نشریه علمی
پژوهشهای علوم دامی ایران

جلد ۱۵ شماره ۱
سال ۱۴۰۲

(شماره پیاپی: ۵۳)

شاپا: ۲۰۰۸-۳۱۰۶

عنوان مقالات

نشریه علمی

پژوهشهای علوم دامی ایران

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

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

جلد ۱۵ شماره ۱ بهار ۱۴۰۲

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه فردوسی مشهد

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

نمابر: ۰۵۱-۳۸۷۸۷۴۳۰

پست الکترونیکی: **ijasr@ferdowsi.um.ac.ir**

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

این نشریه در پایگاه های زیر نمایه می شود:

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

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

اسامی ارزیابان جلد ۱۵ شماره ۱ (بهار ۱۴۰۲) نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران (به ترتیب الفبا)

دکتر سید هادی ابراهیمی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر سعید انصاری مهیاری	دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر علیرضا ایوبی	دانشگاه تهران
دکتر مصطفی حسین آبادی	دانش آموخته دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر سید محمد حسینی	دانشگاه بیرجند
دکتر سید جواد حسینی واشان	دانشگاه بیرجند
دکتر حامد خلیل وندی بهروزیار	دانشگاه ارومیه
دکتر بهروز دستار	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر مسعود دیدارخواه	آموزشکده کشاورزی سرایان
دکتر عطیه رحیمی	دانش آموخته دکتری دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر فریبا رضایی سرتشنیزی	دانشجوی پسا دکتری دانشگاه شهرکرد
دکتر خلیل زابلی	دانشگاه بوعلی سینا همدان
دکتر داوود زحمتکش	دانشگاه زنجان
دکتر حیدر زرقی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر سعید سبحانی راد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مهدی سلطانی	مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی
دکتر عاطفه سیددخت	مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی
دکتر حسین عبدی بنمار	دانشگاه محقق اردبیلی
دکتر فرشید فتاح نیا	دانشگاه ایلام
دکتر آشورمحمد قره باش	دانشگاه گنبد کاووس
دکتر شاهرخ قوتی رودسری	دانشگاه گیلان
دکتر ابوذر نجفی	دانشگاه تبریز
دکتر رضا وکیلی	دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کاشمر
دکتر طاهر یلچی	دانشگاه محقق اردبیلی

بسم الله الرحمن الرحیم

مندرجات

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

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

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

نکات مهم:

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

الف) فرم صفحه مشخصات مقاله

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

ب) فرم تعهد نامه

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

ت) دستورالعمل تهیه مقاله؛ روش تحریر

- ✓ کلیه قسمتهای مقاله بایستی توسط Word 2007 و با فاصله خطوط ۱ و رعایت ۲/۵ سانتی متر حاشیه از هر طرف تهیه شـده باشد.
- ✓ فونت B Mitra با اندازه فونت ۱۴ بکار رود.
- ✓ حداکثر تعداد صفحات مقاله ۱۵ صفحه باشد.
- ✓ از نشانه گذاری های متداول چون نقطه، ویرگول و ... به درستی استفاده شود.
- ✓ رعایت نیم فاصله در کلمات ترکیبی و جمع مانند اندازه‌گیری، شده‌اند، می‌شود، می‌توان، نکته‌ها و ... ضروری است.
- ✓ معادله‌ها در متن مقاله باید به ترتیب از ابتدا تا انتها شماره‌گذاری شوند.
- ✓ واحدهای مورد استفاده در متن مقاله باید بر اساس سیستم بین‌المللی متریک (SI) باشد.
- ✓ تعداد پاورقی ها به حداقل برسد و شماره پاورقی‌ها در هر صفحه از عدد یک آغاز شود.

ث) ترتیب بخش ها

بخشهای ضروری هر مقاله شامل: عنوان، چکیده فارسی، واژه های کلیدی، مقدمه، مواد و روش ها، نتـایج و بحـث، نتیجـه گیـری کلـی، منابع، عنوان انگلیسی وچکیده مبسوط انگلیسی می باشند. بخشهای پیشنهادات و سپاسگزاری بصورت اختیاری و کاملاً خلاصه شـده مـی توانند به متن مقاله پس از بخش نتیجه گیری کلی اضافه شوند.

۱- عنوان

عنوان مقاله در ابتدا و وسط صفحه اول و به صورت پررنگ نوشته شود. عنوان باید روان، بیانگر محتوای مقاله و مختصـر (حـداکثر حـاوی 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 کاربردهـای شـاخص بصـورت خلاصه و گویا ذکر شوند. از ذکر علائم آماری چون (P<۰/۰۵) و منابع مورد استفاده در این قسمت مقاله خودداری شود.

۳- واژه های کلیدی

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

٤- مقدمه

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

٥- مواد و روش ها

شرح کامل مواد مورد استفاده و روش ها و طرح (طرحهای) آزمایشی بکار رفته در این بخش ذکر شوند. از بیـان کامـل روشـهای اقتبـاس شده خودداری گردد و فقط به ارایه اصول و ذکر مأخذ اکتفا شود. مواد و روشهای ویژه، اصلاحی و ابداعات به نحوی که دیگران قـادر بـه استفاده از آن در آزمایشهای خود باشند، می توانند به اختصار ذکر گردند. درصورت لزوم جهت معرفی تیمارها و یا روشهای خاص آزمـایش می توان از جدول یا شکل استفاده کرد.

٦- نتایج و بحث

برای ارایه نتایج می توان از جدول، شکل، تصویر و منحنی استفاده کرد، اما باید از تکرار آنها به فرمتهای مختلف جدا خـودداری شـود. در هر قسمتی که نتایج ارائه می شوند باید مورد تجزیه و تحلیل هم قرار گیرند و با در نظر گرفتن هـدف پـژوهش، نتـایج حاصـله بـا نتـایج پژوهش‌های مشابه مقایسه و بحث شوند و نتیجه گیری از هر مبحث در انتهای آن ذکر گردد.

٦-۱- نحوه تهیه جدول ها و شکل ها

٦-۱-۱- جدول

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

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

Table1- Effect of different levels of by-productsin dietaryon plasma metabolites (mg/dl)

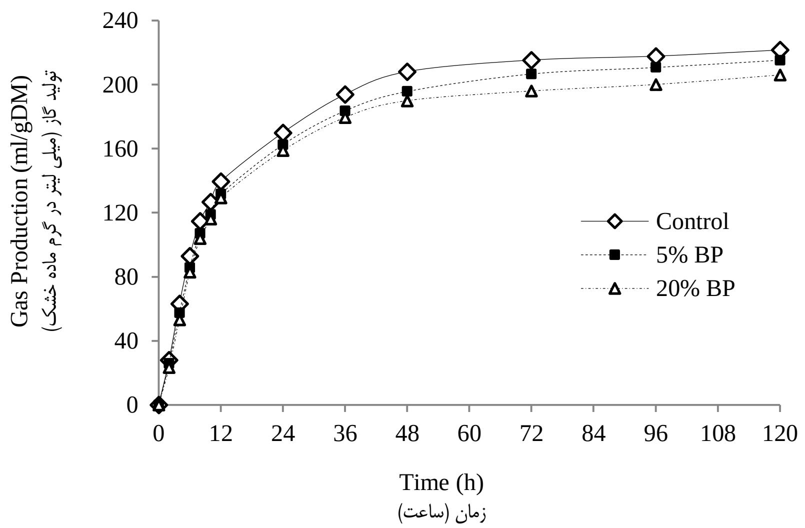
متابولیتهای پلاسما Plasma metabolites	جیره های آزمایشی Experimental diets				*P-value*		
	Alfalfa	5% BP[1]	20% BP	SEM	*treat*	*time*	*Treat × time*
گلوکز Glucose (mg/dl)	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
نیتروژن اوره ای خون BUN (%)[2]	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
آسپارتات آمینو ترانسفراز AST (U/L)[3]	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
آلانین آمینو ترانسفراز ALT (U/L)[4]	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002
لیپوپروتئین با دانسیته پایین LDL (mol/L)[6]	10.0	10.0	10.0	10.0	0.002	0.002	0.002

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

Means within same row with different superscripts differ ($P<0.05$).
[1]By-Products were used instead of alfalfa in 5 and 10 % based on dry matter intake.
[2]Blood urea nitrogen
[3]Aspartate Aminotransferase
[4]Alanine Aminotransferase
[5]Low density lipoprotein

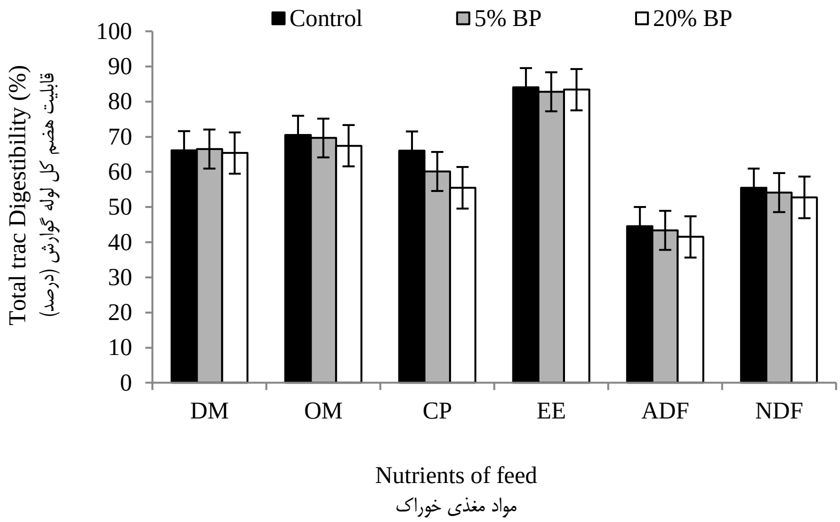
٦-١-٢- شکل

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



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

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



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف محصولات فرعی در جیرهبر قابلیت هضم شکمبه ای مواد مغذی

Figure 1- Effects of different levels of by-productsin dietary on rumen digestibility of nutrients

۷- نتیجه گیری کلی

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

۸- سپاسگزاری

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

۹-منابع

الف) ارجاع به منابع (درون متنی)

نحوه رجوع منابع در متن به‌صورت 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 آن‌ها به‌صورت زیر استفاده شود:

(Naserian and Valizadeh, 2009)

- برای مقاله‌ای با بیشتر از دو نویسنده از کلمه ایتالیک "*et al.*" به‌صورت زیر استفاده شود:

(Naserian *et al.*, 2008)

- هنگام ارجاع همزمان به چند منبع از علامت ";" به‌صورت 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 ۱۲در 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 (درصورت 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 درمورد نوشتن منابع(برون متنی)

- ✓ در نوشتن لیست منابع و ارجاعات از روش رفرنس‌نویسی **APA** استفاده شود.
- ✓ 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., Baldwin, R. L., & Jesse, W. (2011). Sheep rumen metabolic development in response to different dietary treatment. *Journal of Dairy Science*, *78*(Supp1.1), 310(Abstr). Doi: 10.2527/2000.7871990x
2. Tyrrell, H. F., & Moe, P. W. (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., & 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., Esfahan, M. C., Hisseini, G., & Rezaei, M. (2012). Effect of glutamic acid on broiler given sub marginal crude protein with adequate essential amino acids using feeds high and low in potassium. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *5*(2),17-25. (In Persian).

۹-۱-۲- کتاب ها

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

۹-۱-۳- همایش ها

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

۹-۱-٤- درگاه الکترونیکی (Web Site)

12. Buch, L. H., A. C. Sorensen, J. Lassen, P. Berg, J. A. Eriksson, J. H. Jakobsen, and M. K. Sorensen. 2011. Hygiene-related and feed-related hoof diseases show different patterns of genetic correlations to clinical mastitis and female fertility. Journal of Dairy Science, 94:1540–1551. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2010-3137.

13. Mathieu R., H. M. Richards, S. J. Brooks, W. Stewart, and M. Sbins. 2004. Relationships between Milk production and heritability in Holstein dairy cattle. International Journal of Animal Science, 24(2):65–81. Available at http://www.informaworld.com/contentUa/V.24-2.

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

۱۰- چکیده انگلیسی

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

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

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

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

Materials and Methods Text type here. Text type here.

Results and Discussion Text type here. Text type here.

Conclusion Text type here. Text type here.

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

Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1, Spring 2023, p. 1-16

Evaluation of The Effect of Adding *Oregano L.onites* and *Althaea offieinalis* Essential Oils into Milk on Growth and Metabolic Responses of Holstein Dairy Calves

Ehsan Ghaemi Rad[1], Alireza Vakili[2]*, Mohsen Danesh Mesgaran[2]

Received: 20-04-2021 Revised: 07-09-2021 Accepted: 08-11-2021 Available Online: 08-11-2021	**How to cite this article:** Ghaemi Rad, E., Vakili, A., & Danesh Mesgaran, M. (2023). Evaluation of the effect of adding *Oregano* and *Althaea offieinalis* essential oils into milk on growth and metabolic responses of Holstein dairy calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 1-16. DOI: 10.22067/ijasr.2022.73066.1045

Introduction: The present study was conducted to investigate the efficacy of adding *Oregano L.onites* and *Althaea offieinalis* essential oil into milk on performance, some blood parameters, skeletal growth, and metabolic responses of Holstein dairy calves. Higher milk consumption improves growth performance due to the increase in nutrients available to calves. In this experiment, it is assumed that high consumption of milk with better availability of nutrients and plant essential oils by eliminating pathogens and stabilizing the natural flora of the gastrointestinal tract improves calf function, reduces diarrhea and adequate growth during weaning.

Materials and Methods: A total of 60 Holstein dairy calves (30 females and 30 males; 7 days) with 42 ± 8 kg of average birth weight were used in a Factorial design (2 × 3) in which calves were randomly assigned to one of six different dietary treatments including 1) 6 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 2) 6 L/d milk with *Oregano L.onites* essential oil, 3) 6 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil, 4) 9 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 5) 9 L/d milk with *Oregano L.onites* essential oil and 6) 9 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil. Calves were individually housed and bedded with straw that was replaced every day. Feed and water were available ad libitum throughout the experiment. Calves were fed colostrum for 3 days and then fed high levels milk with 10% and 20% of their birth weight until 70 days of age. The rations were iso-energetic. Ruminal fluid samples were collected by esophagus tube after morning feeding at the end of study. Starter intake was recorded individually and daily. The amount of feed consumed daily was calculated throughout the experiment from the difference between the feed poured and the remaining feed. The experimental data were analyzed under the SAS 9.1 statistical program with general linear models (GLM). Comparisons of mean was done using Duncan test at a significance level of 5%.

Results and Discussion: In this study results showed that starter intake was affected by the experimental treatments ($p > 0.05$). Diet containing *Oregano L.onites* essential oil reduced feed intake in the period 56 to 70 and in the whole period with using 6 liters of milk ($p < 0.05$). Dry matter intake (feed dry matter with milk dry matter) in the period of 7 to 56, 56 to 70 days and in the whole period between the group receiving 6 liters and 9 liters of milk was not shown significant difference. Calves consuming 9 L/d milk in control group without inclusion of any essential oil supplementation had higher daily weight gain than other treatments ($p < 0.05$). The results indicated that calves fed milk without any additives had a higher feed efficiency ($p < 0.05$). Consuming 9 L/d milk in control group without inclusion of any essential oil supplementation had higher skeletal growth than other treatments ($p < 0.05$). Hip width, heart girth, body barrel and wither height were affected by the addition of essential oils supplementation ($p> 0.05$). Rumen parameters were not affected by essential oils ($p > 0.05$). Ruminal pH value was affected by the experimental treatments and in group of 6 L/d milk with *Oregano L.onites* essential oil had higher than other treatments ($p < 0.05$). Addition of *Oregano L.onites* essential oils to milk of Holstein

1- Ph.D. Candidate of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
*Corresponding Author's Email: savakili@um.ac.ir

calves had no detectable effect on the mean concentration of glucose, albumin, urea, aspartate-aminotransferase and alanine-aminotransferase ($p > 0.05$). The results showed that Feed behavior was affected by the experimental treatments ($p > 0.05$). Calves consuming *Oregano L.onites* essential oil supplementation had lowest ruminant and feed consume than other treatments ($p > 0.05$).

Conclusion: The results of this study showed that the addition of plant essential oils, especially oregano essential oil in high amounts of milk of Holstein calves did not lead to increased feed intake, weight gain and increased skeletal growth compared to the control group. However, the effect of oregano essential oil on feed efficiency was significant. Therefore, increasing the quantitative and qualitative growth of calves per unit time and expressing their genetic predisposition by using plant essential oils as done in this study did not lead to better performance of Holstein calves. In contrast, increasing the amount of milk consumed in infant Holstein calves improved growth performance, although the feed efficiency of the 9-liter milk group was lower than the 6-liter milk group.

Keywords: Herbal essential oils, Initial diet, Rumen fermentation, Sucking calf

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد۱۵، شماره۱، بهار۱۴۰۲، ص ۱۶-۱

بررسی تأثیر استفاده از اسانس پونه کوهی (*Origanum L.onites*) و گل ختمی (*Althaea officinalis*) در شیر بر ویژگی‌های رشد و پاسخ‌های متابولیکی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

احسان قائمی راد[۱]، سید علیرضا وکیلی[۲*]، محسن دانش مسگران[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۰۵
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۲/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۰۳

چکیده

این مطالعه با هدف ا ستفاده از ا سانس‌های پونه کوهی و گل ختمی با غلظت ۱ g/kg As fed به شیر و برر سی تأثیر آن برعملکرد، ویژگی‌های ر شد، و ضعیت نمره مدفوع، تخمیر شکمبه و فرا سنجه‌های خون گو ساله‌های شیرخوار هلشتاین انجام شد. شش تیمار آزمایشی با دو سطح شیر خام مصرفی (شش لیتر و نه لیتر) و سه نوع ا سانس (بدون ا سانس، ا سانس پونه کوهی و ا سانس گل ختمی) در نظر گرفته شد. تعداد ۶۰ رأس گو ساله نر و ماده هلشتاین (۳/۰±۴۰/۱ کیلوگرم) با استفاده از طرح فاکتوریل (۳×۲) در قالب طرح کاملاً تصادفی به شش گروه ۱۰ رأسی با جنسیت و میانگین وزن یک سان تق سیم شدند. گو ساله‌ها به‌مدت سه روز در دو وعده آغوز دریافت کردند و سپس در سن هفت روزگی وارد آزمایش شدند. تیمارها شامل: ۱) مصرف شش لیتر شیر بدون ا سانس ۲) مصرف شش لیتر شیر به همراه ا سانس پونه کوهی ۳) مصرف شش لیتر شیر به همراه ا سانس گل ختمی ۴) مصرف نه لیتر شیر بدون اسانس ۵) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی و ۶) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی مورد بررسی قرار گرفت. خوراک آغازین م صرفی به صورت روزانه تعیین گردید و وزن‌ک شی گو ساله‌ها در زمان ورود به آزمایش، ۵۶ روزگی و ۷۰ روزگی انجام شد. نتایج نشان داد که میانگین مصرف خوراک آغازین، مصرف ماده خشک، افزایش وزن و ر شد ا سکلتی گروه‌های دریافت‌کننده ا سانس در مقایسه با گروه شاهد اثر معنی‌داری دا شت (P<۰/۰۵). بازده خوراک گروه مصرف‌کننده نه لیتر شیر بدون ا سانس (شاهد) در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری دا شت (P<۰/۰۵). ا ستفاده از ا سانس‌های گیاهی سبب تغییرات معنی‌داری در الگوی تخمیر میکروبی شکمبه و فرا سنجه‌های سرم خون گو ساله‌ها شد (P<۰/۰۵). گروه دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی شیوع اسهال و میانگین تعداد روزهای ابتلا به اسهال را کاهش داد. گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر به همراه ا سانس پونه کوهی اثرات مطلوبی بر امتیاز مدفوع در مقایسه با گروه نه لیتر شیر بدون ا سانس (شاهد) دا شت (P<۰/۰۵). در تمامی دوره‌های اندازه‌گیری pH مایع شکمبه در گروه شش لیتر شیر به همراه ا سانس پونه بالاترین مقدار را ن سبت به سایر گروه‌های دیگر دا شت (P<۰/۰۵). به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشـان داد که اسـتفاده از اسـانس با غلظت ۱ g/kg As fed منتج به عملکرد بهتر رشـد نخواهد شـد، امّا بازده خوراک، تخمیر شکمبه و سلامت د ستگاه گوارش ممکن ا ست منجر به عملکرد بهتر گو ساله‌های شیرخوار گردد. افزایش مقادیر شیر م صرفی گو ساله‌های شیرخوار هلشتاین باعث بهبود عملکرد رشد گردید، هر چند که بازده خوراک گروه نه لیتر شیر نسبت به شش لیتر شیر پایین‌تر بود.

واژه‌های کلیدی: اسانس گیاهی، تخمیر شکمبه‌ای، جیره آغازین، گوساله شیرخوار

مقدمه

موفقیت یک گاوداری تا حد زیادی به پرورش مناسـب گوسـاله‌ها

۱- دانشجوی دکتری تغذیه دام دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.
۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.
(*- نویسنده مسئول (Email: savakili@um.ac.ir

DOI: 10.22067/ijasr.2022.73066.1045

برای جایگزینی در گله وابسته است. برای داشتن گله شیری خوب باید گوساله‌های شیرخوار با استعداد ژنتیکی مطلوب را به‌روش مناسب تغذیه کرد (Abdel-Wareth *et al*., 2012). در دوره نوزادی ۶۰ درصد مرگ و میر گوساله‌ها ناشی از اسهال است. گوساله‌ها در اولین ماه پس از تولد بسیار حساس و آسیب‌پذیر هستند و با انواع بسیاری از باکتری‌های مضر روبرو می شوند. باکتری‌های بیماری‌زا مانند *اشرشیا کولی*، *سالمونلا* و *هلیکو باکتر* باعث اسهال در گوساله‌ها می‌شوند و در موارد شدید تر منجر به مرگ می‌گردند (Ammar *et al*., 2014). در سال‌های اخیر به‌دلیل استفاده‌ی گسترده از آنتی بیوتیک‌ها، مقاومت و جهش ژنتیکی عوامل بیماری‌زا در حیوانات و انسان‌ها افزایش یافته است. آنتی بیوتیک‌ها در سال ۱۹۸۶ در سوئد و سپس از سال ۲۰۰۵ در کشورهای اتحادیه اروپا به‌عنوان یک افزودنی خوراکی در تغذیه حیوانات ممنوع شد (Busquet *et al*., 2006). با توجه به اثرات ضدباکتری‌یایی و ضدقارچی، اسانس‌های گیاهی (کارواکرول و تیمول) اثرات کشندهای بر روی ریز جا نداران مضر مانند *Erwina amylovara*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Micrococcus luteuse*, *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus faecalis* دارند (De Oliveira *et al*., 2015). علاوه‌براین به‌دلیل تأثیر اسانس گیاهی بر میکروفلور روده، مطالعات زیادی وجود دارند. افزایش مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه بدن و جلوگیری از اسهال و برخی بیماری‌ها را هنگام مصرف اسانس‌های گیاهی گزارش کردند (Beharka *et al*., 1998; Castillo *et al*., 2012; Hernandez *et al*., 2004; Montoro *et al*., 2011). پونه کوهی از گیاهان خانواده نعنا (*Labiatae*) با نام علمی *Mentha pulegium* گیاهی چند ساله با ماده مؤثره منتول می‌باشد که باعث افزایش ترشح معده، ترغیب شروع مصرف خوراک و برای ناراحتی‌های گوارشی و اسهال به‌کار می‌رود (Castells *et al*., 2012). گل ختمی از گیاهان تیره پنیرکیان با نام علمی *Althaea officinalis* گیاهی چند ساله با ماده مؤثره موسیلاژ می‌باشد که باعث کاهش التهابات پوستی و تسکین ناراحتی‌های گوارشی می‌شود (Anderson *et al*., 1987). ترکیبات فعال اسانس‌های گیاهی به‌دلیل وجود گروه‌های هیدروکسیل در ساختار فنلی، فعالیت ضدمیکروبی مؤثری دارند. ترکیبات فعال اسانس‌های گیاهی ممکن است غشای سلولی باکتری را با مختل نمودن پروتون داخل سلولی و تغییر شیب‌های یونی (H^+) و (K^+) از بین ببرند و بر فرآیندهای ATP درون سلولی تأثیر بگذارند. لذا استفاده از اسانس‌های گیاهی با از بین بردن ریزجانداران مضر سبب بهبود عملکرد گوساله‌های شیرخوار شده‌اند (Beharka *et al*., 1998; Castillo *et al*., 2012; Hernandez *et al*., 2004).

از جنبه مصرف شیر، مطالعات نشان داده‌اند مصرف پایین مواد مغذی ممکن سبب افزایش مرگ و میر گوساله‌های شیرخوار و موجب مشکلات زیادی در صنعت دامپروری گردد (Santos *et al*., 2015). از مضرات تغذیه شیر با مقادیر محدود می‌توان به افزایش وزن و رشد اسکلتی پایین‌تر آن‌ها در مقایسه با گوساله‌های پرورش یافته با مقادیر بالای شیر اشاره کرد (De Oliveira *et al*., 2015). طی یک دهه گذشته چندین مطالعه اثرات افزایش عرضه شیر به گوساله‌های شیرخوار را بررسی کردند. این مطالعات افزایش وزن بالاتر، کاهش مرگ و میر و افزایش رفتار طبیعی را در گوساله هایی که با شیر بیشتری تغذیه شدند، گزارش کرده‌اند (Santos *et al*., 2015). امّا از مضرات افزایش عرضه شیر می‌توان به کاهش مصرف خوراک جامد در دوره شیر خوردن اشاره کرد. با این وجود، مصرف بالاتر شیر به‌دلیل افزایش مواد مغذی قابل دسترس برای گوساله، بهبود در عملکرد رشد ایجاد می‌کند. در این آزمایش، فرض می‌شود که مصرف بالای شیر با فراهمی بیشتر مواد مغذی و اسانس‌های گیاهی با از بین بردن عوامل بیماری‌زا و تثبیت فلور طبیعی دستگاه گوارش سبب بهبود عملکرد گوساله، کاهش اسهال و رشد کافی در زمان از شیرگیری می شود. به نظر می‌رسد تاکنون پژوهشی در زمینه افزودن اسانس‌های گیاهی به همراه مصرف مقادیر بالای شیر گوساله‌های شیرخوار انجام نشده است و با توجه به اینکه اوایل دوره رشد تأثیر گذار بر مراحل بعدی رشد است، این مطالعه در گوساله‌های شیرخوار انجام شد. بنابراین، تحقیق حاضر با هدف به‌کارگیری اسانس‌های گیاهی و مشخصاً اسانس های پونه کوهی (*Origanum L.onites*) و گل ختمی (*Althaea officinalis*) با غلظت 1 g/kg As fed در حضور سطوح مختلف مصرف شیر در دوره شیر خوارگی گوساله‌ها، و اثرات آن بر بهبود وضعیت سلامت، عملکرد رشد، تخمیر میکروبی و فراسنجه‌های خونی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در مزرعه تحقیقاتی گاو شیری دانشگاه فردوسی مشهد انجام گردید. در این تحقیق مجموعاً ۶۰ رأس گوساله هلشتاین به شش گروه تقسیم شدند. گوساله‌ها از روز هفتم وارد آزمایش شدند و در باکس‌های انفرادی نگهداری شدند. تیمارها شامل: ۱) مصرف شش لیتر شیر بدون اسانس ۲) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی ۳) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی ۴) مصرف نه لیتر شیر بدون اسانس ۵) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی و ۶) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی مورد برر سی قرار گرفت. این آزمایش از تاریخ ۱۸ شهریور ۱۳۹۸ لغایت ۹ دی ماه ۱۳۹۸ در مزرعه تحقیقاتی گاو شیری دانشگاه فردوسی مشهد انجام گرفت.اسانس‌های پونه کوهی و گل ختمی با غلظت 1 g/kg As fed (هر گوساله روزانه مقدار یک سی‌سی اسانس در شش و نه لیتر شیر) با ترکیبات مؤثر (پونه کوهی با ۵۷/۵ درصد

تیمول و گل ختمی با ۴۸ در صد مو سیلاژ) از شرکت تجاری اکسیر سرخ خریداری شد. آب تمیز و تازه (دمای ۲۰-۲۲ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت ۲۴ ساعت در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. مقدار شیر تا ۷۰ روزگی در تیمارهای با مصرف روزانه شش لیتر شیر و تیمارهای با مصرف روزانه نه لیتر شیر در سه وعده به گوساله‌ها خورانده شد (cc ۰/۳۳ اسانس برای هر وعده). مصرف خوراک به‌صورت هفتگی توسط سطل‌هایی که در جلوی جایگاه گوساله‌ها قرار گرفته بودند، اندازه‌گیری شده و هر روز خوراک تازه در اختیار گوساله‌ها قرار می‌گرفت، گوساله‌ها در هنگام ورود به طرح، وزن‌کشی شده و صفاتی مانند ارتفاع بدن (ارتفاع از جدوگاه)، ارتفاع هیپ، عرض هیپ (اندازه عرض استخوان لگن)، طول بدن (فاصله بین آخرین مهره گردن تا اولین مهره دمی)، دور سینه و عمق شکم در روزهای ورود به طرح، ۵۶ روزگی و خروج از طرح (۷۰ روزگی) اندازه‌گیری و یادداشت شد. نمره‌دهی مدفوع بر اساس روش پیشنهادی خان و همکاران (Khan *et al*., 2007) انجام گردید. نمره یک: مدفوع سفت (لوله‌ای)، نمره دو: مدفوع کمی شل (به صورت کپه‌ای)، نمره سه: مدفوع شل (جاری شده روی زمین) و نمره چهار: مدفوع خیلی شل (حالت آبکی در زمان خروج مدفوع) است. خون‌گیری در سه زمان ۷ ، ۳۵ و ۷۰ روزگی به‌صورت ناشتا از ورید وداج با استفاده از ونوجکت انجام شد. سرم خون جداسازی و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان تعیین فراسنجه‌های خونی نگهداری شد. فراسنجه‌های خونی مورد ارزیابی شامل گلوکز، انسولین، آلبومین، نیتروژن اوره خون، آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز و آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز بود. در سن ۷۰ روزگی چهار ساعت بعد از تغذیه وعده صبحگاهی به‌وسیله دستگاه مکش و لوله مری، نمونه برداری از شیرابه شکمبه گوساله‌ها انجام شد. pH نمونه‌ها بلافاصله توسط pHمتر دیجیتال (مدل ۶۹۱، شرکت Metrohm) تعیین و ثبت گردید و سپس نمونه‌ها با استفاده از پارچه متقال در ظرفی تمیز، صاف گردید. از هر گوساله یک نمونه به حجم ۲۰ میلی‌لیتر جمع‌آوری شد. سپس به آن‌ها پنج میلی‌لیتر متافسفریک اسید جهت توقف تخمیر افزوده شد و به‌منظور اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی سریعاً نمونه‌ها به فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد انتقال داده شدند. بررسی رفتار خوراک توسط روش ارائه شده کاستل و همکاران (Castells *et al*., 2012) با مشاهده چشمی به‌مدت چهار هفته (دو هفته قبل از ۵۶ روزگی و دو هفته پس از ۵۶ روزگی) روزانه برای تمامی گوساله‌ها به‌میزان یک ساعت قبل از مصرف شیر و یک ساعت پس از آن در هر تیمار صورت گرفت. بدین صورت که رفتار خوراک گوساله‌ها به‌مدت ۱۴ ساعت در هر هفته مورد ارزیابی قرار می‌گرفت. بنابراین، کل زمان مشاهده شده برای هر گوساله ۵۶ ساعت در کل دوره می‌باشد. پارامترهایی چون زمان ایستادن، نشخوار کردن، خوابیدن و رفتارهای ضدتغذیه‌ای گوساله‌ها مورد ارزیابی قرار می‌گرفتند و مشاهدات ثبت گردید. خوراک آغازین بر اساس توصیه‌های جداول انجمن ملی تحقیقات (۲۰۰۱) برای گروه‌های مختلف آزمایشی طبق جدول ۱ تنظیم گردید.

تجزیه تحلیل داده‌ها

در ارتباط با مقادیر مربوط به متغیرهای اندازه‌گیری شده در طول دوره آزمایشی، از برنامه Excell برای مرتب کردن داده‌ها استفاده شد و سپس داده‌های آزمایش تحت برنامه آماری SAS 9.1 و مدل‌های خطی عمومی (GLM) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسات میانگین با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری پنج درصد انجام شد.

مدل آماری طرح مذکور به شرح زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + A_j + B_k + AB_{jk} + e_{ijk}$$

که در آن، Yijk: مشاهده مربوط به گوساله iام در سطح jام فاکتور A و سطح kام فاکتور B، µ: میانگین کل، Aj: اثر شیر jام، B_k: اثر اسانس kام در تیمار jام، و eijk: خطای باقیمانده می‌باشد.

نتایج و بحث

مصرف خوراک، افزایش وزن و بازده خوراک

نتایج به‌دست آمده در مورد مصرف خوراک، ماده خشک مصرفی، افزایش وزن روزانه و بازده خوراک در جدول ۲ نشان داده شده است. جیره حاوی اسانس گیاهی پونه کوهی سبب کاهش مصرف خوراک در بین گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر شد (P<۰/۰۵). کاهش مصرف خوراک در برخی تحقیقات به هنگام استفاده از اسانس‌های گیاهی ممکن است مربوط به مشکلات خوشخوراکی اسانس‌ها باشد (Benchaar *et al*., 2007). گروه‌های دریافت‌کننده بدون اسانس (شاهد) بیشترین افزایش ماده خشک مصرفی (ماده خشک خوراک به همراه ماده خشک شیر) در کل دوره را نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده اسانس‌های گیاهی داشتند (P<۰/۰۵). نتایج مطالعات حاضر، گزارشات کاردینالی و همکاران (Cardinali et al., 2015) در خصوص اثر اسانس پونه کوهی بر مصرف خوراک را تأیید می‌کند. گوساله‌های دریافت‌کننده نه لیتر شیر دارای افزایش وزن بالاتری نسبت به گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر بودند و کمترین میزان افزایش وزن روزانه مربوط به گروه دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی بود (P<۰/۰۵). افزایش وزن روزانه در تمامی دوره‌ها در گروه دریافت‌کننده اسانس گل ختمی بیشتر از گروه دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی بود (P<۰/۰۵). نتایج مربوط به اثر افزایش مقدار شیر بر افزایش وزن روزانه مشابه با نتایج دنیس و همکاران (Dennis *et al*., 2018) بود که در آزمایشات این محقق افزایش مقدار شیر به گوساله ها منجر به افزایش وزن و به دنبال آن افزایش عملکرد گوساله‌های شیرخوار شده بود. به‌طور کلی، گوساله‌های دریافت‌کننده

نه لیتر شیر دارای بازده خوراک بالاتری نسبت به گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر بودند (P<۰/۰۵). بهبود بازده خوراک در تیمارهای حاوی اسانس پونه کوهی و گل ختمی می‌تواند بدلیل تغییر در فلور میکروبی شکمبه در حضور اسانس‌ها باشد، به‌طوری‌که کاهش باکتری‌های تولیدکننده گاز متان باعث کاهش متان شده و بهبود بازدهی خوراک را در پی دارد. مشاهدات مطالعات حاضر، نتایج مطالعات وفا و همکاران (Wafa et al., 2021) که اشاره به تأثیر اسانس‌ها بر بهبود بازده خوراک گوساله‌های شیرخوار هلشتاین داشت را تأیید می‌کند.

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب مواد مغذی جیره آغازین گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 1- Ingredients and chemical composition of basal diet for Holstein dairy calves

ترکیب جیره Diet composition	مقدار (درصد از ماده خشک) Value (%DM)
جو Barley grain	30
ذرت Corn grain	20
سبوس گندم Wheat bran	18
کنجاله سویا Soybean meal	25
کنجاله تخم پنبه Cotton seed meal	5
کربنات کلسیم Calcium carbonate	0.5
مکمل ویتامینی و مواد معدنی[۱] Mineral-vitamin supplement[1]	1.5
ترکیب مواد مغذی Chemical composition (٪)	
ماده خشک DM, % as fed	91
پروتئین خام Crude protein	21
چربی خام Fat	4.5
فیبر نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	21
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری بر کیلوگرم) Metabolizable energy (Mcal/kg)[2]	2.91
انرژی خالص افزایش وزن (مگاکالری بر کیلوگرم) Net gain energy (Mcal/kg)[3]	1.27

[۱] هر کیلوگرم مکمل معدنی و ویتامینی حاوی: ۲۵۰۰۰۰ واحد ویتامین A، ۵۰۰۰۰ واحد ویتامین D، ۱۵۰۰واحد ویتامین E، ۲۵/۲ گرم منگنز، ۱۲۰گرم کلسیم، ۷/۷ گرم روی، ۲۰ گرم فسفر، ۵/۲۰ گرم منیزیم، ۱۸۶ گرم سدیم، ۲۵/۱ گرم آهن، ۳ گرم گوگرد، ۱۴ میلی‌گرم کبالت، ۲۵/۱ گرم مس، ۵۶ میلی‌گرم ید

[1] Every kilogram of minaral and vitamin supplement containing: 250,000 IU vitamin A, 50,000 IU vitamin D, 1,500 IU vitamin E, 2.25 g Mn, 120 g Ca, 7.7 g Zn, 20 g P, 20.5 g Mg, 186 g Na, 1.25 g Fe, 3 g S, 14 mg Co, 1.25 g Cu, 56 mg I.

[2] ME = 1.1 × Digestible energy (Mcal/kg) – 0.45

[3] NEg = -0.003340 + 0.4979 BW/bw0.75

جدول ۲- میزان مصرف خوراک (گرم در روز)، مصرف ماده خشک (گرم در روز)، افزایش وزن روزانه (کیلوگرم در روز) و بازده خوراک (گرم در روز)گوساله‌های هلشتاین تغذیه شده با مقادیر بالای شیر با یا بدون اسانس‌های پونه کوهی و گل ختمی

Table 2- Feed intake, dry matter intake, average daily gain and feed efficiency of Holstein dairy calves fed high levels milk with or without essential oils

فراسنجه Parameter	تیمارهای آزمایشی[۱] Experimental diets[1]						SEM[2]	P-value[3]		
	شش لیتر شیر 6 liter milk			نه لیتر شیر 9 liter milk						
	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی *Origanum L.onites*	گل ختمی *Althaea officinalis*	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی *Origanum L.onites*	گل ختمی *Althaea officinalis*		شش در مقابل نه 6 liter milk VS 9 liter milk	اسانس Essential oil	شیر در مقابل اسانس Milk VS Essential oil
مصرف خوراک (گرم در روز) Feed intake (g/d)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	866.48^{a}	772.42^{ab}	756.35^{b}	768.64^{ab}	738.63^{b}	734.88^{b}	13.27	0.0659	0.0750	0.4624
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	939.19^{a}	813.40^{b}	842.52^{b}	898.88^{ab}	829.61^{b}	845.73^{b}	11.89	0.7722	0.0068	0.6030
کل دوره Total period	635.31^{a}	447.06^{b}	491.61^{ab}	492.72^{ab}	461.22^{b}	472.81^{b}	7.10	0.2783	0.0078	0.2795
مصرف ماده خشک (گرم در روز) dry matter intake (g/d)										
روز ۵۶– ۷ 7 - 56 d	863.80^{a}	777.89^{ab}	763.28^{b}	811.96^{ab}	784.64^{ab}	781.23^{ab}	12.07	0.7112	0.0749	0.4595
روز ۷۰– ۵۶ 56 - 70 d	929.66^{a}	815.19^{b}	841.69^{b}	930.47^{a}	867.44^{ab}	883.48^{ab}	10.88	0.1589	0.0072	0.6011
کل دوره Total period	562.12^{a}	481.82^{b}	522.26^{ab}	560.87^{a}	532.20^{a}	542.75^{a}	6.46	0.0850	0.0078	0.2796
افزایش وزن روزانه (کیلوگرم) Daily weight gain (kg)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	0.835^{bc}	0.660^{d}	0.820^{c}	0.990^{a}	0.886^{bc}	0.901^{b}	0.0096	<0001	<0001	0.0178
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	0.684^{a}	0.665^{a}	0.704^{a}	0.683^{a}	0.740^{a}	0.741^{a}	0.0119	0.0030	0.0006	0.0263
کل دوره Total period	0.797^{cb}	0.771^{c}	0.811^{cab}	0.817^{cab}	0.870^{a}	0.851^{ab}	0.0087	<0001	0.0001	0.0382
بازده خوراک (گرم در روز) Feed efficiency (g/d)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	0.981^{c}	0.858^{d}	1.07^{cb}	1.22^{a}	1.12^{ab}	1.14^{ab}	0.0166	<0001	0.0118	0.0465
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	0.761^{ab}	0.696^{b}	0.878^{a}	0.868^{a}	0.810^{ab}	0.820^{ab}	0.0185	0.1599	0.1233	0.1229
کل دوره Total period	1.45^{b}	1.40^{b}	1.52^{ab}	1.66^{a}	1.59^{ab}	1.57^{ab}	0.0248	0.0043	0.5846	0.3737

[۱] تیمارها: ۱) مصرف شش لیتر شیر بدون اسانس، ۲) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی، ۳) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی، ۴) مصرف نه لیتر شیر بدون اسانس، ۵) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی و ۶) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی

[۲] میانگین خطای استاندارد

[۳] سطح احتمال معنی‌دار شدن: P= ۰/۰۵

[1] Treatment consisted 1) 6 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 2) 6 L/d milk with *Oregano* essential oil, 3) 6 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil, 4) 9 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 5) 9 L/d milk with *Oregano* essential oil and 6) 9 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil.

[2] Standard error of mean

[3] Probability value p= 0.05

فراسنجه‌های رشد اسکلتی

اندازه‌گیری فراسنجه‌های رشد اسکلتی در زمان‌های ۷ تا ۵۶ روزگی و ۵۶ تا ۷۰ روزگی صورت گرفت. این پارامترها شامل: طول بدن، ارتفاع هیپ، عرض هیپ، دور سینه، عمق شکم و ارتفاع بدن (قد) بودند. با توجه به جدول ۳ در پایان دوره فرا سنجه‌های ر شدی و اسکلتی گوساله‌ها در گروه دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی نسبت به دیگر گروه‌ها کمتر بود (P<۰/۰۵). عرض هیپ، ارتفاع هیپ و عمق شکم در هر دو دوره ۷-۵۶ و ۵۶-۷۰ روزگی در گوساله های دریافت‌کننده اسانس گل ختمی نسبت به گروه دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی بالاتر بود (P<۰/۰۵). گروه دریافت‌کننده روزانه نه لیتر شیر نسبت به گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر عملکرد بالاتر و بیشتری نشان دادند (P<۰/۰۵). عمق شکم، عرض هیپ، ارتفاع هیپ و طول بدن در گروه دریافت‌کننده نه لیتر شیر بیشتر بود که می‌توان درباره عمق شکم چنین نتیجه گرفت که به‌دلیل افزایش حجم شیر در گوساله‌های دریافت‌کننده روزانه نه لیتر شیر حجم شکمبه بالاتری داشتند و این سبب افزایش عمق شکم شده است. اطلاعات زیادی درباره اثر اسانس‌های گیاهی پونه کوهی و گل ختمی بر فراسنجه‌های رشد گوساله‌های شیرخوار وجود ندارد، امّا ترکیبات فعال آن‌ها در تحقیقات مختلف مورد بررسی قرار گرفته‌اند که نتایج متفاوت به‌دست آمده است. معنی‌دار شدن اثر اسانس‌ها بر رشد اسکلتی به‌نظر می‌رسد احتمالا به‌علت تحت تأثیر قرار گرفتن مقدار غلظت اسانس بر عملکرد گوساله‌ها و عدم تامین مواد معدنی و ویتامینه مورد نیاز اسکلت در گروه‌های آزمایشی حاوی اسانس پونه کوهی بوده است. با این حال بررسی‌های بیشتر روی دیگر متابولیت‌های خونی مانند کلسیم و فسفر برای اظهار نظر دقیق تر در این زمینه می‌تواند راهگشای دقیق‌تر در زمینه تأثیر اسانس‌های گیاهی بر رشد اسکلتی باشد. در مطالعات بیرانوند و همکاران (Beiranvand et al., 2014) و گزارشات دنیس و همکاران (Dennis et al., 2018) اشاره شده است که جذب بالایی از کلسیم ممکن است در شکمبه رخ دهد و میزان جذب تا ۵۰ درصد اشاره شده است و به‌علت غنی بودن شیر از کلسیم سبب شده که گوساله‌های تحت اثر گروه دریافت‌کننده نه لیتر شیر شرایط بهتر جذب کلسیم در شکمبه و رشد اسکلتی داشته باشند. نتایج مطالعه حاضر با مطالعات انجام شده دنیس و همکاران (Dennis et al., 2018) منطبق می‌باشد.

pH، اسیدهای چرب مایع شکمبه، نمره مدفوع و روزهای ابتلا به اسهال

میانگین pH مایع شکمبه برای تیمارهای آزمایشی در دوره‌های ۳۵، ۵۶ و ۷۰ روزگی در جدول ۴ آورده شده است. نتایج نشان داد گروه‌های دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی دارای pH مایع شکمبه‌ای بالاتری نسبت به دیگر گروه‌ها بود که این ممکن است ناشی از اثر اسانس پونه کوهی بر فرایند تخمیر شکمبه باشد. همچنین طبق نظریه جاک و همکاران (Joch *et al*., 2016) به‌دلیل پایین‌تر بودن مصرف خوراک در گروه‌های دریافت‌کننده اسانس نسبت به گروه شاهد، باعث جذب بیشتر اسیدهای چرب فرار شده است و یا ممکن است خاصیت ضدمیکروبی اسانس‌ها منجر به بالا رفتن pH مایع شکمبه شده باشد. نتایج مطالعه حاضر با گزارشات جاک و همکاران (Joch *et al*., 2016) در ارتباط با افزایش مصرف خوراک و عملکرد آن بر تخمیر میکروبی شکمبه تا حدودی موافق بود. همچنین طبق نظریه بهارکا و همکاران (Beharka *et al*., 1998) به‌دلیل بالاتر بودن مصرف خوراک در گروه‌های حاوی شش لیتر نسبت به گروه نه لیتر باعث توسعه بهتر شکمبه شده است و در نتیجه، جذب بیشتر اسیدهای چرب رخ داده است. گوساله‌ها در چهار هفته اول زندگی خود از نظر ابتلا به اسهال آسیب‌پذیر هستند. این مسئله به‌دلیل توسعه نیافته بودن شکمبه و متعاقب آن گوارش ناقص خوراک خورده شده بروز می‌کند. امتیاز مدفوع کل دوره درگروه دریافت‌کننده روزانه شش لیتر شیر در مقایسه با گروه دریافت‌کننده روزانه نه لیتر شیر پایین‌تر بود (P< ۰/۰۵). با توجه به نتایج مشخص است که امتیاز مدفوع تحت تأثیر دریافت اسانس پونه کوهی قرار گرفت (P< ۰/۰۵). اطلاعات زیادی درباره اثر اسانس‌های گیاهی پونه کوهی و گل ختمی بر امتیاز مدفوع گوساله‌های شیرخوار وجود ندارد، امّا وجود ترکیبات فعال ثانویه در تحقیقات مختلف مورد بررسی قرار گرفته اند که نتایج متفاوت به‌دست آمده است. معنی‌دار شدن اثر اسانس‌ها بر امتیاز مدفوع به نظر می‌رسد احتمالاً به‌علت تحت تأثیر قرار گرفتن مقدار غلظت اسانس بر کاهش مصرف خوراک و متعاقب آن کاهش عملکرد گوساله‌های گروه دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی و یا به‌دلیل اثر اسانس پونه کوهی بر عملکرد تخمیر میکروبی شکمبه و کاهش جمعیت میکروبی بیماری‌زا در شکمبه می‌باشد. گروه دریافت‌کننده روزانه شش لیتر شیر در مقایسه با گروه دریافت‌کننده روزانه نه لیتر شیر دارای روزهای ابتلا به اسهال کمتری بودند (P< ۰/۰۵). نتایج مطالعه حاضر هم راستا با مطالعه روزنبرگر و همکاران (Rosenberger et al., 2017) می‌باشد که اشاره به این دارد که افزایش سطح عرضه شیر به گوساله به‌دلیل دارا بودن مقادیر یون کلسیم و پتاسیم در شیر باعث خاصیت ملینی و افزایش روزهای مبتلا به اسهال می‌شوند، با این حال با مدیریت شرایط بهداشتی محیط می‌توان میزان اسهال را کاهش داد. با توجه به نتایج مشخص است که روزهای ابتلا به اسهال تحت تأثیر دریافت اسانس پونه کوهی قرار گرفت (P< ۰/۰۵).

جدول ۳- فراسنجه‌های رشد اسکلتی (سانتی‌متر) گوساله‌های شیری هلشتاین تغذیه شده با مقادیر بالای شیر با یا بدون اسانس گیاهی پونه کوهی و گل ختمی

Table 3- Body measurements of Holstein dairy calves fed with the experimental diets high levels milk with or without essential oils

فراسنجه Parameter	تیمارهای آزمایشی[1] Experimental diets[1]						SEM[2]	P-value[3]		
	شش لیتر شیر 6 liter milk			نه لیتر شیر 9 liter milk						
	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis		شش در مقابل نه 6 liter milk VS 9 liter milk	اسانس Essential oil	شیر در مقابل اسانس Milk VS Essential oil
طول بدن (سانتی‌متر) Body length (cm)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	73[b]	70[c]	72.25[cb]	77.66[a]	74.83[ab]	74.91[ab]	0.3791	<0001	0.0149	0.4424
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	80.08[b]	79.08[b]	79.16[b]	83.41[a]	81.08[ab]	81.16[ab]	0.3327	0.0011	0.0901	0.6452
ارتفاع هیپ (سانتی‌متر) Hip height (cm)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	90.66[dc]	86.75[e]	89.91[d]	94.16[a]	91.5[cb]	91.91[b]	0.1258	<0001	<0001	0.0007
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	95.33[dc]	93.16[e]	94.25[de]	99.16[a]	96.41[bc]	96.58[b]	0.1527	<0001	<0001	0.1509
عرض هیپ (سانتی‌متر) Hip width (cm)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	22.16[b]	20.75[c]	22.08[b]	24.08[a]	22.33[b]	22.5[b]	0.1737	0.0009	0.0040	0.2010
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	23.83[bc]	21.58[d]	23.5[c]	26.15[a]	24[bc]	24.5[b]	0.1225	<0001	<0001	0.0454
دور سینه (سانتی‌متر) Heart girth (cm)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	93.66[ab]	91.25[b]	93.58[ab]	96.33[a]	94[ab]	94.41[a]	0.4010	0.0155	0.0709	0.5522
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	96.83[a]	92.91[b]	96.66[a]	100.08[a]	97.08[a]	97.66[a]	0.4625	0.0056	0.0177	0.3703
عمق شکم (سانتی‌متر) Body barrel (cm)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	94.83[ab]	91.58[d]	94.08[cb]	96.08[a]	93[cb]	94[cb]	0.2011	0.0423	<0001	0.2672
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	97.5[bc]	94.33[d]	96.5[c]	100.33[a]	97.5[bc]	98.66[b]	0.1856	<0001	<0001	0.5425
ارتفاع بدن (سانتی‌متر) Withers height (cm)										
روز ۵۶ – ۷ 7 - 56 d	86[b]	83.5[b]	85.41[b]	90.25[a]	86.25[b]	87.41[ab]	0.4990	0.0060	0.0444	0.6494
روز ۷۰ – ۵۶ 56 - 70 d	88.41[ab]	85.33[b]	88.25[ab]	92.25[a]	89.08[ab]	89.41[ab]	0.5459	0.0131	0.0845	0.5343

[1] تیمارها: ۱) مصرف شش لیتر شیر بدون اسانس، ۲) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی، ۳) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی، ۴) مصرف نه لیتر شیر بدون اسانس، ۵) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی و ۶) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی

[2] میانگین خطای استاندارد

[3] سطح احتمال معنی‌دار شدن: P= ۰/۰۵

[1] Treatment consisted 1) 6 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 2) 6 L/d milk with *Oregano* essential oil, 3) 6 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil, 4) 9 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 5) 9 L/d milk with *Oregano* essential oil and 6) 9 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil.

[2] Standard error of mean

[3] Probability value p= 0.05

گروههایی که دریافت‌کننده اسانس‌های پونه کوهی و گل ختمی بودند، میزان روزهای ابتلا به اسهال پایین‌تری نسبت به گوساله‌هایی که اسانس‌های پونه کوهی و گل ختمی دریافت نکرده بودند، داشتند (P<۰/۰۵). این اتفاق به دو دلیل می‌تواند رخ داده باشد، اول اینکه به‌دلیل کاهش مصرف خوراک در گوساله‌های گروه دریافت‌کننده اسانس‌های گیاهی مقدار روزهای ابتلا به اسهال و اسکور مدفوع پایین‌تری داشتند، بنابراین قدرت جذب اسیدچرب فرار و تخمیر شکمبه در مقایسه با گروه دریافت‌کننده بدون اسانس افزایش یافته و بنابراین، محققان روزهای ابتلا به اسهال و اسکور مدفوع کمتر در گروه دریافت‌کننده اسانس‌های گیاهی را به‌دلیل جذب بیشتر اسید چرب فرار در شکمبه بیان کردند. دلیل دوم احتمالاً کاهش باکتری‌های بیماری‌زا در دستگاه گوارش به‌علت خاصیت اثر ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی به‌ویژه اسانس پونه کوهی و در نتیجه، افزایش سلامت دستگاه گوارش می‌باشد. فراسنجه‌های تخمیر شکمبه تحت تأثیر مصرف مقادیر بالای شیر قرار گرفت و فراسنجه‌های تخمیر شکمبه گروه دریافت‌کننده نه لیتر شیر نسبت به گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر بالاترین مقدار را داشت (P<۰/۰۵)، با این حال الگوی تخمیر میکروبی تحت تأثیر افزودن اسانس‌های پونه کوهی و گل ختمی قرار نگرفت. نتایج مطالعه حاضر با مطالعات ژو و همکاران (Zhou *et al*., 2020) در ارتباط با اثر غلظت‌های مختلف اسانس پونه کوهی (۱۳، ۵۲، ۹۱، ۱۳۰، ۱۵۰ و ۱۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) و عملکرد آن بر مقدار اسیدهای چرب فرار مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده گردید، غلظت کل اسیدهای چرب فرار، استات، پروپیونات، بوتیرات، والرات و ایزو والرات با افزایش غلظت اسانس پونه کوهی کاهش یافت، هم راستا است.

فراسنجه‌های خونی

نتایج مربوط به فراسنجه‌های خونی نشان داد، اثر اسانس‌های پونه کوهی و گل ختمی بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌ها معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). اطلاعات بسیار کمی در رابطه با تأثیر اسانس‌های گیاهی بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار در دسترس است. مطالعات یانگ و همکاران (Yang *et al*., 2016) نشان داد که غلظت برخی از فراسنجه‌های خون مانند گلوکز و انسولین می‌تواند به‌وسیله استفاده از اسانس‌های گیاهی از طریق مقدار مصرف خوراک تحت تأثیر قرار گیرد. با توجه به نتایج جدول ۵، غلظت انسولین و گلوکز در سن ۷۰ روزگی، آلانین آمینو ترانسفراز در سن ۷، ۳۵ و ۷۰ روزگی و آلبومین در سن ۷ و ۳۵ روزگی، گروه دریافت‌کننده اسانس پونه کوهی غلظت کمتری نسبت به اسانس گل ختمی داشت (p<۰/۰۵). نتایج مربوط به فراسنجه‌های خونی نشان داد که دریافت مقادیر نه لیتر شیر نسبت به دریافت مقادیر شش لیتر شیر بالاتر بود (p<۰/۰۵). با توجه به اینکه منبع انرژی گوساله‌های شیرخوار گلوکز می‌باشد و از آن‌جایی که گروه‌های آزمایشی تحت تأثیر مقادیر بالای دریافت شیر قرار گرفتند، تغییر غلظت گلوکز و انسولین قابل انتظار بود. همان‌گونه که در جدول ۵ نشان داده شده است. مقدار نیتروژن اوره خون در این پژوهش تحت تأثیر اسانس پونه کوهی قرار گرفت و معنی‌دار شد (P<۰/۰۵). سنتز اوره در کبد از آمونیاک جذب شده از جدار شکمبه صورت می‌گیرد، بنابراین غلظت نیتروژن اوره خون رابطه مستقیمی با غلظت آمونیاک شکمبه دارد (Souza *et al*., 2007). نتایج مطالعه حاضر با مطالعات سایر محققان همراستا می‌باشد (Grigore *et al*., 2010; Rusenova and Parvanov 2009; Zhou et al., 2020). همان‌گونه که در جدول ۵ نشان داده شده است. آلبومین خون گروه دریافت‌کننده نه لیتر نسبت به گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر غلظت بیشتری داشت (p<۰/۰۵). استفاده از اسانس‌های گیاهی باعث تغییر غلظت در آنزیم کبدی آلانین آمینو ترانسفراز شد (p<۰/۰۵). با این وجود، آنزیم کبدی آسپارتات آمینو ترانسفراز تحت تأثیر اسانس‌های پونه کوهی و گل ختمی قرار نگرفت. نتایج مطالعه حاضر با مطالعات گریگور و همکاران (Grigore *et al*., 2010) و جاخیا و همکاران (Jakhetia *et al*., 2010) که نشان دادند فعالیت فارکولوژیکی ترکیب فعال تیمول و کارواکرول باعث کاهش غلظت آنزیم‌های کبدی می‌شود هم‌راستا می‌باشد. مطالعه حاضر با نتایج چاوز و همکاران (Chaves *et al*., 2008) که با مکمل کردن اسانس‌های گیاهی در جیره اثری بر فراسنجه‌های خونی مشاهده نکردند، هم‌راستا نبود. همچنین مطالعه وکیلی و همکاران (Vakili *et al*., 2013) نشان دادند که افزودن اسانس‌های آویشن و دارچین به جیره گوساله‌های پرواری بر فراسنجه‌های خونی اثر نداشت. آنلو و همکاران (Ünlü and Rekik 2013 .,) اشاره داشتند، اسانس‌ها سبب افزایش هشت برابری آلانین آمینو ترانسفراز می‌شود. با این وجود، سیمیتز و همکاران (Simitis *et al*., 2008) اشاره به کاهش غلظت آلانین آمینو ترانسفراز در حضور اسانس گیاهی داشتند.

جدول ٤- pH و اسیدهای چرب مایع شکمبه گوساله‌های شیری هلشتاین تغذیه شده با مقادیر بالای شیر با یا بدون اسانس گیاهی پونه کوهی و گل ختمی

Table 4- pH and ruminal fluid fatty acid of Holstein dairy calves fed with the experimental diets high levels milk with or without essential oils

فراسنجه Parameter	تیمارهای آزمایشی[۱] Experimental diets[1] — شش لیتر شیر 6 liter milk			نه لیترشیر 9 liter milk			SEM[2]	P-value[3]		
	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis		شش در مقابل نه 6 liter milk VS 9 liter milk	اسانس Essential oil	شیر در مقابل اسانس Milk VS Essential oil
pH مایع شکمبه (میلی‌مول در لیتر) Ruminal pH fluid (mmol/l)										
روز ۳۵ 35 d	5.17^{ab}	5.24^{a}	5.21^{a}	5.01^{d}	5.12^{cb}	5.06^{cd}	0.0149	<0001	0.0209	0.7118
روز ۵۶ 56 d	5.36^{ab}	5.41^{a}	5.33^{b}	5.12^{c}	5.16^{c}	5.13^{c}	0.0110	<0001	0.0277	0.4289
روز ۷۰ 70 d	5.95^{a}	6.08^{a}	5.92^{a}	5.35^{b}	5.54^{b}	5.31^{b}	0.0552	<0001	0.1506	0.9335
اسیدچرب مایع شکمبه (میلی‌مول در لیتر) Ruminal fluid fatty acid (mmol/l)										
استات Acetate	26.62^{cb}	25.99^{c}	25.78^{c}	28.53^{a}	27.25^{cab}	27.94^{ab}	0.2722	0.0010	0.1580	0.6408
پروپیونات Propionate	28.14^{cb}	27.20^{c}	27.07^{c}	30.05^{a}	28.96^{ab}	29.33^{ab}	0.3017	0.0009	0.1541	0.8907
ایزوبوتیرات Isobutyrate	0.740^{b}	0.746^{ab}	0.746^{ab}	0.760^{a}	0.760^{a}	0.760^{a}	0.0026	0.0019	0.7082	0.7082
بوتیرات Butyrate	3.08^{cb}	2.99^{c}	3.02^{c}	3.23^{a}	3.15^{ab}	3.16^{ab}	0.0217	0.0006	0.1275	0.9756
ایزووالرات Isovalerate	0.726^{cab}	0.713^{cb}	0.710^{c}	0.743^{a}	0.733^{ab}	0.740^{a}	0.0038	0.0021	0.2139	0.5955
والرات Valerate	1.26^{ab}	1.22^{b}	1.23^{b}	1.32^{a}	1.3^{a}	1.29^{a}	0.0107	0.0012	0.1932	0.7629
کل اسید چرب Total fatty acid	60.61^{cdb}	58.89^{cd}	58.59^{d}	64.67^{a}	62.19^{cab}	63.23^{ab}	0.6067	0.0009	0.1529	0.8185
اسکور مدفوع Facal score	2.56^{c}	2.13^{d}	2.67^{c}	3.56^{a}	3.29^{b}	3.3^{b}	0.0336	<0001	0.0007	0.0112
روزهای ابتلا به اسهال Days of diarrhea	2.66^{cd}	1.87^{d}	2.83^{cb}	4.16^{a}	3.66^{ab}	4.5^{a}	0.1281	<0001	0.0205	0.8692

[۱] تیمارها: ۱) مصرف شش لیتر شیر بدون اسانس، ۲) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی، ۳) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی، ۴) مصرف نه لیتر شیر بدون اسانس، ۵) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی و ۶) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی

[۲] میانگین خطای استاندارد

[۳] سطح احتمال معنی‌دار شدن: P= ۰/۰۵

[1] Treatment consisted 1) 6 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 2) 6 L/d milk with Oregano essential oil, 3) 6 L/d milk with Althaea offieinalis essential oil, 4) 9 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 5) 9 L/d milk with Oregano essential oil and 6) 9 L/d milk with Althaea offieinalis essential oil.

[2] Standard error of mean

[3] Probability value p= 0.05

جدول ۵- فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تغذیه شده با مقادیر بالای شیر با یا بدون اسانس‌های پونه کوهی و گل ختمی

Table 5- Blood metabolites of Holstein dairy calves fed with the experimental diets high levels milk with or without essential oils

فراسنجه Parameter	تیمارهای آزمایشی[۱] Experimental diets[1]						SEM[2]	P-value[3]		
	شش لیتر شیر 6 liter milk			نه لیتر شیر 9 liter milk						
	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis		شش در مقابل نه 6 liter milk VS 9 liter milk	اسانس Essential oil	شیر در مقابل اسانس Milk VS essential oil
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی لیتر) Glucose (mg/dl)										
روز ۷ 7 d	69.66[a]	68.00[b]	69.00[ab]	69.00[ab]	70.00[a]	69.33[a]	0.1825	0.0569	0.5905	0.0057
روز ۳۵ 35 d	83.00[b]	82.00[b]	82.66[b]	90.66[a]	88.00[a]	90.00[a]	0.5431	<0001	0.1821	0.6563
روز ۷۰ 70 d	86.00[c]	84.00[d]	85.66[cd]	96.00[a]	94.00[b]	95.33[ab]	0.3162	<0001	0.0115	0.9408
آلبومین (گرم بر دسی لیتر) Albumin (g/dl)										
روز ۷ 7 d	3.17[b]	2.78[c]	3.15[b]	3.37[a]	3.28[ab]	3.34[a]	0.0286	<0001	0.0013	0.0154
روز ۳۵ 35 d	3.43[b]	3.13[d]	3.35[c]	3.58[a]	3.46[b]	3.54[a]	0.0133	<0001	<0001	0.0077
روز ۷۰ 70 d	3.54[b]	3.36[c]	3.50[bc]	3.93[a]	3.84[a]	3.85[a]	0.0264	<0001	0.0433	0.3735
نیتروژن اوره خون (میلی‌گرم در دسی لیتر) Blood urea nitrogen (mg/dl)										
روز ۷ 7 d	15.30[a]	15.33[a]	15.22[a]	15.56[a]	15.50[a]	15.59[a]	0.0739	0.0289	0.9826	0.7439
روز ۳۵ 35 d	19.50[b]	17.53[c]	19.10[b]	22.03[a]	20.96[a]	21.66[a]	0.1925	<0001	0.0028	0.3493
روز ۷۰ 70 d	17.76[b]	15.93[c]	17.48[b]	19.13[a]	18.86[a]	18.96[a]	0.1227	<0001	0.0014	0.0071
آسپارتات آمینو ترانسفراز (واحد درآنزیم) Aspartate Aminotransferase (IU/l)										
روز ۷ 7 d	44.00[a]	43.46[a]	43.80[a]	43.70[a]	43.86[a]	44.16[a]	0.2094	0.6108	0.6906	0.5712
روز ۳۵ 35 d	66.00[b]	65.50[b]	65.83[b]	67.80[a]	67.60[a]	67.60[a]	0.2728	0.0006	0.7655	0.9278
روز ۷۰ 70 d	71.36[b]	71.16[b]	71.16[b]	76.70[a]	76.30[a]	76.53[a]	0.1880	<0001	0.9612	0.9282
آلانین آمینو ترانسفراز (واحد درآنزیم) Alanine aminotransferase (IU/l)										
روز ۷ 7 d	7.83[ab]	7.16[b]	7.53[ab]	8.40[a]	7.36[b]	8.33[a]	0.1623	0.0461	0.0302	0.5780
روز ۳۵ 35 d	9.63[b]	7.86[c]	9.66[b]	11.93[a]	9.53[b]	11.43[a]	0.1566	<0001	<0001	0.4814
روز ۷۰ 70 d	23.20[a]	16.36[c]	22.96[a]	24.23[a]	18.66[b]	23.90[a]	0.2603	0.0031	<0001	0.2849
انسولین (میلی‌گرم در دسی لیتر) Insulin (mg/dl)										
روز ۷ 7 d	8.16[ab]	8.36[ab]	7.60[b]	8.33[ab]	8.86[a]	8.40[ab]	0.1712	0.0711	0.1629	0.5826
روز ۳۵ 35 d	7.46[b]	5.43[c]	7.06[cb]	9.63[a]	8.33[ab]	8.83[ab]	0.3501	0.0010	0.0567	0.6504
روز ۷۰ 70 d	6.20[c]	4.60[d]	5.50[c]	8.36[a]	7.23[b]	7.70[ab]	0.1433	<0001	0.0009	0.5937

[۱] تیمارها: ۱) مصرف شش لیتر شیر بدون اسانس، ۲) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی، ۳) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی، ۴) مصرف نه لیتر شیر بدون اسانس، ۵) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی و ۶) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی

[۲] میانگین خطای استاندارد

[۳] سطح احتمال معنی¬دار شدن: ۰/۰۵ =P

[1] Treatment consisted 1) 6 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 2) 6 L/d milk with *Oregano* essential oil, 3) 6 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil, 4) 9 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 5) 9 L/d milk with *Oregano* essential oil and 6) 9 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil.

[2] Standard error of mean

[3] Probability value p= 0.05

جدول ٦– کل زمان مربوط به تفاوت رفتار خوراک (دقیقه) گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تغذیه شده با مقادیر بالای شیر با یا بدون اسانس پونه کوهی و گل ختمی

Table 6- Feed behavior of Holstein dairy calves fed with the experimental diets high levels milk with or without essential oils

فراسنجه Parameter	تیمارهای آزمایشی[1] Experimental diets[1]						SEM[2]	P-value[3]		
	شش لیتر شیر 6 liter milk			نه لیتر شیر 9 liter milk						
	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis	بدون اسانس Without essential oil	پونه کوهی Origanum L.onites	گل ختمی Althaea officinalis		شش در مقابل نه 6 liter milk VS 9 liter milk	اسانس Essential oil	شیر در مقابل اسانس Milk VS essential oil
رفتارخوراک (دقیقه) Feed behavior										
ایستادن Stand	188.53[a]	170.93[c]	183.34[ab]	179.35[b]	169.53[c]	177.35[b]	0.8395	0.0030	<0001	0.1854
خوابیدن Sleep	196.99[e]	243.63[a]	201.58[d]	216.11[c]	242.3[a]	221.6[b]	0.5399	<0001	<0001	<0001
مصرف خوراک Feed consume	27.99[a]	20.45[b]	27.31[a]	26.78[a]	20.56[b]	26.45[a]	0.4987	0.7737	0.0078	0.9169
نشخوار Ruminant	34.66[a]	13.37[c]	36.00[a]	21.99[b]	13.30[c]	20.82[b]	0.6236	<0001	<0001	<0001
رفتارغیرتغذیه‌ای Non-nutritional behavior	31.81[b]	31.57[b]	31.76[b]	35.75[a]	34.48[a]	33.75[ab]	0.3138	<0001	0.3987	0.4583

[1] تیمارها: ۱) مصرف شش لیتر شیر بدون اسانس، ۲) مصرفشش لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی، ۳) مصرف شش لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی، ۴) مصرف نه لیتر شیر بدون اسانس، ۵) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس پونه کوهی و ۶) مصرف نه لیتر شیر به همراه اسانس گل ختمی

[2] میانگین خطای استاندارد

[3] سطح احتمال معنی‌دار شدن: P= ۰/۰۵

[1] Treatment consisted 1) 6 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 2) 6 L/d milk with *Oregano* essential oil, 3) 6 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil, 4) 9 L/d milk control without inclusion of any essential oil supplementation, 5) 9 L/d milk with *Oregano* essential oil and 6) 9 L/d milk with *Althaea offieinalis* essential oil.

[2] Standard error of mean

[3] Probability value p= 0.05

بررسی رفتار خوراک

برر سی رفتار خوراک به‌روش کا ستل و همکاران (Castells *et al.*, 2012) به‌شـکل مشـاهدات چشـمی به‌مدت دو هفته قبل از ۵۶ روزگی تا دو هفته بعد از ۵۶ روزگی برای همه گوســاله‌ها در هر گروه انجام پذیرفت. برای بررسی رفتار خوراک، گوساله‌ها به‌مدت ۱۴ ساعت در هر هفته مورد مشاهده چشمی قرار می‌گرفتند. بنابراین، تمام زمانی که م شاهده چ شمی انجام گرفت برای هر گو ساله ۵۶ ساعت در کل دوره بود. م یانگین ز مان های مربوط به رفتار خوراک در تیمار های مختلف در جدول ۶ نشــان داده شــده اســت. گوســاله‌های گروه دریافت‌کننده روزانه شش لیتر بدون ا سانس (شاهد)، زمان بیشتری را به مصرف خوراک، ایستادن و نشخوار سپری می‌کردند (P< ۰/۰۵)، در حالی که گوسـاله‌های دریافت‌کننده گروه روزانه نه لیتر شـیر به همراه اســانس گیاهی پونه کوهی میزان زمان بیشــتری را صــرف خوابیدن کردند. مصــرف خوراک، ایســتادن و نشــخوار بین گروه دریافت‌کننده ا سانس گل ختمی بیشتر از ا سانس پونه کوهی بود (P< ۰/۰۵). نتایج این مطالعه اشاره به تأثیر منفی اسانس پونه کوهی در تحریک مصرف خوراک (احتمالاً به‌علت عدم خوش‌خوراکی اســانس پونه کوهی) و فعالیت نشــخوار دارد که با اندازه‌گیری‌های مربوط به مصــرف خوراک منطبق می‌با شد. همچنین نتایج این م شاهدات با گزار شات کا ستل و همکاران (Castells *et al.*, 2012) همراسـتا می‌باشـد که اشـاره به تأثیر افزایش زمان مصــرف خوراک، افزایش زمان نشــخوار و کاهش زمان مربوط به رفتار غیر تغذیه‌ای (لیس زدن دیوار) می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که افزودن اسانس‌های گیاهی به‌ویژه اسانس پونه کوهی در مقادیر بالای شیر گوساله‌های شیرخوار هلشتاین منجر به افزایش مصرف خوراک، افزایش وزن بدن و افزایش ر شد ا سکلتی ن سبت به گروه شاهد نمی شود. اگر چه تأثیر اسانس پونه کوهی بر بازده خوراک معنی‌دار بود. بنابراین، افزایش کمّی و کیفی روند رشد گوساله‌ها در واحد زمان و بیان استعداد ژنتیکی آن‌ها با به‌کارگیری اسانس‌های گیاهی به‌گونه‌ای که در این پژوهش انجام شده است منتج به عملکرد بهتر گوساله‌های شیرخوار هلشتاین نگردید. در مقابل افزایش مقادیر شیر مصرفی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین باعث بهبود عملکرد رشد گردید، هر چند که بازده خوراک گروه دریافت‌کننده نه لیتر شیر نسبت به گروه دریافت‌کننده شش لیتر شیر پایین‌تر بود.

