbes. 2006. The use of mannan oligosaccharides and/or tannin in broiler diets. *International Journal of Poultry Science*, 5(9): 873-879.
14. Mehrez, A. Z., and E. R. Orskov. 1977. A study of artificial fiber bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *Journal of Agriculture Science*, 88: 645–650.
15. Menke, H. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*, 28: 7-55.
16. Noerozi Deyarjan, M., A. Assadi-Alamouti, A. Afzalzadeh, and M. Danesh Mesgaran. 2017. Effects of replacing soybean meal with heat-treated soybean meal in diets varying in crude protein content on performance of dairy cows under mild heat stress. *Journal of Animal Production*, 19: 4: 751-763.
17. Nowak, W., S. Michalak, and S. Wylegala. 2005. In situ evaluation of ruminal degradability and intestinal digestibility of extruded soybeans. *Czech. Journal of Animal Science*, 50: 281–287.
18. Orskov, E. R., and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *Journal of Agriculture Science*, 92: 499-503.
19. Owens, F. N., D. S. Secrist, W. J. Hill, and D. R. Gill. 1997. The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle. A review. *Journal of Animal Science*, 75: 868-879.
20. Peng, H. H. and Brooker, J. D. 2000. Isolation of ODAP-degrading Bacteria from the Sheep Rumen. *Lathyrus Lathyrism Newsletter*, 1: 33.
21. Ramachandran, S., and A. K. Ray. 2008. Effect of Different Processing Techniques on the Nutritive Value of Grass Pea, *Lathyrus sativus* L., Seed Meal in Compound Diets for Indian Major Carp Rohu, Labeo Rohita (Hamilton), Fingerling. *Archives of Polish Fisheries*, 16: 189-202.
22. Razm-Azar, V., N. M. Torbatinejad, J. Seifdavati, and S. Hassani. 2012. Evaluation of chemical characteristics, rumen fermentation and digestibility of *Vicia sativa*, *Lathyrus sativus* and *Vicia ervilia* grain by in vitro methods. *Journal of Animal Science Researches*, 22(2): 107-119. (In Persian).
23. Reddy, P. V., J. L. Morrill, and L. S. Bates. 1993. Effect of roasting temperatures on soybean utilization by young dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 76: 1387–1393.
24. Reynal, S., and G. Broderick. 2005. Effect of dietary level of rumen-degraded protein on production and nitrogen metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 88: 4045-4064.
25. Riasi, A., M. Golizadeh, M. H. Fathi, N. Asadzadeh, and A. Taghizadeh. 2014. Determination of the Nutritive Value of Unheated vs. Heat Processed Grass Pea Seed in Ruminants. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 16: 527-536.
26. Sadeghi, A. A., A. Nikkhah, and P. Shawrang. 2005. Effects of heat processing on ruminal protein degradation of

- soybean meal. Journal of Agricultural Sciences, 11(3): 189-200.
- 27.SAS, 2003. Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- 28.Sharma, A., M. Kalia, and S. R. Malhotra. 2003. Effect of antinutritional factors in Khesari seeds (*Lathyrus sativus*) on the biological performance of chickens. Lathyrus Lathyrism, 3: 1-3.
- 29.Stern, M. D., K. A. Santos, and L. D. Satter. 1985. Protein degradation in rumen and amino acid absorption in small intestine of lactating dairy cattle fed heat-treated whole soybeans. Journal of Dairy Science, 68: 45-56.
- 30.Tadelle, D., Y. Alemu, D. Nigusie, and K. J. Peters. 2003. Evaluation of Processing Methods on the Feeding Value of Grass Pea to Broilers. International Journal of Poultry Science, 2(2): 120- 127.
- 31.Tahan, G., M. H. Fathi Nasri, A. Riasi, M. Behgar, and H. Farhangfar. 2012. The effect of electron irradiation on the parameters of degradability and ruminal and post-ruminal digestibility of dry matter and crude protein of some plant protein sources. Iranian Journal of Animal Science Research, 3(4): 422-434.
- 32.Van Soest, P. V., 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.
- 33.Yan, Z. Y., P. S. Spender,, Z. X. Li,, Y. M. Liang,, Y. F. Wang,, C. Y. Wang,, and F. M. Li. 2006. *Lathyrus sativus* (grass pea) and its neurotoxin ODAP. Phytochemistry, 67: 107-121.
- 34.ZeidAli-Nejad, A., G. R. Ghorbani, S. Kargar, A. Sadeghi-Sefidmazgi, A. Pezeshki, and M. H. Ghaffari. 2018. Nutrient intake, rumen fermentation and growth performance of dairy calves fed extruded full-fat soybean as a replacement for soybean meal. Animal, 12(4): 733-740.





## Comparison of reproductive performance of imported ewes and Iranian ewes using the method of artificial insemination

Masood Didarkhah<sup>1\*</sup> Moosa Vatandoost<sup>2</sup>

Received: 08-05-2020

Revised: 22-04-2021

Accepted: 07-06-2021

Available Online: 07-06-2022

### How to cite this article:

Didarkhah, M., M. Vatandoost. 2022. Comparison of reproductive performance of imported ewes and Iranian ewes using the method of artificial insemination. Iranian Journal of Animal Science Research 14(1):43-53.

[DOI:10.22067/ijasr.2021.38292.0](https://doi.org/10.22067/ijasr.2021.38292.0)

**Introduction:** Reproduction is directly affected by various management related factors. Manipulation of these factors can cause changes in reproductive performance. The reproductive performance is considered as the most important factor in determining the profitability of ruminant breeding. Estrous synchronization and super ovulation are considered as the two valuable management tools used to increase the efficiency of reproduction in small ruminants and seasonal breeder animals, thanks to the use of hormonal therapies. The control and manipulation of the sheep reproduction has been the objective of scientists around the world for many years. Identifying the appropriate foreign and indigenous breeds to improve reproductive performance is an essential requirement for self-sufficiency of sheep products. Intensive lamb production systems involve the obtention of more than one lambing per ewe per year. Accelerated lambing systems require the implementation of two, three or even five breeding periods at different times of the year. The purpose of this study was to investigate the effects of using CIDR and PMSG as an appropriate method of concomitant with artificial insemination of imported ewes and comparing them with native Iranian ewes on reproductive performance.

**Materials and methods:** The experiment was conducted at the Research Unit Farm of the Light Livestock Breeding Center of the Water and Soil Conservation Company, located in the southern Khorasan province, Iran. 180 ewes with average weight of  $50 \pm 1.5$  kg were divided into 6 groups of 30 rats based on internal and external breeds including: 1- Romanov group 2- Sharouleh group 3- Suffolk 4- Baluchi 5- Mogani group 6- Afshari were selected. Estral synchronization was performed in spring with CIDR. Ewes after CIDR (14 day) extraction and PMSG injection as soon as the signs of estrus were observed, the ewes were isolated from the others and artificially inseminated with fresh sperm using the transcortical method. Ultrasonography examination was performed by an ultrasound device (6 MHz linear probe, ECM model, France). The nutrition program with software (SRNS) version was adjusted based on the pregnancy diet. Investigation of the number of graafian follicles (follicles larger than 4 mm), was examined simultaneously with CIDR removal and estrus observation. Then, in each experiment parameters such as the time of estrus initiation (hour), rate of return to estrus, parturition rate, rate of multiple births, number of lambs and rate of lambing were evaluated.

**Results and discussion:** There were no difference between the experimental groups in terms of estrus symptoms. Results showed that Ovarian ultrasound at day 10 postoperatively showed that the number of lutein in foreign races was higher than other races and significant statistical differences were observed ( $p < 0.05$ ). The results of the present study showed that the mean daily body weight change of ewes was affected by experimental groups ( $p < 0.05$ ). Ovulation in most ewes, depending on the breed, occurs at a fixed time in relation to the onset of estrus. The breed of ewe could be one of the factors influencing the time of ovulation. Results Ovulation rate, Pregnancy rate, stillbirth rate, was significant difference in fertility rate and twinning rates between the groups ( $P < 0.05$ ). The highest ovulation rate (100%), pregnancy rate (100%), The fertility rate (160%) and Twinning rates (66%) belonged to the Romanov group and statistical differences were observed ( $p < 0.05$ ). Variability between results could be attributed to different protocols, management systems, nutritional status or physiological status resulting

1- Assistant Professor, Faculty of Agriculture Sarayan, University of Birjand, Birjand, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University.

\* Corresponding Author: E-mail: [masooddidarkhah@birjand.ac.ir](mailto:masooddidarkhah@birjand.ac.ir)

from diverse experimental conditions. Furthermore, these variable results may indicate that breed, timing of treatment or doses used in these treatments produce critical effects on fertility rate and embryo survival.

**Conclusion** In general, the use of some new technologies such as estrous cycle control and the use of hormones was effective in this study and increased the average production of lambs per ewe mixed in the herd. Significant differences between Romanov ewes in pregnancy rate, lambing rate and twinning with other breeds indicate the high genetic capacity of this breed of sheep in the success of reproductive performance. Due to low productivity of Iranian breeds compared to foreign breeds, it can be suggested that foreign sheep be used to improve breeding efficiency of Iranian sheep for breeding.

**Key words:** Afshari, Estrus Synchronization, Fertility rate, Ovulation rate, Romanov.



## مقاله پژوهشی

# مقایسه عملکرد تولید مثلی میش های وارداتی و میش های ایرانی با استفاده از روش تلقیح مصنوعی

مسعود دیدارخواه<sup>۱\*</sup> موسی وطن دوست<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۱۹

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۲/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۱۷

دیدارخواه، م. و م. وطن دوست ۱۴۰۱. مقایسه عملکرد تولید مثلی میش های وارداتی و میش های ایرانی با استفاده از روش تلقیح مصنوعی. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۴(۱): ۴۳-۵۳.

## چکیده

هدف از اجرای این پژوهش بررسی اثرات استفاده از سیدر و PMSG به عنوان یک روش مناسب همزمانی فحلی به همراه تلقیح مصنوعی میش های وارداتی و مقایسه آن با میش های بومی ایرانی بر عملکرد تولیدمثلی بود. تعداد ۱۸۰ راس میش با میانگین وزنی مشابه به ۶ گروه ۳۰ راسی بر اساس نژاد داخلی و خارجی شامل گروه ۱- نژاد رومانوف گروه ۲- نژاد شاروله گروه ۳- نژاد سافولک ۴- نژاد بلوچی ۵- نژاد مغانی گروه ۶- نژاد افشاری انتخاب شدند. همزمان سازی فحلی در فصل بهار و با سیدر انجام شد. سیدرها پس از ۱۴ روز خارج شدند. در هنگام خروج سیدرها به تمام میش ها به صورت عضلانی ۴۰۰ واحد بین المللی PMSG تزریق شد. میش ها بعد از سیدر برداری و تزریق هورمون PMSG به محض مشاهده علائم فحلی با استفاده از روش ترانس سرویکال با اسپرم تازه تلقیح مصنوعی شدند. هیچ اختلافی بین گروه های آزمایشی از نظر مشاهده علائم فحلی وجود نداشت. نتایج سونوگرافی تخمدان روز ۱۰ بعد از سیدر برداری، نشان داد که تعداد جسم زرد در نژادهای خارجی بیشتر از سایر نژادهای داخلی بود و اختلاف معنی داری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). نتایج مربوط به نرخ تخمک ریزی، نرخ آبستنی، نرخ مرده زایی، نرخ بره زایی و نرخ دوقلو زایی بین گروه های مختلف اختلاف معنی داری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). بیشترین نرخ تخمک ریزی (۱۰۰ درصد)، نرخ آبستنی (۱۰۰ درصد)، نرخ بره زایی (۱۶۰ درصد) و نرخ دوقلو زایی (۶۶ درصد) مربوط به گروه رومانوف بود و با سایر گروه ها اختلاف معنی داری داشت ( $P < 0.05$ ). به طور کلی با توجه به پایین بودن بازده تولیدمثلی نژادهای بومی ایرانی نسبت به نژادهای خارجی می توان پیشنهاد نمود که جهت بالا بردن بازده تولیدمثلی گوسفند بومی جهت اصلاح نژاد از گوسفندان وارداتی استفاده نمود.

**واژه های کلیدی:** نژاد رومانوف، نرخ بره زایی، نرخ تخمک ریزی، نژاد افشاری، همزمان سازی فحلی

## مقدمه

تعیین سوددهی پرورش نشخوارکنندگان، بالا بردن نرخ تولیدمثلی آن است. میزان تولید در یک گله رابطه مستقیم با راندمان تولیدمثلی آنها دارد (Didarkhah, 2018; Rekik et al., 2002). کنترل فحلی و تخمک ریزی در خارج از فصل تولیدمثلی در بهبود

تولید مثل، اساس ادامه حیات یا ایجاد نسل در تمام موجودات زنده است. برای ارتقای مدیریت تولیدمثل در نشخوارکنندگان باید از تمام پیشرفت های نوین و امکانات موجود استفاده کرد. یک فاکتور مهم در

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

۲ استادیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران

[masooddidarkhah@birjand.ac.ir](mailto:masooddidarkhah@birjand.ac.ir)

\*- نویسنده مسئول:

راندمان تولید مثلی و تولیدی گوسفند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Babaei Kafiabad et al., 2002).

همزمانی فعلی ابزار مدیریتی ارزشمندی است که به منظور افزایش کارایی تولیدمثل به ویژه در نشخوارکنندگان کوچک به کار گرفته می شود. استفاده از درمان‌های هورمونی در برنامه‌های همزمانی فعلی به دلیل افزایش درصد فعلی و کاهش تعداد دام قصر، امکان بهبود عملکرد تولیدمثلی را فراهم می کند (Didarkhah, 2018).

همزمان سازی فعلی در گوسفند یا بوسيله کاهش فاز لوتال با استفاده از پروستاگلاندین و یا بوسيله افزایش فاز لوتال سیکل فعلی با استفاده پروژسترون انجام می گیرد. از طرفی با توجه به این که بخش عمده واحد دامی کشور را گوسفند و بز تشکیل می -دهد، توجه به روش تلقیح مصنوعی و استفاده از آن در زمان مناسب برای بهره وری بیشتر از ظرفیت‌های بالقوه تولیدمثلی و اصلاح نژادی نژادهای بومی گوسفند و بز ضروری به نظر می رسد (Didarkhah, 2018; Anel et al., 2014).

گروهی از محققین تلقیح مصنوعی را یک روش مناسب جهت افزایش ظرفیت‌های تولیدمثلی و اصلاح نژادی گوسفندان گزارش کردند (۱۸). نتایج برخی از مطالعات قبلی نشان داد که تلقیح مصنوعی گوسفندان در فصل غیرتولیدمثل منجر به افزایش باروری، نرخ بهره‌زایی و بازدهی زایمان می شود (King, 2004; Anel et al., 2014). در کاربرد تلقیح مصنوعی، همزمان نمودن فعلی حائز اهمیت است. همزمان سازی فعلی باعث می شود که گوسفندان در یک محدوده زمانی فعل شده و تمامی گوسفندان در یک دوره زمانی تلقیح شوند (Babaei Kafiabad et al., 2002).

گروهی از محققین افزایش نرخ بهره‌زایی و دو قلوزایی را با بکارگیری اسفنج حاوی ۳۰۰ میلی گرم پروژسترون به مدت ۱۴ روز به همراه ۳۰۰ واحد بین المللی eCG در گوسفند نژاد مرینوس در فصل تولیدمثل از طریق تلقیح مصنوعی گزارش کردند (Babaei Kafiabad et al., 2002; Barrell et al., 1992; Cognie, 1990; Fair et al., 2005; Greling et al., 1997).

بهبود نرخ بره زایی و دو قلوزایی به کمک سیدر گذاری به مدت ۱۴ روز و تزریق ۴۰۰ واحد بین المللی PMSG در زمان خروج سیدر در میش های تالشی نیز در نتایج برخی مطالعات گزارش شده است (Fair et al., 2005).

به طور کلی، بازده تولیدمثلی در گله‌های گوسفند ایران پائین و در حدود ۰/۶۶ می باشد (Babaei Kafiabad et al., 2002). به طور کلی توجه به روش همزمانی فعلی و تلقیح مصنوعی و استفاده از آن در زمان و نژاد مناسب برای بهره وری بیشتر از ظرفیت‌های بالقوه تولیدمثلی و اصلاح نژادی، نژادهای بومی گوسفند و استفاده از نژاد مناسب خارجی گوسفند ضروری به نظر می رسد. اجرای برنامه‌های همزمانی در نشخوارکنندگان را جهت افزایش راندمان تشخیص

فعلی و کارایی تلقیح مصنوعی در سطح گله هموارتر می سازد (Didarkhah, 2018).

به همین منظور، شناسایی نژاد مناسب جهت بهبود عملکرد تولیدمثلی یک ضرورت اساسی جهت خودکفایی محصولات گوسفند می باشد. هدف از انجام این تحقیق مقایسه عملکرد تولید مثلی میش های وارداتی و میش های ایرانی با استفاده از وش تلقیح مصنوعی بود.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در بخش تحقیقات گوسفند و بز مرکز اصلاح نژاد دام سبک شرکت سهامی صیانت آب و خاک در شهرستان فردوس بر روی ۶ نژاد خارجی و داخلی انجام گرفت. تعداد ۱۸۰ راس میش که از نظر تولیدمثلی سالم، با سن ۲ تا ۳ سال و میانگین وزنی مشابه (وزن اولیه برای هر نژاد ابتدا بعنوان کوواریانس در مدل در نظر گرفته شد و بعلت غیر معنی داری از مدل حذف گردید) برای اجرای این تحقیق انتخاب شدند. میش‌های انتخاب شده به ۶ گروه ۳۰ راسی بر اساس نژاد داخلی و خارجی شامل گروه ۱- نژاد رومانوف گروه ۲- نژاد شاروله گروه ۳- نژاد سافولک ۴- نژاد بلوچی ۵- نژاد مغانی گروه ۶- نژاد افشاری تقسیم شدند.

همزمان سازی فعلی در فصل بهار و با روش طولانی کردن فاز لوتال انجام شد که از CIDR (Intervet, Holand) که یک شیاف داخل مهیلی حاوی ۰/۳ گرم پروژسترون طبیعی است استفاده شد. سیدر ها پس از ۱۴ روز خارج شدند. در هنگام خروج سیدرها به تمام میش‌ها به صورت عضلانی ۴۰۰ واحد بین المللی PMSG تزریق شد.

اسپرم گیری به صورت تصادفی از ۳ راس قوچ مربوط به هر نژاد (بعلت احتمال اختلافات تولیدی و تولیدمثلی بین قوچ‌ها اثر قوچ بعنوان کوواریانس در مدل دیده شد ولی بدلیل عدم معنی داری اثر قوچ از مدل حذف گردید). در مجموع ۱۸ راس که در محل با شرایط کاملاً یکسان نگهداری می شد با استفاده از واژن مصنوعی و تحریک قوچ ها با یک میش فعل انجام شد. کارایی اسپرم های هر ۴ قوچ قبل استفاده از نظر غلظت، زنده مانی و حرکت پیش رونده ارزیابی شد.

میش ها بعد از سیدر برداری و تزریق هورمون PMSG تا ۴ روز فعل یابی شده و به محض مشاهده علائم فعلی از بقیه میش ها جدا و با استفاده از روش ترانس سرویکال با اسپرم تازه تلقیح مصنوعی شدند.

برنامه تغذیه‌ای با نرم افزار Small Ruminant Nutrition System (SRNS) (نسخه ۱/۸) بر اساس جیره آبستنی تنظیم شد (جدول ۱ و ۲). تمامی جیره ها حاوی غلظت‌های مساوی از ماده خشک، انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام بود. جیره‌ها به مدت ۶۰ روز (۳۰ روز قبل از قوچ اندازی و ۳۰ روز بعد از قوچ اندازی) به صورت آزاد و در حد اشتها (در دو وعده هشت صبح و چهار بعد از ظهر) در اختیار گوسفندان قرار داده شد. آزمایش اولتراسونوگرافی به وسیله یک دستگاه



اقتصادی در پرورش میش های داشتی وزن بره در زمان تولد و ماه های بعد از آن بود. به همین منظور، وزن بره ها در زمان تولد، از شیرگیری و سه ماهگی محاسبه گردید. (همچنین تغذیه بره ها با روش کریپ فیدینگ انجام پذیرفت).

### تجزیه و تحلیل آماری

کلیه داده های بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۸ تکرار در هر تیمار بود و به شرح مدل زیر تجزیه شدند. بعلاوه احتمال اختلافات تولیدمثلی بین قوچ ها اثر قوچ و نیز اثر وزن اولیه برای هر نژاد در مدل بعنوان کوواریانس دیده شد ولی بدلیل عدم معنی داری اثرات قوچ و وزن اولیه از مدل حذف گردیدند.

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

اولتراسونوگراف (مدل ECM، ساخت کشور فرانسه) مجهز به یک پراب ۸ مگاهرتز گاوی جهت بررسی تعداد فولیکول های گراف (فولیکول های بزرگتر از ۴ میلی متر)، همزمان با سیدر برداری و فحلی، بررسی تعداد جسم زرد ۱۰ روز بعد از سیدر برداری و جهت تشخیص آبستنی، ۳۴ روز بعد از تلقیح انجام شد. زمان فحلی هر میش با مشاهده تصاویر ذخیره شده از طریق دوربین مدار بسته در محل هر بهار بند انجام شد. نرخ تخمک ریزی (تعداد میش های دارای جسم زرد روی تعداد میش های در معرض جفت گیری) و نرخ آبستنی (تعداد میش های آبستن به تعداد میش های در معرض جفت گیری) محاسبه شد. بعد از زایش نیز فراسنجه های تولیدمثلی نظیر نرخ بره زایی (بره های متولد شده به میش های زایمان کرده) و دوقلو زایی (تعداد میش های دوقلوزا به میش ها زایمان کرده) و مرده زایی (بره های مرده متولد شده به میش های زایمان کرده) محاسبه شد. یکی از عملکردها و صفات مهم

### جدول ۱- اجزای مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه آزمایشی

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

| اجزای جیره آغازین (درصد در جیره)            | مقدار (درصد)     |
|---------------------------------------------|------------------|
| Components Initial diet                     | Amount (percent) |
| Alfalfa hay علوفه یونجه                     | 19.47            |
| Corn silage سیلاژ ذرت                       | 18.83            |
| Barley straw کاه جو                         | 12.82            |
| Barley grain دانه جو                        | 13.35            |
| Corn grain دانه ذرت                         | 5.35             |
| Soybean meal کنجاله سویا                    | 5.30             |
| Cotton seed meal کنجاله تخم پنبه            | 6.61             |
| Beet pulp تفاله چقندر قند                   | 6.81             |
| Wheat bran سیوس گندم                        | 8.31             |
| Calcium carbonate کربنات کلسیم              | 0.81             |
| Fat powder پودر چربی                        | 1.62             |
| ترکیبات مواد مغذی محاسبه شده                |                  |
| Chemical composition (Calculated)           |                  |
| پروتئین خام (درصد)                          | 14               |
| Crude protein (%)                           |                  |
| ماده خشک (درصد)                             | 70.8             |
| Dry matter (%)                              |                  |
| الیاف نامحلول در شوینده خنثی                | 40.3             |
| Neutral detergent insoluble Fiber           |                  |
| انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم) | 2.42             |
| ME (Mcal kg-1)                              |                  |
| کربوهیدرات غیر الیافی (درصد)                | 34.2             |
| NFC (%)                                     |                  |
| کلسیم (درصد)                                | 0.89             |
| Calcium (%)                                 |                  |
| فسفر (درصد)                                 | 0.41             |
| P (%)                                       |                  |
| چربی خام (درصد)                             | 4.2              |
| Crude fat (%)                               |                  |

که در آن  $Y_{ij}$  = مقدار هر مشاهده،  $\mu$  = اثر میانگین جامعه،  $T_i$  = اثر تیمارهای مختلف و  $\varepsilon_{ij}$  = مقدار خطای باقیمانده است. داده‌های حاصل با استفاده از رویه GLM توسط نرم افزار SAS (نسخه ۱/۹) انجام شد. میانگین‌ها از آزمون توکی در سطح ۵ درصد و جهت مقایسه فراسنجه‌های تولیدمثل که ماهیت درصد داشت، از آزمون کای مربع استفاده شد.

## نتایج و بحث

### شاخص‌های عملکردی

نتایج مربوط به عملکرد (متوسط تغییر وزن روزانه و ماده خشک مصرفی) در جدول ۲ نمایش داده شده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میانگین تغییر وزن روزانه بدن میش‌ها تحت تاثیر ( $P < 0.05$ ) گروه‌های آزمایشی قرار گرفت. بطوری‌که بیشترین میانگین تغییر وزن

بدن میش‌ها مربوط به گروه ۳ بود و کمترین آن مربوط به گروه ۴ (۲۵۶ گرم در مقابل ۲۱۴ گرم در روز). بیشترین ماده خشک مصرفی روزانه در این آزمایش مربوط به گروه ۳ بود که اختلاف غیرمعنی‌داری با سایر گروه‌ها داشت.

وزن مناسب در زمان آبستنی یکی از دلایل اصلی موفقیت در آبستنی و افزایش تولید بچه و عملکرد تولیدمثلی بالا می باشد (Evans and Maxwell, 1990; Didarkhah, 2018). بیشترین افزایش وزن روزانه مربوط به گروه‌های ۲، ۳ و ۶ بود که اختلاف معنی داری با سایر گروه‌ها داشت ولی اختلاف معنی داری در خوراک مصرفی بین گروه‌ها مشاهده نگردید.

در این آزمایش به دلیل مناسب بودن شرایط تغذیه‌ای میش‌های مورد آزمایش و نیز تامین غلظت مناسبی از انرژی و پروتئین و مشابه بودن مواد مغذی در تمام جیره‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری به جزء دلایل مربوط به نژاد در بین صفات فوق‌الذکر مشاهده نگردید.

جدول ۲- اثر جیره‌های آزمایشی بر میانگین خوراک مصرفی و میانگین افزایش وزن روزانه

Table 2- Effect of experimental diets on average feed intake.

| تیمارهای آزمایشی<br>Experimental treatments                       | گروه رومانوف<br>Romanov Group | گروه شاروله<br>Sharule Group | گروه سافولک<br>Suffolk Group | گروه بلوچی<br>Baluchi Group | گروه مغانی<br>Moghani Group | گروه افشاری<br>Afshari Group | SEM  | P-Value |
|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------|---------|
| متوسط افزایش وزن روزانه<br>(گرم)<br>Average Daily weight gain (g) | 226 <sup>b</sup>              | 241 <sup>a</sup>             | 256 <sup>a</sup>             | 214 <sup>b</sup>            | 216 <sup>b</sup>            | 245 <sup>a</sup>             | 5.8  | 0.001   |
| مصرف خوراک روزانه<br>(کیلوگرم)<br>Daily feed intake (kg)          | 1.54                          | 1.65                         | 1.69                         | 1.55                        | 1.50                        | 1.58                         | 0.32 | 0.127   |

<sup>a,b</sup> اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ( $P < 0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Means within same row with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

و خارجی مشاهده گردید ( $P < 0.05$ ).

طول دوره‌ی فعالیت تولیدمثلی گوسفند در عرض‌های جغرافیایی مختلف متفاوت است همان‌طور که مشاهد می‌شود نژادهای خارجی مدت زمان سپری شده کمتری نسبت به نژادهای ایرانی از زمان سیدر برداری تا مشاهده فحلی طی کرده اند که نشان دهنده این است که پاسخ به همزمان سازی فحلی بهتری نشان داده‌اند. پاسخ متفاوت نژادهای خارجی به ایرانی به تفاوت عرض جغرافیایی مربوط می‌باشد. در عرض‌های جغرافیایی که از خط استوا فاصله دارند فصل جفت‌گیری به صورت معنی داری محدود است (Rosa and Bryant, 2003). اختلاف در نتایج آزمایشها ممکن است به دلیل تفاوت درمتغیرهایی

### نرخ فحلی

نتایج نرخ فحلی و میانگین فاصله زمانی سیدر برداری تا فحلی در گروه‌های مختلف آزمایش در جدول ۳ نشان داده شده است. نرخ فحلی در همه گروه‌های آزمایشی ۱۰۰ درصد بود و تمامی میش‌ها فحل شدند. بنابراین هیچ اختلافی بین گروه‌های آزمایشی از نظر مشاهده علائم فحلی وجود نداشت. میانگین فاصله زمانی سیدر برداری تا فحلی بین بیشتر گروه‌های آزمایشی در محدوده ۳۰ تا ۵۰ ساعت بود. کمترین میانگین فاصله زمانی سیدر برداری تا فحلی مربوط به گروه رومانوف بود و بیشترین میانگین فاصله زمانی سیدر برداری تا فحلی مربوط به گروه افشاری بود که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های نژادهای داخلی

تولیدمثلی گوسفند که با تغییرات رفتاری، سطح هورمونها و درصد تخمکریزی مشخص می شود، تحت تاثیر عواملی مانند سن، فصل، جیره غذایی، نژاد قرار می گیرد. که در این تحقیق نژاد یکی از دلایل اصلی اختلاف معنی داری بود (Rosa and Bryant, 2003).

در آزمایشی گروهی از محققین با استفاده از سیدر در میش های کاراکول در خارج از فصل تولیدمثل پاسخ فحلی را ۹۳ درصد گزارش کردند (Safdarian et al., 2006). گروهی دیگر از محققین بیشترین میزان وقع فحلی در خارج از فصل تولیدمثل در میش های رامنی را ۳۶ ساعت گزارش کردند (McNatty et al., 1988). البته در برخی مطالعات استفاده از روش های همزمانی فحلی با یک جیره متداول توانست نرخ فحلی را بخوبی بهبود دهد (Hashemi and Hasani, 1996; Greling et al., 1994).

مانند نژاد میش ها، وضعیت تخمدان و مدیریت باشد.

تزریق PMSG در زمان خارج کردن اسفنج یا سیدر در برنامه های همزمانی فحلی متداول است و موجب آغاز مرحله ی فولیکولی جدید در دامها خواهد شد. سپس فولیکول ها توسعه یافته، تخمکریزی رخ داده و فحلی بروز می کند. یک محدودیت برای استفاده از PMSG فعالیت بیولوژیکی طولانی مدت آن است که منجر به تولید ممتد فولیکولهای آنترال و در نتیجه باعث تولید تعداد زیادی فولیکولهای آنتریک می شود. هدف اصلی تزریق هورمون PMSG تکمیل همزمان سازی فحلی است (۲۵).

در مناطق معتدل چرخه تولیدمثل را با برنامه نوردهی تنظیم می کنند. اما در مناطق گرم برنامه تولیدمثلی با توجه به موقعیت دسترسی به غذای مصرفی و در چند مقطع از سال تنظیم می شود. فعالیت

جدول ۳- میانگین نرخ فحلی و فاصله زمانی (ساعت) فحلی میش ها بعد از خروج سیدر.

Table 3- Estrus rate and CIDR removal up to estrus (hour) ewes after the exit of CIDR.

| تیمارهای آزمایشی<br>Experimental treatments                          |                               |                              |                              |                             |                             |                              |            | SEM   | P-Value |
|----------------------------------------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------|-------|---------|
| PARAMETERS                                                           | گروه رومانوف<br>Romanov Group | گروه شاروله<br>Sharule Group | گروه سافولک<br>Suffolk Group | گروه بلوچی<br>Baluchi Group | گروه مغانی<br>Moghani Group | گروه افشاری<br>Afshari Group | فراسنجه ها |       |         |
| نرخ فحلی (درصد)<br>Estrus rate (%)                                   | 100                           | 100                          | 100                          | 100                         | 100                         | 100                          |            | -     | -       |
| فاصله سیدر برداری تا فحلی (ساعت)<br>CIDR removal Up to estrus (hour) | 30/21 <sup>a</sup>            | 35/19 <sup>a</sup>           | 33/51 <sup>a</sup>           | 45/41 <sup>b</sup>          | 50/22 <sup>b</sup>          | 50/22 <sup>b</sup>           |            | 4/033 | 0/0001  |

<sup>a</sup> اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ( $P < 0.05$ ).

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

میانگین تعداد فولیکول های گراف در همه تیمارهای آزمایشی بیشتر از چهار فولیکول در زمان فحلی بود که در جهت افزایش دوقلو زایی رشد فولیکولی مناسبی به نظر می رسید. نتایج برخی مطالعات قبلی نشان داده بود که استفاده از سیدر همراه با دوز های پایین هورمون eCG اثر کمی روی رشد فولیکول ها و تخمکریزی بویژه در خارج از فصل تولید مثل دارد (Timurkan and Yildiz, 2005; Barrett et al., 2004).

بنابراین نتایج این مطالعه نقش مثبت نژادهای پربازده خارجی مانند رومانوف جهت بالا رفتن عملکرد تولیدمثلی در کنار روش های هم زمانی بر روی رشد و توسعه فولیکول ها و افزایش تعداد جسم زرد را نشان می دهد.

## شاخص های تولید مثلی

نتایج مربوط به شاخص های تولید مثلی (تعداد فولیکول های گراف در زمان فحلی و سیدر برداری و تعداد جسم زرد) در جدول ۴ نشان داده شده است. اثر نژادها بر تعداد فولیکول های گراف (بزرگتر از ۴ میلیمتر) در زمان های فحلی و سیدر برداری معنی دار بود. نتایج سونوگرافی تخمدان روز ۱۰ بعد از سیدر برداری، نشان داد که تعداد جسم زرد در گروه ۱ و ۳ (نژادهای خارجی) بیشتر از سایر گروه ها (نژادهای داخلی) بود و اختلاف معنی داری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). همچنین تعداد فولیکول های گراف از زمان سیدر برداری تا فحلی به صورت معنی داری در همه گروه ها افزایش یافت ( $P < 0.05$ ).

همانطور که مشاهده می شود نژادهای خارجی تعداد فولیکول های گراف (بزرگتر از ۴ میلیمتر) در زمان های فحلی و سیدر برداری و همچنین تعداد جسم زرد بیشتری نسبت به نژادهای داخلی دارند.

جدول ۴- مقایسه شاخص های تولید مثلی (تعداد فولیکول های گراف در زمان فحلی و سیدر برداری و تعداد جسم زرد).

Table 4- The average number of dominant follicles on the operation of CIDR and estrus.

| تیمارهای آزمایشی                                                                                          |                                  |                                 |                                 |                                |                                |                                 |       |         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------|---------|
| Experimental treatments                                                                                   |                                  |                                 |                                 |                                |                                |                                 |       |         |
| فراسنجه ها<br>PARAMETERS                                                                                  | گروه رومانوف<br>Romanov<br>Group | گروه شاروله<br>Sharule<br>Group | گروه سافولک<br>Suffolk<br>Group | گروه بلوچی<br>Baluchi<br>Group | گروه مغانی<br>Moghani<br>Group | گروه افشاری<br>Afshari<br>Group | SEM   | P-Value |
| تعداد فولیکول گراف در زمان فحلی<br>The number of follicles on estrus                                      | (148/30) <sup>a</sup><br>4/93    | (138/30) <sup>a</sup><br>4/60   | (140/30) <sup>a</sup><br>4/66   | (124/30) <sup>b</sup><br>4/13  | (134/30) <sup>b</sup><br>4/46  | (144/30) <sup>a</sup><br>4/80   | 0/139 | 0/004   |
| تعداد فولیکول گراف زمان سیدر برداری<br>The number of follicles on day of estrus                           | (81/30) <sup>a</sup><br>2/7      | (72/30) <sup>a</sup><br>2/4     | (70/30) <sup>a</sup><br>2/33    | (63/30) <sup>b</sup><br>2/10   | (67/30) <sup>b</sup><br>2/23   | (70/30) <sup>a</sup><br>2/33    | 0/025 | 0/007   |
| تعداد جسم زرد ۱۰ روز بعد از تلقیح مصنوعی<br>Number of yellow bodies 10 days after artificial insemination | (75/30) <sup>a</sup><br>2/50     | (70/30) <sup>a</sup><br>2/23    | (79/30) <sup>a</sup><br>2/63    | (61/30) <sup>b</sup><br>2/03   | (65/30) <sup>b</sup><br>2/16   | (69/30) <sup>a</sup><br>2/29    | 0/033 | 0/001   |

<sup>a</sup> اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ( $P < 0.05$ ).<sup>1</sup>. Means within same row with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

## عملکرد تولید مثلی

نتایج مربوط به عملکرد تولید مثلی در جدول ۵ نشان داده شده است. نرخ مرده زایی، نرخ بره زایی و نرخ دوقلوزایی بین گروه های مختلف اختلاف معنی داری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). بیشترین نرخ تخمک ریزی (۱۰۰ درصد)، نرخ آبستنی (۱۰۰ درصد)، نرخ بره زایی (۱۶۰ درصد) و نرخ دوقلوزایی (۶۶ درصد) مربوط به گروه ۱ (رومانوف) بود و با سایر گروه ها اختلاف معنی داری داشت ( $P < 0.05$ ).

تخمک ریزی در اکثر میش ها، با توجه به هر نژاد، در زمان ثابتی در ارتباط با شروع فحلی اتفاق می افتد (Anel et al., 2014; Donovan et al., 2002; Fair et al., 2005; Rekik et al., 2002).

نوع نژاد میش می تواند یکی از عوامل تاثیرگذار بر زمان تخمک ریزی باشد. اختلاف فاحش و معنی دار میش نژاد رومانوف در نرخ آبستنی، نرخ بره زایی و دوقلوزایی با سایر نژادها نشان دهنده ظرفیت ژنتیکی بالای این نوع نژاد گوسفند در موفقیت عملکرد تولیدمثلی می باشد.

در همین راستا در تحقیقی که روی ۳ نژاد لولندکراس، هیل کراس و فینیش لندریس صورت گرفت، نشان داده شد که بهترین بازدهی آبستنی و بازدهی تولیدمثل مربوط به نژاد فینیش لندریس بود که زمان تخمک ریزی آن با سایر نژادها متفاوت و در اواخر فحلی رخ داده بود (Donovan et al., 2004; Barrell et al., 1992; Evans and Maxwell, 1990). گروهی از محققین گزارش کردند در میش های مرینوس طول دوره فحلی بطور معمول ۴۲-۲۴ ساعت و تخمک ریزی

۳۰-۲۵ ساعت بعد از شروع فحلی رخ می دهد (Donovan et al., 2004).

همچنین گروهی دیگر از محققین گزارش کردند که تزریق ۵۰۰ واحد از PMSG پس از پایان همزمان سازی موجب افزایش درصد دوقلوزایی در میش های مرینوس اسلوواک شد (Maracek et al., 2001). همچنین گروهی دیگر از محققین با سیدر گذاری به مدت ۱۴ روز و استفاده از PMSG با دوزهای متفاوت (۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰) در فصل تولیدمثل در میش های تالشی نرخ دوقلوزایی، چندقلوزایی و بره زایی را در گروهی که ۴۰۰ واحد دریافت کرده بودند، بالاتر گزارش کردند (Bostani et al., 2004).

## نرخ نر و ماده زایی

نتایج نرخ نر و ماده زایی، نرخ زنده مانی و تلفات بره در جدول ۶ نشان داده شده است. نتایج آماری داده های حاصل از این آزمایش نشان داد که هیچ اختلاف معنی داری بین گروه های مختلف در نرخ نر و ماده زایی، نرخ زنده مانی و تلفات بره مشاهده نگردید.

## وزن تولد سنین متفاوت بره

نتایج میانگین وزن بره ها در زمان تولد، از شیر گیری و سه ماهگی در گروه های آزمایش در جدول ۷ نشان داده شده است. نتایج مربوط به میانگین وزن تولد بره ها نشان داد که بیشترین وزن تولد بره ها در نژادهای خارجی مربوط به نژاد سافولک و در نژادهای داخلی مربوط به

نژاد افشاری بود که با سایر نژادها اختلاف معنی داری داشت. نتایج داری بین گروه های مختلف در میانگین وزن از شیرگیری و میانگین آماری داده های حاصل از این آزمایش نشان داد که هیچ اختلاف معنی وزن سه ماهگی وجود نداشت.

**جدول ۵-** مقایسه عملکرد تولید مثلی (تخمک ریزی، آبستنی، بره زایی و مرده زایی) در گروه های مختلف آزمایش.

**Table 5-** Comparison of reproductive performance (ovulation, pregnancy, lambing and mortality rate) in different experimental groups.

| تیمارهای آزمایشی<br>Experimental treatments |                                  |                                 |                                 |                                |                                |                                 |
|---------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| فراسنجه ها<br>PARAMETERS                    | گروه رومانوف<br>Romanov<br>Group | گروه شاروله<br>Sharule<br>Group | گروه سافولک<br>Suffolk<br>Group | گروه بلوچی<br>Baluchi<br>Group | گروه مغانی<br>Moghani<br>Group | گروه افشاری<br>Afshari<br>Group |
| نرخ تخمک ریزی (درصد)<br>Ovulation rate (%)  | (30/30)<br>100                   | (29/30)<br>96                   | (29/30)<br>96                   | (29/30)<br>96                  | (28/30)<br>93                  | (30/30)<br>100                  |
| نرخ آبستنی (درصد)<br>Pregnancy rates (%)    | (30/30) <sup>a</sup><br>100      | (27/30) <sup>a</sup><br>90      | (27/30) <sup>a</sup><br>90      | (25/30) <sup>a</sup><br>83     | (25/30)<br>83                  | (27/30) <sup>a</sup><br>90      |
| نرخ بره زایی (درصد)<br>Lambing rate (%)     | (48/30) <sup>a</sup><br>160      | (36/30) <sup>c</sup><br>120     | (39/30) <sup>c</sup><br>130     | (36/30) <sup>c</sup><br>120    | (35/30) <sup>c</sup><br>117    | (43/30) <sup>b</sup><br>144     |
| نرخ مرده زایی (درصد)<br>Mortality rate (%)  | (2/30) <sup>a</sup><br>6/6       | (1/30) <sup>b</sup><br>3/33     | (2/30) <sup>a</sup><br>6/66     | (2/30) <sup>a</sup><br>6/66    | (0/30) <sup>c</sup><br>0       | (1/30) <sup>b</sup><br>3/33     |
| نرخ دو قلو زایی (درصد)<br>Twin delivery (%) | (20/30) <sup>a</sup><br>66       | (10/30) <sup>c</sup><br>34      | (12/30) <sup>b</sup><br>40      | (13/30) <sup>b</sup><br>43     | (10/30) <sup>c</sup><br>34     | (17/30) <sup>b</sup><br>57      |

<sup>۱</sup> اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ( $P < 0.05$ ).

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

**جدول ۶-** مقایسه عملکرد تولید مثلی (تخمک ریزی، آبستنی، بره زایی و مرده زایی) در گروه های مختلف آزمایش.

**Table 6-** Comparison of reproductive performance (ovulation, pregnancy, lambing and mortality rate) in different experimental groups.

| تیمارهای آزمایشی<br>Experimental treatments     |                                  |                                 |                                 |                                |                                |                                 |
|-------------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| فراسنجه ها<br>PARAMETERS                        | گروه رومانوف<br>Romanov<br>Group | گروه شاروله<br>Sharule<br>Group | گروه سافولک<br>Suffolk<br>Group | گروه بلوچی<br>Baluchi<br>Group | گروه مغانی<br>Moghani<br>Group | گروه افشاری<br>Afshari<br>Group |
| تعداد بره های نر<br>The number of male<br>Lambs | 19                               | 16                              | 18                              | 16                             | 16                             | 17                              |
| تعداد بره های ماده<br>Number of female<br>Lambs | 29                               | 20                              | 21                              | 20                             | 19                             | 26                              |
| نرخ ماده زایی (درصد)<br>Maternity rate (%)      | (29/48)<br>61                    | (20/36)<br>56                   | (21/39)<br>54                   | (20/36)<br>55                  | (19/35)<br>54                  | (26/43)<br>60                   |
| نرخ نر زایی (درصد)<br>Male rate (%)             | (19/48)<br>39                    | (16/36)<br>44                   | (18/39)<br>46                   | (16/36)<br>45                  | (16/35)<br>46                  | (17/43)<br>40                   |
| نرخ زنده مانی (درصد)<br>Survival rate (%)       | (45/48)<br>94                    | (35/36)<br>97                   | (38/39)<br>97                   | (34/36)<br>97                  | (33/35)<br>95                  | (42/43)<br>97                   |
| نرخ تلفات بره (درصد)<br>Lamb loss rate (%)      | (3/48)<br>1                      | (1/36)<br>1                     | (1/39)<br>1                     | (2/36)<br>1                    | (2/35)<br>1                    | (1/43)<br>1                     |

<sup>۱</sup> اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ( $P < 0.05$ ).

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

## نتیجه گیری کلی

در مجموع، استفاده از برخی از فن‌آوری های نوین نظیر کنترل چرخه فحلی و استفاده از هورمون‌ها در این تحقیق موثر بود و باعث افزایش متوسط تولید بره به ازای هر میش تحت آمیزش در گله گردید. اختلاف فاحش و معنی دار میش نژاد رومانوف در نرخ آبستنی، نرخ بره زایی و دوقلوزایی با سایر نژادها نشان دهنده ظرفیت ژنتیکی بالای این

نوع نژاد گوسفند در موفقیت عملکرد تولیدمثلی می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از دام‌های وارداتی نظیر رومانوف که بیشترین نرخ تخمک ریزی (۱۰۰ درصد)، نرخ آبستنی (۱۰۰ درصد)، نرخ بهره‌زایی (۱۶۰ درصد) و نرخ دوقلوزایی (۶۶ درصد) دارند می‌تواند جهت اصلاح نژاد دام های بومی ایرانی استفاده شود که باعث افزایش بازدهی تولیدمثل گوسفندان ایرانی گردد.

جدول ۷- اثرات همزمان‌سازی فحلی وزن سنین متفاوت در گروه‌های مختلف.

Table 7- Effects of estrus synchronization of different weights in different groups.

| PARAMETERS                                           | تیمارهای آزمایشی<br>Experimental treatments |                              |                              |                             |                             |                              | SEM  | P-Value |
|------------------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------|---------|
|                                                      | گروه رومانوف<br>Romanov Group               | گروه شاروله<br>Sharule Group | گروه سافولک<br>Suffolk Group | گروه بلوچی<br>Baluchi Group | گروه مغانی<br>Moghani Group | گروه افشاری<br>Afshari Group |      |         |
| وزن تولد (کیلوگرم)<br>Birth weight (kg)              | 2/82 <sup>b</sup>                           | 3/10 <sup>b</sup>            | 3/36 <sup>a</sup>            | 3/01 <sup>b</sup>           | 3/02 <sup>b</sup>           | 3/42 <sup>a</sup>            | 0/23 | 0/003   |
| وزن از شیرگیری (کیلوگرم)<br>Weight From milking (kg) | 20/5                                        | 20/00                        | 19/47                        | 19/12                       | 18/25                       | 19/25                        | 0/63 | 0/008   |
| وزن ۳ ماهگی (کیلوگرم)<br>3 months Weight (kg)        | 23/5                                        | 22/35                        | 24/00                        | 20/12                       | 20/25                       | 23/35                        | 0/79 | 0/007   |

<sup>۱</sup> اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف با هم تفاوت معنی دار دارند ( $P < 0.05$ ).

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

## References

- Alifakiotis, T. H. 1984. Induced breeding in anestrus milking ewes of dairy breeds compartion of norgestomet, Medroxy progesterone and fluorogestone in two regimes of PMSG. *Endocrine\_Causes-of-Seasonal-and- Lactational-anstrus in farm animals*, 12 (2): 6-8.
- Anel, L., M. Kaabi, B. Abroug, M. Alvarez, E. Anel, J. C. Boixo, L. F. de laFuente, and P. de Paz. . 2005. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in Churra ewes: a field assay. *Theriogenology*, 63:1235-1247.
- Babaei Kafiabad, M., H. Sadeghipanah, and K. Karimi. 2014. Timing of eCG injection in hormonal treatment program of estrus induction in TorkiGhashghaei ewes during deep anestrus. *Journal of Ruminant Research*, 2: 113-132. (In Persian).
- Barrell, G. K., S. M. Moenter., A. Caraty, and F. J. Karsch. 1992. Seasonal changes of gonadotrophin-releasing hormone secretion in the ewe. *Biology of Reproduction*, 46: 1130-1135.
- Barrett DMW, Bartlewski PM, Symington A. and Rawlins N.C. 2004. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 IU eCG following a 12-day treatment with progestagen-releasing intravaginal sponges in the breeding and non-breeding season in ewes. *Theriogenology*, 61: 311-327.
- Bostani Larmaie E, Mohammadi M and Mahdizadeh M. 2004. Comparison of two methods of synchronization (CIDR, PGF2 $\alpha$ ) with different levels of eCG on reproductive performance in Taleshi ewes. *Agriculture Sciences (University of Guilan)*, 1(3): 13-23. (In Persian).
- Cognie Y. 1990. Current technologies for synchronization and artificial insemination of sheep (Ed.), *Reproductive physiology of Merino sheep* (pp. 202-215). The University of Western, Australia: Nedlands, Perth.
- Didarkhah M. 2018. Overview browsing the different methods of synchronizing and triggering ovulation. *Journal of Biosafety*, 10: 31- 46. (In Persian).
- Donovan A, Hanrahan JP, Kummer E, Duffy P, and Boland M.P. 2004. Fertility in the ewe following cervical

- insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronised oestrus. *Animal Reproduction Science*, 84: 359-368.
10. Evans G and Maxwell WMC. 1990. Numero de inseminaciones por estro (Ed.), *Inseminacion artificial de ovejas y cabras* (pp. 143-164). Zaragosa: Acribia.
  11. Fair S, Hanrahan JP, O'Meara CM, Duffy P, Rizos D, Wade M, Donovan A, Boland MP, Lonergan P and Evans ACO. 2005. Differences between Belclare and Suffolk ewes in fertilization rate, embryo quality and accessory sperm number after cervical or laparoscopic artificial insemination. *Theriogenology*, 63: 1995-2005.
  12. Greling JPC, KOTZE WF, Taylor GJ, and HAGENDIJK wj. 1994. Synchronization of oestrus in sheep: Use of different does of progestogen outside the normal breeding season. *South African Journal of animal Science*, 24:33-37.
  13. Greling JPC, Erasmus JA and Vander Merwe S. 1997. Synchronization of estrus in sheep using progestagen and insemination chilled semen during the breeding season. *Small Ruminant Research*, 26: 137-143.
  14. Hashemi M and Hasani S. 1996. *Physiology of reproduction*. Iran: Farhang Jameh Press. (In Persian)
  15. Inskeep EK. 2004. Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effect of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *Journal of animal Science*, 82:24-39.
  16. King M, McKelvey W, Dingwall W, Matthews K, Gebbie FE, Mylne M, Stewart E and Robinson J. 2004. Lambing rates and litter sizes following intrauterine or cervical insemination of frozen/thawed semen with or without oxytocin administration. *Theriogenology*, 62: 1236-1244.
  17. Maracek I, Krajnicakova I, Dictzova I and Kostecly M. 2001. Oestrus induction and synchronization in sheep during milking and increased occurrence of ewe lambing twins. *Actafyto technical et zootechnica*, 4:163-165.
  18. Maxwell WMC and Hewitt LJ. 1986. A comparison of vaginal, cervical and intrauterine insemination of sheep. *Journal of Agricultural Science*, 106: 191-193.
  19. McNatty KP, Hudson NL, Ball K, and Forbes S. 1988. Treatment of seasonally anestrus Romney Marsh ewes with continuous infusions of low doses of Gn RH. Effects on estrus, ovulation and plasma progesterone concentrations. *Theriogenol*, 30: 953-960.
  20. Peters AR. 2005. Veterinary clinical application of GnRH—questions of efficacy. *Animal Reprod Science*, 88:155-167.
  21. Rekik M, Lassoued N and Yacobi C. 2002. Reproductive performances in ewe lambs of the Queue Fine de l'ouest breed and D'manCrosses following synchronization. *Small Ruminant Research*, 45: 75-78.
  22. Rosa HJD and Bryant MJ. 2003. Seasonality of reproduction in sheep. *Small Ruminant Research*, 48: 155-171.
  23. Safdarian M, Kafi M, and Hashemi M. 2006. Reproductive performance of Karakul ewes following different oestrous synchronisation treatments outside the natural breeding season. *South African Journal of animal Science*, 36: 229-234.
  24. Timurkan H and Yildiz H. 2005. Synchronization of oestrus in Hamdani ewes: the use of different PMSG doses. *Bull Vet Inst Pulawy* 49: 311-31.
  25. Wheaton JE, Carlson KM, Windels HF and Johnston LJ. 1993. CIDR, a new progesterone releasing intravaginal device for induction of estrous and cycle control in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, 33: 127-141.







## Effect of pentoxifylline antioxidant supplementation on improvement of sperm motility parameters in non-breeding season

Mahdi Nazari<sup>1</sup>, Hossein Daghigh Kia<sup>2\*</sup>, Abouzar Najafi<sup>3</sup>

Received: 19-01-2020

Revised: 09-06-2021

Accepted: 17-07-2021

Available Online: 07-06-2022

### How to cite this article:

Nazari, M., H. Daghigh Kia, and A. Najafi. 2022. Effect of pentoxifylline antioxidant supplementation on improvement of sperm motility parameters in non-breeding season. Iranian Journal of Animal Science Research 14(1):55-64  
[DOI:10.22067/ijasr.2021.38267.0](https://doi.org/10.22067/ijasr.2021.38267.0)

**Introduction:** Despite extensive progress in reproductive techniques, sperm cryopreservation leads to reduction of motility and viability in comparison to fresh sperm. Scientists have studied different antioxidants to reduce the loss of viability, motility and DNA fragmentation, because this loss causes decrease in fertility. The biochemical changes which occurs during sperm cryopreservation affects the plasma membrane and as a result, sperm viability and fertility are affected after thawing. In ram sperm due to the high content of saturated high acid, cause high sensitivity to low temperatures and freezing. The process of fertilization introduces stress that greatly reduce its viability and fertility potential. Different antioxidants have been used to improve the quality of frozen semen which include methylxanthines such as pentoxifylline. Pentoxifylline can act as a protective against ROS, as well as protect and integrate cell membranes and is still used in freezing techniques and reduce the amount of lipid peroxidation. The purpose of this study was to compare the effect of adding different levels of pentoxifylline antioxidant to ram semen during nonbreeding season on membrane integrity, motility parameter and viability of freezing and thawing sperm.

**Materials and Methods:** In this study, semen was collected from 8 mature ram twice a week during spring season using an artificial vagina and the ejaculates were pooled in order to eliminate the individual effects of the rams. Tris lecithin-based extender was used in this study. After cooling, filling and sealing the samples, they were frozen with nitrogen vapor and immersed in liquid nitrogen and were stored until evaluation time. All steps were repeated in five replicates. For sperm evaluation, one month after freezing, the straws were extracted from liquid nitrogen and thawed in water bath at temperature of 37 °C for 30 s. Evaluation of sperm was performed for parameters containing CASA, abnormal morphology, malondialdehyde concentration.

**Results and discussion:** Despite the availability of advanced reproductive techniques, semen freezing is characterized by lower motility and viability compared to newly ejaculated sperm. Researchers try to prevent sperm motility and DNA damage and increase cell death under oxidative stress by using antioxidants, which can cause sperm loss. In physiological conditions, there is a balance between ROS production and semen's antioxidant capacity. Overproduction of ROS disrupts the function of semen antioxidant enzymes and ultimately sperm function. It has been shown that in sperm, cAMP activates protein kinase (PKA), which regulates the phosphorylation of tyrosine protein, which is an important regulatory pathway in modulating events related to sperm capacity and that it makes the sperm acrosome healthy and preventing its hyperactivity. Pentoxifylline enhances cAMP levels by inhibiting phosphodiesterase enzyme, which increases ATP, cellular glycolysis, energy production, therefore increases sperm motility, and energy source (ATP) production.

Sperm motility is one of the main quality parameters of semen samples for artificial insemination. Pentoxifylline

1-Ph.D. student, Department of Animal Science. Faculty of Agriculture. University of Tabriz. Tabriz, Iran.

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

3-Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Science, College of Aburaihan, University of Tehran, Tehran, Iran.

\*Corresponding Author: [daghighkia@tabrizu.ac.ir](mailto:daghighkia@tabrizu.ac.ir)

can act as a protector against ROS, it also protects and integrates cell membrane and is also used in sperm freezing. Addition of pentoxifylline to sperm increases creatine kinase protein activity, which may modulate the ability to use pentoxifylline to increase sperm motility. The researchers reported that this antioxidant could have a positive effect on sperm motility. Pentoxifylline and caffeine have increased sperm motility and viability of frozen sperm in different mammalian species. The results of the data analysis indicate that adding all levels of antioxidants to semen in the non-breeding season increases the progressive sperm motility, but this increase in treatments receiving 1.5 and 3  $\mu$ M levels were significant compared to the control group. ( $P < 0.05$ ). The highest amount of motility parameters belonged to the 3  $\mu$ M treatment. Addition of 1.5 and 3  $\mu$ M of antioxidant Pentoxifylline significantly increased total motility compared to the control group ( $P < 0.05$ ). Results showed that STR parameters significantly increased ( $P < 0.05$ ) by adding 1.5 and 3  $\mu$ M treatment. Although no significant differences were observed between control treatment and other experimental treatments for VAP, VCL, ALH, LIN, BCF, VSL parameters, by adding these treatments, these parameters were increased compared to control treatment.

**Conclusion:** In this study, various parameters such as sperm viability, morphology, sperm motility parameters and plasma membrane integrity, and level of malondialdehyde were evaluated during non-reproductive season. The results of this study showed that use of 3  $\mu$ M pentoxifylline in the extender significantly improved the functional parameters of sperm after freezing-freezing in non-breeding season, while higher concentrations had less effect on the evaluated parameters.

**Keywords:** Antioxidant, Oxidative stress, Pentoxifylline

## مقاله پژوهشی

## تأثیر افزودن پنتوکسی فیلین بر بهبود پارامترهای حرکتی اسپرم قزل در فصل غیرتولیدمثلی

مهدی نظری<sup>۱</sup>، حسین دقیق کیا<sup>۲\*</sup>، ابوذر نجفی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۹

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۳/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۶

نظری، م.، ح. دقیق کیا، و ا. نجفی. ۱۴۰۱. تأثیر افزودن پنتوکسی فیلین بر بهبود پارامترهای حرکتی اسپرم قزل در فصل غیرتولیدمثلی. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۴(۱): ۵۵-۶۴.

## چکیده

در فرآیند انجماد-یخ‌گشایی اسپرم، تنش اکسیداتیو موجب کاهش تحرک، زنده‌مانی، عملکردهای غشایی و در نهایت باروری سلول‌های اسپرم می‌شود. هدف این مطالعه بررسی تأثیر پنتوکسی فیلین بعنوان آنتی‌اکسیدان، بر کیفیت پارامترهای حرکتی و زنده‌مانی اسپرم قوچ پس از یخ‌گشایی بود. در این پژوهش از ۸ رأس قوچ قزل با میانگین سن ۲ تا ۴ سال، دو بار در هفته با استفاده از مهبل مصنوعی اسپرم‌گیری شد. بمنظور از بین بردن اثرات فردی نمونه انزالها به نسبت مساوی باهم مخلوط شدند. سطوح مختلف پنتوکسی فیلین (۱/۵، ۳ و ۶ میکرومول) به رقیق‌کننده تهیه شده بر پایه لیستین-تریس افزوده شد. نمونه‌ها بعد از پر شدن در پایوت‌ها و طی مراحل سردسازی در بخار ازت منجمد شده و تا زمان ارزیابی در ازت مایع نگهداری شدند. افزودن ۱/۵ و ۳ میکرومول پنتوکسی فیلین موجب افزایش معنی‌دار تحرک کل و پیش‌رونده و همچنین افزایش حرکت خطی اسپرم و نیز زنده‌مانی نسبت به گروه شاهد شد ( $P < 0.05$ ). افزودن ۱/۵ میکرومول پنتوکسی فیلین منجر به افزایش معنی‌دار یکپارچگی غشای پلاسمایی و کاهش اسپرم‌های با مورفولوژی ناسالم و کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدهید نسبت به گروه کنترل شد. بطور کلی افزودن ۱/۵ میکرومول پنتوکسی فیلین به رقیق‌کننده منی سبب بهبود بیشتر پارامترهای حرکتی، افزایش زنده‌مانی و کاهش اسپرم‌های با مورفولوژی ناسالم و کاهش سطح مالون دی‌آلدهید پس از فرآیند انجماد-یخ‌گشایی شد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، پنتوکسی فیلین، تنش اکسیداتیو.

## مقدمه

انجماد سبب القاء تغییرات فراساختاری و بیوشیمیایی بر اسپرم شده و غشاء پلاسمایی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Nazari and Daghighkia, 2021)؛ در نتیجه زنده‌مانی و باروری اسپرم بعد از ذوب تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Holt, 2000). اسپرم قوچ دارای مقادیر بالایی اسیدهای چرب غیراشباع، اشباع و مقدار کمی کلسترول فسفولیپید در غشا سیتوپلاسمی نسبت به سایر پستانداران است و این امر سبب حساسیت زیاد آن نسبت به کاهش دما و انجماد می‌شود (Domínguez et al., 2008). فرآیند سردسازی و انجماد، تنش‌های

امروزه بمنظور ذخیره‌سازی بلندمدت منی دام‌ها از فرآیند انجماد استفاده می‌شود. فناوری انجماد سلول امکان استفاده از فرآورده‌های بیولوژی را در زمان‌ها و مکان‌های مختلف فراهم کرده است. از طرفی حفظ عملکرد اسپرم پس از انجماد و یخ‌گشایی جهت باروری تخمک لازم است (Nazari et al., 2021a). با وجود اینکه نگهداری اسپرم بصورت منجمد نگهداری طولانی‌مدت آن را ممکن می‌کند، ولی روند

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۳- استادیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ایران

(\*)- نویسنده مسئول: (Email: [daghighkia@tabrizu.ac.ir](mailto:daghighkia@tabrizu.ac.ir))

اسپرم غیرطبیعی بعنوان منی نرمال در نظر گرفته شدند؛ در غیر این صورت، نمونه حذف گردید. برای از بین بردن اثرات فردی و احتمالاً اثرات متقابل بین نمونه‌ها، نمونه‌های نرمال در مقادیر مساوی از هر قوچ باهم مخلوط شدند. در این تحقیق از رقیق‌کننده تریس به نسبت ۱:۲۰ به منی استفاده شده (تریس ۲۷/۱ گرم در لیتر، اسیدسیتریک ۱۴ گرم در لیتر، گلوکز ۱۰ گرم در لیتر) و ۷ درصد گلیسرول و ۱ درصد لستین بعنوان محافظت‌کننده سرمایی اضافه شدند. سپس به ۴ لوله آزمایشگاه به هر کدام ۲ سی‌سی بافر اضافه شد. سپس به ۳ لوله سطوح ۱/۵، ۳ و ۶ میکرومولار آنتی‌اکسیدانی اضافه شده و به یک لوله آنتی‌اکسیدانی اضافه نشد (تیمار شاهد). سپس اسپرم به نسبت ۱:۲۰ به هر کدام از لوله‌ها اضافه شده و در مرحله بعد لوله‌ها به یخچال در دمای ۴°C منتقل و پس از دو ساعت سردسازی و تعادل، نمونه‌های منی در پایوت ۰/۲۵ میلی لیتری پر شدند.