References

1. Abdel-Wareth, A. A. A., Kehraus, S. Hippenstiel, F. & Südekum, K-H. (2012). Effects of thyme and oregano on growth performance of broilers from 4 to 42 days of age and on microbial counts in crop, small intestine and caecum of 42-day-old broilers. *Journal of Animal Feed Science and Technology, 178*, 198-202. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.10.006
2. AkbarianTefaghi, M., Ghasemi, E., & Khorvash, M. (2018). Performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves fed starter mixtures supplemented with herbal plants, essential oils or monensin. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *102*, 630-638. https://doi.org/10.1111/jpn.12842
3. Ammar, S. S. M., Mokhtaria, K., Tahar, B. B., Amar, A. A., Redha, B. A., Yuva, B., & Laid, B. (2014). Prevalence of rotavirus (GARV) and coronavirus (BCoV) associated with neonatal diarrhea in calves in western Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *4*, 318-322. https://doi.org/10.12980%2FAPJTB.4.2014C778
4. Anderson, K. L., Nagaraja, T. G., Morrill, J. L., Avery, T. B., Galitzer, S. J., & Boyer, J. E. (1987). Ruminal microbial development in conventionally or early-weaned calves. *Journal of Animal Science*, *4*, 1215-1226. https://doi.org/10.2527/jas1987.6441215x
5. Bampidis, V. A., Christodoulou, V., Florou-Paneri, P., & Christaki, E. (2006). Effect of dried oregano leaves versus neomycin in treating newborn calves with colibacillosis. *Journal of Veterinary Medicine Series*, *3*, 154-156. https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2006.00806.x
6. Beharka, A. A., Nagaraja, T. G., Morrill, J. L., Kennedy, G. A., & Klemm, R. D. (1998). Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves. *Journal of Dairy Science*, *7*, 1946-1955. https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(98)75768-6
7. Beiranvand, H., Ghorbani, G. R., Khorvash, M., Nabipour, A., Dehghan-Banadaky, M., Homayouni, A., & Kargar, S. (2014). Interactions of alfalfa hay and sodium propionate on dairy calf performance and rumen development. *Journal of Dairy Science*, *4*, 2270-2280. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6332
8. Benchaar, C., Petit, H. V., Berthiaume, R., Ouellet, D. R., Chiquette, J., & Chouinard, P. Y. (2007). Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *Journal of Dairy Science*, *2*, 886-897. https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(07)71572-2
9. Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., & Kamel, C. (2006). Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, *2*, 761-771. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72137-3
10. Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. W., Castillejos, L., & Ferret, A. (2007). Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, *6*, 2580-2595. https://doi.org/10.3168/jds.2006-644
11. Castillo, C., Benedito, J. L., Vázquez, P., Pereira, V., Méndez, J., Sotillo, J., & Hernández, J. (2012). Effects of supplementation with plant extract product containing carvacrol, cinnamaldehyde and capsaicin on serum metabolites and enzymes during the finishing phase of feedlot-fed bull calves. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, *171*, 246-250. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.11.006
12. Cardinali, R., Cullere, M., Dal Bosco, A., Mugnai, C., Ruggeri, S., Mattioli, S., Castellini, C., Trabalza Marinucci, M., & Dalle Zotte, A. (2015). Oregano, rosemary and vitamin E dietary supplementation in growing rabbits: Effect on growth performance, carcass traits, bone development and meat chemical composition. *Journal of Livestock Science*, *175*, 83-89. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.02.010
13. Castells, L. I., Bach, A., Araujo, G., Montoro, C., & Terre, M. (2012). Effect of different forage sources on performance and feeding behavior of Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, *95*, 286–293. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4405
14. Castells, L. l., Bach, A., Aris, A., & Terré, M. (2013). Effects of forage provision to young calves on rumen fermentation and development of the gastrointestinal tract. *Journal of Dairy Science*, *8*, 5226-5236. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6419
15. Chaves, A. V., Stanford, K., Dugan, M. E. R., Gibson, L. L., McAllister, T. A., Van Herk, F., & Benchaar, C. (2008).

Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Journal of Livestock Science*, *117*, 215-224. http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.livsci.2007.12.013

16. Dennis, T. S., Suarez-Mena, F. X., Hill, T. M., Quigley, J. D., Schlotterbeck, R. L., & Hulbert, L. (2018). Effect of milk replacer feeding rate, age at weaning, and method of reducing milk replacer to weaning on digestion, performance, rumination, and activity in dairy calves to 4 months of age. *Journal of Dairy Science*, *1*, 268-278. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13692
17. De Oliveira, K. Á. R., De Sousa, C., Da Costa Medeiros, J. P., De Figueiredo, J. A., Magnani, R. C. B. Q., De Siqueira, M., & De Souza, E. L. (2015). Synergistic inhibition of bacteria associated with minimally processed vegetables in mixed culture by carvacrol and 1, 8-cineole. *Journal of Food Control*, *47*, 334-339. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.017
18. Grigore, A., Paraschiv, I. N. A., Colceru-Mihul, S., Bubueanu, C., Draghici, E., & Ichim, M. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. volatile oil obtained by two different methods. *Romanian Biotechnological Letters*, *4*, 5436-5443.
19. Hernandez, F., Madrid, J. I., Garcia, V., Orengo, J., & Megias, M. D. (2004). Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Journal of Poultry Science*, *2*, 169-174. https://doi.org/10.1093/ps/83.2.169
20. Hernández, J., Benedito, J. L., Vázquez, P., Pereira, V., Méndez, J., Sotelo, J., & Castillo, C. (2009). Supplementation with plant extracts (carvacrol, cinnamaldehyde and capsaicin): Its effects on acid base status and productive performance in growing/finishing bull calves. *Berliner and Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, *122*(3-4), 93-99. PMID: 19350807.
21. Ionescu, C., Mazuranok, L., & Timmler, R. (2013). Effects of combination of carvacrol, cinnamaldehyde and *Capsicum oleoresin* (XTRACTTM 6930) on the performances of broiler chickens. *Journal of Poultry Science*, *7*, 137-151. https://doi.org/10.1017/S1752756200015520
22. Izzaddeen, S. I., & Kaygısız, A. (2018). Effect of essential oil of laurel (*Laurus L.* nobilis) on performance, blood and fecal parameters of Holstein calves during suckling period. *Pakistan Journal of Zoology*, *50*(3), 799-1198.
23. Jakhetia, V., Patel, A., Khatri, R., Pahuja, P., Garg, N., Pandey, S., & Sharma, S. (2010). Cinnamon: A pharmacological review. *Journal of Advanced Scientific Research*, *12*, 19-23. http://www.sciensage.info/
24. Joch, M., Cermak, L., Hakl, J., Hucko, B., Duskova, D., & Marounek, M. (2016). *In vitro* screening of essential oil active compounds for manipulation of rumen fermentation and methane mitigation. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *7*, 952-972. https://doi.org/10.5713/ajas.15.0474
25. Jouany, J. P., & Morgavi, D. P. (2007). Use of natural products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Journal of Animal Sciences*, *10*, 1443-1466. https://doi.org/10.1017/S1751731107000742
26. Khan, P. D., Karatzia, M. A., Dovas, C. I., Filioussis, G., Papadopoulos, E., Kiossis, E., & Karatzias, H. (2007). Evaluation of the in-field efficacy of oregano essential oil administration on the control of neonatal diarrhea syndrome in calves. *Research in Veterinary Science*, *115*, 478-483. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.07.029
27. Larson, L. L., Owen, F. G., Albright, J. L., Appleman, R. D., Lamb, R. C., & Muller, L. D., (1977). Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. *Journal of Dairy Science*, *60*, 989-991. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73495-5
28. Montoro, C., Ipharraguerre, I., & Bach, A. (2011) Effect of flavoring a starter in a same manner as a milk replacer on intake and performance of calves. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, *164*(1), 130– 134. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.11.023
29. Morrison, S. J., Dawson, S., & Carson, A. F. (2010). The effects of manan oligosaccharide and streptococcus faecium addition to milk replacer on calf health and performance. *Journal of Livestock Science*, *131*(2-3), 292-296. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.04.002
30. Naveed, R., Hussain, A., Tawab, I., Tariq, A., Rahman, M., Hamed, M., & Iqbal, M. (2013). Antimicrobial activity of the bioactive components of essential oils from Pakistani spices against Salmonella and other multi-drug resistant bacteria. *Journal of Dairy Science*, *13*(1), 1-10. https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-265
31. Rosenberger, K., Costa, J. H. C., Neave, H. W., Von Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. (2017). The effect of milk allowance on behavior and weight gains in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *1*, 504-512. https://doi.org/10.3168/jds.2016-11195
32. Rusenova, N., & Parvanov, P. (2009. Antimicrobial activities of twelve essential oils against microorganisms of veterinary importance. *Journal of Tricia Science*, *1*, 705-718. http://www.uni-sz.bg/
33. Santos, F. H. R., De Paula, M. R., Lazier, D., Silva, J. T., Santos, G., & Bitter, C. M. M. (2015). Essential oils for dairy calves: Effects on performance, scours, rumen fermentation and intestinal fauna. *Journal of Animal Science*, *9*(6), 958-965. https://doi.org/10.1017/s175173111500018x
34. Seifzadeh, S., Mirzaei, F., Abdi, H., davati, J., & Navidshad, B. (2017). The effects of a medical plant mix and probiotic on performance and health status of suckling Holstein calves. *Italian Journal of Animal Science*, *16*(1), 44- 51. https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1249421

35. Slipper, B. F., Lana, A. M. Q., Carballo, A. U., Ferreira, C. S., Franzoni, A. P. S., Lima, J. A. M., & Coelho, S. G. (2014). Effects of milk replacer feeding strategies on performance, ruminal development, and metabolism of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *97*(2), 1016-1025. https://doi.org/10.3168/jds.2013-7201
36. Simitis, P. E., Deligeorgis, S. G., Bizelis, J. A., Dardamani, A., Theodosiou, I., & Figaro's, K. (2008). Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. *Journal of Meat Science*, *79*(2), 217-223. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.09.005
37. Souza, E. L., Stamford, T. L. M., Lima, E. O., & Trajan, V. N. (2007). Effectiveness of *Oregano* L. vulgare essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. *Journal of Food Control*, *18*, 409-413. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.11.008
38. Tureen, N., & Yana, M. (2013). Calf Breeding Techniques. Atatürk University Faculty of Agriculture Course Publications, 13, 232-246.
39. Uetake, K., & Figaro's, K. (2013). Newborn calf welfare: A review focusing on mortality rates. *Journal of Animal Science*, *84*, 101-105. https://doi.org/10.1111/asj.12019
40. Ünlü, H. B., & Rekik, R. (2013). Effects of thyme and garlic essential oil on calf performance and some blood parameters. *Journal of Agriculture Faculty*, *50*(3), 299-310.
41. Vakili, A. R., Khorrami, B., Mesgaran, M. D., & Parandm, E. (2013). The effects of thyme and cinnamon essential oils on performance, rumen fermentation and blood metabolites in Holstein calves consuming high concentrate diet. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *26*(7), 935-944. doi: 10.5713/ajas.2012.12636
42. Wafa, W. M., Tawab, E., Elhofy, A. A. A., & Bedawy, Y. M. (2021). Immune response, health status, blood components and growth performance of suckling calves treated with thymus vulgaris extract. *Journal of Animal Health Production*, *9*(3), 342-351. http://dx.doi.org/10.17582/journal.jahp/2021/9.3.342.351
43. Yang, C. T., Diao, B. W., Hai, Q. Y., Zeng, J. I. N., & Yan, T. U. (2016). Rumen fermentation and bacterial communities in weaned Chahaer lambs on diets with different protein levels. *Journal of Integrative Agriculture*, *15*(7), 1564-1574. doi: 10.1016/S2095-3119(15)61217-5
44. Zhou, R., Wu, L., Lang, J., Liu, X., Casper, L., Wang, D. P., & Wei, S. (2020). Effects of oregano essential oil on *in vitro* ruminal fermentation, methane production, and ruminal microbial community. *Journal of Dairy Science*, *103*(3), 2303-2314. https://doi.org/10.3168/jds.2019-16611

Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1, Spring 2023, p. 17-28

Evaluation of The Effects of Alfalfa Removal and Forage Reduction on Performance of Afshari Breeding Lambs

Naser Karimi [1]*, Abbas Jahanbakhshi [2], Zahra Mahbobi [3]

Received: 01-11-2021 Revised: 25-10-2022 Accepted: 25-10-2022 Available Online: 25-10-2022	**How to cite this article:** Karimi, N., Jahanbakhshi, A., & Mahbobi, Z. (2023). Evaluation of the effects of alfalfa removal and forage reduction on performance of Afshari breeding lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 17-28. DOI: 10.22067/ijasr.2022.73295.1049

Introduction: Stall-fed lambs, which account for the bulk of mutton production, are one of the main sources of red meat supply in the country. In order to achieve optimal and economical production, sheep breeders must take into account the nutritional needs, food quality and dietary intake time in the diet plan of livestock. However, due to the shortage of forage and pastures in Iran, stockbreeders are forced to include more concentrate in the animals' diet, while trying to carefully observe the concentrate proportions as well as the necessary points associated with concentrate feeding**.** Therefore, the purpose of this project is to evaluate the effects of alfalfa removal and reducing forage on the profitability of Afshari fattening lambs.

Materials and Methods: In order to investigate the effects of reducing the amount of forage and also removing alfalfa on performance of Afshari breeding lambs, based on a factorial experiment with a completely randomized design, was done on 36 Afshari male lambs, with a mean live weight of 32.53 ± 1.9 kg and a mean age of 93 ± 6.63 days for 90 days. Experimental diets included: 1) 80 Percentage concentrate and 20 Percentage forage (10 Percentage wheat straw and 10 Percentage dry alfalfa), 2) 80 Percentage concentrate and 20 Percentage forage (20 Percentage wheat straw, 0 Percentage dry alfalfa), 3) 90 Percentage concentrate and 10 Percentage forage (5 Percentage wheat straw and 5 Percentage dry alfalfa), and 4) 90 Percentage concentrate and 10 Percentage forage (10 Percentage wheat straw and 0 Percentage dry alfalfa). Experimental diets were adjusted according to NRC (2007) standard diet tables and the constituents of the diets and their nutritional value were similar. The data were analyzed using SPSS21.

Results and Discussion: The chemical composition of diets was changed with altering of the forage to concentrate ratio, and with increasing the concentrate in the diet, the amount of NFC increased and the percentage of NDF decreased. Increasing the concentrate and removing of alfalfa increased feed intake and daily weight gain throughout the period ($P < 0.05$). Increasing of feed consumption seeks higher concentrate intake is due to faster consumption by animal compared to forage intake. On the other hand, the retention time of the concentrate in the abdominal area is less than the fodder. Therefore, the effect of filling after using of forage, limits the consumption of feed. Result indicated no significant differences in digestibility and feed conversion ratio between experimental treatments. The results of this study showed that the dry matter consumption and daily weight gain for treatment four was significantly higher than other treatments. The fourth treatment had a numerically lower food conversion coefficient (6.1) compared to the other three treatments. Accordingly, increasing the concentrate and removing of

1- Assistant Professor, Animal Nutrition, Faculty Member, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Varamin - Pishva.
2- Assistant Professor, Genetics and Breeding, Faculty Member, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Varamin- Pishva.
3- MSc Student, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Varamin-Pishva.
*Corresponding Author's Email: Z.mahboobi@iauvaramin.ac.ir

alfalfa has caused a significant increase in weight throughout the period. Regarding the interaction effects of concentrate and forage on daily weight gain, it also was shown that the most of the daily weight gain obtained followed by increasing of the concentrate level and then the removal of alfalfa. The most important factor affecting daily weight gain is feed consumption. Regarding to the effect of alfalfa reduction on feed intake, it can be stated that by reducing alfalfa, despite not reducing dietary fiber (treatments two and four), other dietary nutrients supplied through alfalfa were supplied through concentrate, which itself increased the digestibility of the ration. The feed conversion ratio of the four treatments was in the same range. The results of economic comparison showed that lambs fed with 90% concentrate, 10% wheat straw and 0% alfalfa had higher yields compared to other groups.

Conclusion: The results of the present study showed that with increasing the percentage of concentrate and removal of alfalfa from the feed, feed intake increases accordingly. Concentrate is palatable and contains more energy and nutrients than forage. Therefore, lambs fed with diets containing higher concentrate levels and no alfalfa experienced faster growth and higher growth efficiency and produced heavier carcasses. Thanks to this diet, stock breeders can save feeding and breeding costs during seasons when feed is more expensive or insufficient. According to the results, diets containing 90% concentrate, 10% wheat straw and no alfalfa can be suggested for optimal yield in stall-fed lambs.

Keywords: Afshari lamb, Alfalfa removal, Diet, Fattening, Profitability.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد۱۵، شماره۱، بهار۱٤۰۲، ص ۲۸-۱۷

ارزیابی اثرات حذف یونجه و کاهش میزان علوفه بر عملکرد بره‌های پرواری نژاد افشاری

ناصر کریمی*، عباس جهان‌بخشی، زهرا محبوبی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۸/۰۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۳

چکیده

به‌منظور بررسی اثرات کاهش میزان علوفه و همچنین حذف یونجه بر عملکرد بره‌های پرواری نژاد افشاری، آزمایشی با استفاده از تعداد ۳۶ رأس بره نر نژاد افشـار با میانگین وزن زنده ۱/۹± ۳۲/۵۳ کیلوگرم و میانگین سـن ۶/۶۳ ± ۹۳ روزگی به‌مدت ۹۰ روز، بر اسـاس آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام شد. جیره‌های آزمایشی شامل: تیمار ۱) ۸۰ درصد کنسانتره و ۲۰ درصد علوفه (۱۰ درصد کاه گندم و ۱۰ درصد یونجه)، تیمار ۲) ۸۰ درصد کنسانتره و ۲۰ درصد علوفه (۲۰ درصد کاه گندم و صفر درصد یونجه)، تیمار ۳) ۹۰ درصد کنسانتره و ۱۰ درصد علوفه (پنج درصد کاه گندم و پنج درصد یونجه) و تیمار ۴) ۹۰ درصد کنسانتره و ۱۰ درصد علوفه (۱۰ درصد کاه گندم و صفر درصد یونجه) بود. جیره‌های آزمایشی بر اساس جداول استاندارد غذایی (۲۰۰۷) NRC تنظیم شده و مواد خوراکی تشکیل‌دهنده جیره‌ها و ارزش غذایی آن‌ها مشابه بود. ترکیب شیمیایی جیره‌ها با تغییر نسبت علوفه به کنسانتره تغییر یافت و با افزایش کنسانتره در جیره‌ها میزان NFC افزایش و در مقابل درصد NDF کاهش یافت. ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه برای تیمار چهار به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای دیگر بود. تیمار چهار به لحاظ عددی ضریب تبدیل غذایی کمتری (۶/۱) در مقایسه با سه تیمار دیگر داشت. نتایج مربوط به مقایسه اقتصادی نشان داد که بره‌های تغذیه شده با ۹۰ درصد کنسانتره و ۱۰ درصد کاه گندم سوددهی بیشتری در مقایسه با سایر گروهها داشتند. به‌طور کلی، از نتایج این مطالعه می‌توان گزارش کرد که افزایش کنسانتره و حذف یونجه در جیره باعث بالا رفتن مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه و در مجموع، وزن نهایی بالاتر در بره‌های پرواری می شود و همچنین بالاترین تأثیر را روی سوددهی پروار دارد.

واژه‌های کلیدی: بره افشار، پرواربندی، جیره، حذف یونجه، سوددهی.

مقدمه

یکی از منابع مهم و اصلی در تأمین گوشت قرمز کشور، بره‌های پرواری است که بخش زیادی از جمعیت گوسفند را تشکیل می‌دهد. برای دستیابی به تولید مطلوب و اقتصادی در پرورش گوسفند در یک برنامه تغذیه‌ای باید نیازهای غذایی دام، کیفیت مواد خوراکی و زمان مصرف آن‌ها مورد توجه قرارگیرد (Van Vleck, 1993). امّا با توجه به کاهش علوفه و مراتع در ایران، دامدار ناچار به استفاده از کنسانتره بیشـــتر در جیره غذایی اســـت و البته باید نکات ضـــروری در تغذیه کنسانتره و نسبت‌های مناسب را به‌دقّت رعایت نماید. از طرفی، تأمین مواد خوراکی در یک دوره پرواربندی بخش عمده هزینه‌ها را شـــامل می‌شـــود، عوامل مختلفی از جمله قیمت خوراک مصـــرفی، وزن اولیه دام‌ها، ســـن دام‌های پرواری، فعالیت‌های مدیریتی و قیمت فروش دام‌های پروار شـــده، در افزایش ســـودآوری پرواربندی مؤثر هســـتند. هرگونه کاهش در قیمت یا مقدار خوراک مصرفی بدون به خطر افتادن

۱- استادیار، تغذیه دام، عضو هئیت علمی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی ورامین پیشوا.
۲- استادیار، ژنتیک و اصلاح نژاد، عضو هئیت علمی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی ورامین پیشوا.
۳- دانشجوی دکتری تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی ورامین پیشوا.
(*نویسنده مسئول: Email: Z.mahboobi@iauvaramin.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.73295.1049

رشـد یا کیفیت لاشـه دام‌ها اثرات اقتصـادی مفیدی خواهد داشـت (Van Vleck, 1993). از طرفی، شناسایی منابع ارزان قیمت خوراک و نیز اسـتفاده صـحیح از این منابع در پرواربندی، با هدف به حداقل رسـاندن هزینه تولید محصـولات دامی و افزایش بازده اقتصـادی از اولویت‌های مهم صـنعت دامپروری می‌باشـد (Van clef et al., 2016). استفاده از جیره‌های پرکنسانتره در پرواربندی بره‌ها در کشور به‌منظور دسـت‌یابی به بیشـترین بازدهی امری مرسـوم اسـت. گزارش‌های متعددی وجود دارد که اسـتفاده از جیره‌های پرکنسـانتره سـبب بهبود افزایش وزن روزانه و ضـریب تبدیل خوراک در بره‌های پرواری شده‌ است (Arjmand et al., Abarghani et al., 2010; Papi and Tehrani, 2017 ; Nik-khah et al., 1992 2021).

افزایش سـودآوری در بخش دامپروری و کاهش هزینه‌های تولید از مهم‌ترین اهداف تولیدکنندگان برای افزایش سـود خالص اسـت. در مقابل، پرواربندی بره‌ها با جیره‌هایی بر پایه کنسـانتره، سـبب افزایش سـرعت و بازده رشـد و تولید لاشـه سـنگین‌تر می‌شـود (Papi and Tehrani, 2017;Parsaei and khadivi, 1995). در این تحقیق، برای اولین بار از گوسفندان افشاری با ویژگی‌ها و خصوصیات خوب مانند سرعت رشد و تولید بالا، داشتن قدرت بازده اقتصادی مطلوب، مقاومت در برابر امراض و انگل‌های منطقه انتخاب شـده اسـت. بنابراین، هدف از آزمایش حاضـر، ارزیابی اثرات حذف یونجه و کاهش میزان علوفه بر عملکرد و سودآوری بره‌های پرواری نژاد افشاری بود.

مواد وروش‌ها

تحقیق حاضر در پاییز و زمستان سال ۱۳۹۸ در ورامین، روستای یوسف‌رضا انجام شد. در این آزمایش تعداد ۳۶ رأس بره نر نژاد افشار با میانگین وزن زنده ۱/۹ ± ۳۲/۵۳ کیلوگرم و متوسـط سـن ۶/۶۳ ± ۹۳ روزگی مورد اسـتفاده قرارگرفت. تعداد چهار جیره آزمایشـی بر اسـاس طرح کاملاً تصـادفی در قالب فاکتوریل ۲×۲ به این شـرح در نظر گرفته شد: تیمار یک: جیره پروار حاوی ۸۰ درصد کنسانتره و ۲۰ در صد علوفه (۱۰ در صد کاه گندم و ۱۰ در صد یونجه خشک)، تیمار دوم: جیره پروار حاوی ۸۰ درصـد کنسـانتره و ۲۰ درصـد علوفه (۲۰ در صد کاه گندم و صفر در صد یونجه خشک)، تیمار سوم: جیره پروار حاوی ۹۰ در صد کنسانتره و۱۰ در صد علوفه (۵ در صد کاه گندم و ۵ درصـد یونجه خشـک) و تیمار چهارم: جیره پروار حاوی ۹۰ درصـد کنسانتره و ۱۰در صد علوفه (۱۰در صد کاه گندم و صفر در صد یونجه خشـک) بود. اجزای خوراک و ترکیبات شـیمیایی جیره‌ها در جدول ۱ آورده شده که بر اساس مواد مغذی مورد نیاز نشخوارکنندگان کوچک تنظیم گردید (NRC, 2007) (جدول۱). به‌منظور تنظیم جیره ابتدا مقادیر مواد مغذی شامل مقادیر ماده خشک، پروتئین‌خام و خاکستر بر اساس روش‌های AOAC (AOAC, 2000) و مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی بر اساس روش ون سوست (Van Soest et al., 1991) در اجزای اصلی جیره تعیین گردید. برای تعیین انرژی قابل متابولیسـم جیره‌ها از جداول و منابع منتشـر شـده AFRC اسـتفاده شـد (AFRC, 1992). جیره‌نویسـی با استفاده از SPSS21 بر اساس جداول احتیاجات غذایی نشخوارکنندگان کوچک (NRC, 2007) و با توجه به نیاز دام‌های مورد آزمایش (میانگین وزن و افزایش وزن روزانه) صورت گرفت. برای جلوگیری از قدرت انتخاب دام‌ها و نیز اطمینان از مصـرف یکنواخت مواد خوراکی تشـکیل‌دهنده جیره‌های آزمایشـی توسـط دام‌ها، جیره‌ها به‌صـورت مخلوط در هر باکس تهیه شد (جدول ۱).

برای جلوگیری از قدرت انتخاب، تمام خوراک‌ها به صورت مخلوط تهیه شـد. پس از توزین اوّلیه بره‌ها گروه بندی آن‌ها انجام شـد. برای این منظور بره‌ها به‌صـورت تصـادفی به چهار تیمار و در هر تیمار نه تکرار تقسـیم شـدند. هر باکس دارای ظرف خوراک و آبخوری مخصـوص به خود بود. جهت عادت‌پذیری بره‌ها به شـرایط محیط و جیره‌های آزمایشـی، ۱۴ روز اوّل آزمایش برای این منظور اختصـاص داده شـد. قبل از انتقال بره‌ها به محل انجام آزمایش باکس‌ها با استفاده از سم ضد کنه مک تومیل با روش اسپری سم‌پاشی گردید. در دوره عادت‌پذیری، برای مبارزه با انگل‌های داخلی بره‌ها، از داروی شـربت انگل و داروی ضـد انگل ایورمکتین (سـاخت ایران، شـرکت رازک) به‌صورت تزریق زیرپوستی استفاده شد. جهت جلوگیری از بروز عارضـه پرخوری (آنتروتوکسـمی) واکسـن مورد نظر در ناحیه کتف به‌صورت زیر پوستی تزریق گردید. توزین بره‌ها در طول آزمایش هردو هفته یک بار بعد از ۱۶ ساعت پرهیز غذایی و در ساعت ۸ صبح انجام شد. خوراک دهی دام‌ها در ساعت‌های ۸:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۲۰:۰۰ تا حد اشـتها صـورت گرفت، میزان خوراک داده شـده و باقیمانده خوراک به‌طور روزانه توزین شـد تا مقدار خوراک مصـرفی روزانه تعیین گردد. آب سـالم به‌طور آزاد در اختیار آن‌ها قرارداشـت. طول دوره آزمایش اصلی (بدون محاسبه دوره عادت پذیری) ۷۶ روز بود.

در پایان دوره هزینه خوراک مصـرفی، هزینه تولید یک کیلوگرم افزایش وزن زنده و سود خالص پرواربندی توسط روابط ذیل محاسبه گردید (Nahed et al., 2003).

جدول ۱- اجزای خوراک و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table 1- Feed Ingredients and chemical composition of experimental diets

اجزای جیره‌ها (گرم در کیلوگرم ماده خشک) Ingredient of diets (g/kg DM)	تیمارهای آزمایشی[1] Experimental treatments[1] تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4
کاه Wheat straw	10	20	5	10
یونجه Alfalfa	10	0	5	0
جو Barley	30.5	30.5	36.5	36.3
ذرت Corn	30.5	30.5	35.4	35
کنجاله سویا Soybean meal	7	7	7	8
کنجاله کلزا Rapeseed meal	2	1.8	1.8	1.7
پودر چربی Fat powder	2.8	2.8	2.7	2.7
اوره Urea	1.4	1.4	1.3	1.3
کربنات کلسیم Calcium carbonate	1.8	1.8	2.2	1.8
بنتونیت Bentonite	1	1	0.9	0.9
جوش شیرین Sodium bicarbonate	1	1.7	0.9	0.9
نمک Salt	0.5	0.5	0.4	0.5
مکمل ویتامینی و معدنی[2] [2] Vitamin and mineral premix	1.5	1	0.9	0.9
ترکیب شیمیایی(٪) Chemical composition (%)				
(٪) ماده خشک Dry matter (%)	91.22	90.66	90.28	92.91
(٪) پروتئین خام Crude protein (%)	18.04	18.28	18.13	18.39
(٪) خاکستر Ash (%)	10.93	8.89	9.82	7.95
چربی خام EE	1.97	1.95	2.11	2.12
الیاف نامحلول در شوینده خنثی[3] NDF[3] (%)	25.36	23.85	24.11	22.76
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی[4] ADF[4] (%)	14.09	12.38	13.54	11.39
کربوهیدرات غیر الیافی[5] NFC[5] (%)	43.7	47.03	45.83	48.78
کلسیم(%) Calcium (%)	1.9	2.2	2.5	2.8

فسفر(%) Phosphorus (%)	0.5	0.5	0.5	0.5
(مگاکالری در کیلوگرم) انرژی قابل متابولیسم Metabolic energy (Megacalories per kilogram)	2.82	2.89	2.86	2.98

[1]تیمار یک: ۸۰ درصد کنسانتره و ۱۰ درصد کاه گندم و ۱۰ درصد یونجه خشک، تیمار دوم: ۸۰ درصد کنسانتره ،۲۰ درصد کاه‌گندم و صفر درصد یونجه خشک، تیمار سوم: ۹۰ درصد کنسانتره، ۵ درصد کاه گندم و ۵ درصد یونجه خشک و تیمار چهارم: ۹۰ درصد کنسانتره و ۱۰درصد کاه گندم و صفر درصد یونجه خشک.

[2] در هر کیلوگرم پیش مخلوط: ۱۳۰۰۰۰۰ واحد بین مللی ویتامین آ، ۳۶۰۰۰۰ واحد ویتامین دی، ۱۲۰۰ واحد ویتامین ای، ۱۶ گرم روی، ۱۰ گرم منگنز، ۰/۸ گرم آهن، ۰/۱۲ گرم کبالت، ۰/۱۵ گرم ید، و ۰/۰۸ گرم سلنیوم.

[3] الیاف نامحلول در شوینده خنثی

[4] الیاف نامحلول در شوینده اسیدی

[5] کربوهیدرات غیر الیافی = ۱۰۰− (درصد پروتئین خام + درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی + درصد چربی خام + درصد خاکستر).

[1] Treatment 1. Concentrate 80%+ alfalfa hay 10%+wheat straw 10%; Treatment 2. Concentrate 80%+ alfalfa hay 0%+wheat straw 20%; Treatment 3. Concentrate 90%+ alfalfa hay 5%+wheat straw 5%; Treatment 4. Concentrate 90%+ alfalfa hay 0%+wheat straw 10%.

[2] Contained per kilogram of supplement: 1,300,000 IU of vitamin A, 360,000 IU of vitamin D, 1,200 IU of vitamin E, 16 g of Zn, 10 g of Mn, 0.8 g of Fe, 0.12 g of Co, 0.15 g of I, and 0.08 g of Se.

[3] Natural Detergent Fiber

[4] Acid Detergent Fiber

[5] Non Fiber Carbohydrate = 100 – (%ash +% ether extract +% NDF + %crude protein)

$$\text{هزینه خوراک برای تولید یک کیلوگرم افزایش وزن زنده} = \frac{\text{هزینه خوراک مصرفی در پایان دوره}}{\text{افزایش وزن دوره}}$$

$$\text{هزینه خوراک برای تولید یک کیلوگرم افزایش وزن زنده} = \text{مقدار خوراک مصرف شده} \times \text{هزینه هر کیلوگرم خوراک}$$

هزینه جیره غذایی مصرفی − درآمد ناخالص = سودخالص پرواربندی

تجزیه داده‌ها در این تحقیق بر اساس طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل ۲×۲ استفاده شد و اطلاعات به‌دست آمده از طریق SPSS21 تجزیه گردید.

$$Y_{ijk}=\mu+a_i+b_j+ab_{ij}+e_{ijk}$$

در این مدل، Yijk: مقدار مشاهده مربوط به هر صفت، μ: میانگین کل مشاهدات برای هر صفت، a_i: اثر عامل اوّل (کنسانتره)، b_j: اثر عامل دوّم (علوفه)، ab_{ij}: اثر متقابل دو عامل و e_{ijk}: اثر خطا می‌باشند.

مقایسه میانگین تیمارها با آزمون توکی در سطح احتمال معنی‌داری پنج درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی جیره‌ها

ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ نشان داده شده است. پروتئین اندازه‌گیری شده در تیمار چهار ۱۸/۳۹ درصد بود که میزان آن از سه تیمار دیگر بیشتر بود. افزایش غلظت الیاف نامحلول در شوینده خنثی در تیمارهای اول و سوم می‌تواند در ارتباط با پایین بودن پروتئین خام این تیمارها در مقایسه با تیمارهای دوم و چهارم باشد (جدول ۱). میزانNDF جیره با افزایش میزان NFC کاهش یافت که بیشترین میزان NFC (۴۸/۷۸ درصد) و کمترین میزان NDF (۲۲/۷۶ درصد) در تیمار چهارم بود. در بره‌هایی که از جیره‌های با سطح NFC پایین استفاده می‌کنند، مصرف انرژی در دستگاه گوارشی نسبت به انرژی قابل هضم خوراک به سه دلیل بیشتر است که این دلایل شامل: ۱- ماندگاری غذا در جیره‌هایی با سطح NFC پایین بیشتر است، ۲- هضم NDF انرژی بیشتری نیاز دارد و ۳- تبدیل آمونیاک جذب شده به اوره در خوراک‌های با سطح NFC پایین بیش از خوراک‌های با سطح NFC بالا است، در نتیجه انرژی بیشتری مصرف خواهد شد و بنابراین بازدهی جیره‌های با سطح NFC پایین برای تولید کاهش خواهد یافت (Rezaii et al., 2011). تیمارها اثر معنی‌داری بر کیلوگرم ماده خشک مصرفی داشتند، به‌طوری که با افزایش سطح NFC ماده خشک مصرف شده افزایش پیدا کرد (جدول ۲).

کربوهیدرات غیر الیافی منجر به افزایش قابلیت هضم ماده خشک می‌شود و هنگامی درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی افزایش می‌یابد که مصرف ماده‌خشک به‌دلیل افزایش میزان سیرکنندگی علوفه کاهش می‌یابد (Chen Bingol et al., 2007; Allen, 2000; et al., 2015). با افزایش سطح NFC ماده خشک مصرف شده توسط دام نیز افزایش پیدا کرد. بیشترین مصرف ماده خشک در تیمارهای دوم و چهارم با نسبت بیشتر NFC و نسبت کمتر علوفه مشاهده شد (جدول ۱ و ۲). هال و همکاران (Hall et al., 2010) و مینور و همکاران (Minor et al., 1988) اثر معنی‌داری بر مصرف ماده خشک با افزایش NFC نشان دادند که این اثر می‌تواند به‌دلیل

پتانسیل NFC بر تغییر نرخ عبور یا قابلیت هضم دیواره سلولی باشد. کم‌ترین و بیشـــترین تغییرات ADF به‌ترتیب در تیمار چهارم و اول مشاهده شد. محتوای الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نشان‌دهنده سهم دیواره سلولی در علوفه بوده که شامل سلولز و لیگنین است. از آنجایی که این صـفت به‌طور معکوس نشـانگر قابلیت هضـم علوفه توسط دام است، دارای اهمیت بوده و به‌طور معمول با افزایش میزان این شاخص از قابلیت هضم علوفه کاسته می شود (Albayrak et al., 2011). نتایج به‌دست آمده در این پژوهش مطابق با نتایج سایر مطالعات اسـت (Cantalapiedra-Hijar et al., 2014؛ Haddad and Ata, 2009؛ Arjmand et al., 2021).

در این آزمایشـات مشـخص اسـت که با افزایش میزان پروتئین موجود در جیره تیمارها که از سویی با افزایش کنسانتره وکاهش علوفه در ارتباط می‌باشد، منجر به افزایش در انرژی قابل متابولیسم می‌گردد که این افزایش می‌تواند ناشی از افزایش قابلیت هضم باشد. نتایج این محققین نشـــان دادند که با افزایش ســطح کنســـانتره جیره ها گوارش پذیری ماده‌آلی و انرژی قابل متابولیســم جیره ها به‌طور معنی‌داری افزایش یـافـت (Arbabi et al., 2014; Kaki et al., 2019).

صفات عملکرد

اثر تیمارهای مختلف بر وزن زنده اولیه، وزن زنده نهایی، افزایش وزن روزانه، خوراک مصرفی روزانه و ضریب تبدیل خوراک در جدول ۲ آورده شده است. اثر نسبت‌های مختلف علوفه به‌کنسانتره بر وزن زنده نهایی (P<۰/۰۵)، افزایش وزن روزانه (P<۰/۰۱) و خوراک مصرفی روزانه (P<۰/۰۵) معنی‌دار شد. صفت ضریب تبدیل غذایی با افزایش نسـبت کنسـانتره به علوفه به‌ترتیب کاهش یافت، اگر چه این اثر از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). کم‌ترین و بیشـــترین وزن زنده نهایی به‌ترتیب در تیمار اول و چهارم مشاهده شد. همچنین، در آزمایش حاضـر تیمار چهار بیشـترین (۳۰۰ گرم) و تیمار یک کمترین (۲۰۰ گرم) افزایش وزن روزانه را در بره ها ایجاد کرد (P<۰/۰۵). به‌طوری که بیشـــترین افزایش وزن روزانه به دنبال افزایش ســـطح کنسانتره و سپس‌حذف یونجه صورت گرفته است. میزان ماده خشک مصرفی از ۱/۴۷۶ کیلوگرم (تیمار اول) تا ۱/۸۳۰ کیلوگرم (تیمار چهار) در روز برای هر گروه به‌طور معنی‌داری متغیر بود (P≤۰/۰۵).

به‌طوری‌که با افزایش نسبت کنسانتره در جیره، خوراک مصرفی روزانه در جیره ۹۰ درصد کنسانتره و ۱۰ درصد کاه‌گندم و صفر درصد یونجه نسبت به جیره ۸۰ درصد کنسانتره و ۲۰ درصد کاه‌گندم و صفر درصـد یونجه ۶/۳۹ درصـد افزایش یافت. این بدین معناسـت که با افزایش مقدار کنسانتره در جیره صفات مذکور با ضریب ثابت افزایش می‌یابند. پاسـخ مناسـب‌تر بره‌ها به سـرعت رشـد بالاتر را می‌توان با افزایش غلظت میزان انرژی و پروتئین جیره های آزمایشـــی مربوط دانسـت. به نظر می‌رسـد در این آزمایش بره‌های تغذیه شـده با تیمار چهار به‌منظور حفظ سیری فیزیکی با کاهش علوفه در جیره، مصرف خوراک خود را افزایش داده‌اند و به دنبال آن افزایش وزن روزانه بالاتری را نیز دریافت کردند. همچنین، افزایش مصـــرف خوراک به دنبال افزایش کنسـانتره به‌دلیل خوش‌خوراک‌تر بودن کنسـانتره و نیز توان مصرف سریع‌تر آن توسط حیوان در مقایسه با علوفه است. از طرفی، مدت زمان ماندگاری کنسانتره در شکمبه در مقایسه با علوفه پایین‌تر است و بنابراین، اثر پر بودن که به دنبال مصرف علوفه ایجاد می‌شـود، مصـرف خوراک را محدود می‌سـازد. دلیل دیگر، خوراک از شـکمبه زودتر عبورکرده و به همان نسـبت هم در روده زودتر هضـم می‌شـود که این امر باعث افزایش مصـــرف خوراک می‌گردد (Nik-khah and Asadi Moghaddam, 1986).

پایین بودن نسـبی مصـرف خوراک در تیمار اوّل را می‌توان به خشـبی بودن بافت و فیزیک خوراک و پایین بودن قابلیت هضـم خوراک، کاهش سرعت عبور غذا و افزایش مدت ماندگاری خوراک در شـکمبه مربوط دانسـت. حجم شـکمبه- نگاری از جمله عوامل محدودکننده مصرف اختیاری ماده خشک می‌باشد، در جدار شکمبه- نگاری گیرنده‌های حساسی وجود دارد که در مقابل کشیدگی و انبساط دیواره شـکمبه- نگاری تحریک شـده و بدین ترتیب تخمیر و هضـم خوراک را در شـکمبه کاهش می‌دهند که در نهایت، کاهش مصـرف خوراک را به دنبال خواهد داشت (Chen et al., 2015; Elizalde et al., 1998). نتایج به‌دسـت آمده در این پژوهش مطابق با نتایج سـایر مطالعات اسـت (Arjmand et al., 2021؛ Haddad and Ata, 2009؛ Murphy et al., 2000؛ Rong et al., 2014).

بهترین عملکرد و کیفیت لاشـه بره‌های پرواری نژاد مرینوس در سطح کنسانتره به کاه به‌عنوان منبع علوفه با نسبت ۹۰ : ۱۰ گزارش کردند (Haddad and Ata, 2009). همچنین، اثر نسبت‌های مختلف علوفه به‌کنسـانتره بر عملکرد رشـد، قابلیت هضـم مواد مغذی و فراسـنجه‌های شـکمبه‌ای بره‌های نر نژاد لری- بختیاری در ماه‌های مختلف دوره پروار بررسـی شـد. نتایج نشـان داد که افزایش سـطح کنسانتره جیره منجر به افزایش وزن نهایی بدن، افزایش وزن روزانه و بهبود ضریب تبدیل غذایی شد و با افزایش طول دوره پروار، افزایش وزن روزانه کاهش و ضریب تبدیل غذایی بهبود یافت (Arjmand et al., 2021). این امر ممکن است به‌دلیل عدم سیری فیزیکی حیوان با پر نشدن کامل شکمبه در اثر مصرف کنسانتره در مقایسه با علوفه باشد (Jarrige et al.,1995). در مطالعه‌ای، مصرف ماده‌خشک بزهای شیری (۲/۶۹ تا ۲/۸۸ کیلوگرم در روز) با افزایش درصد کنسانتره در جیره از ۳۰ درصد به ۶۰ درصد افزایش یافت (Desnoyers et al., 2008). همچنین، اثر نسبت‌های مختلف علوفه به کنسانتره (۷۰ به ۳۰، ۶۰ به ۴۰، ۵۰ به ۵۰ و ۴۰ به ۶۰) را بر عملکرد گاوهای شیری تغذیه شده با سیلوی ذرت بررسی شد. نتایج این پژوهش نشان داد که

با افزایش مقدار کنسانتره در جیره افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Chen et al., 2015).

نتایج مطالعه حاضر مخالف با سایر مطالعات می‌باشد. کاندلاپیدریا و همکاران (Cantalapiedra-Hijar et al., 2014) اعلام کردند که مصرف ماده خشک با افزایش درصد کنسانتره در جیره از ۳۰ درصد به ۷۰ درصد در بزها تحت تأثیر قرار نگرفت؛ در تحقیقی که توسط آگوئر و همکاران (Aguerre et al., 2011) انجام شد، افزایش نسبت علوفه به کنسانتره (۴۷:۵۳، ۵۴:۴۶، ۶۱:۳۹ و ۶۸:۳۲) در جیره، هیچ تأثیری بر مصرف ماده خشک گاوهای هلشتاین نداشت. اگل و همکاران (Agle et al., 2010) بیان نمودند هیچ افزایشی در مصرف ماده خشک گاوهای شیرده تغذیه شده با جیره حاوی ۵۲ درصد و ۷۲ درصد کنسانتره نداشت. این موضوع می‌تواند به‌دلیل این مهم با شد که دام خوراک را برای تأمین انرژی مورد نیاز خود مصرف می‌کند و پس از برطرف شدن احتیاجات انرژی اشتها به خوردن کاهش می‌یابد. همچنین کاهش درصد نوع علوفه مصرفی در جیره دام نیز می‌تواند بر اخذ نتایج متفاوت مؤثر باشد.

علوفه نیمی از جیره نشخوارکنندگان را تشکیل می‌دهد که بر مصرف ماده خشک و در نهایت، بر دریافت انرژی توسط حیوان تأثیر می‌گذارد (Kaki et al., 2019; Kendall et al., 2009). در واقع محتویات CP، NDF و NFC در بین منابع مختلف علوفه متفاوت است، به‌طوری‌که یونجه حاوی مقدار NFC بالاتری است، بنابراین، انتظار می‌رود، مقدار بیشتری انرژی را به‌منظور جذب RDP در شکمبه فراهم کند که این انرژی در مقایسه با کاه بیشتر است (Zhao and Li, 2009). به‌طوری‌که راندمان سنتز پروتئین میکروبی زمانی‌که علوفه با کیفیت بالا توسط حیوان مصرف می‌شود، اغلب بالا است (۳۰– ۴۵ گرم نیتروژن میکروبی به‌ازای هر کیلوگرم ماده آلی قابل هضم)، در حالی که بازده سنتز پروتئین میکروبی با علوفه کم کیفیت بسیار کمتر از ۲۰ گرم نیتروژن میکروبی به‌ازای هر کیلوگرم ماده آلی قابل هضم ثبت شده است (Carruthers et al., 1997; Elizalde et al.,1998). امّا در مطالعه حاضر کاهش نسبت علوفه به کنسانتره جیره غذایی بره‌های نر افشاری باعث افزایش خوراک مصرفی (دریافت مواد مغذی) گردید تا اثرات منفی ناشی از کمبود مواد مغذی یونجه جبران شود و سیری فیزیکی در دام حفظ گردد.

جدول ۲ – تأثیر نوع خوراک بر عملکرد رشد بره‌های پرواری (کیلوگرم)

Table 2– The effect of feed type on growth performance of fattening lambs (kg)

عملکرد پروار Fattening performance	تیمارهای آزمایشی[1] Experimental treatments[1] تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4	میانگین خطای استاندارد SEM	اثرات معنی‌داری P.Value[2]
وزن زنده اولیه Early live weight	32.57±3.09	32.67±3.21	33.17±2.1	1.58±31.75	1.57	NS
وزن زنده نهایی Final live weight	51.20±2.13^{b}	57.95±4.41^{ab}	54.9±4.61^{ab}	58.9±0.89^{a}	1.73	*
افزایش وزن روزانه Daily weight gain	0.2± 0.01^{c}	0.28± 0.01 ^{a}	0.24± 0.02 ^{b}	0.3± 0.005 ^{a}	0.007	**
خوراک مصرفی روزانه Daily food consumption	1.476±0.05^{c}	1.720±0.08^{ab}	1.638±0.06^{b}	1.830±0.09^{a}	0.05	*
ضریب تبدیل غذایی Food conversion ratio	7.38±0	6.15±0	6.82±0	6.1±0	0	NS[3]

[۱] تیماریک: ۸۰ درصد کنسانتره و ۱۰ درصد کاه گندم و ۱۰ درصد یونجه خشک، تیمار دوم: ۸۰ درصد کنسانتره، ۲۰ درصد کاه‌گندم و صفر درصد یونجه خشک، تیمار سوم: ۹۰ درصد کنسانتره، پنج درصد کاه گندم و پنج درصد یونجه خشک و تیمار چهارم: ۹۰ درصد کنسانتره و ۱۰ درصد کاه گندم و صفر درصد یونجه خشک.

[۲ a,b,c] میانگین‌های هر ردیف با حروف لاتین غیر مشابه، بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

[1] Treatment 1. Concentrate 80%+ alfalfa hay 10%+wheat straw 10%; Treatment 2. Concentrate 80%+ alfalfa hay 0%+wheat straw 20%; Treatment 3. Concentrate 90%+ alfalfa hay 5%+wheat straw 5%; Treatment 4. Concentrate 90%+ alfalfa hay 0%+wheat straw 10%.

[2 a.b.c] Values with different superscripts in every row differ significantly at P<0.05.

[3] Not significant

اثر حذف یونجه بر هزینه خوراک، درآمد ناخالص و سود متغیر به‌ازای یک راس بره (ریال)

اثر حذف یونجه بر هزینه خوراک، درآمد ناخالص و سود متغیر به‌ازای یک راس بره (ریال) در جدول ۳ آمده است. در تحقیق حاضر هزینه خوراک برای تولید یک کیلوگرم وزن زنده (ریال) از نسبت هزینه جیره غذایی مصرفی یک رأس بره (ریال) بر افزایش وزن زنده دام طی آزمایش به‌دست آمد. برای تیمار چهار (۲۳۵۸۵ ریال) کمترین و برای تیمار یک (۲۷۴۰۵ریال) بیشترین مقدار بود. بنابراین، تیمار چهار با افزایش کنسانتره و حذف یونجه کمترین هزینه را نسبت به تیمارهای دیگر داشت (P≤۰/۰۱) (جدول ۳).

جدول ۳- محاسبات اقتصادی تیمارهای آزمایشی بر اساس یک رأس بره پرواری (ریال)

Table 3- Economic calculations of experimental treatments based on a lamb (Rials)

عملکرد پروار Fattening performance	تیمارهای آزمایشی[۱] Experimental treatments[1] تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4	اثرات معنی‌داری P–value[2]
جیره غذایی مصرفی یک رأس بره طی آزمایش (کیلوگرم) Diet consumed by one lamb during the experiment (kg)	132840±10.8[c]	154800±12.61[ab]	147420±11.52[b]	164700±13.56[a]	0.04
هزینه یک کیلوگرم جیره غذایی (ریال) Cost of one kilogram of ration (Rials)	27405±53.62[a]	25198±36.85[b]	24309±30.18[bc]	23585±24.67[c]	0.0002
هزینه جیره غذایی مصرفی یک رأس بره طی آزمایش (ریال) Cost of ration for a lamb consumed during the experiment (Rials)	3640480±29.93[a]	3900650±13.3[b]	3583632±12.82[c]	3884449±38.82[d]	0.0001
افزایش وزن زنده دام طی آزمایش (کیلوگرم) Live weight gain during the experiment (kg)	18.63±0.87[d]	25.28±1.56[b]	21.73±1.38[c]	27.15±0.81[a]	0.0001
هزینه خوراک برای تولید یک کیلوگرم وزن زنده دام (ریال) Cost of feed to produce one kilogram of live weight of livestock (Rials)	1954095±2607.1[a]	1542978±2842.5[c]	1649163±2280.4[b]	1430736±2235.4[d]	0.0001
درآمد ناخالص به‌ازای یک راس بره (ریال) Gross income per lamb (Rials)	9315000±1865.7[c]	12640000±1465.4[d]	10865000±1257.9[b]	13575000±1989.7[a]	0.0003
سود متغیر به‌ازای یک رأس بره (ریال) Variable profit per lamb (Rials)	5674520±368.1[d]	8739350±277.1[b]	7281368±796.2[c]	9690551±493.03[a]	0.0002

[۱] تیمار یک: ۸۰ درصد کنسانتره و ۱۰ درصد کاه گندم و ۱۰ درصد یونجه خشک، تیمار دوم: ۸۰ درصد کنسانتره ،۲۰ درصد کاه‌گندم و صفر درصد یونجه خشک، تیمار سوم: ۹۰ درصد کنسانتره، پنج درصد کاه گندم و پنج درصد یونجه خشک و تیمار چهارم: ۹۰ درصد کنسانتره و ۱۰درصد کاه گندم و صفر درصد یونجه خشک.

[۲] a،b و c میانگین‌های هر ردیف با حروف لاتین غیر مشابه، بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

[1] Treatment 1. Concentrate 80%+ alfalfa hay 10%+wheat straw 10%; Treatment 2. Concentrate 80%+ alfalfa hay 0%+wheat straw 20%; Treatment 3. Concentrate 90%+ alfalfa hay 5%+wheat straw 5%; Treatment 4. Concentrate 90%+ alfalfa hay 0%+wheat straw 10%.

[2 a.b.c] Values with different superscripts in every row differ significantly at P<0.05.

در پژوهشی اثر سطوح مختلف یونجه (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) بر شاخص اقتصادی خوراک برههای نر (نژاد آمیخته گوسفند مغولستان و گوسفند دم کوچک) بررسی شد. نتایج این پژوهش نشان داد که بالاترین هزینه خوراک در کیلوگرم افزایش وزن در سطح ۱۰۰ درصد یونجه مشاهده شد، در حالی که کمترین مقادیر مربوط به سطوح صفر و ۷۵ درصد بود؛ که هر دو کمتر از سه جیره دیگر بودند. بیشترین سود درکیلوگرم وزن (۲/۸۳ دلار) در سطح صفر درصد یونجه ثبت شد (Zhao and Li, 2009).

در مطالعه حاضر درآمد ناخالص بهازای یک رأس بره (ریال) که از حاصلضرب افزایش وزن زنده برهها طی آزمایش (کیلوگرم) در مبلغ۵۰۰۰۰۰ ریال (قیمت یک کیلوگرم وزن زنده برهها در پایان آزمایش) برآورد گردید. برای تیمار یک ۹۳۱۵۰۰۰ ریال برای تیمار دوم۱۲۶۴۰۰۰۰ ریال برای تیمار سوم ۱۰۸۶۵۰۰۰ ریال و برای تیمار چهارم ۱۳۵۷۵۰۰۰ ریال بود.

سود متغیر بهازای یک رأس بره (ریال) که از کسر کردن هزینههای تغذیهای از درآمد ناخالص بهازای یک رأس بره (ریال) حاصل گردیده برای تیمار چهارم با ۹۶۹۰۵۵۱ ریال بیشترین مقدار بود و در تیمار یک ۵۶۷۴۵۲۰ کمترین مقدار بود (جدول ۳). همچنین بیشترین سود متغیر بهازای یک رأس بره با جیره ۹۰ درصد کنسانتره و ۱۰ درصد کاه گندم بود.

استفاده از جیره پرکنسانتره برای تغذیه برههای پرواری نژاد عربی سود متغیر بهازای هر رأس بره نژاد عربی را برای گروهی که از جیره پرکنسانتره استفاده کرده بودند، بهترتیب ۲۹۷۳۷۵، ۱۸۱۰۶۳ و ۲۲۷۴۷۵ ریال بهدست آوردند (Dabiri, 1997). افزودن کنسانتره در جیره از ۴۵ درصد به ۹۰ درصد در جیره بزغالههای نر پرواری نژاد رائینی، میزان سود دامدار را بهصورت معنیدار از ۱۳۳۰۱ به ۳۴۶۳۱ ریال افزایش داد (Gholami and Babaei, 2021).

نتیجهگیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد با افزایش درصد کنسانتره و حذف یونجه در خوراک، ترکیب شیمیایی خوراک دستخوش تغییر شده که شامل افزایش درصد NFC و کاهش درصد NDF بوده و در نهایت، منجر به افزایش مصرف ماده خشک شد که این امر به نوبه خود باعث افزایش وزن روزانه و وزن نهایی، بهبود عملکرد رشد برهها شده و بهرهوری خوراک را بهطور مثبت تحت تأثیر قرار میدهد. همچنین نتایج مربوط به مقایسه اقتصادی تیمارها نشان داد که برههای تغذیه شده با تیمار دارای ۹۰ درصد کنسانتره و ۱۰ درصد کاه گندم سوددهی بیشتری در مقایسه با سایر تیمارها داشتند. بهطور کلی، نتایج حاصله بیانگر آن است که افزایش کنسانتره و حذف یونجه در جیره باعث بهبود مصرف خوراک و عملکرد رشد برهها شده و در مجموع، وزن نهایی بالاتر همراه با ضریب تبدیل غذایی بهتر در برههای پرواری حاصل خواهد شد که تأثیر مثبتی بر سوددهی پروار برهها داشته و قابل توصیه به دامداران میباشد.

References

1. Allen, M.S. (2000). Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. Journal of Dairy Science, 83(7), 1598 -1624. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75030-2.
2. Abarghani, A., Bojarpour, M., & Fayazi, J. (2010). The effect of replacement sugar beet pulp with barely on performance and carcass characteristics of Moghani male lambs. Iranian Journal of Animal Science Research, 2(2), 125-132. (In Persian). 10.22067/IJASR.V2I2.4092.
3. AFRC. 1992. Technical Committee on Responses to Nutrients. Report No. 9. Nutritive requirements of ruminant animal: protein. Nutrition Abstracts and Reviews Series B, 62 (12), 787-835.
4. Agle, M., Hristov, A.N., Zaman, S., Schneider, C.P., Ndegwa, M., Vaddella, V.K. (2010). Effect of dietary concentrate on rumen fermentation, digestibility, and nitrogen losses in dairy cows. Journal of Dairy Science, 93(9), 4211-4222. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2977.
5. Aguerre, M.J., Wattiaux, M.A., Powell, J.M., Broderick, G.A., & Arndt, C. (2011). Effect of forage-to-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide, and ammonia, lactation performance, and manure excretion. Journal of Dairy Science, 94(6), 3081-3093. https://doi.org/10.3168/jds.2010-4011.
6. Arbabi, S., Ghoorchi, T., Ramezanpour, S. S., & Torbatinejad, N. (2014). Effects of forage to concentrate ratios based on faba bean on fermentation, cellulase enzyme activity, and population of bacteria in rumen sheep. Ph.D. Thesis Faculty of Animal Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.
7. Albayrak, S., Turk, M., Yuksel, O., & Yilmaz, M. (2011). Forage yield and the quality of perennial legume-grass mixtures under rainfed conditions. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 39(1),114-118. https://doi.org/10.15835/nbha3915853.
8. AOAC. 2000. Official Methods of Analysis, 17th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.
9. Arjmand, M., Kiani, A., Azarfar, A., Azizi, A., and Fadayifar, A. (2021). Effect of diet concentrate level and fattening

period duration on growth performance, nutrient digestibility, and rumen parameters in male Lori-Bakhtiari lambs. Animal Production Research, 10(1), 51-63. (In Persian). https://doi.org/10.22124/AR.2021.15450.1491.

10. Bingol, N.T., Karsli, M.A., Yilmaz, I.H., & Bolat, D. (2007). The effects of planting time and combination on the nutrient composition and digestible dry matter yield of four mixtures of vetch varieties intercropped with barley. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 31(5), 297-302. https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol31/iss5/3.
11. Cantalapiedra-Hijar, G., Yáñez-Ruiz, D.R., Martín-García, A.I., & Molina-Alcaide, E. (2014). Effects of forage:concentrate ratio and forage type on apparent digestibility, ruminal fermentation, and microbial growth in goats. Journal of Animal Science, 87(2), 622-631. https://doi.org/10.2527/jas.2008-1142.
12. Carruthers, V.R., Neil, P.G., Dalley, D.E. (1997). Effect of altering the non-structural: Structural carbohydrate ratio in a pasture diet on milk production and ruminal metabolites in cows in early and late lactation. Journal of Animal Science, 64(3), 393-402. https://doi.org/10.1017/S1357729800015988.
13. Chen, G.J., Song, S.D., Wang, B.X., Zhang, Z.F., Peng, Z.L., Guo, C.H., Zhong, J.C., and Wang, Y. (2015). Effects of forage: Concentrate ratio on growth performance, ruminal fermentation and blood metabolites in housing-feeding yaks. Journal of Animal Sciences. 28(12), 1736–1741. https://doi.org/10.5713/ajas.15.0419.
14. Dabiri, N. (1997). Enrichment of woody materials with urea solution and its economic effect on the production capacity of fattening lambs. Ahvaz Journal of Agricultural Sciences, 20, 81-102. (In Persian).
15. Desnoyers, M., Duvaux-Ponter, C., Rigalma, K., Roussel, S., Martin, O., & Giger-Reverdin, S. (2008). Effect of concentrate percentage on ruminal pH and time-budget in dairy goats. Journal of Animal Science, 2(12), 1802-1808. https://doi.org/10.1017/S1751731108003157.
16. Elizalde, J. C., Cremin, J. D., Faulkner, D. B., & Merchen, N. R. (1998). Perfprmance and digestion by steers grazing tall fescue and supplemented with energy and protein. Journal of Animal Science, 76(6), 1691–1701. https://doi.org/10.2527/1998.7661691x.
17. Gholami, H., & Babaei, M. (2021). Investigating the benefits of using different levels of concentrate in the diet of male Raeinian goat kids. Applied Animal Science Research Journal, 10(38), 41–50. (In Persian). https://doi.org/10.22092/AASRJ.2021.354271.1231.
18. Haddad, S.G., Ata, M.A. (2009). Growth performance of lambs fed on diets varying in concentrate and wheat straw. Small Ruminant Research, 81(2), 96-99. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.11.015.
19. Hall, M.B., Larson, C.C., Wilcox, C.J. (2010). Carbohydrate source and protein degradability alter lactation, ruminal, and blood measures. Journal of Dairy Science, 93(1), 311–322. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2552.
20. Jarrige R., Dulphy, J.P., Faverdin, P., Baumont, R. and Demarquilly, C. (1995). The nutrition and activities of digestion and rumination in the domestic ruminants. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Paris, France.
21. Kaki, N., , Kiani, A., Azizi, A. (2019). Interaction effects of concentrate level and duration of fattening period in lambs on in vitro gas production, fermentation parameters, and volatile fatty acid concentration. Iranian Journal of Animal Science, 50(2),159-169. https://doi.org/10.22059/ijas.2019.280988.653702.
22. Kendall, C., Leonardi, C., Hoffman, P.C., & Combs, D.K. (2009). Intake and milk production of cows fed diets that differed in dietary neutral detergent fiber and neutral detergent fiber digestibility. Journal of Dairy Science, 92(1), 313–323. https://doi.org/10.3168/jds.2008-1482.
23. .Murphy, M., Akerlind, M., & Holtenius, K. (2000). Rumen fermentation in lactating cows selected for milk fat content fed two forage to concentrate ratios with hay or silage. Journal of Dairy Science, 83(4),756–764. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74938-1.
24. Minor, D.J., Trower, S.L., Strang, B.D., Shaver, R.D. and Grummer, R.R. (1998). Effects of non-fiber carbohydrate and niacin on periparturient metabolic status and lactation of dairy cows. Journal of Dairy Science, 81,189–200. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75566-3.
25. Nahed, J., Solis, C., Grande, D., sangines, L., Mendoza, G., & Perez-Gill, F. (2003). Evaluation of the use of Buddleia skutchii tree leaves and Kikuyu (Pennisetum clandestinum) grass hay in sheep feeding. Animal Feed Science and Technology, 106(4), 209-217. DOI:10.1016/S0377-8401(03)00061-0.
26. Nik-khah, A., Asadi Moghadam, R., Qarbash, M. (1992). The effect of three rations with different levels of energy on fattening performance of Atabai and Zel lamb. Iranian Journal of Agricultural Sciences, 3, 67-81. (In Persian).
27. Nik-khah, A., Asadi Moghaddam, R. (1986). Study of weight gain, nutritional efficiency and carcass characteristics of Iranian tail and tailless lambs. The Second Fattening Seminar of Moghan Plain, 42-59. (In Persian).
28. NRC. 2007. National Research Council nutrient require ments of small ruminants: sheep, goats. National Academy Press, Washington, DC.
29. Papi, N., Tehrani, A. (2017). Effects of dietary concentrate levels on growth performance, feed intake and carcass characteristics of fattening Chall male lambs. Journal of Ruminant Research, 2, 55-57. (In Persian). https://doi.org/10.22069/ejrr.2017.13361.1556.

30. Parsaei, s., & khadivi, H. (1995). Effect of metabolisable energy content and crude protein on male lamb fattening of Northern Khorasan Kordi sheep. Research and Construction, 8(4):114-119. (In Persian). https://doi.org/10.22092/VJ.1995.112664.
31. Rezaii, F., Danesh Mesgaran, M., Heravi Moussavi, A.(2011). Effects of the source of non-fiber carbohydrates on in vitro first order ruminal disappearance kinetics of dry matter and NDF of various feeds. Iranian Journal of Veterinary Research, 12(2), 222-229. (In Persian). https://doi.org/10.22099/IJVR.2011.69.
32. Rong,Y., Yuan, F. and Johnson, D.A. (2014). Addition of alfalfa (Medicago sativa L.) to lamb diets enhances production and profits in northern China. Livestock Research for Rural Development, 26,224. http://www.lrrd.org/lrrd26/12/rong26224.htm.
33. Van cleef, F. D. O. S., Ezequiel, J. M. B., Aurea, A. P., Aurea, M. T. C., Perez, H. L., & Van clef, E. H. C. (2016). Feeding behavior, nutrient digestibility, and feedlot performance, carcass traits, and meat characteristics of crossbred lambs fed high levels of yellow grease or soybean oil. Small Ruminant Research, 137, 151-156. DOI:10.1016/j.smallrumres.2016.03.012.
34. Van Soest, P.V., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non–starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74(10), 3583-3597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.
35. Van Vleck, L. D. (1993). Selection with more than one trait measured. p. 151-170 in Selection Index and Introduction to Mixed Model Methods. CRC Press, Ann Arbor, MI.
36. Zhao, T. Z., Li, H.Y. (2009). Study on ruminal degradation of mainly protein and fiber sources in dairy diets. Contemp Anim Husb, 11,29–32.

Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1, Spring 2023, p. 29-38

The Effect of Gamma Irradiation of Corn Seeds on Performance and Fermentation Parameters of Corn Forage and Silage

Ali Reza Shabani Monazam[1], Mehdi Behgar [2], Mohammad Ali Norouzian [3*], Azam Borzoie[4]

Received: 14-11-2021
Revised: 13-07-2022
Accepted: 26-07-2022
Available Online: 26-07-2022

How to cite this article:
Shabani Monazam, A. R., Behgar, M., Norouzian, M. A., & Borzoie, A. (2023). The effect of gamma irradiation of corn seeds on performance and fermentation parameters of corn forage and silage. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 29-38.
DOI: 10.22067/ijasr.2022.73461.1050

Introduction: The use of radiation has become a way of life in most countries around the globe. The utilization of nuclear techniques in the area of agriculture, defense, and power generation has increased over the last few decades. Radiation technology is widely used to produce changes in product characteristics leading to the development of new products. Radiation-mediated morphological, structural and/or functional changes in a plant are governed by the intensity and duration of the gamma irradiation. Gamma irradiation was found to increase plant productivity. Gamma rays represent one of the important physical agents used to improve the characters and productivity of many plants (e.g. rice, maize, bean, cowpea, and potato). Gamma irradiation also has been found to be very useful for both sterilization and for the preservation of food and cereal grain in nutrition and agriculture. Gamma rays were also found to cause modulation in protein patterns by inducing the appearance and/or disappearance of some protein bands. It has been shown that large DNA strands were broken into small strands at low irradiation doses but small and large DNA strands were broken at higher irradiation doses. Also it has reported that germination of seeds can be influenced in both positive and negative directions by gamma radiation exposure as a result of mutation inductions depending on cellular abnormalities or stimulatory modifications triggered by radiation doses. In several studies, lethal and stimulatory effects of gamma irradiation on germination percentage, emergence, and survival of seedlings of different plant species have been reported. The present work has been intended to investigate the response of corn seeds exposed to gamma irradiation (25 Gys) in terms of the nutritional performance of its forage and silage compared with control non-exposed seeds.

Materials and Methods: Corn seeds were obtained from the Vegetable Crop Seed Production and Technology section, Ghezlagh Farm, College of Abouraihan, university of Tehran, Iran. Four kg corn seeds (single cross 704) were divided into 2 groups. The first group did not have any treatment to serve as a control, while the second group was irradiated with Gamma rays (25 Gray) using Gamma cell – cobalt- 60 instruction and with the rate of 0.55 Gr/ min at the Nuclear Agricultural Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran. Field experiments were conducted during the summer seasons at Ghezlal farm Research Station located at the southwest of Tehran province, Varamin, to study the effect of gamma irradiation (25 Gray) on the performance of corn forage and silage. After irradiation, control and irradiated seeds were cultivated in 2000 m^2. Agricultural practices such as: irrigation, weeding, fertilization, and pest control were carried out as recommended. Samples of corn plants were obtained at the late stage of growth and amounts of proline, soluble carbohydrate, and protein were determined. Performance chrematistics of experimental groups were also recorded. After harvesting, the corn forage was chopped and transferred to an experimental silo made of polyethylene pipe. DM, ash, CP, NDF, and

1- M.Sc. Student, Department of Livestock and Poultry Sciences, , Faculty of Agricultural Technology , University of Tehran, Tehran, Iran
2- Associate Professor, Agricultural Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran
3-Associate Professor, Department of Livestock and Poultry Sciences , Faculty of Agricultural Technology , University of Tehran, Tehran, Iran
4- Associate Professor, Agricultural Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran
*Corresponding Author's Email: M.A. Norouzian: manorouzian@ut.ac.ir

ADF of experimental silages were determined according to standards procedures. The pH of silage also was determined using pH meters. For the determination of gas production parameters, 200 mg of dry samples were incubated at gas production environment and the amount and rate of gas production were recorded at a different time of incubation (0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72 and 96 h). Using gas production parameters, the amount of OM digestibility, ME, NEL, and SCFA were also determined. Data were analyzed using the t-student test of SAS software (ver. 9.1). Duncan's multiple range test was used to detect statistical significance between treatments using a significance level of 0.05.

Results and discussion: Irradiation of corn seeds increased corn performance (wet and dry weight of seed and forage), amount of soluble carbohydrates and protein, and concentration of proline ($P<0.05$). The exposed treatment showed the highest increase in seed weight, seed number, and weight of 1000 seeds as compared to the control ($P < 0.05$). Amount of gas, and b and c fractions of gas production, the concentration of short-chain fatty acids (SCFAs), metabolizable (ME) and net energy for lactation (NEL), and organic matter digestibility (OMD) were higher for treated corn forage and silage compared to the control group ($P < 0.05$). Also, exposed corn silage had a lower level of pH and higher amount of dry matter (DM) and crude protein (CP) than control ($P < 0.05$).

Conclusion: The results of this study show that exposing irradiation of corn seeds to 25 gray gamma-ray improves fermentation parameters and nutrition values of corn forage and silage.

Keywords: Chemical composition, Forage corn, Gamma-ray, Gas production

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد۱۵، شماره۱، بهار۱۴۰۲، ص ۳۸-۲۹

تأثیر پرتوتابی گامای بذر ذرت علوفه‌ای بر عملکرد و فراسنجه‌های تخمیری گیاه و سیلاژ آن

علیرضا شعبانی منظم[۱]، مهدی بهگر[۲]، محمدعلی نوروزیان[۳*]، اعظم برزوئی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۲۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۴/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۴

چکیده

یکی از روش‌های بهبود عملکرد گیاهان زراعی استفاده از فناوری هسته‌ای است. در این پژوهش، بذر ذرت علوفه‌ای سینگل کراس ۷۰۴ با دز بهینه ۲۵ گری با استفاده از دستگاه گاما سل کبالت-۶۰ با نرخ ۰/۵۵ گری در دقیقه پرتوتابی شد. سپس در زمینی به مساحت دو هزار مترمربع بذور پرتوتابی شده و پرتوتابی نشده کشت شدند. نمونه‌برداری از گیاه ذرت در انتهای دوره رشد انجام و مقدار پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و پروتئین محلول و همچنین صفات عملکردی ذرت اندازه گیری شد. پس از برداشت، علوفه ذرت توسط دستگاه چاپر، خرد و مقداری از علوفه هر دو تیمار در سیلوهای آزمایشی از جنس لوله پلی اتیلن سیلو شد. مقدار ماده خشک، خاکستر خام، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. همچنین pH سیلاژهای آزمایشی با استفاده از روش عصاره‌گیری و توسط pH متر تعیین شد. جهت برآورد فراسنجه‌های تولید گاز مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه آسیاب شده علوفه و سیلاژ گیاه ذرت به همراه مایع شکمبه در محیط تولید گاز انکوبه و میزان و نرخ گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت اندازه‌گیری شد. هم‌چنین با استفاده از فراسنجه‌های تولید گاز به‌دست آمده، میزان قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص شیردهی و میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر برآورد شد. مقدار وزن خشک، کربوهیدرات و پروتئین محلول گیاه ذرت پرتوتابی شده به‌ترتیب ۳۱۴/۸ گرم در هر بوته، ۶۱۶/۰ و ۱۴/۴۳ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر بیشتر از این مقادیر در شاهد (به‌ترتیب ۲۲۵/۲ گرم در هر بوته، ۴۴۹/۶ و ۱۲/۲۵ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر) بود (P <۰/۰۵). همچنین درصد ماده خشک و پروتئین خام نمونه‌های سیلاژ گروه تیمار (به ترتیب ۲۹/۴ و ۱۳/۳ درصد) بیشتر از تیمار پرتوتابی نشده (به‌ترتیب ۲۶/۱ و ۱۱/۲ درصد) بود (P <۰/۰۵). همچنین سیلاژ ذرت پرتوتابی شده pH کمتری (۳/۸ در برابر ۴/۱) نسبت به گروه شاهد داشت (P <۰/۰۵). میزان، قابلیت (ضریب b) و نرخ (ضریب c) تولید گاز، میزان تولید اسیدهای چرب فرار، قابلیت هضم ماده آلی و محتوای انرژی قابل متابولیسم و انرژی خالص نمونه‌های گیاه و سیلاژ ذرت حاصل از بذور پرتوتابی شده بیشتر از گروه شاهد بود (P <۰/۰۵). نتایج این آزمایش نشان داد، پرتوتابی بذر ذرت علوفه‌ای با پرتو گاما با دز ۲۵ گری باعث بهبود فراسنجه‌های تخمیر و ارزش غذایی سیلاژ ذرت حاصل از آن می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پرتو گاما، ترکیب شیمیایی، تولید گاز، ذرت علوفه‌ای

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دام و طیور، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۲- دانشیار پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، کرج، ایران.
۳- دانشیار، گروه علوم دام و طیور، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران.
۴- دانشیار پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، کرج، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: manorouzian@ut.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.73461.1050

مقدمه

انســـان از یک طرف به‌دلیل نیاز روزمره و از طرف دیگر، برای تأمین نیاز جمعیت در حال ر شد، وابستگی زیادی به گیاهان دا شته و در همین راستا سعی کرده است تا به کمک روش‌های علمی، عملکرد کیفی و کمّی گیاهان را افزایش دهد تا بتواند نیازهای تغذیه‌ای جوامع را پاســـخ دهد. در بین گیاهان زراعی، گیاهان علوفه‌ای مانند ذرت علوفه‌ای نقش بســیار مهمی در تأمین غیرمســتقیم پروتئین حیوانی از طریق تأمین علوفه دام‌های پرورشـــی برعهده دارند. به‌طوری‌که حدود ۷۵ درصـــد از تولید جهانی ذرت به‌صـــورت علوفه در اختیار دام‌ها قرار می‌گیرد. همچنین ذرت از نظر تولید جهانی بعد از گندم و برنج در مقام سوم قرار دارد و از یک سو به‌دلیل دارا بودن مواد نشا سته‌ای در دانه و از سوی دیگر، مواد محلول و الیاف مناسب در علوفه آن یکی از بهترین گیاهان علوفه‌ای مورد استفاده در تغذیه دام محسوب می‌شود.

اخیراً علاوه‌بر نهاده‌های م صرفی و عوامل زراعی، ا ستفاده کارآمد از روش‌های هســـته‌ای برای افزایش عملکرد و بهبود کیفیت گیاهان زراعی و دارویی، کاربرد زیادی یافته است. مشخص شده است که این محرک‌های فیزیکی مانند پرتوتابی گاما با ایجاد تغییرات فیزیولوژیک و بیوشـیمیایی می‌توانند به‌طور مؤثری بر فرایندهای فتوسـنتز، تکثیر سـلولی، بهبود جوانه‌زنی، افزایش نرخ رشـد، افزایش مقاومت گیاه در برابر اسـترس و یا بهبود عملکرد گیاهان زراعی مؤثر باشـند (Nepal *et al*., 2012). گزارش شده است که پرتو گاما در دزهای نسبتاً پایین (کمتر از ۱۰۰ گری) موجب بهبود سرعت جوانه‌زنی از طریق شکسته شـدن ملکول‌های کوچک به‌عنوان فعال‌کننده‌های ثانویه در درون بذر می‌شـــود و همچنین می‌تواند با فعال کردن برخی از ژن‌ها منجر به افزایش تکثیر سـلولی و در نتیجه، نرخ رشـد شـود (Smith, 2004). به‌عنوان م ثال، پرتو تابی بذر گ ندم در دز ۱۰۰ گری با عث افزایش فتو سنتز و میزان کلروفیل شده ا ست (Al-Masri and Zarkawi, 1994). همچنین پرتودهی بذر تریتیکاله با دز تابش بین ۲ تا ۳۰ گری باعث بهبود صـــفات عملکردی در مقایســـه با گیاه شـــاهد شـــد (Borzouei *et al*., 2013). همچنین کاهش میزان لیگنین و بهبود محتو یات کربوه یدرات محلول و پروتئین گ یاه در پی پرتو تابی بذر غلات گزارش شده ا ست (García-Lara and Serna-Saldivar, 2002). از آن‌جا که بین محتوای کلروفیلی، کربوه یدارت محلول و پروتئین گیاه با خصـــوصـــیات هضـــمی رابطه مثبتی وجود دارد، لذا پرتوتابی می‌تواند منجر به بهبود کیفیت علوفه و یا سیلاژ حاصل از آن شود (Weiss and Hall, 2020). با توجه به اینکه مطالعات محدودی در مورد تأثیر پرتوتابی بذر گیاهان علوفه‌ای مورد ا ستفاده در تغذیه دام بر عملکرد و خ صو صیات تغذیه‌ای آن تاکنون انجام ن شده ا ست، این آزمایش به‌منظور بررســـی تأثیر پرتوتابی بذر با پرتو گاما بر عملکرد و کیفیت علوفه و سیلاژ ذرت علوفه‌ای به‌روش برون تنی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در پردیس ابوریحان دانشـــگاه تهران و پژوهشـــکده کشاورزی هسته‌ای پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای انجام شد. حدود دو کیلوگرم بذر ذرت علوفه‌ای (ســـینگل کراس ۷۰۴) پس از انجام آزمایشـــات جوانه‌زنی (داده‌های منتشـــر نشـــده) به‌منظور پرتوتابی به پژوهشـــکده کشـــاورزی هســـته‌ای منتقل و در دز بهینه ۲۵ گری با اسـتفاده از دسـتگاه گاما سـل کبالت-۶۰ با نرخ ۰/۵۵ گری در دقیقه پرتوتابی شد. سپس بذرهای پرتوتابی شده در زمینی به م ساحت دو هزار مترمربع در مزر عه قزلاق واقع در جنوب غربی شـــهرســـتان پاکد شت و در د شت ورامین ک شت شد. هدایت الکتریکی خاک ۵/۴ دسی زیمنس بر متر و مساحت هر کرت ۹۹ مترمربع (۸/۲۵ متر × ۱۲ متر) بود. آبیاری (هدا یت الکتریکی ۳/۹ دســـی زیمنس بر متر) با ا ستفاده از سیستم آبیاری قطره‌ای هر هفت روز در طول ف صل ر شد انجام شـد. در نیمی از زمین مورد نظر، بذور پرتوتابی شـده و در نیمی دیگر بذور پرتوتابی نشده ذرت کشت شد. نمونه‌برداری از گیاه ذرت در انتهای دوره ر شد انجام شد. مقدار پرولین از روش بیتس و با ا ستفاده از نین هیدرین، کربوهیدرات‌های محلول با ع صاره‌گیری و ا ستفاده از آنترون و پروتئین محلول با اســتفاده از روش براد فورد و با دســـتگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد (Alizadeh *et al*., 2014). همچنین صـــفات عملکردی ذرت مانند وزن تر و خشـــک، وزن و تعداد دانه اندازه‌گیری شد.

پس از بردا شت، علوفه ذرت تو سط د ستگاه چاپر، خرد و به محل ذخیره سـیلو منتقل شـد. مقداری از علوفه هر دو تیمار در سـیلوهای آزمایشی از جنس لوله پلی اتیلن به‌مدت یک ماه سیلو شد. پس از این زمان، درب سـیلوها باز و نمونه‌ها با هم مخلوط شـد. برای آزمایشـات بعدی از سطوح بالایی، میانی و پایینی نمونه کافی بردا شته و مخلوط شـــد. مقدار ماده خشـــک با قرار دادن نمونه‌ها در دمای ۱۰۵ درجه ســانتی‌گراد، خاکســتر خام با قرار دادن نمونه‌ها در کوره الکتریکی در دمای ۵۰۰ درجه ســانتی‌گراد، پروتئین خام با اسـتفاده از روش کلدال (AOAC, 1990) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شـوینده اسـیدی (Van Soest *et al*., 1991) اندازه‌گیری شـد. اندازه‌گیری pH سیلاژ با ا ستفاده از روش عصاره‌گیری و تو سط pH متر (Corning UK) انجام شد (Verbic *et al*., 1999).

جهت برآورد فراســـنجه‌های تولید گاز و به‌منظور تهیه مخلوطی یکنواخت، نمونه‌های گیاه کامل ذرت و ســـیلوهای آزمایشـــی پس از خشک کردن با استفاده از آسیاب با توری یک میلی‌متری آسیاب شد. ســـپس مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه آســـیاب شـــده به مخلوط شـــیرابه شکمبه- بزاق م صنوعی در ویال‌های ۵۰ سی سی ا ضافه و در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. قرائت حجم گاز تولیدی در زمان‌های

۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انجام شد. برای برازش فراسنجه‌های تولید گاز از رابطه ۱ استفاده شد (Menke *et al.*, 1979). همچنین با استفاده از فرا سنجه‌های تولید گاز به‌دست آمده، میزان قابلیت هضم ماده آلی (رابطه ۲)، انرژی قابل متابولیسم (رابطه ۳)، انرژی خالص شیردهی (رابطه ۴) و میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (رابطه ۵) برآورد شد (Menke and Steingass, 1998).

رابطه (۱)
$$G = b\,(1 - e^{-ct})$$

رابطه (۲)
$$OMD\ (\%) = ۱۴/۸۸ + (۰/۸۸۹\times GP_{۲۴}) + (۰/۴۵\times CP) + (۰/۰۶۵۱\times Ash)$$

رابطه (۳)
$$ME\ (MJ/kg\ DM) = ۲/۲ + ۰/۱۳۶\ GP_{۲۴} + ۰/۰۵۷\ CP + ۰/۰۰۲۹\ EE$$

رابطه (۴)
$$NE_L(MJ/kg\ DM) =(۰/۰۹۶\times GP_{۲۴})+(۰/۰۰۳۸\times CP)+ (۰/۰۰۱۷۳\times EE) +۰/۵۴$$

رابطه (۵)
$$SCFA(mmol)= -۰/۰۰۴۲۵+۰/۰۲۲۲ \times GP_{۲۴}$$

که در این روابط، $GP_{۲۴}$: حجم تولید گاز در ساعت ۲۴، ME: انرژی قابل متابولیسم، NE_L: انرژی خالص شیردهی، OMD: قابلیت هضم ماده آلی، CP: پروتئین خام؛ Ash: خاکستر، EE: عصاره اتری و SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر هستند.

داده‌های به‌دست آمده از آزمایش به صورت t-student با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و تحلیل شد.

نتایج و بحث

تأثیر پرتوتابی بذر ذرت بر خصوصیات عملکردی گیاه ذرت در جدول ۱ آورده شده است. پرتوتابی بذر ذرت با پرتو گاما باعث افزایش عملکرد (وزن تر و خشک دانه و گیاه) و همچنین محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول و میزان پرولین شد ($P < ۰/۰۵$). مشابه نتایج این مطالعه پرتوتابی بذر ذرت با سطوح کمتر از ۱۰۰ گری باعث افزایش تعداد دانه و وزن دانه شد، به‌طوری‌که عملکرد ذرت حدود هشت درصد بعد از پرتوتابی افزایش نشان داد (Yadava *et al.*, 2019). همچنین در سویا، پرتوتابی گاما باعث افزایش عملکرد دانه از ۲/۵ تن به ۴/۵ تن در هکتار شد (Pasangka, 2013). دلیل این افزایش عملکرد بعد از پرتوتابی با دزهای پایین اثرات تحریکی و همچنین بهبود شاخص‌های رشد گیاه گزارش شده است. سطوح پایین پرتو گاما منجر به تحریک رشد با افزایش در قابلیت آنتی اکسیدانتی سلولی و یا تغییر در شبکه تنظیمی هورمونی گیاه می‌شود. همچنین می‌تواند منجر به تحریک سنتز پروتئین و RNA شود (Borzouei *et al.*, 2013). یافته‌های محققین نشان می‌دهد که پرتوتابی در دزهای پایین (تا ۲۰ گری) باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و ریشه‌دهی شده است، به‌طوری‌که طول ریشه را بین ۱۸ تا ۳۲ درصد افزایش داده است (Melki and Marouani, 2010). همچنین در مطالعه‌ای پرتوتابی با ۱۵ گری منجربه بهبود وزن خشک نخود در مقایسه با دز صفر شده است (Melki and Salami, 2008). جوانه‌زنی و رشد گیاه وابسته به تغذیه گیاه از مواد مغذی مانند پروتئین، اسیدهای آمینه، کربوهیدرات، ویتامین‌ها و مواد معدنی است. نشان داده شده است که پرتوتابی می‌تواند منجر به شکست بیشتر پیوندهای بین زنجیرها و ارتباطات عرضی مولکول های پیچیده پروتئین و کربوهیدرات در کمپلکس ترکیب آن‌ها و تولید پلیمرهای ساده‌تر شود (Mashev *et al.*, 1995). همچنین مشابه نتایج مطالعه حاضر، مشخص شده است که پرتوتابی با دز پایین پرتو گاما می‌تواند باعث افزایش میزان اسیدآمینه پرولین شود که عامل مهمی در تحریک رشد جوانه‌زنی است. پرولین می‌تواند در زمان کمبود مواد مغذی و وجود استرس به پایداری پروتئین سلولی، تنظیم فشار اسمزی، حفظ آب سلولی، حذف اکسیژن‌های فعال محیط و حفظ pH سلول کمک کند. نقش پرولین در حفظ هموستاز سلولی از طریق حذف رادیکال های آزاد محیط باعث پایداری ساختار ها و عملکردهای مختلف سلولی مانند DNA، پروتئین و کربوهیدرات و همچنین حفظ عملکرد غشای سلول می‌شود که در نهایت، در کاهش فشار متابولیکی در گیاه و حفظ عملکرد آن بسیار مهم است (Falahati *et al.*, 2007).

یکی دیگر از شاخص‌های مهم بیوشیمیایی سلول، میزان پروتئین آن است. مشابه نتایج این مطالعه در برخی تحقیقات افزایش میزان پروتئین سلولی پس از پرتوتابی گزارش شده است. در گندم پرتوتابی با پرتو گاما در دو واریته آن منجر به افزایش پروتئین محلول شده است (Borzouei *et al.*, 2013). همچنین گزارش شده است که پرتوتابی با پرتو گاما در دزهای پایین می‌تواند باعث شکست اتصالات عرضی در درشت مولکول‌هایی مانند نشاسته و تولید پلیمرها و قندهای ساده‌تر شود که میزان کربوهیدرات‌های محلول را در گیاه و محصولات آن افزایش می‌دهد که این موضوع در تغذیه دام بسیار مهم است (Borzouei *et al.*, 2013).

در عین حال، بسیاری از گزار شات نشان می‌دهند که پرتوتابی با دزهای بالای پرتو گاما باعث کاهش عملکرد کیفی و کمّی گیاهان می‌شود. در گندم پرتوتابی با دزهای بالاتر از ۱۰۰ گری پرتو گاما، باعث کاهش معنی‌دار عملکرد دانه همزمان با کاهش درصد جوانه‌زنی و زنده‌مانی بذر و ارتفاع گیاه شده است (Mashev *et al.*, 1995). همچنین در سورگوم، پرتوتابی با دزهای بالای پرتو گاما، باعث کاهش جوانه‌زنی و عملکرد رشد شده است، به‌طوری‌که پرتوتابی با دزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ گری در سورگوم منجر به کاهش ۱۶، ۱۹ و ۲۲ درصد در ارتفاع گیاه و کاهش ۱۸، ۲۲ و ۲۴ درصد در عملکرد وزن تر گیاه شده است (Wahyono *et al.*, 2018). همچنین بیان شده است که میزان کربوهیدرات و کل پروتئین گیاه با پرتوتابی در دزهای بالا

به‌دلیل افزایش فعالیت های متابولیکی و آنزیم های هیدرولیزکننده کاهش می‌یابد (Maity *et al.*, 2009). دزهای بالای پرتوتابی باعث عوارض متابولیکی در بذر شده که منجر به مرگ سلولی و ناتوانی در جوانه‌زنی می‌شـــود. همچنین در دز های بالای پرتو تابی، تخر یب کروموزومی و تغییرات ساختاری در DNA می‌تواند دلیل دیگر کاهش زنده‌مانی، جوانه‌زنی بذر و عملکرد آن باشـــد (Wahyono *et al.*, 2018).

جدول ۱– تأثیر پرتوتابی گاما بر خصوصیات عملکردی و ترکیب شیمیایی گیاه ذرت علوفه‌ای

Table 1- The effect of gamma irradiation on performance and chemical composition of forage corn

فراسنجه Parameter	شاهد Control	تیمار Treatment	SE[1]	مقدار P P value
تعداد بلال (در هر بوته) Number of ears (per plant)	0.77b	1.00a	0.05	0.0110
وزن تر گیاه (گرم در هر بوته) Fresh weight (g/plant)	546.7b	729.2a	26.5	0.0112
وزن خشک (گرم در هر بوته) Dry weight (g/plant)	225.2b	314.8a	11.3	0.0111
وزن دانه (گرم در هر بوته) Seed weight (g/plant)	24.44b	72.26a	3.43	0.01101
تعداد دانه (در هر بوته) Seed number (per plant)	3407b	5447a	17.6	0.0104
وزن هزار دانه (گرم در هر بوته) Weight of 1000 seeds (g/plant)	727b	1144a	7.28	0.0104
کربوهیدرات محلول (میلی گرم/گرم وزن تر) Soluble carbohydrate (mg/gfw)	449.6b	616.0a	21.54	0.0101
پروتئین محلول (میلی گرم/گرم وزن تر) Soluble protein (mg/gfw)	12.25b	14.43a	0.73	0.0410
پرولین (میکرومول بر گرم) Proline (µmol/g)	37.6b	52.4a	3.21	0.01

[1] SE: خطای استاندارد

– اعداد با حروف متفاوت در ردیف‌ها نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

- Means with different letters in a row differ (P < 0.05).

میزان تولید گاز در ســاعت‌های مختلف انکوباســیون (جدول ۲) و فراســنجه‌های تخمیر (جدول ۳) گیاه ذرت پرتوتابی شــده و پرتوتابی نشده نشان داده شده است. برر سی میزان تولید گاز و فرا سنجه‌های تخمیری در شــرایط برون تنی بیانگر وســعت قابلیت هضــم و تخمیر سوبسترای گیاه (Krizsan *et al.*, 2013) و تنوع در تولید گاز ناشی از تنوع در ترکیب شیمیایی سوب سترای مورد ا ستفاده ا ست (Fazaeli and Golmohammadi, 2012). در این م طال عه، ه مان‌طور که م شاهده می شود، میزان تولید گاز در تمام ساعت‌های انکوبا سیون در تیمار پرتوتابی شــده بالاتر از گروه شــاهد بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۲). همچنین ضرایب تولید گاز b و c و میزان تولید ا سیدهای چرب فرار، قابلیت هضم ماده آلی، محتوای انرژی قابل متابولیسم و انرژی خالص تیمار پرتوتابی شــده بالاتر از گروه شــاهد بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۳). م شابه با نتایج این مطالعه پرتوتابی بذر سورگوم منجر به افزایش کل تولید گاز در دزهای پایین شــده اســت (Wahyono *et al.*, 2018). همچنین همبســتگی مثبتی بین مقدار پروتئین خام و نرخ تولید گاز در گیاه یولاف و علوفه‌های مرتعی گزارش شــده اســت (Wahyono, 2018). در آزمایش حاضـــر افزایش محتوای پروتئین و کربوهیدرات محلول در گیاه ذرت حاصـــل از بذر پرتوتابی شـــده می‌تواند یکی از دلایل افزایش تولید گاز به‌دلیل تولید اســـیدهای چرب کوتاه زنجیر توســـط ریزجانداران باشـــد. زیرا بخش زیادی از گاز تولیدی به‌طور مســـتقیم از تولید اســـیدهای چرب اســـتات و بوتیرات و بخشـــی نیز به‌وا سطه بافر شدن ا سیدهای چرب فرار تولید می شود (Getachew *et al.*, 2004).

اگر چه در این آزمایش از دزهای بالاتر پرتو گاما استفاده نشد، امّا در مطالعه‌ای پرتوتابی بذر ســـورگوم با دز بالا (۲۰۰گری) میزان تولید گاز گیاه را در مقایســـه با کاه آن کاهش داد (Wahyono *et al.*, 2018). همچنین در آزمایش این محققین میزان تولید متان به‌عنوان مهم‌ترین گاز تخمیر محیط انکوباسیون پس از پرتوتابی با دزهای ۲۰۰ و ۳۰۰ گری پرتو گاما به‌ترتیب ۱۹ و ۱۵ درصد کاهش داشت که دلیل آن کاهش میزان کربوهیدرات و کل پروتئین گیاه به‌دلیل افزایش

فعالیت‌های متابولیکی و آنزیم‌های هیدرولیزکننده پس از پرتوتابی با دزهای بالا گزارش شده است.

جدول ۲- تأثیر پرتوتابی بر مقدار گاز تولیدی گیاه ذرت در ساعت‌های مختلف انکوباسیون (میلی‌لیتر)

Table 2- The effect of gamma irradiation on gas production of corn forage at different time of incubation (ml/200 g DM)

ساعت انکوباسیون Incubation time	شاهد Control	تیمار Treatment	SE[1]	مقدار P P value
2	10.4b	12.2a	0.4	0.0101
4	17.6b	19.6a	0.61	0.0200
6	23.9b	26.0a	0.87	0.0114
8	29.6b	31.9a	0.91	0.0501
12	37.2b	41.4a	1.0	0.0104
24	44.9b	51.5a	1.3	0.0114
36	55.7b	62.3a	1.4	0.0154
48	69.7b	76.3a	1.5	0.0110
72	77.1b	84.9a	1.7	0.0141
96	81.2b	88.7a	1.7	0.0101

[۱] SE: خطای استاندارد

- اعداد با حروف متفاوت در ردیف‌ها نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

- Means with different letters in a row differ (P < 0.05)

جدول ۳- تأثیر پرتوتابی بر ضرایب و فراسنجه‌های تولید گاز گیاه ذرت علوفه‌ای

Table 3- The effect of gamma irradiation on gas production parameters of forage corn

فراسنجه Parameter	شاهد Control	تیمار Treatment	SE[1]	مقدار P P value
قابلیت تولید گاز (b؛ میلی‌لیتر) Potential of gas production (b; ml)	79.5b	86.5a	1.7	0.0101
نرخ تولید گاز (c؛ میلی‌لیتر بر ساعت) Rate of gas production (c; ml/h)	0.053	0.057	0.01	0.0610
اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول بر لیتر) SCFA (mmol/l)	1.23b	1.39a	0.03	0.0101
قابلیت هضم ماده آلی (درصد) OM digestibility (%)	69.5b	76.2a	1.3	0.0110
انرژی متابولیسمی (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک) ME (Mj/kg DM)	10.41b	11.42a	0.20	0.0195
انرژی خالص شیردهی (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک) NEL (Mj/kg DM)	5.34b	6.05a	0.10	0.0104

[۱] SE : خطای استاندارد

- اعداد با حروف متفاوت در ردیف‌ها نشان‌دهنده ختلاف آماری معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

- Means with different letters in a row differ (P < 0.05)

ترکیب و خصوصیات شیمیایی سیلاژ ذرت حاصل از بذور پرتوتابی شده و شاهد در جدول ۴ گزارش شده است. ترکیبات شیمیایی سیلاژ ذرت در محدوده میانگین ترکیبات شیمیایی گزارش شده برای سیلاژ ذرت بود (McDonald *et al.*, 1991). درصد ماده خشک، پروتئین و چربی خام تیمار پرتوتابی شده بیشتر و میزان pH سیلاژ آن کمتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). افزایش در درصد پروتئین سیلاژ و نیز کاهش میزان pH آن می‌توانند به‌دلیل افزایش مواد مغذی محلول (جدول ۲) گیاه ذرت پرتوتابی شده در زمان سیلو کردن و در نتیجه، افزایش جمعیت باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک و بهبود تخمیر باشد. مشابه با نتایج این آزمایش، در مطالعه‌ای بر روی سیلاژ سورگوم کاهش در pH محیط تخمیری پس از پرتوتابی بذور آن گزارش شده است (Wahyono, 2018). این محققین نیز کاهش در میزان pH را نا شی از نوع کربوهیدرات در د سترس و نیز میزان بالای کربوهیدرات محلول در محیط گزاش کرده‌اند. اگر چه مقدار pH در هر دو سیلاژ در محدوده مناسب گزارش شده برای سیلاژ ذرت قرار داشت (McDonald *et al.*, 1991)، با این حال سیلاژ ذرت حاصل بذر پرتوتابی شده pH پایین‌تری دا شت. دلیل این مو ضوع را می‌توان به بیشتر بودن مقدار کربوهیدرات محلول در علوفه ذرت حاصل از بذر پرتوتابی شده قبل از سیلو کردن نسبت داد (جدول ۱). کربوهیدرات‌های محلول عمده ترکیباتی هستند که توسط باکتری‌ها

به اسیدهای آلی (عمدتاً اسید لاکتیک) تخمیر شده و با کاهش pH و اسیدی کردن محیط باعث حفظ کیفیت سیلاژ و جلوگیری از تجزیه پروتئین به آمونیاک می‌شوند (Getachew *et al*., 2004). دلیل بالاتر بودن پروتئین خام در سیلاژ ذرت حاصل از بذر پرتوتابی شده را می‌توان به همین موضوع نسبت داد.

جدول ٤- آنالیز تقریبی و pH سیلاژ ذرت آزمایشی

Table 4- Chemical composition of experimental corn silage

فراسنجه Parameter	شاهد Control	تیمار Treatment	SE[1]	مقدار P P value
ماده خشک (٪) Dry matter (%)	26.1b	29.4a	0.09	0.0030
خاکستر (٪) Ash (%)	7.19	7.46	0.4	0.6501
پروتئین خام (٪) Crude protein (%)	11.2b	13.3a	0.18	0.0210
فیبر نامحلول در شوینده خنثی (٪) Nuetral Detergent Fiber (%)	29.9	26.9	2.2	0.0710
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (٪) Acid Detergent Fiber (%)	18.1	16.5	1.8	0.1210
pH	4.1a	3.8b	0.02	0.0114

[1] SE: خطای استاندارد

- اعداد با حروف متفاوت در ردیف‌ها نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

- Means with different letters in a row differ ($P < 0.05$).

میزان تولید گاز (جدول ۵) و فراسنجه‌های تخمیر (جدول ۶) سیلاژ نشان داده شده است. مشابه روند مشاهده شده در گیاه ذرت، مقادیر تولید گاز در ساعت‌های مختلف انکوباسیون و نیز مقدار فراسنجه‌های تخمیری آن برای سیلاژ ذرت حاصل از بذور پرتوتابی شده بالاتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). بهبود در مقدار فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ می‌تواند به‌دلیل فراهمی بیشتر مواد مغذی به‌ویژه پروتئین و کربوهیدرات محلول در محیط انکوباسیون باشد (جدول ۴). در همین رابطه همبستگی مثبتی بین میزان پروتئین خام و نرخ تولید گاز در یولاف و علوفه‌های مرتعی گزارش شده است، به‌طوری‌که افزایش میزان پروتئین خام باعث افزایش تولید گاز ۹۶ ساعت و فراسنجه‌های تولید گاز شده است (Kulivand and Kafilzadeh, 2015).

مشابه نتایج این مطالعه، در آزمایشات دیگر نیز افزایش در میزان فرآورده‌های تخمیری برای تیمارهای پرتوتابی شده گزارش شده است. افزایش میزان اسیدهای چرب فرار در سیلاژ سورگوم حاصل از پرتوتابی بذر با پرتو گاما مشاهده شده است (Wahyono *et al*., 2018). افزایش در میزان فرآورده‌های تخمیری همبستگی بالایی با میزان و نرخ تولید گاز به‌عنوان شاخصی از تخمیر دارد. اسیدهای چرب فرار محصولات نهایی تخمیر کربوهیداتها هستند، لذا هرچه میزان کربوهیدرات در محیط بیشتر باشد، میزان تخمیر و فرآورده‌های آن شامل اسیدهای چرب فرار افزایش می‌یابد (Yadava *et al*., 2019).

همچنین در دانه ارزن نشان داده شده است که پرتوتابی می‌تواند قابلیت هضم پروتئین دانه و در نتیجه، فراهمی پروتئین محلول برای محیط تخمیر را افزایش دهد. محققین دلیل افزایش قابلیت هضم پروتئین را حذف عوامل ضد تغذیه‌ای متصل با پروتئین و یا تجزیه اتصالات عرضی کمپلکس‌های پروتئین و افزایش عمل آنزیم‌های پروتئولیتیک پس از پرتوتابی اعلام کرده‌اند (Shazali *et al*., 2016). این افزایش در مقدار پروتئین محلول نیز می‌تواند از دلایل افزایش میزان تولید گاز و تولید فرآورده‌های تخمیر باشد.

در این مطالعه، میزان NDF و ADF سیلاژ پرتوتابی شده کمتر از سیلاژ شاهد بود، هرچندکه تفاوت آن معنی‌دار نبود. در همین رابطه، برخی مطالعات نشان می‌دهند که پرتوتابی گاما می‌تواند باعث کاهش محتویات دیواره سلولی در غلات و علوفه‌ها شود (Yadava *et al*., 2019). از طرف دیگر، نشان داده شده است که همبستگی منفی نسبتاً قوی (r = −۰/۸۱) بین کنتیک تولید گاز و میزان لیگنین و NDF خوراک وجود دارد (He, 2018). لذا احتمالاً بهبود در مقدار و فراسنجه های تولید گاز تیمار پرتوتابی شده، علاوه‌بر فراهمی کربوهیدارت و پروتئین محلول به‌عنوان سوبسترا برای ریزجانداران محیط تخمیری (جدول ۱ و ۴)، می‌تواند ناشی از بهبود قابلیت هضم اجزای فیبر گیاه و سیلاژ ذرت بعد از پرتوتابی باشد.

جدول ۵- مقدار تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون (میلی‌لیتر به‌ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک) سیلاژ ذرت
Table 5- The effect of gamma irradiation on gas production parameters of corn silage (ml/200 mg DM)

ساعت انکوباسیون Incubation time	شاهد Control	تیمار Treatment	SE[1]	مقدار P P value
2	10.05	7.35	0.91	0.0701
4	13.7b	21.5a	1.8	0.0100
6	18.6b	26.9a	2.3	0.0304
8	26.6b	40.04a	3.05	0.0110
12	35.4b	52.6a	3.77	0.0114
24	54.0b	75.3a	5.6	0.0247
36	63.2b	87.2a	5.5	0.0142
48	85.2	93.9	12.6	0.5245
72	86.7b	98.6a	8.12	0.0304
96	101.0	104.2	9.3	0.3647

۱ SE: خطای استاندارد

- اعداد با حروف متفاوت در ردیف‌ها نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

- Means with different letters in a row differ ($P < 0.05$).

جدول ٦- فراسنجه‌های آزمون تولید گاز، ضرایب قابلیت هضم، انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر سیلاژ ذرت
Table 6- The effect of gamma irradiation on gas production parameters of corn silage

فراسنجه Parameter	شاهد Control	تیمار Treatment	SE[1]	مقدار P P value
قابلیت تولید گاز (b؛ میلی‌لیتر) Potential of gas production (b; ml)	65.7b	76.7a	7.5	0.0202
نرخ تولید گاز (c؛ میلی‌لیتر بر ساعت) Rate of gas production (c; ml/h)	0.04	0.05	0.01	0.1211
اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول بر لیتر) SCFA (mmol/l)	0.56b	0.79a	0.05	0.0374
قابلیت هضم ماده آلی (درصد) OM digestibility (%)	67.7b	86.6a	4.9	0.0374
انرژی متابولیسمی (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک) ME (mj/kg DM)	7.5b	8.4a	0.7	0.0035
انرژی خالص شیردهی(مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک) NEL (mj/kg DM)	4.6b	5.5a	0.10	0.0241

۱ SE: خطای استاندارد

- اعداد با حروف متفاوت در ردیف‌ها نشان دهنده ی خلاف آماری معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

- Means with different letters in a row differ ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری کلی

بر ا ساس نتایج این پژوهش، پرتوتابی بذر ذرت علوفه‌ای با دز ۲۵ گری باعث افزایش عملکرد دانه و علوفه در واحد ســطح و همچنین میزان پرولین، کربوهیدرات و پروتئین محلول شــد. ارزش غذایی و قابلیت تخمیر علوفه و ســیلاژ ذرت پس از پرتوتابی با پرتو گاما بهبود یافت. همچنین pH ســیلاژ ذرت حاصــل از پرتوتابی بذر با پرتو گاما نسبت به سیلاژ شاهد کمتر بود. به نظر می‌رسد که استفاده از پرتوگاما در دزهای پایین می‌تواند باعث بهبود کیفیت و ارزش غذایی ســیلاژ ذرت علوفه‌ای در تغذیه دام شود.

References

1. Alizadeh, A., Dianati, G., & Naseryan Khyabani, B. (2014). Effect of seed irradiation with gamma ray on some physiological properties and biochemical parameters of plants in two species of *Bromus inermis* and *B. tomentellus*. *Marta*, *8*(2), 137-147.
2. Al-Masri, M. R., & Zarkawi, M. (1994). Effects of gamma irradiation on chemical compositions of some agricultural residues. *Radiation Physics and Chemistry*, *43*, 257-260. DOI: https://doi.org/10.1016/0969-806X(94)90188-0.
3. AOAC, International. (1990). Official Methods of Analysis. (15th ed.) AOAC International, Arlington, VA.
4. Borzouei, A., Kafi, M., Sayahi, R., Rabiei, E., & Amin, P. S. (2013). Biochemical response of two wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) to gamma radiation. *Pakistan Journal of Botany*, *45*(2), 473-477.

5. Falahati, A., Kazemitabar, S. K., Bahrami, A. R., Lahouti, M., & Rahimi, M. F. (2007). The study of gamma irradiation effects on drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Indian Journal of Crop Science, 2*(1), 155-158.
6. Fazaeli, H. H. A., & Golmohammadi, H. A. (2012). Productivity and nutritive value of barley green fodder yield in hydroponic system. *World Applied Science Journal, 16*, 531-539.
7. García-Lara, S., & Serna-Saldivar, S. O. (2002). Corn history and culture. *Corn, Elsevier*, 1-18. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00001-2
8. Getachew, G., DePeters, E. J., & Robinson, P. H. (2004). *In vitro* gas production provides effective method for assessing ruminant feeds. *California Agriculture, 58*(1), 54-58.
9. He, Y. (2018). Lignin composition is more important than content for maize stem cell wall degradation. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 98*, 384-390.
10. Krizsan, S. J., Jančík, F., Ramin, M., & Huhtanen, P. (2013). Comparison of some aspects of the in situ and *in vitro* methods in evaluation of neutral detergent fiber digestion. *Journal of Animal Science, 91*, 838-847. DOI: https://doi.org/10.2527/jas.2012-5343
11. Kulivand, M., & Kafilzadeh, F. (2015). Correlation between chemical composition, kinetics of fermentation and methane production of eight pasture grasses. *Acta Scientiarum Animal Sciences, 37*(1), 9-14.
12. Maity, S., Chakraborty, S., Subrata, P., Jiin-Shuh, A., & Anindita, C. (2009). Effects of gamma irradiation on edible seed protein, amino acids and genomic DNA during sterilization. *Food Chemistry, 114*, 1237-1244. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.001
13. Mashev, N., Vassilev, G., & Ivanov, K. (1995). A study of N-allyl N-2 pyridyl thiourea and gamma radiation treatment on growth and quality of peas and wheat. *Bulgarian Journal of Plant Physiology, 21*, 56-63.
14. McDonald, P., Henderson, A. R., & Heron, S. J. E. (1991). The biochemistry of silage. 2nd ed. Chalcombe Pub., Marlow. 340 p.
15. Melki, M., & Salami, D. (2008). Studies the effects of low dose of gamma rays on the behavior of chickpea under various conditions. *Pakistan Journal of Biological Science, 11*(1), 2326–2330. DOI: https://doi.org/10.1007/s10311-009-0222-1.
16. Melki, M., & Marouani, A. (2010). Effects of gamma rays irradiation on seed germination and growth of hard wheat. *Environmental Chemistry Letter, 8*(4), 307–310.
17. Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., & Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *The Journal of Agricultural Science, 93*, 217-222. DOI: https://doi.org/10.1017/S0021859600086305
18. Menke, K. H., & Steingass, Y. H. (1998). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Developments, 28*, 7-55.
19. Nepal, S., Ojha, B. R., Meador, A. S., & Gaire, S. P. (2014). Effect of gamma rays on germination and photosynthetic pigments of maize (*Zea mays* L.) inbreds. *International Journal of Research, 1*(5), 511-525.
20. Pasangka, B. (2013). The application of multigamma radiation as a physical mutagen for breeding of local soybean. *Journal of Agricultural and Biological Science, 8*(5), 450-456.
21. Shazali, A. M., Nahid, A. A., Salma, H. A., & Elfadil, E. B. (2016). Effect of radiation process on antinutrients, protein digestibility and sensory quality of pearl millet flour during processing and storage. *International Food Research Journal, 18*(4), 1401-1407.
22. Smith, C.W. (2004). Corn: origin, history, technology, and production, John Wiley & Sons.
23. Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A., (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in ration to animal nutrition. *Journal of Dairy Science, 74*, 3583-3597. DOI: https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2
24. Verbic, J., Ørskov, E. R., Žgajnar, J., & Chen, X. B. (1999). The effect of method of forage preservation on the protein synthesis in the rumen. *Animal Feed Science and Technology, 82*, 195-212. DOI: https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00102-9
25. Weiss, W. P., & Hall, M. B. (2020). Laboratory methods for evaluating forage quality. *Forages: The Science of Grassland Agriculture, 2*, 659-672. DOI: https://doi.org/10.1002/9781119436669.ch36
26. Wahyono, T., Hardani, S. N. W., Sugoro, I., & Peternakan, B. (2018). Low irradiation dose for sorghum seed sterilization: Hydroponic fodder system and *In vitro* study. *Buletin Peternakan, 42*(3), 215-221.
27. Wahyono, T. (2018). Evaluasi fermentabilitas ransum kerbau yang mengandung sorgum dengan pendekatan In Sacco, *In vitro* dan RUSITEC. Thesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
28. Wang, M., Wang, R., & Janssen, P. H. (2016). Sampling procedure for the measurement of dissolved hydrogen and volatile fatty acids in the rumen of dairy cows. *Journal of Animal Science, 94*, 1159-1169. DOI: https://doi.org/10.2527/jas.2015-9658
29. Yadava, A., Singh, B., & Singh, S. D. (2019). Impact of gamma irradiation on growth, yield and physiological attributes of maize. *Indian journal of experimental biology, 57*, 116-122.

Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1 Spring 2023, p. 39-49

Effects of Different Water Amount in Total Mixed Ration on Performance, Rumen Hydrolytic Enzymes Activity and Rumen and Blood Metabolites of Fattening Lambs

Zahra Yousefi[1], Ayoub Azizi [2*], Amir Fadayifar[2], Ali Kiani[3], Afrooz Sharifi[4]

Received: 23-11-2021
Revised: 25-08-2022
Accepted: 30-08-2022
Available Online: 30-08-2022

How to cite this article:
Yousefi, Z., Azizi, A., Fadayifar, A., Kiani, A., & Sharifi, A. (2023). Effects of different water in total mixed ration on performance, rumen hydrolytic enzymes activity and rumen and blood metabolites of fattening lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 39-49.
DOI: 10.22067/ijasr.2022.73809.1053

Introduction: Over the last half century, the shortage of animal feed in many parts of the world, including Iran, has increased the feed costs of animal husbandry and it also has affected revenues from the production of livestock products. Therefore, any improvement in nutritional management and increasing the feed use efficiency in this sector will increase productivity and production. Adding water to ruminant diets is inexpensive physical processing method that has had a positive effect on efficiency of ruminant production. Traditionally, adding water to total mixed diets has been a useful management practice to reduce feed selection behavior by livestock. It has been shown that adding water to the feed of adult cows (decreasing dietary dry matter (DM) from 81% to 64%) reduced the choice of fine components over long particles and also to reduce the preferential consumption of concentrate components (Leonardi *et al.*, 2005). Recent studies have shown that adding water to the starter diet of suckling calves up to 25% during the winter has improved their growth performance (Beiranvand *et al.*, 2018). These positive responses are probably due to the increased adhesion of feed particles, which has led to a reduction of diet dust, condensation of fine particles and increased palatability and consumption.

Materials and Methods: This experiment was conducted in animal house and laboratories of Lorestan University. Twenty-eight Lori male-fattening lambs with120 ± 6 days old and 33.4 ± 3.4 kg of live weight were used in completely randomized design experiment with 4 treatments and 7 lambs per treatment. Dietary treatments in which water was used at levels 10 (control), 20, 30 and 40 % were fed to the lambs for 56 days. Blood and ruminal samples were taken from all of lambs at day 45 and 50 respectively 3 h after morning feeding. A completely randomised design was used to determine the effect of different levels of water on the measured traits. All data were analyzed using the GLM procedure in SAS. Linear (L) and quadratic (Q) contrast statements were included in the model to test the effect of increasing amounts of water. Differences among means were tested using Duncan method.

Results and Discussion: Results showed that increasing the level of dietary moisture up to 30% linearly increased ($P<0.05$) ruminal ammonia-N, propionate and total VFA concentration, while pH and concentration of other individual VFAs were unchanged among dietary treatments ($P>0.05$). Increasing the level of dietary moisture up to 30% linearly increased ($P<0.05$) activity of carboxymethyl cellulase and α-amylase, while activity of microcrystalline cellulase and filter paper degrading activity and blood metabolites (including glucose, total protein and blood urea nitrogen) were similar among treatments ($P>0.05$). Intake of dry matter (DM) and average daily gain increased linealrly ($P<0.05$) with elevating dietary water level up to 30%, while NDF and ADF intake

1- M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Lorestan, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Lorestan, Iran.
3- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Lorestan, Iran.
4- Assistant Professor, Animal Science Research Department, Khuzestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ahvaz, Iran.
*Corresponding Author's Email: azizi.ay@lu.ac.ir

and final body weight and feed conversion ratio was unchanged by the level of dietary moisture (P>0.05).

Conclusion: Results of present study showed that adding water to the total mixed ration of fattening lambs up to 30% improved ruminal parameters, feed intake and growth performance.

Keywords: Dietary moisture, Enzyme activity, Fermentative parameters, Lamb

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد۱۵، شماره۱، بهار۱۴۰۲، ص ۴۹-۳۹

اثرات سطوح مختلف آب در جیره کاملاً مخلوط بر عملکرد، فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک میکروبی، فراسنجه‌های شکمبه‌ای و خونی بره‌های پرواری

زهرا یوسفی[۱]، ایوب عزیزی[۲*]، امیر فدایی‌فر[۲]، علی کیانی[۳]، افروز شریفی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۰۲
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۶/۰۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۸

چکیده

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی اثرات افزودن سطوح مختلف رطوبت به جیره کاملاً مخلوط بر عملکرد، فعالیت آنزیمی شکمبه، فراسنجه‌های شکمبه‌ای و خونی بره‌های پرواری بود. در پژوهش حاضر، از ۲۸ رأس بره نژاد لری با میانگین سن ۶±۱۲۰ روزه و میانگین وزن زنده ۳/۴ ± ۳۳/۴ استفاده شد. دام‌ها در چهار تیمار آزمایشی و هفت تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی قرار گرفتند. جیره‌های آزمایشی که در آن‌ها سطوح ۱۰ (شاهد)، ۲۰ و ۳۰ و ۴۰ درصد رطوبت وجود داشت به‌مدت ۵۶ روز به دام‌ها تغذیه شدند. داده‌های به‌دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS تجزیه شدند. نتایج نشان داد که غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه تا سطح ۳۰ درصد رطوبت جیره به‌صورت خطی افزایش یافت ($P<0.05$). افزایش درصد رطوبت جیره‌های آزمایشی تا سطح ۳۰ درصد باعث افزایش خطی غلظت کل اسیدهای چرب فرار و پروپیونات شکمبه گردید ($P<0.05$)، هرچند غلظت pH و سایر اسیدهای چرب فرار شامل استات، بوتیرات، ایزوبوتیرات، والرات، ایزووالرت و نسبت استات به پروپیونات تحت تأثیر درصد رطوبت جیره قرار نگرفت ($P>0.05$). با افزایش رطوبت در جیره تا سطح ۳۰ درصد فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز و آلفا آمیلاز به‌طور خطی افزایش نشان داد ($P<0.05$). هرچند فعالیت آنزیم‌های میکروکریستالین سلولاز و فعالیت تجزیه کاغذ صافی در شکمبه و متابولیت‌های شیمیایی خون شامل گلوکز، پروتئین تام و نیتروژن اوره‌ای خون (BUN) تحت تأثیر جیره‌ها قرار نگرفتند ($P>0.05$). افزایش سطح رطوبت جیره تا ۳۰ درصد باعث افزایش خطی میزان مصرف ماده خشک و افزایش وزن روزانه دام‌ها شد ($P<0.05$). هرچند، مصرف NDF و ADF جیره‌ای، وزن نهایی دام‌ها و ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P>0.05$). در کل، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزودن رطوبت به جیره غذایی تا سطح ۳۰ درصد سبب بهبود شرایط هضم و تخمیر شکمبه و به تبع، عملکرد رشد بره‌های پرواری شد.

واژه‌های کلیدی: بره پرواری، رطوبت جیره، فراسنجه‌های تخمیری، فعالیت آنزیمی

مقدمه

طی نیم قرن اخیر کمبود خوراک دام در بسیاری از مناطق جهان

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد تغذیه دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران.
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران.
۳- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران.
۴- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.
(*- نویسنده مسئول: (Email: azizi.ay@lu.ac.ir

DOI: 10.22067/ijasr.2022.73809.1053

از جمله ایران سبب افزایش هزینه تغذیه در دامپروری گردیده است و درآمدهای ناشی از تولید فرآوردههای دامی را نیز تحت تأثیر قرار داده است. در کشورهای توسعه یافته هزینه تولید خوراک دام حدود ۶۰-۵۰ درصد از کل هزینههای تولید را شامل میشود، این در حالی است در کشورهای در حال توسعهای مانند ایران این میزان بهطور قابل توجهی بیشتر بوده و حدود ۷۵-۷۰ درصد است (Azizi *et al.*, 2016). لذا، هرگونه بهبود در مدیریت تغذیه و افزایش راندمان استفاده از مواد خوراکی در این بخش افزایش بهرهوری و تولید را به دنبال خواهد داشت. خواص فیزیکی مواد خوراکی میتواند رفتار تغذیهای حیوانات را تحت تأثیر قرار دهد.

افزودن آب به غذای حیوانات نشخوارکننده و سپس تغذیه آن یکی دیگر از روشهای فرآوری فیزیکی ارزان قیمت و به آسانی قابل انجام به شمار میرود که تأثیرات مثبتی روی بازدهی تولید نشخوارکنندگان داشته است. بهطور سنتی، اضافه کردن آب بهجیرههای کامل مخلوط خشک یک عمل مدیریتی مفید برای کاهش رفتار انتخاب خوراک توسط دام در نظر گرفته شده است (Shaver, 2002). نشان داده شده است که اضافه کردن آب به خوراک گاوهای بالغ (کاهش ماده خشک جیره از ۸۱ به ۶۴ در صد) باعث کاهش انتخاب اجزای ریز نسبت به ذرات بلندتر و همچنین کاهش مصرف ترجیحی اجزای کنسانترهای شده است (Leonardi *et al.*, 2005). اخیراً در مطالعاتی مشخص شده است که اضافه کردن آب به جیره آغازین بافتدار گو سالههای شیرخوار در طول زمستان (Beiranvand *et al.*, 2018) تا سطح ۲۵ در صد جیره سبب بهبود عملکرد رشد آنها شده است. در مطالعه دیگری نیز در فصل تابستان، افزودن آب به جیره غذایی آغازین گو سالههای شیرخوار بهمیزان ۵۰ در صد سبب بهبود عملکرد رشد آنها شده است (Beiranvand *et al.*, 2016). همچنین، تغذیه جیرههای مرطوب به گاوهای شیری سبب بهبود خوشخوراکی جیره و مصرف بیشتر آن شده است (Leonardi *et al.*, 2005). این پاسخهای مثبت احتمالاً بهدلیل افزایش چسبندگی اقلام خوراکی بوده که منجر به کاهش گرد و غبار جیره (Arzola-Álvarez *et al.*, 2010)، متراکم شدن ذرات کوچکتر، افزایش خوشخوراکی و مصرف بیشتر آن شده است که ممکن است بخش قابل توجهی از کاهش مصرف ماده خشک را نیز جبران کند (Beiranvand *et al.*, 2018). با این وجود، تاکنون مطالعات اندکی درباره بررسی اثرات تغذیه جیرههای حاوی آب بر عملکرد و فعالیت آنزیمهای میکروبی شکمبه برههای پرواری صورت نگرفته است. لذا، هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی اثرات افزودن سطوح مختلف رطوبت جیره کامل مخلوط بر عملکرد، فعالیت آنزیمهای هیدرولیتیک میکروبی، فراسنجههای شکمبهای و خونی برههای پرواری بود.

مواد و روشها

حیوانات، جیرههای آزمایشی و مدیریت پرورش

پژوهش حاضر در سال ۱۳۹۸ در ایستگاه دامپروری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان انجام شد. از ۲۸ رأس بره پرواری نژاد لری با میانگین سن حدود ۶±۱۲۰ روزه و میانگین وزن زنده ۳/۴±۳۳/۴ کیلوگرم استفاده شد. برهها دو هفته قبل از شروع آزمایش علیه بیماری آنتروتوکسمی واکسینه شدند (سه میلیلیتر بهازای هر بره، شرکت سرمسازی رازی). میزان دو میلیلیتر شربت ضد انگل کلوزانتل پنج درصد بهازای هر ۱۰ کیلوگرم وزن بدن و شربت ضد انگل دامیاکاونیل (نیکلوزوماید) نیز بهازای هر ۱۵ کیلوگرم وزن بدن به برهها خورانده شد (هفت تا ۱۰ میلیلیتر بهازای هر بره). برهها بهطور جداگانه در جایگاههای انفرادی (۱۵۰×۱۰۰×۱۰۰ سانتیمتر بهترتیب طول، عرض و ارتفاع) با کف چوبی مجهز به سطل آب و خوراک نگهداری شدند. از چهار جیره آزمایشی حاوی سطوح مختلف آب استفاده شد. برای این منظور، ابتدا یک جیره آزمایشی پایه حاوی نسبت علوفه به کنسانتره ۳۰ به ۷۰ بر اساس جداول احتیاجات غذایی NRC برههای پرواری فرموله شد (NRC, 2007) و سپس، بهمیزانی آب به جیرهها افزوده گردید که هرکدام بهترتیب دارای ماده خشک ۹۰ (جیره شاهد و بدون افزودن آب)، ۸۰، ۷۰ و ۶۰ درصد بودند. اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه در جدول ۱ ارائه شده است. دو هفته اول بهعنوان دوره عادتپذیری به باکسها و جیرههای آزمایشی در نظر گرفته شد و سپس دوره اصلی آزمایش بهمیزان ۵۶ روز بهطول انجامید (جمعاً ۷۰ روز). در طول دوره اصلی آزمایش، دامها در دو نوبت ۰۸:۰۰ صبح و ۱۶:۰۰ عصر با جیرههای آزمایشی حاوی سطوح مختلف آب تغذیه شدند، بهطوریکه پنج درصد پسماند در ته آخور باقی ماند. خوراک مصرفی و پسماند هر دام در کل دوره آزمایش ثبت شد. میزان آب مورد نیاز برای افزودن به هر جیره نیز روزانه و قبل از ریختن خوراک به داخل آخور (نیم ساعت قبل از تغذیه) روی جیرههای غذایی اسپری شد. در کل دوره آزمایش آب و خوراک کافی در اختیار دامها قرار گرفت.

جدول ۱– اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی (بر حسب درصد ماده خشک جیره یا واحد بیان شده)

Table 1- Ingredients and chemical composition of experimental diet (% DM or as stated)

اقلام خوراکی Ingredients	مقدار در جیره Amount
یونجه Alfalfa, ground	20.0
کاه گندم Wheat straw	5.0
تفاله چغندر خشک Beet pulp, dried	5.0
ذرت آسیاب شده Ground corn	23.0
جو آسیاب شده Ground barley	23.0
کنجاله سویا Soybean meal	11.0
سبوس گندم Wheat bran	10.0
پیش مخلوط Premix[1]	2.80
اوره Urea	0.20
ترکیبات مواد مغذی و انرژی Chemical composition and energy	
ماده خشک Dry matter	90.2
ماده آلی Organic matter	93.1
پروتئین خام Crude protein	16.2
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	29.9
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	15.8
عصاره اتری Ether extract	2.65
کلسیم Ca	0.80
فسفر P	0.40
انرژی قابل متابولیسم ME (Mcal/kg DM)	2.67

۱ هر کیلوگرم از پیش مخلوط حاوی: ۲۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۱۲۵۰ میلی‌گرم منگنز، ۲۵۰۰ میلی‌گرم روی، ۳۷۵ میلی‌گرم مس، ۲۵ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۴۰۰۰۰ میلی‌گرم کلسیم، ۲۵۰۰ میلی‌گرم فسفر، ۲۰ میلی‌گرم کبالت، ۲۵ میلی‌گرم ید، ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم منیزیم، ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم سدیم به صورت نمک، ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم سدیم به صورت بیکربنات سدیم و ۱۰۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان بود.

[1] Vitamin–mineral premix contained per kg: vitamin A 250,000 IU; vitamin D_3 500,000 IU; vitamin E 1000 IU; Mn 1250 mg; Zn 2500 mg; Cu 375 mg; Se 25 mg; Ca 140000 mg; P 2500 mg; Co 20 mg; I 25 mg; Mg 25000 mg; Na 25000 mg as NaCl; Na 25000 mg as $NaHCO_3$ and 1000 mg antioxidant.

نمونه‌گیری از مایع شکمبه

جهت تعیین پارامترهای تخمیری مایع شکمبه شامل pH، غلظت آمونیاک و اسیدهای چرب فرار شکمبه، در روز ۴۵ آزمایش و سه ساعت پس از خوراکدهی وعده صبح، مایع شکمبه توسط لوله مری از

تمامی دام‌ها اخذ شـد. میزان ۱۰ تا ۲۰ میلی‌لیتر اولیه جهت کاهش اثرات منفی بزاق بر pH دور ریخته شد. ابتدا pH محتویات شکمبه بلافاصله توسط دستگاه pH متر سیار اندازه‌گیری شد. سپس محتویات شکمبه از ۴ لایه پارچه متقال عبور داده شد و به‌ازای هر ۱/۲ میلی‌لیتر مایع شکمبه ۰/۳ میلی‌لیتر متافسفریک اسید ۲۵ در صد به آن اضافه شد. نمونه‌ها جهت آنالیز اسیدهای چرب فرار با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (Chrompack cp, 9002) به فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا روز آنالیز انتقال داده شدند. همچنین، برای بررسی غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه، ابتدا مقدار پنج میلی‌لیتر دیگر مایع شکمبه با پنج میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال کاملاً مخلوط شده و سریعاً به فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد (Broderick and Kang, 1980). جهت اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه، مایع شکمبه صاف شده ابتدا یخ‌گشایی شد و با دور ۵۰۰۰g به‌مدت ۱۰دقیقه سانتریفیوژ شد و پس از جداسازی سوپرناتانت نمونه‌ها به‌میزان ۵۰ میکرولیتر، آن با پنج میکرولیتر آب مقطر، ۲/۵ میکرولیتر فنول و دو میکرولیتر معرف هیپوکلریت اسید مخلوط و به‌مدت پنج دقیقه در بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از سرد شدن، توسط دستگاه اسپکتوفتومتری با طول موج ۶۳۰ نانومتر میزان نیتروژن آمونیاکی اندازه‌گیری و توسط استانداردهای موجود تصحیح شد (Broderick and Kang, 1980).

فعالیت آنزیم‌های میکروبی شکمبه شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی و آلفا آمیلاز موجود در مایع شکمبه بر اساس روش‌های موجود تخمین زده شد (Agarwal, 2000). روش کار به این صورت بود که نمونه‌های مایع شکمبه به‌مدت ۲۰ دقیقه و با دور ۵۰۰۰g سانتریفیوژ گردیده و بقایای پلت جمع‌آوری گردید. سپس بقایا با تتراکلرید کربن و آنزیم لیزوزیم فرآیند شدند و مخلوط آنزیم‌های مایع شکمبه در بافر فسفات در سانتریفیوژ با دور ۲۷۰۰۰g در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه به‌دست آمد. برای تخمین فعالیت کربوکسی متیل سلولاز، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۰/۵ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه و ۰/۵ میلی‌لیتر کربوکسی متیل سلولز یک درصد (به عنوان سوبسترا) بود که در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت انکوبه گردید. مخلوط واکنش برای آنزیم میکروکریستالین سلولاز که شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، یک میلی‌لیتر شیرابه شکمبه و یک میلی‌لیتر میکروکریستالین سلولز یک در صد (به عنوان سوبسترا) بود در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت مورد انکوباسیون قرار گرفت. به‌منظور محاسبه فعالیت کاغذ صافی، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، یک میلی‌لیتر شیرابه شکمبه و ۰/۵ گرم کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (به عنوان سوبسترا)، در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت انکوبه گردید. به‌منظور محاسبه فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، نیم میلی‌لیتر شیرابه شکمبه و نیم میلی‌لیتر محلول نشاسته یک در صد بود که در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه آنکوبه گردید. در همه آزمون‌های مذکور، واکنش با افزودن سه میلی‌لیتر محلول دی‌نیترو سالیسیلیک اسید متوقف گردید. گلوکز آزاد شده در اثر فعالیت هر یک از آنزیم‌های مورد آزمون تخمین زده شد (Miller, 1959). فعالیت‌های آنزیمی بر اساس این فرض که یک واحد آنزیمی توانایی تولید یک میکرومول گلوکز در هر ساعت در هر میلی‌لیتر را تحت شرایط مخلوط واکنش دارد محاسبه گردید. پس از متوقف نمودن واکنش توسط افزودن یک میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید، میزان پروتئین نمونه‌ها تعیین گردید (Lowry *et al.*, 1951).

خون‌گیری از دام‌ها

جهت تعیین اثر سطوح مختلف آب در جیره غذایی بر فراسنجه‌های خونی بره‌ها (شامل گلوکز، پروتئین تام و نیتروژن اوره‌ای خون (BUN)، در روز ۵۰ آزمایش و سه ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح، خون‌گیری از همه دام‌ها در ونوجکت‌های حاوی ماده ضد انعقاد (EDTA) انجام شده و آن‌ها بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شدند. نمونه‌ها در آزمایشگاه با دور ۱۵۰۰۰g و به‌مدت ۱۵دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند و سپس پلاسمای جدا شده به‌داخل میکروتیوب‌های جدید قرار داده شده و تا روز آنالیز فریز گردید.

تجزیه شیمیایی نمونه‌ها

میزان ماده خشک و ماده آلی نمونه‌ها بر اساس روش‌های استاندارد تعیین گردید (۳). میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) بر اساس روش‌های AOAC (۱۹۹۰) تعیین شد (۳) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) نیز بر اساس روش ون سو ست و همکاران (Van Soest *et al.*, 1991) محاسبه گردید. میزان کلسیم و فسفر خوراک‌های آزمایشی با استفاده از دستگاه جذب اتمی (Agilent Company, model AA240FS, USA) تعیین گردید.

تجزیه آماری

داده‌های به‌دست آمده با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS تجزیه شد (SAS, 2005). برای آنالیز داده های مربوط به فعالیت آنزیمی، فراسنجه‌های خونی و شکمبه‌ای مدل آماری زیر مورد استفاده قرار گرفت:

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

که در آن Y_{ij}: صــفت مورد نظر، µ: میانگین کل داده‌ها، T_i: اثر ثابت تیمار آزمایشی و e_{ij}: اثر خطای آزمایش می‌باشد.

برای داده‌های عملکرد، وزن اولیه دام‌ها به‌عنوان کوواریت در نظر گرفته شد. برای آنالیز داده‌های مربوط به عملکرد ر شد از مدل آماری زیر استفاده شد:

$$Y_{ij} = T_i + ß_i (X_{ij} - \bar{X}) + e_{ij}$$

که در آن، Y_{ij}: صــفت مورد نظر، µ: میانگین کل، T_i: اثر تیمار آزمایشــی، b: ضــریب رگرســیون، X_{ij}: وزن اولیه با میانگین $\bar{X}$ **و** e_{ij}: خطای تصادفی می‌با شد. میانگین صفات به‌دست آمده تو سط آزمون توکی و در سطح معنی‌داری پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه

اثر ســطوح مختلف رطوبت جیره روی فراســنجه‌های تخمیری شکمبه در جدول ۲ نشان داده شده ا ست. جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف رطوبت تأثیری بر pH شکمبه نداشتند ($P>۰/۰۵$)، در حالی‌که غلظت نیتروژن آمونیاکی تا ســطح ۳۰ درصــد رطوبت جیره به‌صــورت خطی افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). افزایش درصــد رطوبت جیره‌های آزمایشی تا سطح ۳۰ درصد باعث افزایش خطی غلظت کل اســیدهای چرب فرار و پروپیونات شــکمبه گردید ($P<۰/۰۵$)، هرچند غلظت سایر ا سیدهای چرب فرار شامل ا ستات، بوتیرات، ایزوبوتیرات، والرات، ایزووالرات و نســبت اســتات به پروپیونات تحت تأثیر درصــد رطو بت جیره ها قرار نگر فت ($P>۰/۰۵$). م طابق با ن تایج پژوهش حاضــر، در مطالعه دیگری عدم تأثیر درصــد رطوبت جیره روی pH شکمبه گزارش شده ا ست (Beiranvand *et al.*, 2016). عدم تأثیر افزودن آب به جیره گو ساله‌های شیرخوار روی pH، غلظت آمونیاک و ا سیدهای چرب فرار گزارش شده ا ست (Leonardi *et al.*, 2005). غلظت پروتئین خام جیره غذایی و قابلیت هضــم آن و میزان ماده خشک مصرفی عوامل مهم در غلظت آمونیاک شکمبه هستند. افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی با افزایش سطح رطوبت تا سطح ۳۰ در صد احتمالا به‌خاطر م صرف ماده خ شک بی شتر در جیره مذکور بوده ا ست که آن خود به تبع ســبب افزایش مصــرف پروتئین خام شــده اســت (جدول ۵). برخلاف نتایج حاضــر، در مطالعه‌ای افزایش ســرعت عبور مواد از شکمبه با افزایش مصرف خوراک سبب کاهش غلظت آمونیاک و افزایش راندمان میکروبی و افزایش جذب از د ستگاه گوارش گردیده اســت (Leonardi *et al.*, 2005). افزایش ســهم مولی پروپیونات با افزایش میزان افزایش رطوبت می‌تواند به‌دلیل افزایش مصرف خوراک در جیره مذکور باشــد (Beiranvand *et al.*, 2016). بیرانوا ند و همکاران (Beiranvand *et al.*, 2016) عنوان کردند که افزودن آب به جیره غذایی گو ساله‌های شیرخوار تا سطح ۵۰ در صد، غلظت کل اســیدهای چرب فرار شــکمبه و نســبت مولی اســتات و پروپیونات را افزایش داد، امّا تأثیری بر نسبت مولی بوتیرات، ایزووالرات یا والرات و نسبت استات به پروپیونات نداشت. در آزمایش دیگری، افزودن آب به جیره گو ساله‌های شیری تأثیری بر pH، غلظت آمونیاک و ا سیدهای چرب فرار شکمبه نداشت (Leonardi *et al.*, 2005). گاوهای شیری تغذیه شده با جیره حاوی ۵۲ درصد ماده خشک در مقایسه با گاوهای تغذیه شده با جیره دارای رطوبت کمتر (۷۸ در صد ماده خشک) سهم مولی پروپیو نات کمتر و ســهم مولی بالاتری از والرات و ایزووالرات داشتند (Leonardi *et al.*, 2005).

فعالیت آنزیم‌های میکروبی شکمبه

اثر ســطوح مختلف رطوبت جیره روی میزان فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک میکروبی (واحد در دقیقه در میلی‌لیتر) شــکمبه بره‌های پرواری در جدول ۳ ن شان داده شده ا ست. جیره‌های آزمای شی حاوی ســطوح مختلف رطوبت باعث افزایش خطی فعالیت آنزیم کربوکســی متیل ســلولاز و آلفا آمیلاز تا ســطح ۳۰ درصــد رطوبت جیره شــدند ($P<۰/۰۵$). این در حالی ا ست که فعالیت آنزیم‌های میکروکری ستالین ســلولاز و فعالیت تجزیه کاغذ صــافی تحت تأثیر قرار اثرات خطی یا غیر خطی سطح رطوبت قرار نگرفتند ($P>۰/۰۵$).

ســه آنزیم اول یعنی کربوکســی متیل ســلولاز، میکروکریســتالین ســلولاز و آنزیم‌های تجزیه‌کننده کاغذ صــافی در واقع کمپلکس‌های آنزیمی دخیل در تجزیه فیبر و لیگنوسلولز هستند. اگرچه مطالعه‌ای در رابطه با تأثیر افزودن آب به جیره یا رطوبت آن روی فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیکی میکروبی شــکمبه انجام نشــده اســت، به نظر می‌رســد افزودن آب به جیره کامل مخلوط و چســبندگی اجزای خوراک باعث مصــرف بیش‌تر علوفه در بره‌ها و افزایش فعالیت کربوکســی متیل سلولاز شده است. دلیل دیگر این افزایش فعالیت آنزیمی ممکن است به این خاطر باشــد که مواد خوراکی قبل از ورود به شــکمبه مرطوب شده‌اند و لذا فاز تأخیر برای کلونیزه شدن آن‌ها تو سط میکروب‌های شــکمبه کاهش یافته اســت. به‌دلیل اینکه آلفا آمیلاز آنزیم دخیل در تجزیه نشاسته در شکمبه می‌با شد، افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز با افزایش سطح رطوبت (به خصوص سطح ۳۰ درصد) را می‌توان به‌دلیل افزایش مصــرف خوراک در جیره‌های مذکور (جدول ۵) و به تبع آن افزایش مصــرف کنســانتره که ســوبســترای مورد نیاز برای آنزیم آلفا آمیلاز است نسبت داد. افزایش تولید اسید چرب پروپیونات شکمبه در جیره مذکور می‌تواند تأییدی بر این یافته‌ها باشد.

جدول ۲- اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف رطوبت بر فراسنجه‌های تخمیری مایع شکمبه بره‌های پرواری

Table 2- Effect of different dietary moisture content on rumen fermentation parameters of fattening lambs

صفت Parameter	سطح رطوبت در جیره (درصد) Level of moisture in the diet (%)				خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-value	مقایسات متعامد Contrast	
	کنترل Control (10%)	20	30	40			خطی Linear	غیر خطی Quadratic
pH	6.26	6.20	6.14	6.19	0.039	0.35	0.17	0.15
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) NH_3-N (mg/dl)	19.1^{c}	20.1^{bc}	21.5^{a}	20.7^{ab}	0.46	0.04	0.02	0.21
کل اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول در دسی‌لیتر) Total VFA (mmol/l)	90.1^{b}	93.1^{ab}	96.9^{a}	93.3^{ab}	2.11	0.03	0.04	0.18
استات (میلی‌مول در دسی‌لیتر) Acetate (mmol/l)	55.3	56.5	58.9	57.6	2.07	0.31	0.41	0.65
پروپیونات (میلی‌مول در دسی‌لیتر) Propionate (mmol/l)	17.2^{b}	18.5^{ab}	19.9^{a}	18.9^{ab}	0.64	0.03	0.04	0.23
بوتیرات (میلی‌مول در دسی‌لیتر) Butyrate (mmol/l)	12.2	12.4	12.8	11.6	0.49	0.43	0.57	0.19
ایزوبوتیرات (میلی‌مول در دسی‌لیتر) Isobutyrate (mmol/l)	2.42	2.48	2.53	2.31	0.13	0.54	0.63	0.31
والرات (میلی‌مول در دسی‌لیتر) Valerate (mmol/l)	1.32	1.34	1.29	1.27	0.04	0.28	0.31	0.62
ایزووالرات (میلی‌مول در دسی‌لیتر) Isovalerate (mmol/l)	1.06	1.14	1.10	1.04	0.08	0.61	0.76	0.35
نسبت استات به پروپیونات Acetet:propionate	3.24	3.06	2.97	3.05	0.15	0.67	0.34	0.47

جدول ۳- اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف رطوبت بر فعالیت آنزیم‌های میکروبی شکمبه بره‌های پرواری (واحد در دقیقه در میلی‌لیتر)

Table 3- Effect of different dietary moisture content on rumen microbial enzyme activity of fattening lambs (U/min/ml)

صفت Parameter	سطح رطوبت در جیره (درصد) Level of moisture in the diet (%)				خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-value	مقایسات متعامد Contrast	
	کنترل Control (10%)	20	30	40			خطی Linear	غیر خطی Quadratic
کربوکسی متیل سلولاز Carboxymethyl cellulase	22.8^{b}	24.7^{ab}	28.6^{a}	26.5^{ab}	1.44	0.03	0.04	0.36
میکروکریستالین سلولاز Microcrystalline cellulase	5.13	5.16	5.68	5.73	0.36	0.43	0.14	0.96
فعالیت تجزیه کاغذ صافی Filter paper degrading	19.1	20.2	24.6	21.2	1.71	0.15	0.13	0.21
آلفا آمیلاز α-amylase	60.1^{b}	61.2^{b}	72.8^{a}	68.2^{ab}	3.14	0.02	0.03	0.34

متابولیت‌های خون

اثر در صد رطوبت جیره بر متابولیت‌های خونی بره‌های پرواری در جدول ۴ ارائه شده است. افزایش سطح رطوبت جیره تأثیر معنی‌داری بر متابولیت‌های شیمیایی خون شامل گلوکز، پروتئین تام و نیتروژن اوره‌ای خون (BUN) نداشت (P>۰/۰۵). در مطالعات دیگری نیز عدم تأثیر سطوح رطوبت جیره روی غلظت متابولیت‌های خونی گزارش شد (Beiranvand *et al.*, 2016). در مطالعه حاضر به‌دلیل افزایش غلظت آمونیاک شکمبه (جدول ۲) با افزایش سطح رطوبت جیره تا سطح ۳۰ درصد و همبستگی مثبت آن با غلظت BUN، انتظار بر این بود که غلظت BUN نیز افزایش یابد که دلیل این اتفاق مشخص نیست.