### انجماد و یخ‌گشایی

پایوته‌ها بمدت ۷ دقیقه به فاصله ۴ سانتی‌متر از سطح نیتروژن مایع قرار گرفته و سپس در نیتروژن مایع غوطه‌ور شدند. پایوت‌ها بعد از انجماد تا زمان ارزیابی در ازت مایع (۱۹۶°C-) نگهداری شدند. تمامی مراحل در پنج مرحله تکرار شدند. یک ماه پس از انجماد، پایوت‌ها را برای یخ‌گشایی از ازت مایع خارج نموده و در داخل بن ماری با دمای ۳۷°C بمدت ۳۰ ثانیه ذوب شوند. سپس پارامترهای تحرک، زنده‌مانی، مورفولوژی اسپرم‌ها و غلظت مالون‌دی‌آلدئید مورد ارزیابی قرار گرفتند (Daghighi et al., 2021).

### تحرک اسپرم

پس از یخ‌گشایی نمونه‌ها در دمای ۳۷°C، به نسبت ۱:۱۰ رقیق سازی شد (۱۰×۲۰-۱۰ اسپرم در هر میلی) و مقدار ۱۰ میکرولیتر از نمونه را روی لام (Leja, Nieuw-Vanep, Netherlands) از قبل گرم شده قرار داده، و روی صفحه میکروسکوپ (Labomed LX400; Labomed Inc., Culver City, CA, USA) گذاشته و با استفاده از سیستم کامپیوتری ارزیابی اسپرم (CASA, Video Test Sperm 3.1 Russia) در حداقل ۵ زمینه، پارامترهای تحرک کل<sup>۲</sup>، تحرک پیش‌رونده<sup>۲</sup>، و ویژگی‌های کینتیکی حداقل ۲۰۰ اسپرم ارزیابی شدند (Najafi et al., 2017).

### زنده‌مانی (رنگ‌آمیزی اتوزین و نیگروزین)

برای تعیین درصد اسپرم‌های زنده از رنگ‌آمیزی اتوزین نیگروزین استفاده شد. بدین منظور پس از یخ‌گشایی نمونه‌ها، ۱۰ μL نمونه اسپرم رقیق‌شده از هر گروه بر روی یک لام قرار گرفته و با ۲۰ μL از رنگ

فیزیکی و شیمیایی به غشای اسپرم وارد می‌کند که به ترتیب: زنده‌مانی و توانایی باروری آن را کاهش می‌دهد. تنش سرمایی وارده به اسپرم در طول فرآیند سردسازی با تنش اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد ارتباط دارد (Thuwanut et al., 2011). رادیکال‌های آزاد بوسیله آزادسازی الکترون‌های اسیدهای نوکلئیک، لیپیدها و پروتئین‌ها باعث آسیب‌های برگشت‌ناپذیر به سلول می‌شوند (Wang et al., 1997). رادیکال‌های آزاد بیشتر بوسیله سیستم آنتی‌اکسیدانی حذف می‌شوند (S et al., 2017). آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمی در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد دارند. در صورت آسیب یا از بین رفتن این سیستم، پراکسیداسیون لیپیدی غشای پلاسمایی اسپرم منجر به آسیب‌های ساختاری و عملکردی به سلول می‌شود (Baumber et al., 2000). در بسیاری از تحقیقات، از مواد مختلفی برای بهبود کیفیت منی منجمد استفاده شده است. رایج‌ترین محرک‌های حرکتی شامل متیل‌گزامتین‌ها مانند کافئین و پنتوکسی‌فیلین می‌باشند که مهارکننده‌های رقابتی و غیرانتخابی هستند. اثر فسفودی‌استراز آدنوزین مونوفسفات حلقوی باعث افزایش غلظت cAMP داخل سلولی و تقویت فسفوریلاسیون تیروزین در ناحیه دم اسپرم می‌شود (Brie et al., 2016). پنتوکسی‌فیلین می‌تواند بعنوان محافظت‌کننده در برابر ROS عمل کند، همچنین باعث محافظت و یکپارچگی غشاء سلول شده (Stephens et al., 2013) و میزان لیپید پراکسیداسیون را کاهش دهد (Sancler-Silva et al., 2018). بعلاوه در تولیدمثل برای افزایش تحرک اسپرم استفاده می‌شود. پنتوکسی‌فیلین در فناوری تولیدمثلی در انسان استفاده می‌شود (Guasti et al., 2017) و میزان لقاح را افزایش می‌دهد (Kovačič et al., 2006). افزودن پنتوکسی‌فیلین به اسپرم انسان باعث افزایش کراتین‌کیناز<sup>۱</sup> می‌شود که این امر ممکن است باعث افزایش تحرک اسپرم شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر افزودن سطوح مختلف آنتی‌اکسیدان پنتوکسی‌فیلین به منی قوچ قزل در خارج از فصل تولیدمثلی بر روی ویژگی‌های حرکتی و سلامت غشاء اسپرم پس از انجماد و یخ‌گشایی بود.

### مواد و روش‌ها

تهیه نمونه منی در ایستگاه خلعت پوشان دانشگاه تبریز انجام گرفت. جمع‌آوری منی از هشت رأس قوچ قزل با میانگین سن ۲ تا ۴ سال و در شرایط تغذیه‌ای و محیطی یکسان، با استفاده از مهبل مصنوعی و دو بار در هفته و در فصل بهار انجام گرفت. نمونه‌های منی هر یک از قوچ‌ها از نظر حجم، رنگ، تحرک، عدم آلودگی به ادرار و خون و میزان اسپرم با مورفولوژی طبیعی بررسی و سپس نمونه‌های منی با رنگ کرمی، تحرک بیشتر از ۷۰ درصد و کمتر از ۱۰ درصد

بوتیله شده یا (BHT دو درصد در اتانول) به همراه ۱ میلی‌لیتر EDTA به محلول مورد نظر افزوده شد. سپس نمونه‌ها بمدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰×g سانتریفیوژ شدند. پس از اتمام سانتریفیوژ، ۱ میلی‌لیتر از محلول بالایی را برداشته و با ۱ میلی‌لیتر از محلول تیوباریتوریک اسید ۰/۶۷ درصد در یک فالكون مخلوط کرده و بمدت ۲۰ دقیقه در آب °C ۹۵ قرار گرفتند. پس از سرد شدن نمونه‌ها، میزان جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۵۲۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Daghigh Kia and nazari, 2020; Nazari et al., 2021b).

### آنالیز آماری

این طرح دارای ۴ تیمار در ۵ تکرار بود. داده‌های بدست‌آمده برای پارامترهای درصد تحرک کل، تحرک پیش‌رونده، زنده‌مانی، پاسخ به محلول HOST، هانکوک و سطح مالون‌دی‌آلدهید با استفاده از GLM نرم‌افزار (9.3) SAS در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد آنالیز قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون توکی استفاده شد.

### نتایج و بحث

علیرغم بکارگیری تکنیک‌های پیشرفته در انجماد منی، هنوز اسپرم‌های منجمدشده در مقایسه با اسپرم تازه انزال شده از تحرک و زنده‌مانی کمتری برخوردارند (Setyawan et al., 2015). پژوهشگران تلاش می‌کنند تا با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها از کاهش تحرک اسپرم و کاهش آسیب به DNA و افزایش میزان مرگ سلولی در شرایط تنش اکسیداتیو جلوگیری کنند (Vattem and Shetty, 2003). در شرایط فیزیولوژیک یک تعادل بین تولید ROS و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی منی وجود داشته و تولید بیش از حد ROS موجب به هم خوردن این تعادل و اختلال در عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی منی و در نهایت عملکرد اسپرم‌ها می‌شود (Baumber et al., 2000). نشان داده شده است که در اسپرم، cAMP پروتئین کیناز (PKA) را فعال می‌کند که وظیفه تنظیم فسفوریلاسیون تیروزین را بر عهده دارد که یک مسیر تنظیمی مهم در تعدیل وقایع مرتبط با ظرفیت پذیری اسپرم است (Yovich, 1993)، این امر باعث می‌شود که آکروزم اسپرم سالم مانده و از هاپراکتیو شدن آن جلوگیری شود. در مورد تأثیر پنتوکسی‌فیلین در اسپرم منجمدشده اختلاف نظر وجود دارد. بعضی از گزارش‌ها نشان داده‌اند که پنتوکسی‌فیلین تأثیر مفیدی در کاهش واکنش آکروزومی بعد از انجماد دارد. مکانیسم‌های تأثیر پنتوکسی‌فیلین بر وضعیت اسپرم را می‌توان در چند دسته: مهار فسفودی‌استراز، افزایش تبدیل ATP به cAMP، تأثیر بر نقل و انتقال کلسیم داخل سلولی و از بین بردن رادیکال‌های آزاد ناشی از دژنراسیون و نکروز اسپرم‌ها خلاصه کرد (Yovich, 1993). پنتوکسی‌فیلین با مهار آنزیم فسفودی‌استراز سبب

آنوزین نیگروزین مخلوط گردید. سپس توسط یک لام دیگر نمونه رنگ‌شده بر روی لام گسترش‌یافته و پس از خشک شدن، توسط میکروسکوپ فاز کنتراست با بزرگنمایی  $\times 40$  و شمارش 200 اسپرم، درصد اسپرم‌های زنده (رنگ نشده) و مرده (رنگ‌شده) تعیین شدند.

### ارزیابی مورفولوژی اسپرم

15 میکرولیتر از هر نمونه منی را به میکروتیوب‌های حاوی  $\mu\text{L}$  ۱۵۰ از محلول هانکوک افزوده شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای °C ۳۷ داخل بن ماری نگهداری شد سپس یک قطره از این مخلوط را روی لام قرار داده و توسط یک لامل پوشانده و با شمارش حداقل 200 اسپرم زیر میکروسکوپ فاز کنتراست با بزرگنمایی  $\times 40$ ، درصد اسپرم‌های غیرطبیعی محاسبه شدند (Nazari et al., 2021c).

### سلامت غشاء پلاسمایی اسپرم<sup>۱</sup>

برای ارزیابی سلامت غشا اسپرم از آزمون هاست استفاده شد. برای این منظور  $\mu\text{L}$  ۱۰ از مایع منی به  $\mu\text{L}$  ۱۰۰ محیط هاپیواسموتیک هاست (۹ گرم فروکتوز، ۴/۹ گرم سیترات سدیم، ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با اسمولاریته ۱۰۰ میلی‌اسمول) اضافه گردید. با توجه به اینکه فشار اسمزی مورد نیاز برای اسپرم قوچ ۳۷۵-۳۲۵ میلی‌اسمول بر کیلوگرم بوده و میزان فعالیت اسمزی محلول هاست ۱۰۰ میلی‌اسمول در کیلوگرم است، بنابراین قرار گرفتن در محیطی با فشار اسمزی پایین‌تر (هایپو اسمول) می‌تواند باعث تمایز اسپرم‌های با غشای سالم از اسپرم‌هایی با غشای آسیب‌دیده گردد. بدین‌صورت که دم اسپرم‌های سالم پس از مواجهه با این محیط متورم شده و به شکل پیچ‌خورده درمی‌آید. بمنظور انجام این آزمایش،  $\mu\text{L}$  ۱۰ از نمونه اسپرم ذوب شده با  $\mu\text{L}$  ۱۰۰ از محلول هاپیواسمول فوق درون یک میکروتیوب مخلوط شده و بمدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور با دمای °C ۳۷ انکوبه شدند. سپس  $\mu\text{L}$  ۵ از محلول فوق بر روی یک لام قرار گرفته و درصد اسپرم‌های با دم متورم و پیچ‌خورده با شمارش 200 اسپرم و بزرگنمایی  $\times 40$  با میکروسکوپ فاز کنتراست تعیین گردید.

### مالون‌دی‌آلدهید

بمنظور تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدهای اسپرم از آزمون TBARS استفاده شد. در این آزمون، میزان مالون دی‌آلدهید بعنوان شاخصی از میزان پراکسیداسیون لیپیدها از طریق واکنش با تیوباریتوریک اسید اندازه‌گیری شد. بدین منظور، ابتدا بمنظور رسوب پروتئین‌ها، ۱ میلی‌لیتر از محلول هر گروه تیماری بعد از ذوب در دمای °C ۳۷ با ۲ میلی‌لیتر اسیدتری کلرواستیک در یک لوله استریل مخلوط شده و سپس جهت جلوگیری از وقوع پراکسیداسیون لیپیدی در طی زمان انجام آزمایش، مقدار ۱ میلی‌لیتر از محلول هیدروکسی تولوئن

اسپرم می‌شود (Gradil and Ball, 2000). محققین گزارش کردند که این دارو می‌تواند بر تحرک اسپرم تأثیر مثبتی داشته باشد. پنتوکسی فیلین و کافئین سبب افزایش میزان تحرک و طول عمر اسپرم در حالت تازه و منجمد در گونه‌های مختلف پستانداران شده است (Jenagrad et al., 2018).

افزایش سطح cAMP در داخل سلول می‌شود (Kim et al., 2016). این افزایش باعث افزایش ATP می‌شود که بدنبال آن، سبب گلیکولیز سلولی، تولید انرژی، افزایش تحرک اسپرم و افزایش تولید ATP می‌گردد (Park et al., 2000). همچنین محققان گزارش کردند که افزودن پنتوکسی فیلین به مایع منی باعث افزایش پارامترهای حرکتی

جدول ۱- مقایسه ویژگی‌های تحرک اسپرم منجمد-یخ‌گشایی شده قوچ قزل در بین سطوح مختلف آنتی اکسیدان پنتوکسی فیلین (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

Table 1- Comparison of motility parameters of post thawed ram sperm among different levels of antioxidant pentoxifylline (Mean  $\pm$  SEM)

| Variable<br>متغیر                                                                          | Control<br>کنترل   | 1.5 $\mu$ M<br>۱/۵ میکرومولار | 3 $\mu$ M<br>۳ میکرومولار | 6 $\mu$ M<br>۶ میکرومولار | SEM   | P value |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|-------|---------|
| حرکت پیش‌رونده<br>Progressive Motility (%)                                                 | 24.20 <sup>b</sup> | 28.00 <sup>a</sup>            | 28.80 <sup>a</sup>        | 26.20 <sup>ab</sup>       | 0.897 | 0.0107  |
| تحرک کل<br>Total Motility (%)                                                              | 45.40 <sup>b</sup> | 53.40 <sup>a</sup>            | 53.20 <sup>ab</sup>       | 50.04 <sup>ab</sup>       | 1.58  | 0.0084  |
| میانگین سرعت در مسیر مستقیم (میکرومتر بر ثانیه)<br>average path velocity ( $\mu$ m.sec)    | 17.27              | 19.38                         | 20.6                      | 19.87                     | 1.64  | 0.5378  |
| سرعت اسپرم در خط مستقیم (میکرومتر بر ثانیه)<br>straight linear velocity ( $\mu$ m.sec)     | 12.88              | 15.93                         | 16.94                     | 16.12                     | 1.36  | 0.2041  |
| سرعت واقعی اسپرم در مسیر طی شده (میکرومتر بر ثانیه)<br>curvilinear velocity ( $\mu$ m.sec) | 50.26              | 54.66                         | 54.69                     | 53.97                     | 3.17  | 0.7253  |
| معیار مستقیم بودن حرکت اسپرم (درصد)<br>straightness (%)                                    | 74.49 <sup>b</sup> | 82.15 <sup>a</sup>            | 82.49 <sup>a</sup>        | 81.21 <sup>ab</sup>       | 1.81  | 0.0204  |
| معیار خطی بودن اسپرم (درصد)<br>linearity (%)                                               | 26.07              | 28.76                         | 29.63                     | 30.35                     | 2.06  | 0.5005  |
| بیشترین دامنه حرکت جانبی (میکرومتر)<br>amplitude of lateral head displacement ( $\mu$ m)   | 1.53               | 1.54                          | 1.47                      | 1.57                      | 0.12  | 0.5816  |
| فرکانس حرکت جانبی (هرتز)<br>beat/cross frequency (Hz)                                      | 14.16              | 15.35                         | 14.28                     | 14.96                     | 0.82  | 0.7049  |

<sup>a,b</sup> میانگین‌ها با حروف ناهمسان بین تیمارها در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Mean within same column with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

تأثیر افزودن سطوح مختلف مخلوط آنتی اکسیدان پنتوکسی فیلین بر فراسنجه‌های حرکتی اسپرم در جدول شماره یک نشان داده شده است. نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان می‌دهد که افزودن همه سطوح آنتی اکسیدان‌ها به منی قوچ در فصل غیرتولیدمثل باعث افزایش حرکت پیش‌رونده اسپرم‌ها می‌شود، اما این افزایش در تیمارهای دریافت کننده سطوح ۱/۵ و ۳ میکرومولار نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). بالاترین میزان پارامترهای حرکتی تقریباً متعلق به تیمار ۳ میکرومولار بود. افزودن ۱/۵ و ۳ میکرومولار آنتی اکسیدان پنتوکسی فیلین باعث افزایش معنی‌دار تحرک کل در مقایسه با تیمار کنترل شد ( $P < 0.05$ ). بالاترین میزان، مربوط به تیمار سطح ۱/۵ میکرومولار بود. نتایج حاکی از آن است که پارامتر STR با افزودن تیمار ۱/۵ و ۳ میکرومولار بطور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). اگرچه تفاوت معنی‌داری در پارامترهای VAP, VCL, ALH و VSL, BCF, LIN بین تیمار کنترل و سایر تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد، ولی این پارامترها با افزودن تیمارها، نسبت به تیمار شاهد روند

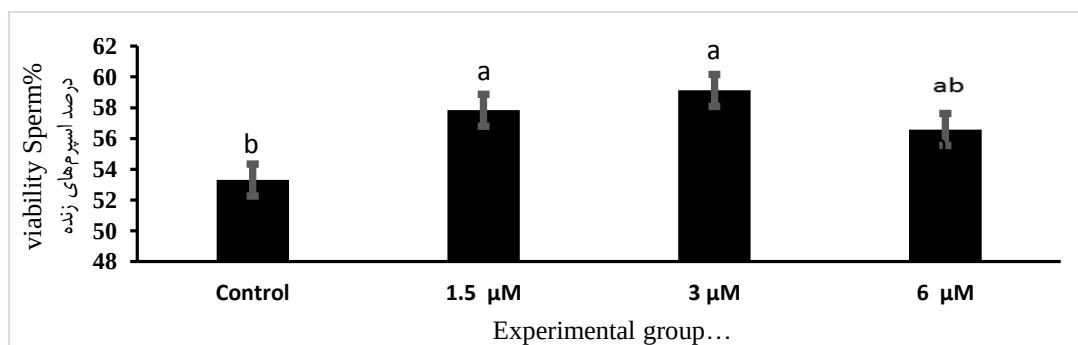
افزایشی نشان دادند، که همسو با گزارشی بود که در آن افزودن ۵ و ۱۰ میلی‌مولار پنتوکسی فیلین به منی سگ باعث افزایش تحرک پیش‌رونده اسپرم در هنگام ذوب شد (Leciewicz et al., 2019). همچنین در تحقیقی دیگر گزارش کردند که افزودن ۳/۵ تا ۷ میلی‌مولار از این آنتی اکسیدان، باعث افزایش تحرک پیش‌رونده اسپرم اسب شد (Stephens et al., 2013). پنتوکسی فیلین سبب بهبود وضعیت فیزیولوژیک اسپرم و همچنین افزایش میزان موفقیت در لقاح خارج رحمی (IVF) شد (Rizk et al., 1995). تحرک پیش‌رونده اسپرم وابسته به سطح ATP سلول است (Megory et al., 1987). تحرک اسپرم یکی از پارامترهای اصلی کیفیت نمونه‌های یخ‌زده منی برای تلقیح مصنوعی است (Van den Berghe et al., 2018). پنتوکسی فیلین می‌تواند بعنوان محافظت‌کننده در برابر ROS عمل کرده، باعث محافظت و یکپارچگی غشاء سلول می‌شود (Yovich, 1993). این آنتی اکسیدان سبب کاهش میزان تنش اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنتی اکسیدان‌های آنزیمی می‌شود (Wong et al., 2002). افزودن

(Centola et al., 1995).

نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان می‌دهند که تیمارهای ۱/۵ و ۳ میکرومولار بطور معنی‌داری باعث افزایش درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها پس از انجماد-یخ‌گشایی نسبت به گروه کنترل شد ( $P < 0.05$ ) (شکل ۱). بالاترین میزان افزایش زنده‌مانی متعلق به گروه دریافت‌کننده تیمار ۳ میکرولیتر بود. پنتوکسی‌فیلین بر نقل‌وانتقال داخل سلولی کلسیم تأثیر گذاشته و باعث از بین رفتن رادیکال‌های آزاد ناشی از دژنراسیون و نکرور اسپرم می‌شود، این امر افزایش زنده‌مانی اسپرم تیمار شده با پنتوکسی‌فیلین را توجیه می‌کند (Yovich, 1993) که با نتایج ما همخوانی دارد.

پنتوکسی‌فیلین به اسپرم انسانی فعالیت پروتئین کراتین‌کیناز را افزایش می‌دهد، این امر میزان تحرک اسپرم را افزایش می‌دهد (Banihani and Abu-Alhayjaa, 2016).

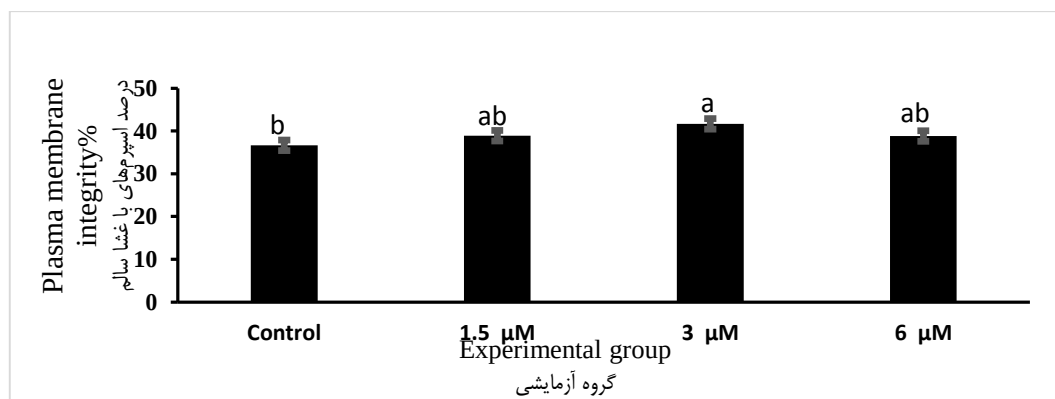
در این مطالعه افزودن سطوح ۱/۵ و ۳ میکرومولار پنتوکسی‌فیلین در مایع منی باعث افزایش معنی‌دار حرکت پیش‌رونده و تحرک کل شد که با نتایج یک تحقیقی که در آن افزودن مهارکننده فسفودی استراز، کافئین و پنتوکسی‌فیلین، باعث افزایش پارامترهای تحرک در منی سگ شد، در توافق است (Lecewicz et al., 2019). همچنین کنتولا و همکاران گزارش کردند که اضافه کردن پنتوکسی‌فیلین هم در نمونه‌های حاصل از مردان مبتلا به آستنواسپرمی و هم در نمونه‌های طبیعی می‌تواند باعث افزایش قابل ملاحظه میزان تحرک اسپرم شود



شکل ۱- اثر استفاده از آنتی‌اکسیدان پنتوکسی‌فیلین بر زنده‌مانی اسپرم‌های پس از یخ‌گشایی  
Figure 1- Effect of using antioxidant pentoxifylline on sperm Viability after thawing

معنی‌دار میزان یکپارچگی غشاء اسپرم‌های دریافت‌کننده تیمار نسبت به گروه کنترل می‌شود ( $P < 0.05$ ) (شکل ۲).

بیشتر صدمات ناشی از انجماد اسپرم بر غشاء پلاسمایی آن وارد می‌شود (LUCIO et al., 2016). نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها بیانگر آن است که افزودن ۳ میکرومولار پنتوکسی‌فیلین باعث افزایش



شکل ۲- اثر استفاده آنتی‌اکسیدان پنتوکسی‌فیلین بر سلامت غشاء اسپرم‌های پس از یخ‌گشایی  
Figure 2- Effect of using antioxidant pentoxifylline on plasma membrane integrity of sperm after thawing

پروتئین‌ها گردد (Zhang et al., 2019). سطوح بالای ROS می‌تواند سبب آسیب DNA اسپرم شده و در نتیجه موجب کاهش زنده‌مانی

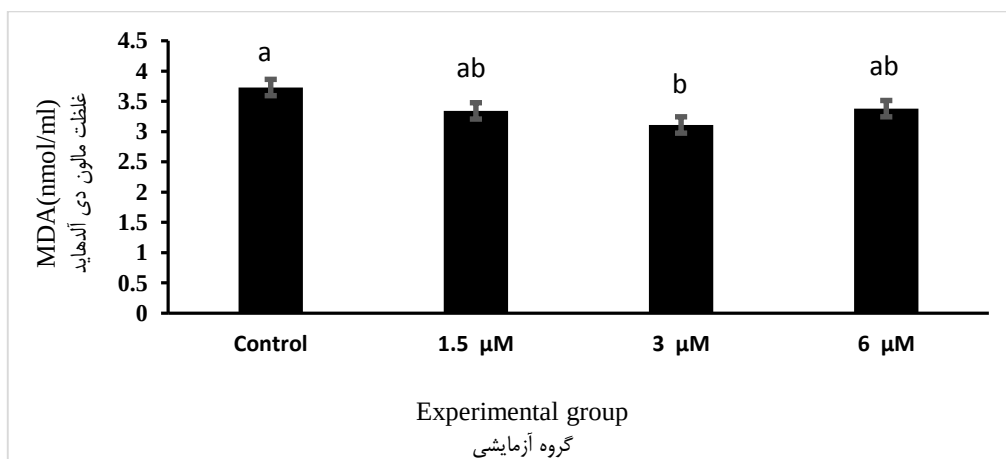
تحقیقات نشان داده است که مالون‌دی‌آلدئید بعنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی، می‌تواند باعث تخریب کربوهیدرات‌ها و



اسپرم شود (Sancler-Silva et al., 2018)

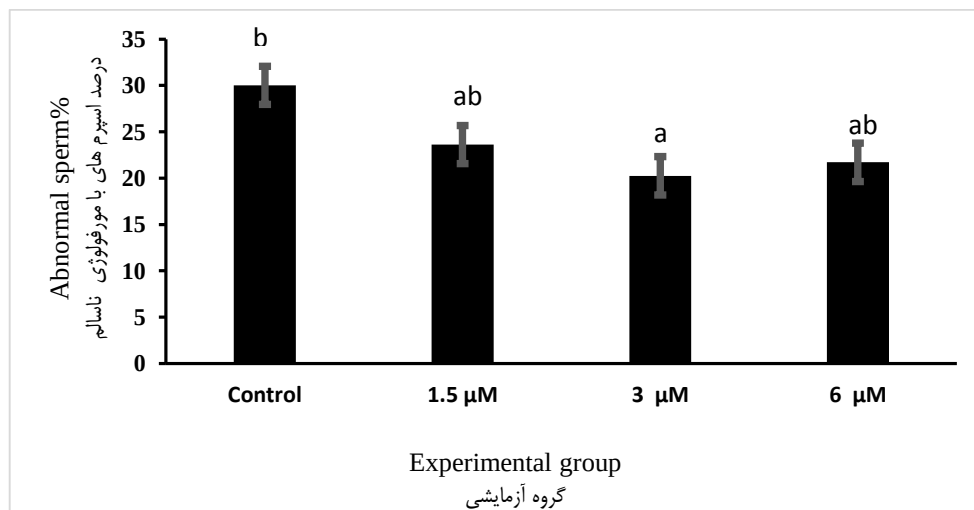
پنتوکسی فیلین می‌تواند بعنوان محافظت‌کننده در برابر ROS عمل کند. محققین گزارش کردند که موش‌هایی که پنتوکسی فیلین به تنهایی و یا همراه با ملاتونین دریافت کردند، پراکسیداسیون لیپیدی بطور معنی‌داری کمتر از گروه دریافت‌کننده ملاتونین بود؛ همینطور

گزارش کردند که پنتوکسی فیلین باعث تعدیل آنزیم‌های SOD و CAT می‌شود (Ranjbar and Baeri, 2013). نتایج حاصل از تحقیق حاضر در شکل ۳ نشان می‌دهد افزودن ۳ میکرومولار به نمونه مایع منی قبل از انجماد باعث کاهش معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدی در موقع ذوب نمونه‌ها می‌شود.



شکل ۳- اثر استفاده از آنتی‌اکسیدان پنتوکسی فیلین بر میزان مالون دی‌آلدئید موجود در پلاسمای منی پس از یخ‌گشایی

Figure3- Effect of using antioxidant pentoxifylline on seminal plasma Malondialdehyde after thawing



شکل ۴- اثر استفاده از آنتی‌اکسیدان پنتوکسی فیلین بر میزان اسپرم‌های ناسالم پس از یخ‌گشایی

Figure 4- Effect of using antioxidant pentoxifylline on abnormal sperm after thawing

افزودن ۳ میکرومولار پنتوکسی فیلین باعث کاهش درصد اسپرم‌های ناسالم و همچنین کاهش معنی‌دار غلظت مالون دی‌آلدئید نسبت به گروه کنترل شد ( $P < 0.05$ ) (شکل ۴)، که این مغایر با گزارش (Leciewicz et al., 2019) است که نشان داد افزودن پنتوکسی فیلین بر اسپرم سگ تأثیر بسزایی در سلامت غشا اسپرم نداشت.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان دادند که استفاده از ۳ میکرومولار پنتوکسی فیلین در رقیق‌کننده سبب بهبود معنی‌دار پارامترهای عملکردی اسپرم-های قوچ قزل‌پس از انجماد-یخ‌گشایی در فصل غیرتولیدمثلی شد.



## References

1. Banihani, S. and R. Abu- Alhayjaa. 2016. The activity of seminal creatine kinase is increased in the presence of pentoxifylline. *Andrologia*, 48(5):603-4.
2. Baumber, J., B. A. Ball, C. G. GRAVANCE, V. Medina and M. C. DAVIES- MOREL. 2000. The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential, and membrane lipid peroxidation. *Journal of andrology*, 21(6):895-902.
3. Brie, D., A. Sahebkar, P. E. Penson, M. Dinca, S. Ursoniu, M.-C. Serban, A. Zanchetti, G. Howard, A. Ahmed and W. S. Aronow. 2016. Effects of pentoxifylline on inflammatory markers and blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of hypertension*, 34(12):2318-29.
4. Centola, G., R. Cartie and C. Cox. 1995. Differential responses of human sperm to varying concentrations of pentoxifylline with demonstration of toxicity. *Journal of andrology*, 16(2):136-42.
5. Daghigh Kia, H. and M. Nazari. 2020. Effect of combination of MitoQ as a targeted antioxidant and Pentoxifylline as a non-targeted in Lake based extender on functional quality of rooster sperm during chilled storage on 4°C. *Journal of Animal Science Research*, 30(3):71-83.
6. Daghigh Kia, H., M. Nazari and J. Emami. 2021. Effect of cysteamine amino acid supplementation on reduced lipid peroxidation rate of rooster sperm during freezing-thawing. *Journal of Animal Science Research*, 31(3):113-24. (In Persian).
7. Domínguez, M., A. Falcinelli, F. Hozbor, E. Sanchez, A. Cesari and R. Alberio. 2008. Seasonal variations in the composition of ram seminal plasma and its effect on frozen-thawed ram sperm. *Theriogenology*, 69(5):564-73.
8. Gradil, C. and B. Ball. 2000. The use of pentoxifylline to improve motility of cryopreserved equine spermatozoa. *Theriogenology*, 54(7):1041-7.
9. Guasti, P., G. Monteiro, R. Maziero, M. Carmo, J. Dell'Aqua Jr, A. Crespilho, E. Rifai and F. Papa. 2017. Pentoxifylline effects on capacitation and fertility of stallion epididymal sperm. *Animal reproduction science*, 179:27-34.
10. Holt, W. 2000. Fundamental aspects of sperm cryobiology: the importance of species and individual differences. *Theriogenology*, 53(1):47-58.
11. Jenagrad, P. A., H. D. Kia, G. Moghaddam and M. Ebrahimi. 2018. Evaluating caffeine antioxidant properties on Ghezel ram sperm quality after freeze-thawing. *REVUE DE MEDECINE VETERINAIRE*, 169(10-12):233-40.
12. Kim, H. K., S.-H. Hwang, S. O. Lee, S. H. Kim and S. Abdi. 2016. Pentoxifylline ameliorates mechanical hyperalgesia in a rat model of chemotherapy-induced neuropathic pain. *Pain Physician*, 19(4):E589-E600.
13. Kovačič, B., V. Vlaisavljević and M. Reljić. 2006. Clinical use of pentoxifylline for activation of immotile testicular sperm before ICSI in patients with azoospermia. *Journal of andrology*, 27(1):45-52.
14. Lecewicz, M., R. Strzeżek, A. M. Majewska, P. S. Purpurowicz and W. Kordan. 2019. The effect of different concentrations of caffeine, pentoxifylline and 2'-deoxyadenosine on the biological properties of frozen-thawed canine semen. *Annals of Animal Science*, 1(ahead-of-print).
15. Lucia, C. D. F., D. D. S. R. Andrimani, M. M. Brito and C. I. Vannucchi. 2016. Oxidative Stress Challenges During The Sperm Cryopreservation in Dogs/Desafios del Estres Oxidativo Durante La Criopreservación Espermática en Perros. *Journal of Veterinary Andrology*, 2(1)
16. Megory, E., Z. Shoham, I. Madgar, B. Lunenfeld, M. Modan and R. Weissenberg. 1987. ATP content in human semen and sperm quality. *Archives of andrology*, 19(3):243-7.
17. Najafi, A., H. Daghigh-Kia, H. V. Dodaran, M. Mehdipour and M. Alvarez-Rodriguez. 2017. Ethylene glycol, but not DMSO, could replace glycerol inclusion in soybean lecithin-based extenders in ram sperm cryopreservation. *Animal reproduction science*, 177:35-41.
18. Nazari, M., H. Daghigh Kia, M. Ebrahimi, A. Najafi and M. Mehdipour. 2021a. Effect of 2, 4 dinitrophenol as a targeted antioxidant on Ghezel ram sperm on functional quality performance after freeze-thawing process of semen on non-breeding season. *Animal Sciences Journal*, 34(130):181-90. (In Persian).
19. Nazari, M., H. Daghigh Kia, A. Najafi, M. Mahdipour and J. Emami. 2021b. Effect of Different Levels of 2, 4 Dinitrophenol and Luteolin on Semen Quality of Rooster during Freezing-Thawing Process. *Research on Animal Production*, 12(34):109-17. (In Persian).
20. Nazari, M. and H. Daghighkia. 2021. Investigating the process of surviving sperm in oviduct to get a method for sperm storage without cryopreservation. *Journal of Cell & Tissue*, 12(4):260-72. (In Persian).

21. Nazari, M., H. Daghighkia and A. Najafi. 2021c. Study of different levels of Vitamin A supplementation in extender on sperm quality in cooling storing and cryopreservation condition in Ghezel ram. *Journal of Cell & Tissue*, 12(2):134-45.
22. Park, W. S., Y. S. Chang and M. Lee. 2000. The efficacy of pentoxifylline as an anti-inflammatory agent in experimental *Escherichia coli* meningitis in the newborn piglet. *Neonatology*, 77(4):236-42.
23. Ranjbar, A. and M. Baeeri. 2013. The effect of pentoxifylline on malathion-induced mitochondrial damage in rat liver. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 15(4):83-92.
24. Rizk, B., S. Fountain, S. Avery, C. Palmer, M. Blayney, M. Macnamee, C. Mills and P. Brinsden. 1995. Successful use of pentoxifylline in male-factor infertility and previous failure of in vitro fertilization: a prospective randomized study. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 12(10):710-4.
25. S, S., G. M, R. J, H. D, H. J and Z. N. 2017. Evaluation the effects of different levels of vitamin E and Nano Selenium on sperm quality parameters of Leghorn rooster during chilled storage on 4°C. *Journal of Animal Science Researches*, 26(4):59-70.
26. Sancler-Silva, Y., B. Ball, A. Esteller-Vico, E. Silva-Júnior, C. Freitas-Dell'aqua and F. Papa. 2018. Sperm quality of stallions treated with pentoxifylline after scrotal heat stress. *Journal of Equine Veterinary Science*, 66:87.
27. Setyawan, E. M. N., M. J. Kim, H. J. Oh, G. A. Kim, Y. K. Jo, S. H. Lee, Y. B. Choi and B. C. Lee. 2015. Maintaining canine sperm function and osmolyte content with multistep freezing protocol and different cryoprotective agents. *Cryobiology*, 71(2):344-9.
28. Stephens, T. D., R. M. Brooks, J. L. Carrington, L. Cheng, A. C. Carrington, C. A. Porr and R. K. Splan. 2013. Effects of pentoxifylline, caffeine, and taurine on post-thaw motility and longevity of equine frozen semen. *Journal of equine veterinary science*, 33(8):615-21.
29. Thuwanut, P., K. Chatdarong, A.-S. Bergqvist, L. Söderquist, K. Thiangtum, D. Tongthainan and E. Axné. 2011. The effects of antioxidants on semen traits and in vitro fertilizing ability of sperm from the flat-headed cat (*Prionailurus planiceps*). *Theriogenology*, 76(1):115-25.
30. Van den Berghe, F., M. C. J. Paris, M. B. Briggs, W. K. Farstad and D. B. B. P. Paris. 2018. A two-step dilution tris-egg yolk extender containing Equex STM significantly improves sperm cryopreservation in the African wild dog (*Lycaon pictus*). *Cryobiology*, 80:18-25.
31. Vatter, D. A. and K. Shetty. 2003. Ellagic acid production and phenolic antioxidant activity in cranberry pomace (*Vaccinium macrocarpon*) mediated by *Lentinus edodes* using a solid-state system. *Process Biochemistry*, 39(3):367-79.
32. Wang, Y., R. Sharma and A. Agarwal. 1997. Effect of cryopreservation and sperm concentration on lipid peroxidation in human semen. *Urology*, 50(3):409-13.
33. Wong, W. Y., H. M. Merkus, C. M. Thomas, R. Menkveld, G. A. Zielhuis and R. P. Steegers-Theunissen. 2002. Effects of folic acid and zinc sulfate on male factor subfertility: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Fertility and sterility*, 77(3):491-8.
34. Yovich, J. L. 1993. Pentoxifylline: actions and applications in assisted reproduction. *Human reproduction*, 8(11):1786-91.
35. Zhang, J., X. Bao, M. Zhang, Z. Zhu, L. Zhou, Q. Chen, Q. Zhang and B. Ma. 2019. MitoQ ameliorates testis injury from oxidative attack by repairing mitochondria and promoting the Keap1-Nrf2 pathway. *Toxicology and applied pharmacology*, 370:78-92.



## Effect of *Nigella Sativa* meal with multi enzyme on growth performance and blood biochemical parameters of broiler chickens

Davood Ershadi<sup>1</sup>, Bahman Navidshad<sup>2</sup>, Hossein Mohebodini<sup>3</sup>, Farzad Mirzaei Aghjehgheshlagh<sup>2</sup>, Samira Karamati Jabejdar<sup>4</sup>

Received: 24-08-2020

Revised: 30-01-2021

Accepted: 08-05-2021

Available Online: 07-06-2022

### How to cite this article:

Ershadi, D., B. Navidshad, H. Mohebodini, F. Mirzaei Aghjehgheshlagh and S. Karamati Jabejdar. 2022. Effect of *Nigella Sativa* meal with multi enzyme on growth performance and blood biochemical parameters of broiler chickens. Iranian Journal of Animal Science Research 14(1):65-81.

[DOI:10.22067/ijasr.2021.38312.0](https://doi.org/10.22067/ijasr.2021.38312.0)

**Introduction:** This study was performed to evaluate the effects of *nigella sativa* meal and multi enzyme on growth performance, relative weight of carcass components, blood parameters and intestinal morphology of broiler chicken.

**Materials and Methods:** The experiment was carried out in a completely randomized design with five treatments in four replicates and 14 chickens in each replicate (80 chickens). Broiler chickens was fed with diets including: without *nigella sativa* meal and enzymes (control), 7.5% *nigella sativa* meal (without enzymes), 7.5% *nigella sativa* meal with 0.2% multi enzyme, 15% *nigella sativa* meal (without enzymes) and 15% *nigella sativa* meal with 0.2% multi enzyme for 42 days. Then, the performance of chickens, blood biochemical indicators, intestinal morphology and economic index were measured and recorded. Finally, the analysis of data was performed using GLM method by SAS software. The means were compared using Duncan's multiple range tests.

**Results and Discussion:** The results showed that, treatments did not have a significant effect on feed intake, daily weight gain and feed conversion ratio during the growth period. Whereas, the effect of experimental treatments was significant on feed intake, daily weight gain and feed conversion ratio in the finishing period. The lowest feed conversion ratio was observed in chickens fed control group and 7.5% *nigella sativa* meal without enzyme ( $P < 0.05$ ). In total experimental period, the lowest feed intake and weight gain were observed in the groups receiving 15% *nigella sativa* meal (both with and without enzymes;  $P < 0.05$ ). The lowest feed conversion ratio was observed in the control group and the group receiving 7.5% enzyme-free *nigella sativa* meal ( $P < 0.05$ ). Finally, in the total experimental period, the final body weight was significantly the highest in the control group ( $P < 0.05$ ). The high levels of *nigella sativa* meal and enzymes used in this study may have significantly reduced feed intake and feed conversion ratio due to the increase in fiber intake compared to lower levels. On the other hand, the use of different levels of *nigella sativa* meal and enzymes did not have significant effect on carcass percentages and carcass components, only using 15% *nigella sativa* meal without enzymes increased the ratio of intestinal length to live weight compared to other treatments. Due to the different results presented in different studies, the levels of use of *nigella sativa* meal in this study are probably less than the level affecting the relative weight of body organs. According to blood indices, the different treatments did not have any significant effect on serum lipids include cholesterol, triglyceride, HDL and LDL. The lack of significant effect of using different levels of *nigella sativa* meal in the present study is probably due to the use of low levels. Indeed, the use of enzymes with high

1- Graduated MSc. in Poultry nutrition, Department of Animal Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

2- Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

3- Associate Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

4- Graduated PhD. in Animal nutrition, Department of Animal Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

\*corresponding author Email: [bnavidshad@uma.ac.ir](mailto:bnavidshad@uma.ac.ir)

levels of *nigella sativa* meal resulted in significantly increase in height of villus jejunum and ileum compared to the control group ( $P<0.05$ ). The thickness of villus jejunum and ileum of broiler chicken fed 7.5% *nigella sativa* meal without enzyme increased significantly than the other treatments ( $P<0.05$ ). The use of 15% *nigella sativa* meal significantly decreased villus height to crypt depth ratio of jejunum and ileum than the same level without enzymes, but 7.5% *nigella sativa* meal with enzyme resulted in higher villus height to crypt depth ratio than the without enzymes group ( $P<0.05$ ). The improvement in villi height to crypt depth ratio may be related to the antimicrobial properties of black seed. For this reason, when the microbial activity in the contents of the intestine decreases at the surface of brush border, the need for enterocytes and new cells to multiply in the intestine decreases, resulting in higher villi height and less crypt depth. Since the main source of protein in poultry diets comes from soybean meal, replacing new and inexpensive sources is a great economic help to reduce feed costs. The replacement of soybean meal by *nigella sativa* meal decrease feed costs and increase profitability without adversely affecting the broilers.

**Conclusion:** According to the results, the use of *nigella sativa* meal reduced the performance of chickens and the use of enzyme supplements could not eliminate these negative effects. On the other hand, 7.5% *nigella sativa* meal (without enzyme supplements) had a positive effect on morphometric indices.

**Keywords:** Growth Performance, Morphometric, Multi Enzyme, *Nigella Sativa*.



## مقاله پژوهشی

# اثر کنجاله سیاه دانه همراه با مولتی آنزیم بر عملکرد رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی

داود ارشادی<sup>۱</sup>، بهمن نویدشاد<sup>۲\*</sup>، حسین محب‌الدینی<sup>۳</sup>، فرزاد میرزائی آقچه قشلاق<sup>۴</sup>، سمیرا کرامتی جبه دار<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۰۳

تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۱۱/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۸

ارشادی، د.، ب. نویدشاد، ح. محب‌الدینی، ف. میرزائی آقچه قشلاق و س. کرامتی جبه دار. ۱۴۰۱. اثر کنجاله سیاه دانه همراه با مولتی آنزیم بر عملکرد رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۴(۱): ۸۱-۶۵.

## چکیده

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر کنجاله سیاه دانه همراه با مولتی آنزیم بر عملکرد رشد و برخی عوامل مرتبط با سلامت جوجه‌های گوشتی انجام گرفت. آزمایش مذکور در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۵ تکرار با تعداد ۱۴ قطعه جوجه گوشتی راس ۳۰۸ در هر تکرار و جمعاً با ۳۵۰ قطعه جوجه گوشتی انجام شد. تیمارها شامل: جیره بدون کنجاله سیاه دانه و آنزیم (شاهد)، ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه (بدون آنزیم)، ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه و ۰/۲ درصد مولتی آنزیم، ۱۵ درصد کنجاله سیاه دانه و ۰/۲ درصد مولتی آنزیم، ۱۵ درصد کنجاله سیاه دانه و ۰/۲ درصد مولتی آنزیم (هر دو حالت با آنزیم) بودند. شاخص‌های مورد بررسی شامل عملکرد رشد، درصد لا شه و وزن نسبی اجزای لا شه، برخی لیپیدهای سرم خون و ریخت‌سنجی مخاط روده بودند. بطوری‌که کمترین ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های تغذیه شده با جیره شاهد و جیره حاوی ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه بدون آنزیم مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). در کل دوره آزمایشی نیز کمترین مصرف خوراک و افزایش وزن در گروه‌های دریافت‌کننده ۱۵ درصد کنجاله سیاه دانه (هر دو حالت با آنزیم و بدون آنزیم) مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). کمترین ضریب تبدیل غذایی نیز در گروه شاهد و گروه دریافت‌کننده ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه بدون آنزیم مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). در نهایت در کل دوره آزمایشی وزن نهایی بدن در تیمار شاهد بیشترین بود. بیشترین میزان ضخامت پرز ژنوم و ایلئوم نیز در جوجه‌های دریافت‌کننده ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه بدون آنزیم نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). بطور کلی، بر اساس نتایج حاصل استفاده از کنجاله سیاه دانه باعث افت عملکرد جوجه‌ها شده و استفاده از مکمل آنزیمی هم نتوانست این اثرات منفی را رفع کند. استفاده از سطح ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه تأثیر مثبتی بر شاخص‌های ریخت‌سنجی (بدون مصرف آنزیم) در جوجه‌های گوشتی نشان داد.

**واژه‌های کلیدی:** جوجه گوشتی، ریخت‌سنجی، عملکرد، کنجاله سیاه دانه، مولتی آنزیم.

## مقدمه

می‌شود. تحقیقات زیادی در این زمینه برای کاهش هزینه‌ها و ابداع راه‌های نوین جهت بهره‌وری بیشتر صورت گیرد. از آنجایی که بخش

صنعت پرورش و نگهداری طیور یکی از شاخه‌های دامپروری می‌باشد که از دیرباز بخش عظیمی از سرمایه‌گذاری و اشتغال را شامل

۱- دانش آموخته‌ی کارشناسی ارشد تغذیه طیور، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

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

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

۴- دانش آموخته‌ی دکتری تغذیه دام، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(Email: [bnavidshad@uma.ac.ir](mailto:bnavidshad@uma.ac.ir))

\*- نویسنده مسئول:

(Mahmoud et al., 1992). ترکیب شیمیایی اصلی اسانس سیاه دانه ماده تیموکوئینون است که ۲۴ تا ۲۸/۴ درصد از روغن سیاه دانه را شامل می‌شود و دارای خواص ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانی، ضد حساسیت و ضد التهاب می‌باشد (Arslan et al., 2005)، افزودن عصاره اتانولی سیاه دانه به روغن ذرت مانع از آسیب‌های اکسیداتیو تری-گلیسریدها می‌شود (Badari et al., 2003). علی‌رغم مشاهده اثر مثبت سیاه‌دانه بر عملکرد جوجه گوشتی، حضور ترکیبات ضدتغذیه‌ای نیز در بذر سیاه دانه گزارش شده است، که عمدتاً شامل آلکالوئید، استرول، ساپونین و کوئینون است. مهم‌ترین ترکیبات آلکالوئیدی موجود در سیاه دانه نیجلسن، نیجلدن و همچنین ترکیب ساپونینی موجود در سیاه دانه ملاتین است (El-Dakhkhny, 1996). بر همین اساس به نظر می‌رسد مصرف یک مولتی آنزیم در جهت به حداقل رساندن اثر منفی یا بهبود و تقویت اثرات مثبت سیاه دانه در جیره طیور مفید باشد. فلذا با توجه به تحقیقات انجام شده در زمینه استفاده از سیاه دانه که اثبات کننده تأثیر مثبت این ماده خوراکی بر عملکرد طیور است و به دلیل نیاز به منابع پروتئینی جدید ارزان قیمت جایگزین کنجاله سویا، استفاده از ضایعات باقیمانده از صنایع تبدیلی کشاورزی همانند کنجاله سیاه دانه جایگزین کنجاله سویا می‌تواند گامی مؤثر در این زمینه باشد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر، استفاده از کنجاله سیاه دانه در تغذیه جوجه‌های گوشتی و تأثیر بهبود ارزش غذایی آن با استفاده از مولتی آنزیم بر شاخص‌های عملکردی و بیوشیمیایی خون بود.

## مواد و روش‌ها

### تهیه مواد اولیه

در این تحقیق از کنجاله سیاه دانه تهیه شده از کارگاه‌های روغن-کشی اردبیل استفاده شد، که ترکیب شیمیایی آن در جدول ۱ گزارش شده است. مولتی آنزیم مورد استفاده در این آزمایش Combizyme ساخت شرکت Feedmate کشور کره جنوبی با فرمولاسیون ۲۰۰۰۰ U/g پروتئاز، ۷۵۰۰ U/g زایلاناز، ۸۰۰ U/g ماناناز و ۳۰۰۰۰ U/g سلولاز که به میزان ۰/۲٪ در جیره‌های آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت.

### مکان انجام طرح، پرندگان و تیمارهای آزمایشی

این پژوهش در واحد مرغداری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی واقع در دانشگاه محقق اردبیلی که در مختصات جغرافیایی ۴۸' شرقی و ۳۸' شمالی و ارتفاع ۱۴۰۳ متر از سطح دریا قرار گرفته شده است، انجام شد. در این تحقیق تعداد ۳۵۰ قطعه جوجه یک‌روزه گوشتی سویه تجاری راس ۳۰۸ از یک هجری محلی تهیه شد. جوجه‌ها به طور تصادفی در بستر توزیع شده و هر بستر (در هر بستر ۱۴ قطعه جوجه) به عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. سپس براساس طرح آماری پیش‌بینی شده، به قفس‌هایی که قبلاً به صورت تصادفی به تکرارهای مختلف (۵ تکرار برای هر تیمار) اختصاص یافته بود، منتقل شدند. میانگین وزن جوجه‌ها در شروع آزمایش (در

اعظم هزینه پرورش مربوط به هزینه خوراک می‌باشد، تلاش مستمری در جهت یافتن منابع خوراکی جدید با ارزش در جریان است و همین مسئله باعث شده که توجه پژوهشگران به منابع خوراکی مختلف از جمله محصولات فرعی کارخانه‌های صنایع تبدیلی کشاورزی جلب گردد. افزایش قیمت مواد خوراکی طیور، به ویژه در چند سال اخیر باعث شده که نیاز بیشتری به تحقیق در مورد منابع جایگزین ارزانتر احساس گردد (Mousapour and salarmoini, 2014). سیاه دانه با نام علمی *Nigella sativa* یکی از گیاهان معطر از خانواده آلاله و بومی مناطق آسیایی است که زیستگاه اصلی آن مناطق مدیترانه‌ای می‌باشد (Abdelhady et al., 2009). سیاه دانه در ایران در مناطق مختلف از جمله خراسان و اصفهان کشت می‌گردد (Akhtar et al., 2003). بذر سیاه دانه حاوی ۲۰ درصد پروتئین، ۷/۵ درصد رطوبت، ۱/۵-۰/۵ درصد اسانس و ۱۵ نوع اسید آمینه است که اسید آمینه‌های اصلی آن آرژنین (۱۹/۵ درصد)، گلوتامیک (۱۳/۵ درصد) و لوسین (۱۰/۵ درصد) می‌باشد (Boka et al., 2014). ضایعات باقیمانده از روغن کشی سیاه دانه را کنجاله سیاه دانه گویند. کنجاله سیاه دانه حاوی ۲۹/۸۴ درصد پروتئین خام، ۰/۵۵، ۱/۰۷۵ و ۴/۳۱ درصد به ترتیب متیونین، ترئونین و روغن و ۱۹۴۹ کیلوکالری انرژی قابل متابولیسمی ظاهری برای طیور است (Tekeli, 2014). کنجاله سیاه دانه غنی از اسید آمینه‌های ضروری (حاوی ۶/۴۱ گرم در کیلوگرم لیزین) به غیر از اسیدهای آمینه گوگردار است (Osman et al., 1999).

تحقیقات انجام شده در زمینه تأثیر سیاه دانه روی میزان مصرف خوراک مثبت گزارش شده است (Al-Homidan et al., 2002). در پژوهشی مکمل‌سازی جیره جوجه‌های گوشتی با اسانس سیاه دانه گوارش سلولز، پروتئین و چربی را افزایش داد (Jamroz and Kamel, 2002). در تحقیقی دیگر کاربرد یک درصد سیاه دانه در جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش وزن لاشه و وزن نسبی اجزا لاشه (کید، چربی محوطه بطنی، سینه، ران، بال، و وزن گردن) گردید (Toghyani et al., 2010). در همین تحقیق مصرف سطوح مختلف سیاه دانه (۲ و ۴ گرم در کیلوگرم جیره) در جوجه‌های گوشتی بر هیچ یک از شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون (آلبومین، تری‌گلیسرید، HDL، LDL و کلسترول کل) تأثیری نداشت (Toghyani et al., 2010). در حالیکه در مطالعه‌ای دیگر در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با سیاه دانه، کاهش در غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول سرم خونی مشاهده گردید (Badari et al., 2002). مکمل‌سازی جیره مرغان تخمگذار با ۱/۵ درصد سیاه دانه منجر به کاهش غلظت کلسترول زرده تخم مرغ شد (Akhtar et al., 2003). مصرف ۴ درصد سیاه دانه (آسیاب شده) خوراک مصرفی جوجه‌های گوشتی را کاهش داد، اما راندمان غذا افزایش یافت (Durrani et al., 2007). بکارگیری ۱۳/۵ درصد کنجاله سیاه دانه در جیره بلدرچین ژاپنی، رشد و استفاده از خوراک را به طور منفی تحت تأثیر قرار داد (Yason et al., 1987). بذر سیاه دانه و روغن حاصل از آن بدلیل داشتن ترکیباتی همچون تیموکوئینون و دی-تیموکوئینون دارای خصوصیات ضدقارچی، ضدباکتری و ضدسرطانی هستند

شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده که طبق توصیه شرکت رأس ۳۰۸ و با استفاده از ترکیب شیمیایی اقلام خوراکی طبق جدول انجمن تحقیقات ملی آمریکا (۱۹۹۴) برای دوره‌های آغازین (یک تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) تنظیم شده در جدول ۲ ارائه شده است. دوره شروع آزمایش از دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) بود و بر همین اساس ترکیب تیمارهای آزمایشی در جدول ۳ ارائه شده است.

هنگام ورود به سالن،  $10 \pm 48/33$  گرم بود. تیمارهای آزمایشی شامل: جیره شاهد (بدون کنجاله سیاه دانه و آنزیم)، جیره حاوی ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه (بدون آنزیم)، جیره حاوی ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه همراه با ۰/۲ درصد مولتی آنزیم، جیره حاوی ۱۵ درصد کنجاله سیاه دانه بدون آنزیم، جیره حاوی ۱۵ درصد کنجاله سیاه دانه همراه با ۰/۲ درصد مولتی آنزیم بودند. اجزای تشکیل دهنده و ترکیب

جدول ۱- ترکیب شیمیایی کنجاله سیاه دانه (ارقام بر حسب وزن هوا خشک)<sup>۱</sup>

Table 1- The chemical composition of *Nigella sativa* Meal (data per as fed)<sup>1</sup>

|                                                                  |         |
|------------------------------------------------------------------|---------|
| ماده خشک (%)                                                     | 92.09   |
| Dry Matter (%)                                                   |         |
| انرژی خام                                                        | 4453.67 |
| GE                                                               |         |
| خاکستر (%)                                                       | 4.95    |
| Ash (%)                                                          |         |
| چربی (%)                                                         | 7.38    |
| EE (%)                                                           |         |
| پروتئین خام (%)                                                  | 30.53   |
| Crude Protein (%)                                                |         |
| فیبر خام (%)                                                     | 7.86    |
| Crude Fibre (%)                                                  |         |
| فیبر محلول در شوینده خنثی (%)                                    | 52.94   |
| NDF (%)                                                          |         |
| فیبر محلول در شوینده اسیدی (%)                                   | 30.73   |
| ADF (%)                                                          |         |
| کلسیم (%)                                                        | 0.18    |
| Calcium (%)                                                      |         |
| فسفر قابل دسترس (%)                                              | 0.29    |
| Phosphorous (%)                                                  |         |
| انرژی متابولیسمی ظاهری (کیلوکالری بر کیلوگرم)                    | 2231.70 |
| AME (kcal kg <sup>-1</sup> )                                     |         |
| انرژی متابولیسمی ظاهری تصحیح شده برای ازت (کیلوکالری بر کیلوگرم) | 2230.93 |
| AMEn (kcal kg <sup>-1</sup> )                                    |         |
| انرژی متابولیسمی حقیقی (کیلوکالری بر کیلوگرم)                    | 2297.70 |
| TME (kcal kg <sup>-1</sup> )                                     |         |
| انرژی متابولیسمی حقیقی تصحیح شده برای ازت (کیلوکالری بر کیلوگرم) | 2296.98 |
| TMEn (kcal kg <sup>-1</sup> )                                    |         |

منبع: حسینی و اشان و غزنوی (۳۷)

<sup>۱</sup> اعداد بیان شده میانگین میزان ترکیب شیمیایی سه نمونه کنجاله سیاه دانه از سه کارخانه روغن کشی مختلف هستند.

Refrence: Hosseini-Vashan and Ghaznavi (27)

<sup>1</sup> The numbers are the average chemical composition of three samples of *Nigella sativa* Meal from three different oil extraction factories.

## داده‌های عملکردی

مصرف خوراک به صورت دوره‌ای اندازه‌گیری و ثبت شد. از ابتدا تا انتهای دوره خوراک داده شده و مقدار غذای باقی‌مانده در هر قفس (با استفاده از یک ترازوی دیجیتالی با دقت  $\pm 0.05$  گرم) توزین شد و با استفاده از تعداد جوجه‌های موجود در هر پن با در نظر گرفتن تعداد جوجه-های تلف شده میزان خوراک مصرفی به ازای هر پرنده محاسبه گردید.

میانگین افزایش وزن بدن جوجه‌های هر تکرار با توزین وزن جوجه‌های هر قفس در ابتدا و انتهای دوره به دست آمد. قبل از توزین پرندگان، به جوجه‌ها به مدت ۴ ساعت محرومیت مصرف آب و دان تحمیل گردید تا از لحاظ خالی بودن محتویات دستگاه گوارش همسان باشند. ضریب تبدیل خوراک با تقسیم خوراک مصرفی هر جوجه در هر دوره بر میزان افزایش وزن محاسبه شد.

جدول ۲- جیره‌های پایه در دوره‌های مختلف آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)، دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و دوره پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی)

Table 2- Basal diets at different period including starter (1-10 days), growth (11-24 days) and final (25-42 days)

| اجزای جیره (درصد)<br>Ingredients (%)                              | آغازین<br>Initial | رشد<br>Grower | پایانی<br>finisher |
|-------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------|--------------------|
| ذرت<br>corn                                                       | 54.5              | 61.1          | 63.1               |
| کنجاله سویا<br>Soybean meal                                       | 39.8              | 33.9          | 30                 |
| روغن<br>oil                                                       | 1.5               | 1             | 3                  |
| پودر صدف<br>Oyster powder                                         | 1.3               | 1.3           | 1.3                |
| دی کلسیم فسفات<br>DiCalcium phosphate                             | 1.3               | 1.15          | 1.1                |
| نمک<br>salt                                                       | 0.2               | 0.2           | 0.2                |
| مکمل ویتامینی <sup>۱</sup><br>Vitamin permix                      | 0.25              | 0.25          | 0.25               |
| مکمل مواد معدنی <sup>۱</sup><br>Mineral permix                    | 0.25              | 0.25          | 0.25               |
| دی ال- متیونین<br>DL-Methionine                                   | 0.5               | 0.3           | 0.5                |
| ال- لیزین هیدروکلراید<br>L-lysine hydrochloride                   | 0.2               | 0.1           | 0.17               |
| کل<br>Total                                                       | 100               | 100           | 100                |
| ترکیبات شیمیایی (محاسبه شده)<br>Chemical composition (calculated) |                   |               |                    |
| انرژی متابولیسمی (Kcal/kg)<br>Metabolizable Energy (Kcal/kg)      | 3000              | 3100          | 3200               |
| پروتئین خام (%)<br>Crude Protein (%)                              | 23                | 21.5          | 19.5               |
| فیبر شوینده خنثی (%)<br>Natural Detergent Fiber (%)               | 13.81             | 13.19         | 12.50              |
| فیبر شوینده اسیدی (%)<br>Acid Detergent Fiber (%)                 | 5.99              | 5.61          | 5.27               |
| لیگنین (%)<br>Lignin (%)                                          | 1.09              | 1.06          | 1.02               |
| چربی (%)<br>Fat (%)                                               | 7.01              | 6.32          | 8.08               |
| کلسیم (%)<br>Calcium (%)                                          | 0.93              | 0.85          | 0.81               |
| فسفر (%)<br>Phosphorus (%)                                        | 0.46              | 0.44          | 0.41               |
| سدیم (%)<br>Sodium (%)                                            | 0.13              | 0.13          | 0.13               |
| لیزین (%)<br>Lysine (%)                                           | 1.46              | 1.29          | 1.17               |
| متیونین+سیستئین (%)<br>Methionine+cysteine (%)                    | 0.93              | 0.99          | 0.88               |
| آرژنین (%)<br>Arginine (% of CP)                                  | 5.46              | 5.34          | 5.13               |

در هر کیلوگرم جیره مقادیر زیر تأمین می‌شود: Mn: ۱۹۸/۴ میلی‌گرم، Zn: ۱۶۹/۴ میلی‌گرم، Fe: ۱۰۰ میلی‌گرم، Cu: ۲۰ میلی‌گرم، I: ۱/۹۸۵ میلی‌گرم و Se: ۰/۴ میلی‌گرم - ویتامین A: ۳۶۰۰۰۰۰ IU، ویتامین D<sub>3</sub>: ۴۰۰۰ IU، ویتامین E: ۱۴۴۰۰ میلی‌گرم، ویتامین K<sub>3</sub>: ۴ میلی‌گرم، ویتامین B<sub>1</sub>: ۷۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B<sub>2</sub>: ۲۶/۴۰ میلی‌گرم، پانتوتنات کلسیم: ۱۹/۶ میلی‌گرم، نیاسین: ۵۹/۴ میلی‌گرم، ویتامین B<sub>6</sub>: ۵/۸۸ میلی‌گرم، ویتامین B<sub>9</sub>: ۲ میلی‌گرم، ویتامین B<sub>12</sub>: ۰/۰۳ میلی‌گرم، کلرید کولین: ۱۰ گرم

<sup>1</sup> The following values are provided per kg of diet: Mn: 198.4 mg, Zn: 169.4 mg, Fe: 100 mg, Cu: 20 mg, I: 1.985 mg and Se: 0.4 mg 2- Vitamin A: 3600000 IU, Vitamin D<sub>3</sub>: IU4000, Vitamin E: 14400 mg, Vitamin K<sub>3</sub>: 4 mg, Vitamin B<sub>1</sub>: 700 mg, Vitamin B<sub>2</sub>: 26.40 mg 1 g, Calcium pantothenate: 19.6 mg, Niacin: 59.4 mg, Vitamin B<sub>6</sub>: 5.88 mg, Vitamin B<sub>9</sub>: 2 mg, Vitamin B<sub>12</sub>: 0.03 mg, Chloride chlorine: 1 g.



**جدول ۳-** جیره‌های حاوی سطوح مختلف کنجاله سیاه دانه و ترکیبات شیمیایی آن‌ها در دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و دوره پایانی (۴۲ تا ۲۵ روزگی)

**Table 3-** Diets containing different levels of black seed meal and their chemical composition in the grower (11-24 days) and finisher (25-42 days) periods

| اجزای جیره (درصد)<br>Ingredients (%)                              | ۷/۵ درصد (دوره رشد)<br>7.5% (Grower) | جیره ۱۵ درصد (دوره رشد)<br>15% (Grower) | ۷/۵ درصد (دوره پایانی)<br>7.5% (finisher) | ۱۵ درصد (دوره پایانی)<br>15% (finisher) |
|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------|
| ذرت<br>corn                                                       | 57.5                                 | 53                                      | 60.46                                     | 56.19                                   |
| کنجاله سویا<br>Soybean meal                                       | 28.5                                 | 23.15                                   | 24.7                                      | 20.39                                   |
| روغن<br>oil                                                       | 2.45                                 | 5.0                                     | 3.4                                       | 4.5                                     |
| پودر صدف<br>Oyster powder                                         | 1.3                                  | 1.3                                     | 1.25                                      | 1.2                                     |
| دی کلسیم فسفات<br>DiCalcium phosphate                             | 1.2                                  | 1.2                                     | 1.15                                      | 1.19                                    |
| نمک<br>salt                                                       | 0.2                                  | 0.2                                     | 0.2                                       | 0.2                                     |
| مکمل ویتامینی <sup>۱</sup><br>Vitamin permix                      | 0.25                                 | 0.25                                    | 0.25                                      | 0.25                                    |
| مکمل مواد معدنی <sup>۱</sup><br>Mineral permix                    | 0.25                                 | 0.25                                    | 0.25                                      | 0.25                                    |
| دی ال- متیونین<br>DL-Methionine                                   | 0.3                                  | 0.3                                     | 0.5                                       | 0.52                                    |
| ال- لیزین هیدروکلراید<br>L-lysine hydrochloride                   | 0.2                                  | 0.1                                     | 0.18                                      | 0.19                                    |
| کنجاله سیاه دانه<br>Nigella Sativa meal                           | 7.5                                  | 15                                      | 7.5                                       | 15                                      |
| کل<br>Total                                                       | 100                                  | 100                                     | 100                                       | 100                                     |
| ترکیبات شیمیایی (محاسبه شده)<br>Chemical composition (calculated) |                                      |                                         |                                           |                                         |
| انرژی متابولیسمی (Kcal/kg)<br>Metabolizable Energy (Kcal/kg)      | 3100                                 | 3100                                    | 3200                                      | 3200                                    |
| پروتئین خام (%)<br>Crude Protein (%)                              | 21.5                                 | 21.5                                    | 19.5                                      | 19.5                                    |
| فیبر شوینده خنثی (%)<br>Natural Detergent Fiber (%)               | 11.65                                | 10.06                                   | 11.10                                     | 9.76                                    |
| فیبر شوینده اسیدی (%)<br>Acid Detergent Fiber (%)                 | 4.92                                 | 4.21                                    | 4.62                                      | 4.03                                    |
| لیگنین (%)<br>Lignin (%)                                          | 0.95                                 | 0.82                                    | 0.91                                      | 0.81                                    |
| چربی (%)<br>Fat (%)                                               | 7.17                                 | 9.10                                    | 7.94                                      | 8.51                                    |
| کلسیم (%)<br>Calcium (%)                                          | 0.85                                 | 0.85                                    | 0.81                                      | 0.82                                    |
| فسفر (%)<br>Phosphorus (%)                                        | 0.42                                 | 0.44                                    | 0.41                                      | 0.41                                    |
| سدیم (%)<br>Sodium (%)                                            | 0.13                                 | 0.12                                    | 0.12                                      | 0.12                                    |
| لیزین (%)<br>Lysine (%)                                           | 1.16                                 | 1.09                                    | 1.11                                      | 1.03                                    |
| متیونین+سیستئین (%)<br>Methionine+cysteine (%)                    | 0.93                                 | 0.66                                    | 0.85                                      | 0.85                                    |
| آرژنین (% پروتئین)<br>Arginine (% of CP)                          | 4.76                                 | 4.16                                    | 4.62                                      | 4.10                                    |

در هر کیلوگرم جیره مقادیر زیر تامین می‌شود: Mn: ۱۹۸/۴ میلی‌گرم، Zn: ۱۶۹/۴ میلی‌گرم، Fe: ۱۰۰ میلی‌گرم، Cu: ۲۰ میلی‌گرم، I: ۱/۹۸۵ میلی‌گرم و Se: ۰/۴ میلی‌گرم - ویتامین A: ۳۶۰۰۰۰۰ IU ویتامین D<sub>3</sub>: ۴۰۰۰ IU ویتامین E: ۱۴۴۰۰ میلی‌گرم، ویتامین K<sub>3</sub>: ۴۰ میلی‌گرم، ویتامین B<sub>1</sub>: ۷۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B<sub>2</sub>: ۲۶/۴۰ میلی‌گرم، پانتوتنات کلسیم: ۱۹/۶ میلی‌گرم، نیاسین: ۵۹/۴ میلی‌گرم، ویتامین B<sub>6</sub>: ۵/۸۸ میلی‌گرم، ویتامین B<sub>9</sub>: ۲ میلی‌گرم، ویتامین B<sub>12</sub>: ۰/۰۳ میلی‌گرم، کلرید کولین: ۱ گرم

<sup>1</sup> The following values are provided per kg of diet: Mn: 198.4 mg, Zn: 169.4 mg, Fe: 100 mg, Cu: 20 mg, I: 1.985 mg and Se: 0.4 mg 2- Vitamin A: 3600000 IU, Vitamin D<sub>3</sub>: IU4000, Vitamin E: 14400 mg, Vitamin K<sub>3</sub>: 4 mg, Vitamin B<sub>1</sub>: 700 mg, Vitamin B<sub>2</sub>: 26.40 mg 1 g, Calcium pantothenate: 19.6 mg, Niacin: 59.4 mg, Vitamin B<sub>6</sub>: 5.88 mg, Vitamin B<sub>9</sub>: 2 mg, Vitamin B<sub>12</sub>: 0.03 mg, Chloride chlorine: 1 g.

تعداد جوجه‌های تلف شده از هر تکرار به منظور محاسبه درصد تلفات در دوره‌های پرورشی به صورت روزانه ثبت و وزن آن‌ها یادداشت شد. در انتهای دوره (۴۲ روزگی)، تعداد دو قطعه جوجه از هر پن انتخاب و پس از خونگیری و توزین، از طریق جابجایی مهره گردن کشتار شدند. پس از پوست کنی لاشه و جدا کردن اعما و احشا، لاشه توخالی توزین شد. همچنین اجزاء لاشه شامل (کبد، روده، پانکراس، قلب، طحال، بورس و چربی بطنی) توزین گردید و درصد هر کدام نسبت به لاشه محاسبه شد.

### شاخص‌های بیوشیمیایی خون

در روز ۴۲ دوره پرورش پس از تحمیل ۸ ساعت گرسنگی، از هر تکرار دو قطعه پرنده به طور تصادفی انتخاب شدند و از سیاهرگ بال آن‌ها نمونه خونی گرفته شد. سرم نمونه‌های خونی به کمک دستگاه سانتریفیوژ (VISION مدل VS-15000 CFN II، ساخت کره) با ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی شد. سپس با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت زیست‌شیمی (ایران) کلسترول کل، کلسترول HDL، LDL و تری‌گلیسیرید با روش رنگ‌سنجی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO 2100، ساخت آمریکا) اندازه‌گیری شد.

### ریخت‌شناسی روده

برای بررسی اثر جیره‌های آزمایشی بر وضعیت سلامت روده، در روز ۴۲ آزمایش نمونه بافتی از دودنوم، ژژنوم، ایلئوم پرنده‌های نر کشتار شده تهیه شد. به این صورت که حدود ۵ سانتی‌متر از بخش وسط نمونه روده جدا شده و داخل محلول فرمالین (۱۰٪) قرار داده شد. جهت انجام مراحل آماده‌سازی و تهیه مقاطع بافتی به کمک تیغه اسکالپل، نمونه‌های بافتی پایدار (فیکس) شده از داخل محلول فرمالین خارج گردید. به دنبال تهیه مقاطع بافتی و جاگذاری آن‌ها در حامل‌های مخصوص (بسکت‌ها)، مراحل آماده‌سازی نمونه‌ها توسط دستگاه خودکار آماده‌کننده بافت<sup>۱</sup> (مدل Kp-110، ساخت ایران) صورت گرفت. برای آماده‌سازی نمونه‌های بافتی سه مرحله آب‌گیری، شفاف‌سازی و پارافینه شدن انجام شد. مرحله آب‌گیری از نمونه‌های بافتی با قرار دادن آن‌ها در داخل محلول الکل اتیلیک با درجات صعودی صورت گرفت. برای شفاف‌سازی نمونه‌ها و گرفتن الکل از زایلل استفاده گردید. پارافینه کردن به منظور اشباع‌سازی نمونه‌ها با پارافین صورت گرفت و در نهایت پس از خروج نمونه‌ها از دستگاه یاد شده، تهیه بلوک‌های بافتی با استفاده از قالب‌های خاصی انجام شد. در مرحله بعد، برش‌های عرضی از نمونه‌های آماده شده به کمک دستگاه میکروتوم چرخان (مدل Leica 1512، ساخت اتریش) و با ضخامت ۵ میکرومتر

تهیه شد. برش‌های تهیه شده داخل آب ۴۰ درجه سانتی‌گراد شناور گردید تا پس از صاف شدن چروک‌های احتمالی به راحتی روی لام قرار گیرند. لام‌های مربوطه روی صفحه گرمی (۴۰ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد تا ضمن خشک شدن، پارافین‌های اضافی هم ذوب گردند. رنگ‌آمیزی بافت‌های پایدار شده روی لام، پس از پارافین‌گیری با زایلل و آب‌دهی با درجات نزولی الکل اتیلیک به کمک هماتوکسیلین و ائوزین انجام گردید. قبل از انجام مطالعات میکروسکوپی، جهت مصونیت بیشتر، روی بافت‌های تهیه شده با استفاده از چسب انتلان لامل چسبانده شد. برای بررسی بافت‌های تهیه شده از میکروسکوپ نوری متصل به کامپیوتر استفاده گردید. سپس با کمک دوربین نصب شده روی میکروسکوپ عکس‌هایی از محل‌های دلخواه گرفته شده و با استفاده از نرم‌افزار مربوطه، فراسنجه‌های مورد نظر اندازه‌گیری شد. ارتفاع ویلی (از نوک ویلی تا محل اتصال کریپت)، عرض ویلی و عمق کریپت و ضخامت لایه ماهیچه‌ای اندازه گرفته شد. نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت و سطح جانبی ویلی نیز از روی ارتفاع و عرض ویلی محاسبه شد. مقادیر مربوط به میانگین‌های حاصل از حداقل ۱۲ ویلی سالم و مستقیم به ازای هر تکرار برای محاسبات مربوطه مورد استفاده قرار گرفت (Adibmoradi et al., 2006).

### بررسی شاخص اقتصادی

شاخص اقتصادی از حاصل ضرب ضریب تبدیل خوراک در قیمت نهاده‌های خوراکی به دست آمد. در همین راستا تهیه کنجاله سیاه دانه به دلیل دور ریز بودن هزینه‌ای نداشته و فقط هزینه حمل و نقل در محاسبات مدنظر قرار گرفت. در نهایت، نمودار مقایسه هزینه تیمارها با توجه به هزینه جیره شاهد (درصدی از هزینه جیره شاهد) تعیین و رسم شد.

### طرح آماری و آنالیز داده‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۵ تکرار شامل دو جیره آزمایشی دوره رشد (۲۴-۱۰ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) انجام گرفت. تجزیه و تحلیل نهایی داده‌ها با استفاده از رویه GLM، توسط نرم افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. مدل آماری مورد استفاده جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها به صورت زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad \text{معادله (۱)}$$

که در این مدل  $Y_{ij}$  مقدار هر مشاهده،  $\mu$  میانگین،  $T_i$  اثر تیمار و  $e_{ij}$  خطای آزمایشی بود.

## نتایج و بحث

نتایج مربوط به عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ نشان می‌دهد که تیمارهای آزمایشی مختلف بر مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه بدن و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره رشد تأثیر معنی‌داری نداشتند. اما اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های مذکور در دوره پایانی معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). بطوری‌که بیشترین مصرف خوراک و افزایش وزن در تیمار شاهد و کمترین ضریب تبدیل غذایی نیز در گروه شاهد و گروه دریافت کننده ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه بدون آنزیم مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). درکل دوره آزمایشی نیز کمترین مصرف خوراک و افزایش وزن در گروه‌های دریافت کننده ۱۵ درصد کنجاله سیاه دانه (هر دو حالت با آنزیم و بدون آنزیم) مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). کمترین ضریب تبدیل غذایی نیز در گروه شاهد و گروه دریافت کننده ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه بدون آنزیم مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). در نهایت در کل دوره آزمایشی وزن نهایی بدن در تیمار شاهد بیشترین بود.

سیاه دانه به میزان زیادی برای بهبود عملکرد دستگاه گوارش در درمان‌های سنتی استفاده می‌شود و دلیل افزایش میزان مصرف خوراک می‌تواند در نتیجه حضور مواد فعال موجود (مانند نیج‌لن) در اسانس باقی‌مانده در کنجاله سیاه دانه باشد که سبب افزایش ترشح آنزیم‌های گوارشی و افزایش گوارش و در نتیجه بهبود مصرف خوراک شود (El-Abhar et al., 2003). در همین راستا، نتایج نشان داده است که اسانس حاصل از گیاه سیاه دانه با تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی در روده باریک و لوزالمعده منجر به بهبود گوارش‌پذیری مواد مغذی، افزایش مصرف خوراک و در نهایت بهبود راندمان غذایی می‌شود (Talha et al., 2010). همچنین گزارش شده است که مکمل‌سازی جیره جوجه‌های گوشتی با اسانس سیاه دانه سبب بهبود قابلیت گوارش‌پذیری مواد مغذی می‌شود (Hernandez et al., 2004). سایر ترکیبات فعال موجود در روغن سیاه دانه مانند پی‌سی‌مین و تیموکوئینون نیز بدلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا توانایی افزایش نرخ رشد را در طیور دارند (Badari et al., 2003; El-Alfy et al., 1975). علاوه بر این، گزارش شده است که سیاه دانه به عنوان یک گیاه دارویی بدلیل داشتن خاصیت ضد میکروبی با کنترل جمعیت میکروبی روده توانایی بهبود عملکرد طیور را دارد (Ramezani et al., 2018). از دیگر سو، در اثر مصرف کنجاله سیاه دانه در سطوح بالا، بدلیل افزایش میزان ترکیبات ضدتغذیه‌ای همانند آلکالوئید ساپونین عملکرد رشدی کاهش می‌یابد (Guler et al., 2006). نتایج متفاوت ارائه شده توسط تحقیقات مختلف می‌تواند به دلیل حضور سایر ترکیبات خوراکی و همچنین روش‌های تهیه کنجاله سیاه دانه باشد. همچنین موارد دیگری نظیر شرایط پرورش طیور، کیفیت خوراک و فرمولاسیون خوراک در آزمایشات مختلف

متفاوت هستند و از طرف دیگر کیفیت کنجاله سیاه دانه و روش روغن‌کشی آن نیز در روش‌های استخراج صنعتی و سنتی متفاوت است. از دیگر سو گیاه سیاه دانه نیز در مناطق مختلفی کشت شده و می‌تواند تفاوت‌هایی در ترکیب و به دنبال آن در نتایج مطالعات ایجاد کند. در توافق با یافته‌های پژوهش حاضر، گزارش شده است که مصرف سطوح ۱، ۰/۵ و ۱/۵ درصد بذر سیاه دانه توسط جوجه‌های گوشتی بر شاخص‌های عملکرد رشد (میزان مصرف خوراک و افزایش وزن) تأثیری نداشت (Shirzadegan et al., 2010). در پژوهشی مشابه نیز استفاده از ۱، ۲ و ۳ درصد سیاه دانه در جیره مرغ تخمگذار تأثیری بر خوراک مصرفی نداشت (Aydin et al., 2008) و افزودن پودر و کنجاله سیاه دانه تأثیر معنی‌داری بر روی میانگین خوراک مصرفی و افزایش وزن بلدرچین‌ها ایجاد نکرد (Taheri, 2017). نتایج استفاده از کنجاله سیاه دانه در پژوهشی دیگر (Attia et al., 2008) نیز نشان داد کنجاله سیاه دانه اثری بر افزایش وزن بلدرچین ژاپنی نداشت. علاوه بر این، نتایج مطالعه این محققین نشان داد سطوح مختلف کنجاله سیاه دانه بر ضریب تبدیل غذایی نیز اثری نداشت. اما مغایر با نتایج تحقیق حاضر، در یک مطالعه (Ismail, 2011) یافته‌ها بیانگر آن بود که گنجاندن سیاه دانه در جیره جوجه‌های گوشتی (درکل دوره پرورش) میزان خوراک مصرفی را نسبت به گروه شاهد افزایش داد. همچنین در آزمایش دیگری مصرف کنجاله سیاه دانه به جای ۵۰ درصد از کنجاله سویا افزایش مصرف خوراک، کاهش وزن بدن و افزایش ضریب تبدیل غذایی را به همراه داشت (El-Deek et al., 1999). در یک بررسی (Zeweil, 1996) گزارش شده است که مصرف ۱۳/۵ درصد کنجاله سیاه دانه در جیره بلدرچین ژاپنی، منجر به کاهش رشد و مصرف خوراک شد، که مطابق نتایج تحقیق حاضر است. محققینی دیگر نیز با گنجاندن سیاه دانه در جیره جوجه گوشتی در سطوح پایین، بهبود ضریب تبدیل غذایی را مشاهده کردند (Shewita et al., 2011). داده‌های مربوط به تأثیر جیره‌های آزمایشی بر وزن نسبی اجزاء لاشه (درصد لاشه، نسبت طول روده به وزن زنده، وزن پانکراس، وزن کبد، وزن بورس فابریسیوس، وزن طحال، وزن سنگدان خالی، وزن قلب و وزن چربی محوطه بطنی) در جدول ۵ ارائه شده است. مطابق نتایج این جدول، استفاده از ۱۵ درصد کنجاله سیاه دانه بدون آنزیم در جیره سبب افزایش نسبت طول روده به وزن زنده در مقایسه با سایر تیمارها شد ( $P < 0.05$ ), اما مصرف جیره‌های آزمایشی مختلف بر درصد لاشه، نسبت طول روده به وزن زنده، وزن پانکراس، وزن کبد، وزن بورس فابریسیوس، وزن طحال، وزن کبد، وزن قلب و وزن چربی محوطه بطنی تأثیر معنی‌داری نداشت. سیاه دانه و روغن آن دارای خواص ضد قارچی و ضد باکتری هستند و به علت داشتن دو اسید چرب تیموکوئینون و دی تیموکوئینون خاصیت ضدسرطانی دارد (Mahmoud et al., 1992).

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخصهای عملکرد رشد جوجههای گوشتی طی دورههای مختلف آزمایشی

Table 4- The effect of experimental treatments on growth performance of chicken during different experimental periods

| پارامترها<br>Parameters                              | شاهد<br>Control      | ۷/۵ درصد کنجاله سیاه<br>دانه بدون آنزیم<br>7.5% black seed<br>without enzyme | ۷/۵ درصد کنجاله<br>سیاه دانه با آنزیم<br>7.5% black seed<br>with enzyme | ۱۵ درصد کنجاله سیاه<br>دانه بدون آنزیم<br>15% black seed<br>without enzyme | ۱۵ درصد کنجاله سیاه<br>دانه با آنزیم<br>15% black seed<br>with enzyme | SEM   | P-value |
|------------------------------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-------|---------|
| دوره رشد (۱۱-۲۴ روزگی)<br>growth (11-24 days)        |                      |                                                                              |                                                                         |                                                                            |                                                                       |       |         |
| مصرف خوراک (گرم<br>در روز)<br>Feed intake<br>(g/day) | 72.39                | 65.07                                                                        | 64.87                                                                   | 67.19                                                                      | 61.90                                                                 | 5.8   | 0.69    |
| افزایش وزن (گرم<br>در روز)<br>Weight gain<br>(g/day) | 45.36                | 42.22                                                                        | 42.82                                                                   | 41.63                                                                      | 41.95                                                                 | 4.85  | 0.97    |
| ضریب تبدیل غذایی<br>Food conversion<br>ratio         | 1.60                 | 1.54                                                                         | 1.53                                                                    | 1.69                                                                       | 1.48                                                                  | 0.09  | 0.31    |
| دوره پایانی (۲۵-۴۲ روزگی)<br>final (25-42 days)      |                      |                                                                              |                                                                         |                                                                            |                                                                       |       |         |
| مصرف خوراک (گرم<br>در روز)<br>Feed intake<br>(g/day) | 151.97 <sup>a</sup>  | 132.32 <sup>b</sup>                                                          | 123.89 <sup>bc</sup>                                                    | 106.64 <sup>cd</sup>                                                       | 102.48 <sup>d</sup>                                                   | 6.84  | <0.0001 |
| افزایش وزن (گرم<br>در روز)<br>Weight gain<br>(g/day) | 76.41 <sup>a</sup>   | 62.69 <sup>b</sup>                                                           | 51.01 <sup>c</sup>                                                      | 37.04 <sup>d</sup>                                                         | 36.65 <sup>d</sup>                                                    | 4.28  | <0.0001 |
| ضریب تبدیل غذایی<br>Food conversion<br>ratio         | 2.11 <sup>c</sup>    | 2.12 <sup>c</sup>                                                            | 2.44 <sup>b</sup>                                                       | 2.88 <sup>a</sup>                                                          | 2.79 <sup>a</sup>                                                     | 0.07  | <0.0001 |
| کل دوره<br>Total period                              |                      |                                                                              |                                                                         |                                                                            |                                                                       |       |         |
| مصرف خوراک (گرم<br>در روز)<br>Feed intake<br>(g/day) | 103.53 <sup>a</sup>  | 89.23 <sup>b</sup>                                                           | 85.55 <sup>bc</sup>                                                     | 78.94 <sup>cd</sup>                                                        | 75.39 <sup>d</sup>                                                    | 2.47  | <0.0001 |
| افزایش وزن (گرم<br>در روز)<br>Weight gain<br>(g/day) | 58.08 <sup>a</sup>   | 51.16 <sup>b</sup>                                                           | 46.35 <sup>c</sup>                                                      | 39.97 <sup>d</sup>                                                         | 39.91 <sup>d</sup>                                                    | 1.59  | <0.0001 |
| ضریب تبدیل غذایی<br>Food conversion<br>ratio         | 1.78 <sup>b</sup>    | 1.74 <sup>b</sup>                                                            | 1.85 <sup>ab</sup>                                                      | 1.98 <sup>a</sup>                                                          | 1.88 <sup>ab</sup>                                                    | 0.06  | 0.04    |
| وزن نهایی بدن<br>(گرم)<br>Final body<br>weight (g)   | 2439.44 <sup>a</sup> | 2148.67 <sup>b</sup>                                                         | 1946.70 <sup>c</sup>                                                    | 1678.64 <sup>cd</sup>                                                      | 1676.00 <sup>d</sup>                                                  | 66.58 | <0.0001 |

a,b میانگینهای هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند (P&lt;0.05).

a,b Means within same row with different superscripts differ (P&lt;0.05).

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی اجزاء لاشه جوجه‌های گوشتی طی در ۴۲ روزگی

Table 5- The effect of experimental treatments on the relative carcasses weight of chickens at 42 d

| پارامترها<br>Parameters                                                                         | شاهد<br>Control   | ۷/۵ درصد کنجاله سیاه<br>دانه بدون آنزیم<br>7.5% black seed<br>without enzyme | ۷/۵ درصد کنجاله سیاه<br>دانه با آنزیم<br>7.5% black seed<br>with enzyme | ۱۵ درصد کنجاله سیاه<br>بدون آنزیم<br>15% black seed<br>without enzyme | ۱۵ درصد کنجاله سیاه<br>دانه با آنزیم<br>15% black seed<br>with enzyme | SEM  | P-<br>value |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|------|-------------|
| بازده لاشه (درصد)<br>Carcasses yield (%)                                                        | 59.95             | 58.87                                                                        | 57.79                                                                   | 57.67                                                                 | 59.63                                                                 | 2.12 | 0.51        |
| نسبت طول روده به وزن زنده<br>(سانتیمتر بر کیلوگرم)<br>intestinal length /live<br>weight (cm/kg) | 7.86 <sup>b</sup> | 9.05 <sup>b</sup>                                                            | 9.37 <sup>b</sup>                                                       | 11.35 <sup>a</sup>                                                    | 8.58 <sup>b</sup>                                                     | 0.48 | 0.001       |
| وزن نسبی پانکراس (گرم)<br>Relative weight of<br>pancreas (g)                                    | 0.27              | 0.28                                                                         | 0.27                                                                    | 0.31                                                                  | 0.24                                                                  | 0.02 | 0.22        |
| وزن نسبی کبد (گرم)<br>Relative weight of Liver<br>(g)                                           | 1.89              | 1.94                                                                         | 1.98                                                                    | 2.04                                                                  | 1.87                                                                  | 0.03 | 0.64        |
| وزن نسبی بورس فابریسیوس<br>(گرم)<br>Relative weight of Bursa<br>of Fabricius (g)                | 0.16              | 0.14                                                                         | 0.17                                                                    | 0.16                                                                  | 0.21                                                                  | 0.02 | 0.85        |
| وزن نسبی طحال (گرم)<br>Relative weight of<br>Spleen (g)                                         | 0.11              | 0.12                                                                         | 0.11                                                                    | 0.10                                                                  | 0.13                                                                  | 0.02 | 0.67        |
| وزن نسبی سنگدان خالی (گرم)<br>Relative weight of<br>Empty gizzard (g)                           | 1.80              | 1.86                                                                         | 1.82                                                                    | 2.06                                                                  | 1.95                                                                  | 0.14 | 0.49        |
| وزن نسبی قلب (گرم)<br>Heart (g)                                                                 | 0.49              | 0.50                                                                         | 0.49                                                                    | 0.45                                                                  | 0.52                                                                  | 0.02 | 0.28        |
| وزن نسبی چربی محوطه بطنی<br>(گرم)<br>Relative weight of<br>Abdominal fat (g)                    | 0.92              | 1.04                                                                         | 1.16                                                                    | 0.84                                                                  | 0.41                                                                  | 0.14 | 0.16        |

<sup>a,b</sup> میانگین‌های هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ( $P < 0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Means within same row with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

وزن کبد و پانکراس نداشت (Boka et al., 2014). اما مغایر با نتایج تحقیق حاضر، نتایج یک مطالعه نشان داد مصرف یک درصد بذر سیاه دانه سبب افزایش وزن سنگدان جوجه‌های گوشتی شد که دلیل احتمالی آن را وجود فیبر و روغن بالا در سیاه دانه گزارش کرده‌اند (Khalaji et al., 2011). در پژوهشی دیگر تغذیه یک درصد روغن سیاه دانه در روز ۲۱ و ۲۸ دوره پرورش بلدرچین منجر به افزایش وزن نسبی کبد در مقایسه با سایر تیمارها شد (Abou-El-Soud, 2000). طی مطالعه‌ی مشابه دیگری نیز مصرف سیاه دانه در جیره جوجه‌های گوشتی بر وزن نسبی اجزاء داخلی بدن (کبد، طحال، سنگدان و لاشه) تأثیری نداشت (Soltan, 1999). در تحقیقی دیگر (Abbasi et al., 2013) با مصرف سیاه دانه اختلاف ناچیز در وزن نسبی اجزاء داخلی بدن جوجه‌های گوشتی (کبد، کبد،

در تحقیقی مصرف یک درصد سیاه دانه در جیره باعث افزایش وزن لاشه، کبد، چربی محوطه بطنی، سینه، ران، بال، و وزن گردن در جوجه‌های گوشتی شد (Toghyani et al., 2010). این افزایش در لاشه، کبد، سینه، و ران احتمالاً به علت متابولیسم خوب پروتئین باشد و که علت آن افزایش قابلیت دسترسی به مواد معدنی در دانه سیاه دانه بیان شده است. در توافق با نتایج مطالعه حاضر، گزارش شده است که مصرف سیاه دانه بر وزن چربی شکمی و طول روده باریک هیچ تأثیری نداشت (Hernandez et al., 2004). همچنین مصرف بذر سیاه دانه تا سطح ۱/۵ درصد تأثیری بر وزن نسبی چربی، طحال، قلب و سنگدان جوجه‌های گوشتی تا ۴۲ روزگی ایجاد نکرد (Shirzadegan et al., 2010). در مطالعه دیگری نیز نتیجه‌گیری شد که مکمل سازی سطوح مختلف سیاه دانه (۱، ۲، ۳ درصد) در جیره مرغان تخمگذار تأثیری بر

دلایل متفاوتی اعلام کرده‌اند، در این زمینه بیان شده است که حضور ترکیبات فعال همانند تیموکوئینون در بذر سیاه دانه یکی از ترکیبات موثر در روند کاهش تری‌گلیسرید خون است (Al-Saleh et al., 2006)، همچنین گزارش شده که این ترکیب دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بسیار قوی است که می‌تواند بر شاخص‌های خون تأثیرگذار باشد (Arslan et al., 2005). اما در تحقیقات دیگر علت کاهش کلسترول را وجود غلظت بالای اسیدهای چرب اشباع در سیاه دانه اعلام کردند که سبب دفع بیشتر کلسترول و اکسیداسیون کلسترول در قالب اسیدهای صفراوری می‌شود (Hassan et al., 2004). در توافق با یافته‌های پژوهش حاضر، در یک گزارش (Toghyani et al., 2010) افزودن سطوح ۲ و ۴ گرم بر کیلوگرم سیاه دانه در جیره جوجه‌های گوشتی بر هیچ یک از پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون از جمله آلبومین، تری‌گلیسرید، کلسترول-LDL، کلسترول-HDL و کل کلسترول تأثیر نداشت. مکمل‌سازی جیره مرغان تخمگذار نیز با ۱۵ میلی گرم در کیلوگرم سیاه دانه منجر به کاهش مقدار کلسترول و تری‌گلیسرید خون شد، که در مغایرت با نتایج پژوهش حاضر است (Akhtar et al., 2003). در حالی که جایگزینی کنجاله سویا با کنجاله سیاه دانه (۲۵ تا ۵۰ درصد) در جیره جوجه‌های گوشتی منجر به کاهش چربی کل پلاسما و کلسترول خون شد و دلیل احتمالی این کاهش نیز وجود ترکیب مؤثر نیجلن در سیاه دانه بیان شد (Abdo, 2004). در همین راستا، کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید خون جوجه‌های گوشتی با مصرف سطوح مختلف سیاه دانه (۱ و ۳ درصد بذر سیاه دانه) در نتایج تحقیقات دیگری نتایج مشاهده شد، که مغایر با نتایج یافته‌های پژوهش حاضر بود (Tollba and Hassan, 2003; AL-Beitawi and El-Ghousein, 2008). احتمالاً دلیل این تفاوت نیز استفاده از بذر سیاه دانه بجای کنجاله سیاه دانه در مطالعه‌های مذکور باشد.

طحال، سنگدان و لاشه) نشان داده شده است. در یک گزارش (Durrani et al., 2007) استفاده از سیاه دانه تأثیری بر چربی محوطه بطنی نداشت، اما مصرف ۲ درصد سیاه دانه در جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش چربی محوطه بطنی شد (Tollba et al., 2003). در مطالعه‌ای دیگر با استفاده از کنجاله سیاه دانه در بلدرچین، وزن نسبی چربی شکمی، کبد، قلب، پانکراس و روده تحت تأثیر تغذیه سطوح مختلف کنجاله سیاه دانه قرار نگرift (Mousapour and salarmoini, 2014). با توجه به نتایج ارائه شده به نظر می‌رسد که استفاده از کنجاله سیاه دانه تا سطح ۱۵ درصد تأثیر سویی بر پارامترهای فوق‌نشان داده شد. از دیگر سو، در تحقیقی (Abdelhady et al., 2009) نشان داده شد که به‌کارگیری کنجاله سیاه دانه در جیره بلدرچین ژاپنی بر روی درصد وزن قلب، کبد، طحال و روده تأثیر داشت. در تحقیقی مشابه، گزارش شده است که جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با سیاه دانه وزن نسبی قلب، کبد، طحال و سنگدان بالاتری در مقایسه با گروه شاهد داشتند، که مغایر با نتایج آزمایش حاضر بود (Abaza, 2001). با توجه به نتایج متفاوت ارائه شده در تحقیقات مختلف، احتمالاً سطوح استفاده از کنجاله سیاه دانه در این مطالعه کمتر از سطح اثرگذار بر وزن نسبی اندام‌های بدن است.

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی مختلف بر پارامترهای خونی در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج نشان داد که جیره‌های حاوی کنجاله سیاه دانه و آنزیم بر لیپیدهای سرم خون شامل کلسترول، تری‌گلیسرید، کلسترول-HDL و کلسترول-LDL تأثیر معنی‌داری نداشتند. اما به لحاظ عددی، مصرف سطح بالاتر کنجاله سیاه دانه سبب کاهش لیپیدهای سرم خون شد. به علاوه، به‌کارگیری آنزیم همراه با کنجاله سیاه دانه نتوانست تفاوت معنی‌داری در غلظت لیپیدهای سرم خون ایجاد کند. در زمینه تأثیر سیاه دانه بر کاهش لیپیدهای سرم خون محققین مختلف

جدول ۶- اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های خونی جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

Table 6- The effect of experimental treatments on blood parameters of chickens at 42 d

| پارامترها<br>Parameters                                       | شاهد<br>Control | ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه بدون آنزیم<br>7.5% black seed without enzyme | ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه با آنزیم<br>7.5% black seed with enzyme | ۱۵ درصد کنجاله سیاه دانه بدون آنزیم<br>15% black seed without enzyme | ۱۵ درصد کنجاله سیاه دانه با آنزیم<br>15% black seed with enzyme | SEM   | P-value |
|---------------------------------------------------------------|-----------------|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-------|---------|
| تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)<br>Tri glyceride (mg/dl)   | 22.67           | 26.33                                                                  | 23.33                                                             | 22.33                                                                | 26.33                                                           | 5.08  | 0.92    |
| کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)<br>Cholesterol (mg/dl)         | 109.50          | 118.83                                                                 | 91.17                                                             | 85.50                                                                | 104.67                                                          | 15.31 | 0.47    |
| LDL-کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)<br>LDL Cholesterol (mg/dl) | 80.77           | 78.93                                                                  | 62.50                                                             | 67.93                                                                | 66.07                                                           | 10.21 | 0.06    |
| HDL-کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)<br>HDL Cholesterol (mg/dl) | 35.33           | 45.33                                                                  | 44.00                                                             | 43.17                                                                | 43.33                                                           | 6.42  | 0.12    |

a,b میانگین‌های هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P&lt;0.05).

a,b Means within same row with different superscripts differ (P&lt;0.05).

جدول ۷- اثر تیمارهای آزمایشی بر بافت شناسی روده جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

Table 7- The effect of experimental treatments on intestinal histological parameters of chickens at 42 d

| پارامترها<br>Parameters                                                     | شاهد<br>Control      | ۷/۵ درصد کنجاله سیاه<br>دانه بدون آنزیم<br>7.5% black seed<br>without enzyme | ۷/۵ درصد کنجاله<br>سیاه دانه با آنزیم<br>7.5% black seed<br>with enzyme | ۱۵ درصد کنجاله سیاه<br>دانه بدون آنزیم<br>15% black seed<br>without enzyme | ۱۵ درصد کنجاله<br>سیاه دانه با آنزیم<br>15% black seed<br>with enzyme | SEM   | P-<br>value |
|-----------------------------------------------------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-------|-------------|
| ارتفاع پرز دوازدهه<br>Duodenum villus height                                | 1333.3               | 1464.9                                                                       | 1243.5                                                                  | 1033.3                                                                     | 1265.4                                                                | 95.35 | 0.06        |
| پهنای پرز دوازدهه<br>Duodenum villus width                                  | 133.95 <sup>b</sup>  | 191.86 <sup>a</sup>                                                          | 123.93 <sup>b</sup>                                                     | 112.48 <sup>b</sup>                                                        | 109.97 <sup>b</sup>                                                   | 14.45 | 0.007       |
| عمق کریپت دوازدهه<br>Duodenum crypt depth                                   | 301.80 <sup>ab</sup> | 355.06 <sup>a</sup>                                                          | 217.35 <sup>bc</sup>                                                    | 172.09 <sup>c</sup>                                                        | 293.46 <sup>ab</sup>                                                  | 24.51 | 0.004       |
| ضخامت کریپت دوازدهه<br>Duodenum crypt thickness                             | 21.96 <sup>a</sup>   | 15.59 <sup>bc</sup>                                                          | 20.72 <sup>ab</sup>                                                     | 16.00 <sup>bc</sup>                                                        | 13.59 <sup>c</sup>                                                    | 1.71  | 0.02        |
| ارتفاع پرز ژژنوم<br>Jejunum villi height                                    | 890.54 <sup>b</sup>  | 1321.40 <sup>a</sup>                                                         | 1187.80 <sup>a</sup>                                                    | 916.27 <sup>b</sup>                                                        | 1149.17 <sup>a</sup>                                                  | 67.15 | 0.002       |
| ضخامت پرز ژژنوم<br>Jejunum villus thickness                                 | 144.55 <sup>b</sup>  | 220.58 <sup>a</sup>                                                          | 141.55 <sup>b</sup>                                                     | 130.28 <sup>b</sup>                                                        | 129.30 <sup>b</sup>                                                   | 13.45 | 0.001       |
| عمق کریپت ژژنوم<br>Jejunum villus depth                                     | 241.01 <sup>ab</sup> | 299.71 <sup>a</sup>                                                          | 191.83 <sup>bc</sup>                                                    | 150.45 <sup>c</sup>                                                        | 264.88 <sup>ab</sup>                                                  | 24.38 | 0.005       |
| پهنای کریپت ژژنوم<br>Jejunum villus width                                   | 12.76                | 10.49                                                                        | 13.70                                                                   | 11.72                                                                      | 15.49                                                                 | 2.6   | 0.71        |
| ارتفاع پرز ایلئوم<br>Ileum villi Height                                     | 809.40 <sup>c</sup>  | 982.16 <sup>a</sup>                                                          | 956.78 <sup>ab</sup>                                                    | 815.28 <sup>bc</sup>                                                       | 944.69 <sup>ab</sup>                                                  | 45.30 | 0.04        |
| پهنای پرز ایلئوم<br>Ileum villi width                                       | 165.95 <sup>b</sup>  | 354.28 <sup>a</sup>                                                          | 174.96 <sup>b</sup>                                                     | 170.85 <sup>b</sup>                                                        | 167.41 <sup>b</sup>                                                   | 16.25 | 0.02        |
| عمق کریپت ایلئوم<br>Ileum villi depth                                       | 119.34 <sup>bc</sup> | 244.37 <sup>a</sup>                                                          | 101.56 <sup>bc</sup>                                                    | 70.39 <sup>c</sup>                                                         | 171.40 <sup>ab</sup>                                                  | 24.18 | 0.001       |
| پهنای کریپت ایلئوم<br>Ileum crypt Height                                    | 14.18                | 15.80                                                                        | 16.59                                                                   | 17.20                                                                      | 13.72                                                                 | 1.89  | 0.64        |
| نسبت ارتفاع پرز به عمق<br>کریپت دودنوم<br>Duodenum villi Height/crypt depth | 4.91                 | 4.19                                                                         | 5.84                                                                    | 6.16                                                                       | 4.35                                                                  | 0.65  | 0.14        |
| نسبت ارتفاع پرز به عمق<br>کریپت ژژنوم<br>Jejunum villi Height/crypt depth   | 3.86 <sup>b</sup>    | 4.59 <sup>ab</sup>                                                           | 6.33 <sup>a</sup>                                                       | 6.37 <sup>a</sup>                                                          | 4.35 <sup>b</sup>                                                     | 0.60  | 0.02        |
| نسبت ارتفاع پرز به عمق<br>کریپت ایلئوم<br>Ileum villi Height/crypt depth    | 8.06 <sup>bc</sup>   | 4.23 <sup>d</sup>                                                            | 9.97 <sup>ab</sup>                                                      | 11.98 <sup>a</sup>                                                         | 5.84 <sup>cd</sup>                                                    | 1.15  | 0.002       |

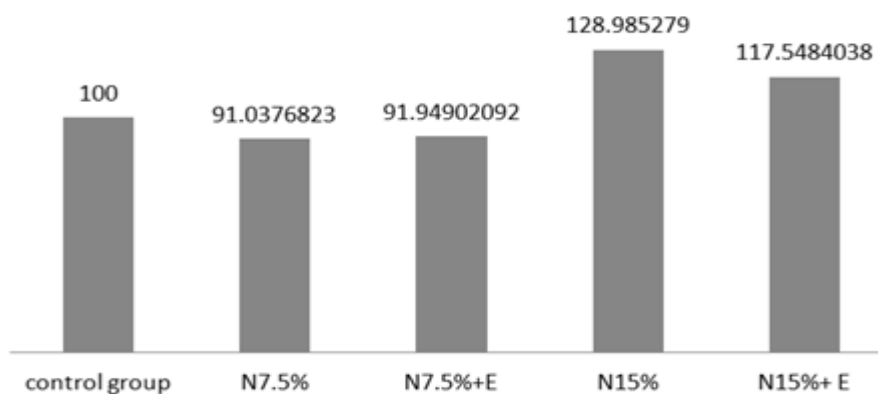
a,b میانگین‌های هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ( $P < 0.05$ ).a,b Means within same row with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

ژژنوم و ایلئوم نسبت به تیمار شاهد شد ( $P < 0.05$ ). علاوه بر این، مصرف سطوح مختلف کنجاله سیاه دانه بدون آنزیم منجر به اختلاف معنی‌داری در عمق کریپت دوازدهه، ژژنوم و ایلئوم شد، بطوری که کمترین عمق کریپت در تیمار ۱۵ درصد کنجاله سیاه دانه بدون آنزیم و بیشترین عمق کریپت در تیمار ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه بدون آنزیم مشاهده شد.

نتایج مربوط به تجزیه داده‌های ریخت سنجی روده کوچک در جدول ۷ ارائه شده است. استفاده از سطح ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه بدون آنزیم در جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش معنی‌دار پهنای پرز دوازدهه نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی شد ( $P < 0.05$ ). همچنین کاربرد آنزیم در سطح بالای کنجاله سیاه دانه سبب افزایش ارتفاع پرز

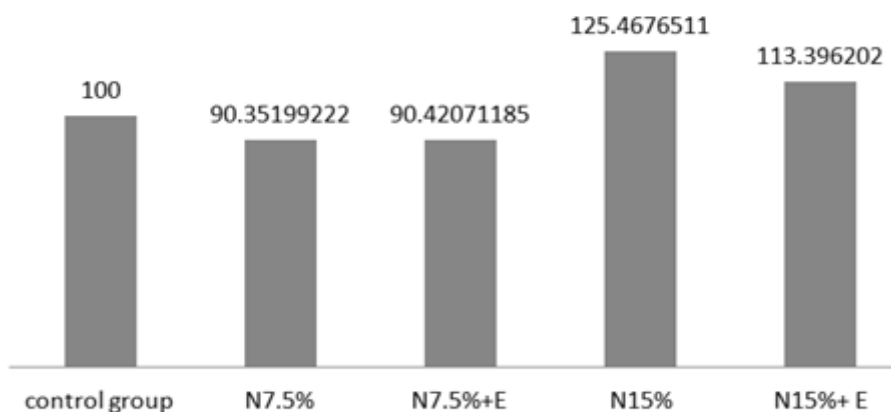
کاهش می‌دهد (Vissek, 1987). از طرف دیگر، کریپت می‌تواند به عنوان تولید کننده سلول‌های پرز در نظر گرفته شود و عمق بیشتر کریپت حاکی از ترن‌آور سریع‌تر پرز به دلیل تقاضای بیشتر انرژی و پروتئین برای نوسازی پرز است که در نتیجه منجر به کاهش رشد سایر بافت‌های بدن از جمله بافت‌های عضلانی می‌شود (Miles et al., 2006). اما بالعکس، کریپت کوچکتر بازده بافتی آهسته‌تری داشته و در نتیجه نیاز کمتری برای بازسازی بافت جدید خواهد داشت (Yason et al., 1987). در واقع نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت یک شاخص بافت‌شناسی برای ظرفیت هضمی روده کوچک به علت تماس روده با مواد مغذی است. بر همین اساس افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت نشان دهنده بهبود فرآیند هضم و جذب است (Mahdavi et al., 2010). مصرف سیاه دانه در جیره می‌تواند تعداد باکتری‌های/شرشیاکی را به عنوان گونه‌های باکتریایی بیماری‌زا کاهش دهد.

( $P < 0.05$ ). پهنای پرز ژژنوم و ایلئوم جوجه‌های تغذیه شده با ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه بدون آنزیم افزایش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی داشت ( $P < 0.05$ ). کمترین پهنای کریپت دودنوم در تیمار ۱۵ درصد کنجاله سیاه دانه همراه با آنزیم مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد داشت ( $P < 0.05$ ), اما پهنای کریپت در سایر بخش‌های روده تفاوت معنی‌داری نداشت. بر اساس نتایج حاصله کاربرد آنزیم در سطح بالای کنجاله سیاه دانه منجر به کاهش معنی‌دار نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت ژژنوم و ایلئوم در مقایسه با همان سطح بدون آنزیم شد، در صورتی که سطح ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه همراه آنزیم منجر به افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت ژژنوم و ایلئوم در مقایسه با همان سطح بدون آنزیم شد ( $P < 0.05$ ). مطالعات در زمینه بافت‌شناسی روده با مکمل‌سازی سیاه دانه محدود می‌باشد. در این زمینه گزارش شده است که افزایش ارتفاع پرز در بخش‌های مختلف روده به ویژه در ژژنوم جذب مواد مغذی را افزایش می‌دهد و نیاز متابولیکی دستگاه گوارش را



شکل ۱- برآورد هزینه خوراک مصرفی به ازای افزایش وزن (قیمت آزاد) (درصد نسبت به هزینه جیره شاهد)

Figure1- estimation of feed cost per weight gain (free price)



شکل ۲- برآورد هزینه خوراک مصرفی به ازای افزایش وزن (قیمت یارانه‌ای) (درصد نسبت به هزینه جیره شاهد)

Figure 2- estimation of feed cost per weight gain (Subsidized price)



مصرفی نسبت به تیمار شاهد شد. از آنجایی که منبع اصلی پروتئین در جیره طیور از کنجاله سویا تأمین می‌شود، فلذا برای کاهش هزینه‌های خوراک، جایگزینی منابع جدید و ارزان قیمت در زمینه اقتصادی کمک بزرگی محسوب می‌شود. با توجه به نتایج آزمایش حاضر، استفاده از کنجاله سیاه دانه به جای بخشی از کنجاله سویا می‌تواند در کاهش هزینه خوراک و افزایش سودآوری بدون تأثیر منفی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی مؤثر باشد.

### نتیجه‌گیری

با توجه به مشاهدات پژوهش حاضر، می‌توان به این نتیجه رسید که استفاده از کنجاله سیاه دانه باعث افت عملکرد جوجه‌ها شده و استفاده از مکمل آنزیمی هم نتوانست این اثرات منفی را رفع کند. هر چند مصرف آنزیم به همراه سطح بالای کنجاله سیاه دانه سبب افزایش ارتفاع پرز ژژنوم و ایلئوم شد، اما این امر بر بهبود عملکرد جوجه‌ها تأثیری نداشت. شاخص‌های خونی نیز تحت تأثیر مصرف کنجاله و آنزیم قرار نگرفت.

بنابراین ممکن است بهبود نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ارتباط با خصوصیات ضد میکروبی سیاه دانه باشد. به همین دلیل زمانی که فعالیت میکروبی در محتویات روده در سطح مرز مسواکی<sup>۱</sup> کم می‌شود، نیاز سلول‌های انتروسیست و نیاز به تکثیر سلول‌های جدید در روده کاهش می‌یابد که در نتیجه باعث ارتفاع بلندتر پرز و عمق کمتر کریپت می‌شود (Boka et al., 2014). در توافق با یافته‌های تحقیق حاضر، در تحقیقی گزارش شده است که ارتفاع پرز به عمق کریپت در دوازدهه و ارتفاع پرز به عمق کریپت و سطح پرز ژژنوم با افزودن پودر سیاه دانه به جیره در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت (Abdollahi, 2012). همچنین سعید نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در دوازدهه به هنگام افزودن ۰/۵ درصد سیاه دانه به جیره جوجه‌های گوشتی افزایش پیدا کرد (Saeid et al., 2013). در آزمایشی مشاهده شد که استفاده از ۲ یا ۳ درصد سیاه دانه در جیره مرغان تخمگذار سبب افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت شد، این امر به علت افزایش ارتفاع پرز و کاهش عمق کریپت بود (Boka et al., 2014).

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی بر برخی از شاخص‌های اقتصادی در شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. استفاده از سطح ۷/۵ درصد کنجاله سیاه دانه در جیره سبب کاهش قابل توجه هزینه خوراک

### References

1. Abaza, I. 2001. The use of some medical plants as feed additive in broiler diets. Ph.D. dissertation, poultry Nutrition Department, Alexandria University.
2. Abbasi Mashinchizadeh, K., P. Farhoumand, and M. Daneshyar. 2013. Evaluation of the effects of different levels of black cumin seeds on the fatty acid composition of thigh meat and the weight of internal organs of broilers. National Conference on Modern Agricultural Sciences and Technologies. (in Persian).
3. Abdelhady, A. A., A. A. AbdelAzeem, and A. G. Gamal. 2009. Effect of replacement of soybean meal protein by *Nigella sativa* meal protein on performance of growing Japanese quail. *Egyptian Poultry Science Journal*, 29: 407-422.
4. Abdo, Z. M. A. 2004. Effect of phytase supplementation on the utilization of *Nigella sativa* seed meal in broiler diets. *Egyptian Poultry Science Journal*, 24:143-162.
5. Abdollahi, A. 2012. Effects of black seed on the performance of broiler chicken. MSc. thesis. Kordestan University. Iran. (In Persian)
6. Abou-El-Soud, S. B. 2000. Studies on some biological and immunological aspects in Japanese quail fed diet containing some *Nigella sativa* seeds preparations. *Egyptian Poultry Science Journal*, 20: 757-776.
7. Adibmoradi, M., B. Navidshad, J. Seifdavati, and M. Royan. 2006. Effect of dietary garlic meal on histological structure of small intestine in broiler chickens. *Journal of Poultry Science*. 43: 378-383.
8. Akhtar, M. S., Z. Nasir, and A. R. Abid. 2003. Effect of feeding powdered *Nigella sativa* L. seeds on poultry egg production and their suitability for human consumption. *Veterinarski arhiv*, 73:181-190.
9. AL-Beitawi, N. and S. S. El-Ghousein. 2008. Effect of Feeding Different Levels of *Nigella Sativa* Seeds (Black Cumin) on Performance, Blood Constituents and Carcass Characteristics of Broiler Chicks. *Poultry Science*, 7: 715-721.
10. Al-Homidan, A., A. A. Al-qarawi, S. A. Al-waily, and S. E. I. Adam. 2002. Response of broiler chicks to dietary *Rhazya stricta* and *Nigella sativa*. *British Journal of Poultry Science*, 43:291-296.
11. Al-Saleh, I. A., G. Billedo, and I. E. Inam. 2006. Level of selenium, DL- $\alpha$ -tocopherol, DL- $\gamma$ -tocopherol, all trans retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella Sativa* seeds. *Journal of Food Composition and Analyses*, 19:167-175.
12. Arslan, S. O., E. Gelir, F. Armutcu, O. Coskun, A. Gurel, H. Sayan, and I. L. Celik, 2005. The protective effect of thymoquinone on ethanol-induced acute gastric damage in the rat. *Nutrition Research*, 25: 673-680.
13. Attia, Y. A., A. E. Tag El-Din, H. S. Zeweil, A. S. Hussein, E. M. Qota, and M. A. Arafat. 2008. The effect of

- supplementation of enzyme on laying and reproductive performance in Japanese quail hens fed *Nigella* seed meal. *Poultry Science*, 45:110-115.
14. Aydin, R., M. Karaman, T. Cicek, and H. Yardibi. 2008. Black cumin (*Nigella sativa* L.) Supplementation into the diet of the laying hen positively influences egg yield parameters, shell quality, and decreases egg cholesterol. *Poultry Science*, 87:2590-2595.
15. Badari, O. A., A. B. Abdel-Naim, M. H. Abdel-Wahab, and F. M. Hamada. 2002. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*, 143:219-226.
16. Badari, O. A., R. A. Taha, A. M. Gamal-el-Din, and M. H. Abdel-Wahab. 2003. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug Chemistry and Toxicology*, 26:87-98.
17. Bassim, A. 2003. Some characteristics of *Nigella sativa* seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry*, 83:63-68.
18. Boka, J., A. H. Mahdavi, A. H. Samie, and R. Jahanian. 2014. Effect of different levels of black cumin (*Nigella sativa* L.) on performance, intestinal *Escherichia coli* colonization and jejunal morphology in laying hens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98(2): 373-383.
19. Durrani, F. R., N. Chand, K. Zaka, A. Sultan, F. M. Khattak, and Z. Durrani, 2007. Effect of different levels of feed added black seed (*Nigella sativa* L.) on the performance of broiler chicks. *Pakistan Journal of Bioorganic Science*, 10: 4164-4167.
20. El-Abhar, H. S., D. M. Abdallah, and S. Saleh. 2003. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 84 (2-3): 251-258.
21. El-Alfy, T. S., H. M. El-Fataty, and M. A. Toama. 1975. Isolation and structure assignment of an antimicrobial principle from the volatile oil of *Nigella sativa* L. seeds. *Pharmazie*, 30: 109-111.
22. El-Dakhakhny, M. 1996. Studies on the Egyptian *Nigella sativa* L: IV. Some pharmacological properties of the seeds' active principle in comparison to its dihydro compound and its polymer. *Journal de pharmacie de Belgique*, 15: 1227-1229.
23. El-Deek, A. A., M. Saffa, H. Hamy and M. M. Khalifah. 1999. Effects of *Nigella* seed oil meal in broiler diets on performance and physical and sensory characteristics of meat. *Egyptian Poultry Science Journal*, 22: 207-225.
24. Guler, T., B. Dalkilic, O. N. Ertas and M. Ciftci. 2006. The effect of dietary black cumin seeds (*Nigella sativa* L.) on the performance of broilers. *Asian-Austr. Journal of Animal Science*, 19: 425-430.
25. Hassan, I. I., A. A. Askar, A. Gehan and A. EL-Shourbagy. 2004. Influence of some medicinal plants on performances; physiological and meat quality traits of broiler chicks. *Egyptian Poultry Science Journal*, 24: 247-266.
26. Hernandez, F., J. Madrid, V. Garcia, J. Orengo, and M. D. Megias. 2004. Influence of two plant extract on broiler performance, digestibility and digestive organ size. *Poultry Science*, 83: 169-174.
27. Hosseini-Vashan S. J. and T. Ghaznavi. 2018. Determination of Nutritive Value and Metabolizable Energy of *Nigella sativa* Meal Using Leghorn Cockerel and Predicted AMEn Models. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 9 (4): 437-445
28. Ismail, Z. S. H. 2011. Effects of dietary black cumin gumin growth seeds (*Nigella sativa* L.) or its extract on performance and total coliform bacteria count on broiler chicks. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5 (2): 128-135.
29. Jamroz, D. and C. Kamel. 2002. Plant extracts enhance broiler performance. In non-ruminant nutrition: Antimicrobial agents and plant extracts on immunity, health and performance. *Journal of Animal Science*, 80 (1): 41-46.
30. Khalaji, S., M. Zaghari, K. H. Hatami, S. Hedari-Dastjerdi, L. Lotfi and H. Nazarian. 2011. Black cumin seeds, *Artemisia leaves (Artemisia sieberi)*, and *Camellia* L. plant extract as Phytogenic products in broiler diets and their effects on performance, blood constituents, immunity, and cecal microbial population. *Poultry Science*, 90: 2500-2510.
31. Mahdavi, A. H., H. R. Rahmani, N. Nili, A. Samie H. S., Soleimanian-Zad and R. Jahanian. 2010. Effects of dietary egg yolk antibody powder on growth performance, intestinal *Escherichia coli* colonization, and immunocompetence of challenged broiler chicks. *Poultry Science*, 89: 484-494.
32. Mahmoud, I., A. Alkofahi, and A. Abd El-Aziz. 1992. Mutagenic and Toxic activities of several species and some Jordanian medicinal plants. *International Journal of Pharmacy*, 30: 81-85.
33. Miles, R. D., G. D. Butcher, P. R. Henry, and R. C. Littell. 2006. Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. *Journal of Poultry Science*, 85:476-485.
34. Mousapour, T. and M. salarmoini. 2014. Effect of using different levels of *Nigella sativa* meal on the growth performance and meat quality of Japanese quails. *Iranian Journal of Animal Science Research*. Volume 6 (1): 17-24.
35. Osman, A. M. A. and M.A.A. El-Barody. 1999. Growth performance and immune response of broiler chicks as affected by diets density and *Nigella sativa* seeds supplementation. *Egyptian Poultry Science*, 19: 619-633.
36. Ramezani, M., M. Afsharmanesh, R. Tahmasbi and E. Rostami Gohari. 2018. The Effect of Ferulaassa-Foetida Gum Powder Compare to Antibiotic on Performance, Microbial Population and Intestinal Morphology in Broiler Chickens. *Research on Animal Production*, 8 (17): 26-33. (In Persian)
37. Saeid, J. M., A. B. Mohamed and M. A. Al- Baddy. 2013. Effect of garlic powder (*Allium sativum*) and black seed (*Nigella sativa*) on broiler growth performance and intestinal morphology. *Iranian Journal of Applied Animal Science*. 3: 185-188.

38. Shewita, R. S. and A. E. Taha. 2011. Effect of Dietary Supplementation of Different Levels of Black Seed (*Nigella sativa* L.) on Growth Performance, Immunological, Hematological and Carcass Parameters of Broiler Chicks. International Journal of Animal and Veterinary Sciences, 5(5): 304-310.
39. Shirzadegan, K., P. Fallahpour, I. Nickkhah and H. R. Taheri, 2010. Black cumin (*Nigella sativa*) supplementation in the diet of broilers influences liver weight and its enzymes. MSc. Thesis in Animal science, Islamic Azad University, Rasht Branch, Rasht. (In Persian)
40. Soltan, M. A. 1999. Effect of diet containing *Nigella sativa* (black seeds) on growth and productive performance of Japanese quail. Journal of Veterinary Science, 15: 655-669.
41. Taheri, F. 2017. Comparative effect of black seed powder and meal on visceral function and traits, biochemical parameters and blood cells in Japanese broiler quail aged 1 to 28 days. MSc thesis, animal science. Malayer University. (In Persian)
42. Talha, E., E. Abbas, and E. Mohamed. 2010. Effect of supplementation of *Nigella sativa* seeds to the broiler chicks' diet on the performance and carcass quality. International Journal of Agricultural Sciences, 2: 0975-3710.
43. Tekeli, A. 2014. Nutritional value of black cumin meal as an alternative protein source in poultry nutrition. Journal of Animal Science Advanced, 4(4): 797-806.
44. Toghyani, M., A. Toghyani, A. Geisari, G. Ghalamkari, and M. Mohammad rezaei. 2010. Growth performance, serum biochemistry and blood hematology of broiler chick fed different levels of black seed (*Nigella sativa* L.) and peppermint (*Mentha piperita*). Livestock Science, 129: 173-178.
45. Tollba, A. A. H., and M. S. H. Hassan. 2003. Using some natural additives to improve physiological and productive performance of broiler chicks under high temperature conditions 2- black cumin (*Nigella sativa*) or garlic (*Allium sativum*). Egypt Poultry Science Journal, 23: 327-340.
46. Visek, W. J. 1987. The mode of growth promotion by antibiotics. Journal of Animal Science, 46:1447-1469.
47. Yason, C. V., B. A. Summers, and K.A. Schat. 1987. Pathogenesis of rotavirus infection in various age groups of chickens and turkeys. American Journal of Veterinary Research, 48: 927-938.
48. Zeweil, H.S. 1996. Evaluation of substituting nigella seed meal for soy National Research Council (NRC). Nutrient Requirements of bean meal on the performance of growing and laying Japa-Poultry. Egypt Poultry Science Journal, 16: 451-477.