جدول ٤- اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف رطوبت بر متابولیت‌های خونی بره‌های پرواری

Table 4- Effect of different dietary moisture content on blood metabolites of fattening lambs

صفت Parameter	سطح رطوبت در جیره (درصد) Level of moisture in the diet (%)				خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-value	مقایسات متعامد Contrast	
	کنترل Control (10%)	20	30	40			خطی Linear	غیر خطی Quadratic
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Glucose (mg/dl)	77.3	77.7	78.5	77.9	0.46	0.34	0.22	0.29
پروتئین تام (گرم در دسی‌لیتر) Total protein (g/dl) cellulase	8.21	8.25	8.41	8.25	0.16	0.56	0.40	0.76
نیتروژن اوره‌ای خون (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Blood urea nitrogen (mg/dl)	3.68	3.79	3.83	3.77	0.16	0.61	0.67	0.59

مصرف خوراک و عملکرد رشد

همان‌طوری که در جدول ۵ نشان داده شده است افزایش سطح رطوبت جیره تا سطح ۳۰ درصد باعث افزایش خطی میزان ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام مصرفی شد (P<۰/۰۵). این در حالی است که مصرف NDF و ADF تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). در ارتباط با عملکرد رشد بره‌ها، کل افزایش وزن و افزایش وزن روزانه با افزایش درصد رطوبت جیره تا سطح ۳۰ درصد به‌طور خطی افزایش یافت (P<۰/۰۵). هرچند، وزن نهایی و ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر سطح رطوبت جیره قرار نگرفت (P>۰/۰۵). ارتباط مثبتی بین میزان ماده خشک مصرفی و ماده خشک جیره وجود دارد (Leonardi *et al.*, 2005). افزودن آب به جیره سبب کاهش گرد و غبار و چسبندگی اجزای جیره (Arzola-Álvarez *et al.*, 2010)، متراکم شدن و افزایش خوش‌خوراکی آن (Leonardi *et al.*, 2005) و تشویق دام به مصرف خوراک بیش‌تر شده است (Beiranvand *et al.*, 2016; Beiranvand *et al.*, 2018) که مطابق با نتایج مصرف خوراک تا سطح ۳۰ در صد رطوبت در پژوهش حاضر است. در مطالعاتی، آب به‌طور مستقیم به شکمبه اضافه شد و کاهش مصرف خوراک گزارش نگردید (Thomas *et al.*, 1961). افزایش مصرف خوراک آغازین در گوساله‌های شیرخوار با افزایش رطوبت جیره قبل از شیرگیری و کل دوره آزمایشی گزارش شد (Beiranvand *et al.*, 2016). در مطالعه‌ای، گاوها بر اساس وزن تر در جیره مرطوب، خوراک کمی بیش‌تر را در مقایسه با جیره خشک مصرف کردند که به‌دلیل افزایش مصرف آب خوراک بوده است (Leonardi *et al.*, 2005). در تضاد با نتایج این مطالعه بیان شده است که افزایش رطوبت جیره با افزودن آب مصرف ماده خشک و سایر مواد مغذی را کاهش می‌دهد (Robinson *et al.*, 1990; Miller-Cushon and DeVries, 2009). در توجیه کاهش مصرف خوراک با افزایش سطح رطوبت جیره در این مطالعات بیان شده است که اگر مصرف خوراک با افزودن آب به جیره محدود شود، احتمالاً باعث افزایش مصرف آب نمی‌شود، بنابراین فرض بر این است که آب جذب شده توسط خوراک باعث افزایش وزن خوراک شده و در نتیجه، خوراک مصرفی به اندازه‌ای حجیم شده که باعث پر شدن شکمبه و در نتیجه، کاهش مصرف ماده خشک شده است (Allen, 1996). زمانی که ماده خشک جیره به زیر ۴۵ درصد کاهش می‌یابد به‌دلیل افزایش حجم خوراک و پر شدگی شکمبه مصرف آن کاهش می‌یابد (Robinson *et al.*, 1990; Miller-Cushon and DeVries, 2009). هر چند عوامل مختلفی مانند نوع علوفه و سطح آن در جیره، نسبت علوفه به کنسانتره، اندازه ذرات خوراک، شرایط محیطی مثل رطوبت و دما و اختلاف بین گروه دام از عواملی است که می‌تواند باعث ایجاد اختلاف در نتایج گزارش شده باشد (Leonardi *et al.*, 2005). در مطالعات دیگری نیز افزایش وزن پایانی و افزایش وزن روزانه با افزودن آب به جیره کامل مخلوط گزارش شده است

(Beiranvand *et al*., 2016; Beiranvand *et al*., 2018). افزایش وزن روزانه با مصرف جیره حاوی ۷۵ درصد ماده خشک در مقایسه با ۹۰ درصد ماده خشک در گوساله‌های شیرخوار گزارش شد (Beiranvand *et al*., 2018). در مطالعه‌ای افزایش سطح رطوبت جیره تأثیری بر وزن میش‌ها نداشت (Ghasemi Nejad *et al*., 2017).

جدول ۵- اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف رطوبت بر عملکرد رشد بره‌های پرواری

Table 5- Effect of different dietary moisture content on growth performance of fattening lambs

صفت Parameter	سطح رطوبت در جیره (درصد) Level of moisture in the diet (%)				خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-value	مقایسات متعامد Contrast	
	کنترل Control (10%)	20	30	40			خطی Linear	غیر خطی Quadratic
مصرف مواد مغذی (گرم در روز) Nutrient intake (g/d)								
ماده خشک Dry matter	1610^{c}	1686^{bc}	1795^{a}	1777^{ab}	51.9	0.03	0.04	0.23
ماده آلی Organic matter	1496^{c}	1569^{bc}	1671^{a}	1654^{ab}	45.5	0.04	0.03	0.19
پروتئین خام Crude protein	262^{c}	273^{bc}	291^{a}	288^{ab}	7.66	0.03	0.04	0.25
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	485	504	539	535	18.7	0.14	0.11	0.21
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	255	266	285	281	11.9	0.16	0.13	0.19
عملکرد رشد Growth performance								
وزن اولیه (کیلوگرم) Initial body weight (kg)	33.2	33.2	33.5	32.7	1.88	-	-	-
وزن نهایی (کیلوگرم) Final body weight (kg)	51.4	52.6	54.1	52.7	1.06	0.34	0.22	0.31
کل افزایش وزن (کیلوگرم) Total weight gain (kg)	18.2^{b}	19.5^{ab}	20.7^{a}	20.1^{ab}	0.71	0.03	0.04	0.18
افزایش وزن روزانه (گرم) Average daily gain (g)	325^{c}	347^{bc}	371^{a}	359^{ab}	11.2	0.03	0.03	0.22
ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	4.97	4.99	4.84	4.95	0.37	0.43	0.36	0.48

نتیجه‌گیری کلی

پژوهش حاضر نشان داد که افزودن آب به جیره کامل مخلوط بره‌های پرواری تا سطح ۳۰ درصد ماده خشک جیره سبب بهبود تخمیر شکمبه به‌واسطه افزایش تولید کل اسیدهای چرب فرار شکمبه و فعالیت آنزیم‌های میکروبی شکمبه شده، که به تبع آن، عملکرد رشد بره‌های پرواری بهبود یافت. لذا استفاده از سطح ۳۰ درصد رطوبت در جیره‌های پرواری توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان، در جهت فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام پژوهش حاضر تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Agarwal, N. (2000). Estimation of fiber degrading enzyme. In: L. C. Chaudhary N. Agarwal, D. N. Kamra D. K. Agarwal, editor. Feed microbiology. Izatnagar (India): CAS Animal Nutrition, pp. 278–291.
2. Allen, M. S. (1996). Physical constraints on voluntary intake of forage by ruminants. *Journal of Animal Science, 74*, 3063–3075. https://doi: 10.2527/1996.74123063x.
3. AOAC. (2002). Official Methods of Analysis of AOAC International (17th ed., 1th rev.). Gaithersburg (MD):

Association of Official Analytical Chemists.

4. Arzola-Álvarez, C., Bocanegra-Viezca, J. A., Murphy, M. R., Salinas- Chavira, J., Corral-Luna, A., Romanos, A., Ruíz-Barrera, O., & Rodríguez-Muela, C. (2010). Particle size distribution and chemical composition of total mixed rations for dairy cattle: Water addition and feed sampling effects. *Journal of Dairy Science, 93*, 4180‑4188. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2952.
5. Azizi, A., Papi, N., Sharifi, A., Azarfar, A., & Kiani, A. (2016). Effect of different levels of corn steep liquor on the activity of hydrolytic enzymes in different fractions of rumen liquor and nitrogen metabolism in Moghani-male lambs. *Animal Science Journal (Pajouhesh and Sazandegi), 115*:, 255-270 (In Persian).
6. Azizi-Shotorkhoft, A., Rezaei, J., Papi, N., Mirmohammadi, D., & Fazaeli, H. (2015). Effect of feeding heat-processed broiler litter in pellet-form diet on the performance of fattening lambs. *Journal of Applied Animal Research, 43*, 184–190. https://doi.org/10.1080/09712119.2014.928636.
7. Beiranvand, H., Khani, M., Ahmadi, F., Omidi-Mirzaei, H., Ariana, M., & Bayat, A. R. (2018). Does adding water to a dry starter diet improve calf performance during winter? *Animal, 13*, 959-967. https://doi.org/10.1017/S1751731118002367.
8. Beiranvand, H., Khani, M., Omidian, S., Ariana, M., Rezvani, R., & Ghaffari, M. H. (2016). Does adding water to dry calf starter improve performance during summer? *Journal of Dairy Science, 99*, 1-9. https://doi: 10.3168/jds.2015-10004.
9. Broderick, G., & Kang, J. H. (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.
10. Dijkstra, J., Mills, J. A. N., & France, J. (2002). The role of dynamic modelling in understanding the microbial contribution to rumen function. *Nutrition Research Reviews, 15*, 67–90. https://doi.org/10.1079/NRR200237.
11. Ghasemi Nejad, J., Kim, B. W., Lee, B. H., Kim, J. Y., & Sung, K. L. (2017). Effects of water addition to total mixed ration on water intake, nutrient digestibility, wool cortisol and blood indices in Corridale ewes. *Asian-Australas Journal of Animal Science, 30*(10), 1435-1441. https://doi: 10.5713/ajas.16.0705.
12. Khan, M. A., Bach, A., Castells, L., Weary, D., & Von Keyserlingk. M. A. (2014). Effects of particle size and moisture levels in mixed rations on the feeding behavior of dairy heifers. *Animal, 8*(10), 1722–1727. https://doi.org/10.1017/S1751731114001487.
13. Lahr, D. A., Otterby, D. E., Johnson, D. G., Linn, J. G., & Lundquist, R. G. (1983). Effects of moisture content of complete diets on feed intake and milk production by cows. *Journal of Dairy Science, 66*, 1891‑1900. https://doi: 10.3168/jds.S0022-0302(83)82027-X.
14. Leonardi, C., & Armentano, L. E. (2003). Effect of quantity, quality, and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows. *Journal of Dairy Science, 86*, 557‑564. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73634-0.
15. Leonardi, C., Giannico, F., & Armentano, L. E. (2005). Effect of water addition on selective consumption (sorting) of dry diets by dairy cattle. *Journal of Dairy Science, 88*, 1043–1049. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72772-7.
16. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin-phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry, 193*, 262–275. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6.
17. Miller, J. L. (1959). Modified DNS method for reducing sugars. *Analytical Chemistry, 31*, 426– 429. https://doi.org/10.1021/ac60147a030.
18. Miller-Cushon, E. K., & DeVries, T. J. (2009). Effect of dietary dry matter concentration on the sorting behavior of lactating dairy cows fed a total mixed ration. *Journal of Dairy Science, 92*, 3292–3298. https://doi.org/10.3168/jds.2008-1772.
19. NRC. (2007). National Research Council, Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Washington (DC, USA): National Academy of Sciences.
20. Robinson, P. H., Burgess, P. L., & McQueen, R. E. (1990). Influence of moisture content of mixed rations on feed intake and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science, 73*, 2916–2921. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78979-5.
21. SAS Institute Inc. (2005). User's Guide: Statistics, Version 9.0 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
22. Shaver, R. D. (2002). Rumen acidosis in dairy cattle: Bunk management considerations. *Advances in Dairy Technology, 14*, 241‑249.
23. Thomas, J. W., Moore, L. A., Okamoto, M., & Sykes, J. F. (1961). A study of factors affecting rate of intake of heifers fed silage. *Journal of Dairy Science, 44*, 1471. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(61)89909-8.
24. Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (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.

Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1, Spring 2023, p. 51-63

The Effect of Chemical Buffering and Microbial Additives on Histomorphometry and Histopathology of the Small and Large Intestine of Lambs Fed High Concentrate Diets

Freshteh Vafaee[1], Morteza Chaji[2*], Omid Khorasani[3], Farshad Baghban[4]

Received: 02-09-2021 Revised: 07-06-2022 Accepted: 01-08-2022 Available Online: 01-08-2022	**How to cite this article:** Vafaee, F., Chaji, M., Khorasani, O., & Baghban, F. (2023). The effect of chemical buffering and microbial additives on histomorphometry and histopathology of the small and large intestine of lambs fed high concentrate diets. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 51-63. DOI: 10.22067/ijasr.2022.73983.1057

Introduction: Intestinal function in nutrient uptake depends on its morphology, and any change in villi structure, as well as changes in the differentiation and development of absorbent cells, can alter digestion and absorption capacity and thus function. Increasing the height and surface of Villus in the gastrointestinal tract of animals consuming high concentrates increases the absorption capacity and in turn, protects the animal from the accumulation of volatile fatty acids and a noticeable decrease in pH. In fact, it helps the lining of the gastrointestinal tract absorb volatile fatty acids faster and stabilize the pH. High starch in diets, followed by a decrease in pH, affects the morphology of the rumen and intestine. Any change in this morphology may predispose the intestines to dysfunction. *Megasphaera elsdenii* prevents a sharp decrease in ruminal pH due to lactic acid accumulation by consuming lactic acid, and in cases of subacute acidosis by converting lactic acid to propionic acid may provide an opportunity to reduce inflammation and improve energy balance in livestock. Saccharomyces cerevisiae also contributes to the growth and activity of cellulose-degrading bacteria, lactate consuming bacteria, and rumen protozoa and the concomitant use of lactate consuming bacteria with Saccharomyces cerevisiae has been confirmed. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of chemical and microbial buffer additives on histomorphometry and histopathology of the small intestine and large intestine during high concentrate feeding.

Materials and Methods: Twelve Arabi male sheep at 9 ± 1 months old and initial body weight of 35.95±3.55 kg were used in a completely randomized design with three treatments and four replicates, and the duration of the experiment was 35 days. The experimental treatments consisted of a 1- control diet, 2- control diet + sodium bicarbonate buffer, 3- control diet + Megasphaera elsdenii, and Saccharomyces cerevisiae (bacterial-yeast), which fed *ad libitum*. At the end of the experiment, the lambs were slaughtered and the small and large intestines were sampled for histomorphometry and histopathology studies. Each sample was placed separately in closed-sealed containers containing 10% formalin, and tissue changes were examined microscopically.

Results and Discussion: No significant difference was observed between the experimental treatments for the tissue indices studied in the duodenum and jejunum. However, the ratio of villus height to crypt depth in the bacterium-yeast recipient treatment was numerically higher than other treatments. In ileum section, villi height, crypt depth and villi area in control treatment 653.33; 506.67; 258.42 compared to buffer treatment 430.00; 328.33; 161.40 and treatment containing bacterial-yeast 445.00; 365.00; 178.04 respectively were significantly higher ($P < 0.05$). In the present experiment, due to the consumption of a diet with high concentrate and possibly increased

1- Former M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran.
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran.
3- Ph.D. of Animal Nutrition, Kharazmi Industrial School, of Dezful, Iran.
4- Assistant Professor, Department of Veterinary Medicine, Azad University of Yasoj, Yasij, Iran.
*Corresponding Author's Email: chaji@asnrukh.ac.ir

production of volatile fatty acids in the rumen and their transfer to later parts of the gastrointestinal tract, increased villi height, crypt depth, and villi area in different parts Intestine was observed especially in control treatment; In fact, one of the reasons for increasing the villi height and Villus surface in acidosis, is increased the absorption capacity of volatile fatty acids and help maintain pH of the rumen, Therefore, reducing these indices in chemical buffer and bacterial-yeast treatments can be the result of the positive effects of buffer and microbial additives such as improving the pH of ruminal fluid transferred to different parts of the intestine, as a result of increased activity of cellulolytic bacteria and more acetate production, which has caused relative control of acidosis in the control treatment. Improving the Villus height to crypt depth ratio in the duodenum and jejunum in treatments receiving chemical or microbial additives can be considered as positive results of using pH-adjusting additives in the present experiment. In different parts of the small intestine, in all three treatments, inflammation of the intestinal mucosa was observed in the form of infiltration of mononuclear inflammatory cells, including lymphocytes, plasma cells with different degrees of eosinophils. In the large intestine in the control treatment, hyperemia, the infiltration of inflammatory cells of lymphocytes, plasma cells, and eosinophils in small numbers in Lamina propria and labyrinth of Lieberkohen glands as well as necrosis of the villi was observed. In general, changes in intestinal tissues are to counteract the inflammation caused by acidosis.

Conclusion: In general, although the use of chemical buffering or microbial additives had a positive effect on the histomorphometry of the ileum, but did not have a positive effect on the histopathology of the small and large intestine. It is suggested that the present experiment be examined in the early stages of livestock growth when the microbial flora is not fully established.

Keywords: Acidosis, Buffer, Megasphaera elsdenii, Saccharomyces cerevisiae, Tissue.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد۱۵، شماره۱، بهار۱۴۰۲، ص ۶۳-۵۱

تأثیر استفاده از افزودنی‌های بافری شیمیایی و میکروبی بر هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی روده کوچک و بزرگ بره‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی کنسانتره زیاد

فرشته وفایی[۱]، مرتضی چاجی[۲*]، امید خراسانی[۳] و فرشاد باغبان[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۱۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۳/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۱۰

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر بافرهای شیمیایی و میکروبی بر ویژگی‌های بافت شناسی روده کوچک و روده بزرگ در حین تغذیه کنسانتره زیاد انجام گرفت. از ۱۸ رأس بره نر عربی ۱ ± ۹ ماه در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و شش تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره شاهد (فاقد افزودنی)، ۲- شاهد + یک درصد بافر بی‌کربنات سدیم، ۳- شاهد + سه میلی‌لیتر باکتری *مگاسفرا السدنی* و دو گرم مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* برای هر دام (باکتری- مخمر) بودند. در پایان آزمایش بره‌ها کشتار شدند و برای مطالعات هیستومورفومتری (طول، عمق، عرض پرز و ضخامت لایه عضلانی) و هیستوپاتولوژی از روده کوچک و بزرگ نمونه‌گیری شد. در بخش دوئودونوم و ژژنوم نسبت ارتفاع به عمق کریپت در تیمار دریافت‌کننده باکتری- مخمر از نظر عددی نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. در بخش ایلئوم به‌ترتیب ارتفاع پرز، عمق کریپت و مساحت پرز در شاهد (۶۵۳/۳۳، ۵۰۶/۶۷، ۲۵۸/۴۲ میکرون) نسبت به تیمار بافر (۴۳۰، ۳۲۸/۳۳، ۱۶۱/۴۰ میکرون) و تیمار حاوی باکتری- مخمر (۴۴۵، ۳۶۵، ۱۷۸/۰۴ میکرون) به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (P<۰/۰۵). در بخش‌های مختلف روده کوچک در هر سه تیمار التهاب مخاط روده به شکل نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای اعم از لنفوسیت، پلاسماسل با درجات متفاوت ائوزینوفیل مشاهده شد. در مجموع، استفاده از افزودنی‌های بافری شیمیایی و یا میکروبی تأثیر مثبتی بر هیستومورفومتری بافت ایلئوم داشت، امّا تأثیر مثبتی بر هیستوپاتولوژی بافت‌های روده کوچک و بزرگ نداشت و بین اثرات تیمار حاوی بافر بیکربنات با تیمار باکتری- مخمر نیز تفاوتی مشاهده نشد.

واژهای کلیدی: اسیدوز، بافت، بافر، *ساکارومایسیس سرویسیه*، *مگاسفرا السدنی*

مقدمه

روده باریک به‌عنوان بخشی از دستگاه گوارش حیوانات نقش مهمی در تکمیل هضم و جذب مواد مغذی و ترشح برخی هورمون‌ها دارد. وجود انواع پرزها از نظر شکل و ابعاد و ریز پرزها در روده، موجب افزایش سطح و در نتیجه، افزایش بازده آن در هضم و جذب مواد مغذی می شود (Afzalzadeh *et al*., 2013). بنابراین، عملکرد روده در جذب مواد مغذی به مورفولوژی آن وابسته است و هر گونه تغییر در ساختمان پرزها و همچنین تغییر در تمایز و نمو سلول‌های جاذب می‌تواند ظرفیت هضم و جذب و در نتیجه، عملکرد را تغییر دهد. ارتفاع پرزها و عمق کریپت و نسبت ارتفاع به عمق کریپت نمایانگر محیط روده بوده و می‌تواند به‌عنوان شاخص سلامتی روده در نظر

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز- ملاثانی، ایران.
۲- استاد گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز- ملاثانی، ایران.
۳- دکتری تغذیه دام، هنرستان خوارزمی دزفول، دزفول، ایران.
۴- استادیار گروه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج، یاسوج، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: chaji@asnrukh.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.73983.1057

گرفته شود (Wang *et al*., 2009). افزایش ارتفاع و سطح پرزهای دستگاه گوارش دام مصرف‌کننده کنسانتره زیاد باعث افزایش ظرفیت جذب می شود و به نوبه خود حیوان را از تجمع اسیدهای چرب فرار و کاهش محسوس pH محافظت می‌کند؛ و در واقع به بافت پوششی دستگاه گوارش در جذب سریع‌تر اسیدهای چرب فرار و ثبات pH کمک می‌کند (Krause and Oetzel, 2006; Wang *et al*., 2009).

به طور معمول جیره‌های غذایی با نشاسته زیاد اغلب برای بهبود عملکرد رشد یا تولید شیر در نشخوارکنندگان استفاده می‌شود و سطح نشاسته جیره معمولاً بیش از ۳۵ درصد توصیه شده است (Wang *et al*., 2009). نشاسته زیاد در جیره‌های غذایی و در پی آن کاهش pH، بر مورفولوژی شکمبه و روده تأثیر می‌گذارد؛ از آنجایی که عملکرد جذبی روده به ریخت شناسی آن مربوط است؛ هرگونه تغییر در این مورفولوژی ممکن است روده را مستعد ایجاد اختلال در عملکرد آن کند (Wang *et al*., 2009). اصولاً تشخیص اسیدوز شکمبه و در نتیجه، درمان آن دشوار است و در بیشتر موارد، درمان چندان مؤثر نیست و به‌طور کلی، اساس بر پیشگیری است که اقدامات پیشگیرانه باید مبتنی بر مدیریت تغذیه باشد (Li *et al*., 2011).

مگاسفرا السدنی و *سلنوموناس رومینانتیوم* سویه‌های غالب باکتری‌های مصرف‌کننده اسید لاکتیک در شکمبه هستند و از بین این دو سویه *مگاسفرا السدنی* ۶۵ تا ۹۵ درصد لاکتات موجود در شکمبه را مصرف می‌کند. بنابراین، *مگاسفرا السدنی* با مصرف اسید لاکتیک از کاهش شدید pH شکمبه در نتیجه، تجمع اسید لاکتیک جلوگیری می‌کند (Prabhu *et al*., 2012; Khorasani *et al*., 2020) و در شرایط اسیدوز تحت حاد با تبدیل اسید لاکتیک به اسید پروپیونیک ممکن است (Stone, 2004; Khorasani *et al*., 2020) فرصتی برای کاهش التهاب و بهبود تعادل انرژی در دام ایجاد کند (Steele *et al*., 2016). مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* نیز به رشد و فعالیت باکتری‌های تجزیه‌کننده سلولز، باکتری‌های مصرف‌کننده لاکتات (*مگاسفرا السدنی* و *سلنوموناس رومینانتیوم*) و پروتوزوآهای شکمبه کمک می‌کند و استفاده توأم باکتری‌های مصرف‌کننده لاکتات با مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* نیز تأیید شده است (Pinloche *et al*., 2013; Khorasani *et al*., 2020).

استفاده از بافر بی‌کربنات سدیم در جیره دام‌ها نیز از راه‌های مختلف، آسیب‌های حاصل از بروز اسیدوز حاد و تحت حاد شکمبه‌ای را برطرف کرده و یا کاهش می‌دهد (Erdman *et al*., 1980; Khorasani *et al*., 2021). از طرفی، استفاده از مخمر و ترکیبات فعال زیستی نظیر باکتری‌های مصرف‌کننده اسید لاکتیک نظیر بافرهای شیمیایی نیز می‌توانند در کاهش التهاب ناشی از اسیدوز مؤثر باشند و تأثیر آن‌ها با این بافرها قابل مقایسه و رقابت است (Aschenbach *et al*., 2019; Khorasani *et al*., 2021). در آزمایشی استفاده از تیمارهای حاوی تنظیم‌کننده pH، به‌دلیل کنترل نسبی اسیدوز، افزایش فعالیت باکتری‌های سلولولیتیک و افزایش تولید استات، باعث شد که افزایش ارتفاع پرز ناحیه شکمی شکمبه در تیمارهای مصرف‌کننده بافر بیکربنات و باکتری *مگاسفرا السدنی*- مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* از شاهد کمتر باشد (Khorasani *et al*., 2021). در پژوهشی، با بره‌های پرواری دریافت‌کننده مخلوط باکتری *مگاسفرا السدنی* و مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* (باکتری- مخمر) در جیره، وجود نقش مؤثر هم‌افزایی باکتری- مخمر در ابتدای دوره و ۲۱ روز ابتدای آزمایش بر عملکرد دام مشخص شد؛ از آنجایی که در این بازه، ریزجانداران شکمبه حیوانات هنوز به تغییرات جیره عادت نکرده‌اند، استفاده از افزودنی باکتری- مخمر می‌تواند به‌عنوان یک بافر یا تنظیم‌کننده pH مؤثر باشد (Khorasani *et al*., 2020).

بررسی‌ها نشان داد که تحقیقات قبلی بیشتر روی تأثیر جیره‌های با کنسانتره زیاد بر مورفولوژی شکمبه متمرکز بود و درباره تأثیر استفاده از جیره‌های پرکنسانتره بر هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی بافت‌های روده‌های کوچک و بزرگ بره‌ها و نیز نقش افزودنی‌های تنظیم‌کننده pH بر این اثرات، مطالعات کمی انجام شده است. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی مقایسه‌ای اثرات بافر بی‌کربنات سدیم و ترکیب باکتری مصرف‌کننده اسید یعنی *مگاسفرا السدنی* و مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* (باکتری- مخمر) بر هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی بافت روده کوچک و بزرگ بره‌های عربی تغذیه شده با جیره‌های پر کنسانتره انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در مزرعه آموزشی- پژوهشی و آزمایشگاه‌های دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. در آزمایش حاضر از ۱۸ رأس بره نر عربی ۱ ± ۹ ماه با وزن اولیه ۳/۵۵ ± ۳۲/۹۵ کیلوگرم استفاده شد. طول دوره آزمایش ۳۵ روز شامل ۱۴ روز دوره عادت‌پذیری و ۲۱ روز نمونه‌برداری بود. قبل از آغاز پژوهش، همه بره‌ها برای انگل‌های بیرونی (یک میلی‌لیتر آزانتول ۱۰ درصد در هفت لیتر آب به‌روش اسپری؛ شرکت بایر آلمان) و انگل‌های داخلی (تریکل ابندازول با لوامیزل، ۱۲ میلی‌لیتر برای هر بره؛ شرکت دارو پخش ایران) و برای مقابله با آنتروتوکسمی (سه میلی‌لیتر برای هر بره، موسسه تحقیقاتی واکسن و سرم سازی رازی- ایران) واکسینه شدند. بره‌ها در قفس‌های متابولیسمی (۱/۲ × ۱/۴ متر) نگهداری شدند.

بره‌ها به‌صورت تصادفی به‌یکی از سه تیمار شامل: ۱- جیره شاهد (فاقد افزودنی)، ۲- جیره شاهد + بافر بیکربنات سدیم (یک درصد جیره روزانه به‌صورت سرک)، ۳- جیره شاهد + مخلوط مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* (دو گرم در روز به‌ازای هر دام) به صورت محلول با باکتری *مگاسفرا السدنی* (سه میلی‌لیتر به‌ازای هر دام حاوی $4/5 \times 10^{8}$ cfu/ml) در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر که هر روز صبح به هر دام خورانده می شد، اختصاص یافتند (DFM) (Sedighi and

.(Alipour, 2019; Khorasani *et al*., 2020

جدول ۱- اجزای خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه آزمایشی تغذیه شده به بره‌ها

Table 1- Feed ingredients and chemical composition of the experimental basal diet fed to lambs

اجزای جیره Components of diet	مقدار (گرم در کیلوگرم ماده خشک) Amounts (g/kg DM)
یونجه Alfalfa	201
کاه گندم Wheat straw	99
دانه جو Barley grain	300
دانه ذرت Corn grain	210
کنجاله سویا Soybeans meal	123.5
سبوس گندم Wheat bran	55
کربنات کلسیم Calcium carbonate	4
نمک Salt	2.5
مکمل ویتامین و مواد معدنی[1] Vitamin and mineral supplements[1]	5
ترکیبات شیمیایی Chemical composition	
ماده خشک Dry matter	891
ماده آلی Organic matter	948
خاکستر Ash	51.7
پروتئین خام Crude protein	161
عصاره اتری Ether extract	27
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDFom[2]	290
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADFom[3]	165
متابولیسم انرژی (مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک) ME[4] (Mcal/kg DM)	2.65
کربوهیدرات‌های غیر فیبری Non–fiber carbohydrates[5]	470.3

[۱] هر کیلوگرم مکمل ویتامین – مواد معدنی حاوی ۵۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰هزار واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۱۰۰میلی‌گرم ویتامین E، ۱۸۰گرم کلسیم، ۶۰ هزار میلی‌گرم، فسفر، ۶۰ هزار میلی‌گرم سدیم، ۱۹هزار میلی‌گرم منیزیم، سه هزار میلی‌گرم روی، سه هزار میلی‌گرم آهن، ۱۹هزار میلی‌گرم منگنز، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم کروم، یک میلی‌گرم سلنیوم، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۴۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان.

[۲] NDF بدون خاکستر

[۳] ADF بدون خاکستر

[۴] محاسبه شده بر اساس ترکیب هر ماده خوراکی

[1] Premix contained (per kg): Vitamin A, 500,000 IU/mg; vitamin D3, 100000 IU/mg; vitamin E, 100 mg/kg; Ca, 180 g/kg; P, 60000 mg/kg; Na, 60000 mg/kg; Mg, 19000 mg/kg; Zn, 3000 mg/kg; Fe, 3000 mg/kg; Mn, 19000 mg/kg; Cu, 300 mg/kg; Co, 100 mg/kg; Se, 1 mg/kg; I, 100 mg/kg; antioxidant, 400 mg/kg; carrier, up to 1000 g.

[2] NDFom, ash-free neutral detergent fibre.

[3] ADFom, ash-free acid detergent fibre.

[4] Calculated from each feed ingredients.

[5] Calculated as: NFC=1000 – (NDFom g/kg + crude protein g/kg + ether extract g/kg + ash g/kg).

جدول ۲– اثر جیره‌های آزمایشی بر هیستومورفومتری بافت‌های روده کوچک بره‌ها

Table 2- The effect of experimental diets on histomorphometry of small intestinal tissues of lambs

متغیرها Variables	تیمارها Treatments			SEM	P-value
	Control[1]	Buffer[2]	Me+Sc[3]		
دئودنوم (میکرون) Duodenum (µm)					
ارتفاع پرز Villus height	560.00	562.50	482.50	20.616	0.2074
عمق کریپت Crypt depth	485.00	470.00	385.00	20.683	0.0916
عرض پرز Villus width	120.00	125.00	155.00	8.558	0.2054
ضخامت لایه عضلانی Thichness of tunica muscularis	262.50	247.50	270.00	18.600	0.3786
نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت Villus height to crypt depth ratio	1.16211	1.19741	1.25695	0.027	0.3721
مساحت پرز (میلی‌مترمربع) Villus surface (mm^2)	208.65	222.78	234.48	14.375	0.7974
ژوژنوم (میکرون) Jejunum (µm)					
ارتفاع پرز Villus height	575.00	705.00	600.00	31.571	0.2113
عمق کریپت Crypt depth	486.67	561.67	486.67	32.472	0.5815
عرض پرز Villus width	106.67	90.00	103.33	5.941	0.5077
ضخامت لایه عضلانی Thichness of tunica muscularis	268.33	253.33	286.67	11.950	0.5683
نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت Villus height to crypt depth ratio	1.1859	1.2783	1.3060	0.046	0.5638
مساحت پرز (میلی‌مترمربع) Villus surface (mm^2)	194.05	198.87	196.04	15.049	0.9924
ایلئوم (میکرون) Ileum (µm)					
ارتفاع پرز Villus height	653.33[a]	430.00[b]	445.00[b]	29.841	0.0002
عمق کریپت Crypt depth	506.67[a]	328.33[b]	365.00[b]	27.547	0.0101
عرض پرز Villus width	126.67	121.67	126.67	5.378	0.9183
ضخامت لایه عضلانی Thichness of tunica muscularis	223.33	188.33	191.67	13.709	0.0703
نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت Villus height to crypt depth ratio	1.3390	1.3670	1.2307	0.063	0.6782
مساحت پرز (میلی‌مترمربع) Villus surface (mm^2)	258.42[a]	161.40[b]	178.04[b]	13.782	0.0023

[a,b] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0/05$).

[۱] شاهد= فاقد هر گونه افزودنی

[۲] بافر= سدیم بی کربنات (یک درصد جیره روزانه)

[۳] *مگاسفرا السدنی* (سه میلی‌لیتر به‌ازای هر دام) + *ساکارومایسیس سرویسیه* (دو گرم به‌ازای هر دام)

[a,b] Means within same row with different superscripts differ ($P<0.05$).

[1] Control= without any supplementation

[2] Buffer= sodium bicarbonate supplementation (One percent daily ration)

[3] Me + Sc= *Megasphaera elsdenii* (Three milliliters per animal) + *Saccharomyces cerevisiae* (Two grams per animal)

شـــرایط تغذیه و مدیریت پرورش بره های انتخاب شــده قبل از آزمایش یکسـان بود. جیره برهها با اسـتفاده از جدول احتیاجات مواد مغذی نشـــخوارکنندگان کوچک (NRC, 2007) تنظیم شــدند و بهصـورت کاملاً مخلوط (TMR) به نسـبت ۳۰ درصـد علوفه و ۷۰ در صد کنسانتره در دو نوبت (ساعات ۸:۰۰ و ۱۶:۰۰) در حد اشتها به همراه دسترسی آزاد به آب در اختیار برهها قرار گرفت (جدول ۱).

بافر بی کربنات سدیم مورد استفاده در پژوهش حاضر از شرکت کیمیا سپاهان (اصفهان–ایران) و مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* (7×10^9 cfu/g) از شرکت خمیر مایه خوزستان (دزفول–ایران) تهیه شـد. باکتریهای *مگاسـفرا السـدنی* از بز نجدی در دانشـگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان (ملاثانی– اهواز– ایران) جداسازی و تهیه شد (Mohammadabadi *et al*., 2018). مایع شکمبه سه سـاعت بعد از خوراکدهی صـبح، در هفته چهارم از طول دوره جهت تعیین pH توسـط لوله معدی از دامها گرفته شـد، بخش رویی برای اطمینان از حذف بزاق دور ریخته شــد و pH (pH متر دیجیتال، WTW مدل ۳۱۱۰، آلمان) آن اندازهگیری شـــد. در پایان آزمایش برههای هر تیمار کشتار شدند. پس از ذبح بلافاصله محوطه شکمی باز و دستگاه گوارش از ناحیه مری تا انتهای قولون جدا و خارج شد. جهت بررسـیهای بافتشـناسـی رودهها، از بخش میانی سـه ناحیه دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم روده کوچـک و بخش میـانی روده بزرگ، قطعاتی بهطول یک سـانتیمتر جدا شـدند. هر یک از نمونهها بهطور جداگانه در ظروف درب بسته حاوی فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند (Garcia Diaz *et al*., 2018; Khorasani *et al*., 2021). پس از ۲۴ سـاعت فرمالین ظروف تعویض شـد و نمونهها جهت بررسـی هیسـتومورفومتری و تغییرات بافتی به مرکز پاتولوژی دامپزشـکی اصـفهان منتقل شـدند. در آزمایشـگاه نمونههای بافتی با اسـتفاده از قالبهای لوک هارت بهصـورت عرضـی در پارافین قالبگیری و با کمک میکروتوم چرخان Sakura (مدل SRM 200 CW سـاخت چین) مقاطعی به ضـخامت پنج میکرومتر تهیه و با اسـتفاده از هماتوکسـیلین– ائوزین رنگآمیزی شـدند (Wang *et al*., 2009; Khorasani *et al*., 2021) و تغییرات بافتی مورد بررسـی میکروسـکوپی قرار گرفت. اندازهگیری شـاخصهای مورد مطالعه در بزرگنماییهای مختلف با اسـتفاده از میکروسـکوپ Nikon (مدل YS100 ساخت ژاپن) با عدسیهای مدرج و کالیبره شده انجام شد (در هر گروه سـه نمونه و از هر نمونه پنج برش بافتی و در هر برش بافتی حداقل چهار میدان میکروسکوپی شمارش و اندازهگیری شد). مطالعات میکرومتری در رابطه با بخشهای مختلف روده کوچک طول، عمق، عرض پرز و ضـخامت لایه عضـلانی مورد بررسـی هیستومورفومتریک قرار گرفت.

آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصـادفی با سـه تیمار و چهار تکرار انجام شـد. همه دادهها با نرمافزار آماری SAS (نسـخه ۹/۴) با مدل خطی (GLM) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگینها توسط آزمون چند دامنهای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد انجام گرفت. از مدل آماری زیر استفاده شده است:

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

که در این رابطه، Y_{ij}: مقدار مشاهده شده، μ: میانگین جامعه، T_i: اثر تیمار iام و ε_{ij}: اثرات خطای آزمون است.

نتایج و بحث

هیسـتومورفومتری روده باریک: تأثیر تیمارهای بافر بی کربنات سدیم و باکتری– مخمر بر ساختار هیستومورفومتری بافتهای روده کوچک در مقایسه با گروه شاهد در جدول ۲ آمده است.

اختلاف معنیداری بین تیمارهای آزمایشـی برای شـاخصهای بافتی مورد مطالعه در بخش دوئودنوم وژژنوم مشاهده نشد. هر چند نسبت ارتفاع به عمق کریپت در تیمار دریافتکننده باکتری– مخمر از نظر عددی نسـبت به سـایر تیمارها بیشـتر بود (جدول ۲). در بخش ایلئوم ارتفاع پرز، عمق کریپت و مساحت پرز در شاهد نسبت به سایر تیمارها بهطور معنیداری بیشتر بود ($P<0.05$).

تأثیر اسیدهای چرب فرار بر تحریک تکثیر سلولی و رشد بافت دستگاه گوارش به پیش معده (شکمبه و نگاری) محدود نیست و بر تحریک تکثیر سـلولی و رشـد پرزهای روده کوچک نیز مؤثر اسـت (Wang *et al*., 2009). در روده کوچک بهخصـوص ارتفاع پرزها، عمق کریپت و اندازه بافت پوشـشـی نقش قابل توجهی در مراحل نهایی هضم و جذب مواد مغذی از دستگاه گوارش دارند (Strusińska *et al*., 2009; Wang *et al*., 2009). در واقع هرچه ابعاد پرز بیشتر و پرز طویلتر باشد بهدلیل وجود سلولهای جاذب، توانایی جذب در آنها افزایش مییابد (Attaix and Meslin, 1991). از طرفی، حضور و جذب اسـیدهای چرب فرار، کلید اصـلی توسـعه بافتهای مجاری دستگاه گوارش میباشد (Attaix and Meslin, 1991; Vi *et al*., 2004). مطالعات مشـابهی در مورد اثر بافر شـیمیایی و یا اسـتفاده مستقیم از میکروب (DFM) در جیره پرکنسانتره بر بافت رودهها در حیوانات نشخوارکننده در دسترس نیست.

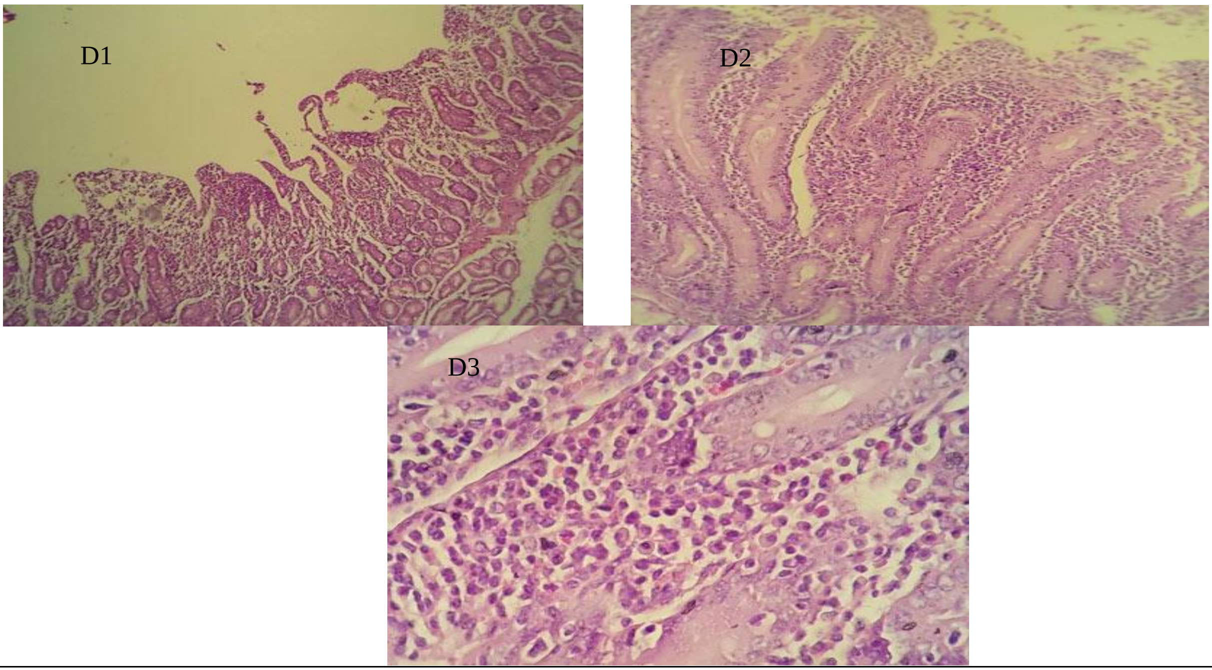
در آزمایش حاضر بهدلیل مصرف جیره با کنسانتره زیاد و احتمالاً افزایش تولید اسـیدهای چرب فرار در شـکمبه (Khorasani *et al*., 2020) و انتقال آنها به بخشهای بعدی دسـتگاه گوارش، افزایش ارتفاع پرز، عمق کریپت و مسـاحت پرز در بخشهای مختلف روده بهخصوص در شاهد مشاهده شد؛ در واقع یکی از دلایل افزایش ارتفاع پرز و سـطح پرز در شـرایط اسـیدوز افزایش ظرفیت جذب اسـیدهای چرب فرار و کمک به پایداری pH اسـت (Mashayekhi *et al*., 2020). بنابراین، کاهش این شاخصها در تیمارهای دریافتکننده بافر

شیمیایی و باکتری- مخمر را می‌توانند نتیجه تأثیرات مثبت افزودنی‌های بافری و میکروبی نظیر بهبود pH مایع شکمبه (جدول ۳) منتقل شده به بخش‌های مختلف روده، در نتیجه فعالیت بیشتر باکتری‌های سلولولیتیک و تولید استات بیشتر دانست که باعث کنترل نسبی اسیدوز شاهد شده است (Lechartier and Peyraud, 2011; Mashayekhi *et al*., 2020; Khorasani *et al*., 2021).

افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ساختار روده‌ای مرتبط با هضم و جذب بهتر مواد مغذی بوده، توانایی بالاتری را در تامین احتیاجات مواد مغذی ایجاد می‌کند (Afzalzadeh *et al*., 2013) بنابراین، بهبود نسبت ارتفاع به عمق کریپت در دئودنوم و ژژنوم در تیمارهای دریافت‌کننده افزودنی‌های شیمیایی و یا میکروبی را می‌توان از نتایج مثبت استفاده از افزودنی‌های تنظیم‌کننده pH در آزمایش حاضر دانست؛ به‌طوری که در آزمایش های برخی از پژوهشگران با جوجه‌های گوشتی با مصرف مستقیم میکروب (DFM) نسبت ارتفاع به عمق کریپت در قسمت‌های مختلف روده کوچک بهبود یافت (Jayaraman *et al*., 2013; Lei *et al*., 2015) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. از طرفی، سرکوبی باکتری‌های بیماری‌زا توسط استفاده مستقیم میکروب و تعدیل میکروبی روده نیز ممکن است منجر به بهبود نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت شود (Lei *et al*., 2015).

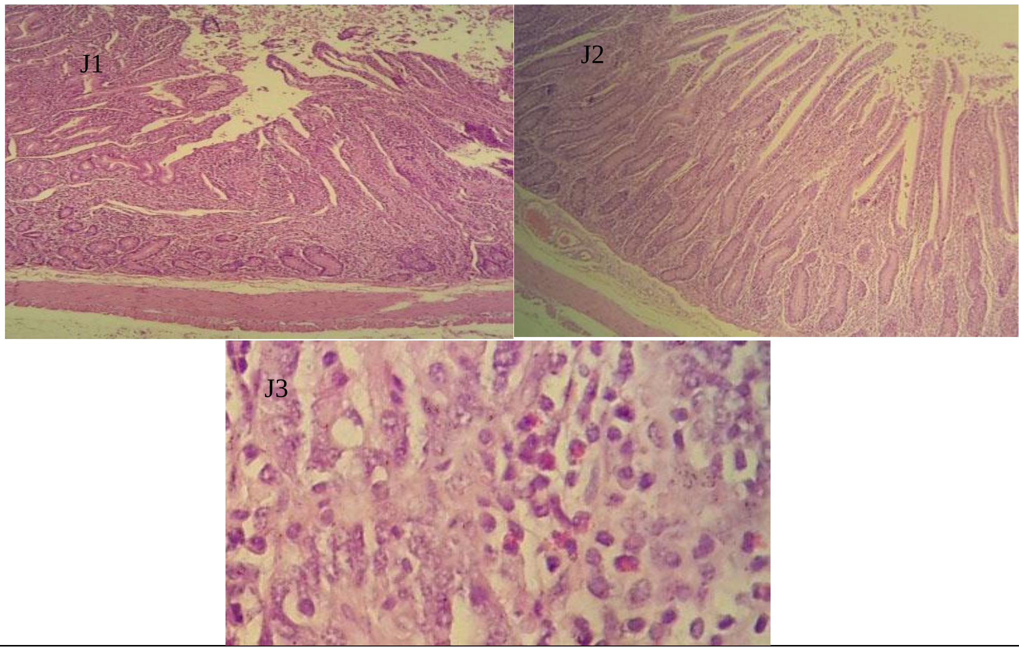
هیستوپاتولوژی روده کوچک و بزرگ

در بخش‌های مختلف روده (دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم) در هر سه تیمار التهاب مخاط روده به‌شکل نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای اعم از لنفوسیت، پلاسما سل، با درجات متفاوت ائوزینوفیل مشاهده شد. به‌علاوه، تغییرات پاتولوژیک به‌شکل پرخونی، خونریزی، نکروز پرزها و بهم چسبیدن پرزها ناشی از التهاب و نفوذ سلول‌های التهابی مشاهده شد. به‌طور کلی، شدت التهاب بر پایه میزان نفوذ و گسترش سلول‌های التهابی در تیمارها به هم شبیه بودند.



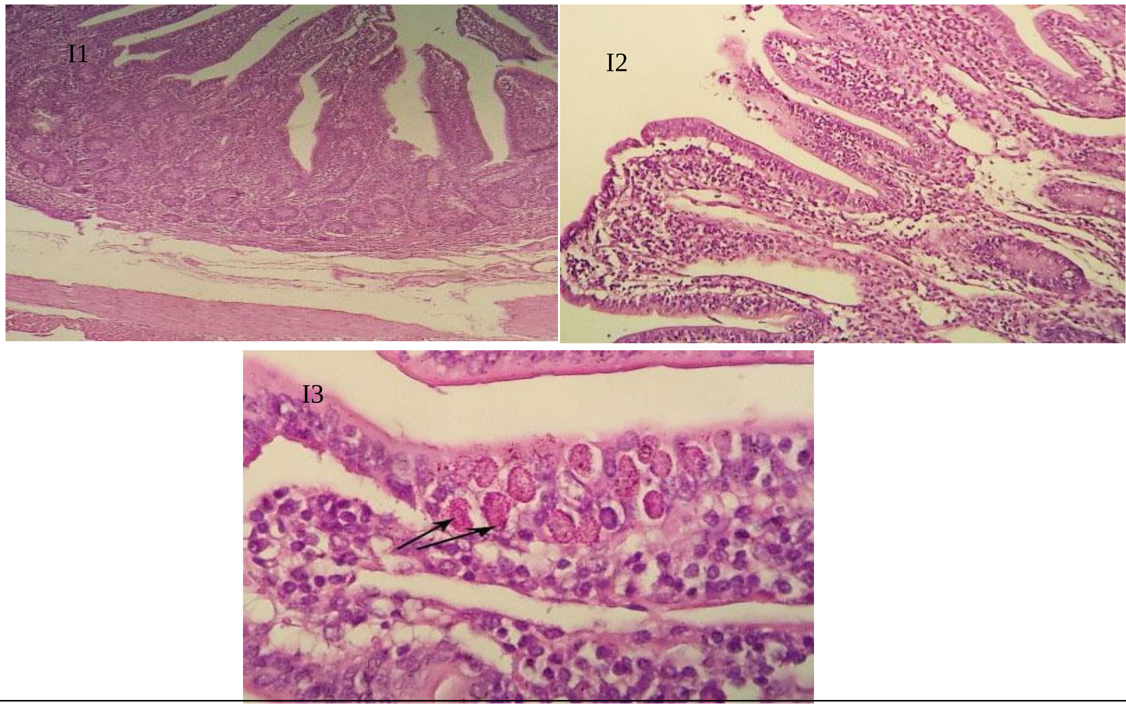
شکل ۱– دئودنوم (D)- D1, D2&D3: به هم چسبیدن رأس ویلی‌ها، نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای و ائوزینوفیل‌ها در مخاط و پارین مخاط. D1& D2 با بزرگنمایی ۴۰ و D3 با بزرگنمایی ۱۰۰. رنگ‌آمیزی هماتوکسلین- ائوزین

Figure 1– Duodenum (D)- D1, D2 & D3: Sticking the heads of villuse together, Infiltration of mononuclear inflammatory cells and eosinophils in mucosa and submucosa. D1& D2: X40 and D3: X100. Hematoxylin-Eosin staining



شکل ۲- ژژنوم (J): J1, J2&J3: نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای و ائوزینوفیل‌ها در مخاط و پارین مخاط. J1& J2: بزرگ‌نمایی ۴۰ و J3: بزرگ‌نمایی ۱۰۰. رنگ‌آمیزی هماتوکسلین- ائوزین

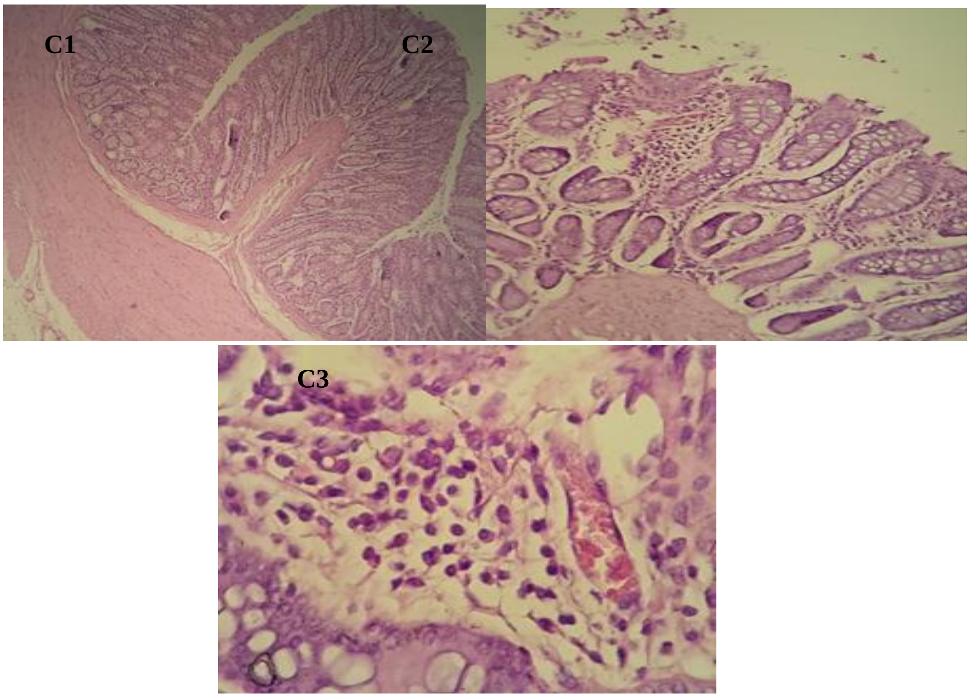
Figure 2- Jejunum (J): J1, J2 & J3: Infiltration of mononuclear inflammatory cells and eosinophils in mucosa and submucosa. J1& J2: X40 and J3: X100. Hematoxylin-Eosin staining



شکل ۳- ایلئوم (I): I1&I2: به هم چسبیدن ویلی‌ها، نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای و ائوزینوفیل‌ها در مخاط، بزرگ‌نمایی ۴۰. I3: حضور فراوان ائوزینوفیل و وجود اووسیست‌های کوکسیدیا در محل فلش‌ها، بزرگ‌نمایی ۴۰۰. رنگ‌آمیزی هماتوکسلین- ائوزین

Figure 3- Ileum (I): I1& I2: Sticking villuse together, Infiltration of mononuclear inflammatory cells and eosinophils in mucosa, X40. I3: Abundant presence of eosinophils, Arrows: Existence of coccidial oocysts, X400. Hematoxylin-Eosin staining

در بخش ایلئوم در تمام تیمار ها پلاک های په یر (Peyer's patches) در زیر مخاط قابل مشـــاهده بودند. در ایلئوم در شـــاهد مقاطعی از انگل کوکسیدیا (فلش‌ها) در مخاط روده مشاهد شد که تا حدود زیادی می‌تواند حضــور تعداد فراوان ائوزینوفیل‌ها را در مقاطع مختلف روده اعم از روده کوچک و روده بزرگ توجیه کند. هر چند در ســـایر بخش های روده در هیچ کدام از نمونه ها هیچ مقطعی از انگل مشاهده نشد.



شکل ٤– کولون (C):C1: نمایی کلی از مقطع روده بزرگ، بزرگ‌نمایی ۴۰. C2: نکروز رأس پرزها و نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای در مخاط و در لابلای غدد لیبرکوهن، بزرگنمایی ۱۰۰. C3: حضور سلول‌های التهابی تک هسته‌ای در مخاط و لابلای غدد لیبرکوهن، بزرگ‌نمایی ۴۰۰. رنگ‌آمیزی هماتوکسلین- ائوزین

Figure 4- Colon: C1: Complete cross section of the large intestine, X40. C2: Villi necrosis and infiltration of mononuclear inflammatory cells in the mucosa and among of the lieberkuhn glands, X100. Infiltration of mononuclear inflammatory cells in the mucosa and among of the lieberkuhn glands, X400. Hematoxylin-Eosin staining

جدول ۳– pH مایع شکمبه در بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

Tables 3- Rumen fluid pH of lambs fed with diets

متغیر Variable	تیمارها Treatment			SEM	P-value
	Control[1]	Buffer[2]	Me + Sc[3]		
pH[4]	6.54^{b}	6.87^{a}	6.80^{a}	0.0654	0.0257

[a,b] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).
[۱] شاهد= فاقد هر گونه افزودنی
[۲] بافر= سدیم بی کربنات (یک درصد جیره روزانه)
[۳] *مگاسفرا السدنی* (سه میلی‌لیتر به‌ازای هر دام) + *ساکارومایسیس سرویسیه* (دو گرم به‌ازای هر دام)
[۴] ۳ ساعت پس از تغذیه صبحگاهی

[a,b] Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).
[1] Control= without any supplementation
[2] Buffer= sodium bicarbonate supplementation (one percent daily ration)
[3] Me + Sc= *Megasphaera elsdenii* (three milliliters per animal)+ *Saccharomyces cerevisiae* (two grams per animal)
[4] 3 hours after morning feeding

در روده بزرگ در شاهد پرخونی، نفوذ سلول‌های التهابی لنفوسیت، پلاسماسل و ائوزینوفیل به تعداد کم در پارین مخاط و لابلای غدد لیبرکوهن و همچنین نکروز رس پرزها مشاهده گردید. در تیمار دریافت‌کننده بافر دژنراسیون پراکنده غدد لیبرکوهن همراه با نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای و ائوزینوفیل‌ها در پارین مخاط و لابلای غدد لیبرکوهن مشاهده شد. در تیمار باکتری- مخمر نکروز غدد لیبرکوهن همراه با نفوذ سلول‌های التهابی با غالبیت ائوزینوفیل‌ها مشاهده شد.

در منابع، تاکنون پژوهش‌های مشابهی در خصوص هیستوپاتولوژی بخش‌های مختلف روده مشاهده نشد. به‌طور کلی، تغییرات ایجاد شده در بافت‌های روده جهت مقابله با التهاب‌های ایجاد شده است؛ در واقع اسیدوز شکمبه می‌تواند به بافت‌های پوششی شکمبه و روده آسیب بر ساند و منجر به انتقال باکتری‌های مسئول آبسه‌های کبدی شود (Odongo *et al*., 2006; Khorasani *et al*., 2021). در بیماری اسیدوز شکمبه به‌صورت تجربی با استفاده از تلقیح درون شکمبه‌ای دانه‌های خرد شده برنج، نفوذ نوتروفیل‌ها و سلول‌های تک هسته‌ای به بافت شکمبه، نگاری، هزارلا و شیردان و پوسته پوسته شدن بافت پوششی دیواره شکمبه مشاهده شده است (Rose, 1989). در شرایط اسیدوز بافت پوششی برای باکتری‌ها و اندوتوکسین (لیپوپلی ساکاریدها-LPS) قابل نفوذ می‌باشد که پس از جابه‌جایی می‌تواند باعث آبسه‌های کبدی و التهاب شود (Mashayekhi *et al*., 2020; Khorasani *et al*., 2021). در واقع اسیدیته شکمبه منجر به مرگ باکتری‌های گرم منفی و به دنبال آن انتشار اندوتوکسین‌ها (LPS) و فعال کردن واسطه‌های التهابی و تأثیرگذاری بر عملکرد تولیدی حیوانات می‌شود (Garcia Diaz *et al*., 2018). برخلاف نتایج آزمایش حاضر، در گاوهای تغذیه شده با کنسانتره بالا، استفاده از باکتری *مگاسفرا السدنی* ضایعات التهابی شکمبه را نسبت به شاهد کاهش داد (DeClerck *et al*., 2020) همچنین در جیره با کنسانتره بالا در بره‌های پرواری با مصرف بافر و مخلوط باکتری *مگاسفرا السدنی* با مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* از میزان نفوذ سلول‌های التهابی در پارین مخاط کاسته شده است و شرایط بهتری و آرامش بیشتری در دام‌های مصرف‌کننده عوامل تنظیم‌کننده pH مشاهده شد (Khorasani *et al*., 2021). دلیل اصلی و مشخص عدم مشاهده تفاوت‌ها بین شاهد و تیمارهای حاوی عوامل تنظیم‌کننده pH در بررسی پاتولوژی روده کوچک مشخص نشد، امّا شاید بتوان آن را به سن و تغذیه قبلی حیوان مرتبط دانست، به این معنی که تغذیه قبلی این بره‌ها تغییراتی را در بافت ایجاد کرده باشد (نظیر التهاب‌های مشاهده شده) که دیگر در مدت زمان کوتاه ترمیم نشوند. تحقیقات نشان می‌دهد که رژیم غذایی اولیه و تغذیه بر توسعه بافتی شکمبه و میکروفلورای آن تأثیر دارد و این تأثیرات ممکن است برای مدت طولانی ادامه داشته باشند و در نتیجه، بر عملکرد، طول عمر و سلامت نشخوارکنندگان بالغ تأثیر بگذارند. بر این اساس بیان شده است که برای توسعه شکمبه بهتر است که گوساله‌ها با غذای با کیفیت بالا و غنی از مواد فعال بیولوژیکی تغذیه شوند (Diao *et al*., 2019). همچنین نشان داده شده که رژیم‌های غذایی می‌توانند فلور میکروبی در بره‌ها را در طول از شیر گرفتن تغییر دهند که این روند می‌تواند به‌مدت چهار تا پنج ماه ادامه یابد (Yáñez-Ruiz *et al*., 2010; De Barbieri *et al*., 2015). لذا، به نظر می‌رسد تغییرات پاتولوژیک و التهاب‌های مشاهده شده در بافت‌های مربوط به بره‌های شاهد؛ و عدم توانایی تیمارهای حاوی افزودنی‌های بافری شیمیایی و میکروبی برای بر طرف کردن آن‌ها، بیشتر ناشی از تأثیرات حاصل از سن و تغذیه قبلی دام‌های مورد آزمایش باشند که برگشت‌ناپذیر بوده و قابل جبران نیستند؛ بر این اساس پیشنهاد می‌شود که افزودنی‌های بیولوژیکی در جیره‌های با کنسانتره بالا از همان ابتدای از شیرگیری جهت توسعه بهتر بافت‌ها و اثرات مثبت آن‌ها استفاده و مورد بررسی قرار گیرند. به‌علاوه، برای مطالعات بافتی که در آن‌ها اثر جیره‌های پرکنسانتره مورد مطالعه قرار می‌گیرند، پیشنهاد می‌شود از دام‌هایی استفاده شود که قبل از شروع آزمایش با جیره‌ای بر پایه علوفه تغذیه شده باشند یا به‌طور کلی‌تر، با جیره‌هایی تغذیه شده باشند که استرس اسیدوز و در نتیجه، تخریب و آسیب سلول‌های روده‌ای را ایجاد نکنند.

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از افزودنی‌های بافری شیمیایی و یا میکروبی در آزمایش حاضر اگرچه باعث تأثیرات مثبتی بر هیستومورفومتری ایلئوم شد. با این حال، تأثیر مثبتی بر هیستومورفومتری دئودنوم و ژژنوم و نیز هیستوپاتولوژی روده کوچک و بزرگ مشاهده نشد و التهاب مخاط روده به‌شکل نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای در همه تیمارهای مشاهده شد. در کل، بین عملکرد تیمار حاوی بافر بیکربنات با تیمار باکتری- مخمر از این نظرها تفاوتی مشاهده نشد و نتایج آن‌ها مشابه بود. برای تکمیل یافته‌ها، توصیه می‌شود که تأثیر افزودنی‌های تنظیم‌کننده pH (به‌ویژه نوع میکروبی)، در همین سطوح یا مقادیر متفاوت با آزمایش حاضر در سایر جیره‌ها از نظر مقدار کنسانتره و یا سایر دام‌ها با شرایط فیزیولوژیکی متفاوت بویژه مراحل اولیه رشد که فلور میکروبی به‌طور کامل استقرار پیدا نکرده است نیز مورد بررسی قرار گیرد.

References

1. Afzalzadeh, A., Sharifi, S. D., Absalan, M., Khadem, A., & Ghandi, D. (2013). Effect of whole cottonseed feeding on feedlot performance and morphological characteristics of small intestine in Chaal male lambs. *Iranian Journal of Animal Science*, *43*(4), 457-464. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijas.2013.30266
2. Aschenbach, J. R., Zebeli, Q., Patra, A. K., Greco, G., Amasheh, S., & Penner, G. B., (2019). Symposium review: The importance of the ruminal epithelial barrier for a healthy and productive cow. *Journal of Dairy Science, 102*(2), 1866-1882. 10.3168/jds.2018-15243
3. Attaix, D., & Meslin, J. C. (1991). Changes in small intestinal mucosa morphology and cell renewal in suckling, prolonged-suckling, and weaned lambs. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 261*(4), 811-818. 10.1152/ajpregu.1991.261.4.R811
4. De Barbieri, I., Hegarty, R. S., Silveira C., Gulino, L. M., Oddy, V. H., Gilbert, R. A., Klieve, A. V., & Ouwerkerk, D. (2015). Programming rumen bacterial communities in newborn Merino lambs. *Small Ruminant Research*, *129*, 48–59. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.05.015.
5. DeClerck, J. C., Wade, Z. E., Reeves, N. R., Miller, M. F., Johnson, B. J., Ducharme, G. A., & Rathmann, R. J. (2020). Influence of *Megasphaera elsdenii* and feeding strategies on feedlot performance, compositional growth, and carcass parameters of early weaned, beef calves. *Translational Animal Science, 4*(2), 863-75. https://doi.org/10.1093/tas/txaa031
6. Diao, Q., Zhang, R., & Fu, T. (2019). Review of strategies to promote rumen development in calves. *Animals, 9*(8), 490. 10.3390/ani9080490
7. Erdman, R. A., Botts, R. L., Hemken, R.W. & Bull, L.S. (1980). Effect of dietary sodium bicarbonate and magnesium oxide on production and physiology in early lactation. *Journal of Dairy Science, 63*(6), 923-930. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)83027-X
8. Garcia Diaz, T., Ferriani Branco, A., Jacovaci, F. A., Cabreira, C., Jobim Bolson, D. C., & Pratti Daniel, J. L. (2018). Inclusion of live yeast and mannan-oligosaccharides in high grain-based diets for sheep: Ruminal parameters, inflammatory response and rumen morphology. *PloS One, 13*(2), e0193313. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193313
9. Jayaraman, S., Thangavel, G., Kurian, H., Mani, R., Mukkalil, R., & Chirakkal, H. (2013). *Bacillus subtilis* PB6 improves intestinal health of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. *Poultry Science*, *92*(2), 370-374. https://doi.org/10.3382/ps.2012-02528
10. Khorasani, O., Chaji, M., & Baghban, F. (2020). Comparison of the effect of sodium bicarbonate buffer with *Megasphaera elsdenii* as a rumen-consuming acid on growth performance, digestibility, rumen and blood parameters of lambs in high concentrate. *Journal of Animal Science Researches*, *30*(2), 85-99. (In Persian).
11. Khorasani, O., Chaji, M., & Baghban, F. (2021). Effect of chemical buffer and *Megasphaera elsdenii*-yeast on histomorphometry and histopathology of rumen and liver of Arabian fattening lambs fed with concentrated diets. *Animal Production*, *23*(1), 47-59. (In Persian). https://doi.org/10.22059/jap.2021.307867.623553
12. Krause, K. M., & Oetzel, G. R. (2006). Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Animal Feed Science and Technology*, *126*(3-4), 215-236. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.08.004
13. Lechartier, C., & Peyraud, J. L. (2011). The effects of starch and rapidly degradable dry matter from concentrate on ruminal digestion in dairy cows fed corn silage-based diets with fixed forage proportion. *Journal of Dairy Science*, *94*(5), 2440-2454. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3285
14. Lei, X., Piao, X., Ru, Y., Zhang, H., Péron, A., & Zhang, H. (2015). Effect of *Bacillus amyloliquefaciens*-based direct-fed microbial on performance, nutrient utilization, intestinal morphology and cecal microflora in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *28*(2), 239-246. 10.5713/ajas.14.0330
15. Li, G. H., Ling, B. M., Qu, M. R., You, J. M., & Song, X. Z. (2011). Effects of several oligosaccharides on ruminal fermentation in sheep: an *in vitro* experiment. *Revue de Medecine Veterinaire, 162*, 192-197.
16. Malekkhahi, M., Tahmasbi, A. M., Naserian, A. A., Danesh-Mesgaran, M., Kleen, J. L., Al-Zahal, O., & Ghaffari, M. H. (2016). Effects of supplementation of active dried yeast and malate during sub-acute ruminal acidosis on rumen fermentation, microbial population, selected blood metabolites, and milk production in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology, 213*, 29-43. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.12.018
17. Mashayekhi, M. R., Erfani-majd, N., Sari, M., & Rezaei, M. (2020). Investigating the effects of slow-release urea and molasses on histomorphometric tissue of rumen and abomasum and rumen fermentation parameters of fattening lamb. *Iranian Veterinary Journal, 16*(1), 82-93. (In Persian). 10.22055/IVJ.2019.151750.2077
18. Mohammadabadi, T., Bakhtiari, M. A., & Alimirzaei, P. (2018). Isolation and identification of lactate-producing and utilizing bacteria from the rumen of najdi goats. *Indian Journal of Small Ruminants, 24*(2), 276-280. 10.5958/0973-9718.2018.00056.9
19. NRC. (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids.

National Academy Press Washington DC.
20. Odongo, N. E., AlZahal, O., Lindinger, M. I., Duffield, T. F., Valdes, E. V., Terrell, S. P., & McBride, B. W. (2006). Effects of mild heat stress and grain challenge on acid-base balance and rumen tissue histology in lambs. *Journal of Animal Science, 84*(2), 447-455. 10.2527/2006.842447x
21. Pinloche, E., McEwan, N., Marden, J. P., Bayourthe, C., Auclair, E., & Newbold, C. J. (2013). The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle. *PloS One*, *8*(7), e67824.
22. Prabhu, R., Altman, E., & Eiteman, M. A. (2012). Lactate and acrylate metabolism by *Megasphaera elsdenii* under batch and steady-state conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, *78*, 8564-8570. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067824
23. Rose, B. D. (1989). Clinical physiology of acid-base and electrolyte disorders, 3rd ed. Mc Grow Hill Inc. Singapore, 261-268: 478- 501
24. Sedighi, R., & Alipour, D. (2019). Assessment of probiotic effects of isolated *Megasphaera elsdenii* strains in Mehraban sheep and Holstein lactating cows. *Animal Feed Science and Technology*, *248*, 126-131. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.01.007
25. Steele, M. A., Penner, G. B., & Chaucheyras-Durand, F. (2016). Development and physiology of the rumen and the lower gut: Targets for improving gut health. *Journal of Dairy Science, 99*(6), 4955-4966. 10.3168/jds.2015-10351
26. Stone, W.C. (2004). Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *87*, 13–26. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70057-0
27. Strusińska, D., Minakowski, D., Bomba, G., Otrocka-Domagała, I., Wiśniewska, M., & Tywończuk, J. (2009). Effect of whole cereal grains contained in the ration on calf performance and selected morphometric parameters of the rumen and small intestine. *Czech Journal of Animal Science, 54*(12), 540-551. 10.17221/133/2009-CJAS
28. Vi, R. B., McLeod, K. R., Klotz, J. L., & Heitmann, R. N. (2004). Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre-and postweaning ruminant. *Journal of Dairy Science*, *87*, 55-65. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70061-2
29. Wang, Y. H., Xu, M., Wang, F. N., Yu, Z. P., Yao, J. H., Zan, L. S., & Yang, F. X. (2009). Effect of dietary starch on rumen and small intestine morphology and digesta pH in goats. *Livestock Science*, *122*(1), 48-52. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.07.024
30. Yáñez-Ruiz, D. R., Macías, B., Pinloche, E., & Newbold, C. J. (2010). The persistence of bacterial and methanogenic archaeal communities residing in the rumen of young lambs. *FEMS Microbiology Ecology*, *72*(2), 272–278. 10.1111/j.1574-6941.2010.00852.x

Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1, Spring 2023, p. 65-75

The Effect of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid on Blood Parameters, Production and Composition of Ewe's Milk in Late Pregnancy

Mehrangiz Abbasi[1], Hassan Aliarabi [2*]

Received: 08-02-2022
Revised: 11-10-2022
Accepted: 07-11-2022
Available Online: 07-11-2022

How to cite this article:
Abbasi, M., & Aliarabi, H. (2023). The effect of Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on blood parameters, production and composition of ewe's milk in late pregnanc. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 65-75.
DOI: 10.22067/ijasr.2022.74963.1064

Introduction: Maternal stimuli, such as nutrition, result in developmental adaptations by the fetus which changes physiology and metabolism of offspring. In ewe energy level and source during gestation have been shown to impact lamb performance. Supplementation of fatty acids during gestation has been shown to affect offspring in dairy cattle and sheep. The omega-3 (n-3) fatty acids eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) are particularly bioactive and can alter physiology and metabolism by increasing the transcription of lipolytic genes and decreasing the transcription of lipogenic genes, potentially increasing the utilization of fatty acids for energy, which yields more energy than other metabolizable nutrients. The bioactive properties of EPA and DHA allow them to affect offspring development through changes in metabolism in non-ruminant species. Therefore, we hypothesized that supplementation of EPA and DHA will alter metabolism of pregnant ewes, which in turn will modulate growth and metabolism of the offspring.

Antioxidants protect the body against free radicals that are responsible for causing more than 100 diseases. Among the most important natural antioxidants are retinol (vitamin A), carotenoids, tocopherol (vitamin E), ascorbic acid, butyric acid, EPA and DHA. Long-chain unsaturated fatty acids have high antioxidant power, as it is reported that EPA and DHA have the same antioxidant capacity as vitamins. It has also been reported that supplementation of EPA, DHA in the diet of dairy cows has increased the concentration of antioxidants in milk.

Materials and Methods: 45 ewes were selected while were in the last two months of pregnancy and randomly assigned to three treatments, including control (first treatment) second treatment which received EPA and DHA supplement and third treatment received a basal diet with one percent calcium fat supplement. Plasma samples were collected to measure glucose, triglycerides, cholesterol, total protein, albumin, globulin, urea nitrogen, non-esterified fatty acids, beta-hydroxybutyrate and antioxidants. The amount of milk production and milk composition were also determined.

Results and Discussion: There was a significant difference in birth weight between different treatments. In a study conducted on dairy cows in the last weeks of gestation with long-chain unsaturated fatty acids, the birth weight of calves born on long-chain unsaturated fatty acid supplementation was significantly different compared to other treatments. In another study, the birth weight of lambs whose mothers received fat supplement was not significantly different from the control group. Plasma concentrations of glucose, non-esterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate were significantly different between treatments. Supplementation of ewes in the last two months of pregnancy with eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid fatty acids increased glucose and decreased non-esterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate compared to other treatments, which releases fatty acids from the tissue to reduce energy balance to provide the energy needed for breastfeeding. In a study it was

1- PhD Student of Animal Nutrition, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
2- Professor of Animal Sciences Department, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
([*]Corresponding Author: h_aliarabi@yahoo.com)

found that addition of trans fats to the diets of pregnant cows reduced glucose levels and increased NEFA, possibly due to increased circulating fat. There was no significant difference in the amount of blood metabolites such as triglycerides, cholesterol, total protein and urea between treatments.

Milk production in 3 hours showed a significant difference between treatments, as EPA and DHA supplemented group produced more milk than other groups, which can be attributed to the higher amount of blood glucose in this treatment. Experimental diets had no effect on the amount of protein, fat and total SNF of milk. It was also observed that consumption of 18 mg per kg metabolic body weight during pregnancy did not show any change in milk parameter.

The use of EPA and DHA supplements in the diet of pregnant ewes increased the total antioxidant capacity of milk and colostrum. Omega-3 fatty acids reduce the effect of free radicals. In this way, omega-3 fatty acids may increase the level of catalase in the peroxisomes and cytoplasm and, thus, improve the defense against free radicals.

Conclusion: The use of EPA and DHA supplementation in pregnant ewes caused significant changes in the birth weight of lambs, milk production and the amount of antioxidant production in milk and colostrum. It also altered glucose, non-esterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate in the plasma metabolite on lambing in ewes.

Keywords: Beta-hydroxy butyrate, Calcium fats, Non-esterified fatty acids

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی
جلد۱۵، شماره۱، بهار۱٤۰۲، ص ۷۵-٦۵

اثر ایکوزاپنتانوییک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید بر فراسنجه‌های خونی، تولید و ترکیبات شیر میش در اواخر آبستنی

مهرانگیز عباسی[۱]، حسن علی عربی[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۹
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۷/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۱۶

چکیده

هدف بررسی مقایسه استفاده از مکمل ایکوزاپنتانوییک اسید[۲] و دوکوزاهگزانوئیک اسید[۳] و چربی‌های کلسیمی در دو ماه آخر آبستنی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون میش، میزان و ترکیبات شیر و وزن بره‌های متولد شده بود. از مهم‌ترین اثرات مکمل EPA,DHA در میش‌های آبستن افزایش وزن تولد بره و افزایش تولید شیر می‌باشد. بدین منظور ۴۵ رأس میش که قبلاً همزمان‌سازی شده بودند در دو ماه آخر آبستنی به سه گروه ۱۵ رأسی تقسیم شدند. تیمارها عبارت بودند از: ۱) شاهد فقط جیره پایه دریافت کرد، ۲) جیره پایه به همراه دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA (۴۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی)، ۳) دریافت‌کننده یک درصد از ماده خشک مکمل چربی کلسیمی به همراه جیره پایه. وزن تولد بره‌ها، فراسنجه‌های پلاسما در میش در روز زایش شامل گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، اوره، مجموع پروتئین کل، بتاهیدروکسی بوتیرات و اسیدهای چرب غیر استریفیه اندازه‌گیری شدند. میزان تولید شیر در سه ساعت (جدا کردن سه ساعت میش از بره و اندازه‌گیری مقدار شیر) و ترکیبات شیر نیز بررسی گردید. وزن تولد در بره‌های دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA نسبت به تیمارهای دیگر به‌طور معنی‌دار بالاتر بود. مقدارگلوکز در خون میش‌های دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA در روز زایمان نسبت به دو گروه دیگر به‌طور معنی‌دار بیشتر بود و در مقابل، مقدار بتاهیدروکسی بوتیرات و اسیدهای چرب غیر استرفیه کاهش معنی‌داری نشان داد و در دیگر متابولیت‌های پلاسما روز زایش میش (بعد از تولد بره) هیچ تغییری دیده نشده است. میزان تولید شیر در تیمارهای شاهد (بدون مکمل) و تیمار دریافت‌کننده مکمل چربی کلسیمی نسبت به گروه دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA به‌صورت معنی‌دار کمتر بود. در ترکیبات شیر تولیدی بین تیمارهای مختلف هیچ تفاوتی دیده نشد. به‌طور کلی، دریافت حدود ۴۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن متابولکی میش از مجموع EPA,DHA در دو ماه آخر آبستنی باعث بهبود وزن تولد بره، کاهش تولید بتاهیدروکسی بوتیرات و اسیدهای چرب غیر استرفیه در هنگام زایمان در میش و افزایش شیر تولیدی شد.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب غیر استرفیه، بتاهیدروکسی بوتیرات، چربی‌های کلسیمی

۱- دانشجوی دکتری تغذیه دام، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۲- استاد، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: h_aliarabi@yahoo.com)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.74963.1064

۲- Eicosapentaenoic acid) EPA)
۳- Docosahexaenoic acid(DHA)

مقدمه

مطالعات انجام شده در دام آبستن نشان داده شده است که اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیر در بهبود عملکرد دام متولد شده مؤثر هستند(Nickles, Hamer, Coleman, & Relling, 2019). تغذیه در اوخر دوران آبستنی برای رشد کافی داخل رحمی اهمیت دارد و بر فیزیولوژی، سلامت و متابولیسم فرزندان تأثیر به‌سزایی می‌گذراد (Reynolds, Cannon, & Loerch, 2006). اسیدهای چرب نقش مهمی در رشد جنین، بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم لیپید و متابولیسم انرژی در پستانداران ایفا می‌کنند(Palmquist, McClure, & Parker, 1977)

یکی از منابع مهم در تغذیه دام چربی‌ها می‌باشند که در این بین، اسیدهای چرب به‌عنوان منبع انرژی، نسبت به سایر مواد مغذی قابل متابولیسم انرژی بیشتری تولید می‌کنند(Clarke, 2001) و در بین اسیدهای چرب امگا ۳ ایکوزاپنتانوییک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) نه تنها تولید انرژی می‌کنند، بلکه بیواکتیو بوده و می‌توانند با افزایش رونویسی ژن‌های تجزیه‌کننده چربی (لیپولپتیک) و کاهش رونویسی ژن‌های دخیل در ساخت چربی (لیپوژنیک)، فیزیولوژی و متابولیسم انرژی را تغییر دهند (Clarke, 2001). همچنین این دو اسید چرب به‌دلیل خاصیت ضدالتهابی برای سلامت پستانداران مفید می‌باشند(Farina et al., 2015). گزارش شده است، استفاده از مکمل اسیدهای چرب امگا سه در دوران آبستنی در خوک (Tanghe & De Smet, 2013) و گاو شیری تأثیر مثبت بر دام‌های متولد شده داشته است (Gallardo et al., 2014; Garcia et al., 2014). همچنین نتایج آزمایشات نشان داده‌اند که تغذیه مناسب میش در دوران آبستنی منجر به سازگاری رشد جنین می‌شود که فیزیولوژی و متابولیسم بره‌ها را تغییر می‌دهد (Peñagaricano, Wang, Rosa, Radunz, & Khatib, 2014; Roque-Jiménez et al., 2021). طبق تحقیقات صورت گرفته در گوسفندان سطح و منبع انرژی در دوران آبستنی بر عملکرد بره‌ها تأثیر می‌گذارد(A. Relling & Reynolds, 2007; Reynolds et al., 2006) ، ترکیب جیره با EPA و DHA در دوران آبستنی میش باعث تأثیر مثبت بر تولید شیر و رشد بره‌ها بوده است (J. Capper, Wilkinson, Mackenzie, & Sinclair, 2007; J. L. Capper, Wilkinson, Mackenzie, & Sinclair, 2006).

آنتی‌اکسیدانت‌ها به دفاع از بدن در برابر رادیکال‌های آزاد که مسئول ایجاد بیش از ۱۰۰ بیماری هستند، کمک می‌کنند. از جمله مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌توان به رتینول (ویتامین A)، کاروتنوئیدها، توکوفرول (ویتامین E)، اسید آسکوربیک، اسید بوتیریک، EPA و DHA اشاره کرد(Puppel et al., 2012). ترکیبات اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیر، دارای قدرت آنتی‌اکسیدانتی بالایی هستند(Puppel et al., 2012) به‌طوری‌که مطالعات نشان دادند که EPA,DHA ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی برابری نسبت به ویتامین‌ها دارند (Puppel et al., 2016). همچنین گزارش شده است که افزودن مکمل EPA,DHA در جیره گاوهای شیری منجر به افزایش غلظت آنتی‌اکسیدانت در شیر شده است، در تحقیقی مشابه، استفاده از روغن ماهی و جلبک دریایی در جیره گاوهای شیری باعث افزایش غلظت آنتی‌اکسیدانت در پلاسما و شیر شد(Puppel et al., 2016).

مدیریت تغذیه در یک سوم آخر آبستنی بر عملکرد بره و پاسخ‌های فیزیولوژیکی از طریق اثرات برنامه‌ریزی جنین تأثیر خواهد گذاشت، در یک سوم آخر آبستنی زمانی که افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیر در گردش خون جنین رخ می‌دهد، در نتیجه تغذیه مادر در اواخر آبستنی تأثیر مستقیمی بر رشد داخل رحمی جنین خواهد داشت(Roque-Jiménez et al., 2021).

لذا با توجه به اثرات مثبت EPA و DHA بر رشد و تکامل جنین، عدم اطلاع از تأثیر این دو اسید چرب بر وزن تولد بره در نژادهای ایرانی، پایین بودن مقدار تولید شیر در میش‌های نژاد مهربان مطالعه حاضر طراحی و اجرا شد تا اثرات استفاده از این دو اسید چرب بیواکتیو در جیره میش در اواخر آبستنی بر وزن تولد، تغییرات متابولیکی و تولید و ترکیب شیر بررسی شود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در ایستگاه تحقیقاتی دامپروری گروه علوم دامی دانشگاه بوعلی سینا انجام شد. بدین منظور ۶۰ رأس میش دو ساله نژاد مهربان با دامنه وزن(۳± ۶۳) در ۱۵ اسفند سال ۱۳۹۸ اسفنج‌گذاری شد و در ۲۹ اسفند بعد از گذشت ۱۴ روز تزریق هورمون پروژسترون و قوچ‌اندازی با قوچ مهربان انجام شد. تغذیه و نگهداری میش‌های آبستن تا قبل از شروع طرح به‌صورت گروهی و به‌صورت چرای در مرتع بود، قبل از شروع طرح دام‌ها سونوگرافی با دستگاه سونوگرافی مخصوص دام سبک (importvet) با فرکانس ۳/۵ مگاهرتز از آبستنی دام‌ها اطمینان حاصل شد. در دو ماه انتهای دوره آبستنی ۴۵ رأس میش آبستن انتخاب شدند و به‌طور تصادفی در سه تیمار با ۱۵ تکرار قرار داده شدند. تیمار اول جیره پایه (جدول ۱) بدون هیچ‌گونه مکملی را دریافت کردند. تیمار دوم با جیره پایه به همراه مکمل (اپتیمیت از شرکت گلبار نوید بهار) به‌میزان یک درصد از ماده خشک به‌میزان دریافت ۴۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی میش (EPA و DHA) تغذیه شدند. مقدار مکمل EPA,DHA محاسبه و با جیره پایه ترکیب شد. تیمار سوم خوراک پایه به همراه یک درصد ماده خشک خوراک مکمل چربی کلسیمی پرشیا فت دریافت کردند. پروفایل اسیدهای چرب مکمل‌ها در جدول ۲ ارائه شده است.

گوسفندان به‌صورت انفرادی نگهداری و تغذیه می‌شدند. جهت بررسی وزن تولد، همه‌ی بره‌ها در روز تولد وزن شدند. از تمامی میش‌ها

در روز زایش از ورید وداج خون‌گیری انجام شد. پلاسمای نمونه‌ها خون گرفته شده تا زمان اندازه‌گیری پارمترهای مورد بررسی در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از پلاسمای نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین، نیتروژن اوره‌ای و آنتی اکسیدانت استفاده شد. میزان گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، پروتئین کل، آلبومین، نیتروژن اوره‌ای با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و با دستگاه اتو آنالایزر انجام شد.

همچنین مقدار اسیدهای چرب غیر استریفیه و بتاهیدروکسی بوتیرات با روش آنزیمی از طریق کیت‌های اختصاصی (UK, Randox) برآورد شد. برای اندازه‌گیری ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانتی پلاسما خون، آغوز و شیر از روش مرسوم به FRAP (توان احیاکنندگی آهن فریک پلاسما) استفاده شد (Benzie & Strain, 1996). ۱۰ روز پس از زایش ابتدا تمامی بره‌ها توزین گردیدند و از مادران خود جدا شدند و پس از سه ساعت دوباره در کنار مادران خود قرار داده شدند و به‌مدت ۳۰ دقیقه در کنار مادران خود قرار گرفتند و دوباره وزن شدند، اختلاف وزن بره‌ها قبل و بعد از خوردن شیر تولیدی در سه ساعت مشخص شد (Ayar, Sert, & Akın, 2009). همچنین ترکیبات شیر با استفاده از دستگاه میلکواسکن (Milko Scan 133B, N.FOSS Electric.denmark; AOAC, 2002) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جدول ۱– اجزاء و ترکیب شیمیایی مواد خوراکی در جیره پایه

Table 1- Ingredients and chemical composition of feeds in the basal diet

	اجزای جیره Diet components				جیره پایه Basal diet
	یونجه خشک Alfalfa (38%)	کاه گندم Wheat straw (25%)	دانه جو Barley (21%)	سبوس گندم Wheat bran (16%)	
ماده خشک (درصد) Dry matter (percentage)	92	92.3	89	90.2	91.15
ماده آلی (درصد ماده خشک) Organic matter (percentage of dry matter)	91.6	93.6	94.9	93.4	93.08
پروتئین خام (درصد ماده خشک) Crude protein (percentage of dry matter)	14.91	4.61	10.5	16	11.58
عصاره اتری (درصد ماده خشک) Ethere extract (percentage of dry matter)	1.78	1.8	1.6	1.82	1.75
ان-دی-اف (درصد ماده خشک) NDF (dry matter percentage)	50.4	57.8	20.7	49.3	45.83
ای-دی-اف (درصد ماده خشک) ADF (dry matter percentage)	36	50.23	7	11.53	29.55
خاکستر (درصد ماده خشک) Ash (percentage of dry matter)	8.4	7.02	5.1	6.6	7.07
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم)[۱] Metabolizable energy (megacaloriey per kilogram) 1	2.1	1.5	3	2.5	2.20
کلسیم (درصد ماده خشک) Calcium (percentage of dry matter)	1.88	0.05	0.05	0.13	0.75
فسفر (درصد ماده خشک) Phosphorus (percentage of dry matter)	0.29	0.06	0.32	0.77	0.31

[۱] انرژی قابل متابولیسم مطابق با ان‌آرسی (۲۰۰۷) محاسبه شد.

[1] Metabolizable energy was calculated according to NRC (2007)

جدول ۲- پروفایل اسیدهای چرب مکمل‌های چربی

Table 2- Profile of fatty acids in the fat supplements

اسید چرب Fatty acid	پروفایل اسید چرب (درصد) Fatty acid profile (%) مکمل ایکوزاپنتانوییک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید (٪) EPA and DHA supplement	مکمل چربی کلسیمی (٪) Calcium fat supplement
C14:0	5.13	1
C16:0	15.19	28.2
C16:1 cis-9	4.215	3.123
C18:0	4.12	5.05
C18:1 cis-9	26.16	25.07
C18:2 n-6	8.08	29.45
C18:3 n-3	2.01	3.01
C18:4 n-3	3.18	0.51
20:0	0.24	0.13
20:5 n-3	4.69	0.05
22:5 n-3	0.99	0.2
22:6 n-3	4.201	0.1
سایر اسیدهای چرب	21.80	4.1

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و ۱۵ تکرار انجام شد. کلیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه (۹/۴) و رویه GLM تجزیه و تحلیل شـد. برای صـفات مورد بررسـی در میش‌ها و بره‌ها از یک مدل آماری استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

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

در این مدل، Y_{ij}: مقدار هر مشـاهده، μ: میانگین صـفت مورد مطالعه، T_i: اثر تیمار و e_{ij}: اثر خطای آزمایشی بود.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به وزن تولد بره‌ها، جنسـیت و تعداد بره در جدول ۳ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می شود، اختلاف معنی‌داری (P<0.0001) در وزن تولد بین تیمارهای مختلف وجود داشـت، به‌طوری‌که بره‌های متولد شده از تیمارهای دریافت‌کننده مکمل EPA و DHA نسبت به گروه شاهد و دریافت‌کننده چربی کلسیمی وزن تولد بیشـتری داشـتند، اختلاف وزن تولد بین تیمارها به‌طور میانگین ۱/۱۷ کیلوگرم بود. در مورد اثرات مکمل اسـیدهای چرب غیر اشـباع بلند زنجیر در اواخر آبسـتنی میش نتایج متفاوتی گزارش شـده است، به‌طوری‌که در مطالعه‌ای که در هشـت هفته آخر آبسـتنی بر روی میش های تغذیه شـده با مکمل ایکوزاپنتانوییک اسـید و دوکوزاهگزانوئیک اسـید انجام شـد، وزن تولد بره‌های آن‌ها با دیگر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشـت (Coleman, Rivera-Acevedo, and Relling, 2018)، در مطالعه دیگری که در گاو شـیری در هفته‌های آخر آبستنی انجام شد، وزن تولد گوساله‌ها تحت تأثیر مکمل اسـیدهای چرب غیراشـباع بلند زنجیر قرار گرفت (Garcia et al., 2014) روکوجیمز و همکاران (۲۰۲۱) (Roque-Jiménez et al., 2021)بیان کردند که در مراحل قبل از تولد اسـیدهای چرب نقش مهمی در رشـد و تمایز سـلول بین محیط‌های متابولیک و غدد ایفا می‌کنند. به‌طوری‌که اسیدهای چرب به‌سیگنال‌های مولکولی که اشتها و متابولیسـم انرژی را تنظیم می‌کنند، کمک می‌کنند. علاوه‌براین اسـیدهای چرب به‌عنوان حسـگرهای متابولیکی در تنظیم ژن‌های درگیر در اکسیداسیون چربی و ذخیره انرژی شرکت می‌کنند، بنابراین تصور می شود دریافت کافی و متعادل اسیدهای چرب در مراحل آخر آبسـتنی بر رشـد، نمو جنین و وزن تولد تأثیر بگذارد(Roque-Jiménez et al., 2021). همچنین گزارش شده است که اسیدهای چرب در فسفولیپیدهای غشایی نقش دارند و نقش مهمی در رشد و نمو قبل از تولد دارند(Kabaran and Besler, 2015). هر چند در برخی گزارشات بیان شده است که وزن تولد بره‌ها (Capper et al., 2006) و گوساله‌های(Puppel et al., 2012) متولد شده از مادرانی که مکمل چربی دریافت کرده بودند نسـبت به گروه شـاهد تفاوت معنی‌داری نداشته است.

جدول ۳- تأثیر مکمل چربی بر عملکرد تولید مثل

Table 3- Effect of fat supplementation on lamb birth

	تیمارهای آزمایش ۲ Experimental treatments			خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	مقدار احتمال P-Valu
	شاهد control	مکمل ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید EPA and DHA	مکمل چربی کلسیمی Fat calcium		
وزن تولد Birth weight	3.88[b]	5.04[a]	3.87[b]	0.0409	<0.0001
تعداد بره متولد شده Number of lambs born	16	15	15	-	-
تعداد بره نر متولد شده Number of male lambs	8	8	7	-	-
تعداد بره ماده متولد شده Number of female lambs	8	7	8	-	-
تعداد دوقلوزایی Number of twins	1	0	0	-	-

[۱] حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است.

[۲] ۱- شاهد ۲- تیمار دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA در دو ماه آخر آبستنی ۳- تیمار دریافت‌کننده مکمل چربی کلسیمی در دو ماه آخر آبستنی.

[1] Means with different superscript letters in each row indicate significant difference ($P \leq 0.05$).

[2] 1- Control treatment 2- EPA, DHA supplemented group from last two months of pregnancy 3- Fat supplemented group in the last two months of pregnancy.

نتایج مربوط به متابولیت‌های پلاسمای میش‌ها در روز زایش در جدول ۴ ارائه شده است. غلظت گلوکز، اسیدهای چرب غیر استرفیه و بتاهیدروکسی بوتیرات در پلاسما بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۱). به‌طوری که استفاده از اسیدهای چرب ایکوزاپنتانوییک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید باعث افزایش مقدار گلوکز نسبت به دیگر تیمارها و به دنبال آن کاهش اسیدهای چرب غیر استریفیته و بتاهیدروکسی بوتیرات در مقایسه با تیمارهای دیگر گردید. در سایر متابولیت‌های خون شامل تری‌گلیسرید، کلسترول، پروتئین کل و اوره هیچ تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها دیده نشد. افزایش گلوکز و کاهش سطح NEFA و بتاهیدروکسی‌بوتیرات مشاهده شده در تحقیق حاضر با نتایج افزودن چربی به جیره گاوهای آبستن که باعث افزایش سطح گلوکز خون و کاهش سطح NEFA و بتاهیدروکسی بوتیرات گردید، همخوانی داشت (Relling, Loerch, & Reynolds, 2010). در مقابل، در تحقیق دیگر مصرف چربی‌های عبوری در جیره گاوهای آبستن باعث کاهش سطح گلوکز و افزایش NEFA گردید، که احتمالاً به‌دلیل افزایش گردش چربی در گردش خون می‌باشد (Reynolds et al., 2006). احتمالاً دلیل افزایش سطح گلوکز، کاهش سطح بتاهیدروکسی بوتیرات و اسیدهای چرب غیراسترفیه به‌علت افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب با مکمل EPA وDHA که باعث حفظ سطح گلوکز و کاهش NEFA می‌گردد، می‌باشد (Capper et al., 2006). اکسیداسیون اسیدهای چرب با مکمل EPA و DHA افزایش می‌یابد، بنابراین گلوکز حفظ می‌شود و مقدار بتاهیدروکسی بوتیرات کاهش پیدا می‌کند (Coleman et al., 2018). لذا وزن تولد بیشتر که در تیمارهای دریافت‌کننده EPA و DHA مشاهده شده است را شاید بتوان به افزایش گلوکز و کاهش سطح NEFA و بتاهیدروکسی‌بوتیرات نسبت داد، به‌طوری‌که این متابولیت‌های مادر بر رشد جنین بسیار موثر می‌باشد و اگرچه به لحاظ کمّی، اسیدهای چرب فرار به‌عنوان مهم‌ترین سوبستراها برای متابولیسم اکسیداتیو در نشخوارکنندگان می‌باشند، امّا هموستازی گلوکز به‌عنوان سوخت اصلی مورد استفاده در بافت عصبی می‌باشد. تصور می‌شود که تغییرات هورمونی در نشخوارکنندگان در شرایط مختلف متابولیکی به‌خاطر نیاز به حفظ هموستازی گلوکز باشد، بر اساس یافته‌های پژوهشی NEFA و اجسام کتونی باعث می شوند تا گلوکز به مصرف سوخت و ساز بدن جنین و ساخت لاکتوز برای تولید شیر برسد (Herdt, 2000). عدم تفاوت معنی‌دار در تری‌گلیسرید، کلسترول، پروتئین کل و اوره موافق با تحقیق استفاده از ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید در جیره اواخر آبستنی میش بود (Coleman et al., 2018) و مخالف با نتایج مصرف روغن ماهی در جیره انتهای دوره آبستنی میش بود (Rosa-Velazquez, Jaborek, Pinos-Rodriguez, & Relling, 2021). نتایج این

بخش نشان داد که استفاده از مکمل EPA و DHA در جیره میش باعث افزایش سطح گلوکز خون در روز زایش شده که خود موجب کاهش معنی‌دار سطح بتاهیدروکسی بوتیرات و اسیدهای چرب غیراستریفیه گردید.

جدول ٤- تأثیر مکمل چربی بر متابولیت‌های پلاسما میش روز زایش

Table 4- Effect of fat supplementation on ewes Plasma metabolites on parturation

متابولیت‌های پلاسما Plasma metabolites	تیمارهای آزمایش ۲ Experimental treatments			خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	P_value
	شاهد Control	مکمل ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید EPA and DHA	چربی کلسیمی Calcium fat		
گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر) Glucose (mg/dl)	65.49[b]	71.09[a]	66.15[b]	0.8969	<0.0001
تری‌گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر) Triglycerides (mg/dL)	32.76	32.32	33.12	0.6367	0.6176
کلسترول(میلی گرم بر دسی لیتر) Cholesterol (mg/dL)	47.87	47.56	47.78	0.7264	0.9712
پروتین کل(گرم در دسی لیتر) Total protein (g/dL)	8.05	7.85	7.70	0.1820	0.4142
اوره (میلی گرم بر دسی لیتر) Urea N (mg/dL)	16.20	16.08	17.33	0.3989	0.0599
اسیدهای چرب غیراستریفه (میلی مول بر لیتر) NEFA (Mmol/l)	0.45[a]	0.32[b]	0.44[a]	0.0986	<0.0001
بتاهیدروکسی بوتیرات (میلی مول بر لیتر) BHBA (Mmol/l)	0.42[a]	0.36[b]	0.41[a]	0.0638	<0.0001

[1] حرف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($P<0.05$).

[2] ۱- شاهد ۲- تیمار دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA دو ماه آخر آبستنی ۳- تیمار دریافت‌کننده مکمل چربی کلسیمی در دو ماه آخر ابستنی.

[1] Means with different superscript letters in each row indicate significant difference ($P\leq0.05$).

[2] 1- Control treatment 2- EPA, DHA supplemented group from last two months of pregnancy 3- Fat supplemented group in the last two months of pregnancy.

مقدار تولید شیر طی سه ساعت بین تیمارها تفاوت معنی‌داری ($P<۰/۰۰۰۱$) را نشان داد (جدول ۵). به‌طوری که تیمار های دریافت‌کننده مکمل EPA و DHA نسبت به شاهد و مکمل چربی کلسیمی، شیر بیشتری تولید کردند. این تفاوت را می‌توان به بالا بودن مقدار گلوکز و وضعیت انرژی در این تیمار نسبت داد. این نتایج مطابق با نتایج تحقیقی که در هشت هفته انتهای آبستنی میش از روغن ماهی در جیره استفاده کرده بودند، می‌باشد (Capper et al., 2007). هرچند این نتیجه با تحقیقی که در دو ماه آخر آبستنی میش از مکمل EPA و DHA خالص استفاده کرده بودند، همخوانی نداشت (Coleman et al., 2018). شیر تصحیح شده بر اساس چهار درصد چربی و ترکیبات شیر تفاوت معنی‌داری را در تیمارهای مختلف با یکدیگر نشان ندادند. این نتایج با نتیجه گزارش شده توسط کلمن و همکاران (۲۰۱۸) (Coleman et al., 2018)که در آن مصرف ۱۸ میلی گرم مکمل EPA,DHA به‌ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی میش در دوران آبستنی هیچ اثری بر فاکتورهای شیر نداشت، همخوانی داشت (Coleman et al., 2018). در تحقیقی استفاده از روغن ماهی باعث کاهش چربی شیر(Mattos et al., 2004) و همچنین در مطالعه دیگر استفاده از جلبک دریایی باعث عدم تغییر در چربی شیر(Offer, Marsden, & Phipps, 2001) شده است. نتایج متفاوتی در مورد اثرات مکمل EPA,DHA بر چربی شیر گزارش شده است که شاید یکی از دلایل آن استفاده از ترکیبات متفاوت جیره (مقدار علوفه، ترکیبات کنسانتره) در مطالعات مختلف باشد که این موضوع خود بر مسیر بیوهیدروژناسیون چربی در شکمبه تأثیرگذار است(Bauman & Griinari, 2003). برخی محققان اظهار داشته‌اند که غلظت NEFA خون نشان‌دهنده میزان بسیج چربی از ذخایر بدنی می‌باشد، به‌طوری‌که کاهش نرخ بسیج اسیدهای چرب از بافت چربی ممکن است باعث افزایش مصرف خوراک، ثبات متابولیسم چربی در کبد و کاهش تولید اجسام کتونی در کبد شود که در نهایت، می‌تواند باعث افزایش تولید شیر گردد(McNAMARA, 1997).

جدول ۵- تأثیر مکمل چربی بر تولید و ترکیب شیر

Table 5- The effect of fat supplementation on milk production and composition

تولید شیر Milk production	تیمارهای آزمایش[۲] Experimental treatments شاهد Control	 ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید EPA and DHA	 چربی کلسیمی Calcium fat	خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	مقدار احتمال P-Value
تولید شیر در سه ساعت (گرم) Milck production in three hours(gr)	78.50[b]	92.12[a]	77.37[b]	1.1482	<0.0001
چربی شیر Milk fat (%)	9.08	9.13	9.27	0.3336	0.9615
پروتئین شیر Milk protein,	3.78	3.50	3.60	0.2503	0.1000
مواد جامد بدون چربی Sold non fat	10.14	10.27	10.36	0.4218	0.8131
شیر تصیح شده بر اساس چهار درصد چربی FCM[3]	1.083	1.317	1.102	0.1319	0.6121

[۱] حرف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است (P<0.05).

[۲] ۱- شاهد ۲- تیمار دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA دو ماه آخر آبستنی ۳- تیمار دریافت‌کننده مکمل چربی کلسیمی در دو ماه آخر آبستنی.

[1] Means with different superscript letters in each row indicate significant difference (P≤0.05).

[2] 1 -Control treatment 2- EPA, DHA supplemented group from last two months of pregnancy 3- Fat supplemented group in the last two months of pregnancy.

[3] Fat–corrected Milk

اســـتفاده از مکمل EPA,DHA در جیره میش آبســـتن باعث افزایش ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانتی شیر و آغوز شد (جدول ۶)، که این نتایج با مشاهدات افزودن مکمل EPA وDHA به جیره اواخر آبستنی گاو نیز مطابقت دارد (Puppel et al., 2016). ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اســید به‌عنوان آنتی‌اکســیدانت طبیعی هســتند که به‌طور مستقیم از خوراک وارد شیر می‌شوند (Puppel et al., 2016). اسیدهای چرب امگا سه اثر رادیکال‌های آزاد را تعدیل می‌کنند. به این صورت که ا سیدهای چرب امگا سه ممکن ا ست سطح کاتالاز را در پراکســـی‌زوم‌ها و ســـیتوپلاســـم افزایش دهند و بنابراین، موجب بهبود دفاع در برابر رادیکال‌های آزاد شوند (Garcia et al., 2014).

جدول ٦- تأثیر مکمل چربی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانتی (umol Fe^{2+}/L) شیر و آغوز

Table6- The effect of fat supplementation on the antioxidant activity (umol Fe^{2+} / L) of milk and colostrum

فعالیت آنتی‌اکسیدانتی Antioxidant activity	تیمارهای آزمایش [۲] Experimental treatments شاهد Control	 مکمل ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید EPA and DHA	 چربی کلسیمی Calcium fat	خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	P_value
آغوز Colostrum	2057.63[b]	2389.38[a]	2012.92[b]	49.74	<0.0001
شیر Milk	2061.63[b]	2394.43[a]	2023.74[b]	57.04	0.0002

[۱] حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (P<0.05).

[۲] ۱- شاهد ۲- تیمار دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA دو ماه آخر آبستنی ۳- تیمار دریافت‌کننده مکمل چربی کلسیمی در دو ماه آخر آبستنی.

[1] Means with different superscript letters in each row indicate significant difference (P≤0.05).

[2] 1- Control treatment 2- EPA, DHA supplemented group from last two months of pregnancy 3- Fat supplemented group in the last two months of pregnancy.

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از مکمل EPA,DHA در اواخر بارداری میش باعث تغییرات معنی‌دار در وزن تولد بره ها، تولید شیر و سطح تولید آنتی‌اکسیدانت در شیر و آغوز شد. استفاده از این مکمل تأثیری بر ترکیبات شیر در روز زایش نداشت، ولی باعث تغییر گلوکز، اسیدهای چرب غیراستریفته و بتاهیدورکسی بوتیرات در متابولیت پلاسما روز زایش در میش شد.

References

1. Ayar, A., Sert, D., & Akın, N. (2009). The trace metal levels in milk and dairy products consumed in middle Anatolia—Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment, 152*, 1-12 .
2. Bauman, D. E., & Griinari, J. M. (2003). Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual review of nutrition, 23*(1), 203-227 .
3. Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry, 239*(1), 70-76. 10.1006/abio.1996.0292
4. Capper, J., Wilkinson, R., Mackenzie, A., & Sinclair, L. (2007). The effect of fish oil supplementation of pregnant and lactating ewes on milk production and lamb performance. *Animal, 1*(6), 889-898. DOI: 10.1017/S1751731107000067.
5. Capper, J. L., Wilkinson, R. G., Mackenzie, A. M., & Sinclair, L. A. (2006). Polyunsaturated fatty acid supplementation during pregnancy alters neonatal behavior in sheep. *The Journal of Nutrition, 136*(2), 397-403 .
6. Clarke, S. D. (2001). Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a molecular mechanism to improve the metabolic syndrome. *The Journal of Nutrition, 131*(4), 1129-1132. 10.1152/ajpgi.2001.281.4.G865
7. Coleman, D., Rivera-Acevedo, K., & Relling, A. E. (2018). Prepartum fatty acid supplementation in sheep I. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid supplementation do not modify ewe and lamb metabolic status and performance through weaning. *Journal of Animal Science, 96*(1), 364-374. 10.1093/jas/skx012
8. Farina, G., Cattaneo, D., Lecchi, C., Invernizzi, G., Savoini, G., & Agazzi, A. (2015). A review on the role of EPA and DHA through goat nutrition to human health: could they be effective both to animals and humans? *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research, 2*(2), 1-5 .
9. Gallardo, B., Gómez-Cortés, P., Mantecón, A., Juárez, M., Manso, T., & De La Fuente, M. (2014). Effects of olive and fish oil Ca soaps in ewe diets on milk fat and muscle and subcutaneous tissue fatty-acid profiles of suckling lambs. *Animal, 8*(7), 1178-1190. 10.1017/S1751731114000238
10. Garcia, M., Greco, L., Favoreto, M., Marsola, R. S., Wang, D., Shin, J. h., Block, E., Thatcher, W. W., Santos, J. E. P., & Staples, C. R. (2014). Effect of supplementing essential fatty acids to pregnant nonlactating Holstein cows and their preweaned calves on calf performance, immune response, and health. *Journal of Dairy Science, 97*(8), 5045-5064. 10.3168/jds.2013-7086
11. Herdt, T. H. (2000). Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 16*(2), 215-230. 10.15406/jdvar.2015.02.00027.
12. Kabaran, S., & Besler, H. T. (2015). Do fatty acids affect fetal programming? *Journal of Health, Population and Nutrition, 33*(1), 1-9. 10.1186/s41043-015-0018-9
13. Mattos, R., Staples, C., Arteche, A., Wiltbank, M., Diaz, F., Jenkins, T., & Thatcher, W. (2004). The effects of feeding fish oil on uterine secretion of PGF2α, milk composition, and metabolic status of periparturient Holstein cows. *Journal of Dairy Science, 87*(4), 921-932. 10.1016/S0377-8401(03)00165-2
14. McNAMARA, J. P. (1997). Adipose tissue metabolism during lactation: where do we go from here? *Proceedings of the Nutrition Society, 56*(1A), 149-167 .
15. Nickles, K. R., Hamer, L., Coleman, D. N., & Relling, A. E. (2019). Supplementation with eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in late gestation in ewes changes adipose tissue gene expression in the ewe and growth and plasma concentration of ghrelin in the offspring. *Journal of Animal Science, 97*(6), 2631-2643. 10.1093/jas/skz141
16. Offer, N., Marsden, M., & Phipps, R. (2001). Effect of oil supplementation of a diet containing a high concentration of starch on levels of trans fatty acids and conjugated linoleic acids in bovine milk. *Animal Science, 73*(3), 533-540. 10.1017/S1357729800058501.
17. Palmquist, D., McClure, K., & Parker, C. (1977). Effect of protected saturated or polyunsaturated fat fed to pregnant and lactating ewes on milk composition, lamb plasma fatty acids and growth. *Journal of Animal Science, 45*(5), 1152-1159. 10.2527/jas1977.4551152x
18. Peñagaricano, F., Wang, X., Rosa, G. J., Radunz, A. E., & Khatib, H. (2014). Maternal nutrition induces gene

expression changes in fetal muscle and adipose tissues in sheep. *BMC genomics*, *15*, 1-13. 10.1186/1471-2164-15-1034

19. Puppel, K., Kuczyńska, B., Nałęcz-Tarwacka, T., Gołębiewski, M., Sakowski, T., Kapusta, A.,. Balcerak, M. (2016). Effect of supplementation of cows diet with linseed and fish oil and different variants of β-lactoglobulin on fatty acid composition and antioxidant capacity of milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *96*(6), 2240-2248. 10.1002/jsfa.7341
20. Puppel, K., Nałęcz-Tarwacka, T., Kuczyńska, B., Gołębiewski, M., Kordyasz, M., & Grodzki, H. (2012). The age of cows as a factor shaping the antioxidant level during a nutritional experiment with fish oil and linseed supplementation for increasing the antioxidant value of milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *92*(12), 2494-2499. 10.1002/jsfa.5658
21. Relling, A., & Reynolds, C. (2007). Feeding rumen-inert fats differing in their degree of saturation decreases intake and increases plasma concentrations of gut peptides in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science, 90*(3), 1506-1515. 10.3168/jds.S0022-0302(07)71636-3
22. Relling, A. E., Loerch, S., & Reynolds, C. K. (2010). Plasma ghrelin and oxyntomodulin concentrations in lactating dairy cows receiving abomasal soybean oil, corn starch, and casein infusions. *Domestic Animal Endocrinology, 38*(4), 284-288. 10.1016/j.domaniend.2009.12.003
23. Reynolds, C., Cannon, V., & Loerch, S. (2006). Effects of forage source and supplementation with soybean and marine algal oil on milk fatty acid composition of ewes. *Animal Feed Science and Technology, 131*(3-4), 333-357. 10.1016/j.anifeedsci.2006.06.015
24. Roque-Jiménez, J. A., Rosa-Velázquez, M., Pinos-Rodríguez, J. M., Vicente-Martínez, J. G., Mendoza-Cervantes, G., Flores-Primo, A., Relling, A. E. (2021). Role of long chain fatty acids in developmental programming in ruminants. *Animals*, *11*(3), 762. 10.3390/ani11030762
25. Rosa-Velazquez, M., Jaborek, J. R., Pinos-Rodriguez, J. M., & Relling, A. E. (2021). Maternal supply of fatty acids during late gestation on offspring's growth, metabolism, and carcass characteristics in sheep. *Animals*, *11*(3), 719. 10.3390/ani11030719
26. Tanghe, S., & De Smet, S. (2013). Does sow reproduction and piglet performance benefit from the addition of n-3 polyunsaturated fatty acids to the maternal diet? *The Veterinary Journal, 197*(3), 560-569. 10.1016/j.tvjl.2013.03.051

Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1, Spring 2023, p. 77-92

Effect of Encapsulated Organic Acids on Intestinal Microbial population, Blood Parameters, Digestibility of Nutrients, Carcass characteristics and Performance of Broiler Chickens

Zohre Sadeghian[1], Mohammad Kazemi Fard*[2], Mansour Rezaei[3], Seyed Ali Jafarpour[4]

Received: 12-02-2022
Revised: 07-11-2022
Accepted: 08-11-2022
Available Online: 08-11-2022

How to cite this article:
Sadeghian, Z., Kazemi Fard, M., Rezaei, m., & Jafarpour, S.A. (2023). Effect of encapsulated organic acids on intestinal microbial population, blood parameters, digestibility of nutrients, carcass characteristics and performance of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 77-92.
DOI: 10.22067/ijasr.2022.75043.1065

Introduction: Today, livestock and poultry health in an advanced production system is a major challenge affecting human health and the global economy. Antibiotics have been used in poultry nutrition for many years. Chickens are raised with the assistance of the regular use of antibiotics, not only for the prevention and treatment of diseases but, also, for body growth. Overuse and misuse of antibiotics in animals are contributing to the rising threat of antibiotic resistance. In recent years, as a result of increasing concerns about the possibility of developing antibiotic-resistant strains, as well as the fact that they remain in animal tissues and eventually ban their use, the use of compounds such as organic acids, probiotics, prebiotics, enzymes, etc. as safe alternatives have been widely considered in poultry nutrition. Organic acids are a good alternative to antibiotics in poultry diets. These are improving the immune system of broilers by acidifying the gastrointestinal tract and improving the intestinal microflora. Organic acids cross the bacterial membrane; inside the bacterial cell, it produces hydrogen ions and bicarbonate, which eventually increases the acidity. Therefore, they force the bacteria to consume energy in order to keep the acidity constant, which leads to their death. Coating of organic acids prevents its dissociation and digestion in the stomach so that the biological effect of organic acids reaches the distal parts of the gastrointestinal tract and is effective in intestinal microflora and mucosal morphology. This study was performed to investigate the effect of encapsulated organic acids on microbial population, intestinal acidity, blood indices, nutrient digestibility, and viscosity of digestive contents, carcass characteristics and performance of broilers.

Material and Methods: 150 male broiler chickens of Ross 308 commercial strain as one-day-old were allocated in a completely randomized design with 5 treatments, 3 replications and 10 chickens per replicate. Experimental treatments included: 1. Basal diet 2. Basal diet + commercial Organic acid 3. Basal diet + Non-encapsulated organic acid 4. Basal diet + Encapsulated organic acid 5. Basal diet + encapsulated organic acid + Non-encapsulated organic acid. On day 42 of the experiment, one chickens from each experimental unit, which were close to the weight average of that unit, were selected and blood samples were taken from their wing veins. AT 42d, from each replication, a chick with the same weight as the average weight of the experimental unit was taken and their live weight was recorded and slaughtered. Also, from each replication, a chick with a weight similar

1- M.Sc. Graduated of Poultry Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Aquaculture, Sari Agriculture and Natural Resources University (SANRU), Mazandaran, Iran.
2- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Aquaculture, Sari Agriculture and Natural Resources University (SANRU), Mazandaran, Iran.
3- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Aquaculture, Sari Agriculture and Natural Resources University (SANRU), Mazandaran, Iran.
4- Associate Professor, Department of Fisheries Science, Faculty of Animal Science and Aquaculture, Sari Agriculture and Natural Resources University (SANRU), Mazandaran, Iran.
***-**Corresponding Author Email: mo.kazemifard@gmail.com

to the average weight of the experimental unit was selected and their live weight was recorded and slaughtered. Then, different parts of the carcass were weighed by peeling and emptying the viscera. In order to evaluate the microbial population of the intestines of the tested broilers, at the age of 42 days, one chick from each experimental unit was selected with conditions close to the weight average of the relevant unit and after weighing, it was slaughtered. The microbial population of Lactobacillus and gram-positive and gram-negative bacteria were studied.The data were statistically analyzed by statistical software using GLM procedure. The means were compared by Duncan method at the significance level of 0.05%.

Results and Discussion: The result showed that in growth cycle, weight gain during the growth period and the whole period in the treatments containing encapsulated organic acid showed improvement and a significant difference with the control treatment. The addition of organic acids to the diet during the growth period reduced the conversion coefficient compared to the control group. Feed intake in the treatments containing capsular organic acid showed a significant decrease compare to the control group. The acidity of the duodenum and jejunum showed a significant decrease compared to the control group. The addition of encapsulated organic acids significantly reduced the total number of coliforms in the ileum and duodenum and increased the number of lactobacilli in the ileum. Also, experimental treatments increased the apparent digestibility of crude fat compared to the control group. The weight of the lymph nodes (bursa and spleen) also showed a significant increase under the influence of organic acids.

Conclusion: The results of current experimental study showed that the usage of encapsulated organic acids in broiler chicken diets, reduces the acidity of the digestive tract, reduces the intestinal microbial contamination, creates favorable conditions in the digestive system, improves digestibility of the nutrients, and performance of the bird's growing birds.

Keywords: Broiler chickens, Digestibility, Encapsulation, Microbial population, Organic Acid

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد۱۵، شماره۱، بهار۱۴۰۲، ص ۹۲-۷۷

بررسی استفاده از اسیدهای آلی ریزپوشانی شده بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی، جمعیت میکروبی و گوارش‌پذیری مواد مغذی جوجه‌های گوشتی

زهرا صادقیان[۱]، محمد کاظمی فرد[۲]*، منصور رضایی[۳]، سید علی جعفرپور[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۸/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۱۷

چکیده

این پژوهش جهت بررسی اسیدهای آلی ریزپوشانی شده بر جمعیت میکروبی، اسیدیته روده، شاخص‌های خونی، گوارش‌پذیری مواد مغذی، گرانروی محتویات گوارشی، خصوصیات لاشه و عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی انجام شد. تعداد ۱۵۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه سویه تجاری راس ۳۰۸، در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار، سه تکرار و تعداد ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار اختصاص داده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره پایه ۲- جیره پایه + اسید آلی تجاری ۳- جیره پایه + اسید آلی کپسوله نشده ۴- جیره پایه + اسید آلی کپسوله ۵- جیره پایه + اسید آلی کپسوله + اسید آلی کپسوله نشده بودند. افزایش وزن در دوره رشد و کل دوره در تیمارهای حاوی اسید آلی کپسوله بهبود و اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان داد ($P<0.05$). افزودن اسیدهای آلی در دوره رشد سبب کاهش ضریب تبدیل خوراک نسبت به گروه شاهد شد. مصرف خوراک نیز در تیمارهای حاوی اسید آلی کپسوله در دوره پایانی، کاهش معنی‌داری نشان داد ($P<0.05$). مصرف اسید آلی به شکل کپسوله و غیر کپسوله در تیمار پنجم باعث کاهش معنی‌دار pH در دوازدهه و ژژنوم شد ($P<0.05$). افزودن اسیدهای آلی کپسوله، تعداد کلی‌فرم‌ها را در ایلئوم و دوازدهه، کاهش و تعداد لاکتوباسیل‌ها را در ایلئوم نسبت به سایر تیمارها افزایش داد. هم‌چنین، افزودن اسیدهای الی سبب افزایش گوارش‌پذیری ظاهری چربی خام نسبت به شاهد شدند ($P<0.05$). وزن بورس و طحال نیز تحت تأثیر اسیدهای آلی افزایش معنی‌داری یافت ($P<0.05$). بر اساس نتایج این آزمایش، اسیدهای آلی ریزپوشانی شده از طریق افزایش اسیدیته دستگاه گوارش، کاهش جمعیت میکروبی مضر روده و ایجاد شرایط مطلوب در دستگاه گوارش، سبب بهبود گوارش‌پذیری مواد مغذی و عملکرد رشد می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: اسیدآلی، جوجه‌های گوشتی، جمعیت میکروبی، ریزپوشانی، گوارش‌پذیری

۱- فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ساری،ساری، ایران.
۳- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
۴- دانشیار، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: mo.kazemifard@gmail.com)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.75043.1065

مقدمه

امروزه سلامت دام و طیور در سیستم تولید پیشرفته، چالش اصلی تأثیرگذار بر سلامت انسان و اقتصاد جهانی است. آنتی‌بیوتیک‌ها سال‌های زیادی در تغذیه طیور به‌عنوان محرک رشد برای ایجاد ثبات در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش و بهبود عملکرد به‌کار رفته‌اند (Hassan *et al.*, 2010). در سال های اخیر استفاده از برخی آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان محرک رشد باعث ایجاد مشکلات بزرگی برای محیط زیست و سلامتی مصرف‌کنندگان شده‌است (Langhout, 2000; Ghazalah *et al.*, 2011). از این رو، در نتیجه افزایش نگرانی‌ها در مورد امکان ایجاد سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و همچنین به‌واسطه باقی ماندن آن‌ها در بافت‌های حیوانی و در نهایت، ممنوع شدن کاربرد آن‌ها، استفاده از ترکیباتی نظیر اسیدهای آلی، پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌ها و... به‌عنوان جایگزین‌هایی بی‌خطر به‌طور گسترده در تغذیه طیور مورد توجه قرار گرفته است (Mellor *et al.*, 2000; Garcia *et al.*, 2007). در بین این موارد، اسیدهای آلی جایگزین مناسبی برای پادزیست‌ها در جیره ماکیان هستند (Gunal *et al.*, 2006). اسیدهای آلی زنجیره کوتاه (C_1–C_7) و همچنین اسیدهای مونوکربوکسیلیک ساده مانند اسید فرمیک، اسید استیک، اسید پروپیونیک، اسید بوتیریک و یا اسیدهای مونوکربوکسیلیک دارای گروه هیدروکسیل مانند اسید لاکتیک، اسید مالیک، اسید تارتاریک و اسید سیتریک فعالیت ضد میکروبی دارند (Dibner and Buttin, 2002). اسیدهای آلی به شکل اسید خالص (پودر و مایع) و یا به‌صورت نمک (خالص و یا به‌صورت نمک‌های پوشش‌دار) وجود دارند. بسیاری از آن‌ها به‌صورت نمک سدیم، پتاسیم یا کلسیم در دسترس هستند. دلیل استفاده بیشتر از نمک اسیدها این است که آن‌ها به‌طور کلی، بی بو هستند و با توجه به شکل جامد در فرآیند تولید خوراک آسان‌تر استفاده می‌شوند و کم‌تر فرار هستند؛ کم‌تر خورنده هستند و ممکن است در آب قابلیت انحلال بیشتری داشته باشند (Hu and Guo, 2007). اسیدهای آلی با اسیدی کردن دستگاه گوارش و بهبود جمعیت میکروبی روده سبب بهبود پاسخ ایمنی و عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی می‌شوند (Papatsiros *et al.*, 2012). اسیدی کردن جیره سبب غلبه‌ی باکتری‌های مفید مثل *لاکتوباسیلوس*ها بر عوامل بیماریزای موجود در محتویات روده می‌شود (Ghazalah *et al.*, 2011). اسیدهای آلی به‌صورت تفکیک نشده از غشای باکتری‌ها عبور می‌کنند. در داخل سلول باکتری، تفکیک شده و تولید یون‌های هیدروژن و بی‌کربنات می‌نمایند و با افزایش اسیدیته، سلول باکتری را مجبور می‌کنند تا برای توازن طبیعی اسیدیته انرژی مصرف کنند، از طرف دیگر یون -RCOO نیز موجب توقف یا کاهش ساخت DNA و پروتئین شده و در مجموع، رشد باکتری‌های مضر کاهش می‌یابد (Panda *et al.*, 2009). سایر مزایای استفاده از اسیدهای آلی شامل بهبود واکنش آنزیم‌های هضمی، فعالیت فیتاز میکروبی، افزایش ترشح پانکراس و در نهایت، افزایش رشد موکوس روده در حضور اسیدهای آلی به‌خصوص اسیدهای چرب مانند اسید بوتیریک است؛ که در نهایت، منتج به بهبود مصرف مواد مغذی و بهبود عملکرد رشد می‌شود (Papatsiros *et al.*, 2012). همچنین اسیدهای آلی با کاهش اسیدیته دستگاه گوارش منجر به کند شدن سرعت دفع مواد مغذی شده، مدت ماندگاری پروتئین را افزایش داده و در نتیجه، سبب کاهش دفع مواد مغذی نیتروژن‌دار از طریق آمونیاک می‌شود (Garcia *et al.*, 2007). اسیدهای آلی پوشش‌دار نشده‌ای که به خوراک اضافه می‌شوند، به‌آسانی در بخش‌های ابتدایی دستگاه گوارش هضم می‌شوند (Bolton and Dewar, 1965)، درحالی‌که پوشش‌دار کردن اسیدهای آلی از تفکیک و هضم آن در معده جلوگیری می‌کنند تا اثر زیستی اسیدهای آلی به قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش برسد و در جمعیت میکروبی روده و سطح جذبی مؤثر واقع شود (Mroz *et al.*, 2006; Hu and Guo, 2007). ریزپوشانی می‌تواند به‌عنوان یک روش کارآمد برای به تأخیر انداختن تخریب و تجزیه مواد در دستگاه گوارش فوقانی استفاده شود. ریزپوشانی روشی است که در آن ترکیبات هدف توسط دیواره پوشش داده می‌شوند که می‌توانند محتویات خود را تحت شرایط خاص با سرعت کنترل شده‌ای آزاد کنند، در این فرآیند از مواد پلیمری مانند کربوهیدرات‌ها، سلولز، لیپیدها و پروتئین‌ها برای تولید کپسول در محدوده میکرومتر تا میلی‌متر استفاده می‌شود که به‌عنوان ریزپوشانی شناخته می‌شوند (Padmaja and Jyothi, 2012). استفاده از ترکیب اسیدهای آلی ریزپوشانی شده در جیره جوجه‌های گوشتی سبب بهبود عملکرد رشد و جمعیت میکروبی آن‌ها می‌شود (Gauthier *et al.*, 2007). وجود اسیدهای آلی محافظت شده در جیره سبب کاهش محتوای اشرشیاکلی در ایلئوم و افزایش محتوای *لاکتوباسیلوس* در کولون می‌شود که نشان می‌دهد اسیدهای آلی پوشش‌دار اثر بیش‌تری در ایلئوم، روده کور و روده بزرگ دارد (Bosi, 1999). با توجه به اینکه محل اصلی گوارش و جذب مواد غذایی در دوازدهه و ززنوم روده می‌باشد، بهبود رشد و تکامل بافت روده می‌تواند نقش قابل توجهی در بهبود عملکرد رشد پرنده و نیز کاهش بیماری‌ها داشته باشد و از آنجایی که ریزپوشانی سبب رهایش آهسته اسید و بهبود اثر آن‌ها در روده و دستگاه گوارش می‌شود، هدف این پژوهش، بررسی اثر بخشی اسیدهای آلی ریزپوشانی شده بر عملکرد رشد، خصوصیات لاشه، شاخص‌های خونی، جمعیت میکروبی و گوارش‌پذیری مواد مغذی جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۱۵۰ قطعه جوجه خروس سـویه تجاری راس ۳۰۸ [1] در پنج تیمار، سه تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار در قالب طرح کاملاً تصـادفی مورد آزمایش قرار گرفت. دوره پرورش در سـالن مرغداری جوجه گوشـتی واقع در دانشـگاه علوم کشـاورزی و منابع طبیعی سـاری انجام شـد. طول دوره پرورش ۴۲ روز بود. ترکیب تیمارهای آزمایشـی بدین صـورت بود: تیمار ۱: جیره پایه بدون هیچگونه افزودنی به‌عنوان شاهد (T_1)، تیمار ۲: جیره پایه + اسید آلی تجاری (T_2)، تیمار ۳: جیره پایه + اسـیدهای آلی به‌فرم غیر کپسـوله (T_3)، تیمار ۴: جیره پایه + اسیدهای آلی به‌فرم کپسوله (T_4)، تیمار ۵: جیره پایه + اسیدهای آلی به‌فرم کپسوله + اسیدهای آلی به‌فرم غیر کپسوله (T_5). اجزا و ترکیبات شیمیایی جیره غذایی مورد استفاده در دوره پرورش مطابق جدول اسـتاندارد احتیاجات غذایی جوجه خروس ROSS 308 (NRC[2], 1994) تهیه و در جدول (۱) نشان داده شد. از سه نوع جیره آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) استفاده شد. تیمارهای آزمایشی حاوی اسیدهای آلی از روز هشـتم دوره پرورش مورد اسـتفاده قرار گرفت. جیره‌ها بر پایه ذرت و سـویا بوده و با اسـتفاده از برنامه UFFDA[3] تنظیم شـدند. در دوره آزمایش، شـرایط پرورشـی شـامل برنامه نوری، درجه حرارت و رطوبت مطابق پیشـنهادات سـویه راس اجرا شـد. دسـترسـی به آب و خوراک در طی دوره آزمایش آزاد بود. صـفات عملکرد رشـدی شـامل مصـرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضـریب تبدیل خوراک رکوردبرداری شـــدند. در پایان هر دوره، برای تعیین مقدار خوراک مصـــرفی هر واحد آزمایشـــی (پن)، مقدار خوراک باقی‌مانده از مقدار خوراک داده شـده‌ی آن واحد کسـر شـد تا مقدار خوراک مصـرفی هر واحد آزمایشی (پن) به دست آید. جهت ریزپوشانی، اسیدهای آلی مورد نظر، توئین ۸۰ (پلی سوربات ۸۰) و تری‌گلیسرید تهیه شد. برای تهیه کلیه محلول‌ها از آب دیونیزه استفاده شد. ابتدا اسیدهای آلی با آب مقطر (به نسبت ۱:۱) مخلوط نموده تا محلول اسیدی حاصل شود. سـپس محلول را به دمای ۴۰ درجه سـانتی‌گراد رسـانده و به آن پلی سوربات ۸۰ و تری‌گلیسرید به‌همراه همزدن (هموژنایزر) اضافه شد (۲۰ دقیقه، دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، ۶۰ دور در دقیقه). پس از اینکه محلول شفافی حاصل شد، از روش خشک‌کن انجمادی برای به‌دست آوردن پودر استفاده شد. در روز ۴۲ آزمایش از هر واحد آزمایشی (پن) دو قطعه جوجه نزدیک به میانگین وزنی آن واحد انتخاب و خون‌گیری از سـیاهرگ بال آن‌ها انجام شـد. به‌منظور جلوگیری از لخته شـدن خون، آن‌را در لوله‌های آزمایشـگاهی جمع‌آوری و با هپارین مخلوط شدند و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌ها در دستگاه سـانتریفیوژ قرار گرفت و با سـرعت (g) ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه عمل جداسـازی پلاسـما انجام شـد. سـپس پلاسـما که به صورت مایعی شفاف، روی نمونه قرار داشت با استفاده پیپت جدا شده و در ظرف در دار مخصوص جمع‌آوری پلاسمای خون که روی آن شماره تکرار مربوطه درج شده بود تخلیه شد. شاخص‌های خونی از قبیل گلوکز، کلسـترول، تری‌گلیسـرید، HDL-c[4]، LDL-c[5]، AST[6]، ALT[7] با اسـتفاده از کیت‌های پارس آزمون و اسـپکتروفتومتری اندازه‌گیری شـد. برای اندازه‌گیری گوارش‌پذیری چربی خام، پروتئین خام و ماده خشک جیره حاوی ۰/۳ درصد اکسید کروم به مدت ۶ روز (۲۲-۱۷) در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت که سـه روز اول جهت عادت پذیری و سـه روز پایانی از مدفوع و خوراک در هر پن نمونه‌برداری شـد، نمونه فضـولات با الک ۱میلی‌متر الک سـپس در دمای ۷۰ درجه سـانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ سـاعت خشـک شـدند. تمام نمونه‌ها برای تجزیه و تحلیل‌های بیشـتر در ۲۰- درجه سـانتی‌گراد نگه‌داری شـدند. غلظت کروم از طریق دسـتگاه اسـپکتوفتومتر (UV) خوانده شد (Fenton and Fenton, 1979; AOAC, 2006). برای محاسبه گوارش‌پذیری از فرمول زیر استفاده شد:

$$\%\ \text{قابلیت هضم} = \left(1 - \frac{\text{اکسید کرومیک جیره}(\%)}{\text{اکسید کرومیک نمونه فضولات}(\%)} \times \frac{\text{ماده مغذی نمونه فضولات}(\%)}{\text{ماده مغذی جیره}(\%)}\right) \times 100$$

در ۴۲ روزگی از هر تکرار یک جوجه با وزنی مشابه میانگین وزن آن واحد آزمایشـی (پن) انتخاب وزن زنده آن‌ها ثبت شـد و پس از شماره‌گذاری کشتار شدند. پس از پوست‌کنی و تخلیه امعا و احشا، لاشه، سینه، ران، چربی محوطه شکمی، سنگدان، کبد، قلب، طحال و بورس فابرسیوس با ترازوی دیجیتال وزن و به‌صورت درصدی از وزن زنده، بیان شـدند. به‌منظور بررسـی وضـعیت جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشـتی مورد آزمایش، در سـن ۴۲ روزگی از هر واحد آزمایشـی (پن) یک قطعه جوجه با شـرایط نزدیک به میانگین وزنی واحد مربوطه انتخاب و پس از توزین، کشتار شدند. بلافاصله پس از کشتار، حفره شکمی، دستگاه گوارش تخلیه و قسمت‌های دوازدهه، ایلئوم و روده کور از روده کوچک با قیچی اسـتریل جدا کرده و محل بریدگی دو طرف با نخ استریل محکم بسته شد. سپس این نمونه‌ها در داخل ظرف استریل قرار داده شدند. نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه انتقال یافتند تا جمعیت میکروبی *لاکتوباسـیلوس* و باکتری‌های گرم مثبت و منفی شـمارش شـود. نحوه کشـت میکروبی و شـمارش ریزجانداران مورد نظر بدین صـورت بود که: از نمونه‌های اولیه، رقت‌های مختلفی تهیه نموده و از هر رقت بر روی پلیت حاوی محیط

1- ROSS308
2- National Research Council
3- User- Friendly Feed Formulation Program
4- High Density Lipoprotein
5- Low Density Lipoprotein
6- Aspartat Amino Transferase
7- Alanine Amino Transferase

کشـت‌های نوترینت آگار[1]، مکانگی آگار[2] و MRS آگار کشـت داده شـدند (Jang *et al*., 2007) ، روش کار: ابتدا از نمونه‌ها رقت‌های یک تا هفت تهیه شـد. از محلول سـرم فیزیولوژی اسـتریل به‌عنوان رقیق‌کننده، استفاده شد. به این صورت که هفت لوله آزمایش دربدار حاوی نه میلی‌لیتر بافر آماده شـد. با اسـتفاده از پیپت یک میلی‌لیتر از نمونه اولیه که حاوی یک گرم نمونه در نه میلی‌لیتر سـرم فیزیولوژی بود، بردا شته و به لوله شماره ۱ منتقل و کاملاً مخلوط شد. به همین ترتیب از لوله شـماره ۱، یک میلی‌لیتر به لوله شـماره ۲ منتقل و این عمل هفت بار تکرار شد. جهت کشت از رقت چهار و پنج استفاده شد، یعنی به‌مقدار ۰/۱ سی سی از نمونه رقت تهیه شده را در داخل پلیت دارای محیط کشـت مشـخص ریخته و در سـطح محیط پلیت پخش شده و سپس پلیت‌های کشت داده شده را در داخل انکوباتور ۳۷ درجه سـانتی‌گراد قرار داده و بعد از ۴۸ سـاعت پلیت را از انکوباتور خارج نموده و کلنی‌های تشکیل شده شمارش شدند؛ سپس لگاریتم آن‌ها محاسـبه تا لگاریتم تعداد کلنی در واحد وزن (LogCFU/g) به‌دسـت آید (Jang *et al*., 2007). برای تعیین pH محتو یات سـنگدان، دوازدهه، ژژنوم، ایلئوم و سـکوم یک گرم نمونه تازه، بلافاصـله بعد از کشـتار پرنده از قسـمت‌های مذکور نمونه‌برداری شـد و با دو میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شـد و در نهایت، pH با اسـتفاده از دسـتگاه pH متراندازه‌گیری شد (Izat *et al*, 1990). داده‌های به‌دست آمده توسط نرم‌افزار آماری (SAS[3], 2002) و با اسـتفاده از رویه GLM[4] مورد تجزیه آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها به‌روش دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ درصد صورت گرفت. مدل آماری این طرح به‌صورت زیر است:

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

در این رابطه، Yij: مشاهدات، µ: میانگین مشاهدات، Ti: اثر تیمار و eij: اثر خطای تصادفی مربوط به هر مشاهده است.

نتایج و بحث

نتایج جدول ۲ نشـان می‌دهد، اثر تیمارهای آزمایشـی بر افزایش وزن دوره آغازین و پایانی معنی‌دار نبود (P >۰/۰۵)، امّا اثر تیمارها بر افزایش وزن در دوره رشـد و کل دوره معنی‌دار بود (P <۰/۰۵)، به‌طوری که در هر دو دوره، بالاترین مقدار افزایش وزن در پرندگان مصرف‌کننده اسیدهای آلی کپسوله نشده و همچنین اسیدهای آلی کپسوله شده مشاهده شد و کمترین افزایش وزن به‌ترتیب مربوط به پرندگان تغذیه شـده با جیره حاوی اسـید آلی تجاری و شـاهد بود. تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک در دوره آغازین و رشـد و کل دوره نداشـتند (P >۰/۰۵). امّا در دوره پایانی تیمارهای آزمایشـی اثر معنی‌داری بر مصـرف خوراک داشـتند (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که پرندگانی که از شـاهد تغذیه کردند، بالاترین مصـرف خوراک و پرندگانی که از اسیدهای آلی کپسوله شده + اسیدهای آلی کپسوله نشـده تغذیه کردند، کمترین مصـرف خوراک را نشـان دادند. نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشـی بر ضـریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشـتی در جدول ۲ نشـان داده شـده اسـت. تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر ضریب تبدیل خوراک دوره آغازین، پایانی و کل دوره ندا شتند (P>۰/۰۵). در دوره ر شد اثر تیمارهای آزمایشی بر ضریب تبدیل خوراک معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)، کمترین ضریب تبدیل خوراک مربوط به تیمار حاوی اسیدهای آلی کپسوله شده + اسید آلی کپسوله نشده و بالاترین ضریب تبدیل خوراک در شاهد مشاهده شد.

در تطابق با نتایج این پژوهش، افزودن ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ در صد اسید استیک (Ghazalah *et al*., 2011) و یک درصد اسید استیک در مخلوط اسیدهای آلی (Vieira *et al*., 2008) در جیره‌غذایی سبب بهبود افزایش وزن روزانه می شود. همچنین با افزودن سطوح متفاوت ۰/۱ تا ۰/۱۵ درصـد اسـید پروپیونیک به جیره جوجه‌های گوشـتی، افزایش رشد و بهبود افزایش وزن در دوره آغازین مشاهده شد (Roy *et al*., 2002; Khosravi *et al*., 2009). همچنین عبدلی (Abdelli *et al*., 2019) نشان داد که اسید فرمیک و تیمول بشکل پوشش دار باعث بهبود عملکرد در جوجه‌های گوشتی شد. واندرویلن (Van der Wielen *et al*., 2000) بیان کردند استفاده از اسیدهای آلی به‌واسطه افزایش تولید اسیدهای چرب در دستگاه گوارش و اثرات منفی بر باکتری‌های مضر، سبب افزایش عملکرد رشد پرنده شود (Van der Wielen *et al*., 2000). کروزر و همکاران (Kreuzer *et al*., 1988) گزارش کردند که استفاده از اسـیدی‌کننده‌ها در جیره غذایی منجر به افزایش هضم پروتئین مصرفی معده می‌شود، بنابراین می‌توان دریافت که پرندگان مصرف‌کننده تیمارهای حاوی اسیدهای آلی نسـبت به پرندگان تغذیه شـده با شـاهد، پروتئین مصـرفی را با بازدهی بیشـتری مورد اسـتفاده قرار می‌دهند که در نهایت، منجر به بهبود افزایش وزن در آن‌ها خواهد شد. استفاده از مکمل اسیدهای آلی در سطح مناسب می‌تواند سبب بهبود افزایش وزن جوجه‌های گوشتی شود که احتمالاً می‌تواند به‌دلیل بهبود مصرف غذا و هضم و جذب آن، کاهش تولید مواد سمی و افزایش جمعیت میکروبی مفید روده، کاهش وقوع عفونت‌ها و تعدیل پاسخ سیستم ایمنی طیور باشد. موضوع مهم در جیره اسـیدی شـده، مهار رقابت باکتری‌های روده با میزبان برای مواد غذایی قابل دسترس و شاید کاهش متابولیت‌های سمی باکتری‌ها مثل آمونیاک و آمین‌ها و از این‌رو، سـبب افزایش وزن حیوان میزبان می‌شود (Thampson and Hinton, 1997).

1- Nutrient *AGAR*
2- MacConkey *AGAR*
3- Statistical Analysis System
4- Generalized Linear model

جدول ۱- مواد خوراکی تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی(درصد)

Table 1- Ingredients and chemical composition of experimental diets (percentage)

اجزای جیره Components of diet	پایانی (۴۲- ۲۵ روزگی) Finisher (42-25 d)	رشد (۲۴- ۱۱ روزگی) Grower (11-24 d)	آغازین (۱۰- ۸ روزگی) Starter (8-10 d)	آغازین (۷- ۱ روزگی) Starter (1-7 d)
دانه ذرت Corn	61.62	56.61	51.79	51.79
کنجاله سویا Soya bean meal	31.11	36.32	40.40	40.40
روغن سویا Soybean oil	3.21	2.7	3	3
دی کلسیم فسفات DiCalcium phosphate	1.40	1.56	1.76	1.76
کربنات کلسیم Carbonate calcium	1.02	1.11	1.2	1.2
مکمل ویتامینی[۱] Vitamin premix[1]	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی[۲] Mineral premix[2]	0.25	0.25	0.25	0.25
دی- ال متیونین DL- methionine	0.29	0.32	0.37	0.37
ال- لیزین L- lysine (%)	0.23	0.24	0.30	0.30
ال- ترئونین L- threonine (%)	0.07	0.09	0.13	0.13
نمک Salt	0.25	0.25	0.25	0.25
جوش شیرین Nahco3	0.15	0.15	0.15	0.15
ترکیب اسیدآلی Organic acid composition	0.15	0.15	0.15	_
ماسه Sand	_	_	_	0.15
ترکیب محاسبه شده Calculated analysis				
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/گرم) Metabolizable energy (Kcal/kg)	3093	2996	2900	2900
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	18.85	20.78	22.23	22.23
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.79	0.87	0.96	0.96
فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorus (%)	0.39	0.43	0.48	0.48
سدیم (درصد) Sodium (%)	0.15	0.15	0.15	0.15
لیزین (درصد) Lysine (%)	1.03	1.15	1.28	1.28
آرژنین (درصد) Arginine (%)	1.11	1.24	1.34	1.34
متیونین + سیستین (درصد) Methionine + cysteine (%)	0.80	0.87	0.95	0.95
ترئونین (درصد) Threonine (%)	0.69	0.77	0.86	0.86

[۱]مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم جیره تأمین‌کننده: ویتامین A ۱۰/۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین D3 ۳۵۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E ۶۰ میلی‌گرم، ویتامین K سه میلی‌گرم، تیامین سه میلی‌گرم، ریبوفلاوین شش میلی‌گرم، پریدوکسین پنج میلی‌گرم، ویتامین B12 ۰/۰۱ میلی‌گرم و نیاسین ۴۵ میلی‌گرم.اسید پنتاتنیک ۱۱ میلی‌گرم، اسید فولیک یک میلی‌گرم، بیوتین ۰/۱۵ میلی‌گرم.

[۲]: مکمل معدنی در هر کیلوگرم جیره تأمین‌کننده: آهن ۶۰ میلی‌گرم، منگنز ۱۰۰ میلی‌گرم، روی ۶۰ میلی‌گرم، مس ۱۰ میلی‌گرم، ید یک میلی‌گرم، ید یک میلی‌گرم و کبالت ۰/۲ میلی‌گرم بود.