## The effect of kefir and peppermint extract (*Mentha piperita*) extract in drinking water on performance, lipid profiles, thyroid hormones and testosterone hormone of Japanese quail

Khalil Mirzadeh<sup>1\*</sup>, Amin kazemizadeh<sup>2</sup>, Zarbakt Ansari Pirsaraei<sup>3</sup>

Received: 18-12-2020

Revised: 30-04-2021

Accepted: 30-05-2021

Available Online: 07-06-2022

### How to cite this article:

Mirzadeh, Kh., A. kazemizadeh, and Z. Ansari Pirsaraei. 2022. The effect of kefir and peppermint extract (*Mentha piperita*) extract in drinking water on performance, lipid profiles, thyroid hormones and testosterone hormone of Japanese quail. Iranian Journal of Animal Science Research 14(1):83-95.

[DOI:10.22067/ijasr.2021.67841.1001](https://doi.org/10.22067/ijasr.2021.67841.1001)

**Introduction:** Application of antibiotics causes two major health problems, including antibiotic residues in body tissues and animal products and the resistance of pathogens to antibiotics. On the other hand, antibiotics improve growth, feed efficiency and control infectious diseases. Following the ban on the use of antibiotics as growth stimulants in the poultry industry, the EU has been paying more attention to non-antibiotic growth-promoting compounds since 2006, including organic acids, probiotics and herbs. Previous studies have shown that in many oils of dark plants *Mentha piperita*, thymol, carvacrol, menthol and in some cases paracetamol are the most important components of growth improvement, their antimicrobial and antioxidant properties. kefir is also a natural probiotic. The fermenting agent of kefir milk is kefir seeds, which contain casein and the species *Lactobacillus*, *Saccharomyces*, *Streptococcus* and others. Diets containing *Mentha piperita*, by improving the microflora of the gastrointestinal tract and reducing the population of harmful microbes, can create better conditions for the use of final feed products and thus improve the growth and better performance of chickens. In studies, the positive effects of kefir on the performance and biochemical parameters of broiler blood have been reported.

**Materials and Methods:** This study was conducted in the animal husbandry research station of Khuzestan University of Agriculture and Natural Resources. In this study, four hundred one-day-old Japanese quails were used in a completely randomized design with four treatments, four replications and 25 observations per replication for 35 days. The experiment was performed. Treatments are: Treatment 1) Basic diet + drinking water (control group), Treatment 2) Basic diet + drinking water + 0.5% *Mentha piperita* extract, Treatment 3) Basic diet + drinking water + kefir milk 2%, Treatment 4) Basic diet + drinking water + *Mentha piperita* extract 0.5% + kefir milk are 2%. The weight of quails was measured at the end of each week and the feed consumed was determined. The average of daily weight gain, feed intake and feed conversion ratio were calculated. At the end of the fifth week, from each replicate, two quails with a weight close to the average were selected and slaughtered. Breast and thigh meat samples were used to measure pH, water holding capacity and meat moisture content. Also, at the end of the fifth week, two samples were randomly selected from each replicate and blood was taken from their wing vein to measure blood parameters, thyroid hormones and testosterone.

**Results and Discussion:** The addition of mint and kefir extract significantly increased the weight of Japanese quails. The highest weight gain in the third and fourth weeks was observed in treatments 2, 3 and 4, respectively. In a study that investigated the effect of kefir on broiler performance, it was shown that the use of kefir as a natural

1- Associate Professor, Department of Animal Science. Khuzestan university of Agriculture and Natural Resources, Mollasani, Iran.

2- Ph.D. Candidate, Department of Animal Science. Khuzestan university of Agriculture and Natural Resources, Mollasani, Iran.

3- Associate Professor, Animal Science Department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

\*Corresponding Author Email: [mirzadeh@asnrukh.ac.ir](mailto:mirzadeh@asnrukh.ac.ir)

probiotic causes significant weight gain, which is consistent with the present results. *Mentha piperita* essential oil and kefir have been reported to improve feed conversion ratio and stimulate digestion in broilers. Kefir added to broiler drinking water has been reported to increase body weight, increase daily weight, reduce daily feed intake and feed conversion ratio, and improve performance. *Mentha piperita* lowers blood cholesterol levels by liver or intestinal cells. Peppermint also accelerates LDL catabolism by increasing liver LDL receptors. In addition, *Mentha piperita* inhibits the activity of the enzyme fatty acid synthase (FAS) and increases the beta oxidation of fatty acids, thereby effectively reducing fat storage. The concentration of thyroid hormones was not affected by the treatments. In some studies, thyroid hormone concentrations increase with nutrition of mint and kefir. Testosterone concentrations were significantly affected by experimental treatments. Changes in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis are the most important factors affecting the reproductive system. So far, the effect of many different plant extracts on the hypothalamic-pituitary-gonadal hormonal axis has been investigated. Plant extracts such as marjoram and ginger have been reported to increase testosterone, LH and sometimes FSH, and play an effective role in activating the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. Peppermint, with its special chemical composition, can stimulate the signaling pathways of sex steroid production in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. The effect of experimental treatments on pH and moisture of breast and thigh meat and their water holding capacity was not significant.

**Conclusion:** According to this study and economic considerations, it seems that the combined use of 2% kefir and 0.5% *Mentha piperita* in drinking water can improve the performance and also modulate lipid profiles in Japanese quails, as well as increase reproductive performance in males.

**Keywords:** Antioxidant, Japanese Quail, Probiotic, Plasma

## مقاله پژوهشی

## تأثیر کفیر و عصاره نعنای فلفلی در آب آشامیدنی بر عملکرد رشد، کیفیت گوشت، پروفیل لیپیدی، هورمون‌های تیروئیدی و هورمون تستوسترون در بلدرچین ژاپنی گوشتی

خلیل میرزاده<sup>۱\*</sup>، امین کاظمی زاده<sup>۲</sup>، زریخت انصاری پیرسرای<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۲۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۲/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۰۹

میرزاده، خ.، ا. کاظمی زاده، و ز. انصاری پیرسرای. ۱۴۰۱. تأثیر کفیر و عصاره نعنای فلفلی در آب آشامیدنی بر عملکرد رشد، کیفیت گوشت، پروفیل لیپیدی، هورمون‌های تیروئیدی و هورمون تستوسترون در بلدرچین ژاپنی گوشتی. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۴(۱): ۸۳-۹۵.

## چکیده

در این پژوهش، تأثیر کفیر و نعنای فلفلی در آب آشامیدنی بر عملکرد رشد، پروفیل لیپیدی، هورمون‌های تیروئیدی و هورمون تستوسترون در بلدرچین ژاپنی بود. آزمایش با تعداد ۴۰۰ قطعه بلدرچین یک روزه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ واحد آزمایش شامل ۴ تیمار، ۴ تکرار و تعداد ۲۵ قطعه جوجه بلدرچین (نر و ماده) در هر تکرار انجام شد. تیمارها شامل: تیمار ۱: آب (گروه شاهد)، تیمار ۲: آب + نعنای ۰/۵ درصد، تیمار ۳: آب + کفیر ۲ درصد، تیمار ۴: آب + نعنای ۰/۵ درصد + کفیر ۲ درصد. روز ۳۵ آزمایش، به‌طور تصادفی از دو قطعه بلدرچین از هر پن بستر خون گرفته شد، و پس از جدا کردن پلاسما، فراسنجه‌های خونی اندازه‌گیری شد. تفاوتی معنی‌داری بین تیمارها آزمایشی در مصرف خوراک وجود نداشت. بالاترین افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار ۴ در هفته سوم و چهارم نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). غلظت کلسترول کل در تیمار ۴، نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ( $P < 0.05$ )، ولی تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای ۲ و ۳ مشاهده نشد. غلظت تری‌گلسیرید در تیمار ۴ نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). با این وجود تفاوت معنی‌داری بین تیمار ۴، ۳ و ۲ مشاهده نشد. غلظت LDL در تیمار ۳ و ۴ به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش و HDL افزایش یافت. غلظت گلوکز تحت تأثیر هیچ‌کدام از تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $P > 0.05$ ). غلظت تستوسترون در تیمار ۴ به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد بالاتر بود ( $P < 0.05$ ). غلظت هورمون‌های تیروئیدی و کیفیت گوشت تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $P > 0.05$ ). در کل، افزودن توأم نعنای فلفلی و کفیر به آب آشامیدنی بلدرچین می‌تواند سبب بهبود عملکرد (وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی) شود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، بلدرچین ژاپنی، پروبیوتیک، پلاسما.

## مقدمه

قبل ملاحظه‌ای الگوی مصرف غذاهای با منشأ حیوانی در کشورهای در حال توسعه خواهد شد (Van der Zijpp, 1999). تنها راه حل این مشکلات افزایش تولیدات با منشأ حیوانی با کاهش تلفات و خسارت اقتصادی ناشی از بیماری و هزینه‌های درمانی و بهبود شرایط بهداشتی

بر اساس پیش‌بینی‌ها تا سال ۲۰۲۰ میلادی، رشد شهرنشینی، افزایش سطح درآمد و رشد جمعیت، موجب افزایش میزان تقاضا و تغییر

۱. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.  
۲. دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.  
۳. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.  
(Email: [mirzadeh@asnrukh.ac.ir](mailto:mirzadeh@asnrukh.ac.ir))  
\* - نویسنده مسئول

جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها مطرح می‌باشند، این ترکیبات از طریق مکانیسم حذف رقابتی باعث بهبود تعادل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش پرند می‌شوند، کفیر (Kefir) یک پروبیوتیک طبیعی است (Sharifi et al., 2017). عامل تخمیرکننده شیر کفیر دانه‌های کفیر است (Taghavi et al., 2018)، حضور دانه‌های کفیر که حاوی مخلوطی از ریزسازواره‌ها (باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمرها) در زمینه اگزوپلی‌ساکاریدی به نام کفیران و پروتئین کازئین شیر است آن را از سایر فراورده‌های تخمیری متمایز می‌کند (Toghyani et al., 2015; Vimercati et al., 2020). علاوه بر این گزارش شده است در طول تخمیر محتوای ویتامین‌ها (B1، B6، B12، B5، K)، اسیدهای آمینه (تریتوفان، والین، وسین، ایزولوسین، هیستیدین، متیونین، سرین، لیزین)، املاح (کلسیم، پتاسیم، منیزیم، فسفات)، کربوهیدرات‌ها (گلوکز، لاکتوز، گالاکتوز)، و پپتیدها افزایش می‌یابد (Toghyani et al., 2015; Vimercati et al., 2020). مزه ملایم کفیر و خصوصیات فلورمیکروبی آن باعث افزایش ترشح بزاق و ترشح آنزیم در معده و پانکراس و نیز بهبود حرکات دودی روده‌ها می‌گردد (Purutoglu et al., 2019). کفیر افزایش حرکات غذا در روده را بهتر نموده از طرفی حضور اسیدلاکتیک و اسید استیک و آنتی‌بیوتیک موجود در کفیر موجب مهار فرآیند فساد در روده کوچک می‌گردد (Puerari et al., 2012; Purutoglu et al., 2019). چو و همکاران (Cho et al., 2013) نشان دادند که تجویز خوراکی کفیر باعث بهبود عملکرد و کیفیت گوشت در جوجه‌های گوشتی می‌شود. در پژوهشی دیگر اثرات مثبت کفیر بر عملکرد و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی گزارش شده است (Cenesiz et al., 2008). محققان نشان دادند که استفاده از کفیر باعث افزایش HDL و کاهش تری‌گلیسرید و کلسترول خون جوجه‌های گوشتی می‌شود (Toghyani et al., 2015). با توجه به اینکه آزمایش‌های محدودی در مورد استفاده از عصاره نعنای در آب آشامیدنی در بلدرچین ژاپنی وجود دارد و گزارشی مبنی بر استفاده از کفیر مشاهده نشد، این آزمایش با هدف بررسی اثر عصاره نعنای فلفلی و کفیر بر عملکرد و پروفیل‌های لیپیدی در بلدرچین ژاپنی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نعنای فلفلی: در این مطالعه ۲ کیلوگرم از گیاه نعنای فلفلی پس از جمع‌آوری، در محیط خشک و تاریک در جریان هوا خشک شد و سپس آسیاب و به‌صورت پودر در آمد. پودر در بالن یک لیتری و با نسبت ۱ به ۵ با الکل اتیلیک ۸۰ درصد مخلوط شد و به مدت ۴۸ ساعت بر روی دستگاه شیکر به آرامی انکوبه گردید. سپس مخلوط به دست آمده توسط صافی و قیف بوخنر صاف شد عصاره اولیه به دست آمده وارد دستگاه روتاری گردید و در دمای ۸۰ درجه

گله‌های پرورش دام، به منظور تأمین امنیت غذایی جامعه هست (Van der Zijpp, 1999). با توجه به گسترش روزافزون پژوهش‌ها و مطالعات علمی در صنعت طیور، شاهد پیشرفت‌های علمی قابل‌توجهی در خصوص افزایش توان بالقوه تولیدی طیور هستیم که به منظور بالفعل نمودن آن تأمین شرایط مناسب و اعمال مدیریت صحیح غیرقابل‌انکار است (Moravej, 2008).

از آنجایی که استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد باعث ایجاد دو مشکل اساسی در سلامتی می‌شود که شامل باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی در بافت‌های بدن و فراورده‌های دامی و مقاومت باکتری‌های بیماری‌زا به آنتی‌بیوتیک است، تحقیقات زیادی برای پیدا کردن جایگزین‌های مناسب برای این نوع آنتی‌بیوتیک‌ها انجام شده است که بتوانند نتایج مشابهی در بهبود رشد و راندمان خوراک داشته باشند (Hafeez et al., 2015). پس از ممنوع شدن استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان محرک رشد در صنعت پرورش طیور، اتحادیه اروپا در سال ۲۰۰۶ به مواد غیر آنتی‌بیوتیکی با توان محرک رشد شامل اسیدهای آلی، پروبیوتیک‌ها و گیاهان دارویی توجه بیشتری کرده است (Hafeez et al., 2015; Abbaspour and Sharifi, 2016). گیاهان دارویی و ترکیب آنها دارای فعالیت‌های زیستی متنوعی از قبیل خاصیت ضد میکروبی، ضدانگلی، ضد ویروسی و خواص آنتی‌اکسیدانی در طیور هستند و با ممانعت از رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها در لوله گوارش سبب ایجاد پایداری در جمعیت میکروبی می‌شوند (Dagnew and Gunther, 1990). بررسی‌های پیشین حاکی از آن است که در بسیاری از اسانس‌های گیاهان تیره نعنای، تیمول، کارواکرول، منتول و در مواردی پاراسیمن مهم‌ترین اجزاء مؤثر در بروز خواص محرک رشد، ضد میکروب و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌باشند (Beuchat and Golden, 1989).

اسانس نعنای دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، محرک ترشح شیرهای گوارشی و میکروب‌کشی قوی است. منتول موجود در این اسانس با کاهش میکروب‌های مضر کانال گوارش و نیز از طریق افزایش ترشحات لوزالمعده و دیگر اندام‌های گوارشی، باعث افزایش هضم و جذب مواد مغذی شده و در نتیجه درصد تولید و عملکرد طیور را بهبود می‌بخشد (Andogan et al., 2002). لاوکوا و همکاران (Lovkova et al., 2001) نیز بیان کردند که جیره‌های حاوی نعنای فلفلی (*Mentha piperita*) از طریق بهبود تعادل میکروفلورای دستگاه گوارش و کاهش جمعیت میکروبی مضر، قادر به ایجاد شرایط مناسب‌تری برای بهره‌وری از مواد غذایی خوراک و در نتیجه رشد و عملکرد بهتری در جوجه گوشتی می‌شود. اکبری و ترکی (Akbari and Torki, 2014) گزارش کردند که عصاره نعنای، غلظت HDL-کلسترول را افزایش داده و غلظت کلسترول کل، تری‌گلیسرید، LDL-کلسترول و گلوکز را در خون جوجه‌های گوشتی کاهش داد. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که به‌عنوان



در پایان هفته پنجم، از هر واحد آزمایشی دو پرنده که از نظر وزنی نزدیک به میانگین گروه خود بودند، انتخاب و کشتار شدند. نمونه‌های گوشت ران و سینه هر دو پرنده برای فراسنجه‌های pH، ظرفیت نگهداری آب و درصد رطوبت گوشت سنجیده شد. برای تعیین ظرفیت نگهداری آب، ابتدا یک گرم نمونه گوشت درون کاغذ صافی قرار گرفت و به مدت چهار دقیقه در دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس نمونه گوشت در آن (دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دوازده ساعت) خشک شد. ظرفیت نگهداری آب با استفاده از نمونه‌های گوشت تازه اندازه‌گیری شد. به این منظور، ابتدا یک گرم از هر نمونه گوشت تازه به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰ سانتریفیوژ و توزین شد و پس از قرار داد در آن با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، مجدداً توزین شدند. ظرفیت نگهداری آب به کمک رابطه (۱) محاسبه شد:

ظرفیت نگهداری آب

$$= \frac{\text{وزن نمونه پس از خشک کردن (گرم)} - \text{وزن نمونه بعد از سانتریفیوژ (گرم)}}{\text{وزن اولیه (گرم)}} \times 100$$

درصد نگهداری آب گوشت از راه تفاضل اوزان نمونه در پس از سانتریفیوژ کردن و پس از آن محاسبه شد (*Castellini et al., 2002*). رطوبت گوشت با قرار دادن نمونه در آن در دمای ۱۰۳ درجه سانتی‌گراد به مدت شانزده ساعت تعیین شد.

به منظور اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی و هورمون‌های تیروئیدی و تستوسترون، در پایان هفته پنجم، دو قطعه بلدرچین به صورت تصادفی از هر پن انتخاب و از طریق ورید بال خون‌گیری انجام شد. نمونه‌های خون در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد خون (EDTA) ریخته شد و سریعاً برای جداسازی پلاسما به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. پلاسمای جدا شده در دمایی ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غلظت گلوکز، غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL و HDL با روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون (به ترتیب با شماره کاتالوگ ۱۳-۵۰۰-۰۱۱، ۱۱-۵۰۰-۰۴۶، ۱-۵۰۰-۰۲۶، ۱-۵۰۰-۰۳۸، ۵۰۰-۰۳۸-۱) ساخت ایران) اندازه‌گیری شدند. همچنین غلظت هورمون‌های تیروئیدی و تستوسترون با روش الایزا توسط دستگاه پلیت ریدر با استفاده از کیت‌های تجاری پیشگامان سنجش شد. داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS، مطابق مدل آماری (۱) زیر تجزیه شدند (*Taherpour et al., 2009*).

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad \text{مدل آماری (۱)}$$

در این رابطه،  $Y_{ij}$  مقدار هر مشاهده؛  $\mu$ ، میانگین جامعه؛  $T_i$ ، اثر تیمار و  $e_{ij}$ ، اثرات خطای آزمایش است.

سانتی‌گراد و به مدت ۴ ساعت الکل پرانی صورت گرفت. عصاره تلغیظ شده به دست آمده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد (*Azizi et al., 2017*).

فعال‌سازی دانه‌های کفیر: شیر گاو از ایستگاه تحقیقاتی دامپروری و دانه‌های کفیر از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه شد؛ شیر گاو به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. قبل از خنک شدن تا دمای تلغیظ، با افزودن دانه‌های کفیر به مدت ۲ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد فرآیند تخمیر انجام شد. در انتهای تخمیر دانه‌های کفیر با استفاده پالایه پلاستیکی جداسازی شدند و شیرهای تخمیر شده برا تهیه تیمارها استفاده شد (*Toghyani et al., 2015*).

پرنده‌ها، شرایط محیطی و نمونه‌گیری: این پژوهش در ایستگاه تحقیقاتی دامپروری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد، از تعداد ۴۰۰ قطعه بلدرچین ژاپنی یک‌روزه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ واحد آزمایش شامل ۴ تیمار، ۴ تکرار و تعداد ۲۵ قطعه جوجه بلدرچین در هر تکرار، در پن‌های به ابعاد ۰/۹×۰/۹ متری به مدت ۳۵ روز آزمایش استفاده شد. اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره غذایی مورد استفاده در طول دوره پرورش مطابق جدول استاندارد احتیاجات غذایی بلدرچین (NRC, 1994) تهیه شد (جدول ۱).

تیمارها عبارتند از: تیمار (۱) جیره پایه+ آب آشامیدنی (گروه شاهد)، تیمار (۲) جیره پایه+ آب آشامیدنی + عصاره نعنای ۰/۵ درصد، تیمار (۳) جیره+ آب آشامیدنی + شیر کفیر ۲ درصد، تیمار (۴) جیره پایه+ آب آشامیدنی + عصاره نعنای ۰/۵ درصد + شیر کفیر ۲ درصد می‌باشند (دوز نعنای فلفلی و شیر کفیر بر اساس پژوهش‌های پیشین که نشان دادند میزان ۰/۵ درصد نعنای فلفلی و ۲ درصد شیر کفیر به ازای هر کیلوگرم خوراک مصرفی به‌طور مؤثری می‌تواند سامانه ایمنی، سوخت‌وساز چربی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی را جوجه‌های گوشتی و مرغ تخم‌گذار را بهبود دهد، انتخاب شد (*Cenesiz et al., 2008; Dosti et al., 2014; Toghyani et al., 2015; Azizi et al., 2017*)).

در طول دوره آزمایش شرایط محیطی برای همه تیمارهای آزمایشی یکسان بود. برای تامین گرمای مورد نیاز سالن پرورش از بخاری استفاده شد و دمای آن با استفاده از پنج عدد دماسنج تنظیم و کنترل شد. دمای سالن از ۳۸ درجه سانتی‌گراد در هفته اول به ۲۵ درجه در هفته ششم کاهش یافت. برای تامین رطوبت سالن نیز از قرار دادن سینی‌های آب در سالن استفاده شد (میزان رطوبت ۵۰-۶۰ درصد در نظر گرفته شد). جیره آزمایشی آزادانه در اختیار پرندگان قرار گرفت، روشنایی طی دوره آزمایش به‌صورت ۲۴ ساعته بود. وزن بلدرچین‌ها در پایان هر هفته اندازه‌گیری و خوراک مصرفی در هر هفته تعیین شد. با استفاده از این داده‌ها میانگین افزایش وزن روزانه، میانگین خوراک مصرفی روزانه و ضریب تبدیل غذایی محاسبه شد.

جدول ۱- مواد تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره ی پایه

Table 1- Ingredients and the chemical composition of basal diet

| اجزای جیره<br>Ingredients                                                      | درصد<br>% |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| ذرت<br>Corn                                                                    | 48.09     |
| کنجاله سویا<br>Soybean meal (44% protein)                                      | 36.39     |
| روغن سویا<br>Soybean oil                                                       | 1.21      |
| گندم<br>Wheat                                                                  | 5.00      |
| کنجاله گلوتن ذرت<br>Corn gluten meal                                           | 5.00      |
| دی کلسیم فسفات<br>Dicalcium phosphate                                          | 2.00      |
| پودر صدف<br>Oyster shell                                                       | 1.56      |
| نمک طعام<br>Common salt                                                        | 0.18      |
| جوش شیرین<br>Sodium bicarbonate                                                | 0.21      |
| مکمل ویتامینی و معدنی <sup>۱</sup><br>Vitamin and mineral Premix <sup>1</sup>  | 0.25      |
| دی ال - متیونین<br>DL-Methionine                                               | 0.11      |
| ترکیب شیمیایی (درصد)<br>Chemical composition (%)                               |           |
| انرژی قابل سوخت و ساز (کیلوکالری در کیلوگرم)<br>Metabolizable energy (kcal/kg) | 2816      |
| پروتئین خام<br>Crude protein                                                   | 23.31     |
| کلسیم<br>Calcium                                                               | 1.81      |
| فسفر قابل دسترس<br>Available phosphorus                                        | 0.44      |
| لیزین<br>Lysine                                                                | 1.14      |
| ترئونین<br>Threonine                                                           | 0.87      |
| متیونین<br>Methionine                                                          | 0.48      |
| متیونین + سیستین<br>Methionine+ Cystine                                        | 0.84      |

<sup>۱</sup> هر کیلوگرم جیره حاوی ۸۶۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۱۱۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین E، ۲۲۰۰ میلی گرم ویتامین K، ۱۲ میکروگرم ویتامین B12، ۳۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D3، ۴۰۰۰ میلی گرم ویتامین ریوفلاوین، ۷۸۳۰ میکروگرم نیاسین، ۱۷ میلی گرم پنتانوتیک اسید، ۲۴۶۰ میلی گرم پیریدوکسین، ۱۵۰ میلی گرم بیوتین، ۷۵۰۰۰ میلی گرم آهن، ۷۴۵۰۰ میلی گرم منگنز، ۶۴۷۷۵ میلی گرم روی، ۸۶۹ میلی گرم ید، ۱۴۲۰۰۰ میلی گرم سلنیوم.

<sup>1</sup>Supplied per kg diet: vitamin A, 86000 IU; vitamin E, 11000 IU; vitamin K3, 2200 mg; vitamin B12, 12 µg; vitamin D3, 3,000 IU; riboflavin, 4000 mg; niacin, 7830 µg; pantothenic acid, 17 mg; pyridoxine, 2460 mg; biotin, 150 mg, Fe, 75000 mg; Mn, 74500 mg; Zn, 64775 mg; I, 869 mg and Se, 142000 mg.

## نتایج و بحث

نتایج مربوط به مصرف خوراک، وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی در بلدرچین های تغذیه شده با عصاره نعناع فلفلی و کفیر در جدول ۲،

(al., 2015).

افزودن عصاره نعناع و کفیر به‌طور معنی‌داری سبب بالا رفتن وزن در بلدرچین‌ها ژاپنی شد ( $P < 0.05$ ; جدول ۳). بالاترین افزایش وزن بدن مربوط به تیمار ۴ در هفته سوم و چهارم نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد ( $P < 0.05$ ); ولی بین تیمار ۴، ۳ و ۲ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ; جدول ۲).

۳ و ۴ گزارش شده است. کفیر و عصاره نعناع فلفلی تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک بلدرچین ژاپنی نداشت ( $P > 0.05$ ; جدول ۲). مطالعه عزیزی و همکاران (Azizi et al., 2017) نشان داد که استفاده از عصاره نعناع فلفلی در جیره بلدرچین ژاپنی تأثیر بر خوراک مصرفی ندارد که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. محققان نشان دادند که استفاده از کفیر در مدت ۴۲ روز در جوجه‌های گوشتی تأثیری بر روی مصرف خوراک ندارد که با نتایج حاضر مطابقت دارد (Toghyani et al.).

جدول ۲. تأثیر عصاره نعناع فلفلی و کفیر در آب آشامیدنی بر مصرف خوراک (گرم در هفته) بلدرچین ژاپنی به‌صورت هفتگی

Table 2. Effect of *Mentha piperita* extract and kefir in drinking water on feed intake (g per week) Japanese quail on a weekly basis

| پارامتر<br>Parameters         | تیمارهای آزمایشی<br>Treatments |                                                       |                         |                                                                               | SEM <sup>1</sup> | p-value |
|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------|
|                               | شاهد<br>control                | نعناع فلفلی ۵ درصد<br>Mentha piperita<br>extract 0.5% | کفیر ۲ درصد<br>kefir 2% | نعناع فلفلی ۵ درصد+ کفیر ۲ درصد<br>Mentha piperita extract<br>0.5% + kefir 2% |                  |         |
| مصرف خوراک (گرم در روز)       |                                |                                                       |                         |                                                                               |                  |         |
| Daily feed intake, g per week |                                |                                                       |                         |                                                                               |                  |         |
| هفته اول<br>Week1             | 41.63                          | 42.06                                                 | 41.02                   | 41.85                                                                         | 0.652            | 0.714   |
| هفته دوم<br>Week2             | 88.17                          | 87.80                                                 | 87.90                   | 86.17                                                                         | 0.883            | 0.405   |
| هفته سوم<br>Week3             | 112.68                         | 113.00                                                | 113.05                  | 120.25                                                                        | 0.977            | 0.503   |
| هفته چهارم<br>Week4           | 146.00                         | 146.75                                                | 146.25                  | 147.25                                                                        | 0.665            | 0.367   |
| هفته پنجم<br>Week5            | 175.75                         | 176.25                                                | 175.25                  | 174.25                                                                        | 0.810            | 0.382   |

<sup>1</sup>خطای استاندارد<sup>1</sup>SEM: Standard error of the means

شده است که با سازوکارهای مذکور، عصاره نعناع فلفلی باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی و محرک هضم غذا در مرغ است (Azizi et al., 2017). کفیر حاوی مخلوط پیچیده‌ای از باکتری‌ها و مخمرهای اسید لاکتیک است که به‌عنوان پروبیوتیک طبیعی گزارش شده است (Fuller, 1992; Purutoglu et al., 2019). در واقع کفیر می‌تواند سلامت روده را با مهار رشد پاتوژن‌ها ترویج و به نفع میکروارگانیسم‌های مفید عمل کنند (Erdogan et al., 2019). در نتیجه هر دو این ماده سبب افزایش هضم و جذب مواد مغذی شده و در نتیجه درصد تولید و عملکرد بلدرچین را بهبود می‌بخشد (Kafshdouzan et al., 2013). استفاده از پودر گوجه‌فرنگی باعث بهبود عملکرد در بلدرچین ژاپنی می‌شود (Bandforouzi et al., 2019)، همچنین گزارش شده است که با سازوکارهای مذکور، اسانس نعناع و کفیر باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی شده و محرک هضم غذا در مرغ و جوجه گوشتی است (Kafshdouzan et al., 2013).

در پژوهشی که به بررسی تأثیر کفیر بر عملکرد جوجه گوشتی انجام شد، نشان دادند که استفاده از کفیر به عنوان یک پروبیوتیک طبیعی باعث افزایش معنی‌داری در وزن بدن شد (Toghyani et al., 2015) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. محققان نشان دادند که استفاده از کفیر در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی باعث افزایش وزن بدن نسبت به گروه شاهد می‌شود (Cenesiz et al., 2008). همچنین در پژوهشی گزارش کردند، استفاده از کفیر در جیره غذایی جوجه گوشتی به مدت ۵ هفته باعث افزایش معنی‌دار در وزن بدن شد (Cho et al., 2013). در این پژوهش ترکیب کفیر با عصاره نعناع فلفلی باعث افزایش وزن بلدرچین‌های ژاپنی نسبت به دیگر تیمارها شد، عصاره نعناع فلفلی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، محرک ترشح شیرهای گوارشی و میکروبی‌کشی قوی است، و منتول موجود در این اسانس با کاهش میکروب‌های مضر کانال گوارش و نیز از طریق افزایش ترشحات لوزالمعده و دیگر اندام‌های گوارشی باعث افزایش هضم و جذب مواد مغذی و در نتیجه وزن بلدرچین‌ها را بهبود می‌بخشد؛ همچنین گزارش

جدول ۳- تأثیر عصاره نعناع فلفلی و کفیر در آب آشامیدنی بر افزایش وزن (گرم در هفته) بلدرچین ژاپنی به صورت هفتگی

Table 3- Effect of *Mentha piperita* extract and kefir in drinking water on weight gain (g per week) of Japanese quail during 1-35 days of age

| پارامتر<br>Parameters                        | تیمارهای آزمایشی<br>Treatments |                                                              |                         |                                                                                       | SEM <sup>1</sup> | p-value |
|----------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------|
|                                              | شاهد<br>control                | نعناع فلفلی ۵ درصد<br><i>Mentha piperita</i><br>extract 0.5% | کفیر ۲ درصد<br>kefir 2% | نعناع فلفلی ۵ درصد + کفیر ۲ درصد<br><i>Mentha piperita</i> extract<br>0.5% + kefir 2% |                  |         |
| وزن (گرم در هفته)<br>Body weight, g per week |                                |                                                              |                         |                                                                                       |                  |         |
| هفته اول<br>Week1                            | 17.50                          | 17.50                                                        | 18.77                   | 17.62                                                                                 | 0.584            | 0.378   |
| هفته دوم<br>Week2                            | 42.50                          | 42.25                                                        | 42.56                   | 43.50                                                                                 | 1.120            | 0.869   |
| هفته سوم<br>Week3                            | 44.62 <sup>b</sup>             | 46.57 <sup>ab</sup>                                          | 46.50 <sup>ab</sup>     | 48.87 <sup>a</sup>                                                                    | 0.729            | 0.011   |
| هفته چهارم<br>Week4                          | 47.50 <sup>b</sup>             | 48.75 <sup>ab</sup>                                          | 48.50 <sup>ab</sup>     | 51.72 <sup>a</sup>                                                                    | 0.811            | 0.017   |
| هفته پنجم<br>Week5                           | 30.67                          | 32.95                                                        | 32.42                   | 34.00                                                                                 | 0.966            | 0.157   |

<sup>۱</sup>خطای استاندارد

<sup>a,b</sup> میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $p < 0.05$ ).

<sup>1</sup>SEM: Standard error of the means,

<sup>a,b</sup> Means with different letters within a row are statistically significant ( $p < 0.05$ ).

نیز بیان کردند که جیره‌های حاوی نعناع فلفلی از طریق بهبود تعادل میکروفلورای دستگاه گوارش و کاهش جمعیت میکروبی مضر، قادر به ایجاد شرایط مناسب‌تری برای بهره‌وری از مواد غذایی خوراک و در نتیجه رشد و عملکرد بهتری در جوجه گوشتی می‌شود. در مطالعه یامان و همکاران (Yaman et al., 2006) گزارش شده است که کفیر اضافه شده به آب آشامیدنی جوجه گوشتی با افزایش وزن بدن و افزایش وزن روزانه و کاهش مصرف خوراکی روزانه و ضریب تبدیل غذایی عملکرد را بهبود می‌بخشد. مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای آزمایشی بر متابولیت‌های پلاسما شامل کلسترول، تری گلیسرید، LDL، HDL و گلوکز به ترتیب در جدول (۵) آورده شده است. نتایج نشان داد که غلظت کلسترول در تیمار ۴ پایین‌تر بود ( $P < 0.05$ ). پایین‌ترین غلظت تری گلیسرید به ترتیب در تیمار ۴، ۳، ۲ مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). سطح LDL در تیمار ۳ و ۴ به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش و HDL افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت گلوکز معنی‌دار نبود.

افزودن عصاره نعناع و کفیر به آب آشامیدنی تنها در هفته سوم باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی شد؛ به‌طوری‌که در تیمار ۳ و ۴ نسبت به تیمار ۲ و ۱ ضریب تبدیل غذایی بهبود یافت (جدول ۴)؛ با این وجود بین تیمار ۳ و ۴ و بین تیمار ۲ و ۱ تفاوتی آماری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ؛ جدول ۴). در پژوهشی که به منظور بررسی تأثیر عصاره نعناع بر بلدرچین ژاپنی انجام شد نشان دادند که نعناع تأثیر بر روی ضریب تبدیل غذایی ندارد که نتایج این پژوهش مطابقت داشت. همچنین گزارش شده است که اسانس نعناع (Azizi et al., 2017) و کفیر (Toghyani et al., 2015) باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی شده و محرک هضم غذا در مرغ و جوجه گوشتی است. در کل با توجه به پژوهش‌های گذشته در این زمینه و همچنین این پژوهش ترکیب توأم عصاره نعناع و کفیر باعث بهبود در ضریب تبدیل غذایی می‌شود.

در تحقیقی اثرات کفیر در سطوح مختلف ۳، ۶، ۹ و ۱۲ درصد آب نوشیدنی را روی عملکرد و آنزیم‌های کبدی در بلدرچین ژاپنی مورد بررسی قرار دادند، نشان دادند که افزایش سطح کفیر نسبت به دوزهای پایین از عملکرد پایین‌تری برخوردار است (Vahdatpour and Babazadeh, 2016). لوکوا و همکاران (Lovkova et al., 2001).

**جدول ۴-** تأثیر عصاره نعناع فلفلی و کفیر در آب آشامیدنی بر ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم) بلدرچین ژاپنی به صورت هفتگی

**Table 4-** Effect of *Mentha piperita* extract and kefir in drinking water on feed conversion ratio (g / g) Japanese quail on a weekly basis

| پارامتر<br>Parameters                         | تیمارهای آزمایشی<br>Treatments |                                                       |                         |                                                                               | SEM <sup>1</sup> | p-value |
|-----------------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------|
|                                               | شاهد<br>control                | نعناع فلفلی ۵ درصد<br>Mentha piperita<br>extract 0.5% | کفیر ۲ درصد<br>kefir 2% | نعناع فلفلی ۵ درصد+ کفیر ۲ درصد<br>Mentha piperita extract<br>0.5% + kefir 2% |                  |         |
| ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم)<br>Feed: gain, g:g |                                |                                                       |                         |                                                                               |                  |         |
| هفته اول<br>Week1                             | 2.34                           | 2.47                                                  | 2.46                    | 2.42                                                                          | 0.047            | 0.242   |
| هفته دوم<br>Week2                             | 2.11                           | 2.13                                                  | 2.11                    | 2.11                                                                          | 0.023            | 0.903   |
| هفته سوم<br>Week3                             | 2.29 <sup>a</sup>              | 2.29 <sup>a</sup>                                     | 2.22 <sup>b</sup>       | 2.23 <sup>b</sup>                                                             | 0.019            | 0.038   |
| هفته چهارم<br>Week4                           | 3.00                           | 2.98                                                  | 2.95                    | 2.96                                                                          | 0.044            | 0.086   |
| هفته پنجم<br>Week5                            | 2.90                           | 2.90                                                  | 2.92                    | 2.88                                                                          | 0.030            | 0.861   |

<sup>۱</sup>خطای استاندارد

<sup>a,b</sup> میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p<0.05).

<sup>1</sup>SEM: Standard error of the means

<sup>a,b</sup> Means with different letters within a row are statistically significant (p<0.05)..

آنزیم اسید چرب سنتاز جلوگیری و بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب را افزایش می‌دهد؛ در نتیجه، ذخیره‌ی چربی را به‌طور مؤثری کاهش می‌دهد (Clegg et al., 1999). غلظت کلسترول HDL برخلاف غلظت کلسترول LDL عمل حفاظت و پیشگیری را از طریق برداشت کلسترول از نسوج به عهده دارد و بالا بودن غلظت کلسترول HDL باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی می‌شود درحالی‌که بالا بودن غلظت کلسترول LDL حتی در صورت طبیعی بودن کلسترول کل باعث افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های فوق می‌شود (Moravej, 2008). احتمال دارد که کاهش غلظت کلسترول LDL در تیمارها حاوی نعناع به دلیل افزایش گیرنده‌های کلسترول توسط ترکیبات این گیاه باشد. این سازوکارها نشان می‌دهد که چگونه نعناع می‌تواند سطح ذخیره‌ی چربی را کاهش، اکسیداسیون آن را افزایش و چربی‌های پلاسمایی را تعدیل نماید. دوستی و همکاران (Dosti et al., 2014) گزارش کردند که با افزودن برخی مواد گیاهی مانند نعناع به جیره جوجه‌های گوشتی، غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید پلاسما را کاهش می‌دهد، که با نتایج حاضر مطابقت داشت.

سازوکار احتمالی بروز چنین اثراتی به‌وسیله‌ی عصاره نعناع به ترکیبات تیمول و منتول موجود در ترکیب آن نسبت داده می‌شود؛ در واقع نعناع فعالیت آنزیم ۳-هیدروکسی-۳-متیل‌گلوتاریل-CoA ردوکتاز کبدی را مهار نموده و در نتیجه ساخت کلسترول را کاهش می‌دهد، به‌نظر می‌رسد یکی از دلیل کاهش کلسترول پلاسما در اثر مصرف نعناع در این آزمایش به فعالیت ترکیبات ثانویه نعناع باشد (Dosti et al., 2014). از طرف دیگر ترکیبات فعال در نعناع از طریق افزایش فعالیت سلول‌های کبدی باعث افزایش غلظت اسیدهای صفراوی می‌شود. در واقع غلظت بالای اسیدهای صفراوی در روده کوچک، هضم چربی‌ها و ویتامین‌های محلول در چربی را افزایش می‌دهد، زیرا اسیدهای صفراوی برای امولسیون کردن اجزای چربی و در نتیجه شکل‌گیری میسل‌ها ضروری هستند (Zubair and Leeson, 1996)، بنابراین نعناع سبب حذف یا کاهش کلسترول به‌وسیله سلول‌های کبدی و همچنین جذب کلسترول توسط روده می‌شود که نتیجه آن کاهش کلسترول است (Crossland, 1980). همچنین نعناع با افزایش گیرنده‌های LDL در سطح کبد، کاتابولیسم LDL را نیز تسریع می‌کند (Clegg et al., 1999). افزون بر این، نعناع از فعالیت

جدول ۵- تأثیر عصاره نعناع فلفلی و کفیر در آب آشامیدنی بر متابولیت‌های پلاسمای بلدرچین ژاپنی

Table 5. Effect of Peppermint extract and kefir plasma metabolites in drinking water on Japanese quail

| متابولیت‌های پلازما<br>Plasma metabolites | شاهد<br>control     | تیمارهای آزمایشی<br>Treatments                        |                         |                                                                                | SEM <sup>1</sup> | p-value |
|-------------------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------|
|                                           |                     | نعناع فلفلی ۵ درصد<br>Mentha piperita<br>extract 0.5% | کفیر ۲ درصد<br>kefir 2% | نعناع فلفلی ۵ درصد + کفیر ۲ درصد<br>Mentha piperita extract<br>0.5% + kefir 2% |                  |         |
| کلسترول<br>(mg/dL) Cholesterol            | 178.50 <sup>a</sup> | 174.37 <sup>b</sup>                                   | 173.50 <sup>b</sup>     | 168.50 <sup>c</sup>                                                            | 1.402            | 0.0003  |
| تری‌گلیسرید<br>Triglyceride (mg/dL)       | 194.00 <sup>a</sup> | 189.00 <sup>ab</sup>                                  | 188.00 <sup>ab</sup>    | 183.00 <sup>b</sup>                                                            | 2.310            | 0.0297  |
| لیپوپروتئین با چگالی بالا<br>HDL (mg/dL)  | 46.75 <sup>a</sup>  | 50.87 <sup>b</sup>                                    | 52.00 <sup>bc</sup>     | 56.87 <sup>c</sup>                                                             | 1.563            | 0.0081  |
| لیپوپروتئین با چگالی<br>LDL (mg/dL)       | 70.50 <sup>a</sup>  | 66.37 <sup>ab</sup>                                   | 65.12 <sup>b</sup>      | 61.12 <sup>b</sup>                                                             | 1.766            | 0.0011  |
| گلوکز<br>(mg/dL) Glucose                  | 193.13              | 193.87                                                | 194.37                  | 194.12                                                                         | 2.259            | 0.9816  |

<sup>۱</sup>خطای استاندارد

<sup>a,b</sup> میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p<0.05).

<sup>1</sup>SEM: Standard error of the means

<sup>a,b</sup> Means with different letters within a row are statistically significant (p<0.05).

(2007). از طرفی غلظت کلسترول موجود در ماهیچه و سینه همبستگی مثبتی با تغییرات کلسترول خون دارد که باعث کاهش کلسترول سرم خون گردید (Salma et al., 2007). کلسترول ماهیچه و ران و سینه می‌تواند در سلامتی غذای انسانی نقش مفیدی داشته باشد و از بیماری‌های قلبی عروقی جلوگیری کند. با افزودن کفیر در آب آشامیدنی غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول کاهش یافت و مکمل نمودن عصاره نعناع با کفیر غلظت لیپیدهای خون را کاهش داد (Zubair and Leeson, 1996). در جدول ۶ تأثیر عصاره نعناع فلفلی و کفیر بر هورمون‌های تیروئیدی و هورمون تستوسترون نشان داده شده است، نتایج آزمایش نشان می‌دهد غلظت هورمون تیروئیدی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $P>0.05$ )، با این حال داده‌های غیر معنی‌دار نشان داد که غلظت هورمون‌های تیروئیدی با تغذیه نعناع و کفیر افزایش یافت. غلظت هورمون تستوسترون به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت، به‌طوری‌که بیشترین غلظت تستوسترون در تیمار ۴ (۱/۹۸) مشاهده شد و کمترین میزان غلظت تستوسترون مربوط به تیمار شاهد (۰/۸۸) بود ( $P<0.05$ ). تغییر در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد از برجسته‌ترین عوامل اثرگذار بر سیستم تولیدمثل است. تاکنون اثر بسیاری از عصاره‌های گیاهی مختلف بر محور هورمونی هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد انجام شده است. گزارش شده عصاره‌هایی مانند مرزنجوش (Kazemi et al., 2012) و زنجبیل (Hemayatkhah Jahromi et al., 2011) سبب افزایش میزان تستوسترون، LH و گاهی FSH شده و نقش مؤثری بر

در مطالعه‌ای طیغانی و همکاران (Toghyani et al., 2015) که به بررسی تأثیر شیر کفیر به‌عنوان یک پروبیوتیک طبیعی بر روی پروفیل‌های لیپیدی و سامانه ایمنی در جوجه گوشتی انجام شد؛ نشان دادند که استفاده از سطح ۲ درصد شیر کفیر در آب آشامیدنی باعث افزایش HDL نسبت به گروه کنترل می‌شود، همچنین در جوجه‌های گوشتی که کفیر دریافت کردند از نظر لیپید و کلسترول پایین‌تر بودند، در واقع غلظت پایین‌تر کلسترول پلازما در جوجه‌های گوشتی با کفیر شیر ممکن است به دلیل هضم کلسترول توسط باکتری‌های لاکتوباسیل باشد که با نتایج این پژوهش مطابق داشت. محققین بیان کردند که میکروارگانیسم‌های موجود در دستگاه گوارش می‌توانند کلسترول موجود در روده را مورد متابولیسم قرار دهند و بنابراین سطح جذب مقدار کلسترول کاهش یافت. لاکتوباسیل‌هایی که دارای فعالیت هیدرولیتیکی بالای نمک‌های صفراوی هستند به کونژوگ کردن نمک‌های صفراوی پاسخ می‌دهند و به‌طور کلی میکروارگانیسم‌های دستگاه گوارش می‌توانند تولید کلسترول را مهار کنند (Taherpour et al., 2009). نتایج مطالعات سایر محققین مبین این است که مصرف پروبیوتیک‌ها رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک را در دستگاه گوارش افزایش داد. میکروارگانیسم‌ها با غیرمزدوج ساختن نمک‌های صفرا، قابلیت جذب آنها را در pH پایین روده کاهش می‌دهند در نتیجه بخش زیادی از نمک‌های صفراوی به شکل مدفوع از بدن خارج شده و به دنبال این فرایند با افزایش نیاز به تبدیل کلسترول اسیدهای صفراوی در کبد از غلظت کلسترول سرم خون کاسته گردید (Salma et al.,

واسطه‌ای التهابی مانند پروستاگلاندین‌ها جلوگیری نموده و با توجه به نقش پروستاگلاندین‌ها در تولید گونادوتروپین‌ها این ترکیبات موجود در نعناع از اثر خود تنظیمی منفی گونادوتروپین‌ها بر ترشح تستوسترون جلوگیری می‌نمایند.

فعال‌سازی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد داشته است. نعناع فلفلی با داشتن ترکیبات شیمیایی خاص می‌تواند مسیرهای سیگنالینگ تولید استروئیدهای جنسی در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد تحریک نماید. این احتمال وجود دارد عصاره نعناع (منتول) با مهار مسیرهای لیپواکسیژناز و سیکلواکسیژناز از تبدیل آراشیدونیک اسید به

**جدول ۶.** تأثیر عصاره نعناع فلفلی و کفیر در آب آشامیدنی بر هورمون‌های تیروئیدی و هورمون تستوسترون در بلدرچین ژاپنی

**Table 6.** The effect of peppermint extract and kefir in drinking water on thyroid hormones and testosterone in Japanese quail

| پارامتر<br>Parameters             | شاهد<br>control   | تیمارهای آزمایشی<br>Treatments                        |                         |                                                                                | SEM <sup>1</sup> | p-value |
|-----------------------------------|-------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------|
|                                   |                   | نعناع فلفلی ۵ درصد<br>Mentha piperita<br>extract 0.5% | کفیر ۲ درصد<br>kefir 2% | نعناع فلفلی ۵ درصد + کفیر ۲ درصد<br>Mentha piperita<br>extract 0.5% + kefir 2% |                  |         |
| تری‌یودتیرونین<br>(ng/mL) T3      | 1.15              | 1.19                                                  | 1.22                    | 1.27                                                                           | 0.172            | 0.782   |
| تری‌یودتیرونین<br>T4 (μg/dL)      | 1.61              | 1.67                                                  | 1.62                    | 1.72                                                                           | 0.135            | 0.584   |
| تستوسترون<br>Testosterone (ng/mL) | 0.88 <sup>d</sup> | 1.25 <sup>c</sup>                                     | 1.52 <sup>b</sup>       | 1.98 <sup>a</sup>                                                              | 0.148            | 0.001   |

<sup>۱</sup>خطای استاندارد

<sup>a,b</sup> میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $p < 0.05$ ).

<sup>1</sup>SEM: Standard error of the means

<sup>a,b</sup> Means with different letters within a row are statistically significant ( $p < 0.05$ ).

**جدول ۷.** تأثیر عصاره نعناع فلفلی و کفیر در آب آشامیدنی بر pH، رطوبت گوشت (درصد) و ظرفیت نگهداری آب (درصد) در بلدرچین ژاپنی

**Table 7.** Effect of peppermint extract and kefir in drinking water pH, moisture of meat (%) and water-holding capacity (%) in Japanese quail

| پارامتر<br>Parameters                      | شاهد<br>control | تیمارهای آزمایشی<br>Treatments                        |                         |                                                                                   | SEM <sup>1</sup> | p-value |
|--------------------------------------------|-----------------|-------------------------------------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------|
|                                            |                 | نعناع فلفلی ۵ درصد<br>Mentha piperita<br>extract 0.5% | کفیر ۲ درصد<br>kefir 2% | نعناع فلفلی ۵ درصد + کفیر ۲ درصد<br>Mentha piperita<br>extract 0.5% + kefir<br>2% |                  |         |
| پای pH                                     | 5.95            | 6.10                                                  | 6.05                    | 6.17                                                                              | 0.195            | 0.726   |
|                                            | 6.30            | 6.42                                                  | 6.49                    | 6.56                                                                              | 0.215            | 0.826   |
| رطوبت Moisture                             | 72.38           | 74.46                                                 | 73.65                   | 75.41                                                                             | 2.123            | 0.256   |
|                                            | 74.19           | 76.53                                                 | 77.80                   | 78.41                                                                             | 3.013            | 0.452   |
| ظرفیت نگهداری آب<br>Water-holding capacity | 56.61           | 59.23                                                 | 57.16                   | 58.32                                                                             | 1.952            | 0.187   |
|                                            | 59.34           | 61.58                                                 | 60.79                   | 62.10                                                                             | 1.632            | 0.325   |

خطای استاندارد

<sup>1</sup>SEM: Standard error of the means



آنتی اکسیدانی با تقویت ساختار چربی غشاء یاخته‌ای بازدارنده هدر رفت رطوبت گوشت می‌شوند.

### نتیجه‌گیری کلی

با توجه به این تحقیق و ملاحظات اقتصادی به نظر می‌رسد استفاده از توأم کفیر ۲ درصد و نعناع فلفلی ۰/۵ درصد در آب آشامیدنی بتواند باعث بهبود عملکرد و تعدیل پروفیل‌های لیپیدی در بلدرچین‌های ژاپنی شود، همچنین باعث افزایش عملکرد تولیدمثلی در نرها می‌شود.

### تقدیر و تشکر

بدین وسیله از اساتید، کارشناسان فارم و آزمایشگاه مرکزی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان برای همکاری در اجرای این تحقیق حاضر قدردانی می‌گردد.

مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای آزمایشی بر کیفیت گوشت شامل pH، رطوبت گوشت و ظرفیت نگهداری آب به ترتیب در جدول (۷) آورده شده است.

نتایج نشان داد که اثر تیماری‌های آزمایشی بر pH، رطوبت گوشت و ظرفیت نگهداری معنی‌دار نبود؛ هرچند در این بررسی pH گوشت سینه و ران تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، اما میزان pH در تیماری‌های تغذیه شده با نعناع و کفیر افزایش داشت. افزون بر این، در این بررسی pH گوشت ران بیش‌تر از سینه بود، به نظر می‌رسد محتوای گلیکوژن گوشت سینه (Kotula and Wang, 1994) دلیل کاهش pH (اسیدیته بالا) گوشت سینه در مقایسه با گوشت ران باشد. گزارش شده است که ظرفیت نگهداری آب به میزان pH وابسته است که با تغییرات pH در این بررسی هم‌خوانی دارد (Dransfield and Sosnicki, 1999). درصد رطوبت گوشت ران و سینه نیز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی و جنسیت قرار نداشت، اما میزان آن در تیمارهای تیماری‌های تغذیه شده با نعناع و کفیر افزایش جزئی داشت، در این رابطه گزارش شده است (Lahucky et al., 2005). که ترکیبات

### References

1. Abbaspour, B., and S. D. Sharifi. 2016. A Study on the Antioxidant and Hypolipidemic Effects of Gracilariaopsis Persica Seaweed in Japanese Quail. Research On Animal Production (Scientific and Research), 6(12): 12-19. doi: rap.sanru.ac.ir/article-1-558-fa.html (In Persian).
2. Akbari, M., and M. Toriki. 2014. Effects of dietary chromium picolinate and peppermint essential oil on growth performance and blood biochemical parameters of broiler chicks reared under heat stress conditions. International Journal of Biometeorology, 58(6): 1383-1391. doi: 10.1007/s00484-013-0740-1.
3. Andogan B. C., B. Hasan, K. Selcuk, D. Mustafa, O. Demir, and M. Ethem. 2002. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. Archives of Pharmacal Research, 25 (6): 860-864.
4. Azizi, K., M. Daneshyar, S. M. Abtahi, and S. H. Goldani. 2017. Performance, carcass characteristics and immune response of Japanese quails to different levels of *Mentha piperita* L. powder. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 33(5):820-836. doi: 10.22092/IJMAPR.2017.109118.1933 (In Persian)
5. Bandforouzi, K., M. Rezaei, and M. KazemiFard. 2019. Effects of Different Levels of Tomato Powder with and without Addition of Enzymes on Performance, Blood Parameters and Antioxidant Status of Japanese Quails. Research on Animal Production, 10(23):11-21. doi: http://rap.sanru.ac.ir/article-1-888-en.html (In Persian).
6. Beuchat, L. R., and D. A. Golden. 1989. Antimicrobials occurring naturally in foods. Food Technology, 43: 134-142.
7. Castellini, C., C. mugani, and A. Dal Bosco. 2002. Effect of organic production system on broiler carcass and meat quality. Meat Science, 60: 219-225. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00124-3.
8. Cenesiz, S., H. A. Yaman, A. Ozcan, A. Kart, and G. Karademir. 2008. Effects of kefir as a probiotic on serum cholesterol, total lipid, aspartate amino transferase and alanine amino trans ferase activities in broiler chicks. Medycyna Weterynaryjna, 64(2):168-170.
9. Cho J. H., Z. F. Zhang, and I. H. Kim. 2013. Effects of single or combined dietary supplementation of b-glucan and kefir on growth performance, blood characteristics and meat quality in broilers. British Poultry Science, 54:216-221.
10. Clegg R. J., B. Middleton, G. D. Bell, D. With, A. Szabo, and O. Gasic. 1999. Pharmacological studies of *Mentha longifolia* phenolic extracts. II. Hepatoprotective activity. Pharmaceutical biology, 37: 221-224. https://doi.org/10.1076/phbi.37.3.221.6306.
11. Crossland, J. 1980. Lewiss Pharmacologi, 5th Ed. Churchill. P:656-657.
12. Dagnew, M. B. and Gunther. E. 1990. Epidemiology of communicable skin diseases in school children of a rural area in North Ethiopia. Dermatologische Monatschrift, 176(4): 219-223.
13. Dosti, A., K. Taherpour, J. Nasr, and H. Ghasemi. 2014. The comparative effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*), probiotic and prebiotic on growth performance and serum biochemical parameters of broilers



- performance. *Animal Sciences Journal*, 101: 91-101.(In Persian)
14. Dransfield, E., and A. A. Sosnicki. 1999. Relationship between muscle growth and poultry meat quality. *Poultry Science*, 78: 743-746. <https://doi.org/10.1093/ps/78.5.743>
15. Erdogan, F. S., S. Ozarslan, Z. B. Guzel-Seydim, and T. K. Tas. 2019. The effect of kefir produced from natural kefir grains on the intestinal microbial populations and antioxidant capacities of Balb/c mice. *Food Research International*, 115: 408-413. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.080>.
16. Fuller R. 1992. Probiotics: Applications and practical aspects. Chapman and Hall.London.
17. Hafeez A., K. Manner, C. Schieder, and J. Zentek. 2015. Effect of supplementation of phytogenic feed additives (powdered vs. encapsulated) on performance and nutrient digestibility in broiler chickens. *Poultry Science*, 95 (3): 622–629. <https://doi.org/10.3382/ps/pev368>.
18. Hemayatkah Jahromi V., K. Parivar, and M. Forozanfar, 2011. The Effect of Cinnamon Extract on Spermatogenesis Hormonal Axis of Pituitary Gonad in Mice. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 1 (2): 99-103.
19. Kafshdouzan, K., B. Rouzbehan, and M. Moslemy. 2013. Reviewing the role of probiotics used in poultry feeding on health promotion of chicken meet. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 7(5): 821-828. <http://nsft.sbm.ac.ir/article-1-1083-en.html> (In Persian).
20. Kazemi, P., H. Jowhary, E. Sharifi, and A. Zeraatpishe. 2012. Androgenic effect of *origanum vulgare* l. spp *viride* extract on hormone level of pituitary-gonadal axis in mature male vistar rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, 14(6): 89-96. <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-794-en.html> (In Persian).
21. Kotula, K. L. and Y. Wang. 1994. Characterization of broiler meat quality factors as influenced by feed withdrawal time. *Journal of Applied Poultry Research*, 3: 103-110.
22. Lahucky, R., I. Bahelka, K. Novotna, and K. Vasickova, 2005. Effects of dietary vitamin E and vitamin C supplementation on the level of  $\alpha$ -tocopherol and L-ascorbic acid in muscle and on the antioxidative status and meat quality of pigs. *Czech Journal of Animal Science*, 50: 175-184.
23. Lovkova M. Y., Buzuk, G. N. Sokolova S. M. and Klimenteva. N. I. 2001. Chemical features of medicinal plants. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 37 (3): 229–237.
24. Moravej, H. 2008. Poultry behaviour and welfare. University of Tehran Press. Vol. 3. 978-964-03-5852-8.
25. Puerari, C., K. T. Magalhaes, and R. F. Schwan. 2012. New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. *Food Research International*, 48 (2): 634–640. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.005>.
26. Purutoglu, K., H. Ispirli, M. O.Yuzer, H. Serencam, and E. Dertli. 2019. Diversity and functional characteristics of lactic acid bacteria from traditional kefir grains. *International Journal of Dairy Technology*, 70:1-10. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12633>.
27. Salma U., A. G. Miah, T. Maki, M. Nishimura, and H. Tsujii. 2007. Effect of dietary *Rhodobacter capsulatus* on cholesterol concentration and fatty acid composition in broiler meat. *Poultry Science*, 86(9): 1920-1926. <https://doi.org/10.1093/ps/86.9.1920>.
28. Sharifi, M., A. Moridnia, D. Mortazavi, M. Salehi, M. Bagheri and A. Sheikhi. 2017. Kefir: A powerful probiotics with anticancer properties. *Medical Oncology*, 34(183): 1-7. doi: 10.1007/s12032-017-1044-9.
29. Taghavi, N., L. Nateghi, and S. Berenji. 2018. Feasibility of functional ice cream on the basis of green coffee fiber and kefir seeds. *Journal of Food Research*, 28(2): 161-177. (In Persian)
30. Taherpour K., H. Moravej, M. Shivazad, M. Adibmoradi, and B. Yakhchali. 2009. Effects of dietary probiotic, prebiotic and butyric acid glycerides on performance and serum composition in broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 8 (10): 2329-2334.
31. Toghyani M., M. S. kazem, M. Modaresi, and N. Landy. 2015. Evaluation of kefir as a potential probiotic on growth performance, serum biochemistry and immune responses in broiler chicks. *Animal Nutrition*, 1(4): 305-309. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.11.010>.
32. Vahdatpour, T., and D. Babazadeh. 2016. The effects of kefir rich in probiotic administration on serum enzymes and performance in male Japanese quails. *Journal of Animal and Plant Science*, 26: 34–39.
33. Van der Zijpp, A. J. 1999. Animal food production: the perspective of human consumption, production, trade and disease control. *Livestock Production Science*, 59 (2-3): 199–206. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(99\)00027-5](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00027-5).
34. Vimercati, W. C., C. Silva Araujo, L. L. Macedo, H. C. Fonseca, J. S. Guimaraes, L. R. de Abreu, and S. M. Pinto. 2020. Physicochemical, rheological, microbiological and sensory properties of newly developed coffee flavored kefir. *LWT - Food Science and Technology*, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109069>.
35. Yaman H., Z. Ulukanli, M. Elmali, and Y. Unal .2006. The effect of a fermented probiotic, the kefir, on intestinal flora of poultry domesticated geese. *Health & Environmental Research Online (HERO)*, 157 (7): 379–38.
36. Zubair A. K., and S. Leeson. 1996. Compensatory growth in the broiler chicken: a review. *Worlds Poultry Science Journal*, 52: 189–201. <https://doi.org/10.1079/WPS19960015>.





## Effect of different sources of organic and inorganic manganese on productive performance, antioxidant status, immune system and bone strength in aged laying hens (82 to 94 weeks)

Mohammadreza Khoshbin<sup>1</sup>, Reza Vakili<sup>2\*</sup>, Abdolmansour Tahmasbi<sup>3</sup>

Received: 12-10-2021  
Revised: 22-12-2021  
Accepted: 05-05-2022  
Available Online: 07-06-2022

### How to cite this article:

Khoshbin, M. R., R. Vakili, and A. Tahmasbi. 2022. Effect of different sources of organic and inorganic manganese on productive performance, antioxidant status, immune system and bone strength in aged laying hens (80 to 94 weeks). Iranian Journal of Animal Science Research 14(1):97-107.

[DOI:10.22067/ijasr.2022.72917.1042](https://doi.org/10.22067/ijasr.2022.72917.1042)

**Introduction:** As the highest cost of poultry production is the cost of feed, optimizing feed consumption and reducing feed conversion ratio are very important in the poultry industry. Also, the problem of lower egg shell quality caused by prolonged egg production period is an important issue affecting the breeding of old layer hens. Approximately 10% of the eggs produced in poultry farms are lost due to breakage of eggshells, which accounts for huge economic loss to the egg industry. Improving eggshell quality are essential for protection against penetrating of pathogenic bacteria. As a result, a great deal of efforts have been applied to improving egg shell quality in old laying hens in the fields of mineral nutrition. Numerous researchers have focused on the addition of trace elements in the diet to regulate egg quality by improving eggshell ultrastructure. Manganese is an indispensable trace element, Manganese takes a crucial part in biological processes, including the metabolism of lipid, protein, and carbohydrate. The low Mn content in corn-soybean meal diets used in production and the inefficient intestinal absorption of Mn in birds calls for the need for optimizing the supplemental provision of Mn to birds. In the process of egg formation, manganese is important for the formation of the shell and the pleasure affects the quality of the shell. Manganese is an important nutrient for laying hens. Dietary Mn is known to have profound effects on the skeleton. Manganese supplementation affects the function and characteristics of the tibia.

**Materials and methods:** An experiment was conducted to investigate the effect of two inorganic and organic forms of manganese on performance, antioxidant activities, immune system and bone strength in older laying hens. 250 Leghorn laying hens (w-36) with 80 weeks of age were divided into 5 treatments and 5 replications in a completely randomized design. Treatments were: control (without manganese supplement), treatments containing 100% manganese sulfate (diet 1), 75% manganese sulfate and 25% organic manganese chelated (diet 2), 50% manganese sulfate and 50% organic chelated (diet 3) 25% sulfate Manganese and 75% organic chelated (diet 4). During the experiment, daily feed intake (g), egg weight, number and production of eggs (g/hen/day) and feed conversion ratio were calculated. To evaluate the humoral immunity on the day of slaughter (94 weeks age), 10 cc of blood was taken from two selected birds and its immunoglobulins were measured. To evaluate the bone strength, two pieces of chicken were selected from each replication and after slaughter, the tibia of the right foot was isolated and after preparation, the mechanical properties of the bones were measured. Also The antioxidant activities of SOD (Superoxide dismutase), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and MDA (malondialdehyde) were evaluated.

**Results and Discussion:** The results obtained in this experiment showed that the production performance was

1- Department of animal Science, Kashmar Branch, Islamic Azad University, Kashmar, Iran.

2- Department of animal Science, Kashmar Branch, Islamic Azad University, Kashmar, Iran.

3- Department of animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

\*Corresponding Author Email: [rezavakili2010@yahoo.com](mailto:rezavakili2010@yahoo.com), [vakili@iaukashmar.ac.ir](mailto:vakili@iaukashmar.ac.ir)

affected by experimental treatments. The lowest feed conversion ratio and the highest feed intake, egg production, egg weight and egg mass were observed in diets 4 and 5, i.e. treatments receiving 50% and 75% manganese organic chelate. Also, the levels of immunoglobulin G and immunoglobulin M were significantly affected by experimental treatments. The levels of immunoglobulin G and immunoglobulin M in the experimental treatments showed a significant increase compared to the control treatment, while in immunoglobulin M there was no statistically significant difference between diet 3 and basal diet. In addition, antioxidant activity was significantly affected by experimental treatments. The amount of malondialdehyde was significantly reduced in diet treatments 4 and 5 compared to the control treatment. The percentage of DPPH (2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl) in diets 3, 4 and 5 showed a significant increase compared to the basal diet. Also, the amount of superoxide dismutase in diet 2 showed a significant decrease compared to other diets and control diet. However, the effects of inorganic and organic manganese supplements on the tibia strength of older laying hens were not affected by experimental treatments.

**Conclusion:** The results of this experiment showed that the addition of manganese supplement to the diet improves the production performance and immunoglobulin G and immunoglobulin M through the use of organic manganese source in laying hens and manganese amino acid chelate can replace 75% of manganese sulfate in the diet of older laying hens. Also, antioxidant status was significantly affected by experimental treatments. In general, the addition of manganese supplement in the diet of laying hens improves performance, immune system and antioxidant activity in aged laying hens.

**Keywords:** Antioxidant activity, Bone, Immune system, Laying hen, Manganese.



## مقاله پژوهشی

# بررسی اثرات مکمل‌های معدنی و آلی منگنز بر عملکرد، وضعیت پاداکسندگی، سیستم ایمنی و استحکام استخوان در مرغ‌های تخم‌گذار لگهورن سویه‌های لاین W-36 (۸۲ تا ۹۴ هفتگی)

محمدرضا خوشبین<sup>۱</sup>، رضا وکیلی<sup>۲\*</sup>، عبدالمنصور طهماسبی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۲۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۰/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۵

خوشبین، م. ر.، وکیلی، و. ع. طهماسبی. ۱۴۰۱. بررسی اثرات مکمل‌های معدنی و آلی منگنز بر عملکرد، وضعیت پاداکسندگی، سیستم ایمنی و استحکام استخوان در مرغ‌های تخم‌گذار لگهورن سویه‌های لاین W-36 در سن (۸۲ تا ۹۴ هفتگی). پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۴ (۱): ۹۷-۱۰۷.

## چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تأثیر دو شکل معدنی و آلی منگنز بر عملکرد، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، سیستم ایمنی و استحکام استخوان بر روی ۲۵۰ قطعه مرغ تخم‌گذار لگهورن سویه‌های لاین W-36 با سن ۸۲ هفته در ۵ تیمار و ۵ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارها عبارت بودند از: تیمار ۱: شاهد (جیره ۱)، تیمار ۲: جیره پایه + ۱۰۰ درصد سولفات منگنز، (جیره ۲). تیمار ۳: جیره پایه + ۷۵ درصد سولفات منگنز و ۲۵ درصد کیلات آلی منگنز (جیره ۳). تیمار ۴: جیره پایه + ۵۰ درصد سولفات منگنز و ۵۰ درصد کیلات آلی منگنز (جیره ۴). تیمار ۵: جیره پایه + ۷۵ درصد کیلات آلی منگنز و ۲۵ درصد سولفات منگنز (جیره ۵). نتایج به دست آمده در این آزمایش نشان داد کمترین میزان ضریب تبدیل خوراک و بیشترین میزان مصرف خوراک، درصد تخم‌گذاری، وزن تخم‌مرغ و توده تخم‌مرغ در جیره‌های ۴ و ۵ یعنی تیمارهای دریافت‌کننده ۵۰٪ و ۷۵٪ کیلات آلی منگنز مشاهده شد. میزان ایمونوگلوبولین G و ایمونوگلوبولین M به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. به طوری که میزان ایمونوگلوبولین G و ایمونوگلوبولین M در تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند؛ درحالی که در ایمونوگلوبولین M اختلاف معنی‌داری بین جیره ۳ و جیره شاهد مشاهده نشد. میزان مالون دی‌آلدئید به طور معنی‌داری در تیمارهای جیره ۴ و ۵ نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. در صد ۲، ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) در جیره‌های ۳، ۴ و ۵ به طور معنی‌داری در مقایسه با جیره شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. همچنین میزان سوپر اکسید دیسموتاز در جیره ۲ نسبت به باقی جیره‌ها و جیره شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد. این در حالی است که اثرات مکمل معدنی و آلی منگنز بر استحکام استخوان در شت‌نی مرغ‌های تخم‌گذار مسن تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. در کل می‌توان این‌چنین بیان کرد که افزودن مکمل منگنز در جیره مرغ‌های تخم‌گذار باعث بهبود عملکرد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سیستم ایمنی شد که این بهبود در مکمل آلی منگنز نسبت به مکمل معدنی آن بیشتر قابل مشاهده بود که این نتیجه به دلیل آن است که میزان جذب شکل آلی بیشتر از شکل معدنی می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** استخوان، سیستم ایمنی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مرغ تخم‌گذار، منگنز.

## مقدمه

بهینه سازی مصرف خوراک و کاهش ضریب تبدیل خوراک در صنعت طیور بسیار مهم است (Ahmadi et al., 2019). همچنین از طرفی،

از آنجا که بالاترین هزینه پرورش طیور هزینه خوراک است،

۱- گروه علوم دامی، واحد کاشمر، دانشگاه آزاد اسلامی، کاشمر، ایران.

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، واحد کاشمر، دانشگاه آزاد اسلامی، کاشمر، ایران.

۳- استاد، گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(\*)- نویسنده مسئول: (Email: [rezavakili2010@yahoo.com](mailto:rezavakili2010@yahoo.com))

DOI: 10.22067/IJASR.2022.72917.1042

مشکل کیفیت پایین پوسته تخم مرغ ناشی از طولانی شدن دوره تولید تخم مرغ، مسئله مهمی است که بر پرورش مرغ های پیر تأثیر می گذارد. تقریباً ۱۰ درصد از تخم مرغ های تولید شده در مرغداری ها به دلیل شکستن پوسته تخم مرغ از بین می رود که این امر ضرر اقتصادی زیادی را به صنعت تخم مرغ وارد می کند (Sah et al., 2018). بهبود کیفیت پوسته تخم مرغ برای محافظت در برابر نفوذ باکتری های بیماری زا نیز ضروری است (Swiatkiewicz et al., 2008). در نتیجه، تلاش های زیادی برای بهبود کیفیت پوسته تخم مرغ در مرغ های تخم گذار پیر در زمینه های تغذیه مواد معدنی انجام شده است (Xiao et al., 2015).

محققین در مورد افزودن عناصر کمیاب به جیره غذایی برای تنظیم کیفیت تخم مرغ با بهبود زیرساخت پوسته تخم مرغ تحقیق کرده اند (Fathi et al., 2016). منگنز یکی از عناصر کمیاب است. مقدار کم آن در جیره های غذایی ذرت و سویا و جذب ناکارآمد آن از طریق روده در طیور، بهینه سازی تأمین این ماده معدنی به صورت مکمل برای طیور را ضروری نموده است (Wang et al., 2021). منگنز نقش مهمی در فرایندهای بیولوژیکی از جمله متابولیسم لیپیدها، پروتئین ها و کربوهیدرات ها دارد (Pan et al., 2018). کمبود منگنز در مرغ تخم گذار باعث کاهش قابل توجه تولید تخم مرغ، تخم های دارای پوسته های نازک تر و نواحی شفاف و همچنین ناهنجاری های موجود در زیرساخت پوسته تخم مرغ می شود (Yildiz et al., 2011). در فرایند تشکیل تخم مرغ، منگنز برای تشکیل پوسته مهم است و لذا کیفیت پوسته تحت تأثیر این عنصر قرار می گیرد. از طرفی نتایج پژوهشی نشان داد که مکمل منگنز آلی نسبت به مکمل معدنی آن به طور مثبت بر توزیع عنصر در بافتها تأثیر می گذارد که منجر به بهبود افزایش وزن بدن، وزن تخم مرغ و کاهش درصد تخم مرغ های آسیب دیده در مرغ های تخمگذار می شود (Yildiz et al., 2011). همچنین مطالعه دیگری نشان داد که استفاده از منابع آلی منگنز به طور قابل توجهی بر عملکرد تخمگذار و کیفیت پوسته تخم مرغ تأثیر مثبت می گذارد (Klecker et al., 2002). به همین دلیل محققان استفاده از منابع آلی منگنز را توصیه کرده اند (Yildiz et al., Sun et al., 2010; 2011)، از طرفی مکمل منگنز بر عملکرد و ویژگی های استخوان در شتنی تأثیر دارد (Wang et al., 2021). به طور مشابه، طیوری که با منگنز ۱۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم قدرت شکستن استخوان درشتنی را بهبود بخشیدند (Jasek et al., 2019). مطالعات نشان داده است که رژیم غذایی دارای Mn تأثیرات عمیقی بر اسکلت دارد (Liu et al., 1994). علاوه بر این، کمبود منگنز نیز با پوکی استخوان مرتبط است (Liu et al., 2015) و رژیم های کمبود منگنز منجر به کاهش میزان خاکستر و طول استخوان ساق در جوجه ها می شود (Noetzold et al., 2020). ثابت شده است که منگنز از طریق مسیرهای مختلف در تنظیم استخوان نقش دارد. منگنز در سنتز موکوپلی ساکاریدها (Xie et al., 2012; Gajula et al., 2011; Conly et al., 2012).

با توجه به اهمیت مواد معدنی کم مصرف در تغذیه طیور بویژه مرغ های تخمگذار، هدف از این تحقیق بررسی اثرات سطوح افزایشی عنصر منگنز در دو شکل آلی و معدنی بر عملکرد، وضعیت پاداکسندگی، سیستم ایمنی و استحکام استخوان در مرغ های تخمگذار لگهورن سویه های لاین W-36 در سن (۸۲ تا ۹۴ هفتهگی) می باشد.

### مواد و روش ها

این آزمایش در تابستان ۱۳۹۹ در مرغداری تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر استان خراسان رضوی انجام شد. در این طرح تعداد ۲۵۰ قطعه مرغ تخمگذار لگهورن سویه های لاین W-36 در سن ۸۰ هفتهگی (مرحله پایانی تولید) استفاده شد. مرغ ها بصورت تصادفی در قفس های سه طبقه به پنج تیمار آزمایشی با پنج تکرار و ۱۰ قطعه مرغ در هر تکرار تقسیم شدند. کل مدت اجرای طرح ۱۲ هفته بود و در تمام دوره آزمایش خوراک و آب به صورت آزادانه در اختیار مرغ ها قرار داشت و قبل از شروع آزمایش به مدت دو هفته جهت عادت پذیری جیره پایه در اختیار آن ها قرار گرفت و آزمایش در ۸۲ هفتهگی آغاز شد. تیمارهای آزمایشی مورد استفاده در این طرح عبارتند از:

تیماریک: شاهد (جیره یک)، تیماردو: جیره پایه + ۱۰۰٪ سولفات منگنز، (جیره دو). تیمار سه: جیره پایه + ۷۵٪ سولفات منگنز و ۲۵٪ کیلات آلی منگنز (جیره سه). تیمار چهار: جیره پایه + ۵۰٪ سولفات منگنز و ۵۰٪ کیلات آلی منگنز (جیره چهار). تیمار پنج: جیره پایه + ۷۵٪ کیلات آلی منگنز و ۲۵٪ سولفات منگنز (جیره پنج). قابل ذکر است که مقدار عنصر منگنز صرف نظر از نوع منبع آن، در جیره ها یکسان بوده است.

سولفات منگنز پنج آبه (۳۴٪ منگنز) به عنوان مکمل معدنی از شرکت جوانه خراسان خریداری و استفاده شد و مکمل آلی منگنز به صورت کیلات اسید آمینه - منگنز (AA-Mn) با پنج درصد منگنز از شرکت آریانا خریداری شد. جدول ۱ ترکیبات جیره پایه را نشان می دهد.

### صفات عملکردی

میزان خوراک مصرفی طبق راهنمای سویه مورد نظر (Jasek et al., 2019) روزانه ۱۱۰ گرم در نظر گرفته شد. در مدت انجام آزمایش مصرف خوراک روزانه (گرم)، تعداد و تولید تخم مرغ (گرم/مرغ/روز) و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد. مصرف خوراک روزانه هر تیمار، با اندازه گیری باقیمانده خوراک مصرفی در روز بعد و کسر آن از مقدار کل خوراک در نظر گرفته شده برای هر تیمار محاسبه شد. وزن تخم مرغ با استفاده از ترازو دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه گیری می شد. در پایان،

درصد تولید تخم‌مرغ، وزن توده تخم‌مرغ و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد (Vakili et al., 2022).

جدول ۱- اجزاء تشکیل‌دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره پایه  
Table 1- Ingredients and nutrients composition of the control diets

| اجزای خوراک<br>Ingredients                                                          | درصد<br>% |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| ذرت<br>Corn                                                                         | 53        |
| کنجاله سویا (پروتئین خام ۴۴ درصد)<br>Soybean meal (44%CP)                           | 25        |
| کربنات کلسیم<br>Calcium carbonate                                                   | 10        |
| روغن گیاهی<br>Vegetable Oil                                                         | ¼         |
| سبوس گندم<br>Wheat brain                                                            | 6         |
| دی کلسیم فسفات<br>Di-calcium phosphate                                              | 2.2       |
| نمک<br>Salt                                                                         | 0.25      |
| جوش شیرین<br>Sodium bicarbonate                                                     | 0.15      |
| مکمل ویتامینه<br>Vitamin supplement <sup>1</sup>                                    | 0.25      |
| مکمل معدنی<br>Mineral supplement <sup>2</sup>                                       | 0.25      |
| دی ال متیونین<br>DL-Methionine                                                      | 0.2       |
| ال-لیزین هیدروکلراید<br>L-Lysine HCl                                                | 0.1       |
| ترکیبات محاسبه‌شده<br>Calculated analysis                                           |           |
| انرژی قابل متابولیسم<br>(کیلوکالری در کیلوگرم)<br>Metabolisable energy<br>(kcal/kg) | 2810      |
| پروتئین خام (درصد)<br>Crude protein (%)                                             | 15.15     |
| کلسیم (درصد)<br>Calcium(%)                                                          | 4.65      |
| فسفر قابل دسترس (درصد)<br>Available phosphorous (%)                                 | 0.4       |
| سدیم (درصد)<br>Sodium (%)                                                           | 0.18      |
| متیونین (درصد)<br>Methionine (%)                                                    | 0.38      |
| متیونین + سیستین (درصد)<br>Methionine + Cystine (%)                                 | 0.65      |
| لیزین (درصد)<br>Lysine (%)                                                          | 0.8       |
| آرژنین (درصد)<br>Arginine (%)                                                       | 0.9       |
| ترئونین (درصد)<br>Threonine (%)                                                     | 0.59      |

<sup>۱</sup> ترکیب مکمل ویتامینه برای هر کیلوگرم جیره شامل: ۳۲۰۰۰۰ IU ویتامین A، ۱۳۲۰۰۰۰ IU ویتامین D<sub>3</sub>، ۸۰۰۰ IU ویتامین E، ۱۰۰۰ mg/kg K<sub>3</sub> ویتامین B<sub>1</sub> ۲۲۰۰ mg/kg، ویتامین B<sub>2</sub> ۳۲۰۰ mg/kg، ویتامین کالبان، ۱۲۰۰۰ mg/kg، نیاسین، ۱۶۰۰ mg/kg، B<sub>6</sub> ۳۶۰ mg/kg، B<sub>9</sub> ۹ mg/kg، B<sub>12</sub> ۳۰ mg/kg، بیوتین، ۴۴۰۰۰ mg/kg، کولین، آنتی‌اکسیدان ۳۰۰۰ mg/kg. <sup>۲</sup> مکمل معدنی بدون منگنز برای هر کیلوگرم جیره پایه شامل: ۳۲۰۰۰ mg روی، ۳۲۰۰ mg مس، ۴۸۰ mg ید، ۸۸ mg سلنیوم، ۱۶۰۰۰ mg آهن. میزان منگنز جیره پایه اندازه‌گیری شده در آزمایشگاه ۷۹/۰۱ mg/kg به دست آمد.

<sup>1</sup> Vitamin premix provides per kg diet: vitamin A, 3200000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 1320000 IU; vitamin E, 8000 IU; vitamin K<sub>3</sub>, 1000 mg/kg; vitamin B<sub>1</sub>, 1000 mg/kg; vitamin B<sub>2</sub>, 2200 mg/kg; vitamin B<sub>5</sub>, 32000 mg/kg; vitamin B<sub>3</sub>, 12000 mg/kg; vitamin B<sub>6</sub>, 1600 mg/kg; vitamin B<sub>9</sub>, 360 mg/kg; vitamin B<sub>12</sub>, 9 mg/kg; Biotin 30 mg/kg; Choline 44000 mg/kg; Antioxidant 3000 mg/kg. <sup>2</sup> Manganese-free mineral premix provides per kg diet: Zn, 32000 mg; Cu, 3200 mg; I, 480 mg; Se, 88 mg; Fe, 16000 mg. The amount of base diet manganese measured in the experiment was 79.01 mg/kg.

## فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی

به‌منظور بررسی وضعیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) سرم با استفاده از کیت تشخیصی Randsel SOD (Randox, Crumlin, Uk)، در آزمایشگاه ماد (همکار شرکت جوانه خراسان) مورد ارزیابی قرار گرفت. مالون دی آلدئید به‌عنوان محصول نهایی پر اکسیداسیون لیپید در سلول‌های کبدی مرغ با استفاده از روش واکنش‌دهنده ماده تیوباربیتریک اسید (TBARS) تعیین شد. اندازه‌گیری فعالیت پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد طبق تحقیقات قبلی انجام شد (Qiu et al., 2009).

## بررسی ایمنی‌شناسی

به‌منظور بررسی ایمنی همورال از آنتی‌ژن گلبول قرمز گوسفندی (SRBC<sup>۱</sup>) استفاده گردید و پاسخ ایمنی علیه آن با اندازه‌گیری میزان ایمنوگلوبولین‌های سرم موردبررسی قرار گرفت. یک هفته قبل از کشتار و اتمام طرح، از هر تکرار دو قطعه مرغ انتخاب و به آن‌ها محلول موردنظر تزریق گردید. در روز کشتار از هر قطعه مرغ انتخابی، ۱۰ میلی‌لیتر خون گرفته شد و ایمنوگلوبولین‌ها آن اندازه‌گیری گردید (Abbasi et al., 2020).

## اندازه‌گیری استحکام استخوان‌ها

جهت بررسی استحکام استخوان، از هر تکرار دو قطعه مرغ انتخاب و پس از کشتار، استخوان در شت‌نی پای راست جدا گردید و پس از جدا سازی بافت‌های چربی و غضروفی، خصوصیات مکانیکی استخوان‌ها توسط دستگاه Instron (مدل H5KS, Tinius Olsen Company) اندازه‌گیری و نتایج با نرم‌افزار اختصاصی مربوط به این دستگاه (Q Mat) محاسبه شد (Mirkazehi et al., 2013).

## آنالیز آماری

داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ویرایش ۹/۱ و مدل آماری خطی عمومی (GLM) در قالب طرح کاملاً تصادفی ارزیابی شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی-کرامر انجام گرفت (Vakili et al., 2022).

## نتایج و بحث

نتایج اثرات سطوح مختلف مکمل آلی و معدنی منگنز بر عملکرد تولیدی مرغ‌های تخم‌گذار مسن در جدول ۲ گزارش شده است. میزان مصرف خوراک، درصد تخم‌گذاری، وزن تخم‌مرغ، توده تخم‌مرغ و ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت

( $P < 0.05$ ). به‌طوری‌که مصرف خوراک، درصد تخم‌گذاری و توده تخم‌مرغ در تیمارهای جیره ۴ و ۵ افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ( $P < 0.05$ )؛ و تمامی تیمارهای اعمال‌شده باعث افزایش معنی‌دار وزن تخم‌مرغ نسبت به تیمار شاهد شدند ( $P < 0.05$ ). بعلاوه تیمارهای جیره ۴ و ۵ باعث بهبود و کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل خوراک نسبت به تیمار شاهد شد ( $P < 0.05$ ).

مطابق با نتایج به‌دست‌آمده در این آزمایش، محققان بیان کردند استفاده از منابع مختلف منگنز به‌طور معنی‌داری وزن تخم‌مرغ را افزایش داده همچنین باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک در همه تیمارهای آزمایشی شده درحالی‌که افزایش توده تخم‌مرغ در تیمارهای ۷۰ و ۹۰ میلی‌گرم هیدروکسی کلرید منگنز نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (Ghalesefidi et al., 2019). در مطالعه‌ی دیگری محققین گزارش کردند که استفاده از مکمل آلی منگنز وزن تخم‌مرغ و میزان افزایش وزن بدن مرغان تخم‌گذار را طی سنین ۴۹ تا ۶۱ هفتگی افزایش و درصد تخم‌مرغ‌های آسیب‌دیده را در مقایسه با منبع غیرآلی این عنصر کاهش داد (Yildiz et al., 2011). در پژوهشی با استفاده از منابع معدنی روی و منگنز (به شکل اکسید) و منابع آلی روی و منگنز به شکل کیلات اسیدآمین نشان داده شد که مصرف خوراک و وزن تخم‌مرغ با منابع آلی روی یا منگنز و منابع آلی ترکیب با شکل معدنی روی و منگنز به‌طور قابل‌توجهی ( $P < 0.05$ ) افزایش یافت (Darvishi et al., 2020). محققان گزارش دادند که افزودن منگنز با غلظت ۲۰ تا ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در جیره‌های غذایی مبتنی بر ذرت - سویا، توده تخم‌مرغ را در مرغ‌های تخم‌گذار ۲۳ تا ۴۶ هفته، درصد تولید تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار را افزایش و باعث کاهش ضریب تبدیل خوراک شد (Cui et al., 2019).

اثرات آنتی‌اکسیدانی مکمل معدنی و آلی منگنز در مرغ‌های تخم‌گذار مسن در جدول ۴ گزارش شده است. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش، مالون دی آلدئید، DPPH<sup>۲</sup> و سوپر اکسید دیسموتاز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند ( $P < 0.05$ ). به‌طوری‌که میزان مالون دی آلدئید به‌طور معنی‌داری در تیمارهای جیره ۴ و ۵ نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). همچنین در صد DPPH تیمارهای آزمایشی به‌ویژه جیره‌های ۳، ۴ و ۵ به‌طور معنی‌داری در مقایسه با جیره پایه افزایش نشان داد ( $P < 0.05$ ). همچنین میزان سوپر اکسید دیسموتاز در جیره ۲ نسبت به باقی جیره‌ها و شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0.05$ ).



جدول ۲- اثرات سطوح مختلف مکمل آلی و معدنی منگنز بر عملکرد تولیدی مرغ‌های تخم‌گذار مسن (۸۲ تا ۹۴ هفته‌گی)

Table 2- Effect of different Sources of organic and inorganic manganese on laying performance in old laying hens

| شاخص عملکرد تولیدی<br>performance indicators | جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup><br>Experimental diets <sup>1</sup> |                      |                      |                     |                     | SEM  | P-value |
|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|------|---------|
|                                              | جیره پایه<br>Control                                             | جیره ۲<br>diet 2     | جیره ۳<br>diet 3     | جیره ۴<br>diet 4    | جیره ۵<br>diet 5    |      |         |
| مصرف خوراک (گرم)<br>Feed intake (gr)         | 107.29 <sup>b</sup>                                              | 107.57 <sup>ab</sup> | 107.64 <sup>ab</sup> | 107.79 <sup>a</sup> | 107.95 <sup>a</sup> | 0.09 | <0.001  |
| درصد تخم‌گذاری<br>Egg production             | 62.03 <sup>b</sup>                                               | 63.33 <sup>ab</sup>  | 64.32 <sup>ab</sup>  | 69.00 <sup>a</sup>  | 71.67 <sup>a</sup>  | 1.11 | <0.001  |
| وزن تخم‌مرغ (گرم)<br>Egg weight (gr)         | 65.16 <sup>b</sup>                                               | 66.46 <sup>a</sup>   | 66.41 <sup>a</sup>   | 67.09 <sup>a</sup>  | 68.09 <sup>a</sup>  | 0.27 | <0.001  |
| توده تخم‌مرغ (گرم)<br>Egg mass (gr)          | 40.62 <sup>b</sup>                                               | 42.09 <sup>ab</sup>  | 42.73 <sup>ab</sup>  | 46.29 <sup>a</sup>  | 48.83 <sup>a</sup>  | 0.80 | <0.001  |
| ضریب تبدیل<br>Feed conversion ratio          | 2.64 <sup>a</sup>                                                | 2.56 <sup>ab</sup>   | 2.52 <sup>ab</sup>   | 2.34 <sup>b</sup>   | 2.23 <sup>b</sup>   | 0.04 | <0.001  |

SEM: میانگین خطای معیار.

<sup>a,b</sup> میانگین‌های با حرف غیرمشابه در هر ردیف، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ( $P < 0.05$ ).<sup>۱</sup> جیره پایه بدون مکمل منگنز، جیره ۲ حاوی ۱۰۰ درصد سولفات منگنز، جیره ۳ حاوی ۷۵ درصد سولفات منگنز و ۲۵ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۴ حاوی ۵۰ درصد سولفات منگنز و ۵۰ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۵ حاوی ۲۵ درصد سولفات منگنز و ۷۵ درصد کیلات آلی منگنز.

SEM: standard error meaning.

<sup>a,b</sup> Values in a row with no common superscript letter are significantly different ( $P < 0.05$ ).<sup>1</sup> control without manganese supplement, diet 2 containing 100% manganese sulfate, diet 3 containing 75% manganese sulfate and 25% organic manganese chelated, diet 4 containing 50% manganese sulfate and 50% organic chelated, diet 5 containing 25% sulfate Manganese and 75% organic chelated.

اندام‌های ایمنی مانند بورس فابریسیوس می‌شود که محل تولید لنفوسیت‌ها است (Faria et al., 2019)؛ که سوپر اکسید دیسموتاز منگنز برای یک پارچگی ماکروفاژها حیاتی است (Ghosh et al., 2011)، زیرا MnSOD از طریق سلول‌های غشای پلاسمایی که در پاسخ ایمنی عمل می‌کنند، با هتروفیلها و ماکروفاژها در تعامل است (Junior et al., 2019). گزارش شده است که کلات منگنز در طیور لنفوسیت‌های T-helper (Th1 و Th2) را متعادل می‌کند که در فعال‌سازی ماکروفاژها و ایجاد تولید آنتی‌بادی نقش دارند. همچنین نشان داده شد که آن‌ها بیان ایمونوگلوبولین‌های M و G را افزایش می‌دهند (Junior et al., 2019).

مطابق با نتایج این آزمایش، در مطالعه‌ای فعالیت آنتی‌اکسیدانی منگنز را در مرغ‌های تخم‌گذار گزارش شده است (Cui et al., 2019). منگنز جزء MnSOD است، آنزیم آنتی‌اکسیدانی اولیه که از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند، توانایی آنتی‌اکسیدانی را در حذف گونه‌های اکسیژن فعال بیش از حد (ROS) و کاهش پر اکسیداسیون لیپید در طیور را افزایش می‌دهد (Zhu et al., 2017). همچنین منگنز بیان ژن و فعالیت Mn-SOD را در جوجه‌تعدیل می‌کند (Gao et al., 2011; Ghosh et al., 2011). افزودن ۹۰ میلی‌گرم منگنز به ازای هر کیلوگرم به رژیم غذایی پایه باعث بهبود فعالیت‌های سوپر اکسید دیسموتاز حاوی منگنز (Mn-SOD) و سوپر

اثرات ایمنی‌شناسی مکمل معدنی و آلی منگنز در مرغ‌های تخم‌گذار مسن در جدول ۳ گزارش شده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده میزان ایمونوگلوبولین G و ایمونوگلوبولین M به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ( $P < 0.05$ ). به‌طوری‌که میزان ایمونوگلوبولین G در تیمارهای آزمایشی افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند ( $P < 0.05$ ) همچنین میزان ایمونوگلوبولین M نسبت به مرغ‌های دریافت‌کننده جیره پایه افزایش معنی‌دار داشتند ( $P < 0.05$ ) درحالی‌که اختلاف معنی‌دار آماری بین جیره ۳ و جیره پایه مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

مطالعات متعدد اخیر ثابت کرده است که منگنز نقش مهمی در عملکرد سیستم ایمنی بدن دارد (Gajula et al., 2019). ثابت شده است که منگنز در حمایت از عملکردهای طبیعی سیستم ایمنی در طیور نقش مهمی دارد (Junior et al., 2019). همچنین افزودن مکمل منگنز به خوراک جوجه‌های گوشتی باعث افزایش معنی‌دار وزن نسبی اندام‌های سیستم ایمنی در آخر دوره رشد جوجه‌های گوشتی شد (Wang et al., 2021)؛ که دلیل بهبود ایمنی به‌وسیله منگنز ممکن است ناشی از سهم آن در فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز منگنز (MnSOD) (Luo et al., 2007) و حذف سموم بیشتر از متابولیسم سلولی (رادیکال‌های آزاد) باعث تقویت سیستم ایمنی بدن می‌شود؛ بنابراین، کمبود آن منجر به تغییر و آسیب به بافتهای

مرغ‌های تخم‌گذار مسن در جدول ۵ گزارش شده است. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، بین تیمارهای آزمایشی در رابطه با استحکام استخوان اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P>0.05$ ).

اکسید دیسموتاز کل (T-SOD) شد (Fouad et al., 2010). علاوه بر این، با افزایش محتوای T-AOC، فعالیت‌های T-SOD و فعالیت‌های Mn-SOD و کاهش محتوای MDA، وضعیت آنتی‌اکسیدان سرم را بهبود بخشید (Zhang et al., 2020).  
اثرات مکمل معدنی و آلی منگنز بر استحکام استخوان درشتنی

جدول ۳- اثرات سطوح مختلف مکمل معدنی و آلی منگنز بر ایمنی‌شناسی در مرغ‌های تخم‌گذار مسن (۸۲ تا ۹۴ هفتگی)

Table 3- Effect of different Sources of organic and inorganic manganese on immune system in old laying hens

| پارامترهای ایمنی<br>Safety Parameters | جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup><br>Experimental diets |                    |                     |                     |                     | SEM  | P-value |
|---------------------------------------|-----------------------------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------|---------|
|                                       | جیره پایه<br>Control                                | جیره ۲<br>diet 2   | جیره ۳<br>diet 3    | جیره ۴<br>diet 4    | جیره ۵<br>diet 5    |      |         |
| ایمونوگلوبولین G<br>IgG (ng/ml)       | 162.60 <sup>b</sup>                                 | 206.5 <sup>a</sup> | 157.30 <sup>a</sup> | 194.80 <sup>a</sup> | 177.30 <sup>a</sup> | 1.09 | 0.0001  |
| ایمونوگلوبولین I<br>IgM (ng/ml)       | 64.10 <sup>b</sup>                                  | 83.60 <sup>a</sup> | 65.70 <sup>b</sup>  | 81.80 <sup>a</sup>  | 75.40 <sup>a</sup>  | 0.78 | 0.0001  |

SEM: میانگین خطای معیار.

<sup>a,b</sup> میانگین‌های با حرف غیرمشابه در هر ردیف، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ( $P<0.05$ ).

<sup>۱</sup>جیره پایه بدون مکمل منگنز، جیره ۲ حاوی ۱۰۰ درصد سولفات منگنز، جیره ۳ حاوی ۷۵ درصد سولفات منگنز و ۲۵ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۴ حاوی ۵۰ درصد سولفات منگنز و ۵۰ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۵ حاوی ۲۵ درصد سولفات منگنز و ۷۵ درصد کیلات آلی منگنز.

SEM: standard error meaning.

<sup>a,b</sup> Values in a row with no common superscript letter are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup>control without manganese supplement, diet 2 containing 100% manganese sulfate, diet 3 containing 75% manganese sulfate and 25% organic manganese chelated, diet 4 containing 50% manganese sulfate and 50% organic chelated, diet 5 containing 25% sulfate Manganese and 75% organic chelated.

جدول ۴- اثرات سطوح مختلف مکمل معدنی و آلی منگنز بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مرغ‌های تخم‌گذار مسن (۸۲ تا ۹۴ هفتگی)

Table 4- Effect of different Sources of organic and inorganic manganese on Antioxidant activity in old laying hens

| پارامترها<br>Parameters           | جیره‌های آزمایشی<br>Experimental diets |                     |                     |                     |                     | SEM  | P-value |
|-----------------------------------|----------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------|---------|
|                                   | جیره پایه<br>Control                   | جیره ۲<br>diet 2    | جیره ۳<br>diet 3    | جیره ۴<br>diet 4    | جیره ۵<br>diet 5    |      |         |
| سوپر اکسید دیسموتاز<br>SOD (U/ml) | 284.30 <sup>a</sup>                    | 201.70 <sup>b</sup> | 216.80 <sup>a</sup> | 341.90 <sup>a</sup> | 363.50 <sup>a</sup> | 0.78 | 0.0001  |
| مالون دی آلدئید<br>MDA            | 100 <sup>a</sup>                       | 96.56 <sup>a</sup>  | 93.80 <sup>a</sup>  | 87.63 <sup>b</sup>  | 85.30 <sup>b</sup>  | 6.12 | 0.0001  |
| دی فنیل پیکریل هیدرازیل<br>DPPH   | 71.50 <sup>b</sup>                     | 76.33 <sup>b</sup>  | 82.50 <sup>a</sup>  | 87.50 <sup>a</sup>  | 88.33 <sup>a</sup>  | 7.24 | 0.0001  |

SEM: میانگین خطای معیار.

<sup>a,b</sup> میانگین‌های با حرف غیرمشابه در هر ردیف، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ( $P<0.05$ ).

جیره پایه بدون مکمل منگنز، جیره ۲ حاوی ۱۰۰ درصد سولفات منگنز، جیره ۳ حاوی ۷۵ درصد سولفات منگنز و ۲۵ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۴ حاوی ۵۰ درصد سولفات منگنز و ۵۰ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۵ حاوی ۲۵ درصد سولفات منگنز و ۷۵ درصد کیلات آلی منگنز.

2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

SEM: standard error meaning.

<sup>a,b</sup> Values in a row with no common superscript letter are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup>control without manganese supplement, diet 2 containing 100% manganese sulfate, diet 3 containing 75% manganese sulfate and 25% organic manganese chelated, diet 4 containing 50% manganese sulfate and 50% organic chelated, diet 5 containing 25% sulfate Manganese and 75% organic chelated. 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

جدول ۵- اثرات مکمل معدنی و آلی منگنز بر استحکام استخوان درشت‌نی مرغ‌های تخم‌گذار مسن (۸۲ تا ۹۴ هفتگی)

Table 5- Effect of different Sources of organic and inorganic manganese on bone strength in old laying hens

| پارامترها<br>Parameters                           | جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup><br>Experimental diets |                  |                  |                  |                  | SEM   | P-value |
|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------|---------|
|                                                   | جیره پایه<br>Control                                | جیره ۲<br>diet 2 | جیره ۳<br>diet 3 | جیره ۴<br>diet 4 | جیره ۵<br>diet 5 |       |         |
| نیروی شکست (N)<br>breaking force                  | 124.70                                              | 213.70           | 215.75           | 228.30           | 157.10           | 28.09 | 0.17    |
| کار انجام‌شده تا نقطه شکست (J)<br>breaking moment | 0.09                                                | 0.13             | 0.14             | 0.15             | 0.10             | 0.02  | 0.29    |
| خمش شکست (mm)<br>bend broke                       | 1.94                                                | 1.23             | 1.57             | 1.41             | 1.22             | 0.19  | 0.17    |
| ضخامت قشر (mm)<br>cortex thickness                | 2.81                                                | 2.18             | 1.96             | 2.31             | 1.72             | 0.58  | 0.74    |

SEM: میانگین خطای معیار.

<sup>۱</sup>جیره پایه بدون مکمل منگنز، جیره ۲ حاوی ۱۰۰ درصد سولفات منگنز، جیره ۳ حاوی ۷۵ درصد سولفات منگنز و ۲۵ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۴ حاوی ۵۰ درصد سولفات منگنز و ۵۰ درصد کیلات آلی منگنز، جیره ۵ حاوی ۲۵ درصد سولفات منگنز و ۷۵ درصد کیلات آلی منگنز.

SEM: standard error meaning.

<sup>۱</sup>control without manganese supplement, diet 2 containing 100% manganese sulfate, diet 3 containing 75% manganese sulfate and 25% organic manganese chelated, diet 4 containing 50% manganese sulfate and 50% organic chelated, diet 5 containing 25% sulfate Manganese and 75% organic chelated.

## نتیجه‌گیری کلی

افزودن مکمل حاوی میزان ۵۰ در صد و ۷۵ درصد کیلات آلی منگنز به جیره سبب بهبود عملکرد تولیدی، سیستم ایمنی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود. که این نتیجه به دلیل آن است که میزان جذب شکل آلی بیشتر از شکل معدنی می باشد.

نتایج این آزمایش نشان دادند که افزودن مکمل آلی منگنز نسبت به مکمل معدنی در جیره مرغان تخم‌گذار تاثیر بیشتر دارد به‌طور کلی

## References

- Abbasi, S., J.Fakhraei, H. Mansoori Yarahmadi and S. Khaghani.2020.Effects of different sources fat on performance immune system and intestinal microflora in commercial laying hens. *Journal of Animal Environment* .12(4): 225-230.(In persian). Doi:10.22034/AEJ.2020.125582.
- Ahmadi, M., A. Ahmadian, M. Poorghasemi, P. Makovicky, and A. Seidavi. 2019. Nano-Selenium affects on duodenum, jejunum, ileum and colon characteristics in chicks: An animal model. *International Journal of Nano Dimension*, 10(2):225-229.
- Conly, A. K., R. Poureslami, E. A. Koutsos, A. B. Batal, B. Jung, R. Beckstead, and D. G. Peterson. 2012. "Tolerance and efficacy of tribasic manganese chloride in growing broiler chickens. *Poultry science*, 91(7):1633-1640. DOI: 10.3382/ps.2011-02056
- Cui, Y. M., Zhang, H. J., Zhou, J. M., Wu, S. G., Zhang, C., Qi, G. H., & Wang, J. 2019. Effects of long-term supplementation with amino acid-complexed manganese on performance, egg quality, blood biochemistry and organ histopathology in laying hens. *Animal Feed Science and Technology*, 254, 114203. DOI: 10.1016/j.psj.2020.06.076.
- Darvishi, Y., M. S. Shargh, and S. Hassani. 2020. Effect of organic or inorganic zinc and manganese sources on performance and egg quality traits of laying hens. *Journal of Advanced Pharmacy Education and Research*, 10(S1), 23.
- Faria, B.D., L.M. Silva, V. Ribeiro, A.H.D.N. Ferreira, H.S. Rostagno, L.F.T. Albino, and M.I. Hannas. 2019. Organic trace minerals and calcium levels in broilers' diets to 21 days old. *Scientia Agricola*, 77.
- Fathi, M.M., A.E. El-Diebshany, M.B. El-Deen, L.M. Radwan, and G.N. Rayan. 2016. Effect of long-term selection for egg production on eggshell quality of Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Poultry science*, 95(11):2570-2575. DOI: 10.3382/ps/pew233
- Fouad, A.M., Y. Li, W. Chen, D. Ruan, S. Wang, W. Xie, Y.C. Lin, and C.T. Zheng. 2016. Effects of dietary manganese supplementation on laying performance, egg quality and antioxidant status in laying ducks. *Asian J Anim Vet Adv*, 11:570-575. DOI: 10.3923/ajava.2016.570.575.

9. Gajula, S.S., V.K. Chelasani, A.K. Panda, V.R. Mantena, and R.R. Savaram. 2011. Effect of supplemental inorganic Zn and Mn and their interactions on the performance of broiler chicken, mineral bioavailability, and immune response. *Biological trace element research*, 139(2):177-187. DOI: 10.1007/s12011-010-8647-8.
10. Gao, T., F. Wang, S. Li, X. Luo, and K. Zhang. 2011. Manganese regulates manganese-containing superoxide dismutase (MnSOD) expression in the primary broiler myocardial cells. *Biological trace element research*, 144(1):695-704. DOI: 10.1007/s12011-011-9093-y.
11. Ghalesefidi, M.J., F. Shirmohammad, and M. Mehri. 2019. Effect of dietary inclusion of sulphate, hydroxychloride and organic complex sources of manganese on egg quality of aged laying hens. *Iranian Journal of Animal Science (IJAS)*, 50(2). (In Persian). 10.22059/IJAS.2019.276506.653688.
12. Ghosh, A., G.P. Mandal, A. Roy, and A.K. Patra. 2016. Effects of supplementation of manganese with or without phytase on growth performance, carcass traits, muscle and tibia composition, and immunity in broiler chickens. *Livestock Science*, 191:80-85. DOI:10.1016/j.livsci.2016.07.014.
13. HylineInternational. 2015. Available at: [http://www.hyline.com/UserDocs/Pages/PUB\\_INVEST\\_ENG.pdf](http://www.hyline.com/UserDocs/Pages/PUB_INVEST_ENG.pdf).
14. Jasek, A., C.D. Coufal, T.M. Parr, and J.T. Lee. 2019. Evaluation of Increasing manganese hydroxychloride level on male broiler growth performance and tibia strength. *Journal of Applied Poultry Research*, 28(4):1039-1047. DOI: 10.3382/japr/pfz065.
15. Junior, A.M.B., N.L.M. Fernandes, A. Snak, A. Fireman, D. Horn, and J.I.M. Fernandes. 2019. Arginine and manganese supplementation on the immune competence of broilers immune stimulated with vaccine against *Salmonella Enteritidis*. *Poultry science*, 98(5):2160-2168. DOI:10.3382/ps/pey570.
16. Klecker D., L. Zeman, P. Jelinek, and A. Bunesova. 2002. Effect of manganese and zinc chelates on the quality of eggs. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendeliana Brunensis*, 50:59-68.
17. Liu, A.H., B.S. Heinrichs, and R.M. Leach Jr. 1994. Influence of manganese deficiency on the characteristics of proteoglycans of avian epiphyseal growth plate cartilage. *Poultry science*, 73(5):663-669. DOI: 10.3382/ps.0730663.
18. Liu, R., C. Jin, Z. Wang, Z. Wang, J. Wang, and L. Wang. 2015. Effects of manganese deficiency on the microstructure of proximal tibia and OPG/RANKL gene expression in chicks. *Veterinary research communications*, 39(1):31-37. DOI: 10.1007/s11259-015-9626-5.
19. Luo, X.G., S.F. Li, L. Lu, B. Liu, X. Kuang, G.Z. Shao, and S.X. Yu. 2007. Gene expression of manganese-containing superoxide dismutase as a biomarker of manganese bioavailability for manganese sources in broilers. *Poultry science*, 86(5):888-894. DOI:10.1093/ps/86.5.888.
20. Mirkazehi, M.T., H. Kermanshahi, A. Golian, A.R., Raaji. 2013. The Effects of Dietary 1, 25-Dihydroxycholecalciferol and Root Hydroalcoholic Extract of *Withania somnifera* on Bone Mineralisation and Strength of Broiler Chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*. 5(4):313-324. (In Persian). DOI: 10.22067/IJASR.V5I4.33864.
21. Noetzold, T.L., S.L. Vieira, A. Favero, R.M. Horn, C.M. Silva, and G.B. Martins. 2020. Manganese requirements of broiler breeder hens. *Poultry Science*, 99(11):5814-5826. DOI: 10.1016/j.psj.2020.06.085.
22. Oliveira, T.F.B., A.G. Bertechini, R.M. Bricks, E.J. Kim, P.D. Gerard, and E.D. Peebles. 2015. Effects of in ovo injection of organic zinc, manganese, and copper on the hatchability and bone parameters of broiler hatchlings. *Poultry Science*, 94(10):2488-2494. DOI: 10.3382/ps/pev248.
23. Pan, S., K. Zhang, X. Ding, J. Wang, H. Peng, Q. Zeng, Y. Xuan, Z. Su, B. Wu, and S. Bai. 2018. Effect of high dietary manganese on the immune responses of broilers following oral *Salmonella typhimurium* inoculation. *Biological trace element research*, 181(2):347-360. DOI:10.1007/s12011-017-1060-9.
24. Qiu, Y., Q. Liu, and T. Beta. 2009. Antioxidant activity of commercial wild rice and identification of flavonoid compounds in active fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(16):7543-7551. DOI:10.1007/s12011-017-1060-9.
25. Sah, N., D.L. Kuehu, V.S. Khadka, Y. Deng, K. Peplowska, R. Jha, and B. Mishra. 2018. RNA sequencing-based analysis of the laying hen uterus revealed the novel genes and biological pathways involved in the eggshell biomineralization. *Scientific reports*, 8(1):1-12. DOI:10.1021/jf901074b.
26. Sun, Q., Y. Guo, J. Li, T. Zhang, and J. Wen. 2010. Effects of methionine hydroxy analog chelated Cu/Mn/Zn on laying performance, egg quality, enzyme activity and mineral retention of laying hens. *The Journal of Poultry Science*:1108310128-1108310128. DOI:10.2141/jpsa.011055.
27. Swiatkiewicz, S. and J. Koreleski. 2008. The effect of zinc and manganese source in the diet for laying hens on eggshell and bones quality. *Veterinarni Medicina*, 53(10):555. DOI:10.17221/1966-VETMED.
28. Vakili, R., J. Saebifar, R. Majidzadeh Heavi. 2022. Investigation of Egg Enrichment Using Organic and inorganic Supplements in aged Laying Hens. 134(1):183-193. (In Persian). DOI: 10.22092/VJ.2021.353503.1820.
29. Wang, Y., Z. Gou, X. Lin, Q. Fan, J. Ye, and S. Jiang. 2021. Optimal Level of Supplemental Manganese for Yellow-Feathered Broilers during the Growth Phase. *Animals*, 11(5):1389. DOI: 10.3390/ani11051389.
30. Xiao, J.F., S.G. Wu, H.J. Zhang, H.Y. Yue, J. Wang, F. Ji, and G.H. Qi. 2015. Bioefficacy comparison of organic manganese with inorganic manganese for eggshell quality in Hy-Line Brown laying hens. *Poultry Science*, 94(8):1871-1878. DOI:10.3382/ps.2013-03354.
31. Xie, J., C. Tian, Y. Zhu, L. Zhang, L. Lu, and X. Luo. 2014. Effects of inorganic and organic manganese

- supplementation on gonadotropin-releasing hormone-I and follicle-stimulating hormone expression and reproductive performance of broiler breeder hens. *Poultry Science*, 93(4):959-969. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03598>.
32. Yildiz, A.Ö., Y. Cufadar, and O. Olgun. 2011. Effects of dietary organic and inorganic manganese supplementation on performance, egg quality and bone mineralisation in laying hens. *Revue de Medecine Veterinaire*, 162(10):482-488.
33. Zhang, Y.N., S. Wang, X.B. Huang, K.C. Li, W. Chen, D. Ruan, W.G. Xia, S.L. Wang, K.F.M. Abouelezz, and C.T. Zheng. 2020. Estimation of dietary manganese requirement for laying duck breeders: effects on productive and reproductive performance, egg quality, tibial characteristics, and serum biochemical and antioxidant indices. *Poultry Science*, 99(11):5752-5762. DOI:10.1016/j.psj.2020.06.076.
34. Zhu, Y., L. Lu, X. Liao, W. Li, L. Zhang, C. Ji, X. Lin, H.C. Liu, J. Odle, and X. Luo. 2017. Maternal dietary manganese protects chick embryos against maternal heat stress via epigenetic-activated antioxidant and anti-apoptotic abilities. *Oncotarget*, 8(52):89665. DOI: 10.18632/oncotarget.20804.





## Improving of frozen-thawed sperm quality in commercial broiler breeder roosters challenged with dexamethasone using diet vitamin E supplementation

Zabihollah Nemati<sup>1\*</sup>, Mohammad Sattari<sup>2</sup>, Amir Karimi<sup>3</sup>, Maghsoud Besharati<sup>1</sup>, Namdar Kamrani<sup>2</sup>

Received: 07-02-2021

Revised: 17-06-2021

Accepted: 05-07-2021

Available Online: 07-06-2022

### How to cite this article:

Nemati, Z., M. Sattari, A. Karimi, M. Besharati and N. Kamrani. 2022. Improving of frozen-thawed sperm quality in commercial broiler breeder roosters challenged with dexamethasone using diet vitamin E supplementation. Iranian Journal of Animal Science Research 14(1):109-120.

[DOI:10.22067/ijasr.2021.687251.1007](https://doi.org/10.22067/ijasr.2021.687251.1007)

**Introduction:** Oxidative stress is an imbalance between the free radicals and the ability of the body to counteract or detoxify their harmful effects by antioxidants. Commercial poultry faces a wide range of environmental, technological, nutritional, and biological stresses, which are responsible for low productivity and reproductive performance in poultry. In addition, chronic oxidative stress can deplete antioxidant vitamins and trace elements, impair immune function resulting in significant economic losses to the poultry industry. Most of this stresses at the molecular level are associated with oxidative stress and damage to important biological molecules. High levels of fatty acids are found in the plasma membrane of sperm cells. Fatty acids and other lipid compounds in sperm membranes play an important role in regulating spermatogenesis, sperm maturation, acrosome reaction, capacity building, and membrane fusion. Specifically, sperm lipid peroxidation disrupts these functions and inhibits spermatogenesis. Oxidation of sperm fatty acids leads to the production of free oxygen radicals (ROS), which are normally necessary for physiological processes of sperm, but excessive production of ROS in sperm causes low membrane fluidity, DNA breakdown (directly by attacking the purine and pyrimidine bases), protein damage, and ultimately reduced sperm motility and fertility. ROS cause damage via single and double strand DNA breaks, cross links, and chromosomal rearrangements) vitamin E is one of the most important natural antioxidants and effective in preventing of the spermatozoa lipids oxidation. Consumption of high amounts of vitamin E (200 mg / kg diet) increases its concentration in blood and semen plasma and causes beneficial changes in antioxidant capacity and lipid profile of rooster semen in normal conditions. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of diet supplementation with vitamin E on the quality of frozen-thawed sperm in breeder rooster under dexamethasone-induced oxidative stress.

**Material and Methods:** A total of 18 roosters of Ross 308 broiler breeder at 28 weeks of age were completely randomized with 3 experimental groups and 6 birds in each experimental group. Experimental groups include 1- Normal rooster fed basal diet (control) 2- Roosters treated with subcutaneous injection of dexamethasone 4 mg / kg body weight (DEX) 3- Dex + Vitamin E (200 mg / kg diet). After 2 weeks of habitation period and 3 weeks after experimental treatments, semen samples of roosters were collected twice a week from each rooster using abdominal massage method. Sperm viability was assessed by eosin-negrosin staining. For this purpose, mix 10 µl of diluted semen with 20 µl of dye containing eosin dye (1.67 g), nigrosin dye (10 g) and sodium citrate (2.9 g) in 100 ml of distilled water. The viability of sperm was examined by light microscope (Olympus, Japan) with a

1-Associate Professor, Department of Animal science, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

2- MSc Graduate student, Department of animal science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran

3-Assistant Professor, Department of Animal science, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

\*Corresponding Author Email: [znemati@tabrizu.ac.ir](mailto:znemati@tabrizu.ac.ir)

magnification of  $400\times$  and sperms that were completely or partially reddish and those did not stain were considered died and live sperm respectively. Qualitative characteristics of sperm including viability, percentage of total (MOT, %), and progressive motility (PROG, %), plasma membrane integrity as well as malondialdehyde content, antioxidant capacity (TAC) and activity of glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase enzymes (SOD) were evaluated. Statistical analyses were performed using SAS software version 9.1. Duncan's test was used to compare groups.

**Results and Discussions:** The results showed that dexamethasone injection as a cause of oxidative stress, increases lipid peroxidation (9.11) and decreases antioxidant capacity (1.01) of sperm ( $P<0.05$ ). Total motility (49.16), progressive motility (12.46), survival rate (50.84) and plasma membrane integrity (50.26) significantly decreased by DEX treatment ( $P<0.05$ ). Dietary supplementation with vitamin E improves total motility (73.63), survival rate (74.12) and plasma membrane integrity (72.74), antioxidant capacity (1.50) and activity of glutathione peroxidase (73.58), superoxide dismutase (144.95) and reduction of malondialdehyde (4.61) compared to the other two groups ( $P<0.05$ ). Progressive motility (26.33) was highest in the control group compared to the other two groups and Lateral Head Displacement (16.08) was higher in the dexamethasone group than the other experimental groups ( $P<0.05$ ). These positive effect vitamin E on sperm quality could be due to its antioxidant properties.

**Conclusion:** It can be concluded that dexamethasone injection increases lipid peroxidation and decreases sperm quality. Addition of vitamin E to the broiler breeder rooster's diet under oxidative stress condition improves the quality of frozen thawed sperm. Therefore, it is recommended to supplement the diet of broiler breeder roosters with vitamin E under oxidative stress conditions.

**Keywords:** Frozen-thawed sperm, Oxidative stress, Rooster, Vitamin E.





## مقاله پژوهشی

## بهبود کیفیت اسپرم منجمد-یخ‌گشایی شده خروس‌های گله مادر تجاری چالش داده شده با دگزامتازون با استفاده از مکمل غذایی ویتامین E

ذبیح اله نعمتی<sup>۱\*</sup>، محمد ستاری<sup>۲</sup>، امیر کریمی<sup>۳</sup> مقصود بشارتی<sup>۱</sup>، نامدار کامرانی<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۱۹

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۳/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۱۴

نعمتی، ذ. م. ستاری، ا. کریمی، م. بشارتی، و ن. کامرانی. ۱۴۰۱. بهبود کیفیت اسپرم منجمد-یخ‌گشایی شده خروس‌های گله مادر تجاری چالش داده شده با دگزامتازون با استفاده از مکمل غذایی ویتامین E. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۴(۱): ۱۲۰-۱۰۹.

## چکیده

این آزمایش با هدف بررسی اثر افزودن ویتامین E به جیره غذایی بر کیفیت اسپرم منجمد-یخ‌گشایی شده در خروس‌های تحت تنش اکسیداتیو با دگزامتازون انجام شد. تعداد ۱۸ قطعه خروس گله مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ در سن ۲۸ هفته‌گی به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۳ گروه آزمایشی و ۶ پرنده در هر گروه آزمایشی، انجام گرفت. گروه‌های آزمایشی شامل ۱- گروه کنترل (خروس‌های سالم تغذیه شده با جیره غذایی پایه) ۲- خروس‌های تزریق شده با دگزامتازون به مقدار ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن (دگزا) ۳- دگزا + ویتامین E (۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک)، بودند. پس از ۲ هفته دوره عادت پذیری و ۳ هفته بعد از اعمال گروه‌های آزمایشی، نمونه‌های منی خروس‌ها با استفاده از روش ماساژ شکمی جمع‌آوری شد. خصوصیات کیفی اسپرم شامل میزان زنده‌مانی، درصد تحرک کل و پیش‌رونده، یک‌پارچگی غشای پلاسمایی و نیز میزان مالون دی‌آلدهید، ظرفیت آنتی اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز ارزیابی شد. نتایج نشان داد که تزریق دگزامتازون به عنوان عامل ایجادکننده تنش اکسیداتیو، به ترتیب سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی (۹/۱۱) و کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی (۱/۰۱) پلاسمای اسپرم در مقایسه با گروه کنترل (۶/۹۴/۱۱۶) گردید و از طرفی، تحرک کل (۴۹/۱۶)، تحرک پیش‌رونده (۱۲/۴۶)، درصد زنده‌مانی (۵۰/۸۴) و یک‌پارچگی غشای پلاسمایی (۵۰/۲۶) را شدیداً کاهش داد. افزودن ویتامین E به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم به جیره غذایی خروس‌های تزریق شده با دگزامتازون سبب بهبود تحرک کل (۷۳/۶۳)، درصد زنده‌مانی (۷۴/۱۲)، یک‌پارچگی غشای پلاسمایی (۷۲/۷۴)، ظرفیت آنتی اکسیدانی (۱/۵۰) و فعالیت آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز (۷۳/۵۸)، سوپراکسید دیسموتاز (۱۴۴/۹۵) و کاهش میزان مالون دی‌آلدهید (۴/۶۱) در مقایسه با دو گروه دیگر شد. میزان تحرک پیش‌رونده در گروه کنترل (۲۶/۳۳) در مقایسه با دو گروه دیگر بیش‌ترین مقدار بود و فرکانس حرکات جانبی سر (۱۶/۰۸) در تنها گروه دگزامتازون بیشتر از دیگر گروه‌های آزمایشی بود. می‌توان نتیجه گرفت که تزریق دگزامتازون سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی شده و کیفیت اسپرم را کاهش می‌دهد. افزودن ویتامین E به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم به جیره خروس‌های مادر در شرایط تنش سبب بهبود کیفیت اسپرم منجمد یخ‌گشایی شده می‌گردد.

**کلمات کلیدی:** اسپرم منجمد-یخ‌گشایی شده، تنش اکسیداتیو، خروس، ویتامین E

## مقدمه

طیور تجاری با دامنه وسیعی از تنش‌ها مواجه می‌باشد و استرس

۱- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، ایران.

۲- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، ایران.

۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، ایران.