[1]:Each kg vitamin premix was contained: 10000 IU vitamin A; 3500 IU vitamin D3; 60 mg vitamin E; 3 mg vitamin K; 3 mg vitamin B1; 6 mg vitamin B2; 5 mg vitamin B6; 0.01 mg vitamin B12; 45 mg vitamin B3; 1 mg Folate

[2]:Each kg mineral premix was contained: 60 mg Fe; 100 mg Mn; 60 mg Zn=; 10 g Cu; 1mg I; 0.2 mg Co

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف پرورش (گرم/روز)

Table 2- The effect of experimental treatments on the performance of broilers in different growing periods (g/day)

تیمارهای آزمایشی Experimental diets	دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی) Starter (1-10 d)			دوره رشد (۲۴-۱۱ روزگی) Grower (11-24 d)			دوره پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) Finisher (25-42 d)			کل دوره (۴۲-۱ روزگی) Total period (1-42 d)		
	ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم) Feed conversion ratio(g/g)	افزایش وزن بدن بالاترین (گرم/پرنده/روز) Body weight (g/b/day)	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/b/day)	ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم) Feed conversion ratio(g/g)	افزایش وزن بدن (گرم/پرنده/روز) Body weight (g/b/day)	مصرف خوراک (گرم/پرنده/ روز) Feed intake (g/b/day)	ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم) Feed conversion ratio(g/g)	افزایش وزن بدن (گرم/پرنده/روز) Body weight (g/b/day)	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/b/day)	ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم) Feed conversion ratio(g/g)	افزایش وزن بدن (گرم/پرنده/روز) Body weight (g/b/day)	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/b/day)
شاهد بدون افزودنی Control	1.28	20.57	26.83	1.83[a]	44.98[ab]	82.29	2.13	97.49	207.93[a]	1.92	61.09[b]	117.61
اسید آلی تجاری Commercial organic acid	1.31	21.57	28.18	1.83[a]	44.51[b]	81.40	2.06	97.61	200.42[bc]	1.91	62.92[a]	120.42
اسید آلی غیر کپسوله Non-encapsulated organic acid	1.27	20.72	26.42	1.73[b]	48.22[a]	83.58	2.12	96.00	203.86[ab]	1.93	63.29[a]	121.99
اسید آلی کپسوله Encapsulated organic acid	1.27	22.13	28.18	1.75[b]	48.04[a]	84.22	2.09	95.95	200.42[bc]	1.91	63.52[a]	121.15
اسید آلی کپسوله + اسید آلی غیر کپسوله Encapsulated organic acid+ Non-encapsulated organic acid	1.26	21.83	27.65	1.73[b]	47.97[a]	82.88	2.06	96.07	198.22[c]	1.88	63.49[a]	119.56
SEM [1]	0.03	0.79	1.003	0.02	1.02	1.14	0.02	0.91	1.44	0.01	0.32	1.02
P-value	0.77	0.57	0.54	0.01	0.05	0.49	0.07	0.51	0.006	0.26	0.002	0.09

[a,b] میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

[1] خطای استاندارد از میانگین

[a, b,] Means within same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

[1] Standard error of the means

متناسب با یافته‌های ما، لیسون و همکاران (Leeson et al., 2005) در مطالعه خود با جوجه‌های گو شتی م شاهده کردند، پرندگان با جیره غذایی بوتیریک اسید، خوراک کمتری نسبت به پرندگان گروه شاهد م صرف کردند (Cave, 1984). ا ستفاده از ا سید پروپیونیک و اسید لاکتیک سبب کاهش مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه شاهد شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. حسن و هم کاران (Hassan et al., 2010) نیز در یافت ند در خلال دوره پرورشی ۲۹ تا ۳۵ روزگی و کل دوره پرورشی (۳۵- ۱۴ روزگی) پرندگانی که با اسیدهای آلی تغذیه شده بودند خوراک بیشتری نسبت به گروه‌های دیگر م صرف نمودند. ا ستفاده از ترکیب ا سید آلی شامل ا سید بوتیریک، ا سید لاکتیک و ا سید فوماریک سبب کاهش م صرف خوراک جوجه‌ها نسبت به گروه شاهد شد که می‌تواند به‌علت طعم قوی اسیدهای آلی، کاهش خوش‌خوراکی جیره در نتیجه کاهش مصرف باشد (Adil et al., 2010). طبق نظر بارتو (Bartov, 1983)، افزودن اسیدهای آلی به جیره جوجه‌های گوشتی سبب دسترسی بیشتر انرژی خوراک و افزایش انرژی متابولیسمی جیره می شود. م صرف جیره با انرژی زیاد باعث توازن مثبت انرژی و تجمع چربی در بدن می‌شود (Bartov, 1983). از آنجایی‌که استفاده از ا سیدهای آلی در دوره ر شد سبب بهبود معنی‌دار افزایش وزن جوجه‌ها شد، در نتیجه بهبود ضریب تبدیل خوراک به دنبال استفاده از اسیدآلی دور از انتظار نبود. کمترین ضریب تبدیل خوراک مربوط به تیمار حاوی اسیدهای آلی کپسوله شده + اسید آلی کپسوله نشده و بالاترین ضریب تبدیل خوراک در شاهد مشاهده شد. همان‌طور که نشان داده شد، استفاده از اسیدهای آلی در دوره رشد سبب بهبود معنی‌دار افزایش وزن جوجه‌ها شد، در نتیجه بهبود ضریب تبدیل خوراک به دنبال استفاده از ا سید آلی دور از انتظار نبود. نوین و همکاران (Nguyen et al., 2018) ن شان دادند که ا ستفاده از ا سیدآلی پو شش‌دار تأثیری بر هضم‌پذیری خوراک ندا شت. هو و ژو (Hu and Guo, 2007) نشان دادند مکمل‌سازی جیره با سدیم بوتیرات به‌مقدار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در کل دوره سبب افزایش ضریب تبدیل خوراک غذایی شد. پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک ها و اسیدهای آلی با کاهش عوامل بیماری‌زا، محیط میکروبی بهتری را در دستگاه گوارش پر ند گان ایجاد می‌کنند که ه ضم، جذب و کارایی م صرف خوراک را افزایش می‌دهند (Izat et al., 1990;Chichlowski et al., 2007).

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های خونی در ۴۲ روزگی جوجه‌های گو شتی در جدول ۴ گزارش شده ا ست. در ۴۲ روزگی تیمار های آز مایشی اثر معنی‌داری بر شاخص های خونی ندا شتند. این نتایج در ت ضاد با نتایج عادل و همکاران (Adil et al., 2010) و همچنین ابودابوس و همکاران (Abudabos et al., 2017) بود که بیان کردند، استفاده از اسیدهای آلی، سبب ایجاد اختلاف معنی‌داری در غلظت گلوکز سرم خون جو جه های گوشتی مورد آزمایش، شد. اسید آسکوربیک، منجر به افزایش غلظت پروتئین و گلوکز سرم خون شد که این اثرات را به افزایش ظرفیت جذب مخاط روده و هضم مؤثر جیره به علت افزایش فعالیت آنزیم روده نسبت دادند (Wang et al., 2010).

همچنین در جدول ۳، اثر تیمارهای آزمایشی بر ویژگی‌های لا شه جوجه‌های گو شتی را ن شان می‌دهد. در صد لا شه، سینه، ران، چربی محوطه شکمی، سنگدان، قلب و کبد تحت تأثیر تیمارهای آزمای شی قرار نگر فت ($P>0.05$). اثر تی مار های آز مایشی بر وزن بورس فابرسیوس و طحال معنی‌دار بود ($P<0.05$)، به‌طوری‌که جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی اسیدهای آلی کپسوله شده و اسیدهای آلی کپ سوله شده + ا سیدهای آلی کپ سوله ن شده بالاترین، و جوجه‌های تغذیه شده با جیره شاهد کمترین وزن بورس فابر سیوس را دارا بودند که ممکن ا ست به‌دلیل افزایش تحریک سی ستم ایمنی با شد که در ادامه به ان اشاره شده است. به‌علاوه پرندگانی که از جیره حاوی اسید آلی کپسوله شده و جیره شاهد استفاده کردند، به‌ترتیب بالاترین و کمترین وزن طحال را نشان دادند.

نتایج به‌دست آمده در مورد خصوصیات لا شه در توافق با گزارش ایزات و همکاران (Izat et al 1990) می‌باشد که عنوان نمودند، افزودن اسید پروپیونیک به جیره پرندگان، میزان چربی حفره شکمی و در صد لا شه را در انتهای دوره پرورش به صورت معنی‌دار تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. همچنین این نتایج با گزارش‌های جرونیکا و همکاران (Jeroncic et al., 1991) که بیان کردند، بازدهی لاشه و همچنین درصد سینه بیش از اینکه تحت تأثیر عوامل تغذیه‌ای قرار گیرد، تحت تأثیر عوامل ژنتیکی است، می‌تواند مطابقت داشته باشد.

غلظت گلوبین سرم به‌عنوان شاخصی برای اندازه‌گیری پاسخ ایمنی مد نظر قرار می‌گیرد (Ghazalah et al., 2011). این نتایج نشان می‌دهد جوجه‌هایی که از اسیدهای آلی تغذیه کردند، پاسخ ایمنی و مقاومت مطلوب‌تری در برابر بیماری دارند. افزایش وزن نسبی این اندام‌ها(تیموس، طحال و بورس) سطح گلوبین سرم به‌عنوان ن شانه پیشرفت ایمونولوژیکی محسوب می شود (Ghazalah et al., 2011). از طرف دیگر، اسیدهای آلی با کاهش رشد قارچ ها و جلوگیری از تولید مایکوتوک سین‌ها و اثر جمعیت باکتریایی می‌توانند با حذف باکتری‌های بیماری‌زا و حساس به اسید آلی و غالب شدن تعداد لاکتوبا سیل‌ها در روده، بر روی سی ستم ایمنی تأثیر بگذارند و سبب ایجاد ایمنی موثر شوند (Dorman and Deans, 2000). اگر چه تعدادی از مقالات تأثیرات معنی‌داری از اسیدهای آلی تغذیه شده بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی مشاهده نکردند (Çınar et al., 2009; Adil et al., 2010; Papatsiros et al., 2012). نتایج اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی دوازدهه ، ایلئوم و روده کور جوجه‌های گوشتی در جدول ۶ ارائه شده است.

جدول ۳- اثر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر صفات کیفی تخم‌مرغ مرغان تخم‌گذار در طول دوره آزمایش

Table 3- Effects of different levels of autolyzed yeast on the egg quality traits of laying hens during the experiment

صفت Traits	هفته Weeks	سطح مخمر اتولیز شده (سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب) Autolyzed yeas level (CC/1000L)				SEM	P-Value
		Control (0)	250	500	750		
واحد هاو Haugh unit	هفته چهارم 4th week	71.60	80.16	77.91	80.10	3.52	0.282
	هفته هشتم 8th week	81.85	84.00	82.90	81.50	1.84	0.770
رنگ زرده Yolk color	هفته چهارم 4th week	6.79^{ab}	7.25^{a}	6.54^{ab}	6.04^{b}	0.257	0.015
	هفته هشتم 8th week	6.63^{a}	6.27^{ab}	5.91^{bc}	5.58^{c}	0.149	<0.0001
مقاومت پوسته (کیلوگرم/سانتی‌متر مربع) (kg/cm^3) strength Eggshell	هفته چهارم 4th week	2.01	2.01	1.70	1.98	0.197	0.171
	هفته هشتم 8th week	1.29	1.63	1.40	1.24	0.158	0.316
ضخامت پوسته (میلی‌متر) (mm) thickness Eggshell	هفته چهارم 4th week	0.371	0.372	0.354	0.378	0.007	0.620
	هفته هشتم 8th week		0.355	0.358	0.350	0.008	0.840

a-c میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه به لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد (P < ۰/۰۵).

significantly (P<0.05). a-c Means within same row with different superscripts differ

همان‌طور که این جدول نشان می‌دهد، در جمعیت کل باکتری در سه قسمت دوازدهه ، ایلئوم و سکوم اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (P>۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد جمعیت لاکتوباسیل‌ها در دوازدهه و سکوم و همچنین جمعیت کلی‌فرم‌ها در سکوم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد، جمعیت لاکتوباسیل‌ها در دوازدهه و سکوم؛ و همچنین جمعیت کلی‌فرم‌ها در سکوم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). بر اساس نتایج این پژوهش، در جمعیت لاکتوباسیل‌ها در ایلئوم و جمعیت کلی‌فرم‌ها در دوازدهه و ایلئوم، اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد (P<۰/۰۵).

کم‌ترین جمعیت کلی‌فرم‌ها در دوازدهه نیز در تیمار حاوی اسید آلی کپسوله مشاهده شد و با شاهد و تیمار حاوی اسید آلی کپسوله نشده اختلاف معنی‌داری نشان داد. هم‌چنین کم‌ترین جمعیت کلی‌فرم‌ها در ایلئوم در تیمار حاوی اسید آلی مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. در تطابق با نتایج پژوهش حاضر، افزودن Lup rosil-NC (ترکیبی حاوی ۵۳/۳ در صد پروپیونیک)، نمک اسید آلی و اسید استیک به جیره به‌ترتیب سبب کاهش تعداد *Escherichia coli* و کلی‌فرم‌ها در روده، افزایش تعداد لاکتوباسیل‌ها در ناحیه سکوم می‌شود (Paul *et al*., 2007; Ghazalah *et al*., 2011).

جدول ٤- اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های خونی در ۴۲ روزگی (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)
Table 4- The effect experimental treatments on blood parameters in day 42-day (mg/dl)

تیمارهای آزمایشی Experimental diets	فراسنجه‌های خونی در ۴۲ روزگی (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) blood parameters in day 42-day (mg/dl)					
	آلانین آمینو ترانسفراز Alanine aminotransferase (U/L)	آسپارتات آمینوترانسفراز Aspartate aminotransaminase (U/L)	پروتئین با چگالی بالا High Density Lipoprotein -c	کلسترول Cholesterol	تری گلیسرید Triglycerid	گلوکز Glucose
شاهد بدون افزودنی Control	3.33	264	78.69	152.67	60.67	211.67
اسید آلی تجاری Commercial organic acid	3.33	228.67	72.03	132	62.33	186.67
اسید آلی غیر کپسوله Non-encapsulated organic acid	3.66	376	71.75	133.67	51	177.33
اسید آلی کپسوله Encapsulated organic acid	4	234	78.28	143.33	56	186
اسید آلی کپسوله + اسید آلی غیر کپسوله Encapsulated organic acid+ Non-encapsulated organic acid	3.66	213.67	76.68	132.33	55	196
SEM [1]	0.6	39.6	2.27	12.1	7.64	13.74
P-value	0.92	0.06	0.14	0.7	0.83	0.48

[a,b] میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).
[1] خطای استاندارد از میانگین

[a, b,] Means within same column with different superscripts differ (P < 0.05).
[1] Standard error of the means

یوبانگ همکاران (۵۲) نشان دادند که استفاده از اسیدهای الی و اسانس‌های گیاهی کپسوله شده باعث کاهش جمعیت باکتریایی در سکوم جوجه‌ها در مقایسه با شاهد شد. لنگوت (Langhout, 2000) عنوان کردند، اسیدهای آلی با ممانعت از تشکیل کلنی باکتری‌های مضر در دیواره روده، سبب کاهش تولید ترکیبات سمی در روده می‌شوند. نتایج ضعیف تیمار حاوی اسیدهای آلی کپسوله نشده می‌تواند به این علت باشد که در قسمت‌های ابتدایی دستگاه گوارش مانند پیش‌معده و سنگدان هضم و خنثی می‌شوند و فعالیت زیستی آن‌ها تا قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش ادامه نمی‌یابد، بنابراین نقش آن‌ها در تغییر جمعیت میکروبی روده محدود می‌شود (Hu and Guo, 2007). محققان نشان دادند که اسیدهای آلی زنجیره کوتاه در قسمت‌های ابتدایی دستگاه گوارش طیور متابولیزه و جذب می‌شوند (Thampson and Hinton, 1997). اخیرا محققان پیشنهاد کردند که ریزپوشانی اسیدهای آلی توسط پوشش چربی سبب انتقال آن‌ها به قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش می‌شود که به اسیدها این اجازه را می‌دهد که به‌آرامی در مراحل هضم، آزاد شوند و اثرات بیشتری در دستگاه گوارش داشته باشند. برای رشد هر نوع باکتری، pH خاصی در دوازدهه مورد نیاز است. بنابراین، با تغییر میزان pH دوازدهه، می‌توان نوع غالب باکتری را تغییر داد. کاهش pH در قسمت دوازدهه و ژژنوم می‌تواند یکی از دلایل اثرگذاری اسیدهای آلی بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش باشد. کرسپو و همکاران (Crespo et al., 2002) گزارش کردند که یکی از اهداف اساسی در اسیدی کردن جیره طیور، کمک به غلبه باکتری‌های مفید بر باکتری‌های مضر است؛ اسیدهای آلی با کاهش pH خارج سلولی باکتری‌ها سبب اختلال در روند رشد و تکثیر باکتری‌های حساس به pH (مانند *سالمونلا و اشرشیاکلی*) می‌شود. خاصیت ضدباکتریایی اسید آلی عمومیت ندارد، زیرا باکتری‌های لاکتوباسیل توانایی رشد در pHهای نسبتاً پایین را دارند و نسبت به باکتری‌های مانند *سالمونلا* و *اشرشیاکلی* مقاومت بیشتری در برابر اسیدهای آلی دارند.

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر گوارش‌پذیری مواد مغذی (برحسب درصد)، ویسکوزیته محتویات هضمی دستگاه گوارش (برحسب سانتی پوآز) و pH محتویات دستگاه گوارش

Table 5- The effect of experimental treatments on apparent digestibility of nutrients (%), viscosity (cp) and pH of gastrointestinal contents

تیمارهای آزمایشی Experimental diets	ویسکوزیته محتویات هضمی (برحسب سانتی پوآز) Viscosity (cp)		گوارش‌پذیری مواد مغذی (برحسب درصد) Apparent digestibility of nutrients (%)			pH محتویات دستگاه گوارش pH of gastrointestinal contents				
	محتویات ایلئوم Contents of the ilium	محتویات ژژنوم Contents of the jejunum	ماده خشک Dry matter	چربی خام Crud fat	خاکستر Ash	سکوم Cecum	ایلئوم Ileum	ژژنوم Jejunum	دوازدهه Duodenum	سنگدان Gizzard
شاهد بدون افزودنی Control (no addition)	1.60	1.35	58.07	42.61^{b}	57.49	8.0223	6.02	6.00^{ab}	6.56^{a}	3.63
اسید آلی تجاری Commercial organic acid	1.77	1.58	56.93	61.44^{b}	57.04	7.9633	5.73	6.20^{a}	6.2^{b}	3.67
اسید آلی غیر کپسوله Non-encapsulated organic acid	1.90	1.47	55.66	59.1^{a}	71.93	7.9637	5.99	5.99^{ab}	6.19^{b}	3.32
اسید آلی کپسوله Encapsulated organic acid	1.48	1.32	54.93	56.65^{a}	51.30	7.7367	6.53	6.25^{a}	6.21^{b}	3.55
اسید آلی کپسوله + اسید آلی غیر کپسوله Encapsulated organic acid+ Non-encapsulated organic acid	1.72	1.55	53.44	63.75^{a}	78.14	7.98	6.05	5.80^{b}	6.17^{b}	3.27
SEM [1]	0.096	0.097	7.14	3.12	11.24	0.15	0.022	0.08	0.04	0.19
P-value	0.166	0.283	0.99	0.005	0.45	0.7064	0.2109	0.0292	0.002	0.47

[a,b] میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

[1] خطای استاندارد از میانگین

[a, b] Means within same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

[1] Standard error of the means

جدول ٦- اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی روده (log cfu/g) جوجه‌های گوشتی

Table 6- The effect of experimental treatments on intestinal microbial population (LogCFU/g) of broilers

	سکوم Cecum			ایلئوم ileum			دوازدهه Duodenum		
تیمارهای آزمایشی Experimental diets	کلی‌فرم Coliform	لاکتوباسیل Lactobacillus	باکتری کل Total bacteria	کلی‌فرم Coliform	لاکتوباسیل Lactobacillus	باکتری کل Total bacteria	کلی‌فرم Coliform	لاکتوباسیل Lactobacillus	باکتری کل Total bacteria
شاهد بدون افزودنی Control	5.02	6.65	6.88	4.94 [a]	4.78 [b]	5.32	4.90 [a]	4.69	5.32
اسید آلی تجاری Commercial Organic Acid	5.62	6.40	6.70	4.81 [a]	4.73 [b]	5.14	4.77 [ab]	4.84	4.78
اسید آلی غیر کپسوله Non-encapsulated organic acid	5.06	6080	6.93	4.92 [a]	4.62 [b]	5.25	4.84 [a]	4.99	4.88
اسید آلی کپسوله Encapsulated organic acid	4.17	6.57	6.63	4.37 [b]	6.00 [a]	5.01	4.46 [c]	5.11	4.72
اسید آلی کپسوله + اسید آلی غیر کپسوله Encapsulated organic acid+ Non-encapsulated organic acid	5.03	6.59	6.48	4.77 [a]	6.03 [a]	4.48	4.66 [ab]	5.10	4.63
SEM [1]	0.25	0.27	0.11	0.10	0.27	0.31	0.05	0.17	0.14
P-value	0.06	0.88	0.07	0.01	0.006	0.84	0.001	0.50	0.08

[a,b] میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

[1] خطای استاندارد از میانگین

[a, b,] Means within same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

[1] Standard error of the means

یکی از مکانیسم های موثر اسید های آلی برای ازبین بردن باکتری‌ها این است که اسیدهای آلی کوتاه زنجیر نسبت به دیواره سلول باکتری نفوذپذیر هستند؛ اسیدها پس از عبور از غشای باکتری، در داخل سلول، یون هیدروژن تولید می‌کنند و موجب کاهش pH سلول می‌شود. همچنین آنیون‌های به‌وجود آمده سبب اختلال در ساخت DNA و در نتیجه، اختلال در ساخت پروتئین سلولی می‌شوند؛ در این وضعیت سلول مجبور است با صرف انرژی در تنظیم pH داخلی داشته باشد، امّا به‌علت بی‌هوازی بودن محیط، روند کاهش pH تشدید شده و در نهایت، منجر به مرگ باکتری می‌شود (Crespo et al., 2002).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد، ممکن است ریزپوشانی اسیدهای آلی با جلوگیری از هضم اسیدها در قسمت‌های ابتدایی دستگاه گوارش و حفظ فعالیت زیستی آن‌ها در قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش سبب کاهش pH و افزایش جمعیت لاکتوباسیل‌ها و کاهش جمعیت کلی‌فرم‌ها شود. اسیدهای آلی، با ایجاد شرایط مطلوب دستگاه گوارش و افزایش گوارش‌پذیری و د ستر سی مواد مغذی سبب بهبود عملکرد رشد و افزایش پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌شوند و می‌توانند به‌عنوان یک افزودنی غذایی فراسودمند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در جیره جوجه‌های گوشتی باشند.

References

1. Abdelli. N., Pérez., J., Vilarrasa, E., Duran, D., Cabeza Luna, I., Karimirad, R., & Solà-Oriol, D. (2019). Microencapsulation improved fumaric acid and thymol effects on broiler chickens challenged with a short-term fasting period. *Frontiers in Veterinary Science*, *15*, 1-14.https://doi.org/10.3389/fvets.2021.686143.
2. Abudabos, A. M., Alyemni, A. H., Dafalla, Y. M., & Khan, R. U. (2017). Effect of organic acid blend and *Bacillus subtilis* alone or in combination on growth traits, blood biochemical and antioxidant status in broilers exposed to *Salmonella typhimurium* challenge during the starter phase. *Journal of Applied Animal Research*, *45*(1), 538-542. https://doi.org/10.1080/09712119.2016.1219665.
3. Adil, S., Banday, T., Bhat, G. A., Mir, M. S., & Rehman, M. (2010). Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. *Veterinary Medicine International*, . https://doi.org/10.4061/2010/479485
4. Alp, M., Kocabagli, N., Kahraman, R., & Boston, K. (1999). Effects of dietary supplementation with organic acids and zinc bacitracin on ileal microflora, pH and performance in broilers. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, *23*(5), 451-456.
5. AOAC International. (2006). Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed. AOAC Int., Gaithersburg, MD.
6. Ashayerizadeh, O., Dastar, B., Shams Shargh, M., & Khomeiri, M. (2008). Effect of several growth promoter additives on performance, carcass characteristics and hematological values of broiler chicks. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, *15*(5). (In persian).
7. Bartov, I. (1983). Effects of propionic acid and of copper sulfate on the nutritional value of diets containing moldy corn for broiler chicks. *Poultry Science*, *62*(11), 2195-2200.
8. Bolton, W., & Dewar, W. A. (1965). The digestibility of acetic, propionic and butyric acids by the fowl. *British Poultry Science*, *6*(2), 103-105.
9. Bosi, P. (1999). Feeding strategies to produce high quality pork-Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *12*(2), 271-281.
10. Cave, N. A. G. (1984). Effect of dietary propionic and lactic acids on feed intake by chicks. *Poultry Science*, *63*(1), 131-134.
11. Crespo, N. P., Puyalto, M., Carro, M. D., Ranilla, M. J., & Mesia, J. (2002). Acidos orgánicos en dietas para rumiantes. *Albéitar*, *57*, 48-50.
12. Chichlowski, M., Croom, W., Edens, F. W., McBride, B. W., Qiu, R., Chiang, C. C., & Koci, M. D. (2007). Microarchitecture and spatial relationship between bacteria and ileal, cecal, and colonic epithelium in chicks fed a direct-fed microbial, PrimaLac, and salinomycin. *Poultry Science*, *86*(6), 1121-1132.
13. Çınar, M., Çatlı, A. U., Küçükyılmaz, K., & Bozkurt, M. (2009). The effect of single or combined dietary supplementation of prebiotics, organic acid and probiotics on performance and slaughter characteristics of broilers. *South African Journal of Animal Science*, *39*(3). https://doi.org/10.4314/sajas.v39i3.49152.
14. Dibner, J. J., Vázquez-Añón, M., Parker, D., Gonzalez-Esquerra, R., Yi, G., & Knight, C. D. (2004). Use of Alimet feed supplement (2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid, HMTBA) for broiler production. *The Journal of Poultry Science*, *41*(3), 213-222. https://doi.org/10.2141/jpsa.41.213.
15. Dibner, J. J., & Buttin, P. (2002). Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. *Journal of Applied Poultry Research*, *11*(4), 453-463.
16. Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile

oils. *Journal of Applied Microbiology, 88*(2), 308-316.
17. Fenton, T. W., & Fenton, M. (1979). An improved procedure for the determination of chromic oxid in feed and feces. *Canadian Journal of Animal Science, 59*, 631-634.
18. Garcia, V., Catala-Gregori, P., Hernandez, F., Megias, M. D., & Madrid, J. (2007). Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research, 16*(4), 555-562.
19. Gauthier, R., Grill, E., & Piva, A. (2007). A microencapsulated blend of organic acids and natural identical flavours reduces necrotic enteritis-associated damages in broiler chickens. In Proc. 16th Eur. Symp. Poultry Nutrition, Strasbourg, France. 515-518.
20. Ghazalah, A. A., Atta, A. M., Elkloub, K., Moustafa, M. E. L., & Riry, F. S. (2011). Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, nutrients digestibility and health of broiler chicks. *International Journal of Poultry Science, 10*(3), 176-184.
21. Gunal, M., Yayli, G., Kaya, O., Karahan, N., & Sulak, O. (2006). The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *International Journal of Poultry Science, 5*(2), 149-155.
22. Hassan, H. M. A., Mohamed, M. A., Youssef, A. W., & Hassan, E. R. (2010). Effect of using organic acids to substitute antibiotic growth promoters on performance and intestinal microflora of broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 23*(10), 1348-1353.
23. Hernandez, F., Garcia, V., Madrid, J., Orengo, J., Catalá, P., & Megias, M. D. (2006). Effect of formic acid on performance, digestibility, intestinal histomorphology and plasma metabolite levels of broiler chickens. *British Poultry Science, 47*(1), 50-56. https://doi.org/10.1080/00071660500475574.
24. Hu, Z., & Guo, Y. (2007). Effects of dietary sodium butyrate supplementation on the intestinal morphological structure, absorptive function and gut flora in chickens. *Animal Feed Science and Technology, 132*(3-4), 240-249.
25. Huyghebaert, G., Ducatelle, R., & Van Immerseel, F. (2011). An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *The Veterinary Journal, 187*(2), 182-188.
26. Izat, A. L., Adams, M. H., Cabel, M. C., Colberg, M., Reiber, M. A., Skinner, J. T., & Waldroup, P. W. (1990). Effects of formic acid or calcium formate in feed on performance and microbiological characteristics of broilers. *Poultry Science, 69*(11), 1876-1882.
27. Jang, I. S., Ko, Y. H., Kang, S. Y., & Lee, C. Y. (2007). Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology, 134*(3-4), 304-315.
28. Jeroncic, L. O., Cabal, M. P., Danishefsky, S. J., & Shulte, G. M. (1991). On the diastereofacial selectivity of Lewis acid-catalyzed carbon-carbon bond forming reactions of conjugated cyclic enones bearing electron-withdrawing substituents at the. Gamma.-position. *The Journal of Organic Chemistry, 56*(1), 387-395. https://doi.org/10.1021/jo00001a070.
29. Khosravi, A., Beldachi, F., Dastar, B., & Hasani, S. (2009). Investigation the possibility of using nettle extract and propionic acid as suitable alternatives to antibiotic growth promoters in broiler chickens diets. *Animal Sciences Journal*.
30. Kreuzer, M., Kirchgeßner, M., & Steinhart, H. (1988). Effect of the level of energy and protein and protein supply, respectively of age on the amino acid composition of broiler chicks. *Archiv fur Geflugelkunde, 52*(4), 133-141.
31. Langhout, P. (2000). New additives for broiler chickens. *World Poultry, 16*(3), 22-27.
32. Leeson, S., Namkung, H., Antongiovanni, M., & Lee, E. H. (2005). Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens. *Poultry Science, 84*(9), 1418-1422.
33. Mellor, J. M., Mittoo, S., Parkes, R., & Millar, R. W. (2000). Improved nitrations using metal nitrate–sulfuric acid systems. *Tetrahedron, 56*(40), 8019-8024.
34. Mroz, Z., Koopmans, S. J., Bannink, A., Partanen, K., Krasucki, W., Øverland, M., & Radcliffe, S. (2006). Carboxylic acids as bioregulators and gut growth promoters in nonruminants. *In Biology of Growing Animals, 4*, 81-133.
35. National Research Council. (1994). Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
36. Nguyen. D. N., Nguyen, K. Y., Mohammadigheysar, M., & Kim, I. H. (2018). Evaluation of the blend of organic acids and medium-chain fatty acids in matrix coating as antibiotic growth promoter alternative on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, excreta microflora, and carcass quality in broilers. *Poultry Science, 7*, 4351–4358
37. Ndelekwute, E. K., & Enyenihi, G. E. (2017). Lime juice as a source of organic acids for growth and apparent nutrient digestibility of Broiler chickens. *Journal of Veterinary Medicine and Surgery, 1*, 1.
38. Nourmohammadi, R., Hosseini, S. M., Saraee, H., & Arab, A. (2011). Plasma thyroid hormone concentrations and pH values of some GI-tract segments of broilers fed on different dietary citric acid and microbial phytase levels. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences, 6*, 1-6.

39. Özek, K., Wellmann, K. T., Ertekin, B., & Tarım, B. (2011). Effects of dietary herbal essential oil mixture and organic acid preparation on laying traits, gastrointestinal tract characteristics, blood parameters and immune response of laying hens in a hot summer season. *Journal of Animal and Feed Sciences*, *20*(4), 575-586. https://doi.org/10.22358/jafs/66216/2011.
40. Padmaja, G., & Jyothi, A. N. (2012). Roots and tubers.Valorization of Food Processing By-Products, 377.
41. Panda, A. K., Rao, S. V., Raju, M. V. L. N., & Sunder, G. S. (2009). Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *22*(7), 1026-1031. https://doi.org/10.5713/ajas.2009.80298.
42. Paul, S. K., Halder, G., Mondal, M. K., & Samanta, G. (2007). Effect of organic acid salt on the performance and gut health of broiler chicken. *Journal of Poultry Science*, *44*(4), 389-395. https://doi.org/10.2141/jpsa.44.389.
43. Papatsiros, V. G., Christodoulopoulos, G., & Filippopoulos, L. C. (2012).The use of organic acids in monogastric animals. *Journal of Cell and Animal Biology*, *6*(10), 154-159.
44. Roy, R. D., Edens, F. W., Parkhurst, C. R., Qureshi, M. A., & Havenstein, G. B. (2002). Influence of a propionic acid feed additive on performance of turkey poults with experimentally induced poult enteritis and mortality syndrome. *Poultry Science*, *81*(7), 951-7
45. Samanta, S., Haldar, S., & Ghosh, T. K. (2008). Production and carcase traits in broiler chickens given diets supplemented with inorganic trivalent chromium and an organic acid blend. *British Poultry Science*, *49*(2), 155-163. https://doi.org/10.1080/00071660801946950.
46. SAS Institute. (2002).nSAS/STAT User's guide: Statistics.Version 9.1.4th ed. SAS Inst.Inc.
47. Talebi, E., Zarei, A., & Abolfathi, M. E. (2010). Influence of three different organic acids on broiler performance. *Asian Journal of Poultry Science*, *4*(1), 7-11.
48. Thompson, J. L., & Hinton, M. (1997). Antibacterial activity of formic and propionic acids in the diet of hens on Salmonellas in the crop. British poultry science, 38(1), 59-65.
49. Van der Wielen, P. W., Biesterveld, S., Notermans, S., Hofstra, H., Urlings, B. A., & Van Knapen, F. (2000). Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. *Applied and Environmental Microbiology*, *66*(6), 2536-2540
50. Vieira, S. L., Oyarzabal, O. A., Freitas, D. M., Berres, J., Pena, J. E. M., Torres, C. A., & Coneglian, J. L. B. (2008). Performance of broilers fed diets supplemented with sanguinarine-like alkaloids and organic acids. *Journal of Applied Poultry Research*, *17*(1), 128-133
51. Wang, J. P., Lee, J. H., Yoo, J. S., Cho, J. H., Kim, H. J., & Kim, I. H. (2010). Effects of phenyllactic acid on growth performance, intestinal microbiota, relative organ weight, blood characteristics, and meat quality of broiler chicks. *Poultry Science*, *89*(7), 1549-1555.
52. Yu-Yun, G., Xing-Li, Z., Li-Hui, X., Hui, P., Chang-Kang, W., & Ying-Zuo, B. (2019). .Encapsulated blends of essential oils and organic acids improved performance, intestinal morphology, cecal microflora, and jejunal enzyme activity of broilers. *Czech Journal of Animal Science*, *64*(5): 189–198. https://doi.org/10.17221/172/2018-CJAS.

Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1, Spring 2023, p. 93-106

Effect of Autolyzed Yeast on Performance, Egg Quality, Microbial Population and Intestinal Morphology of Laying Hens

Somayyeh Salari[1*], Karim Javidaneh[2]

Received: 02-09-2021
Revised: 22-01-2022
Accepted: 24-01-2022
Available Online: 24-01-2022

How to cite this article:
Salari, S., & Javidaneh, K. (2023). Effect of autolyzed yeast on performance, egg quality, microbial population and intestinal morphology of laying hens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 93-106.
DOI: 10.22067/ijasr.2022.73976.1056

Introduction: Antibiotics have been routinely supplemented in diets of poultry to maintain their health, reduce stress, and enhance productivity. However, due to the development of resistance of bacteria to antibiotics and the possibility of these pathogens to be zoonotic, the use of various antibiotic products in livestock and poultry production is gradually being banned around the world. With the possibility of further ban in more regions of the world, research interest into alternatives to in-feed antibiotics has increased. One alternative to in-feed antibiotics that has gained research interest for use in poultry is yeast (Saccharomyces cerevisiae). Yeast in both probiotic (live) and prebiotic (dead) forms has been reported to provide several benefits to both healthy of animals, including poultry. The ability of yeast and its components to act as growth promoter could be associated with different mechanisms that it exhibits individually or synergistically. For instance, yeasts have been reported to favor the proliferation of beneficial microbes by serving as substrates for these microbes in the gut. These beneficial microbes, such as *Lactobacillus*, have been reported to improve gut health as well as exhibit growth-promoting effects in broiler chickens. Specifically, yeast cell wall that is extracted from whole yeast consists mainly of α-mannans and β-1–3-glucans, which are reported to prevent or eliminate bacterial infections.

Materials and Methods: In order to study various levels of autolyzed yeast (Privita) on performance, quality characteristics of egg, cecal microbiology and intestinal histomorphology of laying hens (Hy-line W-36) (64 weeks), an experiment was done with 192 birds for 10 weeks. Treatments were various levels of autolyzed yeast (control, 250 ml/1000l, 500 ml/1000l, and 750 ml/1000l) that conducted in completely randomized design with 8 replications. Egg production (EP) and egg weight (EW) were recorded daily and feed intake (FI) and feed conversion ratio (FCR) were evaluated weekly. Quality characteristics of eggs were evaluated 2 times per period. Iintestinal histomorphology was determined at the end of experiment. At the end of the study, one birds per replicate were killed by cervical dislocation and blood was drawn from the jugular vein. Serum was separated after centrifugation at 4500 g and 4°C for 10 min, and frozen at −20°C until further analysis was conducted for blood biochemical parameters. Serum samples were analysed for concentrations of low-density lipoprotein (LDL), cholesterol, and triglycerides using standard kits (Zist Shimi, Tehran, Iran) with an autoanalyser (Autolab PM 4000; Medical System, Rome, Italy). Then, caecal digesta (1 g) from each bird were aseptically transferred into 9 ml of sterile saline solution and serially diluted. Lactobacilli, Coliforms, and E.Coli were grown on Rogosa–Sharpe agar, MacConkey Agar, and Eosin Methylene Blue Agar, respectively. Plates for *Lactobacillus* were incubated anaerobically for 48 h at 37 °C. Microbial populations for *E. coli* and *Coliforms* were counted after aerobic incubation at 37°C for 24 hours. All samples were plated in duplicate.

Results and Discussion: This study results showed that addition of autolyzed yeast could not change performance parameters. Yolk color was highest at 250 ml/1000l which had a significant difference with 750 ml/1000l ($P < 0.05$). Addition of autolyzes yeast at levels of 500 and 750 ml/1000l significantly increased cecal *Lactobacillus* and decreased *Coliforms* of cecum ($P < 0.05$). Addition of autolyzed yeast at level of 750 ml/1000l

1- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
2- Chairman of Executive Committee, Kavoshgar Sepehr Javan Company, Dezful, Iran
*Corresponding Author's Email: s.salari@asnrukh.ac.ir

significantly decreased cecal *Ecoli* compared to the other treatments ($P < 0.05$). The possible reason for the observed response could be the ability of the yeast to maintenance of normal gut microflora as well as preventing the proliferation of pathogenic microbes. This action may partly contribute to increased nutrient digestibility, reduced competition for nutrients, increased nutrient utilization as well as absorption. Villus height of the e duodenum increased in layers fed on 750 ml/1000l compared to the birds fed 250 ml/1000l ($P < 0.05$). While crypt depth and villus height-to-crypt depth ratios of the duodenum in birds fed 750 ml/1000l compared to the birds 250 ml/1000l decreased and increased, respectively. Crypt depth of jejunum significantly decreased in birds fed highest level of autolyzed yeast compared to the other treatments.

Conclusion: Results of this experiment showed that supplementation of autholyzed yeast could not significant change in qualitative and quantitative parameters. But, levels of 500 and 750 ml/1000l autholyzed yeast increased cecal microbial of *Lactobacillus* and decreased *Coliform* and the level of 750 ml/1000l decreased *Ecoli* of cecum and increased villus height and villus height-to-crypt depth ratios of the duodenum.

Keywords: Microbial population, Histomorphometry, Laying hen, Yeast

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران

Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد۱۵، شماره۱، بهار۱۴۰۲، ص ۱۰۶-۹۳

اثر مخمر اتولیز شده بر عملکرد تولید و کیفیت تخم‌مرغ، جمعیت میکروبی و ریخت‌شناسی روده مرغان تخم‌گذار

سمیه سالاری[1*]، کریم جاویدانه[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۱۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۱/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۰۴

چکیده

به‌منظور مطالعه تأثیر مخمر اتولیز شـــده بر عملکرد، کیفیت تخم‌مرغ، جمعیت میکروبی ســـکوم و فراســـنجه‌های هیســـتومورفومتری روده مرغان تخم‌گذار، آزمایشی با استفاده از ۱۹۲ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه‌های‌لاین در سن ۶۴ هفتگی به‌مدت ۱۰ هفته انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح مختلف مخمر پری‌ویتا: شاهد (بدون مکمل)، ۲۵۰ سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب، ۵۰۰ سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب (پیشنهاد شرکت)، ۷۵۰ سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب بود که در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تکرار اجرا شد. نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از مخمر اتولیز شده نتوانست فراسنجه‌های عملکردی پرندگان را تحت تأثیر قرار دهد. اگرچه در ســـطوح ۵۰۰ و ۷۵۰ ســـی‌ســـی در ۱۰۰۰ لیتر آب به‌طور معنی‌داری جمعیت لاکتوباســـیل افزایش و جمعیت کلی فرم‌های سکوم کاهش نشان داد. پرندگان مصرف‌کننده سطح ۷۵۰ سی‌سی مخمر در هزار لیتر آب، ارتفاع پرز بالاتر و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت بیشتر در دوازدهه در مقایسه با شاهد و سطح ۲۵۰ سی‌سی مخمر در هزار لیتر آب داشتند. نتایج نشان داد که افزودن مخمر اتولیز شده پری‌ویتا در سطوح ۵۰۰ و ۷۵۰ باعث افزایش جمعیت لاکتوباسیل و کاهش کلی فرم و سطح ۷۵۰ مخمر باعث کاهش جمعیت/ *شر شیاکولی سکوم* و افزایش طول پرزها و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ناحیه دوازدهه بدون تأثیر بر فراسنجه‌های کمّی و کیفی تخم‌مرغ در مرغان تخم‌گذار شد.

واژه‌های کلیدی: جمعیت میکروبی، مخمر، مرغ تخم‌گذار، هیستومورفومتری

مقدمه

امروزه به‌منظور تحریک رشد، رفع کمبود مواد مغذی، تقویت سیستم ایمنی و پیشگیری از بیماری‌ها، مواد افزودنی متعددی به خوراک طیور اضافه می‌شوند و استفاده از دسته افزودنی‌ها که ضمن ویژگی‌های مطلوب، فاقد تبعات سوء بهداشتی و زیست‌محیطی باشند مورد توجه قرارگرفته است (Botsoglu and Fletouris, 2001). *ساکارومایسس سرویزیه* یکی از رایج‌ترین نوع تجاری از مخمرها می‌باشد که منبع غنی از پروتئین، ویتامین B کمپلکس، مواد معدنی و بسیاری از عوامل مفید دیگر می‌باشد که به‌عنوان محرک رشد طبیعی به جیره دام و طیور افزوده می‌شود (Rezaeipour *et al*., 2012). استفاده از مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* و کربوهیدرات‌های جداشده از دیواره سلولی آن (مانان الیگوساکاریدها، فروکتوالیگوساکاریدها و بتاگلوکان‌ها) مورد توجه چندین مطالعه در طیور بوده است (Shao *et al*., 2013; Shang *et al*., 2015; Adhikari *et al*., 2018). مخمرها ممکن است با تغییر فلور میکروبی روده، احتمالاً از طریق کنترل pH باعث بهبود عملکرد

۱- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

۲- مدیرعامل شرکت کاوشگر سپهر جوان، دزفول، ایران.

(*- نویسنده مسئول: Email: s.salari@asnrukh.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.73976.1056

شوند (Leeson and Summers, 2008). برخی از مطالعات اثرات مخمر را در افزایش غلظت باکتری‌های مفید یا سرکوب باکتری‌های بیماری‌زا تأیید کرده‌اند (Parks *et al*., 2001). مخمر اتولیز شده محصول تخریب سلولی است که توسط فعال شدن آنزیم‌های خاص خود، اجزای سلولی و ساختاری خود را تجزیه می‌کند. ترکیب مخمر اتولیز شده، بسته به فرآیند تولیدشده متفاوت است و معمولاً مخمر اتولیز شده *ساکارومایسس سرویزیه* حاوی ۶۴- ۲۹ درصد بتاگلوکان، ۳۱ درصد مانان الیگوساکارید، ۱۳ درصد پپتید و اسیدهای آمینه ضروری و نه درصد لیپید می‌باشد (Jaehrig *et al*., 2008). نوکلئوتیدهای موجود در مخمر اتولیز شده به‌عنوان فاکتورهای رشد برای سلول‌های روده‌ای خوک عمل نموده و باعث تمایز و بلوغ آن‌ها می‌شود. افزایش ضخامت پرزهای روده و افزایش فعالیت آنزیم‌های هضمی، ازجمله اثرات مفید نوکلئوتیدها بر سلول‌های روده‌ای خوک هستند (Mateo *et al*., 2004). محققان دریافتند که مانان الیگوساکاریدهای موجود در مخمر، قادرند جایگاه اتصال باکتری‌های بیماری‌زا به اپتلیوم روده را توسط چسبیدن به پروتئین‌های ویژه در سطح سلول باکتری را اشغال کرده و کلونی‌سازی باکتری‌های بیماری‌زا را کاهش دهند. این عمل منجر به کاهش در جمعیت *سالمونلا* و *ای‌کلای* (Adhikari and Kim, 2017; Adhikari *et al*., 2018)، افزایش لاکتوباسیل‌ها در مخاط روده و همچنین محافظت از پرزهای روده می‌شود (Shang *et al*., 2018). همچنین مانان الیگوساکاریدها می‌توانند با تحریک ایمنی مخاط، سیستم ایمنی روده را تعدیل کند، زیرا ممکن است به‌عنوان آنتی‌ژن‌های میکروبی غیر بیماری‌زا عمل کنند (Davis *et al*., 2004). با توجه به مطالب بیان شده و اهمیت پری‌بیوتیک و نیز تأثیر این افزودنی‌ها بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش طیور، به نظر می‌رسد که استفاده از مخمر اتولیز شده که نقش پری بیوتیکی دارد، تأثیر سودمندی بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار داشته باشد. لذا تحقیق حاضر به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده در تغذیه مرغان تخم‌گذار به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق، از ۱۹۲ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه‌های‌لاین W۳۶ در سن ۶۴ هفتگی با میانگین وزن ۲۰±۱۷۰۰ گرم، مصرف خوراک روزانه حدود ۱۰۰ گرم و ۷۵ درصد تولید به‌مدت هشت هفته استفاده شد. نوع سیستم پرورش سیستم قفس بوده است و روشنایی سالن با کمک لامپ‌های ۶۰ واتی تنگستن تأمین شده است. آبخوری‌ها به‌صورت نیپل و دانخوری‌ها به‌صورت ناودانی بودند. قبل از شروع رکوردگیری، به‌مدت ۱۰ روز عادت‌پذیری به پرندگان داده شد و پرندگان با مکمل مورد نظر تغذیه شدند. سپس به‌مدت هشت هفته رکوردبرداری انجام شد. خوراک روزانه دو بار به‌صورت دستی بین مرغ‌ها توزیع می‌شد. تخم‌مرغ‌ها هرروز به هنگام بعدازظهر (ساعت ۱۶) جمع‌آوری می‌شدند. شرایط محیطی داخل سالن کاملاً تحت کنترل بوده و دمای سالن در حدود ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد حفظ شد و به‌طور مرتب عمل تهویه انجام و مدت روشنایی ۱۶ ساعت نور ثابت تأمین گردید. مرغ‌ها ازنظر وزنی نزدیک به هم انتخاب شدند و به ۳۲ واحد آزمایشی، شامل چهار تیمار و هشت تکرار (تعداد شش قطعه مرغ در هر تکرار، هر دو قفس کنار هم به‌عنوان یک تکرار) اختصاص یافته و در داخل جایگاه مربوط به خود جای گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح مختلف مخمر اتولیز شده ویژه طیور (پری ویتا): شاهد (بدون مکمل)، ۲۵۰ سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب، ۵۰۰ سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب (پیشنهاد شرکت)، ۷۵۰ سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب بود. تمامی پرندگان جیره یکسانی با توجه به مقدار انرژی و پروتئین مورد نیاز بر اساس احتیاجات توصیه شده در راهنمای تغذیه مرغ تخم‌گذار (های‌لاین W-۳۶) دریافت نمودند. اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره پایه در جدول ۱ نشان داده شده است. آب‌ودان در کل دوره آزمایش به‌طور آزاد در اختیار مرغ‌ها قرار گرفت. مقدار مخمر اتولیز شده هر روز به‌صورت تازه در آب مخلوط می‌شد و در مخزن آبخوری هر تیمار که در ابتدای سالن مرغ تخم‌گذار قرار داشت، وارد می‌شد. مخمر اتولیز شده به‌صورت مایع و ساخت شرکت کاوشگر سپهر جوان بود.

تخم‌مرغ‌های هر تکرار آزمایشی روزانه در نوبت عصر جمع‌آوری، شمارش و وزن آن‌ها به‌وسیله ترازو با دقت یک گرم ثبت می‌شد. سپس درصد تولید از فرمول زیر محاسبه شد (Çabuk *et al*., 2003):

رابطه (۱)　　$Pd= Te/N\times100$

که در آن، Pd: درصد تولید روزانه، Te: تعداد تخم‌مرغ‌های تولید شده هر واحد آزمایشی و N: تعداد مرغ‌های زنده موجود در هر واحد آزمایشی می‌باشند.

وزن تخم‌مرغ‌های هر واحد آزمایشی به‌طور روزانه و در پایان هر روز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد و در پایان هفته به‌صورت میانگین وزن تخم‌مرغ هفتگی برای هر واحد آزمایشی ثبت می‌شد (Çabuk *et al*., 2003):

رابطه (۲)　　$EW= EWT/N$

که در آن، EW: میانگین وزن تخم‌مرغ روزانه، EWT: وزن کل تخم‌مرغ تولیدی هر واحد آزمایشی و N: تعداد تخم‌مرغ تولیدی هر واحد آزمایشی می‌باشند.

برای اندازه‌گیری مقدار خوراک مصرفی، روزانه به‌صورت آزاد خوراک در اختیار مرغ‌ها قرار می‌گرفت و سپس در پایان هر هفته خوراک باقی‌مانده توزین و خوراک مصرفی طبق فرمول زیر محاسبه می‌شد (Çabuk et al., 2003):

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه مورد استفاده در طول دوره آزمایش

Table 1- Ingredients and chemical composition of experimental diet during the experiment

اجزای جیره (٪) Ingredients (%)	جیره ۶۴ تا ۷۴ هفتگی Diet 64 to 74 weeks
ذرت Corn	61.68
کنجاله سویا (۴۳٪ پروتئین خام) Soybean meal (43% CP)	23.35
روغن آفتابگردان Sunflower oil	2.5
سنگ آهک Limestone	5.00
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.95
پوسته صدف Oyster shell	4.5
سدیم کلراید Sodium chloride	0.37
مکمل ویتامینه و مواد معدنی ۱ و ۲ Mineral and vitamin premix[1,2]	0.50
دی ال- متیونین DL-Methionine	0.15
آنالیز محاسبه شده (٪) Calculated analysis (%)	
انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری (کیلوکالری بر کیلوگرم) AME (kcal/ kg)	2894
پروتئین خام Crude protein	15.55
کلسیم Calcium	4.1
فسفر قابل دسترس Available phosphorus	0.47
سدیم Sodium	0.17
لیزین Lysine	0.89
متیونین Methionine	0.40
متیونین + سیستین Methionine + cysteine	0.70

[۱ و ۲] مکمل ویتامینه به‌ازای هر کیلوگرم جیره حاوی ۸۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۱ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۲/۵ میلی‌گرم ویتامین K، ۱/۴۷۷ میلی‌گرم ویتامین B1، چهار میلی‌گرم ویتامین B2، ۷/۸۴ میلی‌گرم ویتامین B3، ۳۴/۶۵ میلی‌گرم ویتامین B5، ۲/۴۶۴ میلی‌گرم ویتامین B6، ۰/۱۱ میلی‌گرم ویتامین B9، ۰/۰۱ میلی‌گرم ویتامین B12 بود. مکمل معدنی به‌ازای هر کیلوگرم جیره حاوی: ۷۴/۴ میلی‌گرم منگنز، ۶۷/۵۶۴ میلی‌گرم روی، ۷۵ میلی‌گرم آهن، شش میلی‌گرم مس، ۸۶۷ میلی‌گرم ید، ۲ میلی‌گرم سلنیوم می‌باشد.

[1, 2] Vitamin premix provides per kg diet: vitamin A, 8500 IU; vitamin D3, 2500 IU; vitamin E, 11IU; vitamin K3, 2.5 mg; vitamin B1, 1.477 mg; vitamin B2, 4.0 mg; vitamin B3, 7.84 mg; vitamin B5, 34.65 mg; vitamin B6, 2.464 mg; vitamin B9, 0.11 mg; vitamin B12, 0.01µg. Mineral premix provides per kg diet: Mn, 74.4; Fe, 75.0; Zn, 67.564; Cu, 6.0 and Se, 2 mg.

مقدار خوراک مصـــرفی (گرم به‌ازای هر مرغ در هر روز) = مقدار خوراک وزن شـــده در ابتدای هفته - مقدار خوراک باقی‌مانده در پایان هفته/تعداد مرغ رابطه (۳)

محاسبه ضریب تبدیل خوراک با توجه به توده تخم‌مرغ تولیدی و خوراک مصـــرفی هر واحد آزمایشـــی در هر روز به‌صـــورت فرمول زیر

محاسبه شد و در پایان هفته به صورت میانگین هفتگی ثبت گردید و در پایان دوره ضریب تبدیل غذایی کل دوره هر واحد آزمایشی محاسبه شد (Çabuk *et al*., 2003):

رابطه (۴) FCR= FI/ Em

که در آن، FCR: ضریب تبدیل خوراک هر واحد آزمایشی، FI: مصرف خوراک هر واحد آزمایشی و Em: توده تخم مرغ هر واحد آزمایشی (درصد تولید ضربدر میانگین وزن تخم‌مرغ تقسیم بر صد) می‌باشند.

جهت بررسی خصوصیات کیفی تخم‌مرغ، دو بار در کل دوره (هر چهار هفته یک‌بار) نمونه‌گیری انجام گرفت و در هر نمونه‌گیری تعداد دو عدد تخم‌مرغ از هر تکرار انتخاب شد. پس از شماره‌گذاری نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و با ترازوی دیجیتالی ۰/۰۱ گرم توزین و سپس بر روی سطح پتری دیش شکسته و پارامترهای مورد نظر اندازه‌گیری شد. برای تعیین کیفیت سفیده از دستگاهی به‌نام ارتفاع سنج استفاده شد. واحد اندازه‌گیری ارتفاع سفیده غلیظ میلی‌متر است. واحد هاو در واقع شاخصی است که در آن ارتفاع سفیده برای وزن تخم‌مرغ تصحیح شده است و تصحیح از طریق رابطه لگاریتمی زیر انجام گرفت.

رابطه (۵)

$$\text{Haugh Unit}=100\log_{10}^{(H-1.7W^{0.37}+7.6)}$$

در این رابطه، H ارتفاع سفیده غلیظ (برحسب میلی‌متر) و W وزن تخم‌مرغ (برحسب گرم) است. ارتفاع سفیده غلیظ از یک نقطه مشخص برای تمامی تخم‌مرغ‌ها با استفاده از دستگاه ارتفاع‌سنج اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول بالا محاسبه شد. هر چه واحد هاو بالاتر باشد، کیفیت سفیده بهتر است. جهت ارزیابی کیفیت پوسته، شاخص استحکام و ضخامت آن در طول دوره آزمایش اندازه‌گیری شدند. به این منظور دو تخم‌مرغ سالم از هر تکرار مورداستفاده قرار گرفتند. قسمتی از پوسته نزدیک به‌پهنای تخم‌مرغ به همراه لایه‌های آن با استفاده از دستگاه میکرومتر با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر تعیین ضخامت شد و نیز برای تعیین مقاومت پوسته از دستگاه مقاومت‌سنج استفاده شد که واحد آن کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع می‌باشد (Çabuk *et al*., 2003). رنگ زرده با استفاده از بادبزن رنگی مخصوص (شابلون) تعیین که مقیاس آن واحد رش می‌باشد (Çabuk *et al*., 2003). در پایان دوره آزمایش، از هر تکرار دو قطعه مرغ تخم‌گذار پس از ۶- ۵ ساعت گرسنگی انتخاب و نمونه‌های خون از ورید بال آن‌ها تهیه و در لوله‌های هپارینه جمع‌آوری گردید تا با استفاده از این نمونه‌ها فراسنجه‌های لیپیدی خون نظیر تری‌گلیسرید، کلسترول و لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) اندازه‌گیری شود. بعد از خون‌گیری، نمونه بلافاصله به آزمایشگاه انتقال و با استفاده از سانتریفیوژ (به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰ g) سرم آن‌ها جدا و تا زمان سنجش فاکتورهای ذکر شده در دمای ۲۰- نگهداری شدند. غلظت فراسنجه‌های لیپیدی خون با استفاده از روش آنزیمی و با کیت تجاری شرکت پارس آزمون و به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Convergys(R)100, Germany) تعیین شد. در روز پایانی آزمایش، یک قطعه پرنده از هر تکرار (هشت قطعه برای هر تیمار) به صورت تصادفی انتخاب و ابتدا سطح شکمی پرنده با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی و پس از کشتار، حفره شکمی در شرایط استریل باز شد تا جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل، اشرشیاکولای، کلی‌فرم و کل هوازی در سکوم مورد بررسی قرار گیرند. جهت کشت و شمارش باکتری‌ها از محیط‌های کشت اختصاصی استفاده شد. از محیط کشت اختصاصی روگاسا آگار برای کشت لاکتوباسیل‌ها، برای کشت باکتری‌های کلی‌فرم از محیط کشت مکانکی آگار، و *اشریشیا کلی* از محیط کشت ائوزین متیلن بلو آگار استفاده شد. جهت تهیه رقت مناسب کشت، بعد از کشتار پرندگان سکوم در محل اتصال به ایلئوم و کولون توسط نخ بسته شد و به کمک قیچی استریل و پنس از روده جدا و در داخل پتری دیش‌های استریل قرار گرفت. سپس توسط اسکالپر (تیغ) شکافی به‌صورت طولی درروی سکوم ایجاد کرده و یک گرم از محتویات سکوم استخراج و در داخل لوله‌های آزمایش حاوی نه میلی‌لیتر محلول رقیق‌کننده (نرمال سالین) ریخته شد و دهانه لوله‌آزمایش تو سط پنبه استریل بسته تا رقت 10^{-1} به‌دست آید. محتویات لوله‌های آزمایش توسط شیکر هموژنیزه گردیدند. سپس یک میلی‌لیتر از محلول لوله اول را برداشته و در لوله دوم حاوی نه میلی‌لیتر محلول رقیق‌کننده وارد گردید تا رقت 10^{-2} به‌دست آید. این عمل تا به‌دست آوردن رقت‌های 10^{-8} ادامه یافت. در این بخش کشت باکتری لاکتوباسیل به‌صورت آمیخته یا پورپلیت و کشت کلی‌فرم، *اشریشیا کلی* و کل هوازی به‌صورت سطحی انجام پذیرفت. برای این منظور ابتدا شرایط استریل مهیا شده و سپس جهت کشت هرکدام از باکتری‌ها دو پتری‌دیش آماده شد و یک میلی‌لیتر از رقت مورد نظر را در داخل پتری‌دیش‌ها وارد کرده و بر روی آن‌ها از محیط‌های کشت (با دمای ۴۸ درجه سانتی‌گراد) ریخته و حدود ۳۰ ثانیه پلیت‌ها را به‌صورت هشت انگلیسی (مارپیچی) روی میز تکان داده تا قبل از سفت شدن محیط، رقت‌ها در محیط کشت پخش شوند. بعد از کشت باکتری‌ها، پلیت‌های (محیط کشت) لاکتوباسیل در شرایط بی‌هوازی (استفاده از جار بی‌هوازی) و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و پلیت‌های حاوی EMB برای کشت *اشریشیا کلی* و محیط MCA برای *کلی‌فرم*، در شرایط هوازی و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. واحدهای تشکیل کلنی در پلیت‌ها پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تلقیح مورد ارزیابی و شمارش قرار گرفتند. در این قسمت رقتی انتخاب می‌شود که تعداد کلنی‌ها آن بین ۳۰۰- ۳۰ و تعداد کلنی‌ها به‌صورت زیر محاسبه شدند.

رابطه (۶)

تعداد کلنی × عکس رقت = جمعیت ریزجانداران در هر گرم ماده

(CFU/g)

اگر پلیت با تعداد کلنی بین ۳۰ تا ۳۰۰ وجود نداشــته باشــد، دو حالت اتفاق می‌افتد. تعداد کلنی کم‌تر از ۳۰ عدد باشد که در این حالت کلنی را در غلیظ‌ترین رقت (کم‌ترین رقت) مبنا قرار داده و تعداد باکتری‌ها را شمارش کرده و با استفاده از فرمول بالا تعداد کلنی را در هر گرم ماده را محاســبه می‌نماییم و اگر تعداد کلنی‌ها بالاتر از ۳۰۰ عدد با شد در این حالت در هر ۱۳ سانتی‌متر بر روی پلیت تعداد کلنی را شمارش نموده و عدد بدست‌آمده را بر ۱۳ تقسیم می‌کنیم تا تعداد کلنی تقریبی در هر یک ســانتی‌مترمربع بدســت آید. این عدد را مبنا قرار داده و با توجه به مســاحت ســطح پلیت تعداد ریزجانداران را محاسبه و به‌صورت زیر گزارش می‌گردند.

رابطه (۷)

$$\text{عکس رقت} \times \text{مساحت پلیت} \times X = \frac{\text{جمعیت ریزجانداران (CFU/g)}}{\text{در هر گرم ماده}}$$

برای مطالعه تغییرات ریخت‌شــناســی بخش‌های مختلف روده کوچک، در روز پایانی آزمایش یک پرنده از هر تکرار به‌صــورت تصادفی انتخاب گردید. سپس حدود پنج سانتی‌متر از قسمت ابتدایی دوازدهه و ژژنوم جداشــده و نمونه بافتی حداکثر با ضــخامت ۰/۵ ســانتی‌متر تهیه و به محلول فرمالین ۱۰ درصــد انتقال یافت. جهت انجام مراحل آماده سازی و تهیه مقاطع بافتی به کمک تیغه اسکالپل، نمونه‌های بافتی پایدار (فیکس) شــده از داخل محلول فرمالین خارج گردید. به دنبال تهیه مقاطع بافتی و جاگذاری آن‌ها در حامل‌های مخصــوص (بسـکت‌ها)، مراحل آماده‌ســازی نمونه‌ها توسـط دسـتگاه خودکار آماده‌کننده بافت (هیستوکینت) صورت گرفت. برای آماده‌سازی نمونه‌ها بافتی سه مرحله: آبگیری، شفاف‌سازی و پارافینه شدن انجام شــد. مرحله آب‌گیری از نمونه‌های بافتی، با قرار دادن آن‌ها در داخل محلول الکل اتیلیک با درجات صــعودی صــورت گرفت. برای شـفاف‌سـازی نمونه‌ها و گرفتن الکل از زایلل اسـتفاده گردید. پارافینه کردن به‌منظور اشـباع‌سـازی نمونه‌ها با پارافین صـورت پذیرفت و در نهایت، پس از خروج نمونه‌ها از دســتگاه یاد شــده، تهیه بلوک‌های بافتی با استفاده از قالب انجام شد. تهیه برش‌های عرضی (سه مقطع بافتی از هر قسمت از روده کوچک هر جوجه) از نمونه‌های آماده شده، مرحله بعدی بود که به کمک دستگاه میکروتوم چرخان و با ضخامت ۶- ۵ میکرومتر صورت گرفت. برش‌های تهیه‌شده داخل آب ۴۰ درجه سـانتی‌گراد شـناور گردید تا پس از صـاف شـدن چروک‌های احتمالی آن‌ها، به‌راحتی روی لام قرار گیرند. رنگ‌آمیزی بافت‌های پایدار شــده روی لام، پس از پارافین با زایلل و آب‌دهی با درجات نزولی الکل اتیلیک، به کمک هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) انجام گردید (Iji *et al.*, 2001). قبل از انجام مطالعات میکروســکوپی، جهت مصــونیت بیش‌تر، روی بافت‌های تهیه‌شـده لامل چسـبانده شـد. برای بررسـی بافت‌های تهیه‌شــده از میکروســکوپ نوری (نیکون، مدل YS۱۰۰، ساخت کشور چین) مجهز به عدسی Digital Dino-Lite و نرم‌افزار Dino capture software II اســتفاده شــد. فراســنجه‌های مورد اندازه‌گیری شـامل: ارتفاع و عرض پرزها، عمق کریپت، نسـبت ارتفاع پرزها به عمق کریپت‌ها بودند.

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصـادفی با چهار تیمار، هشـت تکرار به انجام رسـید. داده‌های آزمایش با اسـتفاده از نرم‌افزار آماری SAS (2003) و رویه GLM مورد آنالیز قرار گرفت و جهت مقایســه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در ســطح خطای پنج درصد استفاده شد. مدل آماری طرح به‌صورت زیر می‌باشد.

رابطه (۸) $Y_{ij}= \mu + T_i+ e_{ij}$

که در آن، Y_{ij}: مربوط به تکرار (j) از تیمار (i)ام، μ: میانگین مشاهدات کل آزمایش T_i: اثر تیمار (i)ام و e_{ij}: خطای آزمایش مربوط به تکرار (i)ام از تیمار (j)ام است.

نتایج و بحث

تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر عملکرد تولیدی مرغان تخم‌گذار در طول دوره آزمایش در جدول ۲ نشـان داده شـده اسـت. مصرف خوراک، وزن تخم‌مرغ، در صد تولید، و ضریب تبدیل خوراک مرغان تخم‌گذار در طول دوره آزمایش، تحت تأثیر استفاده از سطوح مختلف مخمر اتولیز شده قرار نگرفت ($P>0.05$). در توافق با آزمایش حاضر، یالسین و همکاران (Yalçin *et al.*, 2008) با افزودن مخمر *ساکارومایسز سرویزیا* به جیره مرغان تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری در مصــرف خوراک و درصــد تولید پرندگان گزارش نکردند. همچنین نرســوی و همکاران (Nursoy *et al.*, 2004) گزارش کردند که افزودن مخمر به جیره مرغ تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری بر وزن تخم‌مرغ ندارد. کویاما و همکاران (Koiyama *et al.*, 2018) با اســتفاده از سـطوح مختلف دیواره سـلولی مخمر (۲۲۵، ۴۵۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) در تغذیه مرغان تخم‌گذار گزارش نمودند که پرندگان مصرف‌کننده سطح ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مخمر مصرف خوراک، درصد تولید و توده تخم‌مرغ بالاتری در مقایسه با سایر تیمارها نشان دادند. امّا تأثیر معنی‌داری در وزن تخم‌مرغ و ضــریب تبدیل خوراک مشاهده نکردند. نتایج پژوهش حاضر در ارتباط با وزن تخم و ضریب تبدیل خوراک در توافق با یافته‌های کویاما و همکاران (Koiyama *et al.*, 2018) می‌باشد. در توافق با یافته‌های پژوهش حاضر، هاشیم و همکاران (Hashim *et al.*, 2013) نیز گزارش نمودند که مصــرف خوراک، درصــد تولید و نیز ضــریب تبدیل خوراک مرغان تخم‌گذار تحت تأثیر اسـتفاده از سـطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ دیواره سـلولی مخمر قرار نگرفت. آهیوا و همکاران (Ahiwe *et al.*, 2019) با استفاده از مخمر اتولیز شده در تغذیه جوجه‌های گوشتی مواجه شده با *سالمونلا*، بیان نمودند که استفاده از مخمر در ۱۰ روزگی تأثیر معنی‌داری بر مصرف

خوراک نداشت، ولی در ۲۴ و ۳۵ روزگی، افزودن مخمر توانست مصرف خوراک پرندگان مواجه شده با *سالمونلا* را در مقایسه با پرندگانی که تنها با *سالمونلا* آلوده شده بودند افزایش دهد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج این محققین در تناقض است. شاید بتوان دلیل این تناقض را به تنش اعمال شده در پژوهش آهیوا و همکاران (Ahiwe *et al*., 2019) ربط داد. یک فرضیه در ارتباط با عدم تأثیر معنی‌دار افزودنی‌هایی مثل مخمر بر فراسنجه‌های عملکردی مرغان تخم‌گذار پرورش یافته در قفس این است که پرندگان مذکور در شرایط بهداشتی نگهداری می شوند. در یک مطالعه که توسط مارتینز و همکاران (Martínez *et al*., 2010) انجام شد، درصد تولید، مصرف خوراک، ضریب تبدیل خوراک، واحد هاو، ضخامت پوسته و رنگ زرده تخم‌مرغ تحت تأثیر مکمل کردن جیره مرغان تخم‌گذار ۴۵ هفته سن با سطح ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از دیواره سلولی مخمر قرار نگرفت. با این وجود، در آزمایش دیگری که توسط همین محققین بر روی مرغان تخم‌گذار (۴۳ هفته) پرورش یافته در بستر انجام گرفت، مکمل نمودن دیواره سلولی مخمر باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک، درصد تولید و توده تخم‌مرغ شد. این یافته ممکن است به‌دلیل اثر مانان الیگوساکاریدها بر روی جمعیت میکروبی دستگاه گوارش پرندگان باشد. زیرا مشخص شده است که مانان الیگو ساکاریدها باعث بلوکه کردن مکان‌های اتصال باکتری‌های بیماری‌زا شده و از اتصال آن‌ها به دیواره روده جلوگیری می‌کنند. بنابراین، عملکرد بهتر پرندگان نگهداری شده در بستر در اثر استفاده از مخمر، ممکن است به‌دلیل دسترسی بیشتر و قابلیت هضم بالاتر مواد مغذی در نتیجه، تعادل میکروبی بهتر در دستگاه گوارش پرندگان باشد (Spring *et al*., 2000). اگرچه در پژوهش حاضر استفاده از مخمر اتولیز شده باعث بهبود جمعیت میکروبی سکوم مرغان تخم‌گذار شد (جدول ۴)، ولی این تغییر نتوانست فراسنجه‌های عملکردی را تحت تأثیر قرار دهد.

جدول ۲– اثر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر عملکرد تولیدی مرغان تخم‌گذار در طول دوره آزمایش

Table 2- Effect of different levels of autolyzed yeast on productive performance of laying hens during the experiment

مورد Item	مصرف خوراک (گرم) Feed intake (g)	تولید تخم‌مرغ (درصد) Egg production (%)	وزن تخم‌مرغ (گرم) Egg weight (g)	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio
سطح مخمر اتولیز شده (سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب) Autolyzed yeast level (CC/1000L)				
0	109.96	79.70	63.7	2.13
250	112.97	80.60	64.3	2.18
500	114.15	81.43	64.2	2.17
750	112.02	76.08	64.1	2.29
SEM[1]	3.19	2.05	0.646	0.095
P- Value	0.819	0.290	0.899	0.681

[1] خطای استاندارد از میانگین

[1] Standard error of the means

تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر خصوصیات کیفی تخم‌مرغ مرغان تخم‌گذار در وسط و انتهای آزمایش در جدول ۳ نشان داده شده است. در هفته چهارم آزمایش، افزودن مخمر اتولیز شده به آب آشامیدنی تنها رنگ زرده تخم‌مرغ را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرارداد. رنگ زرده تخم‌مرغ در سطح ۲۵۰ سی سی مخمر اتولیز شده در مقایسه با سطح ۷۵۰ سی‌سی مخمر به‌طور معنی‌داری پررنگ‌تر بود ($P<0/05$). در هفته هشتم آزمایش نیز، تنها رنگ زرده تخم‌مرغ تحت تأثیر معنی‌دار افزودن مخمر قرار گرفت، به‌طوری‌که شاهد به‌طور معنی‌داری تخم‌مرغ‌هایی با زرده پررنگ‌تر در مقایسه با سطوح ۵۰۰ و ۷۵۰ سی سی مخمر داشتند ($P<0/05$). در توافق با آزمایش حاضر، یالسین و همکاران (Yalçin *et al*., 2008) گزارش نمودند که افزودن مخمر به جیره مرغ تخم‌گذار هیچ‌کدام از فراسنجه‌های کیفی تخم‌مرغ را تحت تأثیر قرار نداد. همچنین کویاما و همکاران (Koiyama *et al*., 2018) با استفاده از سطوح مختلف دیواره سلولی مخمر (۲۲۵، ۴۵۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) در تغذیه مرغان تخم گذار گزارش نمودند که واحد هاو تخم‌مرغ در پرندگان تغذیه‌شده با سطح ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مخمر در مقایسه با شاهد افزایش یافت. نشان داده شده است که تخم‌مرغ‌های با واحد هاو بالاتر از ۷۲ دارای کیفیت عالی، در محدوده ۶۰ تا ۷۲ دارای کیفیت خوب و واحد هاو کمتر از ۶۰ دارای کیفیت پایینی هستند (USDA, 2000). بنابراین، در پژوهش حاضر تمام تخم‌مرغ‌های پرندگان تغذیه‌شده با مخمر اتولیز شده کیفیت عالی را نشان دادند اگرچه، به لحاظ آماری این شاخص معنی‌دار نشد. در توافق با نتایج پژوهش حاضر، کویاما و همکاران (Koiyama *et al*., 2018) با استفاده از سطوح مختلف دیواره سلولی مخمر (۲۲۵، ۴۵۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) در تغذیه مرغان تخم گذار گزارش نمودند که مقاومت پوسته تخم‌مرغ تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. اگرچه ضخامت پوسته در تیمار ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مخمر افزایش نشان داد. در پژوهش حاضر، تیمار سطح ۲۵۰ سی‌سی مخمر اتولیز شده باعث افزایش رنگ زرده تخم‌مرغ شد و سطوح بالاتر چنین اثری را نشان ندادند. اگرچه دیواره سلولی مخمر

حاوی کاروتنوئید اســت و اســتفاده از آن‌ها می‌تواند پیگمان‌های رنگی زرده را تغییر بدهد، ولی چنین تأثیری تنها در ســطح ۲۵۰ مخمر دیده شد. این نتایج در توافق با یافته‌های کویاما و همکاران Koiyama et al., 2018) که تأثیر معنی‌داری در اثر ا ستفاده از دیواره سلولی مخمر در رنگ زرده تخم‌مرغ در تغذیه مرغان تخم‌گذار مشـــاهده نکردند، می‌باشد.

جدول ۳- اثر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر صفات کیفی تخم‌مرغ مرغان تخم‌گذار در طول دوره آزمایش

Table 3- Effects of different levels of autolyzed yeast on the egg quality traits of laying hens during the experiment

صفت Traits	هفته Weeks	سطح مخمر اتولیز شده (سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب) Autolyzed yeas level (CC/1000L)				SEM[1]	P-Value
		0	250	500	750		
واحد هاو Haugh unit	هفته چهارم 4^{th} week	71.60	80.16	77.91	80.10	3.52	0.282
	هفته هشتم 8^{th} week	81.85	84.00	82.90	81.50	1.84	0.770
رنگ زرده Yolk color	هفته چهارم 4^{th} week	6.79^{ab}	7.25^{a}	6.54^{ab}	6.04^{b}	0.257	0.015
	هفته هشتم 8^{th} week	6.63^{a}	6.27^{ab}	5.91^{bc}	5.58^{c}	0.149	<0.0001
مقاومت پوسته (کیلوگرم/سانتی‌مترمربع) Eggshell strength (kg/cm^3)	هفته چهارم 4^{th} week	2.01	2.01	1.70	1.98	0.197	0.171
	هفته هشتم 8^{th} week	1.29	1.63	1.40	1.24	0.158	0.316
ضخامت پوسته (میلی‌متر) Eggshell thickness (mm)	هفته چهارم 4^{th} week	0.371	0.372	0.354	0.378	0.007	0.620
	هفته هشتم 8^{th} week		0.355	0.358	0.350	0.008	0.840

[۱] خطای استاندارد از میانگین

[a-c] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه به لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد ($P < ۰/۰۵$).