(Email: [znemati@tabrizu.ac.ir](mailto:znemati@tabrizu.ac.ir))

\*- نویسنده مسئول

دیسوماتاز می‌باشد (Surai et al., 1998b). حفظ تعادل بین تولید ROS و سیستم آنتی‌اکسیدانی جهت حفظ زنده‌مانی اسپرم، ضروری بوده که با نگهداری و انجماد اسپرم این تعادل بر هم می‌خورد (Bréque et al., 2003). جهت جلوگیری از افزایش اکسیداسیون لیپیدهای اسپرم و افزایش مدت زمان نگهداری اسپرم در محیط آزمایشگاه، استفاده از آنتی-اکسیدان‌های طبیعی در محیط رقیق‌کننده اسپرم ضروری به نظر می‌رسد. امروزه افزودنی‌های غذایی طبیعی برای بهبود عملکرد تولیدی و افزایش وضعیت سلامت گله خصوصاً در گله‌هایی که تحت شرایط تنش گرمایی نگهداری می‌شوند، مورد توجه پرورش‌دهندگان طیور است (Fathi et al., 2020). از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موثر در دفاع آنتی-اکسیدانی بدن طیور و جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدهای اسپرماتوزوآ می‌توان به ویتامین E اشاره کرد (Surai et al., 2019) که می‌تواند در محافظت غشای سلول‌ها در مقابل آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد جلوگیری کرده و از فرایندهای التهابی به وسیله تنظیم سیگنال‌های سلولی جهت کنترل ترجمه و تحریک سیستم ایمنی نقش بازی کند (Ahsan et al., 2014). ویتامین E یک آنتی‌اکسیدان لیپیدی است و رادیکال‌های آزاد را در غشاء سلول و ارگان‌های داخل سلولی جمع‌آوری می‌کند. بصورت کامل مشخص گردیده که افزودن مناسب ویتامین E به کاهش مواد واکنش‌دهنده اسید تیوباربتوریک (TBARS) کمک می‌کند و موجب بهبود عملکرد رشد، پراکسیداسیون بافت و استحکام گوشت می‌شود (Nemati et al., 2020a; Nemati et al., 2020b) و نیز اثرات ایمنی سلولی (Ahmadian et al., 2020) و ایمنی هورمونی را تنظیم می‌کند. همچنین گزارش شده ویتامین E طبیعی نسبت به فرم مصنوعی آن بهتر است و آلفاتوکوفرول سطوح ظرفیت کلی آنتی‌اکسیدان (TAC) را افزایش داده و غلظت مالون دی‌آلدهید (MDA) را در کبد کاهش می‌دهد. در پژوهشی گزارش کردند که افزودن ویتامین E به تنهایی و یا همراه با ویتامین C در جیره غذایی خروس گله مادر نژاد لویانگ در سن ۴۵ هفتهگی به ترتیب به میزان ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم سبب جلوگیری از اثرات منفی تنش اکسیداتیو بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و پاسخ ایمنی خروس‌ها می‌شود (Min et al., 2018). مصرف مقادیر بالای ویتامین E (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم رژیم غذایی)، غلظت آن را در خون و پلاسمای منی افزایش می‌دهد و باعث ایجاد تغییرات مفیدی در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مشخصات لیپید مایع منی خروس در شرایط عادی می‌شود (Surai et al., 1997b). نتایج آزمایشات نشان داده‌اند که ویتامین E می‌تواند کیفیت اسپرم پس از ذوب را در گاوها (Towhidi and Parks, 2012)، قوچ‌ها (Silva et al., 2013) و خروس‌ها بهبود بخشد (Amini et al., 2015a; Moghbeli et al., 2016). گلوکوکورتیکوئیدها، استرس فیزیولوژیک را افزایش داده و سبب ایجاد استرس فیزیولوژیک در بافت‌ها و جریان خون می‌گردند (Costantini et al., 2011; Eid et al., 2007; Virden et al., 2008). در مطالعه‌ای، با تزریق دگزامتازون به خروس‌ها و ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو پاسخ ایمنی خروس‌ها تمایل به کاهش داشته و با ادامه یافتن استرس اکسیداتیو به واسطه تزریق

اکسیداتیو دستگاه گوارش آنها از عوامل تغذیه‌ای، تنش گرمایی محیطی و عوامل پاتولوژیکی حاصل می‌شود که می‌تواند عملکرد کلی و کیفیت گوشت و تخم را تغییر می‌دهد (Mishra and Jha, 2019; Nemati et al., 2014a; Nemati et al., 2015; Nemati et al., 2014b). بنابراین تنش اکسیداتیو برای پرورش‌دهندگان در صنعت طیور از اهمیت زیادی برخوردار است (Surai et al., 2019). تنش اکسیداتیو عموماً به عنوان یک عدم تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها در سطح سلولی و فردی تعریف می‌شود، به گونه‌ای که آسیب اکسیداتیو یکی از نتایج این عدم تعادل است که شامل تعدیل اکسیداتیو ماکرو مولکول‌های سلولی، مرگ سلولی توسط نکروز و آپوپتوز و نیز آسیب ساختاری بافت است که این روند در نهایت باعث کاهش عملکرد و ایجاد انواع بیماری‌ها و حتی سبب مرگ و میر می‌شود (Min et al., 2018). انواع تنش‌های محیطی، تکنولوژیکی، تغذیه‌ای و بیولوژیکی مسئول کاهش بهره‌وری و عملکرد تولیدمثلی در طیور هستند که اکثر تنش‌ها در سطح مولکولی، با تنش اکسیداتیو و آسیب به مولکول‌های بیولوژیکی مهم، مرتبط می‌باشند (Ahmadian et al., 2019; Surai et al., 2019). مصرف خوراک، کیفیت اسپرم، سطح تستوسترون، پراکسیداسیون لیپید پلاسمایی و دیگر صفات مهم، تحت تأثیر تنش اکسیداتیو شدید قرار دارند (Khan et al., 2011).

بخش مهمی از موفقیت در تولید گله مادر، نتیجه عملکرد تولیدمثلی خروس‌های گله است، چرا که آن‌ها نقش حداکثری در تولید تخم مرغ‌های بارور بازی می‌کند (Asl et al., 2018). فراسنجه‌های منی و عملکرد تولیدمثلی تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی از قبیل سن پرنده، تغذیه، تنش‌های محیطی و افزایش وزن پرنده قرار می‌گیرد (Bazyar et al., 2019). نتایج آزمایشات مختلف درباره‌ی خصوصیات اسپرم طیور و میزان باروری آن پس از نگهداری طولانی مدت، به دلیل تفاوت در مدت زمان نگهداری (بین ۶ الی ۴۸ ساعت)، شیوه تلقیح مصنوعی و روش آنالیز میزان باروری، متفاوت می‌باشد اما عقیده بر این است که نگهداری اسپرم رقیق شده بیش از ۶ ساعت، موجب کاهش نرخ باروری می‌شود، این کاهش باروری پس از ۲۴ ساعت به حداکثر میزان خود می‌رسد (Donoghue and Wishart, 2000). از عوامل مهم در قابلیت باروری اسپرم، لیپیدهای غشای پلاسمایی اسپرم می‌باشد که ترکیب اسید چرب آن ویژگی‌های حیاتی تحرک، حساسیت به سرما و زنده‌مانی را تعیین می‌کند (Hammerstedt et al., 1990). لیپیدهای غشای اسپرم به شدت نسبت به اکسیداسیون حساس می‌باشد. اکسیداسیون اسیدهای چرب منجر به تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) می‌شود که این رادیکال‌ها در شرایط نرمال جهت برخی فعالیت‌ها و فرایندهای فیزیولوژیکی اسپرم ضروری بوده اما تولید بیش از حد ROS ها در اسپرم موجب کاهش سیالیت غشاء، شکست DNA، آسیب پروتئین‌ها و نهایتاً کاهش تحرک و باروری اسپرم‌ها می‌شود (Mahfouz et al., 2010; Sanocka and Kurpysz, 2004).

مایع منی پرنده‌گان حاوی سیستم آنتی‌اکسیدانی پیشرفته‌ای بوده که شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی نظیر ویتامین‌های E، C، گلوکاتینون و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی نظیر گلوکاتینون پراکسیداز و سوپراکسید

شد. سالن مجهز به سیستم پرورش در قفس انفرادی، آب‌خوری نیپلی و غذادهی دستی بود و همه گروه‌های آزمایشی با دو نوبت غذادهی بر اساس کاتالوگ سویه راس ۳۰۸ (جدول ۱) و دسترسی آزاد به آب، با برنامه نوردی ۱۵ ساعت روشنایی و ۹ ساعت تاریکی نگهداری شدند. گروه‌های آزمایشی شامل ۱- گروه شاهد (خروس‌های سالم تغذیه شده با جیره غذایی پایه) ۲- گروه دگزا (خروس‌های دریافت کننده تزریق زیر پوستی دگزامتازون به میزان ۴ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن)، ۳- گروه دگزا + ویتامین E به میزان ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خوراک، بودند. خروس‌ها به مدت ۲ هفته با شرایط محیطی و قفس و روس ماساژ شکمی اسپرم گیری عادت‌دهی شدند، سپس به مدت یک هفته تزریق دگزامتازون دریافت کردند. آزمایش بعد از هفته تزریق و ایجاد تنش اکسیداتیو با افزودن ویتامین E به جیره غذایی آغاز گردید.

دگزامتازون، آسیب‌های اکسیداتیو به بیومولکول‌های حیاتی مانند ژنوم وارد آمده و برآیند این آسیب‌ها منجر به برخی اثرات بیولوژیک مانند تغییر در بیان ژن، جهش و مرگ سلولی می‌گردد (Min et al., 2018). بنابراین با توجه به اینکه عملکرد تولید مثلی خروس‌ها در شرایط تنش اکسیداتیو کاهش می‌یابد، این پژوهش با هدف بررسی اثر افزودن ویتامین E به جیره غذایی بر کیفیت اسپرم منجمد-یخ‌گشایی درخروس‌های تحت تنش-اکسیداتیو با استفاده از تزریق دگزامتازون، انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در سالن مرغداری دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تبریز با ۱۸ قطعه خروس سویه راس ۳۰۸ در سن ۲۸ هفتهگی در ۳ گروه آزمایشی و ۶ پرنده در هر گروه بصورت طرح کاملاً تصادفی انجام

جدول ۱- جیره غذایی خروس مادر راس ۳۰۸ در دوره آزمایش

Table 1- Ross 308 male broiler breeder diet in experimental period.

| مواد خوراکی<br>Ingredien                             | مقدار (%)<br>Content (%) | ترکیب شیمیایی<br>Chemical composition     |                |
|------------------------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------------|----------------|
| ذرت<br>Corn                                          | 57                       | انرژی قابل متابولیسم<br>Metabolism Energy | 2750 kcal / kg |
| کنجاله سویا (پروتئین خام=۴۴)<br>Soybean meal (Cp=44) | 10                       | پروتئین خام<br>Crude protein              | 12%            |
| جو<br>Barley                                         | 11                       | متیونین-سیستئین<br>Methionine -Cysteine   | 0.45%          |
| سوس گندم<br>Wheat bran                               | 18                       | لازین<br>Lysine                           | 0.5%           |
| دی کلسیم فسفات<br>Dicalcium phosphate                | 1.3                      | ترئونین<br>Threonine                      | 0.38%          |
| پوسته صدف<br>Oyster shell                            | 1.6                      | کلسیم<br>Calcium                          | 0.7%           |
| مکمل ویتامین معدنی<br>Mineral vitamin supplement     | 0.5                      | فسفر<br>Phosphorus                        | 0.35%          |
| نمک<br>Salt                                          | 0.3                      | سدیم<br>Sodium                            | 0.18%          |
| سدیم بیکربنات<br>Sodium bicarbonate                  | 0.05                     | کلر<br>Chlorine                           | 0.16%          |
| دی-ال-متیونین<br>DL-methionine                       | 0.11                     | لینولئیک اسید<br>Linoleic acid            | 1%             |
| ویتامین B<br>Vitamin B                               | 0.01                     |                                           |                |
| ویتامین ای<br>Vitamin E                              | 0.01                     |                                           |                |
| کولین کلراید<br>Choline chloride                     | 0.01                     |                                           |                |

شاهد با دگزا جیره پایه را دریافت کردند. گروه آزمایشی سوم جیره غذایی پایه + ۲۰۰ میلی گرم ویتامین E مکمل دریافت کرد. مدت ۳ هفته پس از اعمال تیمارهای آزمایشی، اسپرم‌گیری از خروس‌ها با استفاده از روش ماساژ شکمی ۲ بار در هفته و به مدت ۳ هفته انجام

دگزامتازون مورد نیاز از شرکت دارویی ابوریحان تهیه شد و بصورت زیرجلدی در سه نوبت به صورت یک روز در میان به میزان ۴ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن، در سه نوبت به صورت یک روز در میان و به مدت ۱ هفته تزریق شد (Min et al., 2018). گروه‌های آزمایشی شاهد و

گرم)، ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با اسمولاریته ۱۰۰ میلی اسمول در محیط اسپرم طراحی شد (Shahverdi et al., 2015). اسپرم‌های با دم گره خورده به عنوان اسپرم‌های دارای غشاء یک‌پارچه و اسپرم‌های که دم آن‌ها صاف بود به عنوان اسپرم دارای غشاء غیر یک‌پارچه تلقی شد (Revell and Mrode, 1994). برای این منظور مقدار ۱۰ میکرولیتر اسپرم رقیق‌شده را با ۲۰۰ میکرولیتر محلول هاست مخلوط شد (Nabi et al., 2016; Najafi et al., 2019; Shahverdi et al., 2015). وضعیت اسپرم‌های با دم صاف و دم پیچیده زیر میکروسکوپ (Olympus, Japan) با بزرگنمایی  $400\times$  مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

میزان زنده‌مانی اسپرم‌ها بوسیله رنگ آمیزی اتوزین-نگروزین بررسی شد. برای این منظور، ۱۰ میکرولیتر مینی رقیق‌شده را با ۲۰ میکرولیتر رنگ حاوی رنگ اتوزین (۱/۶۷ گرم)، رنگ نیگروزین (۱۰ گرم) و سیترات سدیم (۲/۹ گرم) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کرده و گسترشی بر روی لام تهیه شد و زنده‌مانی تعداد ۲۰۰ اسپرم بوسیله میکروسکوپ نوری (Olympus, Japan) با بزرگنمایی  $400\times$  مورد بررسی قرار گرفت. اسپرم‌هایی که بطور کلی یا جزئی رنگ قرمز مایل به بنفش بخود گرفته بودند را مرده و اسپرم‌هایی که رنگ نگرفته بودند، اسپرم‌های زنده در نظر گرفته شد (Evans and Maxwell, 1987).

برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی آلدید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید، مقدار یک میلی‌لیتر از مینی رقیق‌شده با یک میلی-لیتر کلرید سدیم ۰/۹ درصد مخلوط شده و سپس نمونه‌ها با دور ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و به تعداد سه بار با بافر سیترات شستشو و مجدداً سانتریفیوژ شدند. در نهایت محلول رویی دور ریخته شده و رسوب باقیمانده اسپرم‌ها در یک میلی‌لیتر آب دیونیزه حل شده و تا زمان انجام تست، نمونه‌ها در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی آلدید مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از هر نمونه را برداشته و با یک میلی‌لیتر محلول تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد برای رسوب پروتئین مخلوط شد. بخش بالایی از طریق سانتریفیوژ کردن جدا و با یک میلی‌لیتر تیوباربتوریک اسید ۰/۵ درصد (شرکت سیگما، آمریکا) مخلوط شده و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس نمونه‌ها بعد از سرد شدن در داخل یخ، بمدت ۱۵ دقیقه با ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در پایان عدد جذب مالون دی آلدید محلول بالایی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل، JENWAY – 6405) در طول موج ۵۸۶ نانومتر خوانده شد (Peris et al., 2007).

فعالیت آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل پلاسما اسپرم مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده توسط کیت‌های تجاری شرکت طب پژوهان (ایران-تهران) انجام شد. بطور خلاصه برای اندازه‌گیری فعالیت سوپراکسید

گرفت (Burrows and Quinn, 1937). نمونه‌های منی هر خروس داخل میکروتیوب جمع‌آوری شده و به آزمایشگاه منتقل شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار داده شدند تا ارزیابی اولیه از نظر تحرک، غلظت و رنگ اسپرم انجام شود. اسپرم‌های با تحرک ۷۵ درصد و غلظت مناسب به عنوان اسپرم‌های طبیعی در نظر گرفته شده و برای مراحل بعدی آزمایش، برای از بین بردن اثرات فردی، نمونه‌ها با هم مخلوط شدند. محیط رقیق‌کننده مورد استفاده، بلتسویل بهبود یافته بود که تمامی محصولات آن از شرکت مرک آلمان تهیه شده بود و شامل دی فسفات (۱۲/۷ گرم در لیتر)، سدیم گلوکاتامات (۸/۶۱ گرم در لیتر)، فروکتوز (۵ گرم در لیتر)، سدیم استات (۴/۳ گرم در لیتر)، تریس (۱/۹ گرم در لیتر)، پتاسیم سیترات (۰/۶۴ گرم در لیتر)، پتاسیم مونو فسفات (۰/۶۵ گرم در لیتر)، کلراید منیزیم (۰/۳۴ گرم در لیتر) بود (Nabi et al., 2016).

نمونه‌های منی که به منظور حذف اثرات فردی مخلوط شده بودند، به نسبت حجمی ۱ به ۲۰ به محیط رقیق‌کننده افزوده و درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، انتقال داده شدند. پس از ۲ ساعت و رسیدن دمای نمونه‌ها به ۴ درجه سانتی‌گراد، رقیق‌کننده با اسپرم مخلوط گردید تا به غلظت  $300 \times 10^6$  برسد و سپس به داخل پایوت‌ها انتقال و با خمیر مهر و موم شدند (Nasri et al., 2014). پایوت‌های دارای اسپرم، در ارتفاع ۴-۵ سانتی‌متر بالای بخار ازت به مدت ۷ دقیقه قرار داده شدند و سپس برای ذخیره‌سازی به داخل تانک ازت (۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) انتقال داده شدند تا فرایند انجماد اسپرم‌ها تکمیل گردد (Amini et al., 2015b). برای بررسی فراسنجه‌های کیفی اسپرم گروه‌های مختلف آزمایشی، پایوت‌های حاوی اسپرم منجمد، از ازت مایع خارج شدند و پس از قراردادن در حمام آب گرم دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، یخ‌گشایی شده و به داخل میکروتیوب تخلیه شدند تا ارزیابی‌های مورد نظر انجام شود (Amini et al., 2015b).

تحرک کل (TM)، تحرک پیش‌رونده (PM)، میانگین سرعت در مسیر (VAP)، سرعت در مسیر مستقیم (VSL)، سرعت در مسیر منحنی (VCL)، خطی بودن تحرک (LIN)، درصد مستقیم الخط بودن حرکت اسپرم‌ها (STR)، تحرک عرضی سر (ALH)، فرکانس حرکات جانبی (BCF)، توسط سیستم آنالیز رایانه‌ای مجهز به میکروسکوپ فاز کنتراست (Labomed LX400, USA) با بزرگنمایی ۱۰۰ و نرم افزار آنالیز اسپرم ارزیابی شد (Safa et al., 2016). بدین منظور سه پایوت از هر گروه آزمایشی با روشی که در بالا توضیح داده شد، یخ‌گشایی شده و به داخل میکروتیوب‌ها انتقال داده شد، سپس ۱۰ میکرولیتر از نمونه منی رقیق‌شده را روی لام ریخته و یک لام تمیز روی آن قرار داده شد و فراسنجه‌های جنبایی اسپرم با استفاده از کامپیوتر ارزیابی شد (da Silva Maia et al., 2009).

ارزیابی فعالیت غشای پلاسما اسپرم بر اساس تست هایپواسموتیک (HOST) حاوی فروکتوز (۹ گرم) و سیترات سدیم (۴/۹

شرایط تنشی کاهش یافته و میانگین این صفات در اسپرم خروس‌های دریافت‌کننده جیره غذایی حاوی ویتامین بهبود یافته است. رادیکال‌های آزاد بویژه انواع گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن موجب مهار آنزیم‌های درون سلولی می‌شوند و بدین ترتیب اسپرم‌ها از منابع آنزیمی دخیل در تأمین ATP مورد نیاز جهت تحرک و فعالیت محروم شدند (De [Lamirande and Ggnon, 1992](#)). اسپرم فاقد سیستم آنزیمی سیتوپلاسمی لازم برای ترمیم ضایعه ناشی از میزان بالای گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن می‌باشد که اسپرم را در برابر تنش اکسیداتیو ناتوان می‌کند (Saleh *et al.*, 2002). افزودن ویتامین E به عنوان آنتی اکسیدان در جیره خروس‌های تحت تنش اکسیداتیو، سبب شده است تا تحرک کل در مقایسه با دو گروه کنترل و دگزامتازون، حفظ شود. در واقع آنتی اکسیدان با تجزیه آنیون‌های سوپراکسید، از ایجاد آسیب به غشاء اسپرم و کاهش فرآیندهای آن جلوگیری می‌کند. ویتامین E بعنوان ترکیب اصلی سیستم آنتی اکسیدانی در اسپرماتوزوآ می‌باشد (Lenzi *et al.*, 1996). در طرف مقابل رادیکال‌های آزاد، آنتی اکسیدان‌ها وجود دارند که تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپید را کنترل می‌کنند (Türk *et al.*, 2008). ویتامین E تأثیر نگه‌دارنده در میزان قدرت تحرک دارد و بگونه‌ای سبب حفظ تحرک می‌شود (Kheradmand *et al.*, 2006). مطابق با نتایج حاصل از آزمایش حاضر، در آزمایشی مشابه، گزارش کردند که تزریق ۴ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دگزامتازون سبب کاهش در تحرک کل شده و استفاده از ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خوراک ویتامین E سبب بهبود تحرک کل در مقایسه با گروه کنترل و دریافت‌کننده دگزامتازون شد (Eid *et al.*, 2006). هنگامی که میزان ویتامین ویتامین E به اندازه برابر ۵۰۰ برابر میزان پیشنهادی NRC در جیره (۱۵۱ واحد بین المللی بر کیلوگرم جیره) اضافه می‌شود سبب افزایش کیفیت منی و توان باروری جوجه‌ها می‌شود (Tabatabaei *et al.*, 2011). مشابه با نتایج آزمایش حاضر، افزودن سطوح بالاتر ویتامین E به مدت ۴ هفته به جیره جوجه خروس‌های کامپونگ سبب بهبود فراسنجه‌های منی شد (Mohamad Asrol and Abdul Rashid, 2017). آزمایش انجام شده نشان‌دهنده بهبود تحرک اسپرم در رقیق‌کننده‌های حاوی ویتامین E بود (Donoghue and Donoghue, 1997). طی آزمایشی نشان داده شد که استفاده از ۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر آلفاتوکوفرول در رقیق‌کننده انجمادی اسپرم خوک، تحرک بدست آمده پس از ذوب را افزایش می‌دهد (Breininger *et al.*, 2005). ویتامین E تحرک اسپرم خوک را به طور معنی‌داری افزایش داد و از صدمات ناشی از انجماد اسپرم جلوگیری می‌کند (Breininger *et al.*, 2005). این نتایج نشان داد که ویتامین E از سلول‌های اسپرم در مرحله پس از ذوب انجماد محافظت می‌کند (Davies *et al.*, 1988). میزان یک‌پارچگی غشای پلاسمایی و زنده‌مانی اسپرم، در جدول ۳ آورده شده است. نتایج حاکی از آن است که، هر دو فراسنجه با تزریق

دیسموتاز، مقدار ۱۰ میکرولیتر نمونه با مقادیر توصیه شده محلول آماده کیت مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه شیک شد سپس در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۰ دقیقه انکوباسیون و عدد جذبی در طول موج ۴۶۰-۴۴۰ رکورد شد. مطابق دستورالعمل کیت آزمون فعالیت سوپراکسید دیسموتاز از لحاظ دقت برای ۸ تکرار نمونه در سه روز متفاوت، ضریب تغییرات درون و بین تستی به ترتیب ۸ و ۷ درصد بود.

## تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های بدست آمده از این آزمایش توسط رویه‌ی GLM نرم افزار SAS و در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. مقایسات میانگین گروه‌ها با آزمون دانکن انجام شده و نتایج به صورت میانگین مربعات خطا در سطح ۵ درصد ( $P < 0.05$ ) گزارش گردید.

رابطه ۱:  

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$
 که در این مدل،  $Y_{ij}$  = مقدار عملکرد صفت وابسته‌ی نمونه‌ی زام  
 در گروه i ام،  $\mu$  = میانگین کل گروه،  $T_i$  = اثر گروه و  $e_{ij}$  = اثرات باقیمانده، هستند.

## نتایج و بحث

بررسی داده‌های مربوط به تحرک و فراسنجه‌های حرکتی نشان می‌دهد که تزریق دگزامتازون به عنوان عامل ایجاد تنش اکسیداتیو سبب کاهش شدید تحرک کل در مقایسه با گروه کنترل شده است ( $P < 0.05$ ). اما افزودن مکمل ویتامین E به جیره غذایی خروس‌ها در شرایط تنش اکسیداتیو سبب بهبود شاخص تحرک کل در مقایسه با دو گروه دیگر شد ( $P < 0.05$ ) (جدول ۲). همچنین تزریق دگزامتازون سبب کاهش در تحرک پیش‌رونده در مقایسه با گروه کنترل شد و استفاده از ویتامین E توانست تا حد زیادی تأثیر منفی دگزامتازون بر تحرک پیش‌رونده را جبران کند هر چند میانگین حرکت پیش‌رونده در مقایسه با گروه کنترل کمتر و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ) که این نتایج، با یافته پژوهش دیگری که نشان دادند، افزودن ویتامین E به جیره غذایی انسان، بر قدرت تحرک و به ویژه حرکت پیش‌رونده اسپرم مؤثر است، موافقت دارد (Lenzi *et al.*, 1996). نتایج مشابه تحرک پیش‌رونده برای صفات سرعت منحنی (VCL) و تحرک عرضی سر (ALH) مشاهده شد و با تزریق دگزامتازون سرعت منحنی و تحرک عرضی سر کاهش و با افزودن ویتامین E به جیره غذایی خروس‌ها میانگین این صفات افزایش یافت. همچنین فراسنجه‌های حرکتی VAP و VSL در گروه دگزا کاهش و با دریافت ویتامین E میانگین آنها افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). صفات خطی بودن تحرک (LIN) و مستقیم الخط بودن اسپرم‌ها (STR) تحت تأثیر گروه‌ها قرار نگرفت. نتایج آزمایش نشان می‌دهد اکثر صفات حرکتی اسپرم در



غشاء و کاهش توانایی تنظیم سطوح یونی در داخل سلول می‌شود، که مجموعه این شرایط برای تحرک اسپرم مضر می‌باشند ([Baumber et al., 2000](#)).

دگزامتازون، افت شدیدی داشته‌اند و اختلاف معنی‌داری را با گروه کنترل نشان می‌دهد ( $P < 0.05$ ). یکی از عوامل مهم در کاهش تحرک اسپرماتوزوآ، ممانعت از خسارت‌های ساختاری ناشی از فشارهای اکسیداتیو بر یکپارچگی غشاء می‌باشد که منجر به افزایش نفوذپذیری

**جدول ۲-** اثرات افزودن مکمل ویتامین E بر تحرک و فرآیندهای حرکتی اسپرم منجمد-یخ‌گشایی شده خروس‌های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو.

**Table 2-** Effects of vitamin E supplementation on motility and motility parameters of frozen-thawed sperm of broiler breeder rooster under oxidative stress.

| پارامترها<br>Parameters <sup>1</sup>              | تیمارها<br>Treatments |                                                  |                                                         | SEM  | P value |
|---------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|------|---------|
|                                                   | شاهد<br>Control       | شاهد با دگزامتازون<br>Control with dexamethasone | ویتامین E با دگزامتازون<br>Vitamin E with dexamethasone |      |         |
| تحرک کل<br>TM (%)                                 | 68.87 <sup>b</sup>    | 49.16 <sup>c</sup>                               | 73.63 <sup>a</sup>                                      | 1.14 | <0.01   |
| تحرک پیشرونده<br>PM (%)                           | 26.33 <sup>a</sup>    | 12.46 <sup>c</sup>                               | 20.46 <sup>b</sup>                                      | 1.07 | <0.01   |
| میانگین سرعت در مسیر<br>VAP (μm.s)                | 19.08 <sup>a</sup>    | 11.99 <sup>b</sup>                               | 15.04 <sup>b</sup>                                      | 1.23 | 0.01    |
| سرعت در مسیر مستقیم<br>VSL (μm.s)                 | 14.83 <sup>a</sup>    | 9.48 <sup>b</sup>                                | 11.52 <sup>a</sup>                                      | 1.19 | 0.03    |
| سرعت در مسیر منحنی<br>VCL (μm.s)                  | 53.28 <sup>a</sup>    | 34.92 <sup>c</sup>                               | 43.75 <sup>b</sup>                                      | 1.85 | <0.01   |
| خطی بودن تحرک<br>LIN (%)                          | 25.66                 | 22.25                                            | 25.27                                                   | 1.77 | 0.37    |
| درصد مستقیم الخط بودن حرکت<br>اسپرم‌ها<br>STR (%) | 70.85                 | 64.45                                            | 68.85                                                   | 2.52 | 0.23    |
| جنبایی عرضی سر<br>ALH (μm)                        | 1.48 <sup>a</sup>     | 0.9 <sup>c</sup>                                 | 1.26 <sup>b</sup>                                       | 0.06 | 0.01    |
| فرکانس حرکات جانبی<br>BCF (Hz)                    | 14.19 <sup>b</sup>    | 16.08 <sup>a</sup>                               | 14.68 <sup>b</sup>                                      | 0.29 | 0.01    |

<sup>a,b</sup> تیمارها با حروف متفاوت در هر سطر از نظر آماری تفاوت معنی‌دار دارند ( $P < 0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Different letters in the same row show statistically differences ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup> Tm (Total Motility), Pm (Progressive Motility), VAP (Average Path Velocity), VSL (Straight Line Velocity), VCL (Curvi Linear Velocity), LIN (Linearity), STR (Straightness), ALH (Lateral Head Displacement), BCF (Beat Cross Frequency).

آزاد بر ساختار غشاء باشد ([Feyzi et al., 2018](#)).

تأثیر منفی تزریق دگزامتازون بر وضعیت آنتی اکسیدانی اسپرم در جدول ۴ نمایش داده شده است. نتایج نشان می‌دهد تزریق دگزامتازون سبب افزایش در تولید مالون دی آلدهید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی شده است که به دنبال آن نیز، افت شدیدی در ظرفیت کل آنتی اکسیدانی، گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گروه دریافت-کننده دگزامتازون مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). افزودن ویتامین E در جیره خروس‌های تنش‌دیده سبب بهبود فراسنجه‌های معرف وضعیت آنتی اکسیدانی شد که نشان‌دهنده تأثیر مثبت و آنتی اکسیدانی این ویتامین می‌باشد ( $P < 0.05$ ). از آنجا که ویتامین E در قسمت لیپید غشایی واقع شده است، جایی که روند پراکسیداسیون لیپیدی اتفاق می‌افتد، این ویتامین می‌تواند برای جلوگیری از تشکیل پراکسیداسیون لیپید غشایی عمل کند

گروه دریافت‌کننده دگزامتازون که با ویتامین E مکمل‌سازی شده بود، سبب افزایش در میزان زنده‌مانی و یکپارچگی غشای پلاسمایی در مقایسه با دو گروه دیگر شد. نتایج ما با نتایج آزمایش سایر محققین، مطابقت دارد که نشان دادند، استفاده از دگزامتازون به مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن سبب افزایش درصد اسپرم‌های مرده می‌شود ([Eid et al., 2006](#)). با توجه به غشای اسپرم که دارای مقدار زیادی از اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد، مستعد پراکسیداسیون لیپید بوده و در صورت عدم استفاده از آنتی اکسیدان‌ها در محیط برون‌تنی دام احتمال اختلال و تخریب بسیار زیاد نمی‌باشد. افزودن ویتامین E در چنین محیطی سبب بهبود حفاظت از اسپرم و مانع اکسیداسیون شد ([Amini et al., 2015a](#)). طی نگهداری سرمایی و در شرایط یخچال مقدار زنده‌مانی نمونه‌های اسپرم کاهش می‌یابد که می‌تواند ناشی از تأثیر رادیکال‌های

همه با نسبت‌های بالای PUFA (اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیر) مشخص می‌شوند. ایزوآنزیم‌های اصلی سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز، که در برابر پراکسیداسیون مرتبط با درجه بالایی از اشباع اسید چرب محافظت می‌کنند، در اسپرم از همه گونه فعال بودند. مصرف روزانه ۲۲۵ میکروگرم سلنیوم و ۴۰۰ میلی گرم در روز ویتامین E به صورت خوراکی به مدت سه ماه به طور معنی‌داری با کاهش سطح مالون دی آلدیید مایع منی، منجر به بهبود تحرک اسپرم در انسان شد (Keskies-[Ammar et al., 2003](#)).

و بنابراین، متغیرهای کیفیت اسپرم را تقویت می‌کند ([Surai et al., 2001](#)). نتایج ما تأکید دارند که مکمل رژیم غذایی ویتامین E از بروز پراکسیداسیون لیپید اسپرم جلوگیری می‌کند که مطابق با نتایج سایر محققین می‌باشد ([Asl et al., 2018](#)). در حقیقت، ویتامین E، مهم‌ترین آنتی اکسیدان محلول در چربی موجود در غشاهای سلولی است و نقش مهمی در شکست واکنش زنجیره‌ای پراکسیداسیون دارد. محققان نشان دادند که گلوکاتایون پراکسیداز و ویتامین E جزء اصلی سیستم آنتی اکسیدانی اسپرم خروس هستند ([Surai et al., 1998a; Surai et al., 1997a](#)). محققان نشان دادند که اسپرم از ۵ گونه مرغی، از جمله مرغ،

**جدول ۳-** اثرات افزودن مکمل ویتامین E بر یک‌پارچگی غشای پلاسمایی و زنده‌مانی اسپرم منجمد-یخ‌گشایی شده خروس‌های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو.  
**Table 3-** Effects of vitamin E supplementation on plasma membrane integrity and viability of frozen-thawed sperm of broiler breeder rooster under oxidative stress.

| فراسنجه ها<br>Parameters                 | تیمارها<br>Treatments |                                                  |                                                         | SEM  | P.value |
|------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|------|---------|
|                                          | شاهد<br>control       | شاهد با دگزامتازون<br>Control with dexamethasone | ویتامین E با دگزامتازون<br>Vitamin E with dexamethasone |      |         |
| یک‌پارچگی غشاء<br>Membrane Integrity (%) | 58.50 <sup>b</sup>    | 50.26 <sup>c</sup>                               | 72.74 <sup>a</sup>                                      | 1.27 | <0.01   |
| زنده‌مانی<br>Viability (%)               | 63.68 <sup>b</sup>    | 50.84 <sup>c</sup>                               | 74.12 <sup>a</sup>                                      | 1.34 | <0.01   |

<sup>a,b</sup> تیمارها با حروف متفاوت در هر سطر از نظر آماری تفاوت معنی‌دار دارند ( $P < 0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Different letters in the same row show statistically differences ( $P < 0.05$ ).

**جدول ۴-** اثرات افزودن مکمل ویتامین E بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی اسپرم منجمد-یخ‌گشایی شده خروس‌های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو.

**Table 4-** Effects of vitamin E supplementation on biochemical parameters of frozen-thawed sperm of broiler breeder rooster under oxidative stress.

| فراسنجه ها<br>Parameters <sup>1</sup> | تیمارها<br>Treatments |                                                  |                                                         | SEM  | P.value |
|---------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|------|---------|
|                                       | شاهد<br>Control       | شاهد با دگزامتازون<br>Control with dexamethasone | ویتامین E با دگزامتازون<br>Vitamin E with dexamethasone |      |         |
| مالون دی آلدیید<br>MDA (nmol/ ml)     | 6.94 <sup>b</sup>     | 9.11 <sup>a</sup>                                | 4.61 <sup>c</sup>                                       | 0.29 | <0.01   |
| ظرفیت کل آنتی اکسیدانی<br>TAC(U/ml)   | 1.16 <sup>b</sup>     | 1.01 <sup>c</sup>                                | 1.50 <sup>a</sup>                                       | 0.03 | <0.01   |
| گلوکاتایون پراکسیداز<br>GPx(U/ml)     | 55.69 <sup>b</sup>    | 46.16 <sup>c</sup>                               | 73.58 <sup>a</sup>                                      | 1.91 | <0.01   |
| سوپراکسید دیسموتاز<br>SOD(U/ml)       | 111.72 <sup>b</sup>   | 103.45 <sup>c</sup>                              | 144.95 <sup>a</sup>                                     | 2.47 | <0.01   |

<sup>a,b</sup> تیمارها با حروف متفاوت در هر سطر از نظر آماری تفاوت معنی‌دار دارند ( $P < 0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Different letters in the same row show statistically differences ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup> MDA (malondialdehyde), TAC (Total Antioxidant Capacity), GPx (glutathione per-oxidase), SOD (Superoxide Dismutase).

## نتیجه گیری

ویتامین E به جیره خروس‌های مادر در شرایط تنش اکسیداتیو سبب بهبود اثرات منفی شرایط اکسیداتیو القاء شده با دگزامتازون بر کیفیت اسپرم منجمد یخ‌گشایی شده خروس‌های گله مادر گوشتی می‌گردد بنابراین افزودن مکمل ویتامین E در جیره غذایی خروس‌های مرغ مادر

تزریق دگزامتازون و القاء تنش اکسیداتیو سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی اسپرم‌ها و کاهش کیفیت اسپرم می‌شود. افزودن

## References

- Ahmadian, H., Z. Nemati, A. Karimi, and R. Safari. 2019. Effect of different dietary selenium sources and storage temperature on enhancing the shelf life of quail eggs. *Animal Production Research* 8 (2): 23-33.
- Ahmadian, H., Z. Nemati, A. Karimi, R. Safari, M. Sheikhlou, and M. Besharati. 2020. Effect of Selenium with Vitamin E on Production Performance, Immune Response and Blood Metabolites of Laying Japanese Quail. *Iranian Journal of Animal Science Research* 12: 337-349.
- Ahsan, U., Z. Kamran, I. Raza, S. Ahmad, W. Babar, M. Riaz, and Z. Iqbal. 2014. Role of selenium in male reproduction—A review. *Animal reproduction science* 146: 55-62. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.01.009>.
- Amini, M. R., H. Kohram, A. Z. Shahaneh, M. Zhandi, H. Sharideh, and M. M. Nabi. 2015a. The effects of different levels of vitamin E and vitamin C in modified Beltsville extender on rooster post-thawed sperm quality. *Cell tissue banking* 16: 587-592. <https://doi.org/10.1007/s10561-015-9506-9>.
- Amini, M. R., H. Kohram, A. Zare-Shahaneh, M. Zhandi, H. Sharideh, and M. M. Nabi. 2015b. The effects of different levels of catalase and superoxide dismutase in modified Beltsville extender on rooster post-thawed sperm quality. *Cryobiology* 70: 226-232. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2015.03.001>.
- Asl, R. S., F. Shariatmadari, M. Sharafi, M. A. K. Torshizi, and A. Shahverdi. 2018. Dietary fish oil supplemented with vitamin E improves quality indicators of rooster cold-stored semen through reducing lipid peroxidation. *Cryobiology* 84: 15-19. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2018.08.008>.
- Baumber, J., B. A. Ball, C. G. GRAVANCE, V. Medina, and M. C. DAVIES-MOREL. 2000. The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential, and membrane lipid peroxidation. *Journal of andrology* 21: 895-902.
- Bazyar, M., M. Sharafi, and A. Shahverdi. 2019. Changes in seminal parameters and hormonal profile with use of aromatase inhibitor in management of aging broiler breeder roosters. *Poultry science* 98: 6100-6107. <https://doi.org/10.3382/ps/pez325>.
- Breining, E., N. B. Beorlegui, C. M. O'Flaherty, and M. T. Beconi. 2005. Alpha-tocopherol improves biochemical and dynamic parameters in cryopreserved boar semen. *Theriogenology* 63: 2126-2135. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.08.016>.
- Bréque, C., P. Surai, and J. P. Brillard. 2003. Roles of antioxidants on prolonged storage of avian spermatozoa in vivo and in vitro. *Molecular Reproduction Development: Incorporating Gamete Research* 66: 314-323. <https://doi.org/10.1002/mrd.10347>.
- Burrows, W., and J. Quinn. 1937. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poultry Science* 16: 19-24. <https://doi.org/10.3382/ps.0160019>.
- Costantini, D., V. Marasco, and A. P. Møller. 2011. A meta-analysis of glucocorticoids as modulators of oxidative stress in vertebrates. *Journal of Comparative Physiology B* 181: 447-456. <https://doi.org/10.1007/s00360-011-0566-2>.
- da Silva Maia, M., S. D. Bicudo, H. C. Azevedo, C. C. Sicherle, D. B. de Sousa, and L. Rodello. 2009. Motility and viability of ram sperm cryopreserved in a Tris-egg yolk extender supplemented with anti-oxidants. *Small Ruminant Research* 85: 85-90. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.07.001>.
- Davies, M. J., L. G. Forni, and R. L. Willson. 1988. Vitamin E analogue Trolox CEsr and pulse-radiolysis studies of free-radical reactions. *Biochemical Journal* 255: 513.
- De Lamirande, E., and C. Ggnon. 1992. Reactive oxygen species and human spermatozoa: I. Effects on the motility of intact spermatozoa and on sperm axonemes. *Journal of andrology* 13: 368-378.
- Donoghue, A., and D. Donoghue. 1997. Effects of water-and lipid-soluble antioxidants on turkey sperm viability, membrane integrity, and motility during liquid storage. *Poultry Science* 76: 1440-1445. <https://doi.org/10.1093/ps/76.10.1440>.
- Donoghue, A. M., and G. Wishart. 2000. Storage of poultry semen. *Animal reproduction science* 62: 213-232. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00160-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00160-3).
- Eid, Y., T. Ebeid, M. Moawad, and M. El-Habbak. 2008. Reduction of dexamethasone-induced oxidative stress and lipid peroxidation in laying hens by dietary vitamin E supplementation. *Emirates Journal of Food Agriculture*: 28-40. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v20i2.5188>.
- Eid, Y., T. Ebeid, and H. Younis. 2006. Vitamin E supplementation reduces dexamethasone-induced oxidative stress in chicken semen. *British poultry science* 47: 350-356. <https://doi.org/10.1080/00071660600753912>.
- Evans, G., and W. C. Maxwell. 1987. Salmons' artificial insemination of sheep and goats. Butterworths.
- Fathi, M., I. Al-Homidan, T. Ebeid, O. Abou-Emera, and M. Mostafa. 2020. Dietary supplementation of Eucalyptus leaves enhances eggshell quality and immune response in two varieties of Japanese quails under tropical condition.



- Poultry Science 99: 879-885. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.09.001>.
22. Feyzi, S., M. Sharafi, and S. Rahimi. 2018. Stress preconditioning of rooster semen before cryopreservation improves fertility potential of thawed sperm. Poultry science 97: 2582-2590.
23. Hammerstedt, R. H., J. K. Graham, and J. P. Nolan. 1990. Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive. Journal of andrology 11: 73-88.
24. Keskes-Ammar, L. et al. 2003. Sperm oxidative stress and the effect of an oral vitamin E and selenium supplement on semen quality in infertile men. Archives of andrology 49: 83-94. <https://doi.org/10.1080/01485010390129269>.
25. Khan, R. U., S. Naz, Z. Nikousefat, V. Tufarelli, M. Javdani, N. Rana, and V. Laudadio. 2011. Effect of vitamin E in heat-stressed poultry. World's poultry science journal 67: 469-478.
26. Kheradmand, A., H. Babael, and J. Abshenas. 2006. Comparative evaluation of the effect of antioxidants on the chilled-stored ram semen.
27. Lenzi, A., M. Picardo, L. Gandini, and F. Dondero. 1996. Lipids of the sperm plasma membrane: from polyunsaturated fatty acids considered as markers of sperm function to possible scavenger therapy. Human reproduction update 2: 246-256. <https://doi.org/10.1093/humupd/2.3.246>.
28. Mahfouz, R., R. Sharma, A. Thiyagarajan, V. Kale, S. Gupta, E. Sabanegh, and A. Agarwal. 2010. Semen characteristics and sperm DNA fragmentation in infertile men with low and high levels of seminal reactive oxygen species. Fertility sterility 94: 2141-2146.
29. Min, Y., Z. Niu, T. Sun, Z. Wang, P. Jiao, B. Zi, P. Chen, D. Tian, and F. Liu. 2018. Vitamin E and vitamin C supplementation improves antioxidant status and immune function in oxidative-stressed breeder roosters by up-regulating expression of GSH-Px gene. Poultry science 97: 1238-1244.
30. Mishra, B., and R. Jha. 2019. Oxidative stress in the poultry gut: Potential challenges and interventions. Frontiers in veterinary science 6: 60.
31. Moghbeli, M., H. Kohram, A. Zare-Shahaneh, M. Zhandi, M. Sharafi, M. M. Nabi, V. Zahedi, and H. Sharideh. 2016. Are the optimum levels of the catalase and vitamin E in rooster semen extender after freezing-thawing influenced by sperm concentration? Cryobiology 72: 264-268. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2016.03.008>.
32. Mohamad Asrol, K., and B. Abdul Rashid. 2017. Effect of vitamin E supplementation on semen quantity and quality of Local Kampong roosters. Malaysian Journal of Animal Science 20: 37-43.
33. Nabi, M. M., H. Kohram, M. Zhandi, H. Mehrabani-Yeganeh, H. Sharideh, A. Zare-Shahaneh, and V. Esmaili. 2016. Comparative evaluation of Nabi and Beltsville extenders for cryopreservation of rooster semen. Cryobiology 72: 47-52.
34. Najafi, A., R. A. Taheri, M. Mehdipour, F. Martínez-Pastor, A. A. Rouhollahi, and M. R. Nourani. 2019. Improvement of post-thawed sperm quality in broiler breeder roosters by ellagic acid-loaded liposomes. Poultry science 98: 440-446. <https://doi.org/10.3382/ps/pey353>.
35. Nasri, S., F. Amidi, and Z. Rezaeian. 2014. Effect of Selenium on the motility, morphology and viability of sperm cells after freezing and thawing procedure. The Journal of Qazvin University of Medical Sciences 18: 11-17.
36. Nemati, Z., H. Ahmadian, M. Besharati, S. Lesson, K. Alirezalu, R. Domínguez, and J. M. J. F. Lorenzo. 2020a. Assessment of dietary selenium and vitamin E on laying performance and quality parameters of fresh and stored eggs in Japanese Quails. 9: 1324.
37. Nemati, Z., K. Alirezalu, M. Besharati, S. Amirdahri, D. Franco, and J. M. J. F. Lorenzo. 2020b. Improving the quality characteristics and shelf life of meat and growth performance in goose fed diets supplemented with vitamin E. 9: 798. <https://doi.org/10.3390/foods9060798>.
38. Nemati, Z., H. Janmohammadi, A. Taghizadeh, G. Moghaddam, and H. Maleki Nejad. 2014a. Effect of bentonite supplementation to the contaminated diets with aflatoxin B1 on broiler performance. In: 6th Iranian congress on animal science, Tabriz
39. Nemati, Z., H. Janmohammadi, A. Taghizadeh, H. M. Nejad, and G. Mogaddam. 2015. Effect of Bentonite as a natural adsorbent to ameliorate the adverse effects of aflatoxin B1 on performance and immune systems in broiler chicks. Animal Production Research 4.
40. Nemati, Z., H. Janmohammadi, A. Taghizadeh, H. M. Nejad, G. Mogaddam, and M. Arzanlou. 2014b. Occurrence of Aflatoxins in poultry feed and feed ingredients from northwestern Iran. European Journal of Zoological Research 3: 56-60.
41. Peris, S. I., J. F. Bilodeau, M. Dufour, and J. L. Bailey. 2007. Impact of cryopreservation and reactive oxygen species on DNA integrity, lipid peroxidation, and functional parameters in ram sperm. Molecular reproduction development 74: 878-892. <https://doi.org/10.1002/mrd.20686>.
42. Revell, S., and R. Mrode. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. Animal Reproduction Science 36: 77-86.
43. Safa, S., G. Moghaddam, R. J. Jozani, H. D. Kia, and H. Janmohammadi. 2016. Effect of vitamin E and selenium nanoparticles on post-thaw variables and oxidative status of rooster semen. Animal reproduction science 174: 100-106.

44. Saleh, R. A., A. Agarwal, E. Kandirali, R. K. Sharma, A. J. Thomas Jr, E. A. Nada, D. P. Evenson, and J. G. Alvarez. 2002. Leukocytospermia is associated with increased reactive oxygen species production by human spermatozoa. *Fertility sterility* 78: 1215-1224.
45. Sanocka, D., and M. Kurpisz. 2004. Reactive oxygen species and sperm cells. *Reproductive Biology Endocrinology* 2: 1-7.
46. Shahverdi, A., M. Sharafi, H. Gourabi, A. A. Yekta, V. Esmaeili, M. Sharbatoghli, E. Janzamin, M. Hajnasrollahi, and F. Mostafayi. 2015. Fertility and flow cytometric evaluations of frozen-thawed rooster semen in cryopreservation medium containing low-density lipoprotein. *Theriogenology* 83: 78-85. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.07.044>
47. Silva, S. V., A. T. Soares, A. M. Batista, F. C. Almeida, J. F. Nunes, C. A. Peixoto, and M. M. P. Guerra. 2013. Vitamin E (Trolox) addition to Tris-egg yolk extender preserves ram spermatozoon structure and kinematics after cryopreservation. *Animal Reproduction Science* 137: 37-44.
48. Surai, P., E. Blesbois, I. Grasseau, T. Chalah, J.-P. Brillard, G. Wishart, S. Cerolini, and N. Sparks. 1998a. Fatty acid composition, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity and total antioxidant activity of avian semen. *Comparative Biochemistry Physiology Part B: Biochemistry Molecular Biology* 120: 527-533.
49. Surai, P., N. Fujihara, B. Speake, J. Brillard, G. Wishart, and N. Sparks. 2001. Polyunsaturated fatty acids, lipid peroxidation and antioxidant protection in avian semen-Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 14: 1024-1050. <https://doi.org/10.5713/ajas.2001.1024>.
50. Surai, P., I. Ionov, I. Kostyuk, G. Wishart, B. Speake, R. Noble, A. Macpherson, and N. Sparks. 1997a. Effect of vitamin E and selenium in the cockerel's diet on lipid peroxidation in the spermatozoa. *British Poultry Science* 38: S54-S55.
51. Surai, P. F., S. Cerolini, G. J. Wishart, B. K. Speake, R. C. Noble, and N. H. Sparks. 1998b. Lipid and antioxidant composition of chicken semen and its susceptibility to peroxidation. *Avian Poultry Biology Reviews* 9: 11-23.
52. Surai, P. F., T. Gaal, R. C. Noble, and B. K. Speake. 1997b. The relationship between the  $\alpha$ -tocopherol content of the yolk and its accumulation in the tissues of the newly hatched chick. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 75: 212-216.
53. Surai, P. F., I. I. Kochish, M. N. Romanov, and D. K. Griffin. 2019. Nutritional modulation of the antioxidant capacities in poultry: the case of vitamin E. *Poultry science* 98: 4030-4041.
54. Tabatabaei, S., R. Batavani, and E. Ayen. 2011. Effects of vitamin E addition to chicken semen on sperm quality during in vitro storage of semen. In: *Veterinary Research Forum*. p 103-111.
55. Towhidi, A., and J. Parks. 2012. Effect of n-3 fatty acids and  $\alpha$ -tocopherol on post-thaw parameters and fatty acid composition of bovine sperm. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 29: 1051-1056.
56. Türk, G., M. Sönmez, M. Aydin, A. Yüce, S. Gür, M. Yüksel, E. H. Aksu, and H. Aksoy. 2008. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clinical nutrition* 27: 289-296. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2007.12.006>.
57. Virden, W., J. Thaxton, A. Corzo, W. Dozier III, and M. Kidd. 2007. Evaluation of models using corticosterone and adrenocorticotropin to induce conditions mimicking physiological stress in commercial broilers. *Poultry Science* 86: 2485-2491. <https://doi.org/10.3382/ps.2006-00215>.



## Investigation Quality of Water Used in Poultry Farms in Noorabad City of Fars Province and Its Neighboring Rural Areas

Saeed Salami<sup>1</sup>, Kiavash Hushmandi<sup>2</sup>, Shohreh Alian Samakkhah<sup>3\*</sup>

Received: 05-04-2020

Revised: 19-03-2021

Accepted: 26-06-2021

Available Online: 07-06-2022

### How to cite this article:

Salami, S., K. Hushmandi, and SH. Alian Samakkhah. 2022. Investigation Quality of Water Used in Poultry Farms in Noorabad City of Fars Province and Its Neighboring Rural Areas. Iranian Journal of Animal Science Research 14(1):121-130.

[DOI:10.22067/IJASR.2021.38283.0](https://doi.org/10.22067/IJASR.2021.38283.0)

**Introduction:** The quality of drinking water is an important factor that may affect broiler performance. Water is very important resource for poultry and is mainly supplied from groundwater sources, rivers, and springs. In addition to being a nutrient, water also softens food and carries it through the body, aids in digestion and absorption, and cools the body as it evaporates through the bird's lungs and air sacs. Water helps remove waste, lubricates joints, is a major component of blood, and a necessary medium for many chemical reactions that help form meat and eggs. This study discusses some of the most common factors that impact poultry farms water quality. Therefore, this study aimed to investigate the chemical quality of samples obtained from various sources of poultry drinking water in Noorabad city of Fars province and neighboring villages.

**Materials and Methods:** This study is a cross-sectional study and was conducted for evaluating the quality of water used in poultry farms in Noorabad city of Fars province and neighboring villages such as Dam Qanat, Kol Gah, Gazargah, Arab Khalifa Sofla, Fahlian, Tal Kohnah, Mal Mahmoud and Bajgah. Total hardness, pH, total dissolved solids, chlorine, calcium, magnesium, and sodium of water in nine regions were evaluated. This study was conducted in the second quarter of 1399. Water sampling was done in 30 poultry farms with three replicates. For this purpose, three samplings were randomly taken from each poultry farm three times a month. The samples collected in plastic containers were immediately tested for pH and transferred to the laboratory for other experiments at room temperature. The sampled poultry farms used well water. Total hardness, pH, chlorine, calcium, and water magnesium were measured using a model 7500 photometer according to the device's instructions and APHA. Results were analyzed statistically by SPSS software version 20 and the One-way ANOVA test with the Duncan post hoc test. Mean  $\pm$  SD was considered significant if ( $P < 0.05$ ).

**Results and Discussion:** When the water looks clear and tastes okay, water quality is easy to take for granted. However, water quality is impossible to judge adequately except with laboratory testing. Field experience has conclusively shown that unobservable differences in water quality, from farm to farm and even from one well to another within a complex, can result in significant differences in bird performance. Drinking water should be clear, tasteless, odorless, and colorless. As a general observation, a reddish-brown color may indicate the presence of iron, while blue color indicates the presence of copper. Hydrogen sulfide is indicated by a rotten egg odor. Hydrogen sulfide may also combine with iron to form black water (iron sulfide) that may also implicate the presence of sulfate-reducing bacteria. Taste can be affected by the presence of salts, and a bitter taste is usually associated with the presence of ferrous and manganese sulfates. The highest amounts of total hardness ( $1169 \pm 0.52$  ppm), calcium ( $583 \pm 0.57$  ppm), total dissolved solids ( $1398 \pm 1.5$  ppm), sodium ( $259 \pm 0.57$  ppm), and

1-DVM. Graduated, Faculty of Veterinary Medicine, Kazeroon Branch, Islamic Azad University, Kazeroon, Iran.

2-Department of Food Hygiene and Quality Control, Division of Epidemiology & Zoonoses, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

3-Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies (AUSMT), Amol, Iran.

\*Corresponding Author Email: [Shohre.alian@ut.ac.ir](mailto:Shohre.alian@ut.ac.ir)

chlorine ( $403 \pm 1.00$  ppm) belonged to the water of the Bajgah region. In talkohneh, the amount of magnesium in water ( $289 \pm 0.55$  ppm) was significantly higher than in other regions. Water pH in Nourabad ( $7.15 \pm 0.020$ ) was less than in other regions and was neutral.

**Conclusion:** Water quality attributes can have a direct or indirect effect on performance. Poor water quality can retard the growth, curtail egg production, or result in production of lower egg quality. Feed conversion, for example, has been positively correlated to the presence of sulfate and copper concentrates in the water, and livability with potassium, chloride, and calcium. Bodyweight is positively influenced by water hardness and dissolved oxygen and negatively influenced by total bacteria and pH less than 6.0. While several elements can cause poor water quality, the interaction between elements is more significant in water quality problems than the simple fact of their presence. The findings of this study reveal that, in terms of total hardness, Damghanat water was more suitable for poultry drinking and aviculture than other regions. Water TDS of each nine evaluated regions as appropriate. In Damghanat and Arabkhalifehsofla, the amount of water calcium was more suitable. In Malmahmoud, Fahlyan, and Talkohneh the amount of water magnesium was more than a threshold for poultry. Gazergah has the most suitable water chlorine status. Water sodium was more than 50 ppm in all regions except Kalgah. pH less than 6.3 decreases the yield of the poultry, however pH of none of the regions was less than 6.3. Low pH water can be unpalatable, corrosive to equipment, and may have a negative impact on performance. High pH water is also unacceptable since it reflects high levels of calcium and magnesium, which can clog water systems. Poultry accepts water on the acid side better than they accept water on the alkaline side. The results of the present study indicate the poor quality of water in Nurabad, which is recommended through solutions such as the use of acidic compounds to remove sediments and adjust the pH of water, as well as the use of orthophosphates to harden water.

**Keywords:** Chlorine, Poultry farms, Water hardness, Water Quality.

## مقاله پژوهشی

## بررسی کیفیت آب مصرفی مرغداری های شهرستان نورآباد استان فارس و مناطق روستایی مجاور

سعید سلامی<sup>۱</sup>، کیاوش هوشمندی<sup>۲</sup>، شهره عالیان سماک خواه<sup>۳\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۱۷

تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۱۲/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۵

سلامی، س.، ک. هوشمندی، و ش. عالیان سماک خواه. ۱۴۰۱. بررسی کیفیت آب مصرفی مرغداری های شهرستان نورآباد استان فارس و مناطق روستایی مجاور. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۱۴ (۱): ۱۳۰-۱۲۱.

## چکیده

کیفیت آب آشامیدنی، یکی از مهم ترین عواملی است که می تواند بر عملکرد جوجه های پرورشی اثرگذار باشد. مطالعه حاضر به هدف بررسی رایج ترین عوامل مؤثر بر کیفیت آب مرغداری ها می پردازد. این مطالعه به روش مقطعی بر روی آب مصرفی مرغداری های شهرستان نورآباد استان فارس و روستاهای مجاور آن در سه ماهه دوم سال ۱۳۹۹ و از آب ۳۰ مرغداری با سه بار تکرار انجام شد. نمونه های جمع آوری شده در ظروف پلاستیکی بلافاصله مورد آزمایش pH قرار گرفتند و برای سایر آزمایشات در دمای معمولی به آزمایشگاه منتقل شدند. بیشترین میزان سختی کل ( $0 \pm 1169/52$  ppm)، کلسیم ( $0 \pm 583/057$  ppm)، میزان کل مواد جامد محلول ( $1 \pm 1398/5$  ppm)، سدیم ( $0 \pm 259/57$  ppm) و کلر ( $\pm 403/100$  ppm) متعلق به آب منطقه باجگاه بود. در روستای تل کهنه منیزیم آب ( $0 \pm 289/55$  ppm) به میزان قابل توجهی بیش از سایر مناطق بود. pH آب شهرستان نورآباد کمتر از سایر مناطق و در حدود خنثی ( $7/15 \pm 0/20$ ) بود. از نظر سختی کل آب روستای دم قنات برای آشامیدن طیور و مرغداری ها مناسب تر از سایر مناطق و میزان کل مواد جامد محلول آب هر ۹ منطقه مورد ارزیابی مناسب تشخیص داده شد. در روستاهای دم قنات و عرب خلیفه سفلی کلسیم آب از وضعیت مناسب تری برخوردار بود. در روستاهای مال محمود، فهلان و تل کهنه منیزیم آب بیش از حد آستانه برای ماکیان بود. روستای گازرگاه دارای مناسب ترین وضعیت کلر آب بود. در تمام مناطق به غیر از روستای کل گاه سدیم آب بیش از ۵۰ ppm بود. مقادیر pH کمتر از ۶/۳ موجب کاهش بازدهی و عملکرد ماکیان می گردد. در هیچ یک از مناطق مورد ارزیابی pH آب از ۶/۳ کمتر نبود. نتایج مطالعه حاضر بیانگر کیفیت نامطلوب آب شهرستان نورآباد است که از طریق راهکارهایی مانند استفاده از ترکیبات اسیدی جهت زدودن رسوبات و تنظیم pH آب و همچنین استفاده از ارتوفسفاتها جهت سختی گیری آب توصیه می گردد.

واژه های کلیدی: سختی آب، کلر، کیفیت آب، مرغداری.

## مقدمه

آب، در مصارف صنعتی میزان pH و سختی آب، در مصارف شرب برای انسان رنگ، بو و مزه، بار میکروبی و میزان شوری و برای انواع دام تمام این عوامل با حساسیت کمتر در بررسی کیفیت آب مطرح هستند

هنگام بررسی کیفیت آب باید نوع مصرف کننده آن نیز در نظر گرفته شود. به طور مثال در مصارف کشاورزی میزان سدیم محلول در

۱- دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران.

۲- گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، بخش اپیدمیولوژی و بیماری های مشترک، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۳- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران.

(Email: [Shohre.alian@ut.ac.ir](mailto:Shohre.alian@ut.ac.ir))

\* - نویسنده مسئول

برای اندازه‌گیری میزان کل مواد جامد محلول، آب ابتدا از قیف صافی‌دار عبور داده شد و مواد معلق و کلوئیدی آن گرفته شد سپس به عنوان نمونه انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت. حجم مشخصی از آن درون ظرف تبخیر که ابتدا وزن گردید ریخته شد و سپس روی حمام بخار آب، تبخیر و خشک شد. همانطور که در رابطه ۱ نشان داده شده است، تفاوت وزن ظرف خالی قبل از ریختن نمونه و ظرف پس از خشک شدن نمونه نشانگر وزن کل مواد جامد محلول در آب بوده که با تقسیم نمودن آن بر حجم نمونه آب، میزان کل مواد جامد محلول بر حسب میلی گرم بر لیتر یا ppm به دست آمد. تبخیر باید در دمای پایین‌تر از درجه حرارت جوش انجام گیرد. زیرا ضمن تبخیر ممکن است تغییراتی در ترکیبات شیمیایی مواد در اثر حرارت بالا ایجاد شود (Mozaffari and Ordoukhanin, 2008).

$$\text{TDS (mg/L)} = \frac{(m_2 - m_1)}{V} \times 1000 \quad \text{رابطه ۱:}$$

m<sub>1</sub>: وزن ظرف خالی بر حسب میلی گرم

m<sub>2</sub>: وزن ظرف و نمونه بعد از تبخیر بر حسب میلی گرم

V: حجم نمونه آب بر حسب میلی لیتر

غلظت سدیم آب نیز براساس روش استاندارد شماره ۳۵۰۰ با دستگاه فلیم فتومتر مدل Sherwood 410، اندازه‌گیری شد (Heidari et al., 2009).

#### آنالیز آماری داده‌ها

پژوهش حاضر بر اساس یک طرح تصادفی با سه تکرار برای هر پارامتر انجام شد. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شدند و برای تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) و آزمون تعقیبی Duncan با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ استفاده شد.

#### نتایج و بحث

میزان سختی کل آب در هر نه منطقه، از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار بود (نمودار ۱). بیشترین میزان سختی کل بر حسب کلسیم کربنات متعلق به آب منطقه باجگاه (۱۱۶۹  $\pm$  ۵۲ ppm) و کمترین میزان سختی کل مربوط به آب روستای دم قنات (۱۶۹  $\pm$  ۵۲ ppm) بود.

pH آب در شهرستان نورآباد کمتر از سایر مناطق و در حدود خنثی (۷/۱۵  $\pm$  ۰/۲۰) بود. بیشترین میزان pH آب متعلق به روستای عرب خلیفه سفلی (۸/۵۶  $\pm$  ۰/۵۷) بود (نمودار ۲).

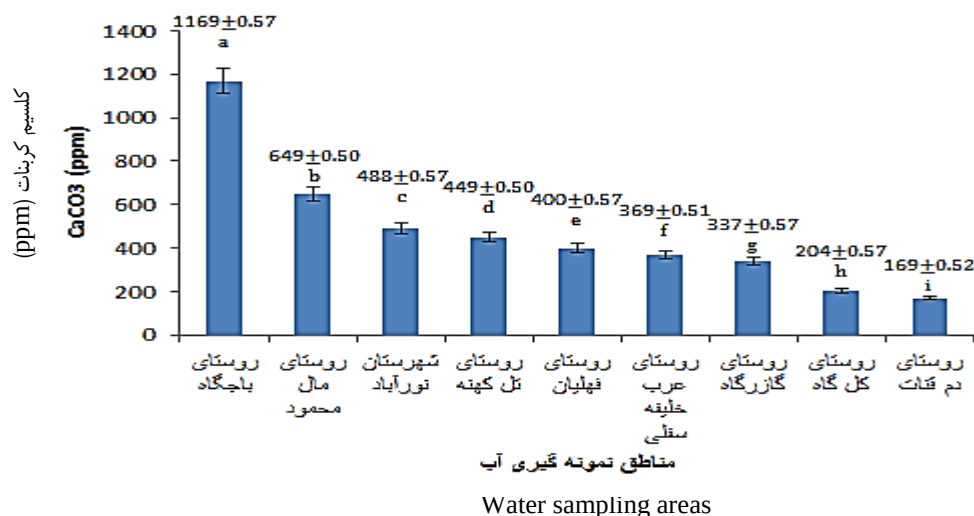
میزان کلر در آب روستای باجگاه بیش از سایر مناطق بوده (۴۰۳  $\pm$  ۱/۰۰ ppm) و کمترین میزان کلر آب متعلق به روستای کل‌گاه (۱۳/۱  $\pm$  ۱/۰۰ ppm) بود. اختلاف میزان کلر آب در سایر مناطق نیز از نظر آماری معنی‌دار بود (نمودار ۳).

(Kardavani, 1988; Zimmermann and Douglass, 1998). آب حساس‌ترین ماده غذایی طیور بوده و عمدتاً از منابع آب زیرزمینی، رودخانه‌ها و چشمه‌ها تأمین می‌گردد. علی‌رغم اهمیتی که آب در تغذیه طیور دارد، معمولاً کمتر مورد توجه قرار می‌گیرد و تنها زمانی به آن توجه می‌شود که مشکل یا بیماری خاصی بروز نماید. بسیاری از املاح، ویتامین‌ها، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و داروها امکان انتقالشان در بدن تنها به دلیل محلول بودن در آب، فراهم است. وجود مقادیر بیش از حد مجاز املاح در آب، طیور را از آشامیدن بازداشته و علاوه بر کاهش رشد و تولید می‌تواند در ایجاد بیماری‌هایی از قبیل نقرس، آسیت و تورم کلیه نقش داشته باشد (Rokni et al., 2002). به منظور مطالعه اثر مواد معدنی آب بر عملکرد طیور در مزارع مرغ استان تهران، بررسی جامعی روی ۴۸ مزرعه صورت گرفته است که بررسی مذکور حاکی از وجود رابطه‌ای مستقیم بین کیفیت آب مصرفی و تولید تخم مرغ می‌باشد (Rokni et al., 2002). احداث مزارع پرورش دام و طیور بدون توجه به شناسایی آب منطقه و یا عدم اصلاح به موقع آن موجب بروز مشکلات کلیوی و سنگ مجاری ادراری، کاهش مصرف آب و کاهش عملکرد در دام و طیور می‌گردد (Irandoust and Mohammadzadeh, 2016). لذا هدف از این مطالعه بررسی کیفیت شیمیایی نمونه‌های حاصل از منابع مختلف آب شرب طیور در شهرستان نورآباد استان فارس و روستاهای مجاور آن می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر به روش مقطعی بر روی آب مصرفی مرغداری‌های شهرستان نورآباد استان فارس و روستاهای مجاور آن به نام‌های دم قنات، کل‌گاه، گازرگاه، عرب خلیفه سفلی، فهلپیان، تل‌کهنه، مال محمود و باجگاه انجام گرفت. شهرستان نورآباد (ممسنی) در شمال استان فارس و در ۵۱ درجه و ۳۱ دقیقه طول جغرافیایی و ۳۰ درجه و ۷ دقیقه عرض جغرافیایی قرار دارد. این شهر در دامنه زاگرس قرار گرفته و دارای آب و هوای نسبتاً معتدلی است. این مطالعه در سه ماهه دوم سال ۱۳۹۹ انجام شد. نمونه برداری از آب ۳۰ مرغداری با سه بار تکرار انجام شد برای این منظور سه نوبت در ماه نمونه برداری به طور تصادفی از هر مرغداری صورت گرفت. نمونه‌های جمع‌آوری شده در ظروف پلاستیکی بلافاصله مورد آزمایش pH قرار گرفتند و برای سایر آزمایشات در دمای معمولی به آزمایشگاه منتقل شدند. مرغداری‌های نمونه‌گیری شده از آب چاه استفاده می‌کردند.

سختی کل، pH، کلر، کلسیم و منیزیم آب با استفاده از دستگاه فتومتر مدل ۷۵۰۰ پالین تست مطابق دستورالعمل دستگاه و انجمن بهداشت عمومی آمریکا (APHA American Public Health Association)، اندازه‌گیری شد (Rice and Baird, 2005). روش اندازه‌گیری دستگاه فتومتر به روش رنگ‌سنجی قرائت مستقیم بود.

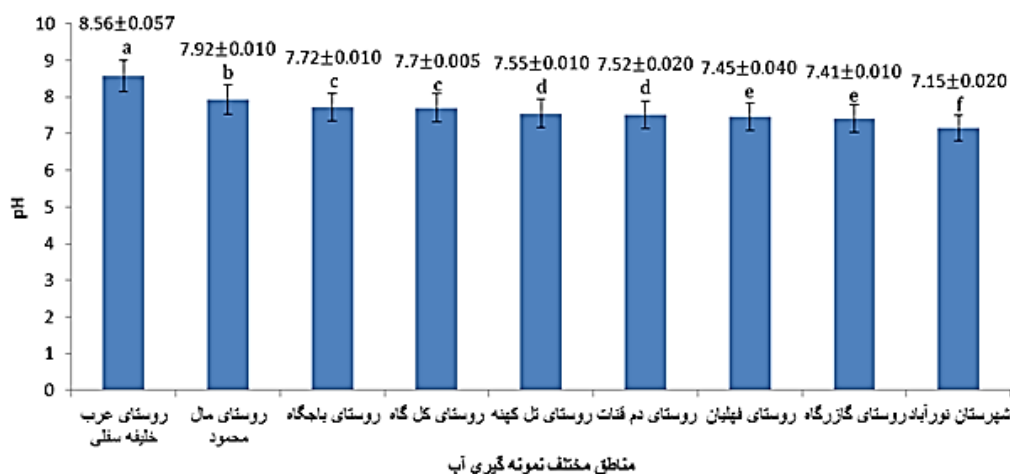


شکل ۱- میزان سختی کل آب در مناطق مختلف شهرستان نورآباد استان فارس.

<sup>a-i</sup> حروف الفبای مختلف نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار است ( $P < 0.05$ ).

**Figure 1-** Water total hardness in different area of Noorabad city of Fars province.

<sup>a-i</sup> The different superscripts between bar indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).



شکل ۲- pH آب در مناطق مختلف شهرستان نورآباد استان فارس.

<sup>a-f</sup> حروف الفبای مختلف نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار است ( $P < 0.05$ ).

**Figure 2-** Water pH in different area of Noorabad city of Fars province.

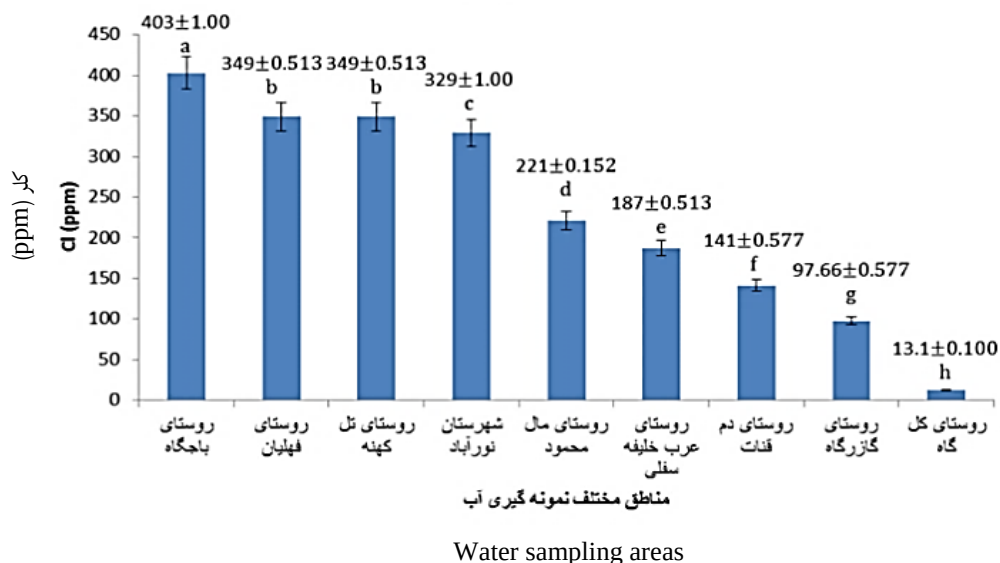
<sup>a-f</sup> The different superscripts between bar indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

میزان کلسیم آب در روستای باجگاه ( $57 \pm 583$  ppm) بود که تقریباً ۱۰ برابر میزان کلسیم موجود در آب روستای دم قنات بود. تفاوت میزان کلسیم موجود در آب مناطق مختلف از نظر آماری معنی دار بود (نمودار ۴).

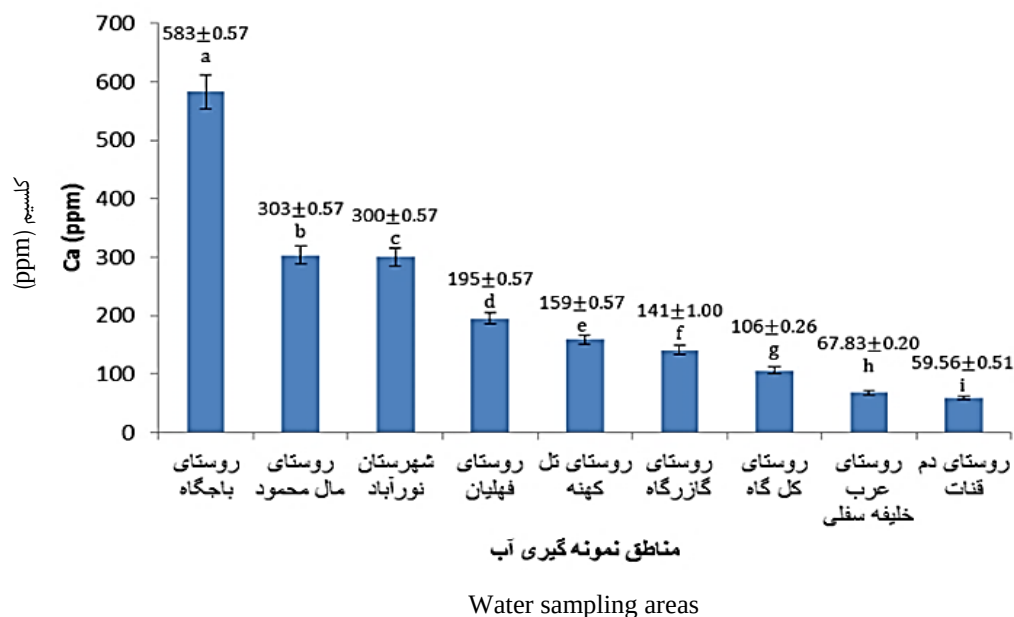
میزان کلسیم آب در روستای باجگاه ( $57 \pm 583$  ppm) بود که تقریباً ۱۰ برابر میزان کلسیم موجود در آب روستای دم قنات بود. تفاوت میزان کلسیم موجود در آب مناطق مختلف از نظر آماری معنی دار بود (نمودار ۴).

کمترین میزان منیزیم آب به ترتیب متعلق به روستاهای دم قنات





**شکل ۳-** میزان کلر آب در مناطق مختلف شهرستان نورآباد استان فارس.  
<sup>a-h</sup> حروف الفبای مختلف نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار است ( $P < 0.05$ ).  
**Figure 3-** Water chlorine in different area of Noorabad city of Fars province.  
<sup>a-h</sup> The different superscripts between bar indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

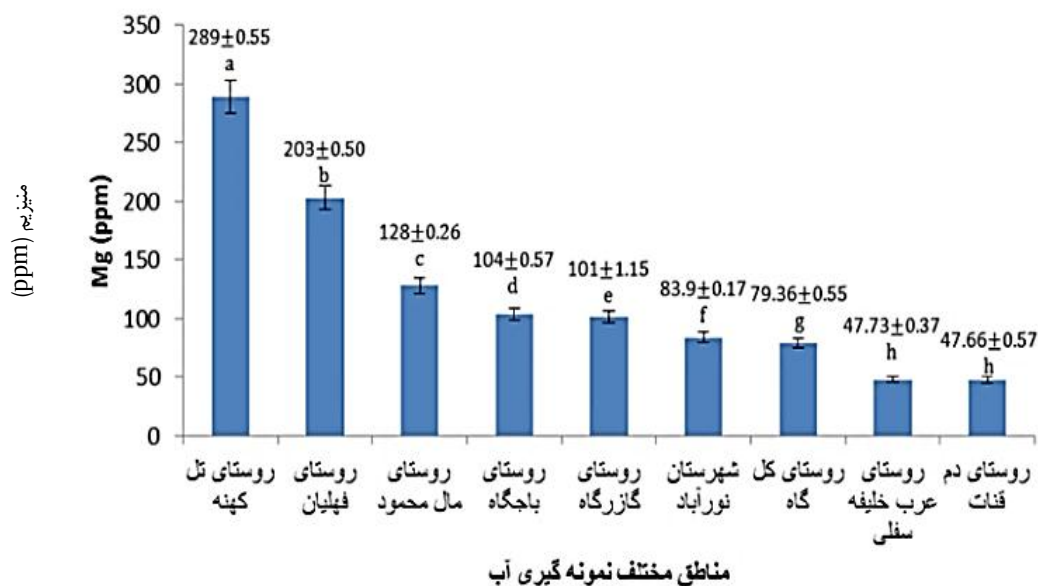


**شکل ۴-** میزان کلسیم آب در مناطق مختلف شهرستان نورآباد استان فارس.  
<sup>a-i</sup> حروف الفبای مختلف نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار است ( $P < 0.05$ ).  
**Figure 4-** Water Calcium in different area of Noorabad city of Fars province.  
<sup>a-i</sup> The different superscripts between bar indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

مناطق از لحاظ میزان مواد جامد قابل حل آب در یک سطح قرار نداشتند و اختلاف آماری معنی داری با یکدیگر داشتند (نمودار ۴).

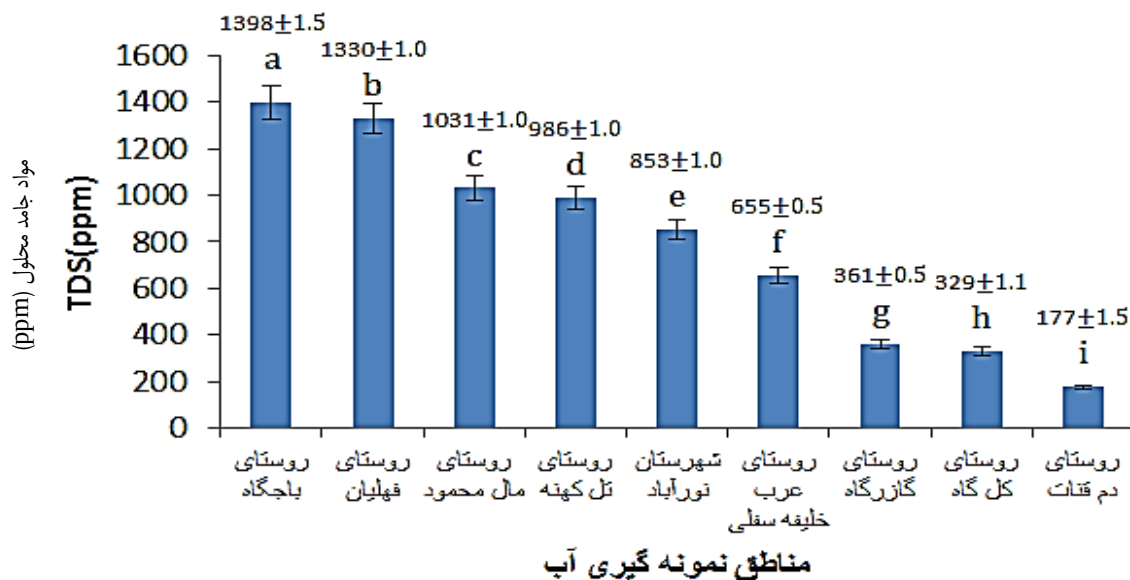
میزان مواد جامد قابل حل آب روستای باجگاه ( $1398 \pm 1/5$  ppm) بیش از سایر مناطق بود. این میزان تقریباً ۸ برابر مواد جامد قابل حل آب روستای دم قنات ( $177 \pm 1/5$  ppm) بود. از نظر آماری هیچ کدام از





شکل ۵- میزان منیزیم آب در مناطق مختلف شهرستان نورآباد استان فارس.  
حروف الفبای مختلف نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار است ( $P < 0.05$ ).<sup>a-h</sup>

**Figure 5-** Water magnesium in different area of Noorabad city of Fars province.  
<sup>a-h</sup> The different superscripts between bar indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

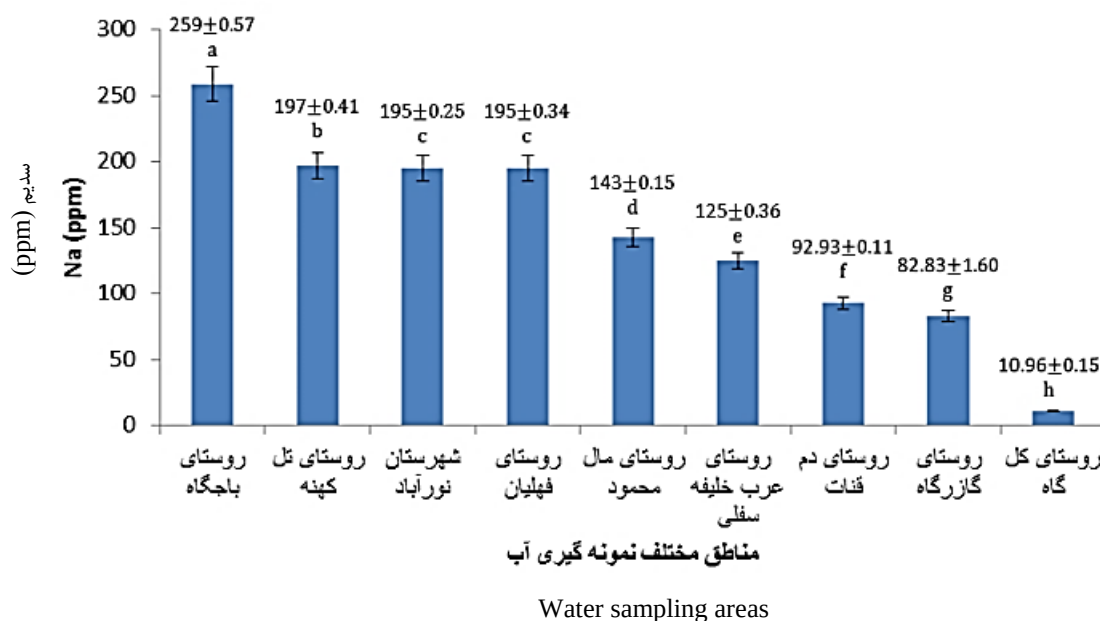


شکل ۶- میزان مواد جامد محلول (TDS) آب در مناطق مختلف شهرستان نورآباد استان فارس.  
حروف الفبای مختلف نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار است ( $P < 0.05$ ).<sup>a-i</sup>

**Figure 6-** Water TDS in different area of Noorabad city of Fars province.  
<sup>a-i</sup> The different superscripts between bar indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

بیشترین میزان سدیم آب متعلق به روستای باجگاه تقریباً ۲۷ برابر  
میزان آن در روستای کل گاه بود (نمودار ۷).  
(۱۰/۹۶±۰/۱۵) بود.

بیشترین میزان سدیم آب متعلق به روستای باجگاه (ppm)  
و کمترین میزان متعلق به روستای کل گاه (ppm)  
(۲۵۹±۰/۵۷)



شکل ۷- میزان سدیم آب در مناطق مختلف شهرستان نورآباد استان فارس.

<sup>a-h</sup> حروف الفبای مختلف نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار است ( $P < 0.05$ ).

**Figure 7-** Water Sodium in different area of Noorabad city of Fars province.

<sup>a-h</sup> The different superscripts between bar indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

مناطق که آب آن‌ها دارای میزان کل مواد جامد محلول بالا می‌باشد، حدوداً بین ۱۰ تا ۲۰٪ زیاده‌تر از سایر مناطق است و مرغداران این مناطق از این مسأله شکایت دارند (Balnave and Gorman, 1993; Pourreza et al., 2000; Kalimuthu and Kand, 1987). میزان کل مواد جامد محلول کمتر از ۱۰۰۰ ppm برای هیچ کدام از انواع ماکیان خطرناک نیست. میزان کل مواد جامد محلول بین ۱۰۰۰-۲۹۹۹ برای همه انواع ماکیان، رضایت بخش است (Coffey, 2015). از نظر میزان کل مواد جامد محلول، آب هر نه منطقه مورد ارزیابی مناسب تشخیص داده شد.

وجود بیش از حد برخی از املاح معدنی در آب مصرفی موجب افزایش مصرف آب و افزایش رطوبت بستر می‌شود که از جمله این عناصر می‌توان سدیم را نام برد. بالا رفتن رطوبت بستر موجب بروز بیماری کوکسیدیوز می‌گردد که می‌توان درصدی از تلفات را به بروز این بیماری مربوط دانست (Balnave and Gorman, 1993; Pourreza et al., 2000; Kalimuthu and Kand, 1987). میزان مطلوب سدیم ۳۲ میلی گرم بر لیتر است که مقادیر بالاتر از ۵۰ میلی گرم بر لیتر آن در صورتی که میزان سولفات یا کلر بالا باشد موجب اثر بر باردهی و کاهش آن می‌گردد. میزان کلسیم باید ۶۰ میلی گرم بر لیتر باشد. چنانچه میزان سدیم بیش از ۵۰ میلی گرم بر لیتر باشد، مقادیر کلسیم در حدود میلی گرم بر لیتر ۱۴ مضر خواهد بود (Coffey, 2015). غلظت زیاد کلسیم در آب می‌تواند مانع جذب سلنیوم شده و

سختی آب که بر حسب کلسیم کربنات بیان می‌گردد، در چهار گروه طبقه‌بندی می‌شود. تا ۶۰ میلی گرم بر لیتر را آب نرم، بین ۶۱-۱۲۰ میلی گرم بر لیتر را آب سخت و بالاتر از ۱۸۰ میلی گرم بر لیتر را آب بسیار سخت می‌نامند. سختی آب مورد مصرف ماکیان باید بین ۶۰ الی ۱۸۰ باشد و سختی بیش از ۱۸۰ بسیار بالا بوده و برای ماکیان نامطلوب است (Coffey, 2015). بنابراین از نظر سختی کل آب روستای دم قنات برای آشامیدن طیور و مرغداران مناسب‌تر از سایر مناطق می‌باشد. مصرف آب حاوی میزان کل مواد جامد محلول بیش از ۱۵۰۰، موجب کاهش وزن و مصرف خوراک جوجه‌ها می‌شود (Barton, 1996; Kalimuthu and Kand, 1987; Nelson and Kirby, 2000; Pourreza et al., 2000). در جوجه‌های گوشتی افزایش مصرف نمک و میزان کل مواد جامد محلول بر رشد و مصرف غذا در جوجه‌ها، اثر منفی دارد که علت آن را می‌توان به اثر میزان کل مواد جامد محلول و سایر املاح موجود در آب بر به هم زدن تعادل اسید و باز بدن مربوط دانست. مصرف آب دارای میزان کل مواد جامد محلول بالا به طور غیرمستقیم بر تلفات ناشی از بیماری نیوکاسل مؤثر است. افزایش میزان کل مواد جامد محلول همچنین اثر منفی بر جذب کلسیم و سطح آن در خون دارد. وجود ضایعات کلیوی، کبدی و رودای ناشی از مصرف آب‌های دارای میزان کل مواد جامد محلول و املاح بالا علت اصلی مرگ و میر می‌باشد. میزان تلفات در مرغداران‌های موجود در

ماکیان می گردد (Coffey, 2015). در هیچ یک از مناطق مورد ارزیابی pH آب از ۶/۳ کمتر نبود.

### نتیجه گیری

از آنجا که کیفیت آب بر عملکرد مرغداری ها و میزان تلفات آن ها مؤثر است، آگاهی از کیفیت آب مورد استفاده در مرغداری ها حائز اهمیت می باشد. با آگاهی از کیفیت آب آشامیدنی مرغداری ها می توان در صورت نامناسب بودن کیفیت آب با انجام اقدامات مقتضی از قبیل کاهش سختی آب و تنظیم یون ها به روش های مختلف کیفیت آب را بهبود بخشیده و به بازدهی و برنامه ریزی مناسب تر برای مرغداری ها کمک نمود. راهکارهای مورد استفاده برای افزایش کیفیت آب مصرفی مرغداری ها شامل استفاده از پاک کننده های اسیدی جهت زدودن رسوبات نیل های آب خوری و همچنین جلوگیری از تشکیل بیوفیلم در لوله های سیستم آبرسانی مؤثر است. اسیدی فایرها برای نگهداری pH آب زیر ۷ و برای افزایش کارایی مواد ضد عفونی کننده به کار می روند. برای کاهش سختی آب مرغداری ها می توان از ارتوفسفاتها استفاده کرد. این مواد به کلسیم و منیزیم می چسبند و از ایجاد رسوب در مجاری آبرسانی ممانعت به عمل می آورند. همچنین می توان از دستگاه های سختی زدایی آب هم استفاده کرد.

منجر به کمبود سلنیوم شود (Li, 2009). در تمام مناطق به غیر از روستای کل گاه سدیم آب بیش از ۵۰ ppm بود. روستاهای دم قنات و عرب خلیفه سفلی از نظر میزان کلسیم آب از وضعیت مناسب تری برخوردار بودند.

حد آستانه منیزیم آب آشامیدنی ماکیان ۱۲۵ میلی گرم بر لیتر است که حد مطلوب آن ۱۴ میلی گرم بر لیتر بوده و مقادیر بالاتر از ۱۲۵ میلی گرم بر لیتر دارای اثر ملین و مسهل است. مقادیر بالاتر ۵۰ میلی گرم بر لیتر منیزیم در صورتی که مقادیر کلر بالا باشد ممکن است موجب اثر بر بازدهی و کاهش آن شود (Coffey, 2015). مقدار قابل قبول منیزیم برای آب شرب مرغ و خروس کمتر از ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر نیز گزارش شده است (Ebadati and Hooshmandzadeh, 2014). در روستاهای مال محمود، فهلان و تل کهنه میزان منیزیم آب بیش از ۱۲۵ میلی گرم بر لیتر بود. بیشترین حد مجاز کلر برای آب آشامیدنی ماکیان ۱۲۵ میلی گرم بر لیتر است و میزان ۱۴ میلی گرم بر لیتر کلر حد مطلوب می باشد (Coffey, 2015). بالا بودن میزان کلر می تواند باعث تداخل و اختلال در عملکرد داروها و واکنش هایی که در آب استفاده می شوند، گردد (Van der Sluis, 2002). از نظر میزان کلر آب مناسب ترین وضعیت مربوط به روستای گازرگاه بود. pH کمتر از ۶ برای ماکیان نامطلوب است و میزان توصیه شده بین ۶/۵-۷/۵ می باشد. مقادیر pH کمتر از ۶/۳ موجب کاهش بازدهی و عملکرد

### References

- Balnavese, D., and I. Gorman. 1993. A role of sodium bicarbonate supplements for growing broilers at high temperatures. *World's Poultry Science Journal*, 49(3):236-41. [10.1017/WPS19930021](https://doi.org/10.1017/WPS19930021).
- Barton, T. L. 1996. Relevance of water quality to broiler and turkey performance. *Poultry science*, 75(7):854-56.
- Coffey, R. 2015. Water quality. In: *Poultry Production Manual*. University of Kentucky Press, Lexington. [10.3382/ps.0750854](https://doi.org/10.3382/ps.0750854).
- Heidari, A., H. Younesi, and Z. Mehraban. 2009. Removal of Ni (II), Cd (II), and Pb (II) from a ternary aqueous solution by amino functionalized mesoporous and nanomesoporous silica. *Chemical Engineering Journal*, 153(3):70-79. [10.1016/j.cej.2009.06.016](https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.06.016).
- Ebadati, N., and M. Hooshmandzadeh. 2014. Water Quality evaluation of Dez River in the Dezful hydrometric station. *Ecohydrology*, 1(2):69-81. (In Persian). [10.22059/ije.2014.53544](https://doi.org/10.22059/ije.2014.53544).
- Irandoost, H., and H. Mohammadzadeh. 2016. Evaluation chemical quality of drinking water for livestock animals in different regions of Isfahan province. *Animal Science Journal (Pajouhesh and Sazandegi)*, 30(115):243-54. (In Persian). [10.22092/asj.2017.113279](https://doi.org/10.22092/asj.2017.113279).
- Kalimuthu, S., and R. Kand. 1987. Water quality and chick growth. *Indian Journal of Poultry Science*, 16(1):15-21.
- Kardavani, P. 1988. Water resources and issues in Iran, saltwater and ways to use them. Ershad, Tehran.
- Li, L. 2009. Clean drinking water is crucial in enhancing animal productivity. In: 17th Annual ASAIM Sea Feed Technology and Nutrition Workshop.
- Mozaffari, S., and J. Oordoukhanian. 2008. Laboratory of principles of water treatment and industrial waste water Payame noor university, Tehran.
- Nelson, T. S., and L. K. Kirby. 1980. Effect of dietary cation-anion content on chick performance. *Poultry Science*, 59(1):1644-49. [10.3382/ps.0601030](https://doi.org/10.3382/ps.0601030).
- Pourreza, J., H. Nasrollahi, A. Samie, M. A. Mohammadalipour, and A. Assadian. 2000. The Effect of total dissolved solid (TDS) on performance of broiler chicks. *Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 3(4):71-82. (In Persian).
- Rice, E. W., and R. B. Baird. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public

Health Association, New York.

14. Rokni, H., S. H. Rahimi, S. M. M. Kiaei, A. H. Chizari, and A. Shiri. 2002. Evalution of quality of water used in broiler breeder farms in Tehran provience. Journal of faculty of veterinary medicine Tehran University, 56(1):37-40. (In Persian).
15. Van der Sluis, W. 2002. Water quality is important but often over stimated. World Poultry, 18(5):26-32.
16. Zimmermann, N. G., and L. Douglass. 1998. Survey of drinking water quality and its effects on broilen growth performance on Delmerva. Poultry Science, 77(1):121-28.



## Evaluation of Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from the Gut of Honeybees *Apis mellifera*

Samira Toutiaee<sup>1</sup>, Naheed Mojgani<sup>2\*</sup>, Naser Harzandi<sup>3</sup>, Mojtaba Moharrami<sup>4</sup>, Ladan Mokhberalsafa<sup>4</sup>

Received: 24-01-2021

Revised: 09-12-2021

Accepted: 13-12-2021

Available Online: 07-06-2022

### How to cite this article:

Toutiaee, S., N. Mojgani, N. Harzandi, M. Moharrami and L. Mokhberalsafa. 2022. Evaluation of Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from the Gut of Honeybees *Apis mellifera*. Iranian Journal of Animal Science Research 14(1):131-146.

DOI:10.22067/ijasr.2021.68076.1004

**Introduction:** European honey bees (*Apis mellifera*) are the most important pollinator insects that play vital role in maintenance of all most all life forms on earth. However, over the last decade major concerns have raised due to decline in the population of these insect species. A variety of factors have been responsible for these concerns of which the most important is honey bee bacterial diseases like Nosemosis (Nosema), American and European foulbrood diseases. While, overuse of antibiotics utilized for the treatment and control of these diseases has resulted in the emergence of antibiotic resistant strains of these pathogens. Probiotics have been considered a suitable substitute of antibiotics in human and animals. In last several years, lactobacillus species isolated from honeybees have been considered of significance in enhancing the life span of honeybees by reducing the incidence of bacterial and viral infections in these tiny insects. Among the isolated microbes in the gut of honeybees, Lactic Acid Bacteria (LAB) are of utmost importance showing direct impacts on the health of their host by modulating the gut microbial flora and are termed as Probiotic bacteria.

The objective of this research was to isolate and identify LAB from different parts of the intestinal tract of honeybees *Apis mellifera* and to characterize their probiotic properties.

**Materials and Methods:** Twenty-four honeybees collected from the hives located in the city of karaj were analyzed for the presence of LAB species. The stomach contents of honeybees were inoculated into MRS broth, incubated at 37°C for 48 hrs. The obtained colonies were purified and identified to species levels phenotypically and geno-typically. Hemolytic activity and sugar fermentation reactions of the isolates were recorded and later subjected 16SrRNA sequencing using a pair of universal primers. The identified isolates were evaluated for their viability in acidic conditions at pH 2.5, 3.0, 4.0 and 6.5 at different time intervals. Bile resistance of the isolates was tested by culturing the isolates in the presence of different concentrations of the said salts (0.5, 0.7 and 1%). Survival of LAB isolates in simulated gastric and intestinal conditions containing different enzymes and bile salts, antibacterial spectrum against a number of gram positive and gram-negative pathogens by agar well diffusion assay, and their *in vitro* colonization ability (aggregation, co-aggregation and hydrophobicity percentages) were evaluated. The results were analyzed statistically.

**Results and Discussion:** Twenty nine gram positive, catalase negative and non-hemolytic colonies were isolated from 24 honeybee samples. Among these, only 7 colonies showed enhanced antibacterial activity and were selected for further studies. Based on phenotypic characteristics, sugar fermentation reactions and 16S rRNA sequencing the isolates were identified as *Lactobacillus acidophilus* (1), *Lacticaseibacillus casei*, *Lactiplantibacillus plantarum* (2), *Lactobacillus apis* (1), *Enterococcus faecium* (1) and *Pediococcus acidilactici* (1). During probiotic characterizations, the identified isolates were shown to retain their viability in acidic

1-PhD student, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

2-Professor, Razi Vaccine and Serum Research Institute-Agricultural Research, Education and Extension Organization, Iran.

3-Assistant Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

4-Assistant Professor, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Iran.

\*Corresponding Author Email: [n.mojgani@rvsri.ac.ir](mailto:n.mojgani@rvsri.ac.ir)

conditions and resisted pH 2.5, 3 and 4 for more than 4 hrs. However, slight decrease in viability at pH 2.5 and 3.0 was observed, compared to pH 4.0 and above. All isolates appeared bile resistant and tolerated all used concentrations of bile salts during 8 hrs of incubation. Survival rate of the isolates in simulated intestinal conditions was significantly ( $p<0.05$ ) greater compared to simulated gastric conditions indicating greater stability of the isolates to alkaline conditions rather than to acidic conditions. *L.acidophilus* and *E.faecium* showed least resistance in gastric conditions and their growth rate was decreased more than 50% under said conditions. In contrast, the growth rate of these two isolates was highest in simulated intestinal conditions as they resisted these conditions for more than 24 hours. The isolates demonstrated antibacterial affect against a number of tested pathogens including *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus mutans*. The auto-aggregation, and cell surface hydrophobicity percentages of *L.casei* appeared highest compared to other tested Lactic Acid bacteria in study ( $p<0.05$ ), while, *L.apis* showed the highest co-aggregation with *S.typhi* strain. *P.acidilactici* possessed the least auto-aggregation (46%), co-aggregation (10%) and hydrophobicity (43%) percentage. Auto-aggregation ability appeared directly related to hydrophobicity percentages and isolates showing high aggregation ability also showed high hydrophobicity %.

**Conclusions:** In conclusion, honeybee gut appeared a reservoir of LAB with probiotic potential. It is suggested that further studies should be conducted in order to determine the health benefits of these LABs in honeybees, with especial emphasis on their ability to prevent honeybee diseases.

**Keywords:** Aggregation and co-aggregation, Antibacterial activity, Colonization, Honeybees, Probiotic.



## مقاله پژوهشی

# ارزیابی خصوصیات پروبیوتیکی باکتری‌های اسید لاکتیک جداشده از دستگاه گوارش زنبور

## های عسل *Apis mellifera*

سمیرا طوطیایی<sup>۱</sup>، ناهید مژگانی<sup>۲\*</sup>، ناصر هرزندی<sup>۳</sup>، مجتبی محرمی<sup>۴</sup>، لادن مخبرالصفاء<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۰۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۹/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۲۲

طوطیایی، س.، ن. مژگانی، ن. هرزندی، م. محرمی، و ل. مخبرالصفاء. ۱۴۰۱. ارزیابی خصوصیات پروبیوتیکی باکتری‌های اسید لاکتیک جداشده از دستگاه گوارش زنبور های عسل *Apis mellifera*. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۴(۱): ۱۴۶-۱۳۱.

## چکیده

میکروارگانسیم‌های موجود در روده حشرات نقش مهمی را در سلامت و بهداشت حشرات دارند. این میکروارگانسیم‌ها بخصوص باکتری‌های اسید لاکتیک و باسیلوس‌ها پس از مصرف در سلامتی میزبان اثرات مفیدی از طریق برقراری تعادل در میکروفلور روده ای ایجاد می‌کنند. در این تحقیق، باکتری‌های اسید لاکتیک از قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش زنبور عسل جداسازی شده و جدایه‌های بدست آمده با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی (رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز و تخمیر قند) و مولکولی 16S rRNA در حد جنس و گونه شناسایی شدند. براساس نتایج بدست آمده، روده زنبور عسل حاوی لاکتوباسیلوس، ایتروکوکوکوس، پدیوکوکوس بود و جدایه‌های شناسایی شده شامل لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس *Lactobacillus acidophilus* (یک جدایه)، لاکتوباسیلوس کازی *Lactobacillus casei* (یک جدایه)، لاکتوباسیلوس پلانتاروم *Lactobacillus plantarum* (دو جدایه)، لاکتوباسیلوس آپیس *Lactobacillus apis* (یک جدایه)، پدیوکوکوس/اسیدی لاکتیس *Pediococcus acidilactici* (یک جدایه) و ایتروکوکوکوس فاسیوم *Enterococcus faecium* (یک جدایه) بودند. تمامی سویه‌های شناسایی شده جهت خصوصیات پروبیوتیکی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که سویه‌های مذکور قادر به تحمل pH اسیدی (۲،۲/۵) و غلظت بالای نمک صفر (۱، ۰/۷ و ۰/۵٪) بوده و دارای اثر ضد میکروبی بر علیه پاتوژن‌های بودند. در مقایسه با شرایط معده، باکتری‌های اسید لاکتیک آزمایش شده درصد زنده مانی بالاتری در شرایط شبیه سازی شده روده‌ای را نشان دادند. لاکتوباسیلوس پلانتاروم ۲ و لاکتوباسیلوس آپیس به طور معنی داری بیشترین مقاومت را به ترتیب به شرایط شبیه سازی شده معده و روده نشان دادند. نتایج حاصل از تجزیه آماری نشان داد لاکتوباسیلوس کازی و لاکتوباسیلوس آپیس بیشترین درصد تجمع و آگریزی را دارا بودند. مطالعه حاضر بیانگر حضور باکتری‌های اسید لاکتیک با خصوصیات پروبیوتیکی در دستگاه گوارش زنبور عسل است. باکتری‌های جداشده را می‌توان جهت استفاده در انسان، دام و همچنین زنبور عسل بعنوان پروبیوتیک پیشنهاد کرد.

**واژه‌های کلیدی:** اثر ضد میکروبی، آگریژیشن و کو آگریژیشن، پروبیوتیک، چسبندگی به سلول‌های اپیتلیال، زنبور عسل

## مقدمه

باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک (LAB) گروهی از باکتری

۱- دانشجوی دکتری، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

۲- استاد موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی-سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۳- استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

۴- استادیار موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایران.

(Email: [n.mojgani@rvsri.ac.ir](mailto:n.mojgani@rvsri.ac.ir))

\*- نویسنده مسئول:



هستند که این امر منجر به بروز بیماری‌های ویروسی، باکتریایی و انگلی شده و سبب اختلال فروپاشی کلنی (CCD Colony Collapse Disorder) می‌شود. مطالعات نشان داده است که استفاده از مکمل‌های پروبیوتیکی در زنبورهای عسل سبب استقرار این باکتری‌ها در دستگاه گوارش زنبور عسل شده و منجر به بهبود شرایط سلامت زنبور بر علیه بیماری‌زها می‌شود، بنابراین جداسازی و شناسایی این عوامل ضروری به نظر می‌رسد (Olofsson et al., 2009; Vasquez et al., 2011). هدف از این پژوهش جداسازی باکتری‌های مفید دستگاه گوارش زنبوران عسل در استان البرز و بررسی شاخص‌های پروبیوتیکی جدایه‌ها می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری نمونه‌های زنبورعسل

برای انجام آزمایشات، نمونه برداری از ۲۴ زنبور کارگر، نر و نوزادان سالم از کندوهای موجود در موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج در فصل بهار انجام گرفت. زنبورهای جمع‌آوری شده در فالکون‌های حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل و پس از شستشو با بافر استریل در ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمایشات در یخچال نگهداری شدند. دستگاه گوارش زنبور عسل با استفاده از پنس آزمایشگاهی استریل از بدن زنبورها بیرون کشیده و در ۱۰ میلی لیتر نرمال سالین مخلوط شده (Audisio et al., 2011).

### جداسازی باکتری‌های اسید لاکتیک از دستگاه گوارش

#### زنبور عسل

نمونه‌های دستگاه گوارش زنبورها به همراه نرمال سالین برای غنی سازی و رشد لاکتوباسیل‌ها به محیط DeMan Rogosa and Sharpe (MRS) (مرک آلمان) منتقل شدند. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری شدند. پس از رشد باکتری‌ها در محیط مایع، رقت‌های مختلف تهیه و ۱ میلی لیتر از مایع به ۹ میلی لیتر بافر نرمال اضافه شد و پس از مخلوط کردن رقت‌های بیشتری از آن تهیه گردید. یک میلی لیتر از رقت‌های تهیه شده روی پلیت‌های MRS آگار روی سطح پلیت ریخته و به آرامی با میله شیشه‌ای استریل در سطح پلیت پخش گردید. به منظور جلوگیری از رشد کپک و مخمر در محیط کشت سیکلوهگزامید به میزان ۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر اضافه شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. جهت نگهداری طولانی مدت، ۵۰۰ µl از کشت تازه جدایه‌ها در محیط مایع به ویال‌های ۲ میلی لیتری منتقل و گلیسرول استریل به میزان غلظت نهایی ۲۰٪ به آن اضافه گردید. این ویال‌ها در ۲۰- درجه

های گرم مثبت میله‌ای شکل بدون اسپوری هستند که اسید لاکتیک را به عنوان محصول عمده نهایی تخمیر کربوهیدرات‌ها تولید می‌کنند (Audisio et al., 2011). این باکتری‌ها معمولاً به صورت هم‌زیست در سیستم گوارش انسان، حشرات و حیوانات، ساکن هستند. گونه‌های خانواده کارنوباکتریوم، اترکوکوس، لاکتوباسیلوس، لاکتوکوکوس، لاکونوستوک، اوئوکوکوس، پدیوکوکوس، استرپتوکوکوس، تترائونوکوکوس، و اگوکوکوس و ویزسلا با غذاها مرتبط هستند. از بین خانواده LAB، لاکتوباسیلوس‌ها به عنوان باکتری‌های مفید و عضو اصلی پروبیوتیک شناخته شده‌اند. نقش این باکتری‌ها در درمان و کنترل بیماری‌های دام و انسان سابقه طولانی دارد و از مدت‌ها قبل از این باکتری‌ها به عنوان پروبیوتیک و افزایش دهنده کمیت و کیفیت محصولات دامی استفاده شده است و عموماً به عنوان غذای با کیفیت امن (GRAS, Generally Recognized as Safe) شناخته می‌شوند (FAO/WHO, 2001).

در سال‌های گذشته مطالعات بسیاری نشان دهنده حضور LAB در دستگاه گوارش زنبور عسل بوده است. زنبورهای عسل دارای میکروبیوتای متنوعی در محصول عسل خود هستند، که حاصل مصرف گرده گل‌ها و شهد و نیز ارتباط آن‌ها با زنبورهای عسل دیگر است (Vásquez et al., 2012). جیره غذایی یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر در جمعیت فلور حشرات است. تفاوت در منبع شهد نیز در جنس باکتریایی و فلور معده زنبور عسل تأثیر دارد. همچنین فعالیت زنبوران عسل در کندو می‌تواند در لاکتوباسیل‌ها و سویه‌های باکتریایی دستگاه گوارش آن‌ها اثر داشته باشد (Tajabadi et al., 2011). در قسمت فوقانی ناحیه معدی-روده‌ای زنبورهای عسل گونه‌های لاکتوباسیلوس که توانایی کلونیزه شدن در سطح موکوسی دوازدهه را دارند، شناسایی و جداسازی شده است که خواص سودمند پروبیوتیکی داشتند. گیلیم (۱۹۹۷) انواع گونه‌های اترکوکوس شامل اترکوکوس فا سیوم و فکالیس را نیز به عنوان پروبیوتیک از زنبور جدا سازی نموده و مورد بررسی قرار داده است (Gilliam and Prest., 1987).

طبق گزارشات گذشته، محققین با استفاده از LAB جدا سازی شده از زنبورعسل توانستند نقش آنها را در کنترل بیماری‌های باکتری‌های بویژه لوک آمریکائی و لوک اروپائی و نوزوموزیس را ارائه دهند (Sabaté et al., 2012; Vasquez et al., 2009). در تحقیقات دیگری در ایران، قیصری و بهجتیان (۱۳۹۴) در زمینه اثرات تغذیه سطوح مختلف اسید استیک، پروبیوتیک، اکسی تتراسیکلین و نئوماکسین بر جمعیت باکتریایی کلی فرم و لاکتوباسیل در شیره زنبور عسل نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک می‌تواند موجب افزایش جمعیت زنبورها شود (Gheisari and Behjatian Esfahani, 2015). زنبورهای عسل امروزه در سرتاسر جهان در معرض استرس‌های گوناگون (آب و هوایی، تغذیه‌ای و یا آفات و بیماری‌ها)



سانتیگراد به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت قرار داده سپس در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد برای طولانی مدت نگهداری شدند.

تخمیر کربوهیدراتها در سطح گونه مورد شناسایی قرار گرفتند (Kandler and Weiss, 1986)

### شناسایی فنوتیپی جدایه‌ها

تشخیص LAB با استفاده از محیط‌های کشت افتراقی و اختصاصی و آزمون‌های بیوشیمیایی انجام شد. کلنی‌های خالص انتخاب شده بر اساس رنگ‌آمیزی گرم و از نظر شکل ظاهری، واکنش گرم و تست کاتالاز بررسی شدند. تمام جدایه‌های گرم مثبت براساس

### شناسایی جدایه‌ها با استفاده از روش مولکولی 16SrRNA

نمونه‌های اسید لاکتیک جدا شده با استفاده از روش مولکولی در حد جنس و گونه شناسایی و تایید گردید. استخراج DNA هر نمونه با استفاده از کیت استخراج DNA (شرکت سیناژن، ایران) انجام شد. لیست و توالی پرایمرهای عمومی، مورد استفاده در انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- پرایمرهای عمومی مورد استفاده جهت شناسایی باکتری‌های اسید لاکتیک

Table 1- Universal primer pair used for identification of LAB isolates

| منبع | طول قطعه | توالی                     | پرایمرها |
|------|----------|---------------------------|----------|
| (۲۱) | bp۱۵۰۰   | 5'-AGAGTTTGTATCTGGCTCAG3' | F۳۷      |
|      |          | 5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3'  | R۱۴۹۲    |

توسط باکتری است.

همولیز بتا: وجود هاله شفاف نشان دهنده واکنش مثبت و این نوع همولیز است که به علت لیز کامل گلبول‌های قرمز ایجاد می‌شود. عامل ایجاد بتا همولیز تولید همولیزین در محیط است. همولیز گاما: اگر میکروارگانیسمی منجر به ایجاد همولیز نشود به عنوان گاما همولیز شناخته می‌شود. آگار در اطراف کلونی این ارگانیسم‌ها بدون تغییر باقی می‌ماند.

### بررسی ویژگی‌های پروبیوتیکی جدایه‌ها

#### بررسی خاصیت ضد میکروبی باکتری‌های جدا شده بر

#### علیه باکتری‌های بیماری‌زا

فعالیت ضد میکروبی جدایه‌ها در برابر اشریشیاکلائی ATCC۱۷۷۵، انتروکوکوس فکالیس IBRC-M-۱۰۷۴۰، کلبسیلا نومونیه PTCC۱۰۵۳، لیستریا مونوسایتوزن RTCC۱۲۹۸، سودوموناس اثرئوژینوزا ATCC۲۵۶۶۸، سالمونلا پارا تیفی IBRC-M۱۰۶۶۸، استافیلوکوکوس اورئوس RTCC۱۱۱۲، استرپتوکوکوس موتانس IBRC-M۱۰۶۸۲، با استفاده از روش چاهک مورد ارزیابی قرار گرفت. مقادیر مورد استفاده در این آزمون برای جدایه‌ها و پاتوژن‌ها نیم مک فارلند تعیین گردید (Felis et al., 2007).

### بررسی مقاومت به اسید

به منظور بررسی مقاومت LAB به اسید، از محیط مایع MRS استریل، که به کمک اسیدکلریدریک ۱۰نرمال و سود (NaOH) ۱۰ نرمال، pH آن به ترتیب به ۲، ۳، ۴ و ۶/۵ رسانده شده بود،

برنامه PCR شامل دمای دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سلسیوس و مدت زمان ۵ دقیقه بود. سپس سی سیکل شامل ۱ دقیقه در دمای ۹۴ درجه، ۱ دقیقه در دمای ۵۰ درجه و ۱ دقیقه و ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس انجام شد. پس از این مراحل نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به منظور تکمیل سنتز DNA نگه داشته شدند. محصول PCR بر روی ژل آگارز ۰/۸٪ درصد الکتروفورز و مشاهده ی باند ۱۵۰۰ جفت بازی به معنی تعلق باکتری به جنس لاکتوباسیلوس بود. پس از تخلیص باندهای بدست آمده جهت سکانس به شرکت انگلیسی Biosunce فرستاده شدند. تمامی توالی بدست آمده با برنامه Blast: blast.ncbi.nlm.nih. gov در حد جنس تایید و ثبت شدند.

### فعالیت همولیتیک

در این بررسی، لیز گلبول‌های قرمز خون گوسفندی با کشت میکروارگانیسم بر روی محیط کشت آگاردار حاوی خون گوسفند انجام شد. جدایه‌ها بر روی محیط کشت آگار خون‌دار (محیط پایه حاوی ۷٪ خون گوسفندی دیفبرینه) به روش خطی کشت داده و سپس به صورت وارونه در دما و شرایط مناسب گرمخانه‌گذاری شدند. پس از پایان مدت گرمخانه‌گذاری، پلیت‌ها از نظر وجود هاله شفاف در اطراف کلنی بررسی شدند.

### انواع همولیز در محیط کشت

همولیز آلفا: وجود هاله تاریک متمایل به سبز در زیر کلونی در آگار نشان دهنده همولیز آلفا است که شامل همولیز ناقص و یا جزئی می‌باشد. عامل اصلی ایجاد همولیز آلفا تولید پراکسیداز در محیط

### آزمون تجمعی و کمک تجمعی

آزمون تجمعی (اگرگیشن) براساس روش ذکر شده توسط کاس و همکارانش (۲۰۰۳) انجام شد. میزان درصد اگرگیشن با استفاده از فرمول  $100 \times (A_1/A_0) - 1$  که  $A_1$  جذب به دست آمده از زمان های ۱ الی ۵ ساعت است و  $A_0$  جذب به دست آمده در زمان صفر است. همچنین اتصال باکتری ها به هم با استفاده از رنگ آمیزی گرم و به وسیله میکروسکوپ نوری بررسی شد (Kos et al., 2003).

آزمون کمک تجمعی (کوآگرگیشن) نمونه های ذکر شده، با پاتوژن سالمونلا طبق روش دل ری (۲۰۰۰) مورد بررسی قرار گرفت. رسوب باکتری های کشت شده از شب قبل با استفاده از سانتریفیوژ در ۵۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه به دست آمد. پس از دوبار شستشوی رسوب در PBS رقت  $10^8$  CFU mL<sup>-1</sup> از باکتری ها ایجاد شد. پس از ترکیب حجم های مساوی از باکتری پروبیوتیک و پاتوژن (۲ میلی لیتر از هر باکتری) و ورتکس به مدت ۱۵ ثانیه در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده و همانند روش خواندن جذب در تجمعی، جذب نمونه ها در ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. کنترل حاوی ۴ میلی لیتر از هر یک از باکتری ها به تنهایی است و در نهایت درصد کمک تجمعی با استفاده از معادله (Axelsson and Ahmne, 2000) محاسبه شد.

$$100 \times (A_X + A_Y/2) - A(X+Y)A_X + A_Y/2$$

که در آن x و y نشان دهنده جذب هریک از دو نمونه در تیوب های کنترل است و (x+y) جذب ترکیب دو باکتری با هم است. همچنین اتصال دو باکتری پروبیوتیک و پاتوژن به یکدیگر از طریق رنگ آمیزی گرم نیز بررسی شد.

### اندازه گیری میزان آگریزی

هیدروفوبیستی یا آگریزی باکتری های مورد نظر با استفاده از xylene به اندکی تغییرات انجام شد (TR, 2018). رسوب باکتری ها با استفاده از سانتریفیوژ در دور ۵۰۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه از کشت شبانه بدست آمد. سپس رسوب بدست آمده به وسیله ی بافر فسفات پتاسیم با pH ۶/۵ شستشو و پس از انحلال مجدد در ۵ میلی لیتر از همین بافر، جذب آن در A<sub>620</sub> اندازه گیری شد. پس از اضافه کردن ۱ میلی لیتر xylene به محلول، به مدت ۲ دقیقه وورتکس شد تا فازها از هم جدا شوند. سپس فاز آبی رویی را جدا کرده و جذب آن در A<sub>620</sub> اندازه گیری شد. در نهایت درصد آگریزی با استفاده از معادله (Beumer et al., 1992) محاسبه شد.

درصد آگریزی  $100 \times (\text{جذب نوری قبل از مخلوط کردن} - \text{جذب نوری پس از مخلوط کردن}) / \text{جذب نوری قبل از مخلوط کردن}$

### تحلیل آماری:

تحلیل آماری با کمک نرم افزار SPSS 20 انجام شد و همچنین جهت ترسیم نمودارها از اکسل استفاده شد. تمامی تست ها با دو بار

استفاده گردید. رشد باکتری در زمان های صفر، ۱، ۲، ۳ و ۴ ساعت، در طول موج ۶۲۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر بررسی شد (Ripamonti et al., 2011).

### بررسی مقاومت به نمک صفرا

اساس روش بررسی مقاومت و میزان کاهش رشد میکروارگانیسم در حضور نمک های صفراوی است. این ارزیابی جدایه های مورد نظر با کمی تغییر در روش واکر و گیلیند (۱۹۹۳) انجام گرفت. میزان رشد براساس جذب نوری در زمان های صفر، ۲، ۴ و ۸ ساعت در طول موج ۶۵۰ نانومتر در غلظت های ۰/۵، ۰/۷ و ۱٪ نمک صفرا (سیگما، UK) گزارش شد (Ripamonti et al., 2011).

### مقاومت نسبت به شرایط معده ای

ارزیابی مقاومت لاکتوباسیل های جدا شده نسبت به شرایط معده ای طبق روش بومر و همکاران (۱۹۹۲)، با اندکی تغییر انجام گرفت (۳). محیط شبیه سازی شده شیر معده با pH ۳، با اضافه نمودن پپسین (۳ mg/L)، لیزوزیم (۰/۱ mg/L)، صفرا (۰/۵ mg/L) و ۰/۵٪ کلرید سدیم آماده شد. به میزان ۱٪ V/V از سوسپانسیون باکتریایی جدایه ها با رقت نیم مک فارلند به محیط شیر معده افزوده شد و در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. زنده مانی باکتری های جدا شده بعد از ۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه به روش پورپلیت بررسی شد و تعداد باکتری های زنده براساس cfu/mL گزارش شدند. زنده مانی باکتری ها طبق معادله (Audisio et al., 2011) محاسبه شدند.

$R = \text{Average of cells at 10 min interval} / \text{Average of cells at 0 min}$

مطابق فرمول، R برابر و یا بیشتر از یک نشان دهنده تحمل باکتری به شرایط معده و رشد آن می باشد، درحالی که اگر این مقدار ۰/۵ باشد، به معنای از بین رفتن ۵۰٪ باکتری ها می باشد.

### زنده مانی در شرایط روده ای

ارزیابی زنده مانی لاکتوباسیل های جدا شده در محتوای روده فوقانی، طبق روش توصیف شده در مقاله چارتریس و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد (Charteris et al., 1998). محیط شبیه سازی شده روده فوقانی با اضافه نمودن ۱ g/L نمک صفرا در محلول بافر فسفات یک مولار با pH ۸ شامل آنزیم پانکراتیک با غلظت نهایی ۱ g/L آماده شد. سوسپانسیون باکتریایی جدایه های مورد مطالعه با غلظت ۱٪ V/V به محیط شبیه سازی شده روده فوقانی افزوده شد و در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. در صد زنده مانی باکتری های مورد آزمایش در ۰، ۴، ۸، ۱۲ و ۲۴ ساعت با استفاده از فرمول ذکر شده در بالا، اندازه گیری شد.

همکاران (۲۰۱۳) در تحقیقی نشان دادند که عمده باکتری جدا سازی شده از زنبور عسل کوچک از گروه باکتری‌های گرم مثبت هستند. همسو با نتایج تاج آبادی و همکاران ما نیز باکتری‌های گرم مثبت زیادی را از روده زنبور عسل *Apis mellifera* جداسازی کردیم. طبق نتایج از ۲۴ نمونه زنبور عسل (دستگاه گوارش) ۱۳۶ نوع کلنی در پلیت‌های حاوی MRS آگار دیده شد، پس از تهیه لام و رنگ آمیزی گرم، از ۱۳۶ کلنی، ۸۷ جدایه باسیل‌های گرم مثبت مشاهده شدند که به صورت تکی، دوتایی، زنجیره‌های کوتاه و یا مجتمع قرار گرفته بودند. البته از بین ۸۷ کلنی گرم مثبت تنها ۲۹ جدایه کاتالاز منفی و همولیز منفی بودند و جهت مطالعات بعدی انتخاب شدند.

### نتایج فعالیت همولیتیک جدایه‌ها

یکی از خصوصیات مورد نیاز برای پروبیوتیک بودن جدایه‌ها، ایمن بودن آن‌ها برای مصرف انسانی می‌باشد که مهمترین شاخص ایمنی این جدایه‌ها نشان دادن خصوصیات همولیتیک و یا همولیز بتا آن‌ها می‌باشد. در این تحقیق نیز جدایه‌های فاقد عملکرد همولیز بتا جهت مطالعات بعدی انتخاب شدند (شکل ۲).



تکرار انجام شد و تفاوت معنی دار با کمک نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین به روش چند دامنه‌ای آزمون دانکن در سطح  $P < 0.05$  مشخص گردید.

### نتایج و بحث

در یک دهه اخیر نقش پروبیوتیک‌ها در زنبور عسل خیلی پررنگ شده است و مطالعات نشان داده که استقرار LAB در دستگاه گوارش زنبور عسل منجر به بهبود شرایط گوارش و غلبه بر جمعیت میکروب‌های بیماریزا در این حشره می‌باشد. در این پژوهش ما جدایه‌های LAB را از دستگاه گوارش زنبور عسل جدا سازی و شنا سایی کردیم.

### جداسازی و شناسایی باکتری‌ها

گزارشات زیادی نشان داده که روده زنبورهای عسل حاوی ۱٪ مخمر، ۲۷٪ باکتری‌های گرم مثبت شامل گونه‌های لاکتوباسیلوس، استرپتوکوکوس، باسیلوس، کلاستریدیوم، و ۷۰٪ باکتری‌های گرم منفی یا گرم متغیر مانند ایشیریشیاکلی، سیتروباکتر، انتروباکتر کلبسیلا، سودوموناس، فلاوباکتریوم و پروتیوس می‌باشد. همچنین تاج آبادی و



شکل ۲- بررسی فعالیت همولیز؛ نشان‌دهنده عدم همولیز در جدایه‌های منتخب (B)؛ نمونه کنترل دارای فعالیت همولیز (A)

Figure 2 – Hemolytic activity; A) controll samples showing beta hemolysis B) isolates showing no hemolysis

همچنین لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس بر علیه استافیلوکوکوس/اورئوس اثری نداشت.

برخلاف نتایج ما، در تحقیقی انتروکوکوس فاسیوم جدا شده از زنبور دارای خاصیت ضد میکروبی بر علیه استافیلوکوکوس/اورئوس و شرشیاکلی نبود، اما لاکتوباسیلوس کازئی دارای اثر ضد میکروبی بر علیه سالمونلا تیفی موریوم بود (Audisio et al., 2011). در تحقیقی دیگر نیز لاکتوباسیلوس پلانناروم جدا شده از زنبور دارای اثر ضد میکروبی خوبی بر علیه شرشیاکلی، سالمونلا/پیدرمیدیس و کلاستریدیوم بوتولینوم بود (El-Sohaimy et al., 2020).