[1] Standard error of the means

[a-c] Means within same row with different superscripts differ significantly ($P<0.05$).

تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر جمعیت میکروبی سکوم مرغان تخم‌گذار در جدول ۴ نشان داده‌شده است. افزودن مخمر اتولیز شـــده در ســـطوح ۵۰۰ و ۷۵۰ ســـی‌ســـی در ۱۰۰۰ لیتر آب به‌طور معنی‌داری ($P <۰/۰۵$)، جمعیت *لاکتوبا سیل* را افزایش و جمعیت *کلی فرم‌های* ســکوم را کاهش داد. همچنین افزودن مخمر اتولیز شــده در سطح ۷۵۰ سی سی در ۱۰۰۰ لیتر آب به‌طور معنی‌داری ($P <۰/۰۵$) جمعیت *ا شر شیاکولی* سکوم را در مقایسه با سایر تیمارها کاهش داد. بورتولزی و همکاران (Bortoluzzi et al., 2018) با استفاده از سطوح ۰/۲ و ۰/۴ درصد مخمر اتولیز شده و نیز ۵۵ پی‌پی‌ام باسیتراسین روی در تغذیه جوجه‌های گوشتی گزارش نمودند که جمعیت *انتروکوکوس‌ها* در ایلئوم در ه شت روزگی در سطح ۰/۴ در صد مخمر اتولیز شده در مقایسه با سطح ۰/۲ درصد کاهش یافت، امّا هر دو گروه دریافت‌کننده مخمر جمعیت *لاکتوباســیل* کمتری در مقایســه با تیمار باســیتراســین روی ن شان دادند. پرندگانی که سطح ۰/۲ در صد مخمر اتولیز شده را دریافت کرده بودند، جمعیت *ا شر شیاکولی* کمتری در سکوم در مقایسه با تیمار با سیترا سین روی ن شان دادند که با نتایج پژوهش حا ضر در ســطح ۷۵۰ ســی‌ســی در ۱۰۰۰ لیتر آب هم‌خوانی دارد. به‌طور کلی، آن‌ها بیان کردند مخمر اتولیز شــده از طریق بهبود ســیســتم ایمنی و جمعیت میکروبی روده، باعث بهبود عملکرد رشـد جوجه‌های گوشـتی می شود. شانگ و همکاران (Shang et al., 2018)، در آزمای شی به برر سی اثر مکمل سازی جیره با فروکتوالیگوساکارید به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک بر روی جمعیت میکروبی ایلئوم و ســـکوم جو جه های گوشـــتی پرداختند و به این نتیجه رســیدند که تنوع جمعیت باکتریایی ایلئوم و ســـکوم تحت تأثیر جیره مصـــرفی قرار دارد. همچنین اظهار داشـــتند مکمل ســـازی جیره با فروکتوالیگوســـاکارید باعث کاهش قابل‌توجه جمعیت باکتری‌های پاتوژن (*هلیکوباکترها*) مخاط ایلئوم و به‌طورکلی تعدیل جمعیت باکتری دســـتگاه گوارش در جهت بهبود عملکرد و سلامت جوجه‌های گو شتی می شود. پری بیوتیک‌ها تو سط د ستگاه گوارش ه ضم و جذب نمی شوند و به‌عنوان منبع غذایی برای باکتری‌های مفیدی مثل *لاکتوباســیل‌ها* و *بیفیدوباکترها* در قســـمت

پایینی روده استفاده می‌شوند (Adhikari and Kim, 2017). بنابراین، به نظر می‌رسد که جمعیت *لاکتوباسیل‌ها* با مکمل نمودن پری‌بیوتیک‌ها باید افزایش یابد که نتایج این پژوهش نیز در تأیید این مطلب می‌باشد. به لحاظ ساختار شیمیایی، پری‌بیوتیک‌هایی مثل فروکتوالیگوساکاریدها توسط باکتری‌های روده تخمیر می‌شوند درحالی‌که مانان الیگوساکاریدها با اتصال به باکتری‌های مضری مثل *اشرشیاکولی* و *سالمونلا* باعث کاهش کلنی شدن آن‌ها می‌شود (Ricke, 2018). این عمل باعث کاهش اتصال ریزجانداران مضر به سلول های اپیتلیوم روده و در نهایت، باعث دفع آن ها از طریق فضولات می‌شود (Adhikari *et al*., 2018). شاید دلیل کاهش جمعیت سکومی *اشرشیاکولی* و کلی فرم در سطح بالای مخمر اتولیز شده به همین علت با شد. ادهیکاری و همکاران (Adhikari *et al*., 2018) نشان دادند که مکمل نمودن فروکتوالیگوساکاریدها به جیره مرغان تخم‌گذار چالش داده‌شده با سالمونلا اینتریتیدیس باعث کاهش تکثیر *سالمونلا* و کاهش کلنی شدن باکتری‌ها در تخمدان می‌شود. ازآنجاکه فروکتوالیگوساکاریدها توسط باکتری‌های مفید روده تخمیر می‌شوند، تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و اسیدلاکتیک افزایش می‌یابد (Ricke, 2018). مشخص‌شده است که باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک pH کمتر را می‌توانند تحمل کنند، ولی باکتری‌های مضری مثل *اشرشیاکولی* قابلیت تحمل pH پایین را ندارند (Russell, 1992).

جدول ٤– اثر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر جمعیت میکروبی روده کور مرغان تخم‌گذار در پایان آزمایش (log CFU/g)

Table 4- Effect of different levels of autolyzed yeast on cacal microbial population of laying hens at the end of the experiment (log CFU/g)

سطح مخمر اتولیز شده (سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب) Autolyzed yeas level (CC/1000L)	*کلی‌فرم* *Coliform*	*اشرشیاکولی* *Escherichia coli*	*لاکتوباسیل* *Lactobacilli*
0	5.09[ab]	5.09[a]	4.86[b]
250	5.34[a]	5.23[a]	4.89[b]
500	4.82[b]	5.13[a]	5.12[a]
750	4.77[b]	4.63[b]	5.26[a]
SEM	0.163	0.076	0.075
P-value	0.085	0.0002	0.004

[۱] خطای استاندارد از میانگین

[a-b] میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشابه به لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد (P < ۰/۰۵).

[1] Standard error of the means

[a-b] Means within column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر فراسنجه‌های لیپیدی خون مرغان تخم‌گذار در جدول ۵ نشان داده شده است. غلظت تری گلیسیرید، کلسترول و LDL خون مرغان تخم‌گذار تحت تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده قرار نگرفت (P>۰/۰۵). در توافق با نتایج پژوهش حاضر، یالسین و همکاران (Yalçin *et al*., 2008) با استفاده از سطوح صفر و ۰/۲ درصد مخمر تجاری در جیره‌های بر پایه کنجاله سویا یا کنجاله آفتابگردان به‌عنوان منبع پروتئینی در تغذیه مرغان تخم‌گذار تفاوت معنی‌داری در غلظت کلسترول و تری‌گلیسیرید سرم خون پرندگان مشاهده نکردند. موهان و همکاران (Mohan *et al*., 1995) کاهش غلظت کلسترول سرم خون در مرغان تخم گذار تغذیه‌شده با پروبیوتیک را گزارش نمودند.

جدول ۵– اثر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر برخی فرانسجه‌های خونی مرغان تخم‌گذار در پایان آزمایش (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)

Table 5- Effect of different levels of autolyzed yeast on serum metabolites of laying hens at the end of the experiment (mg/dl)

سطح مخمر اتولیز شده (سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب) Autolyzed yeas level (CC/1000L)	تری‌گلسیرید Triglyceride	کلسترول Cholesterol	LDL
0	1083.67	91.66	41.66
250	1031.00	105.33	51.00
500	1064.33	109.33	47.00
750	907.67	94.66	51.00
SEM[1]	72.28	11.86	3.60
P-value	0.371	0.689	0.286

[۱] خطای استاندارد از میانگین

[1] Standard error of the means

نتایج تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر هیستومورفومتری روده مرغان تخم‌گذار در جدول ۶ نشان داده‌شده است. با افزایش سطح مخمر اتولیز شده ارتفاع پرز دوازدهه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). به‌طوری که پرندگان مصرف‌کننده سطح ۷۵۰ سی‌سی مخمر در هزار لیتر آب ارتفاع پرز بالاتری در دوازدهه در مقایسه با شاهد و سطح ۲۵۰ سی‌سی مخمر در هزار لیتر آب داشتند. ضخامت پرز در دوازدهه تحت تأثیر معنی‌دار اعمال تیمارها قرار نگرفت (P>۰/۰۵). درحالی‌که عمق کریپت و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در دوازدهه در پرندگان مصرف‌کننده سطح ۷۵۰ سی‌سی مخمر در هزار لیتر آب به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد و سطح ۲۵۰ سی‌سی مخمر در هزار لیتر آب به‌ترتیب کاهش و افزایش نشان داد (P<۰/۰۵).

جدول ٦- اثر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر برخی فراسنجه‌های مورفولوژی روده مرغان تخم‌گذار در پایان آزمایش (میکرومتر)

Table 6- Effect of different levels of autolyzed yeast on some morphological parameters of intestine of laying hens at the end of the experiment (µm)

مورد Item	سطح مخمر اتولیز شده (سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب) Autolyzed yeas level (CC/1000L)				SEM[1]	P-Value
دئودنوم Duodenum	0	250	500	750		
ارتفاع پرز Villus height	1197.54[b]	1047.61[b]	1315.98[ab]	1516.65[a]	96.19	0.022
ضخامت پرز Villus thickness	114.04	133.31	130.69	130.70	10.58	0.566
عمق کریپت Crypt depth	150.33[a]	146.19[a]	134.56[ab]	117.06[b]	8.97	0.076
ارتفاع پرز به عمق کریپت Villus height/crypt depth	7.97[b]	7.16[b]	9.78[b]	12.95[a]	0.822	0.0006
ژژنوم Jejunum						
ارتفاع پرز Villus height	980.46	1010.32	862.53	774.67	87.62	0.241
ضخامت پرز Villus thickness	115.66	126.72	129.41	143.37	9.93	0.304
عمق کریپت Crypt depth	108.94[a]	98.55[a]	100.62[a]	77.40[b]	4.93	0.002
ارتفاع پرز به عمق کریپت Villus height/crypt depth	9.00	10.25	8.57	10.00	0.967	0.573
ایلئوم Ileum						
ارتفاع پرز Villus height	594.68	664.08	522.40	565.45	62.03	0.453
ضخامت پرز Villus thickness	107.52	109.77	106.78	114.24	13.27	0.978
عمق کریپت Crypt depth	87.56[ab]	88.41[ab]	108.11[a]	64.77[b]	9.35	0.037
ارتفاع پرز به عمق کریپت Villus height/crypt depth	6.79	7.51	4.83	8.73	1.06	0.118

[۱] خطای استاندارد از میانگین

[a-b] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه به لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد (P < ۰/۰۵).

[1] Standard error of the means

[a-b] Means within same row with different superscripts differ significantly (P<0.05).

در ناحیه ژژنوم، ارتفاع پرز، ضخامت پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت تحت تأثیر اعمال تیمارها قرار نگرفت (P>۰/۰۵). امّا عمق کریپت ژژنوم در پرندگان مصرف‌کننده بالاترین سطح مخمر اتولیز شده در مقایسه با سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). در ناحیه ایلئوم، عمق کریپت در بالاترین سطح مخمر اتولیز شده در مقایسه با سطح ۵۰۰ به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد (P<۰/۰۵). امّا ارتفاع پرز، ضخامت پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ایلئوم معنی‌دار نشد (P>۰/۰۵). مورفولوژی لایه مخاطی روده کوچک پرندگان به سن، جیره مصرفی و فلور باکتریایی بستگی دارد (VanLeeuwen *et al*., 2004). وضعیت مخاط و ساختار میکروسکوپی آن شاخص خوبی از پاسخ روده به مواد فعال در خوراک و تغییرات مورفولوژی روده‌ای مانند پرزهای کوتاه‌تر و عمیق شدن کریپت در حضور مواد سمی می‌باشد (Viveros *et al*., 2011). همچنین وضعیت هیستولوژیکی مخاط روده نشانه خوبی از وضعیت سلامتی پرنده است. به‌طوری‌که پرز کوتاه‌تر و کریپت عمیق‌تر سبب جذب کمتر، افزایش ترشح موکوس به مجرای گوارشی، اسهال، کاهش مقاومت به بیماری و کاهش عملکرد می‌گردد (Masouri *et al*., 2017). سلول‌های پوششی پرز از کریپت منشأ گرفته و کریپت را می‌توان به‌عنوان کارخانه ساخت پرز در نظر گرفت. کریپت کم‌عمق‌تر نشانه ترن‌آور کندتر بافتی و نیاز کمتر به ساخت بافت جدید است. افزایش ترن‌آور سلولی نیاز به مواد مغذی را افزایش داده و سبب کاهش عملکرد در پرندگان می‌شود (Parsaie *et al*., 2007). ظرفیت جذب سلول‌های انترو سیت وابسته به ارتفاع پرز است. کاهش ارتفاع پرز سبب کاهش سطح برای جذب مواد مغذی می‌گردد. نسبت بیشتر ارتفاع پرز به عمق کریپت نشان‌دهنده بهبود وضعیت مخاط روده است (Xu *et al*., 2003). بنابراین، افزایش این شاخص در دوازدهه پرنده‌های تغذیه شده با سطح ۷۵۰ مخمر اتولیز شده در این آزمایش می‌تواند یکی از اثرات مفید استفاده از این مکمل در تغذیه طیور باشد. در پژوهش حاضر، در نتیجه استفاده از مخمر اتولیز شده، ارتفاع پرز دوازدهه افزایش و عمق کریپت کاهش یافت. در توافق با این یافته‌ها، سانتین و همکاران (Santin *et al*., 2001) گزارش نمودند که مکمل نمودن جیره‌ای دیواره سلولی مخمر *ساکارومایسز سرویسیا* باعث افزایش ارتفاع پرز و کاهش عمق کریپت می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از سطوح مختلف مخمر اتولیز شده در تغذیه مرغان تخم‌گذار اگرچه نتوانست فراسنجه‌های عملکردی و کیفی تخم‌مرغ را تحت تأثیر قرار دهد، امّا جمعیت *لاکتوباسیل* را افزایش و جمعیت *کلی فرم‌های* سکوم را کاهش و ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت دوازدهه را افزایش داد.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت فراهم نمودن زمینه جهت انجام کار تحقیقاتی تشکر و قدردانی می گردد.

References

1. Adhikari, P. A., & Kim, W. K. (2017). Overview of prebiotics and probiotics: focus on performance, gut health and immunity–A review. *Animal Science*, 4, 949–966. https://doi.org/10.1515/aoas-2016-0092.
2. Adhikari, P. A., Cosby, D. E., Cox, N. A., Franca, M. S. S., Williams, M., & Gogal Jr, R. M. (2018). Effect of dietary fructooligosaccharides supplementation on internal organs Salmonella colonization, immune response, ileal morphology, and ileal immunohistochemistry in aying hens challenged with *Salmonella enteritidis*. *Poultry Science*, *97*, 2525–2533. https://doi: 10.3382/ps/pey101.
3. Ahiwe, E. U., Abdallh, M. E., Chang'a, E. P., Al-Qahtani, M., Omede, A. A., Graham, H., & Iji, P.A. (2019). Influence of autolyzed whole yeast and yeast components on broiler chickens challenged with *salmonella lipopolysaccharide*. *Poultry Science*, 98(12), pp.7129-7138. https://doi.org/10.3382/ps/pez452.
4. Bortoluzzi, C., Barbosa, J. G. M., Pereira, R, Fagundes, N. S., Rafael, J. M and Menten, J. F. M. (2018). Autolyzed yeast (Saccharomyces cerevisiae) supplementation improves performance while modulating the intestinal immune system and microbiology of broiler chickens. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 2:85. https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00085.
5. Botsoglu, N. A. & Fletouris, D. J. (2001). Drug resistant in foods. Pharmacology, Food Safety and Analysis. NewYork, Marcel Dekker, Inc. 541-548.
6. Çabuk, M., Alçiçek, A., Bozkurt, M. & İmre, N. (2003). Antimicrobial properties of the essential oils isolated from aromatic plants and using possibility as alternative feed additives. II. National Animal Nutrition Congress. 18-20 September, Konya, Turkey. pp. 184-187.
7. Davis, M. E., Maxwell, C. V., Erf, G. F., Brown, D. C., & Wistuba, T. J. (2004). Dietary supplementation with phosphorylated mannans improves growth response and modulates immune function of weanling pigs. *Animal*

Science. *82*, 1882–1891. https://doi: 10.2527/2004.8261882x.
8. Hashim, M., Fowler, J., Haq, A., & Bailey, C.A., (2013). Effects of yeast cell wall on early production laying hen performance. *Journal of Applied Poultry Research*, *22*(4), pp.792-797. https://doi.org/10.3382/japr.2012-00712.
9. Iji, PA., Saki, A., & Tivey, DR. (2001). Intestinal development and body growth of broiler chicks on diets supplemented with non-starch polysaccharides. *Animal Feed Science and Technology*, *89*, 175-188. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00223-6.
10. Jaehrig, S.C., Rohn, S., Kroh, L.W., Wildenauer, F.X., Lisdat, F., Fleischer, L.G. and Kurz, T. (2008). Antioxidative activity of (1→ 3), (1→ 6)-β-d-glucan from Saccharomyces cerevisiae grown on different media. *LWT-Food Science and Technology*, *41*(5), pp.868-877. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.06.004.
11. Koiyama, N. T. G., Utimi, N. B. P., Santos, B. R. L., Bonato, M. A., Barbalho, R., Gameiro, A. H., Araújo, C. S. S., & Araújo, L.F. (2018). Effect of yeast cell wall supplementation in laying hen feed on economic viability, egg production, and egg quality. *Journal of Applied Poultry Research*, *27*(1), 116-123. https:// http://10.3382/japr/pfx052.
12. Leeson, S., & Summers, J. D. (2008). Commercial Poultry Nutrition. 3rd Edition. Nottingham University Press, England.
13. Martínez, B. F., Contreras, A. A., & González, E. Á. (2010). Use of Saccharomyces cerevisiae cell walls in diets for two genetic strains of laying hens reared in floor and cages. *International Journal of Poultry Science*, 9, 105-108. https:// DOI: 10.3923/ijps.2010.105.108.
14. Masouri, L., Salari, S., Sari, M., Tabatabaei, S., & Masouri, B. (2017). Effect of feed supplementation with *Satureja khuzistanica* essential oil on performance and physiological parameters of broilers fed on wheat- or maize-based diets. *British Poultry Science*, 4, 425-434. https://DOI: 10.1080/00071668.2017.1327701 .
15. Mateo, E. D., Dave, R. I., & Stein, H. H. (2004). Effect of supplemental nucleosides for newly weaned pigs. *Animal Science*, *82*(Suppl. 2), 71.
16. Mohan, B., Kadirvel, M., Bhaskaran, M., & Natarajan, A. 1995. Effect of probiotic supplementation on serum/ yolk cholesterol and on egg shell thickness in layers. *British Poultry Science*, 36, 799–803. https://doi.org/10.1080/00071669508417824.
17. Nursoy, H., Kaplan, O., OGUZ, M., & Yilmaz, O. (2004). Effects of varying levels of live yeast culture on yield and some parameters in laying hen diets. *Indian Veterinary Journal*, *81*, 59-62.
18. Parks, C. W., Grimes, J. L., Ferket. P. R., & Fairchild, A. S. (2001). The effect of mannanoligosaccharides, bambermycins, and virginiamycin on performance of large white male market turkeys. *Poultry Science*, 80, 718–723.https:// DOI: 10.1093/ps/80.6.718 .
19. Parsaie, S. J., Shariatmadari, F., Zamiri, M. J., & Khajeh, K. (2007). Influence of wheat-based diets supplemented with xylanase, bile acid and antibiotics on performance, digestive tract measurements and gut morphology of broilers compared with a maizebased diet. *British Poultry Science*, 48, 594–600. https://doi: 10.1080/00071660701615788.
20. Rezaeipour, V., Fononi, H., & Irani, M. (2012). Effects of dietary L-threonine and *Saccharomyces cerevisiae* on performance intestinal morphology and immune response of broiler chickens. *Animal Sciences*, 42, 266-273. https://hdl.handle.net/10520/EJC127732.
21. Ricke, S.C. (2018). Focus: nutrition and food science: Impact of prebiotics on poultry production and food safety. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 91(2), 151.
22. Russell, J. B. (1992). Glucose toxicity and inability of *Bacteroides ruminicola* to regulate glucose transport and utilization. Applied and Environmental Microbiology, 58(6), 2040-2045. https://doi: 10.1128/aem.58.6.2040 2045.1992
23. Santin, E., Maiorka, A., Macari, M., Grecco, M., Sanchez, J. C., Okada, T. M., & Myasaka, A. M. (2001): Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisae* cell wall. *Journal of Applied Poultry Research*, 10, 236–244. https://doi.org/10.1093/japr/10.3.236.
24. SAS Institute Inc. (2003). SAS/STAT User's Guide Version 9. SAS Institute Inc., Cary, NC.
25. Shang, Y., Kumar, S., Thippareddi, H., & Kim W. K. (2018). Effect of dietary fructooligosaccharide (FOS) supplementation on ileal microbiota in broiler chickens. *Poultry Science*, 97, 3622–3634. https://doi: 10.3382/ps/pey131.
26. Shang, Y., Regassa, A., Kim, J. H., & Kim, W. K. (2015). The effect of dietary fructooligosaccharides supplementation on growth performance, intestinal morphology, and immune response in broiler chickens challenged with *Salmonella enteritidis* lipopolysaccharides. *Poultry Science*, 94, 2887–2897. https://doi: 10.3382/ps/pev275.
27. Shao, Y., Guo, Y., & Wang, Z. (2013). β-1,3/1,6-Glucan alleviated intestinal mucosal barrier impairment of broiler chickens challenged with *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Poultry Science*, 92, 1764–1773. https://doi: 10.3382/ps.2013-03029.
28. Spring, P., Wenk, C., Dawson, K.A., & Newman, K.E. (2000). The effects of dietary mannaoligosaccharides on

cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. *Poultry Science*, 79(2), 205-211. https://doi: 10.1093/ps/79.2.205.

29. USDA Egg-Grading Manual. (2000). Agricultural Handbook Number 75. USDA Agricultural Marketing Service, Washington, DC. 56 p.
30. VanLeeuwen, P., Mouven, J. M. V. M., VanderKlis, J. D., & Verstegen, M. W. A. (2004). Morphology of the small intestinal mucosal surface of broiler in relation to age, diet formulation, small intestinal microflora and performance. *British Poultry Science*, 45, 41-48. https://doi: 10.1080/00071660410001668842.
31. Viveros, A., Chamorro, S., Pizarro, M., Arija, I., Centeno, C., & Brenes, A. (2011). Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks. *Poultry Science*, 90, 566-578. https://doi.org/10.3382/ps.2010-00889.
32. Xu, Z. R., Hu, C. H., Xia, M. S., Zhan, X. A., & Wang, M. Q. (2003). Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poultry Science*, *82*, 1030–1036. https://doi: 10.1093/ps/82.6.1030.
33. Yalçin, S., Özsoy, B., & Erol, H. (2008). Yeast culture supplementation to laying hen diets containing soybean meal or sunflower seed meal and its effect on performance, egg quality traits, and blood chemistry. *Journal of Applied Poultry Research*, 17(2), 229-236. https://doi.org/10.3382/japr.2007-00064.

Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1, Spring 2023, p. 107-121

Study of Differential Genes Expression of Uterine tissue Related to EggShell Using Transcriptomics data

Milad Gholami Tahoone [1]*, Hossein Moradi Shahrebabak [2]

Received: 28-11-2021
Revised: 13-06-2022
Accepted: 25-06-2022
Available Online: 25-06-2022

How to cite this article:
Gholami Tahoone, M., & Moradi Shahrebabak, H.(2023). Study of differential genes expression of uterine tissue related to eggshell using transcriptomics data. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 107-121.
DOI: 10.22067/ijasr.2022.73912.1055

Introduction: Due to the high importance of egg shell quality in terms of hardness, extensive transportation with high volume of this product between different countries, the importance of shell quality in terms of protecting the internal content from extra-shell contamination and also one of the ways to improve traits, relying on The genetic structure of a trait is the application of genetic selection. Therefore, the aim this study is to use transcriptome data obtained from uterine tissue of two groups of laying hens with hard and weak eggshell, in each of the three stages of the calcification period (initiation, growth and termination). Gene expression profile was determined and differential expression of genes is analyzed so that different index genes can be expressed and their ontology can be studied to help the results. As a result, the genetic structure of the trait and the list of index genes have been regularly completed, and with the information obtained from the present study, the correct and practical genetic selection can be made in laying hen breeds.

Materials and Methods: The aim of this study was to investigate the gene expression profile between two groups of chickens with hard and weak eggshells in three stages of calcification period (initiation, growth and termination), to identify significant index genes with different expression and analysis. Ontology and the paths involved are related to them. Therefore, in this study, transcripts (total mRNA sequences) of 18 samples of uterine tissue including three replicates in each stage of each group were prepared. The process of converting the initial format of readings was done using SRAtoolkit software, measuring the quality of readings with fastQC software, editing readings with Trimmomatic software and re-measuring the quality of readings after editing with fastQC software; Also, the alignment and mapping of the readings were done using Hisat2 software and format conversion and sorting of results was performed using Samtools software. Finally, the differential expression analysis of genes was performed using Cufflinks software package (Cufflink, Cuffmerge and Cuffdiff software) and Then, considering p-value <0.00025 and the criterion for comparing the value of differential gene expression, log2 (fold_change) less than -4 and greater than +4 were identified as the most significant genes with different and significant expression. Histogram of the results was performed using CummeRbund package in R software environment and ontological analysis was performed using DAVID and Ensembl databases.

Results and Discussion: According to the results of gene expression profile, 28833 genes were identified on the transcript of the samples. Finally, by analyzing the differential expression of genes, 1338 genes at the initiation stage, 81 genes at the growth stage and 190 genes at the termination stage were identified with significantly different expressions, that Considering log2(fold_change) > +4 and log2(fold_change) < -4, 51 genes at the initiation stage, two genes at the growth stage and four genes at the termination stage had different and significant expression. The largest difference in gene expression between the two groups at the initiation stage,

1-Graduted M.Sc. Student, Department of Animal Science, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
2-Associate professor, Department of Animal Science, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
*Corresponding Author's Email: gholami.milad@ut.ac.ir

ENSGALG0000000044418 gene with log2 (fold_change) equal to 8/63 and at the growth stage, ENSGALG0000000049618 gene with log2 (fold_change) equal to 6/82 and at the termination stage, ENSGALG0000000049618 gene with log2 (fold_change) equal to 5/14 was observed. Ontological analysis of index genes showed that they are mainly involved in protein binding activities (ENSGAL000000444418, NMRAL1, SLITRK4, CHL1, ENSGAL00000009041, PHACTR3 and CORIN genes), DNA transcription regulation (LHX1, TFAP2A, RUNX3, ETV1, NR4A3 and RUNX1 genes), immune response (ENSGAL0000000043996, TMEM117, AvBD9, GCNT3, ENSGAL00000046947 and ENSGAL00000051617 genes), fat metabolism (PNPLA3, NR4A3, CD36, FFAR4 and DGKB genes) and calcium ion binding (ANXA10, CAPN8, CDH18 and DGKB genes), respectively.

Conclusion: In the differential expression analysis of genes, considering log2 (fold_change) more than +4 and less than -4, in the initial stage, 51 genes, in the growth stage, two genes and in the termination stage, four genes were identified. The highest differences in gene expression between the two groups were observed in the initial stage, ENSGALG00000044418 and PDZK1IP1 genes, in the growth stage, ENSGALG00000049618, ENSGALG00000048945 and TMEM63C genes and in the termination stage, ENSGALG000000004400 and ENSG26 genes; The results of ontological analysis of index genes showed that they are mainly involved in protein binding, DNA transcription regulation, immune response, lipid metabolism and calcium ion binding, respectively.

Keywords: Calcification, Differential gene expression, Eggshell, Gene ontology, Transcriptome

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد۱۵، شماره۱، بهار۱۴۰۲، ص ۱۲۱-۱۰۷

مطالعه بیان افتراقی ژن‌های بافت رحم مرتبط با کیفیت پوسته تخم مرغ با استفاده از داده‌های ترانسکریپتومیکس

میلاد غلامی طاحونه[1]، حسین مرادی شهربابک[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۰۷
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۳/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۰۴

چکیده

با توجه به نقش کیفیت مطلوب پوسته تخم مرغ در مواردی همچون حمل‌ونقل و تبادلات گازی محتوای داخل تخم مرغ با بیرون از آن و نیز یکی از روش‌های بهبود صفات، با تکیه بر ساختار ژنتیکی صفت، اعمال انتخاب ژنتیکی است؛ در این پژوهش با هدف مطالعه پروفایل بیان ژن و تعیین ژن‌های شاخص با بیان متفاوت، داده‌های خام توالی ترانسکریپتوم دو گروه مرغ با پوسته تخم سخت و ضعیف در سه مرحله از دوره آهکی شدن پوسته به‌ترتیب شامل مراحل شروع، رشد و خاتمه مورد بررسی قرار گرفت. ترانسکریپتوم (توالی کل mRNA) ۱۸ نمونه از بافت رحم با سه تکرار در هر مرحله از هر گروه از پایگاه داده NCBI اخذ گردید و سپس به‌ترتیب مراحل پیش‌پردازش خوانش ها با نرم‌افزار های SRAtookit، fastQC و Trimmomatic، هم‌ردیفی و مکان‌یابی خوانش‌ها با نرم‌افزارهای Hisat2 و Samtools و سپس آنالیز بیان و بیان افتراقی با پکیج نرم‌افزاری Cufflinks انجام شد، در انتها آنالیز هستی شناسی ژن‌های شاخص در دو پایگاه داده DAVID و Ensemble مورد بررسی قرار گرفت. در نتیجه آنالیز بیان افتراقی، ۲۸۸۳۳ ژن بر روی ترانسکریپتوم نمونه‌ها شناسایی شد که در نهایت، ۱۳۳۸ ژن در مرحله شروع، ۸۱ ژن در مرحله رشد و ۱۹۰ ژن در مرحله خاتمه با بیان متفاوت و معنی‌دار شناسایی شد ($P<0.00025$). با در نظر گرفتن $\log2(\text{fold\_change}) > 4$ و $\log2(\text{fold\_change}) < -4$، ۵۱ ژن در مرحله شروع، دو ژن در مرحله رشد و چهار ژن در مرحله خاتمه به‌عنوان شاخص‌ترین ژن‌ها با بیان متفاوت و معنی‌دار مشخص شدند. آنالیز هستی‌شناسی ژن‌های شاخص نشان داد، به‌طور عمده به‌ترتیب در فعالیت‌های اتصال پروتئین، تنظیم رونویسیDNA، پاسخ ایمنی، متابولیسم چربی و اتصال یون کلسیم نقش دارند.

واژه‌های کلیدی: آهکی شدن پوسته، بیان افتراقی ژن، پوسته تخم مرغ، ترانسکریپتوم، هستی‌شناسی ژن

مقدمه

طبق آمار سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO) در سال ۲۰۲۰ میلادی در مجموع در جهان ۸۶/۶ میلیون تن تخم‌مرغ تولید شده‌است که کشورهای چین، سرزمین مرکزی چین و آمریکا به‌ترتیب با تولید ۳۰/۲، ۲۹/۸ و ۶/۶ میلیون تن رتبه های اول تا سوم را داشته‌اند که ایران با رتبه ۲۰ جهان، تولیدی بیش از ۷۵۵ هزار تن را ثبت نموده‌است؛ طبق آمار همین سازمان، در سال ۲۰۲۰ کشورهای نیوزلند، ترکیه و لهستان به‌ترتیب با میزان ۴۱۵ ، ۲۱۷ و ۱۹۸ هزار تن، بیشترین صادرات تخم‌مرغ با پوسته را در کارنامه خود ثبت کردند

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۲-دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: gholami.milad@ut.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.73912.1055

و ایران در سال ۲۰۲۰ میلادی توانسته ۱/۷ هزار تن صادرات انجام‌دهد (FAO,2020). طبق آخرین آمار منتشر شده جهانی، می‌توان نتیجه گرفت صنعت تولید تخم‌مرغ خوراکی، صنعتی با میزان تولید محصول زیاد و نیز نیازمند حمل‌ونقل اعم از صادرات و واردات است؛ اما به‌دلیل حساسیت پوسته تخم‌مرغ نسبت به نیروی خارجی و نیز با توجه به نزدیک شدن تولید تخم‌مرغ به حد بیولوژیکی یک تخم در روز، انجام گرفتن بهینه دوره آهکی شدن پوسته و نیز ایجاد تخم‌مرغ با ضخامت پوسته مطلوب، امری مؤثر بر اقتصاد این صنعت و نیز بازارپسندی محصول می‌باشد؛ از سوی دیگر، نازکی بیش از حد پوسته، خود عاملی بر افزایش آسیب‌پذیری محتوای درون تخم مرغ نسبت به عوامل آلوده‌کننده خارجی اعم از نفوذ گازها و مواد شیمیایی می‌شود.

بیان ژن مکانیسمی حساب‌شده، پیچیده و تنظیم‌گر است که باعث می‌شود، ژنوتیپ به‌صورت فنوتیپ ظاهر شود (Banabazi et al., 2012). در واقع کدهای ژنتیکی که در مولکول DNA ذخیره شده‌اند، به‌وسیله بیان ژن‌ها تفسیر می شوند و خصوصیات و نحوه بیان ژن باعث به‌وجود آمدن فنوتیپ در ارگانیسم خواهدشد (Banabazi et al., 2012). مطالعات بیان ژن به تولید حجم زیادی از داده‌ها در این زمینه منجر شده‌است که در میان انواع متعدد داده‌های بیان ژن، داده‌های RNA-seq به سبب شامل شدن توالی نواحی رونویسی‌شده و پوشش دادن همه این نواحی دارای مزیت زیادی نسبت به سایر انواع داده‌ها هستند؛ در سال‌های اخیر امکانات رایانه‌ای آنالیز این حجم از داده‌ها را در زمان و با هزینه کم امکان‌پذیر ساخته است. از مزایای استفاده از داده‌های RNA-seq، شناسایی ژن‌های جدید است (Gan et al., 2010; Sultan et al., 2008). اساس روش تولید داده‌های RNA-seq، بُرش کل ترانسکریپتوم (mRNA) به قطعات کوچک و سپس توالی‌یابی همه این قطعات است (Haas and Zody, 2010; Marguerat and Bahler, 2010). از این رو، از روی تعداد خوانش-های مکان‌یابی‌شده برای یک ناحیه خاص، می‌توان به یک معیار دقیق از میزان رونویسی آن ناحیه رسید (Ekblom and Galindo, 2010; Wilhem and Landry,2009). شاخص بیان ژن یا به عبارت دیگر، معیار بیان ژن در این روش، محاسبه تعداد خوانش یا قطعه در حد کیلوباز به‌ازای هر یک میلیون خوانش مکان‌یابی‌شده می‌باشد (Mortazavi et al., 2008)، که این شاخص برای طول ژن و تعداد کل خوانش‌های مکان‌یابی‌شده در هر نمونه تصحیح شده و مقادیر برآورد شده برای ژن‌های مختلف با هر طول و تعداد خوانش قابل مقایسه و آزمون می‌باشد.

با توجه به اهمیت بالای صفت کیفیت پوسته تخم‌مرغ از نظر سختی که در حد مطلوب باشد و نیز یکی از روش‌های بهبود صفات، با تکیه بر ساختار ژنتیکی صفت، اعمال انتخاب ژنتیکی است؛ پس در این پژوهش، هدف بر آن است که با استفاده از داده‌های ترانسکریپتوم حاصل از بافت رحم دو گروه از مرغ‌های تخم‌گذار با پوسته‌تخم سخت و ضعیف، در هر یک از سه مرحله دوره آهکی شدن پوسته (شروع، رشد و خاتمه)، پروفایل بیان ژن‌ها تعیین و آنالیز بیان افتراقی ژن‌ها انجام شود، تا در نهایت، بتوان ژن‌های شاخص متفاوت بیان‌شده و نیز هستی شناسی آن‌ها مورد مطالعه قرار گیرد تا به کمک نتایج حاصل، ساختار ژنتیکی مربوط به صفت کیفیت پوسته تخم‌مرغ، هر چه بیشتر معین گردد.

مواد و روش‌ها

اخذ داده از پایگاه اطلاعاتی

داده‌های ترانسکریپتوم حاصل از ۱۸ نمونه بافت رحم در دو گروه با پوسته تخم‌مرغ سخت و ضعیف در سه مرحله متوالی شروع، رشد و خاتمه دوره آهکی شدن پوسته در مرغ‌های نژادهای- لاین- قهوه‌ای در سن ۴۲ هفتگی است که توسط دانشکده تغذیه و علوم تغذیه حیوانات دانشگاه کشاورزی هواجونگ چین به‌صورت کتابخانه ترانسکریپتوم با روش سانگر با استفاده از تکنیک ایلومینا توالی‌یابی و تهیه شده‌است. ۱۸ نمونه بافت مربوط به دو گروه و هر گروه شامل سه زیر گروه (سه مرحله آهکی شدن پوسته) بوده که هر زیر گروه شامل سه قطعه مرغ در دوره تخم‌گذاری بوده است. خوانش‌های حاصل از توالی به‌صورت جفتی (رفت و برگشت) با طول ۱۵۰-۵۰ جفت باز بودند. داده‌های خام از تاریخ ششم مارس سال ۲۰۱۹ در پایگاه اطلاعاتی NCBI با فرمت sra به‌صورت رایگان از طریق لینک زیر در دسترس است:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/SRR8692161

پس از اخذ ۱۸ نمونه داده خام توالی ترانسکریپتوم از پایگاه داده NCBI، تمامی مراحل آماده‌سازی و تجزیه تحلیل آن‌ها در محیط گرافیکی سیستم عامل لینوکس اوبونتو سری ۲۱/۰۴ نسخه ۶۴ بیت بر روی کامپیوتر شخصی (تعداد هسته: هفت عدد، میزان رم: هشت گیگ و میزان حافظه: یک ترابایت) غیر متصل به سرور به‌ترتیب مراحل زیر انجام شد.

تبدیل فرمت خوانش‌ها

به‌علت این که پکیج‌های نرم‌افزاری مورد استفاده در ادامه مسیر آنالیز، توانایی خوانش داده‌های ترانسکریپتومیکس با فرمت fastq را دارند، تبدیل فرمت sra به fastq با استفاده از نرم‌افزار sratoolkit نسخه ۲,۱۰,۲ و کد دستوری زیر انجام شد:

```
fastq-dump  --gzip  -O [output]  [sra_file]
```

سنجش کیفیت خوانش‌ها

سنجش کیفیت با استفاده از نرم‌افزار fastQC نسخه ۰/۱۱/۹ در

محیط جاوا با کمک منوی اصـــلی، برای هر خوانش به‌طور جداگانه با ۱۰ آزمون مختلف انجام شـد (Andrews, 2010). نرم‌افزار نتیجه هر آزمون را جداگانه بررســی نموده و وضـعیت قبول، هشـدار یا رد برای آن‌ها را به‌ترتیب با رنگ‌های ســبز، نارنجی و قرمز در کنار عنوان هر آزمون در پنل سمت چپ نرم‌افزار نشان می‌دهد. در نهایت، براساس نتیجه کیفیت همه نوکلئوتیدها، راجع به کیفیت طول کل خوانش تصمیم‌گیری می‌شود.

ویرایش خوانش‌ها

در صـورتی که داده‌های جفتی (رفت و برگشـت) نیاز به ویرایش داشـته باشـند، نرم‌افزار Trimmomatic نسـخه ۰/۳۹ برای داده‌های توالی‌یابی نسل جدید شرکت ایلومینا بهینه‌سازی شده‌است (Bolger et al., 2014). وظایف این نرم‌افزار شـامل حذف آداپتورها و حذف یا ویرایش خوانش‌های بی‌کیفیت اسـت، که فهرسـت آداپتورهای به‌کار رفته در زمان توالی‌یابی با توجه به دسـتگاه مورد اسـتفاده به‌صـورت پیش‌فرض در برنامه قرار دارد. در این پژوهش، با در نظر گرفتن حداقل طول خوانش‌ها ۵۰ جفت باز، برای ویرایش خوانش‌ها از کد دستوری زیر استفاده شد:

Trimmomatic PE -threads 7 [input_data1.fq] [input_data2.fq] [clean_read1.fq] [trash_read1.fq] [clean_read2.fq] [trash_read2.fq] TRAILING:20 SLIDINGWINDOW:6:20 MINLEN:25

سنجش مجدد کیفیت خوانش‌ها

پس از ویرایش، به جهت اطمینان از صـــحت نتیجه آن، بار دیگر کیفیت خوانش‌ها با اســـتفاده از نرم‌افزار fastQC مورد ســـنجش قرار می‌گیرد تا بتوان با توجه به نتیجه نهایی ویرایش، برای ادامه دادن مسیر تصمیم گیری نمود.

تشکیل ترانسکریپتوم

از اهداف مهم آنالیز داده‌های ترانسکریپتوم، بازسازی مجموعه‌ای کامل از ترانســکریپت ژن‌ها و نیز تخمین میزان ســطوح بیان تمام ترانســکریپت‌هاســت. برای محاســبه ســطح بیان ترانســکریپت‌ها، مکان‌یابی خوانش‌ها بر روی ژنوم مرجع اســـت که مکان دقیق خوانش‌ها را مشـــخص می‌کند. برای انجام این مرحله، علاوه‌بر خوانش‌های ویرایش شـــده، نیاز به داده‌های ژنوم مرجع و اطلاعات حاشیه‌نویسی است که آخرین نسخه به‌روز شده ژنوم مرجع مرغ به همراه فایل حاشیه‌نویسی مربوطه، از بانک اطلاعاتی Ensemble به آدرس‌های زیر دریافت شد:

http://ftp.ensembl.org/pub/release-104/fasta/gallus_gallus/dna/
http://ftp.ensembl.org/pub/release-104/gtf/gallus_gallus/

هم‌ردیفی و مکان‌یابی خوانش‌ها بر روی ژنوم مرجع

در اســتراتژی مکان‌یابی و هم‌ردیفی خوانش‌ها، ابتدا لازم اســت ژنوم مرجع نمایه یا ایندکس شود تا نمایه کاملی از اطلاعات موجود در ژنوم مرجع حاصل شود تا در زمان مکان‌یابی بتوان بیشترین هم‌ردیفی را حاصــل نمود. بســیاری از نرم‌افزارهای هم‌ردیف‌کننده، پیش از نقشـــه یابی، ژنوم مرجع را ایندکس کرده و ســپس از ژنوم تازه ایندکس شده استفاده می‌کنند. برای ایندکس‌کردن ژنوم مرجع توسط نرم‌افزار Hisat2 نسخه ۲٫۲٫۱ از کد دستوری زیر استفاده شد:

Hisat2-build [genome-reference.fa] [output-directory/index-genome]

پس از ایندکس کردن ژنوم مرجع، هشــت فایل تولید شــد که به‌منظور افزایش میزان دقت و صحت نقشه‌یابی، علاوه‌بر این هشت فایل، از ژنوم مرجع و فایل حاشــیه‌نویســی آن نیز برای هم‌ردیفی و نقشه‌یابی استفاده می شود. هم‌ردیفی خوانش‌های کوتاه بر روی ژنوم مرجع نیز با اســتفاده از نرم‌افزار Hisat2 انجام‌شــد (Kim et al., 2015). ویژگی این نرم‌افزار در این است که با تأمین اطلاعات مربوط به ژن‌ها و انواع ترانســکریپت آن‌ها، پیش آگاهی از محل اتصــال برش‌ها و در نظر گرفتن الگوهای جایگزین برای اتصــال برش‌ها، خوانش‌های مربوط به اتصال برش‌ها که بخشی از توالی آن‌ها با توالی اگزون قبل و بخشی دیگر با توالی اگزون‌های بعدی هم‌ردیف می‌گردد را با ســرعت و دقت بالاتری از نواســمبل و مکان‌یابی می‌کند (Bahrami, 2020). برای هم‌ردیفی و مکان‌یابی خوانش‌ها بر روی ژنوم مرجع مرغ از کد دستوری زیر استفاده شد:

hisat2 -p 7 --dta-cufflinks --very-sensitive -x [index-genome] input-1.fq input-2.fq -S output.sam

برای انجام ادامه آنالیز، لازم اســت که خروجی SAM مربوط به خوانش‌ها، به‌فرمت BAM که حاوی نتایج مکان‌یابی و پوشـــش هر خوانش بر روی ژنوم می‌باشد، تبدیل شود. این تبدیل فرمت با استفاده از پکیج نرم‌افزاری samtools با کد دستوری زیر انجام شد:

samtools view -b -S -o [output-file.bam] [input-file.sam]

در ادامه لازم اســت فایل‌های BAM تولیدشــده بر اســاس کروموزوم‌ها به‌ترتیب مرتب شوند و سپس ایندکس از آن‌ها تهیه شود تا بتوان نمایه‌ای از اطلاعات به‌ترتیب شـماره کروموزوم حاصـل نمود، که با کد دستوری‌های زیر انجام شدند:

samtools sort [bam-file.bam] -o [output-sort.bam]
samtools index [sort.bam]

سرهم کردن ترانسکریپتوم

به‌منظور هم‌ردیفی خوانش‌ها و ســرهم کردن ترنســکریپتوم‌های موجود، از بســته نرم‌افزار Cufflinks نســخه ۲/۲/۱ اســتفاده شــد (Github, 2017). در این بسته نرم‌افزاری دلیل اصلی سرهم کردن مجدد، در نظر گرفتن تمام ترانســکریپت‌ها، ژن‌ها، اگزون‌ها و ســایر

ویژگی‌های مختص تیمار مورد بررسی است که این ویژگی‌های ژنی در ترانسکریپتوم مرجع موجود نبودند. کد دستوری زیر جهت هم‌ردیفی و سرهم کردن خوانش‌ها استفاده شد:

cufflinks -p 7 -g [reference-genome.gtf] -o [output-name] -L [output-name] [sort.bam]

تلفیق ترانسکریپتوم‌ها

بعد از اتمام هم‌ردیفی و اسمبلی هرکدام از نمونه‌ها، ترانسکریپتوم‌های تشکیل شده از هر نمونه توسط نرم‌افزار cuffmerge با یکدیگر ادغام می‌شوند و یک فایل ترانسکریپتوم جدید مرجع ادغام‌شده برای تمامی تکرارهای هر نمونه حاصل می‌شود. لازم به ذکر است، قبل از تلفیق ترانسکریپتوم، ترانسکریپتوم‌های هر گروه در قالب یک فایل با فرمت متن ذخیره شده‌اند. برای ادغام از کد دستوری زیر استفاده شد:

cuffmerge -p 7 -o [ortput-merge] -g [reference-genome.gtf] [assembly-grf-list.txt]

محاسبه بیان افتراقی ژن

برای تست آماری میزان بیان ژن بین دو نمونه، از نرم‌افزار cuffdiff استفاده شد. این نرم‌افزار ژن‌هایی که از نظر آماری هر گونه تفاوت معنی‌داری در بیان را نشان می‌دهند، شناسایی می‌کند. با استفاده از کد دستوری زیر، ژن‌های با بیان متفاوت شناسایی شدند:

cuffdiff -p 7 --library-norm-method classic-fpkm -o [output-file] -L [input1,input2] [merge.gtf] [input1-sort.bam] [input2-sort.bam]

مصورسازی نتایج

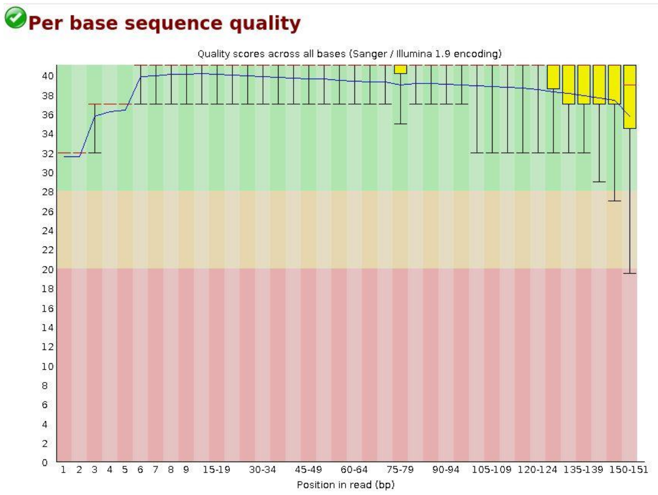
فایل خروجی آنالیز بیان افتراقی ژن‌ها با استفاده از Excel قابل مشاهده است، ولی برای مصورسازی نتایج در قالب پلات و گراف‌های قابل فهم‌تر، از پکیج CummeRbund در محیط نرم‌افزار R استفاده شد.

آنالیز هستی‌شناسی ژن

در هستی‌شناسی ژن، داده‌های مورد نظر طبقه‌بندی و ارتباط آن‌ها با هم مطالعه می شوند. در این پژوهش، آنالیز هستی شناسی ژن‌های معنی‌دار با بیان متفاوت، به‌وسیله پایگاه‌های مربوط به هستی شناسی DAVID (https://david.ncifcrf.gov/) و Ensemble (https://www.ensembl.org/Chicken/) انجام شد.

نتایج و بحث

پس از تبدیل فرمت داده‌ها و انجام سنجش کنترل کیفیت، طبق گزارش حاوی آماره‌های پایه، توالی‌های بین ۱۹ تا ۲۳ میلیون خوانش کوتاه جفتی (از هر دو انتهای توالی‌یابی شده) با طول ۱۵۰-۵۰ جفت باز برای نمونه ها بدست آمد. در آزمون کنترل کیفیت تک نوکلئوتیدی، محور افقی نمودار بیانگر موقعیت هر جفت باز بر روی خوانش و محور عمودی بیانگر نمره فِرِد (phred score) است که نمونه با نمره بالاتر از ۲۸ (منطقه سبز) به‌عنوان نمونه با کیفیت بالا تلقی می‌شود که طبق گراف مربوط به نمونه مورد نظر، کیفیت نمونه خوب می‌باشد (شکل ۱).

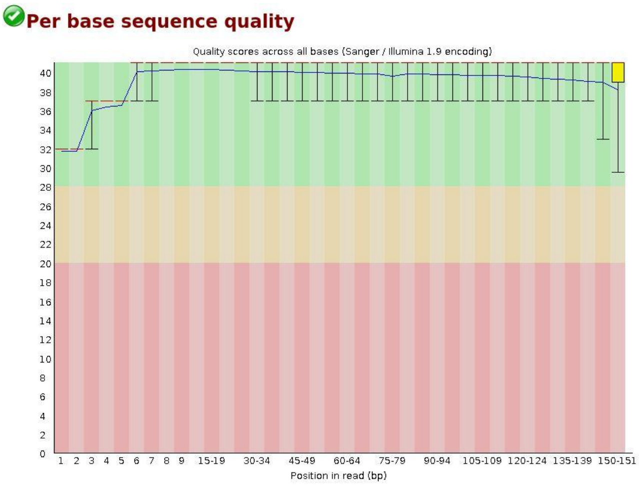


شکل ۱- آزمون کنترل کیفیت تک نوکلئوتیدی مربوط به نمونه "SRR8692161"

Figure 1- per base sequence quality related to "SRR8692161" sample.

با در نظر گرفتن حداقل طول خوانش ۵۰ جفت باز و سنجش کنترل کیفیت پس از ویرایش مشخص گردید که ۱۸ تا ۲۲ میلیون خوانش با کیفیت مناسب برای نمونه باقی ماند و کمتر از ۱۰ درصد از کل خوانش‌ها کنار گذاشته شد و طبق آزمون کنترل کیفیت تک نوکلئوتیدی، نمره فِرِد نوکلئوتید های انتهای توالی خوانش افزایش یافته و کیفیت نمونه ها نسبت به قبل افزایش یافت و توالی

خوانش‌های با کیفیت بالا (منطقه سبز رنگ) نگهداری شدند (شکل ۲).



شکل ۲- آزمون کنترل کیفیت تک نوکلئوتیدی پس از ویرایش مربوط به نمونه "SRR8692161"

Figure 2- per base sequence quality after trimming related to "SRR8692161" sample

طبق اطلاعات خروجی در انتهای آنالیز هم‌ردیفی و مکان یابی خوانش‌ها بر روی ژنوم مرجع، میانگین درصد مکان‌یابی خوانش‌ها بیش از ۸۰ درصد و خوانش‌های با محل هم‌ردیفی چندگانه کمتر از یک درصد بودند و با تشکیل پروفایل بیان ژن برای هر یک از زیر گروه‌های حاوی نمونه در هر یک از مراحل دوره آهکی شدن پوسته و نیز آنالیز بیان افتراقی بین زیر گروه‌های مشابه در بین دو گروه نمونه حاصل از مرغ‌های با پوسته سخت و ضعیف، در نهایت با تجزیه‌تحلیل نتایج خروجی، ۳۵۳۴۲ ژن و ۱۰۷۷۲۲ ایزوفرم شناسایی شد که از این میان ۱۳۳۸ ژن با بیان متفاوت در مرحله شروع، ۸۱ ژن در مرحله رشد و ۱۹۰ ژن در مرحله خاتمه مشخص شد ($p<0.00025$). در ادامه به جهت رسیدن به تصویر مناسبی از تغییرات بیان در مقایسه‌های دو به دو و شناسایی ژن‌های شاخص با بیان متفاوت، میزان معیار log2(fold_change)به‌گونه‌ای در نظر گرفته شده است که در هر سه مرحله، شاخص ترین ژن‌ها مورد شناسایی و بررسی قرار گیرند؛ از این رو، ژن‌های با log2(fold_change) بیشتر از ۴+ و کمتر از ۴- برای مطالعه انتخاب شدند که شامل ۵۱ ژن در مرحله شروع (جدول ۱)، دو ژن در مرحله رشد (جدول ۲) و چهار ژن در مرحله خاتمه (جدول ۳) می‌باشند.

نتایج جداول فوق نشان می‌دهند که در مرحله شروع، تعداد ژن‌های شاخص بیشتری با میزان معیار log2(fold_change)>+4 & log2(fold_change)<-4 نسبت به دو مرحله دیگر شناسایی شده‌اند، که خود می‌تواند بیانگر وجود تفاوت بیان بیشتر در سطح ژنوم بین دو زیر گروه در این مرحله باشد؛ همچنین در سه مرحله دوره آهکی شدن پوسته، تنها شناسه ژن XLOC_008910 ما بین دو مرحله رشد و خاتمه به‌عنوان ژن‌های شاخص با بیان متفاوت، مشترک شناسایی شده‌اند.

نمودار هیستوگرام ژن‌های شاخص مورد مطالعه بین دو گروه در هر یک از مراحل دوره آهکی شدن پوسته ترسیم گردید (شکل ۳، ۴ و ۵). در نمودار هیستوگرام، محور افقی شامل ژن‌های شاخص مورد مطالعه (log2(fold_change)>+4 & log2(fold_change)<-4) و محور عمودی بیانگر شاخص قطعه در حد کیلوباز به‌ازای هر یک میلیون خوانش مکان‌یابی‌شده به‌علاوه یک واحد (FPKM+1) است.

با توجه به ارتفاع ستون‌های مندرج در شکل ۳، به‌ترتیب ژن‌های، ENSGALG00000046947 و PNPLA3 در گروه با پوسته تخم سخت و تنها ژن NR4A3 در گروه با پوسته تخم ضعیف بیشترین بیان را داشته‌اند و نیز بیشترین تفاوت بیان مربوط به ژن ENSGALG00000044418 با میزان log2(fold_change) برابر با ۸/۶ است؛ ارتفاع ستون های مندرج در شکل ۴، ژن ENSGALG00000049618 در گروه با پوسته تخم سخت و ژن ENSGALG00000048945 در گروه با پوسته تخم ضعیف بیشترین بیان را داشته‌اند و نیز بیشترین تفاوت بیان مربوط به ژن ENSGALG00000049618 با میزان log2(fold_change) برابر با ۶/۸ است و ارتفاع ستون‌های مندرج در شکل ۵، بیان تمامی ژن‌های شاخص در مرحله خاتمه دوره آهکی شدن پوسته، در گروه با پوسته تخم ضعیف بیشتر از گروه دیگر بوده است و ژن MIR12247-1 بیشترین بیان را داشته است؛ همچنین در مقایسه بین دو گروه در مرحله خاتمه، ژن ENSGALG00000049618 با میزان log2(fold_change) برابر با ۵/۱ بیشترین تفاوت بیان را داشته‌اند.

آنالیز هستی‌شناسی ژن‌های شاخص مورد مطالعه در مرحله شروع (جدول ۴)، مرحله رشد (جدول ۵) و مرحله خاتمه (جدول ۶) بر اساس سه دسته بندی عمومی فرآیندهای زیستی، عملکرد مولکولی و اجزای

سلولی انجام و ارائه شده است.

جدول ۱- شناسه، نام یا کد، جایگاه و ارزش p ژن‌های شاخص متفاوت بیان شده در مرحله شروع دوره آهکی شدن پوسته

Table 1- Identifier, name or code, position and p-value of indicator genes differentially expressed in the initiation stage of the calcification period

شناسه ژن Gene_id	نام یا کد ژن Name or gene code	جایگاه Locus	ارزش p p_value
XLOC_022317	ENSGALG00000044418	5:14892237-14898052	0.00005
XLOC_021085	ENSGALG00000043996 ENSGALG00000044755 ENSGALG00000045876 ENSGALG00000047967 ENSGALG00000048572 ENSGALG00000052476	4:85657237-85900720	0.00005
XLOC_016325	ENSGALG00000052817	3:69232233-69353759	0.00005
XLOC_009120	LHX1	19:8535713-8540691	0.00005
XLOC_019526	ANXA10	4:24919747-24946202	0.00005
XLOC_002605	PNPLA3	1:69011399-69090996	0.00005
XLOC_013171	ENSGALG00000049241	22:76807-89630	0.00005
XLOC_002772	UPK1B	1:81562062-81573670	0.00005
XLOC_000247	TMEM117	1:30224568-30431209	0.00005
XLOC_010329	ENSGALG00000015234 ENSGALG00000053346	2:108071663-108150364	0.00005
XLOC_010003	TFAP2A	2:63284964-63301149	0.00005
XLOC_002039	CD36	1:11331665-11404784	0.00005
XLOC_004693	GCNT3	10:5852886-5887192	0.00005
XLOC_016354	-	3:73133293-73138023	0.00005
XLOC_012502	MMP9	20:10572273-10576665	0.00005
XLOC_016106	-	3:46416828-46464624	0.00005
XLOC_019359	SLITRK4	4:9895861-9908452	0.00005
XLOC_003777	-	1:32040296-32044590	0.00005
XLOC_005715	CHL1	12:17603135-17708756	0.00005
XLOC_017188	ZC3H12D	3:48201990-48215042	0.00005
XLOC_011706	-	2:120693001-120714502	0.00005
XLOC_010601	ADCY8	2:140875169-140995082	0.00005
XLOC_000699	PNPLA3	1:69011399-69090996	0.00005
XLOC_015702	ENSGALG00000009041	3:8772208-8777996	0.00005
XLOC_002973	RUNX1	1:107353573-107513309	0.00005
XLOC_012404	PHACTR3	20:6735474-6830610	0.00005
XLOC_021710	ENSGALG00000008599	5:24851725-24885341	0.00005
XLOC_018319	ENSGALG00000046947	31:2413209-2413512	0.00005
XLOC_010948	DGKB	2:27385425-27720368	0.00005
XLOC_012126	-	2:79230058-79235013	0.00005
XLOC_018508	ENSGALG00000051617	31:2422484-2443234	0.00005
XLOC_011589	OPN5L1	2:106222092-106258854	0.00005
XLOC_011878	ADCY8	2:140875169-140995082	0.00005
XLOC_013499	RUNX3	23:2591780-2635428	0.00005
XLOC_012132	-	2:79639930-79644453	0.00005
XLOC_007199	NMRAL1	14:13089511-13149359	0.00005
XLOC_015815	CAPN8	3:17803815-17833098	0.00005
XLOC_025365	PAPPA2	8:7156618-7232054	0.00005
XLOC_010947	ETV1	2:27271071-27337505	0.00005
XLOC_013760	ENSGALG00000051964	23:5829851-5834748	0.00005
XLOC_003775	-	1:32027118-32032886	0.00005
XLOC_011450	NR4A3	2:89336025-89389150	0.00005
XLOC_025534	PDZK1IP1	8:22247457-22251895	0.0001
XLOC_010076	CDH18	2:74189948-74446617	0.0001
XLOC_016657	AvBD9	3:107430691-107459717	0.0001
XLOC_019907	CORIN	4:66638160-66761091	0.00015
XLOC_007726	KREMEN1	15:8089944-8111256	0.0002
XLOC_007047	CYP3A5	14:4322582-4332428	0.0002
XLOC_021886	-	5:41926379-42116783	0.00025

جدول ۲- شناسه، نام یا کد، جایگاه و ارزش p ژن‌های شاخص متفاوت بیان شده در مرحله رشد دوره آهکی شدن پوسته

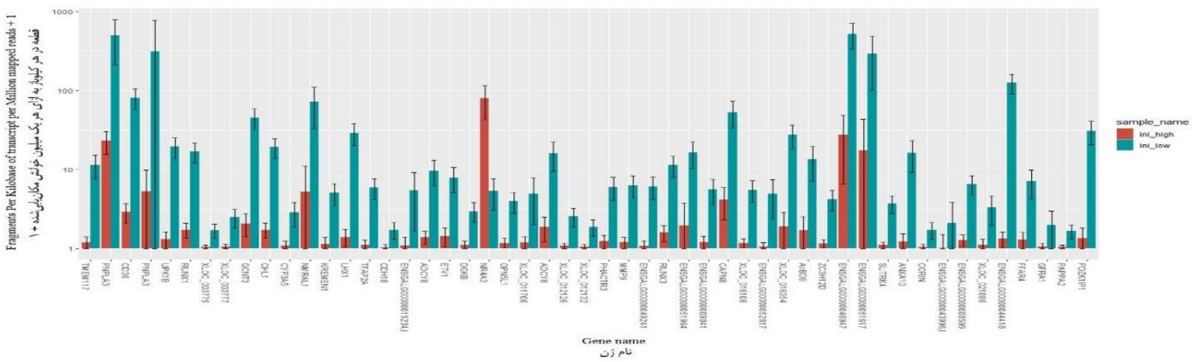
Table 2- Identifier, name or code, position and p-value of indicator genes differentially expressed in the growth stage of the calcification period

شناسه ژن Gene_id	نام یا کد ژن Name or gene code	جایگاه Locus	ارزش p P_value
XLOC_008910	ENSGALG00000049618	18:11326495-11332858	0.00005
XLOC_021869	ENSGALG00000048945	5:39323944-39354365	0.00005

جدول ۳- شناسه، نام یا کد، جایگاه و ارزش p ژن‌های شاخص متفاوت بیان شده در مرحله خاتمه دوره آهکی شدن پوسته

Table 3- Identifier, name or code, position and p-value of indicator genes differentially expressed in the termination stage of the calcification period

شناسه ژن Gene_id	نام یا کد ژن Name or gene code	جایگاه Locus	ارزش p p_value
XLOC_008910	ENSGALG00000049618	18:11326495-11332858	0.00005
XLOC_007996	ENSGALG00000054226	16:1702927-1709590	0.00005
XLOC_014979	HSPB9	27:7654019-7655569	0.00005
XLOC_013278	MIR12247-1	22:5177338-5230538	0.00005

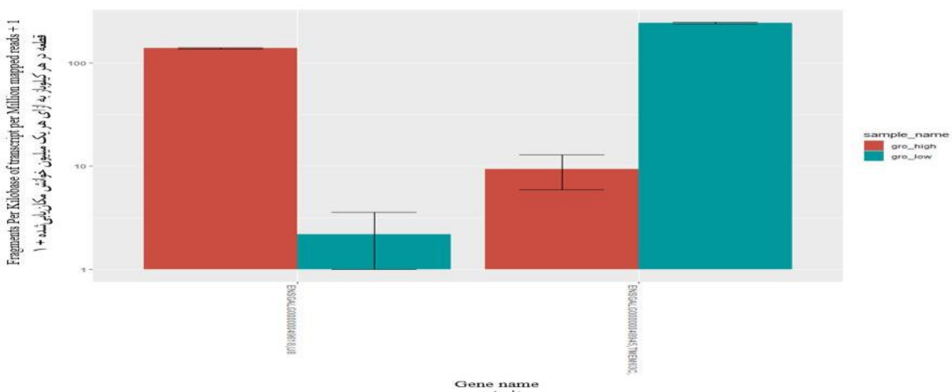


شکل ۳- نمودار هیستوگرام تفاوت بیان ژن‌های شاخص در مرحله شروع دوره آهکی شدن پوسته بین دو گروه

(ini_high: مرحله شروع با پوسته سخت و ini_low: مرحله شروع با پوسته ضعیف)

Figure 3- Histogram plot of differential indicator genes expression in the initiation stage of the calcification period between two groups

(ini_high: initiation stage with high eggshell, ini_low: initiation stage with low eggshell)

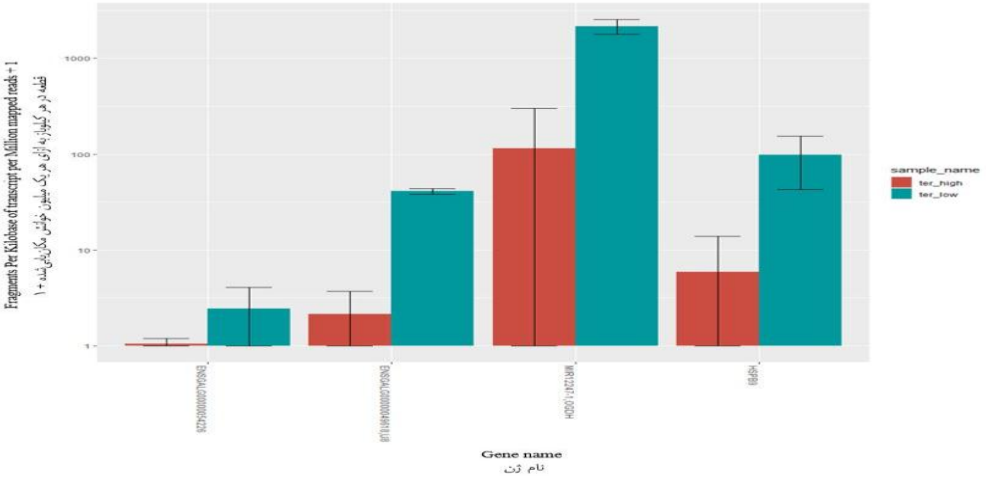


شکل ٤- نمودار هیستوگرام تفاوت بیان ژن‌های شاخص در مرحله رشد دوره آهکی شدن پوسته بین دو گروه

(gro_high: مرحله رشد با پوسته سخت و gro_low: مرحله رشد با پوسته ضعیف)

Figure 4- Histogram plot (Right) & Heatmap plot (Left) of differential indicator genes expression in the growth stage of the calcification period between two groups

(gro_high: growth stage with high eggshell, gro_low: growth stage with low eggshell)



شکل ۵- نمودار هیستوگرام تفاوت بیان ژن‌های شاخص در مرحله خاتمه دوره آهکی شدن پوسته بین دو گروه

(ter_high: مرحله خاتمه گروه با پوسته سخت و ter_low: مرحله خاتمه گروه با پوسته ضعیف)

Figure 5- Histogram plot of differential indicator genes expression in the termination stage of the calcification period between two groups

(ter_high: termination stage with high eggshell, ter_low: termination stage with low eggshell)

جدول ٤- آنالیز هستی‌شناسی ژن‌های شاخص متفاوت بیان شده در مرحله شروع دوره آهکی شدن پوسته

Table 4- Gene ontology analysis of indicator genes differentially expressed in the initiation stage of the calcification period

نام ژن Gene name	فرآیند زیستی Biological process	اجزای سلولی Cellular components	عملکرد مولکولی Molecular function
ENSGALG00000044418	تنظیم رگ‌زایی Regulation of angiogenesis	فضای خارج سلولی Extracellular space	اتصال به پروتئین Protein binding
ENSGALG00000043996 ENSGALG00000044755 ENSGALG00000045876 ENSGALG00000047967 ENSGALG00000048572 ENSGALG00000052476	ایمنی به‌واسطه سلول T، مسیر سیگنالینگ گیرنده سطح سلول T cell-mediated immunity, A cell surface receptor signaling pathway	غشاء membrane	–
LHX1	توسعه رحم و تخمدان، توسعه و تمایز مخچه، تنظیم بیان ژن، تمایز سلولی، تمایز نورونی Uterus and ovary development, Cerebellum development and differentiation, Regulation of gene expression, Cell differentiation, Neuronal differentiation	هسته، مجموعه پروتئین Nucleus, Protein complex	فعالیت فاکتور رونویسی اتصال DNA، اتصال DNA DNA binding transcription factor activity, DNA binding
ANXA10	–	میتوکندری Mitochondria	اتصال یون کلسیم، اتصال فسفولیپید وابسته به کلسیم Calcium ion binding, Calcium-dependent phospholipid binding
PNPLA3	فرآیند کاتابولیک و بیوسنتز تری گلیسیرید، فرآیند متابولیک لیپید، هموستاز چربی Catabolic process and triglyceride biosynthesis, Lipid metabolic process, Lipid homeostasis	غشاء، سیتوپلاسم، قطره چربی Membrane, Cytoplasm, Lipid droplet	فعالیت تری گلیسیرید لیپاز، فسفولیپاز A2 و هیدرولاز Triglyceride lipase, Phospholipase A2 and Hydrolase activity
UPK1B	تمایز سلول‌های اپیتلیال Differentiation of epithelial cells	غشاء، غشای پلاسمایی آپیکال Membrane, Apical plasma membrane	–

TMEM117	مسیر سیگنال‌دهی آپوپتور در پاسخ به استرس شبکه آندوپلاسمی Apoptotic signaling pathway in response to endoplasmic reticulum stress	غشاء، شبکه آندوپلاسمایی Membrane, Endoplasmic reticulum	–
ENSGALG00000015234 ENSGALG00000053346	انتقال غشاء کلرید Chloride membrane transport	غشاء Membrane	فعالیت انتقال‌دهنده غشاء کلرید Membrane chloride transporter activity
TFAP2A	تنظیم رونویسی DNA، تنظیم تکثیر سلولی، توسعه ساختار آناتومی Regulation of DNA transcription, Regulation of cell proliferation, Development of anatomical structure	هسته، دستگاه گلژی، سانتروزوم Nucleus, Golgi apparatus, Centrosome	فعالیت فاکتور رونویسی متصل به DNA، فعال‌کننده و سرکوب‌کننده رونویسی DNA binding transcription factor activity, Transcription activator and repressor
RUNX3	فسفوریلاسیون پروتئین، تنظیم تمایز سلولی Protein phosphorylation, Regulation of cell differentiation	هسته، سیتوپلاسم Nucleus, cytoplasm	اتصال فاکتور رونویسی ATP، اتصال DNA ATP binding of transcription factor, DNA binding
NMRAL1	–	هسته، نوکلئوپلاسم Nucleus, Nucleoplasm	اتصال پروتئینی یکسان Identical protein binding
CAPN8	هضم، پروتئولیز Digestion, Proteolysis	–	اتصال یون کلسیم، فعالیت اندوپپتیداز Calcium ion binding, Endopeptidase activity
GFRA1	توسعه سیستم عصبی Development of the nervous system	غشاء، اگزوزوم خارج سلولی Membrane, Extracellular exosome	فعالیت گیرنده Receiver activity
PAPPA2	مورفوژنز استخوان، پروتئولیز Bone morphogenesis, Proteolysis	–	اتصال یون روی Zinc ion binding
ETV1	هدایت آکسون، تمایز سلولی، توسعه اندام عضلانی Axon guidance, Cell differentiation, Muscle organ development	هسته Nucleus	اتصال فعال‌کننده رونویسی متصل به DNA DNA bound transcriptional activator
NR4A3	تنظیم رونویسی الگو DNA، تنفس سلولی، تمایز سلول‌های چربی، هموستاز انرژی، تنظیم چرخه سلولی DNA template transcription regulation, Cellular respiration, Adipocyte differentiation, Energy homeostasis, Cell cycle regulation	هسته، مجموعه فاکتور رونویسی Nucleus, Transcription factor complex	اتصال فعال‌کننده رونویسی اتصال به DNA، اتصال یون روی، اتصال گیرنده هورمون استروئیدی Transcription activator binding, DNA binding, Zinc ion binding, Steroid hormone receptor binding
PDZK1IP1	–	غشاء، اگزوزوم خارج سلولی Membrane, Extracellular exosome	–
CDH18	چسبندگی سلول‌های هموفیلی از طریق مولکول‌های چسبندگی غشای پلاسمایی Adhesion of hemophilia cells through plasma membrane adhesion molecules	غشاء Membrane	اتصال یون کلسیم Calcium ion binding
AvBD9	پاسخ دفاعی به باکتری گرم منفی و قارچ، شیمیوتاکسی سلولی Defense response to Gram-negative bacteria and fungi, Cellular chemotaxis	سیتوپلاسم، فضای خارج سلولی Cytoplasm, Extracellular space	اتصال شیمیایی جذب‌کننده، اتصال گیرنده‌های شیمیوکاین Chemoattractant binding, Binding of chemokine receptors
CD36	انتقال تری گلیسیرید، فاگوسیتوز، تنظیم ذخیره کلسترول و چربی، تنظیم هموستاز انرژی، پاسخ به اسید لینولئیک Triglyceride transfer, Phagocytosis,	دستگاه گلژی، غشاء، فضای خارج سلولی Golgi apparatus,	فعالیت گیرنده لیپوپروتئین با چگالی کم، اتصال چربی Low-density lipoprotein

	Regulation of cholesterol and fat storage, Regulation of energy homeostasis, .Response to linoleic acid	Membrane, Extracellular space	Receptor activity, Lipid binding
GCNT3	مورفوژنز بافت و کلیه، تولید ایمونوگلوبولین در بافت مخاط Tissue and kidney morphogenesis, Immunoglobulin production in mucous tissue	غشاء، غشای گلژی Membrane, Golgi membrane	فعالیت ترانسفراز انتقال گروه‌های گلیکوزیل Transferase activity of glycosyl group transfer
MMP9	توسعه سیستم اسکلتی، تنظیم اتصال DNA، تنظیم مثبت فسفوریلاسیون پروتئین Development of the skeletal system, Regulation of DNA binding, Positive regulation of protein phosphorylation	فضا خارج سلولی، ماتریس خارج سلولی Extracellular space, Extracellular matrix	اتصال یون روی، فعالیت اندوپپتیداز Zinc ion binding, Endopeptidase activity
SLITRK4	آکسونوژنسیس، تنظیم مثبت مجموعه سیناپس Axonogenesis, Upregulation of synapse complex	غشاء Membrane	اتصال به پروتئین Protein binding
CHL1	هدایت آکسون، تنظیم منفی فرایند آپوپتوز نورون Axon guidance, Negative regulation of neuron apoptosis process	غشاء، دندریت، قسمت آپیکال سلول Membrane, Dendrite, Apical part of the cell	اتصال پروتئاز، اتصال پروتئین Protease binding, Protein binding
ZC3H12D	–	نوکلئوپلاسم Nucleoplasm	اتصال یون فلزی Metal ion binding
ADCY8	فرآیند بیوسنتزی Camp، تنظیم پاسخ سلولی به استرس، هموستاز گلوکز، مسیر سیگنال دهی گیرندهG Camp biosynthetic process, Regulation of cellular response to stress, Glucose homeostasis, G receptor signaling pathway	غشاء، دندریت و آکسون Membrane, Dendrite and Axon	فعالیت آدنیلات سیکلاز، فعالیت فسفراکسیژن لیاز Adenylate cyclase activity, Phosphoroxygen lyase activity
ENSGALG00000009041	–	–	اتصال به پروتئین
RUNX1	تنظیم رونویسی الگوی DNA، تنظیم تمایز سلولی Regulation of DNA template transcription, Regulation of cell differentiation	هسته، نوکلئوپلاسم، سیتوپلاسم Nucleus, Nucleoplasm, Cytoplasm	اتصال ATP، اتصال DNA، فعالیت فاکتور رونویسی متصل به DNA ATP binding, DNA binding, DNA binding transcription factor activity
PHACTR3	–	نوکلئوپلاسم Nucleoplasm	اتصال پروتئین فسفاتاز۱، فعالیت تنظیم‌کننده پروتئین فسفاتاز نوع۱ Binding of protein phosphatase 1, Regulatory activity of protein phosphatase type 1
ENSGALG00000008599	فرایند بیوسنتز کربوهیدرات Carbohydrate biosynthesis process	غشاء Membrane	فعالیت سولفوترانسفراز Sulfotransferase activity
FFAR4	تمایز سلول‌های چربی، تنظیم انتقال گلوکز، ترشح هورمون، تنظیم منفی پاسخ التهابی Differentiation of fat cells, Regulation of glucose transport, Hormone secretion, Negative regulation of inflammatory response	غشای پلاسمایی، وزیکول اندوسیتیک Plasma membrane, Endocytic vesicle	اتصال اسید چرب، فعالیت گیرنده‌های همراه با پروتئین G Fatty acid binding, Activity of G protein-coupled receptors
ENSGALG00000046947	فاگوسیتوز، پاسخ ایمنی ذاتی Phagocytosis, Innate immune response	غشای پلاسمایی، مجموعه ایمونوگلوبولین Plasma membrane, Immunoglobulin complex	اتصال آنتی ژن، اتصال گیرنده ایمونوگلوبولین Antigen binding, Immunoglobulin receptor binding
DGKB	انتقال سیگنال درون سلولی، فرایند متابولیک	غشاء Membrane	اتصال یون کلسیم، اتصال ATP، فعالیت

	گلیسرولیپید Intracellular signal transduction, Glycerolipid metabolic process		دیاسیل گلیسرول کیناز Calcium ion binding, ATP binding, Diacylglycerol kinase activity
ENSGALG00000051617	پاسخ ایمنی ذاتی، فاگوسیتوز، مسیر سیگنالینگ گیرنده سلول B Innate immune response, Phagocytosis, B cell receptor signaling pathway	مجموعه ایمونوگلوبولین، قسمت خارجی غشاء Immunoglobulin complex, Outer part of the membrane	اتصال انتی ژن، اتصال گیرنده ایمونوگلوبولین Antigen binding, Immunoglobulin receptor binding
KREMEN1	مسیر سیگنال‌دهی Wnt Wnt signaling pathway	غشاء Membrane	–
CYP3A5	فرآیند کاهش اکسیداسیون Oxidation reduction process	–	غشاء Membrane
CORIN	پروتئولیز، تنظیم دفع سدیم کلیوی Proteolysis, Regulation of renal sodium excretion	غشاء، بدنه هسته، اسکلت سلولی اکتین Membrane, Nuclear body, Actin cytoskeleton	فعالیت اندوپپتیداز، اتصال پروتئین Endopeptidase activity, Protein binding

در بررسی آنالیز هستی شناسی ژن، در مرحله شروع، از ژن‌های ENSGALG00000052817، ENSGALG00000049241 و ENSGALG00000051964 هیچ اطلاعاتی یافت نشد. در هر دو گروه، ژن‌های با بیشترین بیان در فعالیت‌های متابولیسم چربی و پاسخ ایمنی نقش دارند و در این مرحله آهکی شدن پوسته، ژن ENSGALG00000044418 با بیشترین تفاوت بیان، در فعالیت تنظیم سیستم خون‌رسانی و رگ‌زایی نقش دارد. به‌طور عمده ژن‌های شاخص شناسایی شده، جدول ۴، به‌ترتیب در فعالیت‌های اتصال پروتئین (ژن‌های ENSGAL00000044418، NMRAL1، SLITRK4، CHL1، ENSGAL00000009041، PHACTR3 و CORIN)، تنظیم رونویسی DNA (ژن‌های LHX1، TFAP2A، RUNX3، ETV1، NR4A3 و RUNX1)، پاسخ ایمنی (ژن‌های ENSGAL00000043996، TMEM117، AvBD9، GCNT3، ENSGAL00000046947 و ENSGAL00000051617)، متابولیسم چربی (ژن‌های PNPLA3، NR4A3، CD36، FFAR4 و DGKB) و اتصال یون کلسیم (ژن‌های ANXA10، CAPN8، CDH18 و DGKB) نقش دارند.