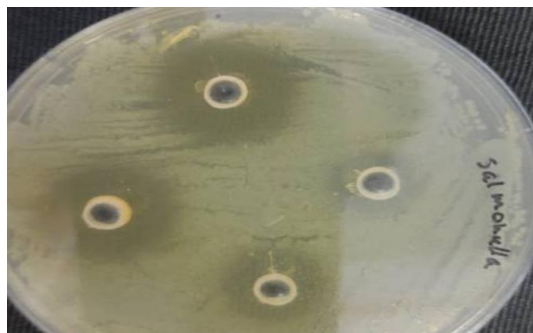
خاصیت ضد میکروبی LAB مربوط به انواعی از متابولیت‌ها از جمله باکتریوسین، دی استیل، اسیدهای آلی مانند اسید لاکتیک و پراکسید هیدروژن می‌باشد (O'Bryan et al., 2014). با توجه به خاصیت ضد میکروبی این باکتری‌ها، می‌توان از آن‌ها به عنوان

### نتایج فعالیت ضد میکروبی جدایه‌ها

در این تحقیق جدایه‌های منتخب از نظر فعالیت آنتاگونیستی در برابر تعدادی از پاتوژن‌های گرم منفی و مثبت با استفاده از روش حفره ای مورد ارزیابی قرار گرفتند (شکل ۳). نتایج فعالیت ضد میکروبی LAB جدا شده از دستگاه گوارش زنبور عسل در جدول ۲ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود همه جدایه‌ها مورد بررسی دارای فعالیت ضد میکروبی متفاوتی در برابر پاتوژن‌های گرم مثبت و گرم منفی بودند. تفاوت معنی دار در اثر ضد میکروبی بین جدایه‌های مختلف مشاهده نشد، تمامی جدایه‌ها بر علیه شرشیاکلی، انتروکوکوس فاسیوم، لیستریا مونوسیتوژنز و استرپتوکوکوس میوتانس فعالیت ضد میکروبی نشان دادند، و تنها لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس آپیس قادر به مهار سالمونلا تیفی موریوم نبودند.

و مواد شیمیایی گرچه منجر به کنترل نسبی بیماری‌ها شده است، اما مشکلاتی در مصرف فراورده های زنبورعسل ایجاد نموده‌اند. بنابراین احتمالا بتوان از باکتری های اسیدلاکتیک جداسازی شده از زنبورعسل در کنترل بیماری‌ها استفاده نمود.

نگهدارنده‌های طبیعی در مواد غذایی نیز استفاده نمود. در سالیان اخیر که بیماریهای زنبورعسل به عنوان یکی از عوامل تهدید کننده صنعت زنبورداری کشورها مطرح است و هر ساله تعداد بسیار زیادی از کلنی‌های زنبورعسل در اثر بیماری‌ها از بین می‌روند، استفاده از داروها



شکل ۳- آزمون فعالیت ضد میکروبی جدایه‌ها علیه پاتوژن‌ها با روش حفره‌ای

Figure 3 – Antibacterial activity demonstrated by the isolates against pathogens in agar well diffusion assay

جدول ۲- نتایج خواص ضد میکروبی جدایه‌های اسید لاکتیک بر علیه باکتری های بیماریزا (میلی متر)

Table 2- Antibacterial activity of lactic acid bacteria against pathogenic bacteria (mm)

| باکتری شاخص<br>Indicator Strains                            | لاکتوباسیلوس<br>اسیدوفیلوس<br><i>L. acidophilus</i> | لاکتوباسیلوس<br>کازئی<br><i>L. casei</i> | لاکتوباسیلوس<br>پلانتاروم ۱<br><i>L. plantarum</i><br><i>m1</i> | لاکتوباسیلوس<br>پلانتاروم ۲<br><i>L. plantarum</i><br><i>m2</i> | لاکتوباسیلوس<br>آپیس<br><i>L. apis</i> | پدیوکوکوس<br>اسیدی لاکتیسی<br><i>Ped.</i><br><i>acidilactici</i> | انتروکوک<br>وس فاسیوم<br><i>E.</i><br><i>faecium</i> |
|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| اشرشیاکلی<br><i>E. coli</i><br>ATCC11775                    | 27±10 <sup>a</sup>                                  | 21±10 <sup>a</sup>                       | 32±12 <sup>a</sup>                                              | 15±6 <sup>a</sup>                                               | 26±12 <sup>a</sup>                     | 15±10 <sup>a</sup>                                               | 31±10 <sup>a</sup>                                   |
| انتروباکتر فاسیوم<br><i>E. faecalis</i><br>IBRC-M10740      | 28±11 <sup>a</sup>                                  | 18±6 <sup>a</sup>                        | 16±8 <sup>a</sup>                                               | 12±7 <sup>a</sup>                                               | 15±9 <sup>a</sup>                      | 14±7 <sup>a</sup>                                                | 21±9 <sup>a</sup>                                    |
| لیستریا مونوسیتوژنز<br><i>L. monocytogenes</i><br>RTCC1298  | 24±12 <sup>a</sup>                                  | 28±5 <sup>a</sup>                        | 26±12 <sup>a</sup>                                              | 18±10 <sup>a</sup>                                              | 19±8 <sup>a</sup>                      | 15±7 <sup>a</sup>                                                | 28±12 <sup>a</sup>                                   |
| سودوموناس اتروژینوزا<br><i>Ps. aeruginosa</i><br>ATCC 25668 | 14±9 <sup>a</sup>                                   | 14±4 <sup>a</sup>                        | 19±9 <sup>a</sup>                                               | 17±7 <sup>a</sup>                                               | 16±7 <sup>a</sup>                      | 15±9 <sup>a</sup>                                                | .                                                    |
| سالمونلا پارا تیفی<br><i>S. typhimurium</i><br>RTCC 1679    | 28±8 <sup>a</sup>                                   | .                                        | 12±5 <sup>a</sup>                                               | 14±6 <sup>a</sup>                                               | .                                      | 29±11 <sup>a</sup>                                               | 27±12 <sup>a</sup>                                   |
| استافیلوکوکوس اورئوس<br><i>Staph. aureus</i><br>RTCC 1112   | .                                                   | 24±6 <sup>a</sup>                        | 26±7 <sup>a</sup>                                               | 24±7 <sup>a</sup>                                               | 20±5 <sup>a</sup>                      | 18.3±9 <sup>a</sup>                                              | 22±10 <sup>a</sup>                                   |
| استرپتوکوکوس موتانس<br><i>Strep. mutans</i><br>IBRC-M10682  | 28±6 <sup>a</sup>                                   | 28±10 <sup>a</sup>                       | 25±10 <sup>a</sup>                                              | 12±5 <sup>a</sup>                                               | 15±6 <sup>a</sup>                      | 28±11 <sup>a</sup>                                               | 18±10 <sup>a</sup>                                   |
| کلبسیلا نومونیه<br><i>K. pneumoniae</i><br>PTCC 1053        | 12±7 <sup>a</sup>                                   | 16±3 <sup>a</sup>                        | 18±6 <sup>a</sup>                                               | .                                                               | 19±8 <sup>a</sup>                      | 19±6 <sup>a</sup>                                                | 16±5 <sup>a</sup>                                    |

<sup>a,b</sup> حروف کوچک در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین انواع جدایه‌ها می‌باشد ( $P < 0.05$ )

Small alphabetical letters in the column shows significant differences between isolates ( $p \leq 0.05$ )

## شناسایی مولکولی باکتری های اسید لاکتیک

از بین ۲۹ جدایه تنها ۷ جدایه خاصیت ضد میکروبی بالاتری نسبت به دیگر جدایه نشان دادند و با استفاده از ژن rRNA 16S شناسایی شدند. استفاده از روش های مولکولی در حد جنس و گونه شناسایی شدند. تمامی جدایه های یک باند ۱۵۰۰ باز در ژل آگارز نشان دادند (شکل ۴) که پس از سکانسینگ بعنوان *لاکتوباسیلوس* / *اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس* / *کاززی*، *لاکتوباسیلوس* / *پلاتناروم* (۲سویه)، *لاکتوباسیلوس* / *آپیس*، *پدیوکوکوس* / *اسیدی لاکتیسی* و *انتروکوکوس* / *فاسیوم* شناسایی و ثبت شدند.

باکتری های اسید لاکتیک شناسایی شده به عنوان باکتری های پروبیوتیک انسانی و حیوانی نیز حائز اهمیت می باشند. LAB به عنوان مهمترین ساکنین روده انسان و پستانداران دیگر و حیوانات مهره دار گزارش شده است. همچنین تحقیقات انجام شده در ارتباط با فلور میکروبی زنبور عسل *Apis mellifera* نشان داده که به طور عمده فلور میکروبی این حشره از مخمر، باکتری های گرم مثبت مانند *لاکتوباسیلوس*، *باسیلوس* و گرم منفی مانند *انتروباکتر*، *شرشیاکی* و *سودوموناس* تشکیل شده است (Gilliam and Prest, 1987).

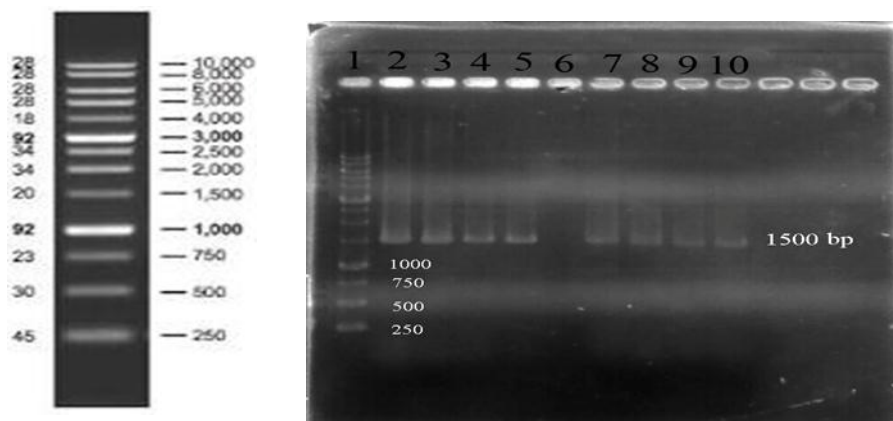
*لاکتوباسیلوس* و *انتروکوکوس* در این گروه قرار دارند که البته در فرآیند تخمیر و مواد غذایی نیز وجود دارند. این گروه از باکتری ها نه تنها برای مواد غذایی بلکه از جنبه سلامتی بخش بودن نیز دارای اهمیت می باشند (Naidu et al., 1999). همسو با نتایج ما، در مطالعات انجام شده در ایران (Nikooei et al., 1999)، از دستگاه گوارش زنبور عسل در ایران پنج سویه مختلف باکتری های *لاکتوباسیلوس* جداسازی شده شامل *لاکتوباسیلوس* / *کونکی*، *لاکتوباسیلوس* / *پلاتناروم* و *لاکتوباسیلوس* / *آپیس* بود. در تحقیقی مشابه نیز *لاکتوباسیلوس* / *ژوهانسی* و *انتروکوکوس* / *فاسیوم*، *انتروکوکوس*

*فکالیس* و *لاکتوباسیلوس* / *برویس* و *لاکتوباسیلوس* / *کاززی* از دستگاه روده زنبور جدا شد (Audisio et al., 2011; Elzeini et al., 2020).

## نتایج مقاومت به اسید

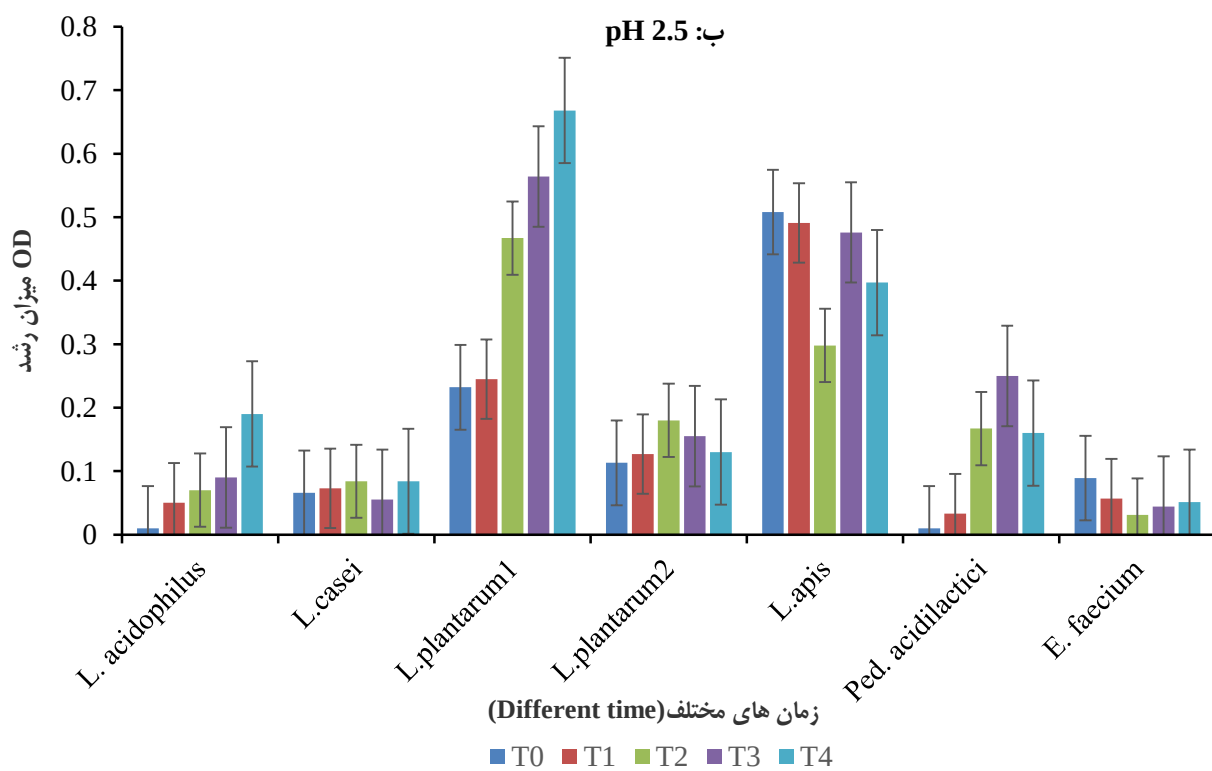
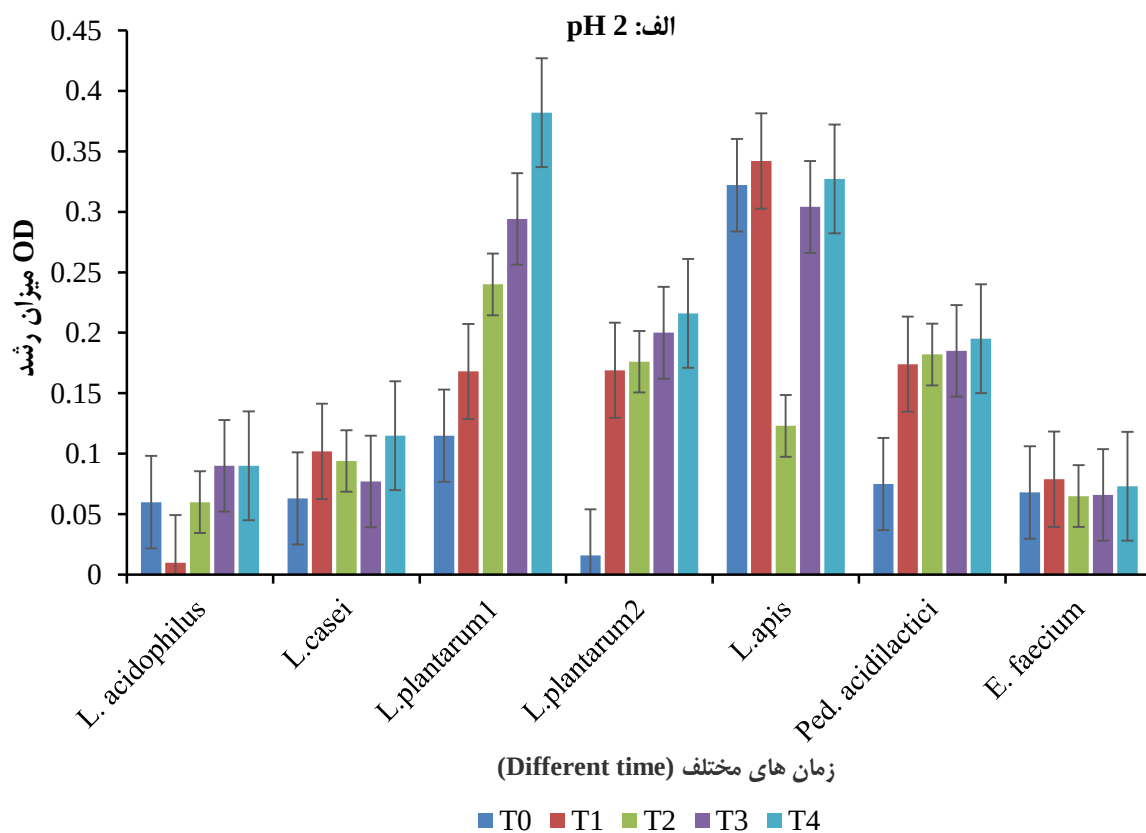
یکی از مهم ترین فاکتورهای انتخاب پروبیوتیک ها مقاومت به حامل های شیمیایی مثل اسیدها و نمک ها صفاوی موجود در دستگاه گوارش می باشد (Gibson et al., 2004). نشان داده شده است که باکتری های پروبیوتیکی به وسیله غذا و یا مولکول های موجود در دستگاه گوارش خاصیت بافری پیدا کرده و در شرایط فوق اسیدی قرار نمی گیرند (Sjovall, 1959; Gilliam and Prest, 1987). از آنجاکه میزان اسیدیته معده در صبح ناشتا حدود ۱ است و البته پس از هضم غذا به ۴/۵ می رسد، بنابراین یک پروبیوتیک مناسب باید تقریباً pH ۳ را تحمل کند (Liong and Shah, 2005). توانایی زنده ماندن و رشد باکتری ها در pH های مختلف در شکل ۵ نشان داده شده است.

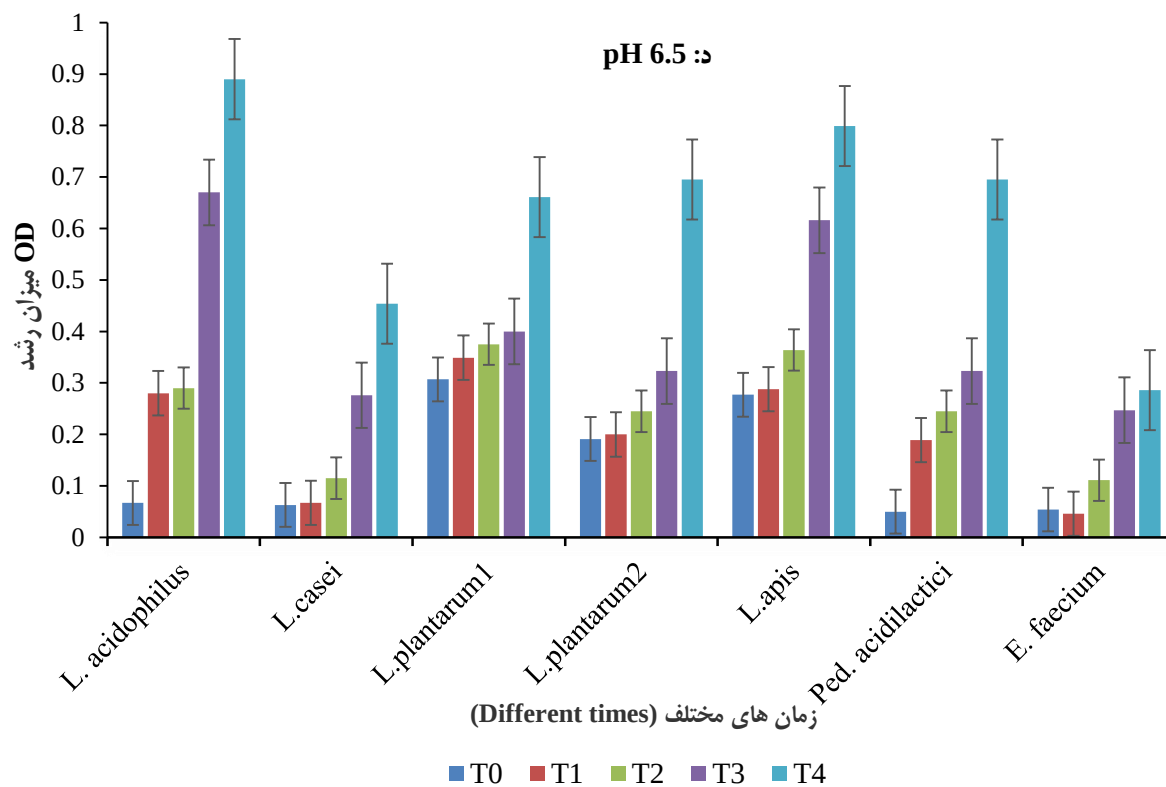
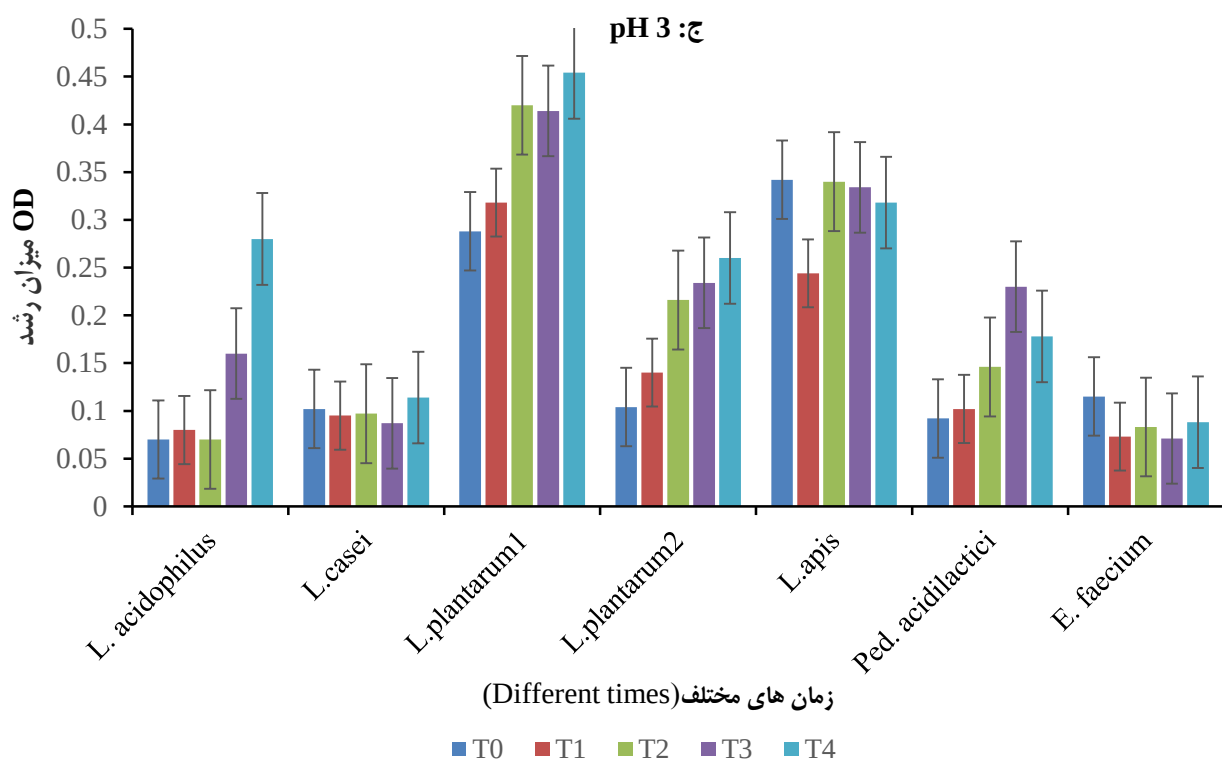
نتایج بدست آمده نشان می دهد که تمامی باکتری ها قادر به تحمل pH ۲ بودند و میزان زنده ماندن *لاکتوباسیلوس* / *پلاتناروم* و *لاکتوباسیلوس* / *آپیس* نسبت به سایر سویه ها در تمامی زمان ها و pH ها بیشتر بود. همچنین در pH ۴ و ۶/۵ نه تنها باکتری ها قادر به زنده ماندن بودند، بلکه رشد خوبی هم در این شرایط داشتند. در تحقیق مشابه نیز نشان داده شده که انواع باکتری های اسید لاکتیکی جدا شده از گرده نان زنبور قادر به تحمل pH ۳ پس از سه ساعت بودند و میزان زنده ماندن در حدود ۹۱/۷۱ الی ۹۹/۹۴٪ بود (Mohammad et al., 2020). در واقع زمانی که LAB در شرایط اسیدی قرار می گیرد، عمل هموستاز pH را با پمپ کردن  $H^+$  به بیرون از سلول از طریق عمل  $H^+/-ATPase$  فعال می کند (Matsumoto et al., 2004). این مورد ممکن است به عنوان عامل مقاومت اسیدی جدایه های LAB باشد.



شکل ۴- الگوی PCR با پرایمر 27F/1492R و بدست آوردن باند ۱۵۰۰

Figure 4 - PCR pattern using Universal primers 27F/1492R and observing a DNA band of 1500 bp





شکل ۵- مقاومت جدایه های منتخب به اسید در زمان های مختلف

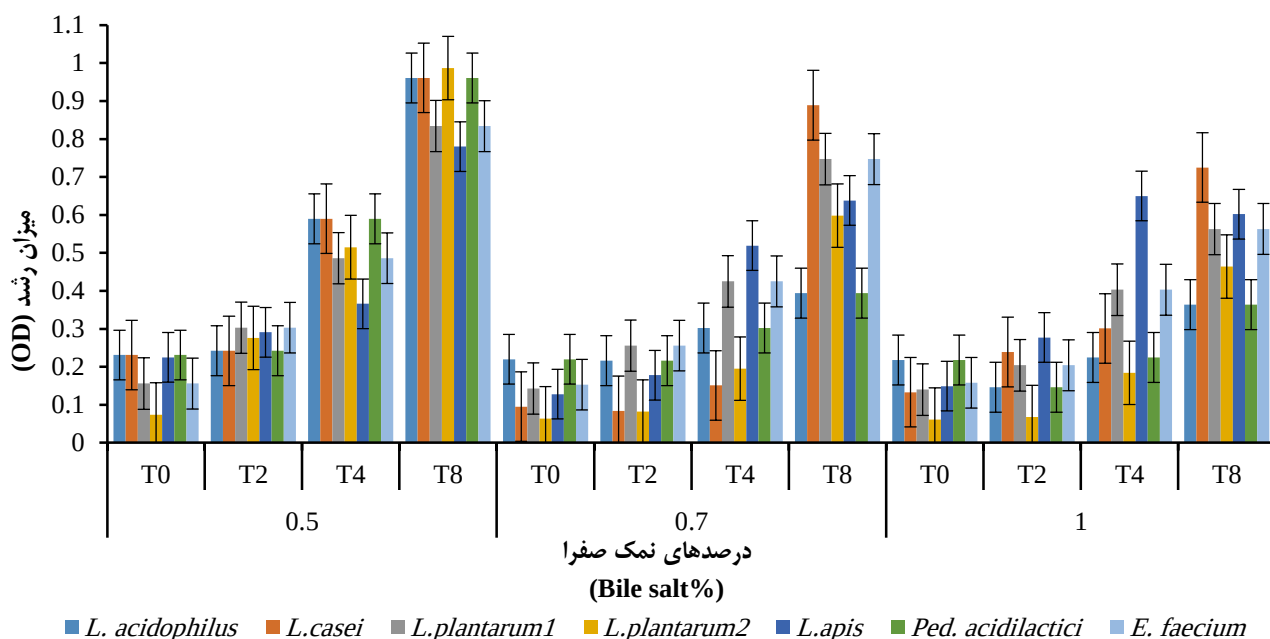
Figure 5- Resistance of isolates to different pH at different time intervals



### نتایج مقاومت به نمک‌های صفراوی

تحمل نمک صفراوی توسط LAB، عامل مهم و تعیین کننده دیگری در رابطه با انتخاب یک میکروارگانیسم مناسب به عنوان پروبیوتیک می‌باشد (Gibson et al., 2004). پروبیوتیک پس از عبور از معده، وارد روده شده و با نمک صفرا مواجه می‌شوند. مقاومت به صفرا در LAB ممکن است از طریق جریان نمک صفرا به خارج، هیدرولیز نمک صفرا یا تغییر غشای سلولی و دیواره سلولی صورت گیرد (Ruiz et al., 2013). این مکانیسم دارای اثر مثبت بر کاهش کلسترول سرم و اثر منفی بر افزایش سطح نمک‌های صفراوی دکنز و گه نیز می‌باشد (Corzo and Gilliland, 1999). کیسه صفرا نقش اساسی در مکانیسم دفاعی اختصاصی و غیر اختصاصی روده داراست و شدت اثر بازدارندگی آن به وسیله غلظت نمک‌های صفراوی تعیین می‌شود. در دستگاه گوارشی انسان میانگین غلظت نمک‌های

صفراوی ۰/۳٪ وزنی/حجمی است (Pennacchia et al., 2004) و این غلظت برای تعیین سویه‌های مقاوم به صفرا کافی تلقی می‌شود، با این وجود در این پژوهش از غلظت‌های بالاتر نیز بهره برده شده است. نتایج نشان داد که تمامی باکتری‌ها قادر به تحمل نمک صفرا تا ۱٪ بودند (شکل ۶)، و البته میزان رشد، با افزایش غلظت نمک صفرا، کاهش یافت. همچنین جدایه‌ها نه تنها قادر به تحمل نمک صفرا بودند، بلکه رشد نیز داشتند و از میان جدایه‌ها لاکتوباسیلوس کازئی بیشترین میزان تحمل را داشت. در تحقیق مشابه نیز لاکتوباسیلوس پلاتناروم جدا شده از معده زنبور قادر به تحمل نمک صفرا تا ۱ درصد بود (TR, 2018). بنابر این نتایج، سویه‌های جدا شده همگی دارای مقاومت بالایی نسبت به نمک صفرا نشان دادند، که می‌تواند به عنوان پروبیوتیک انسانی و حیوانی نیز استفاده شوند.



شکل ۶- مقاومت جدایه‌های منتخب به نمک صفرا در زمانهای مختلف

Figure 6- Resistance of isolates to bile salts at different time intervals

### زنده ماندن در شرایط معده‌ای و روده‌ای

پیش از آنکه یک پروبیوتیک بتواند اثرات مثبت خود را بر میزبان بروز دهد، باید قادر به تحمل شرایط خاص حاکم بر دستگاه گوارش نیز باشد. برای رسیدن به روده، سویه‌ها می‌بایست در ابتدا از معده که یک سد قدرتمند در برابر ورود به روده می‌باشد، عبور کنند. مطالعات اولیه برای سنجش زنده ماندن LAB در محیط معده‌ای به شناسایی سویه‌هایی که توانایی زنده ماندن، از میان گونه‌های متعدد را داشتند،

اختصاص داده شد. ایجاد تنش در ساختار میکروارگانیسم به علت شرایط خاص دستگاه گوارش از دهان آغاز می‌شود. بزاق دارای آنزیم لیزوزیم، این شرایط را ایجاد می‌کند. سپس میکروارگانیسم وارد معده شده که حاوی پپسین است و pH آن از ۱/۵ تا ۳ متغیر می‌باشد. قسمت فوقانی روده نیز که حاوی آنزیم‌های پانکراسی است، میکروارگانیسم را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Schillinger et al., 2005). زمان معمول عبور غذا از دستگاه گوارش متفاوت بوده اما



( $P < 0.05$ ). به علاوه، از میان جدایه‌ها تنها مقاومت لاکتوباسیلوس کازئی به طور معنی داری پس از ۱۰ دقیقه کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). همچنین میزان مقاومت در لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم ۲ و لاکتوباسیلوس آپیس پس از ۲۴ ساعت به طور معنی داری در شرایط روده افزایش نشان داد ( $P < 0.05$ ). به علاوه، جدایه‌های مذکور بالاترین مقاومت را نسبت به سایر جدایه‌ها در ۲۴ ساعت از خود نشان دادند ( $P < 0.05$ ). جنسین و همکاران (۲۰۱۲) نیز نشان دادند که زنده‌مانی لاکتوباسیلوس پلانتاروم پس از ۱۸۰ دقیقه در شرایط معده کاهش یافت، در حالیکه شرایط روده را به خوبی تحمل نمود (Jensen et al., 2012). طبق نتایج حاصله برخی از سویه‌های جدا شده مانند لاکتوباسیلوس پلانتاروم به خوبی قادر به تحمل شرایط معده و روده بوده است و لذا می‌تواند پس از مصرف، اثرات سلامتی بخش خود را در بدن میزبان ارایه دهد.

معمولاً بین ۲۰ دقیقه تا ۳ ساعت متفاوت است (Goldin et al., 1992).

میزان زنده مانده جدایه‌های منتخب در شرایط معده‌ای و روده‌ای در جدول ۳ و ۴ نشان داده شده است. سویه‌های متعلق به گونه‌هایی که به صورت نرمال ساکن روده انسانی هستند به هنگامی که برای ارزیابی مقاومت آنها نسبت به pH پایین و شیر معده ساختگی مورد ارزیابی قرار گرفتند، رفتار بهتری از خود نشان دادند. مطابق نتایج، انتروکوکوس فاسیوم و لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس حداقل مقاومت را نسبت به شرایط معده با درصد زنده‌مانی کمتر از ۵۰ درصد نشان داده‌اند. در مقابل، درصد زنده‌مانی این دو جدایه در شرایط روده‌ای با R value بالای ۱ (۱/۳۵ و ۱/۷۶) بسیار شاخص بود. پس از ۳۰ دقیقه مقاومت به شرایط معده در باکتری‌های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس پلانتاروم ۱ و لاکتوباسیلوس آپیس به طور معنی داری کمتر از سایر باکتری‌ها بود.

جدول ۳- مقاومت جدایه‌های منتخب به شرایط ساختگی معده (R values)

Table 3- Resistance of selected isolates in simulated gastric conditions

| Time<br>(min) | R value                   |                          |                          |                         |                         |                                    |                          |
|---------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------------------|--------------------------|
|               | لاکتوباسیلوس              | لاکتوباسیلوس کازئی       | لاکتوباسیلوس             | لاکتوباسیلوس            | لاکتوباسیلوس            | پدیوکوکوس/اسیدی                    | انتروکوکوس فاسیوم        |
|               | اسیدوفیلوس                |                          | پلانتاروم ۱              | پلانتاروم ۲             | آپیس                    | لاکتیزی                            |                          |
|               | <i>L. acidophilus</i>     | <i>L.casei</i>           | <i>L.plantarum1</i>      | <i>L.plantarum2</i>     | <i>L.apis</i>           | <i>Ped.</i><br><i>Acidilactici</i> | <i>E. faecium</i>        |
| 0             | 0.92±0.15 <sup>aA</sup>   | 0.89±0.12 <sup>bA</sup>  | 0.82±0.29 <sup>aA</sup>  | 0.94±0.11 <sup>aA</sup> | 0.87±0.31 <sup>aA</sup> | 0.93±0.11 <sup>aA</sup>            | 0.91±0.30 <sup>aA</sup>  |
| 10            | 0.72±0.13 <sup>aA</sup>   | 0.60±0.16 <sup>abA</sup> | 0.62±0.16 <sup>aA</sup>  | 0.91±0.29 <sup>aA</sup> | 0.51±0.18 <sup>aA</sup> | 0.94±0.11 <sup>aA</sup>            | 0.92±0.19 <sup>aA</sup>  |
| 20            | 0.59±0.16 <sup>aAB</sup>  | 0.20±0.05 <sup>aA</sup>  | 0.45±0.12 <sup>aAB</sup> | 0.84±0.18 <sup>aB</sup> | 0.28±0.09 <sup>aA</sup> | 0.91±0.26 <sup>aB</sup>            | 0.86±0.12 <sup>aB</sup>  |
| 30            | 0.68±0.13 <sup>aABC</sup> | 0.31±0.19 <sup>aA</sup>  | 0.51±0.12 <sup>aAB</sup> | 1.14±0.25 <sup>aC</sup> | 0.24±0.12 <sup>aA</sup> | 0.87±0.16 <sup>aBC</sup>           | 0.83±0.18 <sup>aBC</sup> |

حروف بزرگ و کوچک به ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در ردیف و ستون می‌باشد ( $P < 0.05$ )

جدول ۴- مقاومت جدایه‌های منتخب به شرایط ساختگی روده فوقانی (R values)

Table 4- Resistance of selected isolates in simulated intestinal conditions

|          | R value                                          |                                      |                                                 |                                                 |                                    |                                                     |                                        |
|----------|--------------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Time (h) | لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس<br><i>L. acidophilus</i> | لاکتوباسیلوس کازئی<br><i>L.casei</i> | لاکتوباسیلوس پلانتاروم ۱<br><i>L.plantarum1</i> | لاکتوباسیلوس پلانتاروم ۲<br><i>L.plantarum2</i> | لاکتوباسیلوس آپیس<br><i>L.apis</i> | پدیوکوکوس اسیدی لاکتیزی<br><i>Ped. Acidilactici</i> | انتروکوکوس فاسیوم<br><i>E. faecium</i> |
| 0        | 0.84±0.21 <sup>aA</sup>                          | 0.91±0.25 <sup>aA</sup>              | 0.92±0.12 <sup>aA</sup>                         | 0.92±0.25 <sup>abA</sup>                        | 0.91±0.26 <sup>aA</sup>            | 0.90±0.19± <sup>aA</sup>                            | 0.8±0.31 <sup>aA</sup>                 |
| 4        | 0.81±0.15 <sup>aA</sup>                          | 0.95±0.22 <sup>aA</sup>              | 0.94±0.18 <sup>aA</sup>                         | 0.91±0.29 <sup>aA</sup>                         | 0.87±0.16 <sup>aA</sup>            | 0.93±0.24 <sup>aA</sup>                             | 0.81±0.21 <sup>aA</sup>                |
| 8        | 0.97±0.22 <sup>aA</sup>                          | 0.97±0.32 <sup>aA</sup>              | 0.99±0.32 <sup>aA</sup>                         | 0.97±0.16 <sup>abA</sup>                        | 0.89±0.28 <sup>aA</sup>            | 0.96±0.12 <sup>aA</sup>                             | 0.85±0.19 <sup>aA</sup>                |
| 12       | 1.26±0.19 <sup>abA</sup>                         | 1.11±0.26 <sup>aA</sup>              | 1.21±0.26 <sup>aA</sup>                         | 1.38±0.16 <sup>abA</sup>                        | 1.42±0.25 <sup>abA</sup>           | 1.11±0.19 <sup>aA</sup>                             | 0.92±0.14 <sup>aA</sup>                |
| 24       | 1.60±0.28 <sup>bBC</sup>                         | 1.35±0.21 <sup>aABC</sup>            | 1.23±0.18 <sup>aAB</sup>                        | 1.52±0.21 <sup>bABC</sup>                       | 1.76±0.19 <sup>bC</sup>            | 1.14±0.15 <sup>aAB</sup>                            | 1.01±0.19 <sup>aA</sup>                |

حروف بزرگ و کوچک به ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در ستون و ردیف می‌باشد ( $P < 0.05$ )

جدایه لاکتوباسیلوس کازئی و پدیوکوکوس/اسیدی لاکتیزی به ترتیب بیشترین (۸۴٪) و کمترین میزان (۴۶٪) درصد تجمع را داشتند. در تحقیق مشابه نیز لاکتوباسیلوس‌ها دارای خاصیت خودتجمعی بالا (۹۹/۸٪) گزارش شده‌اند (۴۱-۴۰).

## نتایج خصوصیات تجمعی، کمک تجمعی و آبگریزی سویه‌ها

مقادیر مربوط به درصد آبگریزی، تجمعی و کمک تجمعی باکتری‌ها در جدول ۵ نشان داده شده است. طبق نتایج بدست آمده، اختلاف معنی دار بین جدایه‌ها در این سه ویژگی مشاهده نشد، و البته دو

جدول ۵ نتایج مربوط به میزان آگریزی، تجمع و کمک تجمعی جدایه ها

Table 5- Results related to auto-aggregation, co-aggregation and hydrophobicity of isolates

| نام باکتری                                          | درصد تجمع<br>Auto aggregation % | درصد کمک تجمع<br>Co-aggregation % | درصد آگریزی<br>Hydrophobicity% |
|-----------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس<br><i>L. acidophilus</i>    | 60.65±25.31 <sup>a</sup>        | 13.34±9.21 <sup>a</sup>           | 54.75±21.56 <sup>a</sup>       |
| لاکتوباسیلوس کازئی<br><i>L. casei</i>               | 84.91±30.15 <sup>a</sup>        | 15.66±8.23 <sup>a</sup>           | 68.43±23.18 <sup>a</sup>       |
| لاکتوباسیلوس پلانتاروم ۱<br><i>L. plantarum1</i>    | 55.87±12.34 <sup>a</sup>        | 16.32±10.12 <sup>a</sup>          | 59.28±34.18 <sup>a</sup>       |
| لاکتوباسیلوس پلانتاروم ۲<br><i>L. plantarum2</i>    | 55.19±21.34 <sup>a</sup>        | 17.28±8.32 <sup>a</sup>           | 59.17±29.14 <sup>a</sup>       |
| لاکتوباسیلوس آپیس<br><i>L. apis</i>                 | 74.49±34.45 <sup>a</sup>        | 22.76±12.19 <sup>a</sup>          | 65.37±34.15 <sup>a</sup>       |
| پدیوکوکوس اسیدی لاکتیمی<br><i>Ped. acidilactici</i> | 46.91±17.36 <sup>a</sup>        | 10.81±6.18 <sup>a</sup>           | 43.21±20.15 <sup>a</sup>       |
| انتروکوکوس فاسیوم<br><i>E. faecium</i>              | 69.89±34.24 <sup>a</sup>        | 14.42±7.12 <sup>a</sup>           | 66.26±32.18 <sup>a</sup>       |

<sup>a,b</sup> حروف کوچک نشاندهنده تفاوت معنی دار در ستون می باشد (P<0/05)

Small alphabetical letters in the column shows significant differences between isolates (p ≤ 0.05)

اپی تلپال روده باشد (Rosenberg et al., 1980). علاوه بر این، بار سطحی و آگریزی باکتری ها تحت تاثیر شرایط محیطی است که در آن قرار می گیرند، که نشاندهنده آن است که چرا سویه های مختلف رفتار متفاوتی از خود نشان می دهند (Merghni et al., 2014; Vesterlund et al., 2005). در مطالعه حاضر در صد تجمع و آگریزی بالا جدایه ها نشانگر توانایی اتصال بالا این جدایه ها به دیواره سلول اپتلیال روده می باشد.

### نتیجه گیری کلی

از مهمترین باکتری های همزیست دستگاه گوارش زنبورهای عسل باکتری های اسید لاکتیک می باشند. در این تحقیق نیز حضور باکتری های اسید لاکتیک در دستگاه گوارش زنبور عسل نشان داده شد. این باکتری ها بیانگر خصوصیات پروبیوتیکی بودند که اهمیت زیادی در سلامتی میزبان دارند. همانطور که در نتایج مشاهده شد این باکتری ها با تولید اسید لاکتیک می توانند مانع از رشد باکتری های مضر شوند. بنابراین در حفظ سلامت دستگاه گوارش زنبور عسل می توانند نقش مهمی ایفا کنند. البته قبل از ثبت این جدایه ها بعنوان پروبیوتیک لازم است ویژگی آنها در شرایط درون تنی نیز بررسی و اثرات سلامتی بخش و ایمنی آنها تایید شود. همچنین پیشنهاد می گردد عملکرد این باکتری ها در بهبود سیستم ایمنی و اثرات ضد میکروبی جدایه ها علیه عوامل انواع بیماری های زنبور عسل نیز بررسی گردد.

تجمعی و آگریزی به عنوان شاخص های مناسب برای بررسی توانایی اتصال به دیواره سلول در محیط آزمایشگاهی می باشند. همچنین همبستگی مثبتی که بین آگریزی، تجمع و توانایی سویه ها در اتصال به دیواره روده و همین طور کمک تجمع وجود دارد، به عنوان بررسی های اولیه انتخاب یک سویه مناسب برای پروبیوتیک قابل اعتماد، ضروری به نظر می رسد (Dunne et al., 2001; Del et al., 2000; Xu et al., 2009). گزارش شده است که کمک تجمع سبب جلوگیری از رشد و اتصال سویه های بیماری زا در دستگاه گوارش می شود (Botes et al., 2008). همچنین ثابت شده است که باکتری های مورد استفاده به عنوان پروبیوتیک شرایط را به گونه ای کنترل می کنند که سبب افزایش غلظت ترکیبات ضد میکروبی در اطراف پاتوژن ها شده و این عمل در اثر کمک تجمع افزایش می یابد (Kaewnopparat et al., 2013).

فاکتور هایی مثل پروتئین، گلیکوپروتئین، تیکوئیک اسید و لیپوتیکوئیک اسیدها در سطح دیواره سلولی باکتری ها نیز در اتصال به دیواره روده، تجمع و آگریزی سویه ها موثر هستند (Ramiah et al., 2008). اتصال باکتری ها به دیواره سلولی روندی پیچیده بوده و شامل پیوندهای اختصاصی و غیر اختصاصی و وجود ر سپتورهای خاص می باشد. بررسی ها نشان می دهد پروتئین های لایه S سطح دیواره سلولی باکتری نقش مهم و اساسی در خاصیت تجمع سویه ها ایفا می کند (Li et al., 2015). از طرف دیگر درصد بالای آگریزی نیز خود می تواند نشانه ای از ظرفیت بالای باکتری برای اتصال به

## References

1. Audisio, M., M. Torres, D. Sabate, C. Ibarguren, and M. Apella. 2011. Properties of different lactic acid bacteria isolated from *Apis mellifera* L. beegut. *Microbiological Research*, 166:1-13.
2. Axelsson, L., and S. Ahrné. 2000. Lactic acid bacteria. In *Applied microbial systematics*, Pages 367-388 Springer, Dordrecht.
3. Beumer, R. R., J. de Vries, and F. M. Rombouts. 1992. *Campylobacter jejuni* non-culturable coccoid cells. *International Journal of Food Microbiology*, 15:153-163.
4. Botes, M., B. Loss, C. A. Van Reenen, and L. M. Dicks. 2008. Adhesion of the probiotic strains *Enterococcus mundtii* ST4SA and *L. plantarum* 423 to Caco-2 cells under condition simulating the intestinal tract, and in the presence of antibiotics and anti-inflammatory medicaments. *Archive of Microbiology*, 190: 573- 584.
5. Charteris, W. P., P. M. Kelly, L. Morelli, and J. K. Collins. 1998. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *Journal of Food Protection*, 61: 1636- 1643.
6. Corzo, G., and S. E. Gilliland. 1999. Bile salt hydrolase activity of three strains of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Dairy Science*, 82: 472- 480.
7. Del Re, B., B. Sgorbati, M. Miglioli, and D. Palenzona. 2000. Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. *Letters in applied microbiology*, 31(6):438-42
8. Dunne, C., L. O'mahony, L. Murphy, G. Thornton, D. Morrissey, S. O'Halloran, M. Feeney, and S. Flynn. 2001. *In vitro* selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with *In Vivo* findings. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 386- 392.
9. El-Sohaimy, A. A., S. H. D. Masry, M. G. Shehata, S. N. Al-Kahtani, T. E. Abdelwahab, Y. A. T. Abdelmotaleb, and M. E. Nour. 2020. Isolation, Identification and Antimicrobial Activity of Unprecedented LAB Isolates from Honeybees. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 23(4): 467-477.
10. Elzeini, H. M., Abdel Rhman A. A. Ali, N. F. Nasr, Y. E. Elenany, and A. A. M. Hassan. 2020. Isolation and identification of LAB from the intestinal tracts of honey bees, *Apis mellifera* L., in Egypt. *Journal of Apicultural Research*, 60: 1-9.
11. FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Meeting. 2001. Safety evaluation of certain mycotoxins in food (No. 74). Food & Agriculture Organization.
12. Felis, G. E., A. Deriu, P. Mollicotti, L. A. Sechi, F. Dellaglio, and S. Zanetti. 2007. Identification and functional characterization of *Lactobacillus* strains isolated from milk. *International Dairy Journal*, 17:1312-1320
13. Gheisari, A., and M. Behjatian Esfahani. 2015. Effect of feeding different of acetic acid, probiotic, oxytetracycline and neomycin on populations of coliform and *Lactobacillus* in pupae of honey bee (*Apis mellifera*). *Biological Journal of Microbiology*, 4(14):93-100. (In Persian)
14. Gibson, G. R., H. M. Probert Van Loo J, R. A. Rastall, and M. B. Roberfroid. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition research reviews*, 17(02):259-75.
15. Gilliam, M., and D. B. Prest. 1987. Microbiology of feces of the larval honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 49:70-75
16. Goldin, B., S. Gorbach, M. Saxelin, S. Barakat, L. Gualtieri, and S. Salminen. 1992. Survival of *Lactobacillus* speices (Strain GG) in human gastrointestinal tract. *Digestive Diciplinary Science*, 37: 121- 128
17. Jensen, H., S. Grimmer, K. Naterstad, and L. Axelsson. 2012. *In vitro* testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 153(1-2): 216-222.
18. Kaewnopparat, S., N. Dangmanee, N. Kaewnopparat, T. Srichana, M. chulasiri, and S. Settharaksa. 2013. *In vitro* probiotic properties of *L.fermentum* SK5 isolated from vagina of healthy woman. *Anaerobic*, 22: 6- 13
19. Kandler, O. and N. Weiss. 1986. Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2. ed. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. Pages 1209- 1234. Baltimore: Williams and Wilkins.
20. Kos, B., J. Šušković, S. Vuković, M. Šimpraga, J. Frece, and S. Matošić. 2003. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *Journal of applied microbiology*, 94(6):981-7
21. Lane, J. G., B. Bladon, D. R. M. Little, J. R. J. Naylor, and S. H. Franklin. 2006. Dynamic obstructions of the equine upper respiratory tract. Part 1: observations during high - speed treadmill endoscopy of 600 Thoroughbred racehorses. *Equine veterinary journal*, 38(5): 393-399.
22. Li, Q., Z. Liu, M. Dong, J. Zhou, and Y. Wang. 2015. Aggregation and adhesion abilities of 18 LAB isolated from traditional fermented food. *International Journal of Agriculture Policy and Research*, 3 (2): 84- 92
23. Liong, M. T., and N. P. Shah. 2005. Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of *Lactobacilli* strains. *Journal of Dairy Science*, 88(1): 55-66. <https://doi.org/10.3168/jds>.
24. Matsumoto, M., H. Ohishi, and Y. Benno. 2004. H<sup>+</sup>-ATPase activity in *Bifidobacterium* with special reference to acid tolerance. *International Journal of Food Microbiology*, 93(1): 109-113.
25. Merghni, A., N. Leban, A. Behi, and A. Bakjrouf. 2014. Evaluation of the probiotic properties of *Bacillus* spp. strains

- isolated from Tunisian hypersaline environments. *African Journal of Microbiology Research*, 8(4): 398- 405.
26. Mohammad, S. M., N. K. Mahmud-Ab-Rashid, and N. Zawawi. 2020. Probiotic properties of bacteria isolated from bee bread of stingless bee *Heterotrigona itama*. *Journal of Apicultural Research*, 1-16.
27. Naidu, A. S., W. R. Bidlack, and R. A. Clemens. 1999. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39:13–26.
28. Nikooei, M., C. H. Hemmati, and S. Parichehreh. 2018. Natural strategies for the control of *P.larvae*, the causative agent of American foulbrood in honey bees. *Iranian honey bee science and technology*, 9: 2-11.
29. O'Bryan, C. A., P. G. Crandall, S. C. Ricke, and J. B. Ndaletuye. 2014. Lactic acid bacteria (LAB) as antimicrobials in food products: Types and mechanisms of action. In *Handbook of natural antimicrobials for food safety and quality*. Pages 117–136. Woodhead Publishing
30. Olofsson, T. C., A. Vásquez, D. Sammataro, and J. Macharia. 2011. A scientific note on the lactic acid bacterial flora within the honeybee subspecies; *Apis mellifera* (Buckfast), *A. m. scutellata*, *A. m. mellifera*, and *A. m. monticola*. *Apidologie* 1–4.
31. Pennacchia, C., D. Ercolini, G. Blaiotta, O. Pepe, G. Mauriello, and F. Villani. 2004. Selection of *Lactobacillus* strains from fermented sausages for their potential use as probiotics. *Meat Science*, 67: 309–317.
32. Ramiah, K., C. A. Van Reenen, and L. M. Dicks. 2008. Surface-bound proteins of *Lactobacillus plantarum* 423 that contribute to adhesion of Caco-2 cells and their role in competitive exclusion and displacement of *Clostridium sporogenes* and *Enterococcus faecalis*. *Journal of Research Microbiology*, 159(6): 470- 475.
33. Ripamonti, B., A. Aggazi, C. Bersani, C. Pecorini, and S. Pirani. 2011. Screening of species-specific lactic acid bacteria for veal calves multi-strain probiotic adjuncts. *An aerobe*, 17(3): 97-105.
34. Rosenberg, B., D. Gutnik, and E. Rosenberg. 1980. Adherence of bacteria to hydrocarbons: A simple method for measuring cell surface hydrophobicity. *FEMS microbiology letters*, 9 (1): 28- 33.
35. Ruiz, L., A. Margolles, and B. Sanchez. 2013. Bile resistance mechanisms in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. *Frontiers in Microbiology*, 4(396): 396–398.
36. Sabaté, D. C., M. S. Cruz, M. R. Benítez-Ahrendts, and M. C. Audisio. 2012. Beneficial effects of *B.subtilis* subsp. *subtilis* Mori2, a honey-associated strain, on honeybee colony performance. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 4(1): 39-46.
37. Schillinger, U., C. Guigas, and W. H. Holzapfel. 2005. In vitro adherence and other properties of lactobacilli in probiotic yoghurt-like products. *International Dairy Journal*, 15: 1289-1297.
38. Sjoval, J. 1959. Dietary glycine and taurine on bile acid conjugation in man; bile acids and steroids 75. *Proceeding of the Society for Experimental Biological Medicine*, 100: 676- 678
39. Tajabadi, N., M. Mardan, M. Y. A. Manap, M. Shuhaimi, A. Meimandipour, and L. Nateghi. 2011. Detection and identification of *Lactobacillus* bacteria found in the honey stomach of the giant honeybee *Apis dorsata*. *Apidologie*, 42: 642-646
40. Tokatlı, M., G. Gülgör, S. Bağder Elmacı, N. Arslankoz İşleyen, and F. Özçelik. 2015. In vitro properties of potential probiotic indigenous lactic acid bacteria originating from traditional pickles. *BioMed research international*, 2015:1-9
41. TR, K. 2018. Probiotic potency of *Lactobacillus plantarum* KX519413 and KX519414 isolated from honey bee gut. *FEMS microbiology letters*, 365(4): fnx285.
42. Vasquez, A., and T. C. Olofsson. 2009. The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread. *Journal of Apicultural Research*, 48:189–195
43. Vásquez, A., E. Forsgren, I. Fries, R. J. Paxton, E. Flaberg, L. Szekely, and T. C. Olofsson. 2012. Symbionts as major modulators of insect health: lactic acid bacteria and honeybees. *PloS one*, 7(3): e33188.
44. Vesterlund, S., J. Palta, M. Karp, and A. C. Ouwehand 2005. Adhesion of bacteria to resected human colonic tissue: quantitative analysis of bacterial adhesion and viability. *Research Microbiology*, 156: 238- 244.
45. Xu, H., H. S. Jeong, H. Y. Lee, and J. Ahn. 2009. Assessment of cell surface properties and adhesion potential of selected probiotic strains. *Journal of Letter Applied Microbiology*, 49: 434- 442.

## Contents

### Ruminant Nutrition

|                                                                                                                                                                                                        |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>The Effects of Different Biological Additives on Chemical Composition and Fermentation Characteristics of Corn Silage</b>                                                                           | <b>1</b>  |
| Akbar Taghizadeh, Elnaz Moradi, Hamid Mohammadzadeh, Maghsoud Besharati                                                                                                                                |           |
| <b>The effect of different levels and methods of flaxseed processing on growth performance, nutrient digestibility, blood parameters and sheep ruminant behavior</b>                                   | <b>13</b> |
| Mostafa Hossein Abadi, Taghi Ghoorchi, Abdolhakim Toghdory                                                                                                                                             |           |
| <b>Evaluation of chemical composition, gas production and digestibility of <i>Lathyrus sativus</i> grain treated using different heat-processing by <i>in vitro</i> and <i>in situ</i> experiments</b> | <b>27</b> |
| Hossein Rastpoor, Alireza Vakili, Abbasali Naserian, Mohsen Danesh Mesgaran, Reza Valizade                                                                                                             |           |
| <b>Comparison of reproductive performance of imported ewes and Iranian ewes using the method of artificial insemination</b>                                                                            | <b>43</b> |
| Masood Didarkhah, Moosa Vatandoost                                                                                                                                                                     |           |
| <b>Effect of pentoxifylline antioxidant supplementation on improvement of sperm motility parameters in non-breeding season</b>                                                                         | <b>55</b> |
| Mahdi Nazari, Hossein Daghigh Kia, Abouzar Najafi                                                                                                                                                      |           |

### Poultry Nutrition

|                                                                                                                                                                                                  |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Effect of <i>Nigella Sativa</i> meal with multi enzyme on growth performance and blood biochemical parameters of broiler chickens</b>                                                         | <b>65</b>  |
| Davood Ershadi, Bahman Navidshad, Hossein Mohebodini, Farzad Mirzaei Aghjehgheshlagh, Samira Karamati Jabehtar                                                                                   |            |
| <b>The effect of kefir and peppermint extract (<i>Mentha piperita</i>) extract in drinking water on performance, lipid profiles, thyroid hormones and testosterone hormone of Japanese quail</b> | <b>83</b>  |
| Khalil Mirzadeh, Amin kazemizadeh, Zarbakht Ansari Pirsaraei                                                                                                                                     |            |
| <b>Effect of different sources of organic and inorganic manganese on productive performance, antioxidant status, immune system and bone strength in aged laying hens (82 to 94 weeks)</b>        | <b>97</b>  |
| Mohammadreza Khoshbin, Reza Vakili, Abdolmansour Tahmasbi                                                                                                                                        |            |
| <b>Improving of frozen-thawed sperm quality in commercial broiler breeder roosters challenged with dexamethasone using diet vitamin E supplementation</b>                                        | <b>109</b> |
| Zabihollah Nemati Mohammad sattari, Amir Karimi, Maghsoud Besharati, Namdar Kamrani                                                                                                              |            |
| <b>Investigation Quality of Water Used in Poultry Farms in Noorabad City of Fars Province and Its Neighboring Rural Areas</b>                                                                    | <b>121</b> |
| Saeed Salami, Kiavash Hushmandi, Shohre Alian Samakkhah                                                                                                                                          |            |

### Other

|                                                                                                                            |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Evaluation of Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from the Gut of Honeybees <i>Apis mellifera</i></b> | <b>131</b> |
| Samira Toutiaee, Naheed Mojangi, Naser Harzandi, Mojtaba Moharrami, Ladan Mokhberalsafa                                    |            |

**« Scientific Journal »**  
**Iranian Journal of Animal Science Research**

**Vol. 14**

**No. 1**

**Spring 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 Resources<br>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<br>University               |
| A. Hassanabadi       | Poultry Nutrition   | (Prof.)       | (F.U.M.)                                                              |
| B. Dastar            | Poultry Nutrition   | (Prof.)       | Gorgan Agricultural and Natural Resources<br>University               |
| J. Zamiri            | Animal Physiology   | (Prof.)       | Shiraz University                                                     |
| N. Pirani            | Genetics & breeding | (Asso. Prof.) | Shahre kord University                                                |
| M.R. Nassiri         | Genetics & breeding | (Prof.)       | (F.U.M.)                                                              |
| M. Tahmoorepour      | Genetics & breeding | (Prof.)       | (F.U.M.)                                                              |
| S. Zerehdaran        | Genetics & breeding | (Prof.)       | (F.U.M.)                                                              |
| M. Sargolzaei        | Genetics            | (Asso. Prof.) | University of Guelph, Canada                                          |

**Printed by:** Ferdowsi University of Mashhad, Press.

**Address:** P.O. Box 91775-1163, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

**Phone:** +98-51-38804656

**Fax:** +98-51-38787430

**E-Mail:** [ijasr@ferdowsi.um.ac.ir](mailto:ijasr@ferdowsi.um.ac.ir)

**Web Site:** <https://ijasr.um.ac.ir>





Ferdowsi University  
of Mashhad

Vol. 14 No. 1

2022

# Iranian Journal of Animal Science Research

ISSN:2008-3106

## Contents

### Ruminant Nutrition

- The Effects of Different Biological Additives on Chemical Composition and Fermentation Characteristics of Corn Silage ..... 1  
Akbar Taghizadeh, Elnaz Moradi, Hamid Mohammadzadeh, Maghsoud Besharati

- The effect of different levels and methods of flaxseed processing on growth performance, nutrient digestibility, blood parameters and sheep ruminant behavior ..... 13  
Mostafa Hossein Abadi, Taghi Ghoorchi, Abdolhakim Toghdory

- Evaluation of chemical composition, gas production and digestibility of *Lathyrus sativus* grain treated using different heat-processing by *in vitro* and *in situ* experiments ..... 27  
Hossein Rastpoor, Alireza Vakili, Abbasali Naserian, Mohsen Danesh Mesgaran, Reza Valizade

- Comparison of reproductive performance of imported ewes and Iranian ewes using the method of artificial insemination ..... 43  
Masood Didarkhah, Moosa Valandoost

- Effect of pentoxifylline antioxidant supplementation on improvement of sperm motility parameters in non-breeding season ..... 55  
Mahdi Nazari, Hossein Daghigh Kia, Abouzar Najafi

### Poultry Nutrition

- Effect of *Nigella Sativa* meal with multi enzyme on growth performance and blood biochemical parameters of broiler chickens ..... 65  
Davood Ershadi, Bahman Navidshad, Hossein Mohebodini, Farzad Mirzaei Aghjehgheshlagh, Samira Karamati Jabehdar

- The effect of kefir and peppermint extract (*Mentha piperita*) extract in drinking water on performance, lipid profiles, thyroid hormones and testosterone hormone of Japanese quail ..... 83  
Khalil Mirzadeh, Amin kazemizadeh, Zarbakht Ansari Pirsaraei

- Effect of different sources of organic and inorganic manganese on productive performance, antioxidant status, immune system and bone strength in aged laying hens (82 to 94 weeks) ..... 97  
Mohammadreza Khoshbin, Reza Vakili, Abdolmansour Tahmasbi

- Improving of frozen-thawed sperm quality in commercial broiler breeder roosters challenged with dexamethasone using diet vitamin E supplementation ..... 109  
Zabihollah Nemat, Mohammad Sattari, Amir Karimi, Maghsoud Besharati, Namdar Kamrani

- Investigation Quality of Water Used in Poultry Farms in Noorabad City of Fars Province and Its Neighboring Rural Areas ..... 121  
Saeed Salami, Kiavash Hushmandi, Shohre Alian Samakhah

### Other

- Evaluation of Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from the Gut of Honeybees *Apis mellifera* ..... 131  
Samira Toutiade, Nahed Mojtani, Naser Harzandi, Mojtaba Moharrami, Ladan Mokhbervalsafa