جدول ۵- آنالیز هستی‌شناسی ژن‌های شاخص متفاوت بیان شده در مرحله رشد دوره آهکی شدن پوسته

Table 5- Gene ontology analysis of indicator genes differentially expressed in the growth stage of the calcification period

نام ژن Gene name	فرآیند زیستی Biological process	اجزای سلولی Cellular components	عملکرد مولکولی Molecular function
TMEM63C	حمل کاتیون Cation transport	غشاء Membrane	فعالبت کانال کاتیونی Cation channel activity

جدول٦- آنالیز هستی‌شناسی ژن‌های شاخص متفاوت بیان شده در مرحله خاتمه دوره آهکی شدن پوسته

Table6- Gene ontology analysis of indicator genes differentially expressed in the termination stage of the calcification period

نام ژن Gene name	فرآیند زیستی Biological process	اجزای سلولی Cellular components	عملکرد مولکولی Molecular function
ENSGALG00000054226	مسیر سیگنالینگ گیرنده همراه با پروتئین G، تشخیص محرک شیمیایی دخیل در درک حس بویایی G protein-coupled receptor signaling pathway, Chemical stimulus recognition involved in olfactory perception	غشاء Membrane	فعالیت گیرنده‌های بویایی Activity of olfactory receptors
OGDH	چرخه تری کربوکسیلیک اسید، فرایند کاهش اکسیداسیون Tricarboxylic acid cycle, Oxidation-reduction process	هسته، میتوکندری Nucleus, Mitochondria	اکسی گلوترات دهیدروژناز، اتصال یون روی Oxyglutarate dehydrogenase, Zinc ion binding

در بر سی آنالیز ه ستی شنا سی ژن، در مرحله ر شد، از ژن‌های ENSGALG00000049618، ENSGALG00000048945 و در مرحله خاتمه، از ژن‌های ENSGALG00000049618، HSPB9 و MIR12247-1 اطلاعاتی یافت نشد.

در پژوهشی، با هدف بررسی و مقایسه مسیرهای ژنومی انتخاب مقایسه‌ای و ژن‌های کاندیدای کلیدی مرتبط با صفات اقتصادی در ژنوم نژادهای بومی مرغ روسی سفید نوع تخم‌گذار و مرغ کورنیش سفید نوع گوشتی در نهایت، ۴۵ منطقه ژنومی از جمله ژن‌های ANXA10، CD36 و PAPPA2 شناسایی شده‌اند (Abdelmanove et al., 2021).

در پژوهشی دیگر، با هدف بررسی دقت پیش‌بینی ژنومی صفت کیفیت پوسته تخم مرغ در لاین لگهورن سفید، ژن CAPN8 با نقش در فعل و انفعالات با یون کلسیم و نقش در آهکی سازی پوسته تخم مرغ مورد شناسایی گردیده است (Wolc et al., 2020).

در پژوهشی دیگر، پروفایل بیان ژن برای شناسایی پروتئین‌های پوسته تخم مرغ که در دفاع فیزیکی آن نقش دارد مورد بررسی قرار گرفته است، که نتایج نشان داد، ژن AvBD9 در رحم مرغ بیان شده و پروتئین ضد میکروبی آن می‌تواند به محافظت در مقابل باکتری‌ها کمک کند (Jonchere et al., 2010).

نتیجه‌گیری کلی

در آنالیز بیان افتراقی ژن، با در نظرگرفتن log2(fold_change) بیشتر از ۴+ و کمتر از ۴-، در مرحله شروع، ۵۱ ژن، در مرحله رشد، دو ژن و در مرحله خاتمه چهار ژن مشخص شدند. بیشترین تفاوت بیان ژنی بین دو گروه در مرحله شروع، ژن‌های ENSGALG00000044418 و PDZK1IP1، در مرحله رشد، ژن‌های ENSGALG00000049618، ENSGALG00000048945 و TMEM63C و در مرحله خاتمه، ژن‌های ENSGALG00000049618 و ENSGALG00000054226 مشاهده شدند؛ نتایج آنالیز هستی‌شناسی ژن‌های شاخص نشان داد که به‌طور عمده به‌ترتیب در فعالیت‌های اتصال پروتئین، تنظیم رونویسی DNA، پاسخ ایمنی، متابولیسم چربی و اتصال یون کلسیم نقش دارند.

References

1. Abdelmanova, A. S., Dotsev, A. V., Romanov, M. N., Stanishevskaya, O. I., Gladyr, E. A., Rodionov, A. N., Vetokh, A. N., Volkova, N. A., Fedorova, E. S., Gusev, I. V., Griffin, D. K., Brem, G., & Zinovieva, N. A. (2021). Unveiling comparative genomic trajectories of selection and key candidate genes in egg-type russian white and meat-type white cornish chickens. *Biology*, *10*(9), 876. DOI: 10.3390/biology10090876
2. Andrews, S. (2010). FastQC: A quality control tool for high throughput sequence data. From: http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc
3. Bahrami, A. (2020). Which aligner software is the best for our study?. *Genetics Research*, *7*, 048. DOI: 10.23937/2378-3648/1410048
4. Banabazi, M. H., Naserkheil, M., & Miraei-Ashtiani, R. (2012). Network regulatory gene expreesion of cerevisiae cell cycle with correlation weight method. The third national conference on agricultural biotechnology iran. Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (In Persian).
5. Banabazi, M. H., Naserkheil, M., & Miraei-Ashtiani, R. (2012). Algorithm to identify genes expressed differently in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* microarray data using software packages R. The third national conference on agricultural biotechnology Iran. Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (In Persian).
6. Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, *30*, 2114-2120. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170
7. Ekblom, R., & Galindo, J. (2010). Applications of next generation sequencing in molecular ecology of non-model organisms. *Heredity*, *107*, 1-15. DOI: 10.1038/hdy.2010.152
8. FAO. (2020). FAOSTAT. https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize/
9. Gan, Q., Chepelev, I., Wei, G., Tarayrah, L., Cui, K., Zhao, K., & Chen, X. (2010). Dynamic regulation of alternative splicing and chromatin structure in Drosophila gonads revealed by RNA-seq. *Cell Research*, *20* (7), 763-783. DOI: 10.1038/cr.2010.64
10. Github. (2017). Cufflinks. http://cole-trapnell-lab.github.io/cufflinks/
11. Haas, B. J., & Zody, M. C. (2010). Advancing RNA-seq analysis. *Nature Biotechnology*, *28*, 421. DOI: 10.1038/nbt0510-421
12. Jonchere, V., Rehault-Godbert, S., Hennequet-Antier, C., Cabau, C., Sibut, V., Cogburn, L. A., Nys, Y., & Gautron, J. (2010). Gene expression profiling to identify eggshell proteins involved in physical defense of the chicken egg. *BMC Genomic*, *11*, 57. DOI: 10.1186/1471-2164-11-57
13. Kim, D., Langmead, B., & Salzberg, S. L. (2015). HISAT: A fast spliced aligner with low memory requirements. *Nature Methods*, *12*, 357-360. DOI: 10.1038/nmeth.3317
14. Marguerat, S., & Bahler, J. (2010). RNA-seq: From technology to biology. *Cellular and Molecular Life Sciences*,

67, 569-579. DOI: 10.1007/s00018-009-0180-6
15. Mortazavi, A., Williams, B., McCue, K., Schaeffer, L., & Wold, B. (2008). Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nature Methods, 5*(7), 621-628. DOI: 10.1038/nmeth.1226
16. Sultan, M., Schulz, M. H., Richard, H., Magen, A., Klingenhoff, A., Scherf, M., & Schmidt, D. (2008). A global view of gene activity and alternative splicing by deep sequencing of the human transcriptome. *Science, 321*(5891), 956-960. DOI: 10.1126/science.1160342
17. Wilhelm, B. T., & Landry, J. R. (2009). RNA-seq quantitative measurement of expression through massively parallel RNA-sequencing. *Methods*, *48*, 249-257. DOI: 10.1016/j.ymeth.2009.03.016
18. Wolc, A., Drobik-Czwarno, W., Jankowski, T., Arango, J., Settar, P., Fulton, J. E., Fernando, R. L., Garrick, D. J., & Dekkers, J. C. M. (2020). Accuracy of genomic prediction of shell quality in a white leghorn line. *Poultry Science, 99*, 2833-2840. DOI: 10.1016/j.psj.2020.01.019

Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1, Spring 2023, p. 123-135

Investigation of Duration Use of Progesterone Sponges on Reproductive Performance in Sheep

Mohammad Reza Bahreini Behzadi[1*], Mohammad Keshavarzpour[2], Farhad Samadian[3]

Received: 02-02-2022 Revised: 21-05-2022 Accepted: 24-08-2022 Available Online: 24-08-2022	**How to cite this article:** Bahreini Behzadi, M. R., Keshavarzpour, M., & Samadian, F. (2023). Investigation of duration use of progesterone sponges on reproductive performance in sheep. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 123-135. DOI: 10.22067/ijasr.2022.75088.1066

Introduction: Estrus synchronization is a valuable management tool that has been employed in enhancing reproductive efficiency in ewes. Synchronization of estrus and ovulation for fixed-time artificial insemination in sheep is mostly based on the insertion of intravaginal devices containing either progesterone CIDR (Controlled Internal Drug Release) inserts or progestagens (sponges impregnated with fluorogestone acetate (FGA) or medroxyprogesterone acetate (MAP)). Intravaginal sponges are usually inserted over periods of 12 to 14 day and used together with eCG, particularly out of season, administered at the time of sponge withdrawal or 48 hours prior to sponge removal. It has now been indicated that shortening the duration of progesterone treatment with intravaginal instruments, while being effective in inducing estrus and ovulation, reduces the incidence of vaginal infections and consequently improves fertility. On the other hands, it has been reported that pregnancy rates of progestagen-synchronized ewes were lower during anestrus than during the breeding season. Therefore, this study was conducted to investigate the reproductive performance of indigenous ewes in Khanmirza city with short-term and long-term estrous synchronization programs accompanied by eCG during breeding and anestrous season. Moreover, efficacy of estradiol injection instead of gonadotropin during short-term progesterone treatment was evaluated in both seasons.

Materials and Methods: The experiment was performed at two periods, during the breeding and the anestrus seasons on 2 different groups of 400 ewes. During each season, ewes (2 to 5 years of age and average body weight of 45±2.5 kg) were allocated to 4 groups of 100, in the way that each experimental group contained an equal number of ewes of a particular age. Experimental groups were: Control (without any synchronization program), Short term-estradiol group (ewes received 12 days progesterone treatment and intramuscular injection of 1mg estradiol benzoate at the time of sponge removal), Short term-eCG group (ewes received 12 days progesterone treatment and intramuscular injection of 400 IU eCG at the time of sponge removal) and Long term-eCG group (ewes received 14 days progesterone treatment and intramuscular injection of 400 IU eCG at the time of sponge removal). The progesterone treatment consisted on a vaginal sponge which contained 60 mg Medroxyprogesterone Acetate. Then, the ewes were placed in pens and one healthy ram was introduced for every 5 ewes, in order to detect heat and mating. Estrus signs were detected and recorded every hour for 5 days. The percentages of ewes that showed overt signs of estrus during a period of five days (estrus rate), estrus onset (the time elapsed between sponge removal and the first accepted mating) and pregnancy rate (The number of ewes without showing signs of estrous after 42 days of mating/total number of ewes×100) were recorded. Fecundity and prolificacy rate was calculated based on the number of lambs born. Lambs were monitored for 30 days after birth and deaths among them during this period were recorded against the ewes which were their mothers, and the survival rate was determined. The multiple birth rate was calculated by combining the twin and triplet birth rates.

Results and Discussion: The results showed that reducing the duration of treatment with progesterone sponge

1- Associate Professor, Department of Animal Science, Yasouj University, Yasouj, Iran.
2- M.Sc. Graduate, Department of Animal Science, Yasouj University, Yasouj, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Yasouj University, Yasouj, Iran.
*Corresponding Author's Email: bahreini@yu.ac.ir

in both trial period (autumn and spring) led to a significant reduction in estrus rate ($P \leq 0.05$), but had no significant effect on other reproductive parameters ($P > 0.05$). Regardless of the season, injection of estradiol instead of eCG on sponge removal day, while increasing the estrus rate of ewes, led to a sharp increase in the rate of return to estrus ($P \leq 0.05$) and caused decreases in the percentage of pregnant ewes, percentage of parturition ewes and lambing rate ($P \geq 0.05$). In the breeding season, the mortality rate of lambs born from progesterone-synchronized ewes decreased and fecundity increased numerically compared to the corresponding group in breeding season group. Lack of possible effect of the anestrus season during synchronization programs on estrous rate and fertility of ewes can be attributed to optimal nutritional conditions of ewes in this season.

Conclusion: Short term progesterone treatment (12 day) as well as injection of estradiol benzoate instead of eCG is not recommended to synchronize the estrous of ewes during both reproductive and anestrus seasons. In other words, short-term progesterone treatment (12 days) was not effective to synchronize estrus in breeding and anestrous sheep which can be attributed to follicular dynamics.

Keywords: Estrus synchronization, Progesterone sponge, Reproductive performance, Sheep

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد۱۵، شماره۱، بهار۱٤۰۲، ص ۱۳۵-۱۲۳

بررسی مدت زمان استفاده از اسفنج‌های پروژسترون‌دار همراه با تزریق هورمون‌های استرادیول و eCG بر عملکرد تولیدمثلی در گوسفند

محمدرضا بحرینی بهزادی[1]*، محمد کشاورزپور[2]، فرهاد صمدیان[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۲/۳۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۲

چکیده

هدف از انجام این پژوهش، بررسی عملکرد تولیدمثلی میش‌های بومی شهرستان خانمیرزا در دو فصل تولیدمثلی و غیر تولیدمثلی، با برنامه‌های کوتاه‌مدت و بلندمدت همزمان‌سازی فحلی به همراه تزریق استرادیول و eCG بود. آزمایش در دو دوره و با دو گروه مجزای ۴۰۰ رأسی از میش‌ها (دو تا پنج سال و میانگین وزنی ۲/۵±۴۵ کیلوگرم) در قالب چهار گروه آزمایشی ۱۰۰ رأسی انجام شد. در گروه اول یا شاهد هیچ‌گونه برنامه همزمان سازی انجام نشد. گروه‌های آزمایشی دوم و سوم، تیمارهای کوتاه‌مدت استفاده از اسفنج پروژسترونی به‌مدت ۱۲ روز بودند. در تیمارهای دوم و سوم در روز اسفنج‌برداری به‌ترتیب یک میلی‌گرم استرادیول بنزوات و ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG به‌طور عضلانی تزریق شد. در تیمار چهارم یا تیمار بلندمدت-eCG، میش‌ها به‌مدت ۱۴ روز تیمار پروژسترونی را دریافت کرده و در روز اسفنج‌برداری ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG به‌طور عضلانی به آن‌ها تزریق شد. نتایج نشان داد که کاهش طول مدت تیمار با اسفنج پروژسترونی، در هر دو دوره آزمایش، منجر به کاهش معنی‌دار نرخ پاسخ فحلی گردید، ولی بر سایر فراسنجه‌های تولیدمثلی تأثیر معنی‌داری نداشت. صرف نظر از فصل، تزریق استرادیول به‌جای eCG در روز اسفنج‌برداری، ضمن افزایش نرخ پاسخ فحلی میش‌ها، منجر به افزایش شدید نرخ بازگشت به فحلی و کاهش معنی‌دار درصد میش‌های آبستن، میش‌های زایمان کرده و نرخ بره‌زایی میش‌ها گردید. بنابراین، در طول هر دو فصل تولیدمثلی و غیر تولیدمثلی، تیمار کوتاه‌مدت پروژسترونی (۱۲ روز) و همچنین تزریق استرادیول بنزوات به‌جای eCG برای همزمان‌سازی فحلی میش‌ها قابل توصیه نمی‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسفنج پروژسترون‌دار، عملکرد تولیدمثلی، گوسفند، همزمان‌سازی فحلی

مقدمه

افزایش نرخ باروری و تولیدمثل یکی از مهم‌ترین عوامل تعیین‌کننده میزان سوددهی در پرورش گوسفند است. در واقع، میزان تولید یک گله، رابطه‌ای مستقیم با راندمان تولیدمثلی دارد. ایجاد فحلی به‌صورت متراکم در گروهی از دام‌های ماده و در محدوده زمانی مشخص، همزمان‌سازی فحلی نامیده می‌شود. اجرای برنامه‌های همزمان‌سازی فحلی موجب افزایش راندمان تشخیص فحلی و عملکرد تلقیح مصنوعی در گله خواهد شد (Neisi *et al.*, 2016). یک برنامه موفق همزمان‌سازی فحلی به مدیر مزرعه امکان برنامه‌ریزی تلقیح مصنوعی و جفت‌گیری‌ها را داده و کار زمان‌بر

۱- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران.
۲- دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران.
۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران.
(*- نویسنده مسئول: (Email: bahreini@yu.ac.ir

DOI: 10.22067/ijasr.2022.75088.1066

تشخیص فحلی را کاهش و فصل تولیدمثلی را کوتاه نماید (Didarkhah, 2018). از مزایای همزمان‌سازی فحلی در گوسفند می‌توان افزایش میزان بره‌زایی، برنامه‌ریزی برای جفتگیری کنترل شده، تولید بره‌های همسن در راستای پرواربندی آسان و همچنین تولید بره در ماه‌هایی از سال که عرضه گوشت گوسفند دارای محدودیت است را نام برد (Sadeghi Panah, 2016). همزمان‌سازی فحلی و تلقیح مصنوعی به‌موقع، روش‌های ضروری برای مدیریت پرورش دام مدرن و همچنین برای درمان اختلالات تولیدمثلی هستند. بنابراین، این روش‌ها به‌طور گسترده مورد مطالعه و استفاده قرار گرفته است (Ueno et al., 2021). در نشخوارکنندگان کوچک، پروتکل های متعددی برای تحریک و همزمان‌سازی فحلی و تخمک‌ریزی استفاده می‌شود (Kusina et al., 2000). به‌طور معمول در سراسر دنیا برای همزمان‌سازی فحلی با پروتکل‌های مبتنی بر هورمون پروژسترون، تیمار پروژسترونی در دوزهای مختلف و به روش‌ها و مسیرهای مختلف اعمال می‌شود (Abecia et al., 2012). متداول‌ترین مسیر کاربردی در میش، اسفنج‌های داخل واژنی (آغشته شده با فلوروژ سترون استات (FGA) و متیل استوکسی پروژسترون (MAP)) و سیدرهای حاوی ۰/۳ گرم پروژسترون می باشد (Ungerfeld, and Rubianes, 2002). روش‌هایی که از آنالوگ‌های پروژسترون برای همزمان‌سازی فحلی استفاده می‌کنند، بر اساس اثرات این آنالوگ‌ها در مرحله لوتئال چرخه فحلی می‌باشند که عمل پروژسترون طبیعی تولید شده توسط جسم زرد در بعد از تخمک‌ریزی را تقلید می‌کنند (Martinez et al., 2015). از ابتدای گسترش کاربرد تیمارهای پروژسترونی در اوایل دهه ۱۹۶۰، آن‌ها به‌مدت ۱۲ تا ۱۴ روز در واژن حیوان حفظ می‌شوند، چرا که لازم است مدت زمان ماندگاری ابزارهای پروژسترونی در داخل واژن، از نیم‌عمر جسم زرد احتمالی موجود در تخمدان فراتر رود (Martinez-Ros et al., 2019). گوردون در سال ۱۹۹۷ گزارش نمود که تیمار پروژسترونی می‌تواند به‌مدت ۱۰ تا ۱۸ روز به‌وسیله ابزارهای داخل واژنی اعمال گردد (Gordon, 1997). در فصل غیر تولیدمثلی نیز به‌کار بستن پروژسترون‌های درون‌واژنی برای ۱۰ تا ۱۶ روز، که با تزریق داخل عضلانی eCG دنبال می شود، عملی‌ترین روش برای همزمان سازی فحلی در میش می‌باشد (Swelum et al., 2015). امروزه، هر چند که روش‌های اصلاح شده‌ی فعلی برای همزمان سازی فحلی، بسیار کارآمد می باشند، ولی در طی یک دوره کمابیش طولانی اعمال می شوند. با این حال، کاهش دوره تیمار با ترکیبی از تیمار استروژنی، eCG و PGF ممکن می‌باشد (Beck et al., 1996). پروتکل‌های کوتاه مدت از نظر کارآمدی نیز به اندازه پروتکل های بلندمدت برای القای فحلی مؤثر شناخته شده است (Martinez-Ros et al., 2018) و احتمالاً ضمن تسهیل امور مدیریتی، منجر به کاهش ترشحات واژنی و خطر عفونت داخل واژنی خواهند شد (Fonseca et al., 2005). در حقیقت، تیمارهای اسفنجی کوتاه‌مدت (پنج تا هفت روز) صرف نظر از فصل تولیدمثلی، در گوسفند موفقیت‌آمیز بوده‌اند (Oliveira et al., 2016). نشان داده شده است که تیمارهای کوتاه‌مدت با اسفنج پروژسترونی (پنج تا هشت روزه) در طول فصل غیر تولیدمثلی (Ataman et al., 2006; Iglesias et al., 1996) و همچنین در طول فصل تولیدمثلی (Ataman et al., 2006; Öztürkler et al., 2003) از نظر همزمان‌سازی بهینه تولیدمثلی کارساز بوده‌اند. علاوه‌براین، گزارش شد که تیمار بلندمدت پروژسترونی منجر به کاهش باروری می‌گردد (Diskin et al., 2002). گزارش شده است که تیمار کوتاه مدت در فصل غیر تولیدمثلی در مقایسه با تیمار بلندمدت، هر چند به‌شکل غیرمعنی دار، نتایج بهتری از نظر نرخ بره‌زایی و همچنین نرخ آبستنی در مقایسه با فصل تولیدمثلی داشته است (Ataman et al., 2006).

آزاد شدن پروژسترون از اسفنج با گذر زمان کاهش می‌یابد و بنابراین، تیمار کوتاه‌مدت با اسفنج پروژسترونی، غلظت‌های متوسط بالاتری از پروژسترون در طول دوره تیماری را فراهم می‌کند (Martinez-Ros et al., 2019). تغییر این غلظت‌های پروژسترونی در طول دوره تیمار، احتمالاً خود بر الگوهای رشد و نمو فولیکولی (Johnson et al., 1996) و زمان‌بندی ترشح LH در ارتباط با شروع فحلی تأثیرگذار خواهد بود (Van Cleeff et al., 1998). در مواقعی غلظت بالای پروژسترون سرمی ممکن است با اثر مهاری بر ترشح LH پیش تخمک ریزی منجر به فحلی همراه با عدم تخمک ریزی در میش‌ها شود (Almadaly et al., 2016). بنابراین، احتمال می‌رود طول دوره تیمار با اسفنج پروژسترونی بر فراسنجه‌های تولیدمثلی اثرگذار باشد. همچنین طول دوره تیمار پروژسترونی احتمالاً بسته به فصل تولیدمثلی و غیر تولیدمثلی متفاوت خواهد بود، چرا که در برخی از میش ها در فصل تولیدمثلی، هنوز ممکن است در طول دوره اسفنج‌گذاری جسم زرد فعال (کارکردی) وجود داشته باشد (Viñoles et al., 2001). علاوه‌براین، دوره تیمار پروژسترونی (به همراه عوامل دیگری همچون دوز پروژسترون) می‌تواند اثربخشی eCG در کنترل محور تولیدمثل را تحت تأثیر قرار دهد (Viñoles et al., 2011). تزریق و یا عدم تزریق eCG نیز می‌تواند بر نتایج یک برنامه همزمان‌سازی فحلی اثرگذار باشد (Abecia et al., 2012; Almadaly et al., 2016). به هر حال، در مواقعی ممکن است eCG در دسترس نباشد و یا قوانینی بر علیه آن وضع شود. بنابراین، لازم است در هنگام در دسترس نبودن eCG پروتکل های مبتنی بر پروژسترون برای همزمان سازی، اصلاح شوند (Martinez-Ros et al., 2019). یکی از جایگزین های احتمالی برای eCG، می‌توانند هورمون استرادیول باشد. هورمون استرادیول بنزوات از خانواده استروژن‌ها است که می‌تواند موجب آشکار شدن علایم فحلی در گوسفند شود. از استرادیول به‌طور گسترده‌ای برای همگام‌سازی ظهور

موج فولیکولی و تخمک‌گذاری در برنامه‌های همزمان سازی فحلی و به‌ویژه در گاو استفاده می‌شود. علاوه‌براین، استرادیول اثرات پروژسترون را در گاو و گوسفند تقویت می‌کند (Takada *et al.*, 2012). یکی از عوامل کلیدی برای کارایی پروتکل‌های همزمان‌سازی فحلی و تلقیح مصنوعی به‌موقع، القای موج جدید فولیکولی است. پژوهش‌ها نشان داده است که ظهور موج فولیکولی جدید سه تا پنج روز پس از شروع درمان با استرادیول بنزوات بدون توجه به مرحله چرخه فحلی رخ می‌دهد. درمان هورمونی با استرادیول بنزوات به‌عنوان پروتکل محبوب برای همزمان سازی فحلی و تلقیح مصنوعی به‌موقع در گاو استفاده می‌شود (Ueno *et al.*, 2021).

در پژوهش حاضر، دو موضوع طول دوره تیمار با اسفنج پروژسترونی (کوتاه‌مدت و بلندمدت) در ترکیب با eCG و همچنین استفاده از eCG و استرادیول بنزوات در حالت استفاده کوتاه‌مدت از اسفنج پروژسترونی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. بنابراین، هدف از پژوهش حاضر مقایسه اثربخشی تیمار ۱۲ روزه و ۱۴ روزه با اسفنج پروژسترونی در ترکیب با eCG برای القای فحلی بارور در هر دو فصل تولیدمثلی و غیر تولیدمثلی (آنستروس) و همچنین تأثیر تزریق استرادیول به‌جای eCG بعد از اسفنج‌برداری در روز دوازدهم بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دو دوره، در فصل تولیدمثلی و غیر تولیدمثلی، با دو گروه مختلف ۴۰۰ رأسی از میش‌ها (در کل ۸۰۰ رأس میش) انجام شد. در هر دوره، میش‌های بومی شهر ستان خانمیرزا واقع در استان چهار محال و بختیاری در محدوده سنی دو تا پنج سال و میانگین وزنی ۲/۵±۴۵ کیلوگرم مورد استفاده قرار گرفت. در فصل غیر تولیدمثلی میش‌ها به صورت پرورش رو ستایی، صبح از جایگاه خارج شده و تا غروب از علوفه مرتع (علوفه جو) تغذیه می‌کردند. در فصل پاییز میش ها در جایگاه بسته نگهداری و با یک جیره کاملاً مخلوط متشکل از یونجه، ذرت سیلو شده و کنسانتره مقوی تغذیه شدند. کنسانتره مورد استفاده از جو، سبوس گندم، ذرت و سویا تشکیل شده بود که پس از آسیاب با هم مخلوط و در اختیار دام‌ها قرار داده می‌شد. همه میش‌ها پیش از ورود به آزمایش برای یک دوره ۶۵ روزه به‌طور جدا از قوچ ها نگهداری شده و از آبستن نبودن آن ها با انجام سونوگرافی اطمینان حاصل شد. از دستگاه سونوگرافی دامی پرتابل مدل EMP V9 (ساخت شرکت EMPEROR) برای انجام سونوگرافی استفاده شد. میش‌ها در هر دوره از آزمایش به‌طور تصادفی به چهار گروه ۱۰۰ رأسی (گروه شاهد و سه گروه تیماری) تقسیم شدند. گروه شاهد شامل میش‌هایی بود که هیچ گونه اسفنج درون‌واژنی و یا هورمونی را دریافت نمی کردند. چرخه فحلی همه میش های گروه های تیماری با اسفنج آغشته به پروژسترون اسپونجاوت[1] حاوی ۶۰ میلی‌گرم مدروکسی پروژسترون استات[2] ساخت شرکت هیپرای[3] کشور اسپانیا، همزمان‌سازی شد. روز اسفنج گذاری در دوره‌ی اول، یکم مهر ماه و در دوره‌ی دوم، اول اردیبهشت ماه بود. گروه اول تیماری شامل میش‌هایی بود که اسفنج پروژسترونی به‌مدت ۱۲ روز در داخل واژن آن‌ها نگهداری شد و در روز دوازدهم به هنگام اسفنج‌برداری، یک میلی‌گرم استرادیول بنزوات (Vetastrol)، شرکت داروسازی ابوریحان) به‌صورت عضلانی به میش ها تزریق گردید. گروه دوم تیماری شامل میش‌هایی بود که به‌مدت ۱۲ روز اسفنج‌گذاری داخل واژنی شده و در روز دوازدهم ۴۰۰ واحد بین‌المللی هورمون eCG (گوناسر[4]، ساخت شرکت هیپرا، ساخت اسپانیا) به‌شکل عضلانی به آن‌ها تزریق شد. گروه سوم تیماری شامل میش‌هایی که به‌مدت ۱۴ روز اسفنج‌گذاری پروژسترونی شده و در روز چهاردهم، ۴۰۰ واحد بین‌المللی هورمون eCG (گوناسر، ساخت شرکت هیپرا، اسپانیا) به‌صورت عضلانی به آن‌ها تزریق شد. بنابراین، تفاوت گروه تیماری اول و دوم، تزریق استرادیول به‌جای eCG و تفاوت دو گروه تیماری دوم و سوم نیز فقط در مدت زمان استفاده از اسفنج‌های پروژسترون‌دار بود.

صفات تولیدمثلی شامل نرخ پاسخ به فحلی (فاصله زمانی از لحظه اسفنج‌برداری تا بروز علایم فحلی)، نرخ بازگشت به فحلی (درصد میش هایی که پس از یک دوره ۲۱ روزه دوباره علایم فحلی را بروز می‌دادند)، نرخ آبستنی [(تعداد میش بدون نشان دادن علایم بازگشت به فحلی بعد از روز ۴۲ / تعداد میش فحل جفت‌گیری کرده در هر گروه)×۱۰۰]، نرخ زایش [(تعداد میش زایمان کرده / تعداد میشی که به‌عنوان آبستن در نظر گرفته شده‌اند)×۱۰۰]، نرخ تک‌قلوزایی، دوقلوزایی و چند قلوزایی [(تعداد میش یک، دو یا چندقلوزا / تعداد میش های زایمان کرده)×۱۰۰]، نرخ مرگ و میر (تا یک ماه پس از زایش)، نرخ بره‌زایی[5] [(تعداد بره‌های متولد شده / تعداد میش‌های فحل جفت‌گیری کرده)×۱۰۰] و میزان زادآوری[6] (تعداد بره‌های متولد شده / تعداد میش‌های زایمان کرده)×۱۰۰] محاسبه شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS نسخه‌ی ۹/۱ استفاده شد (SAS Institute, 2002). گروه‌های تیماری مختلف از لحاظ سن میش‌ها در شروع آزمایش و پیش از اعمال تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵). داده‌ها توسط دو رویه GLM (آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین) و Freq (بر اساس آزمون کای اسکوار) تجزیه

1- Esponjavet
2- Medroxyprogesterone acetate
3- Hipra
4- Gonaser
5- Fecundity
6- Prolificacy

و تحلیل شدند.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به فراسنجه‌های تولیدمثلی متأثر از تیمارهای مختلف همزمان‌سازی در فصل غیر تولیدمثلی و تولیدمثلی به‌ترتیب در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است.

در هر دو فصل تولیدمثلی و غیر تولیدمثلی استفاده از تیمارهای هورمونی، سبب بهبود نرخ فحلی در گروه‌های دریافت‌کننده تیمارهای هورمونی در مقایسه با گروه شاهد شد (P≤۰/۰۵). همچنین بین گروه‌های دریافت‌کننده تیمارهای هورمونی نیز اختلاف معنی‌دار وجود داشت (P≤۰/۰۵). نتایج نشان داد که مقادیر نرخ فحلیِ میش‌های گروه شاهد در فصل تولیدمثلی (۶۰ در صد) بالاتر از گروه شاهد در فصل غیر تولیدمثلی (۳۰ در صد) بود. بررسی نتایج نشان داد که نرخ فحلی در بین گروه‌های همزمان سازی شده در دو فصل تقریباً به هم شبیه بود. تنها تفاوت در تیمار کوتاه‌مدت پروژسترونی همراه با eCG بود که نرخ فحلی در فصل تولیدمثلی بیشتر (۸۰ درصد) از فصل غیر تولیدمثلی (۷۵ درصد) بود. نرخ فحلی در هر دو فصل بهار و پاییز و در تیمارهای بلندمدت پروژسترونی و کوتاه‌مدت همراه با استرادیول یکسان و به‌ترتیب ۹۵ و ۱۰۰ درصد بود.

جدول ۱- تأثیر طول دوره تیمار پروژسترونی و نوع هورمون تزریقی (استرادیول و یا eCG) در زمان خارج‌سازی اسفنج بر عملکرد تولیدمثلی گوسفندان در فصل غیر تولیدمثلی

Table 1- Effect of progesterone treatment duration and the type of hormone (estradiol or eCG) injected at the time of sponge removal on reproductive performance of sheep in anestrus season

فراسنجه‌ها Parameters	گروه‌های آزمایشی Experimental groups				P-value
	شاهد Control	کوتاه‌مدت (۱۲ روز) – استرادیول Short term (12 d)-Estradiol	کوتاه‌مدت (۱۲ روز) – eCG Short term (12 d)-eCG	بلندمدت (۱۴ روز) – eCG Long term (12 d)-eCG	
نرخ فحلی (درصد) Estrus rate (%)	30 (30/100)[d]	100 (100/100)[a]	75 (75/100)[c]	95 (95/100)[b]	0.0001
شروع فحلی (ساعت) Estrus onset (h)¥	–	47.6±1.8	37.6±1.0	37.1±1.6	–
نرخ بازگشت به فحلی (درصد) Rate of return to estrus (%)	6.67 (2/30)[a]	50.00 (50/100)[b]	14.67 (11/75)[a]	8.42 (8/95)[a]	0.0001
میش‌های آبستن (درصد) Pregnancy rate	93.33 (28/30)[a]	5.00 (50/100)[b]	85.35 (64/75)[a]	91.58 (87/95)[a]	0.0001
میش‌های زایمان کرده (درصد) Parturition rate (%)	(28/28)[a] 100.00	80.00 (40/50)[b]	100.00 (64/64)[a]	100.00 (87/87)[a]	0.0001
تک قلوزایی (درصد) Single birth (%)	(28/28)[a] 100.00	100 (40/40)[a]	93.75 (60/64)[ab]	87.36 (76/87)[b]	0.022
دو قلوزایی (درصد) Twin birth rate (%)	0.00 (0/28)	0.00 (0/40)	4.39 (3/64)	8.05 (7/87)	0.1286
سه قلوزایی (درصد) Triple bith rate (%)	0.00 (0/28)	0.00 (0/40)	1.56 (1/64)	4.60 (4/87)	0.2808
چندقلوزایی (درصد) Multiple birth rate (%)	0.00 (0/28)[a]	0.00 (0/40)[a]	6.25 (4/64)[ab]	12.64 (11/87)[b]	0.022
تعداد بره‌های متولد شده Number of born lambs	28	40	69	102	–
مرگ و میر بره‌ها (درصد) Death of lambs (%)	7.14 (2/28)[a]	25.00 (10/40)[b]	10.15 (7/69)[a]	2.94 (3/102)[a]	0.0007
بره‌زایی (درصد) Fecundity %)	93.33 (28/30)[a]	40.00 (40/100)[b]	92.00 (69/75)[a]	107.37 (102/95)[a]	0.0001
زادآوری (درصد) Prolificacy (%)	(28/28)[b] 100.00	100.00 (40/40)[b]	107.81 (69/64)[ab]	117.24 (102/87)[a]	0.0295

در هر ردیف حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

¥ شروع فحلی (ساعت) به صورت میانگین ± میانگین خطای استاندارد داده شده است.

In each row, different letters indicate a significant difference (P<0.05).
¥ Estrus onset hour is given as mean ± SEM

در پژوهشی نشان داده شده است، تیماری که سیدر و eCG را توأم و به مدت ۱۲ روز دریافت کرده بودند، نرخ فحلی بالاتر و معنی‌داری نسبت به تیماری بروز دادند که سیدر و eCG را توأم و به مدت هفت روز دریافت کرده بودند (Haji Ghorbani et al., 2018). با توجه به اینکه همزمان سازی فحلی ممکن است با عواملی همچون تغذیه، نمره وضعیت بدنی، شیردهی، سن، دما و نور تحت تأثیر قرار گیرد (Gordon, 1997; Kuru et al., 2018)، و به‌دلیل عدم یکنواختی شرایط آزمایشی به‌ویژه از نظر خوراک مصرفی در دو فصل بهار و پاییز، مقایسه آماری بین عملکرد تولیدمثلی میش‌ها در بین دو فصل صورت نگرفت. گزارش شده است که نرخ باروری در میش های تیمار شده با اسفنج پروژسترون و eCG در فصل غیر تولیدمثلی نسبت به فصل تولیدمثلی کمتر است که به عواملی از قبیل اختلال در ترشح هورمون LH، انتقال اسپرم و باروری نسبت داده شده است (Crosby et al.,1991; Tempest and Minter, 1987). به نظر می‌رسد اثرات فصلی بر تولیدمثل میش های تیمار شده با پروژسترون و eCG، از طریق ترشح گنادوتروپین هیپوفیزی میانجی گری شود و در این میان، عواملی از قبیل تفاوت های نژادی، شدت اثرات فصلی و زمانی از فصل غیر تولیدمثل که تیمار همزمان‌سازی اعمال می‌شود، ممکن است اثرگذار باشند (Echternkamp, 1982).

در پژوهش حاضر در هر دو فصل غیر تولیدمثلی و تولیدمثلی، فراسنجه شروع فحلی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر طول دوره تیمار پروژسترونی (۱۲ روزه و ۱۴ روزه) قرار نگرفت. بر خلاف این یافته، در مطالعه‌ای نشان داده شد که در فصل غیر تولیدمثلی، طول مدت ۱۴ روزه تیمار در مقایسه با طول مدت ۱۰ روزه تیمار با اسفنج پروژسترونی (ضمن تزریق ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG به همه میش های تیمار شده)، منجر به کاهش معنی‌دار فراسنجه شروع فحلی بر حسب ساعت در میش ها گردید، ولی بر سایر فراسنجه های تولیدمثلی (نرخ دوقلوزایی، نرخ فحلی، نرخ بره‌زایی) تأثیر معنی‌داری نداشت (Kuru et al., 2020). به هر حال، این‌طور نتیجه گیری شد که با توجه به قابل قبول بودن نرخ فحلی میش‌ها در تیمار ۱۰ روزه، ممکن است با توجه به مدیریت آسان‌تر، پروتکل ۱۰ روزه ترجیح داده شود (Kuru et al., 2020). همچنین گزارش شده است که زمان شروع فحلی در میش های تیمار شده به‌مدت ۱۴ روز با سیدر، به‌طور معنی داری کوتاه‌تر از تیمارهای پنج، شش و هفت روزه با سیدر می باشد (Martinez-Ros et al., 2019). در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد، در گروه میش‌های تیمار شده با پروژسترون به‌مدت ۱۱ روز، نسبت به میش‌های تیمار شده به‌مدت ۱۴ روز با اسفنج پروژسترونی، فحلی با تأخیر زمانی بیشتری رخ داده است (Kuru et al., 2017). در مطالعه حاضر، تزریق استرادیول به‌جای eCG بعد از تیمار پروژسترونی، تأثیر معنی داری بر شروع فحلی در میش ها نداشته است. معمولاً بعد از به‌کارگیری eCG به دنبال تیمار پروژسترونی (۱۱ تا ۱۴ روز اسفنج داخل واژنی) در ظرف ۲۴ تا ۴۸ ساعت، فحلی در دام دیده می‌شود (Abecia et al., 2012). هورمون eCG به‌عنوان تقویت کننده گنادوتروپین های اندوژنوس عمل می کند و بدین ترتیب فعالیت فحلی بعد از تزریق eCG (به‌ویژه در فصل غیر تولیدمثلی) تحریک می شود (Abecia et al., 2012).

در هر دو فصل از میان فراسنجه‌های تولیدمثلی، تنها نرخ پاسخ به فحلی در میش‌هایی با تیمار کوتاه‌مدت پروژسترونی (۱۲ روز)، پایین‌تر از تیمار بلندمدت (۱۴ روز) بود ($P\leq$۰/۰۵). بر خلاف این یافته، گزارش شده است که طول مدت تیمار میش‌ها با اسفنج پروژسترونی، بر پاسخ فحلی آن‌ها تأثیر معنی‌داری نداشته است (Ustuner et al., 2007). در مطالعه‌ای دیگر گزارش شده است که با کاسته شدن از طول دوره اسفنج‌گذاری (از ۱۴ روز به ۷ روز) در فصل غیر تولیدمثلی (ضمن تزریق eCG)، تغییر معنی داری در درصد فحلی میش ها (و همچنین سایر فراسنجه‌های عملکرد تولیدمثلی) رخ نمی‌دهد (Hejazi et al., 2018). در برخی مطالعات، کاستن از طول دوره تیمار پروژسترونی نتایج مطلوب‌تری داشته است. به‌عنوان مثال نشان داده شده است که بهترین طول دوره سیدرگذاری (ضمن لحاظ کردن تزریق eCG در روز سیدربرداری) در فصل غیر تولیدمثلی بز، به‌جای ۱۹ روز، ۱۷ روز می باشد، به‌طوری که تیمار ۱۷ روزه منجر به بهبود معنی دار نرخ بزغالەزایی در مقایسه با تیمار ۱۹ روزه با سیدر گردید (Masoodi et al., 2014). همچنین در مطالعه‌ای دیگر، دوره همزمان سازی شش روزه در مقایسه با ۱۴ روزه با سیدر (ضمن تزریق ۶۰۰ واحد بین‌المللی eCG در روز سیدربرداری به هر دو گروه)، منجر به بهبود نرخ آبستنی میش‌ها در فصل غیر تولیدمثلی شده است (Sareminejad et al., 2014).

جدول ۲- تأثیر طول دوره تیمار پروژسترونی و نوع هورمون تزریقی (استرادیول و یا eCG) در زمان خارج‌سازی اسفنج بر عملکرد تولیدمثلی گوسفندان در فصل تولیدمثلی

Table 2- Effect of progesterone treatment duration and the type of hormone (estradiol or eCG) injected at the time of sponge removal on reproductive performance of sheep in reproductive season

فراسنجه‌ها Parameters	گروه‌های آزمایشی Experimental groups شاهد Control	کوتاه‌مدت (۱۲ روز) – استرادیول Short term (12 d)-Estradiol	کوتاه‌مدت (۱۲ روز) – eCG Short term (12 d)-eCG	بلندمدت (۱۴ روز) – eCG Long term (12 d)-eCG	P-value
نرخ فحلی (درصد) Estrus rate (%)	60 (60/100)[d]	100 (100/100)[a]	80 (80/100)[c]	95 (95/100)[b]	0.0001
شروع فحلی (ساعت) Estrus onset (h)¥	–	47.1±1.7	36.9±1.5	36.4±1.3	–
نرخ بازگشت به فحلی (درصد) Rate of return to estrus (%)	16.67 (10/60)[ac]	30.00 (30/100)[a]	10.00 (8/80)[bc]	5.26 (5/95)[b]	0.0001
میش‌های آبستن (درصد) Pregnancy rate	83.33 (50/60)[ac]	70.00 (70/100)[a]	90.00 (72/80)[bc]	94.74 (90/95)[b]	0.0001
میش‌های زایمان کرده (درصد) Parturition rate (%)	76.00 (38/50)[b]	85.71 (60/70)[b]	91.67 (66/72)[a]	94.44 (85/90)[a]	0.007
تک قلوزایی (درصد) Single birth (%)	100 (38/38)	100 (60/60)	98.44 (65/66)	96.47 (82/85)	0.309
دو قلوزایی (درصد) Twin birth rate (%)	0 (0/38)	0 (0/60)	1.51 (1/66)	2.35 (2/85)	0.534
سه قلوزایی (درصد) Triple bith rate (%)	0 (0/38)	0 (0/60)	0 (0/66)	1.18 (1/85)	0.585
چندقلوزایی (درصد) Multiple birth rate (%)	0 (0/38)	0 (0/60)	1.52 (1/66)	3.53 (3/85)	0.309
تعداد بره‌های متولد شده Number of born lambs	38	60	67	89	-
مرگ و میر بره‌ها (درصد) Death of lambs (%)	31.58 (12/38)[a]	25.00 (15/60)[ac]	14.93 (10/67)[bc]	7.87 (7/89)[b]	0.003
بره‌زایی (درصد) Fecundity %)	63.33 (38/60)[b]	60.00 (60/100)[b]	83.75 (68/80)[a]	93.68 (89/95)[a]	0.0001
زادآوری (درصد) Prolificacy (%)	100 (38/38)	100 (60/60)	101.51 (67/66)	104.71 (89/85)	0.297

در هر ردیف حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

¥ شروع فحلی (ساعت) به صورت میانگین ± میانگین خطای استاندارد داده شده است.

In each row, different letters indicate a significant difference (P<0.05).
¥ Estrus onset hour is given as mean ± SEM

نتایج حاصـــل از یک پژوهش نیز نشـــان داد که با افزایش طول دوره تیمار با پروژسترون (از ۸ به ۱۴ روز ضمن تزریق ۲۵۰ میکروگرم PGF2α یک روز قبل از اسـفنج‌گذاری و ۵۰۰ واحد بین‌المللی eCG در روز اســـفنج‌برداری)، از نرخ فحلی، نرخ بره‌زایی و میزان زادآوری میش‌ها کاسته شد؛ با این حال، میش‌های تیمار شده به‌مدت ۱۴ روز با اسـفنج پروژسـترونی بعد از اسـفنج‌برداری زودتر به فحلی رسـیدند (Almadaly *et al.*, 2016). البته در برخی مطالعات، اثرات منفی غیر معنی‌داری، در اثر کاهش طول دوره تیمار پروژسـترونی (از ۱۲ روز به ۶ روز) بر عملکرد تولیدمثلی میش‌ها گزارش شـده اسـت (Ahmed Amer and Maher Hazzaa, 2009). این اختلافات در گزارش‌های مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از تفاوت‌های نژادی، وضعیت دینامیک فولیکولی در تخمدان و نحوه سامانه‌ی مدیریتی باشد.

ا ستفاده از ا سترادیول به‌جای eCG در هر دو ف صل تولیدمثلی و غیر تولیدمثلی، منجر به افزایش معنی‌دار تعداد میش هایی گردید که بازگشـــت به فحلی را نشـــان می‌دادند (P≤۰/۰۵). تیمار اســـترادیولی همچنین در فصـــل غیر تولیدمثلی، منجر به کاهش معنی‌دار درصـــد میش‌های آب‌ستن و زایمان‌کرده و در صد بره‌زایی در مقای‌سه با سایر گروه‌های آزمای‌شی (و حتی گروه شاهد) گردید. بنابراین، نتیجه‌گیری می شود که به هیچ عنوان ا ستفاده از ا سترادیول به‌جای eCG تو صیه نمی شود و اثرات مخرب ا سترادیول (و عدم تزریق eCG) بر عملکرد

تولیدمثلی، بخصوص در فصل غیر تولیدمثلی بیشتر است. گزارش شده اســـت اثرات منفی عدم تزریق eCG در فصـــل غیر تولیدمثلی (در هنگامی که دام در و ضعیت آ سترس ا ست و تر شح گنادوتروپین و فرایندهای تخمک‌ریزی کاهش می‌یابد) بالاتر ا ست و حذف eCG از برنامه‌های همزمان سازی در طی ف صل غیر تولیدمثلی، ممکن ا ست نتایج بدتری داشته باشد (Garoussi *et al.*, 2012; Joseph *et al.*, 1992). استفاده از سایر گنادوتروپین‌ها به‌جای eCG نیز نتایج مطلوبی در بر ندا شته ا ست (Hejazi *et al.*, 2018). در مطالعه‌ای ن شان داده شـد که با عدم تزریق ۴۰۰ واحد بین‌المللی هورمون eCG در فصـل غیر تولیدمثلی به بزهای اســفنج گذاری شــده، هیچ کدام از بزهای ا سفنج‌گذاری شده علایم فحلی را ن شان ندادند، در حالی که با تزریق eCG، ۸۰ درصـد بزها علایم فحلی را نشـان دادند (Eskandari *et al.*, 2020). گزارش شده ا ست که در میش‌های تیمار شده با ا سفنج حاوی مدروکســی پروژســترون اســتات و دریافت کننده‌ی تزریقی از استرادیول به‌جای eCG، تخمک‌ریزی صورت نمی‌گیرد (Barrett *et al.*, 2008). در گزارشی دیگر نشان داده شد که تزریق ۲۰۰ میکروگرم استرادیول بنزوات داخل عضلانی به بزهای سیدرگذاری شده، منجر به تحریک زودهنگام ترشح LH و همچنین تخمک‌ریزی در بزها گردید، ولی با این حال، باروریِ پی آیند چنین بز هایی بســـیار پایین تر بود (Menchaca and Rubianes, 2004). م شاهده شده ا ست که هر چند فحلی رفتاری به ســـهولت بعد از تزریق اســـترادیول تحر یک می شود، ولی برای تخمک‌ریزی و باروری، ح ضوری از فولیکول‌های غالب بالغ در سطح تخمدان مورد نیاز ا ست (Burke *et al.*, 2001). بنابراین، در مطالعه حاضـر، تزریق اسـترادیول به احتمال زیاد منجر به بالا رفتن سطوح ا سترادیول خونی شده ا ست که فحلی رفتاری را در پی دا شته ا ست. گزارش شده ا ست که در میش‌ها، سطوح بالایی از اســـترادیول خونی، با کاهش در انتقال و ظرفیت باورســـازی اســـپرم همراه بوده و بر بلوغ اووســـیت، (Evans and Armstrong, 1984) باروری (Ryan *et al.*, 1991) و ز نده مانی رو یان تول ید شـــده (Martemucci *et al.*, 1997) اثرات منفی دارد. در گاو نرخ باروری پایین، با غلظت‌های بالایی از اسـترادیول خونی در طول تخمک‌ریزی و قبل از آن مرتبط بوده ا ست (Cavalieri *et al.*, 1997). در مطالعه حاضر، تیمار استرادیولی همچنین نرخ مرگ و میر بره‌ها را افزایش داد. مرگ و میر رویانی بیشــتر در طول اوایل دوره‌ی آبســتنی در دام‌های اهلی رخ می‌دهد و ممکن است به توضیح و تفسیر تغییرات رخ داده در نرخ آبســـتنی و بره زایی با توجه به نوع تیمار به‌کار رفته، کمک کند (Ataman *et al.*, 2006).

گزارش شده است که در هر دو فصل تولیدمثلی و غیر تولیدمثلی، دریافت تیمار پروژســـترونی (اســـفنج داخل واژنی حاوی ۳۰ میلی گرم FGA به همراه تزریق PGF2α و eCG) به صورت کوتاه‌مدت (هفت روز) و یا بلندمدت (۱۲ روز)، هیچ تأثیر معنی‌داری بر فراســـنجه های تولیدمثلی (نرخ فحلی، نرخ آبســـتنی، بره زایی و چندقلوزایی) میش ها ندارد و به عبارتی دیگر، تیمار کوتاه‌مدت پروژســـترونی اثر قابل قبولی بر باروری و نرخ همزمان‌سـازی میش‌ها داشـته اسـت (Ataman *et al.*, 2006). با این حال، با ید توجه داشـــت که در مطالعه‌ی این محققین، همراه بـا ۴۰۰ واحـد بین‌المللی هورمون eCG، ۰/۲۹ میلی گرم PGF2α نیز به میش ها تزریق شـــده بود. تزریق PGF2α یک روز قبل از خارج‌سازی اسفنج، می‌تواند با تسریع تحلیل جسم زرد، از بروز فحلی دیررس جلوگیری نماید. بنابراین، در هنگام بررســـی اثر طول دوره تیمار پروژسترونی باید به تزریق و یا عدم تزریق eCG و یا PGF2α توجه ویژه‌ای داشـــت. در مطالعه‌ای در هنگام تزریق eCG (۴۰۰ واحد بین‌المللی) در هنگام ســـیدربرداری پس از ۷ و یا ۱۴ روز، عملکرد تولیدمثلی میش ها بعد از تیمار ۱۴ روزه با ســـیدرِ داخل واژنی بهتر از تیمار هفت روزه با سیدر بود (Martinez-Ros *et al.*, 2019). بر عکس، موفقیت تخمک‌ریزی در پروتکل های بدون eCG (ســـیدر به‌علاوه تزریق PGF2α در هنگام ســـیدربرداری)، وابســـته به‌طول دوره‌ی تیمار پروژسترونی بود، به‌طوری‌که با کاسته شدن از طول دوره تیمار با ســـیدر (از ۱۴ یا هفت روز به پنج روز)، درصـــد حیوانات تخمک‌ریزی کننده افزایش نشـــان داد (Martinez-Ros *et al.*, 2019). علت اثر بهبوددهندگی دوره‌های کوتاه‌مدت تیمار با سیدر (در هنگام عدم تزریق eCG)، به الگوهای رشد فولیکولی نسبت داده شده اســت (Martinez-Ros *et al.*, 2019). پس از اســتفاده از ســیدر به‌عنوان ابزار داخل واژنی، کاهش فراهمی LH در اثر فیدبک منفی ناشـــی از بالا رفتن ســـطوح پروژســـترون خون، مو جب آترزی فولیکول‌های بزرگِ موجود در سطح تخمدان شده و همچنین ترن‌آور فولیکولی و متعهد شـــدن یک موج جدیدی از فولیکول ها را تحریک می‌نماید (Leyva *et al.*, 1998)؛ و در نتیجه، منجر به شـکل گیری فولیکول پیش‌تخمک‌ریزی جدیدی می‌شود که از مخزن فولیکول‌های کوچک آنترال بیرون می‌آیند (Tsonis *et al.*, 1984). چنین فولیکولی در چهار روز بعدی در مرحله فعال رشدی خود می‌باشد تا در روز پنجم به حداکثر رشـد خود برسـد (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2001). از این رو حذف ابزار پروژســـترونی در دوره پنج الی هفت روزه (بدون تزریق eCG)، ح ضور یک فولیکول پیش‌تخمک‌ریزی سالم و در حال رشـدی را تضـمین می نماید که قادر به تحریک فحلی و رسـیدن به مرحله تخمک ریزی خواهد بود (Menchaca *et al.*, 2018). با این حال، فولیکول‌ها بعد از روز هفتم سـیدرگذاری وارد فاز ایسـتایی خود می شـــوند و بنابراین، توانایی تخمک ریزی در این فولیکول ها بدون eCG به مخاطره می‌افتد (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2002).

میزان زادآوری بین گروه‌های مختلف تیماری در ف صل تولیدمثلی تفاوت معنی داری نداشـــت، با این حال در فصـــل غیر تولیدمثلی، فراسـنجه میزان زادآوری (متوسـط تعداد بره در هر زایمان × ۱۰۰) در

هنگام استفاده از تیمار بلندمدت پروژسترونی، به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد و گروه فاقد تزریق eCG (و به جای آن تزریق استرادیول) بود. گزارش شده است که میزان زادآوری در گروه تیماری دریافت‌کننده ۵۰۰ واحد بین‌المللی eCG نسبت به گروه های دریافت‌کننده ۳۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ واحد بین‌المللی eCG، بیشتر و گروه شاهد کمترین میزان زادوری را در میش های لک‌قشقایی و ترکی‌قشقایی داشت (Habibizad *et al.*, 2019). در فصل تولیدمثلی، تیمارهای پروژسترونی به‌علاوه eCG، در مقایسه با شاهد منجر به افزایش درصد میش‌های زایمان کرده و نرخ برەزایی شدند (P≤۰/۰۵)؛ ولی در این فصل تنها تیمار بلندمدت پروژسترونی منجر به افزایش درصد آبستنی میش‌ها در مقایسه با گروه شاهد گردید (P≤۰/۰۵). در فصل غیر تولیدمثلی، تیمارهای پروژسترونی به‌علاوه eCG از نظر فراسنجه‌های درصد میش‌های آبستن، درصد میش‌های زایمان کرده و نرخ برەزایی نتیجه‌ای مشابه ایجاد کردند. نرخ برەزایی تنها در فصل تولیدمثلی (و نه غیر تولیدمثلی) در گروه های دریافت‌کننده اسفنج پروژسترونی و eCG به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. بهترین نرخ برەزایی گزارش شده (از نظر عددی) در هر دو فصل و به‌ویژه فصل غیر تولیدمثلی، مربوط به گروه تیمار بلندمدت پروژسترونی و eCG بود. به نظر می‌رسد که تأثیر این پروتکل همزمان‌سازی بر نرخ برەزایی، در فصل غیر تولیدمثلی بیشتر از فصل تولیدمثلی باشد.

یکی از نتایج مهم به‌دست آمده در مطالعه حاضر، تعداد بره متولد شده در گروه‌های تیماری مختلف بود. در هر دو فصل تولیدمثلی و غیر تولیدمثلی تعداد بره متولد شده به‌ترتیب در گروه‌های شاهد، کوتاه‌مدت پروژسترونی به‌علاوه استرادیول، کوتاه‌مدت پروژسترونی به‌علاوه eCG و بلندمدت پروژسترونی به‌علاوه eCG روند افزایشی داشت. در فصل تولیدمثلی و غیر تولیدمثلی بیشترین تعداد بره متولد شده به‌ترتیب به‌میزان ۸۹ و ۱۰۲ بره و کمترین میزان مرگ و میر به‌ترتیب به‌میزان ۷/۸۷ و ۲/۹۴ درصد در گروه تیماری بلندمدت پروژسترونی به‌علاوه eCG مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان چندقلوزایی مربوط به گروه تیماری بلندمدت پروژسترونی به‌علاوه eCG بود. با توجه به اینکه تعداد بره بیشتر و میزان مرگ و میر کمتر ارتباط مستقیمی با افزایش میزان درامد پرورش‌دهندگان گوسفند دارد، این نتیجه به‌دست آمده در پژوهش حاضر می‌تواند منجر به این امر شود که تمایل پرورش‌دهندگان گوسفند در منطقه به استفاده دوباره از تکنیک‌های تولیدمثلی در گله‌های خود بیشتر شود. خوش‌بختانه به نظر می‌رسد به‌دست آمدن چنین نتایجی در پژوهش حاضر و مطالعات سایر محققین توانسته است تأثیر زیادی بر نگرش دامداران و ترغیب آن‌ها به استفاده از چنین تکنیک‌هایی در گله‌های شهرستان خانمیرزا و سایر مناطق استان چهار محال و بختیاری داشته باشد.

در پژوهش انجام شده در میش‌های لک‌قشقایی مشخص شد که نرخ برەزایی در تیمارهای دریافت‌کننده ۴۰۰ و ۵۰۰ واحد بین‌المللی eCG نسبت به سایر گروه‌ها به‌ویژه نسبت به گروه دریافت‌کننده ۶۰۰ واحد بین‌المللی eCG، بالاتر بود (Habibizad *et al.*, 2019). علاوه‌براین، در میش‌های ترکی‌قشقایی و در گروه تیماری که همراه با برنامه همزمان سازی فحلی، ۵۰۰ واحد بین‌المللی eCG دریافت کرده بودند، نرخ برەزایی نسبت به گروه شاهد و سایر گروه‌های دریافت‌کننده eCG، بالاتر بود (Habibizad *et al.*, 2019). گزارش شده است که در فصل تولیدمثلی، دریافت تیمار پروژسترونی (سیدر به‌مدت ۱۲ روز به‌علاوه تزریق ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG در هنگام سیدربرداری) نسبت به گروه شاهد سبب افزایش معنی‌دار فراسنجه‌های تولیدمثلی درصد میش فحل، درصد میش آبستن، درصد زایش و نرخ برەزایی در میش‌های زندی گردید (Sadeghi Panah *et al.*, 2015). در مطالعه‌ای نشان داده شد که استفاده از ۴۰۰ واحد بین‌المللی هورمون eCG پس از سیدرگذاری کوتاه‌مدت (هفت روز) نسبت به سیدرگذاری بلندمدت (۱۲ روز)، تأثیر بیشتری در بهبود نرخ زایش، نرخ برەزایی و نرخ دوقلوزایی داشت (Haji Ghorbani *et al.*, 2018). در مطالعه حاضر، در فصل تولیدمثلی، استفاده از پروتکل‌های همزمان سازی با اسفنج پروژسترونی و eCG، منجر به بهبود فراسنجه‌های تولیدمثلی (نرخ فحلی، نرخ آبستنی، زایش و نرخ برەزایی) در مقایسه با شاهد شد. بهبود باروری در میش‌های همزمان سازی شده با پروژسترون و eCG، به بهبود انتقال اسپرم، همزمانی شروع فحلی و ترشح LH و الگوهای رشد و نمو فولیکولی نسبت داده شده است (Ataman *et al.*, 2006).

نتیجه‌گیری کلی

تاکنون گزارشی مبنی بر استفاده از تکنیک‌های تولیدمثلی در میش‌های بومی شهرستان خانمیرزا منتشر نشده است و بنابراین، نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌تواند در این زمینه بسیار حائز اهمیت باشد. یافته‌های این پژوهش نشان داد که به‌منظور دستیابی به حداکثر پتانسیل تولیدمثلی در گوسفند می‌توان به‌خوبی از پروتکل‌های هورمونی برای همزمان‌سازی فحلی، همگام‌سازی ظهور موج فولیکولی و تخمک‌گذاری استفاده کرد. نتایج نشان می‌دهد که در برنامه‌های همزمان‌سازی فحلی ضمن تزریق هورمون eCG در روز اسفنج‌برداری،کاهش طول دوره تیمار پروژسترونی از ۱۴ به ۱۲ روز توصیه نمی شود. همچنین تزریق استرادیول نیز منجر به فحلی‌هایی خواهد شد که با تخمک‌ریزی همراه نیست و بنابراین، به هیچ عنوان تزریق استرادیول توصیه نمی‌شود.

References

1. Abecia, J. A., Forcada, F., & González-Bulnes, A. (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science, 130*(3-4), 173-179. doi:10.1016/j.anireprosci.2012.01.011.
2. Ahmed Amer, H., & Maher Hazzaa, A. (2009). The effect of different progesterone protocols on the reproductive efficiency of ewes during the non-breeding season. *Veterinarski Arhiv, 79*(1), 19-30.
3. Almadaly, E., Ashour, M., El-Kon, I., Heleil, B., & Fattouh, E. S. (2016). Efficacy of various synchronization protocols on the estrus behavior, lambing rate and prolificacy in Rahman Egyptian ewes during the non-breeding season. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 11*(1), 34-43.
4. Ataman, M. B., Akoz, M., & Akman, O. (2006). Induction of synchronized oestrus in Akkaraman cross-bred ewes during breeding and anestrus seasons: the use of short-term and long-term progesterone treatments. *Revue de Médecine Vétérinaire, 157*(5), 257-260.
5. Barrett, D. M. W., Bartlewski, P. M., Duggavathi, R., Davies, K. L., Huchkowsky, S. L., Epp, T., & Rawlings, N. C. (2008). Synchronization of follicular wave emergence in the seasonally anestrous ewe: The effects of estradiol with or without medroxyprogesterone acetate. *Theriogenology, 69*(7), 827-836. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.12.010.
6. Beck, N. F. G., Jones, M., Davies, B., Peters, A. R., & Williams, S. P. (1996). Oestrus synchronization in ewes: the effect of combining a prostaglandin analogue with a GnRH agonist (buserelin). *Animal Science, 62*(1), 85-87.
7. Burke, C. R., Mussard, M. L., Grum, D. E., & Day, M. L. (2001). Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrus and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. *Animal Reproduction Science, 66*(3-4), 161-174. https://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00101-4.
8. Cavalieri, J., Rubio, I., Kinder, J. E., Entwistle, K. W., & Fitzpatrick, L. A. (1997). Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in Bos indicus cows. *Theriogenology, 47*(4), 801-814.
9. Crosby, T. F., Boland, M. P., & Gordon, I. (1991). Effect of progestagen treatments on the incidence of oestrus and pregnancy rates in ewes. *Animal Reproduction Science, 24*(1-2), 109-118.
10. Didarkhah, M. (2018). A review of the methods Synchronization of estrus and stimulation of ovulation in ruminants. *Journal of Biosafety, 10*(4), 31-46. (In Persian).
11. Diskin, M. G., Austin, E. J., & Roche, J. F. (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic Animal Endocrinology, 23*(1-2), 211-228.
12. Echternkamp, S. E. (1982). Influence of breed and season on ovarian and pituitary response in progestogen-PMSG-treated ewes. *Theriogenology, 18*(1), 95-106.
13. Eskandari, H., Keshtkaran, A. N., Meamar, M., & Habibizad, J., (2020). The effect of short term and long term feeding of barley seed with or without eCG on reproductive performance of goat during breeding and out breeding seasons. *Research on Animal Production, 11*(29), 153-161. (In Persian).
14. Evans, G., & Armstrong, D. T. (1984). Reduction of sperm transport in ewes by superovulation treatments. *Reproduction, 70*(1), 47-53.
15. Fonseca, J. F., Bruschi, J. H., Santos, I. C. C., Viana, J. H. M., & Magalhaes, A. C. M., (2005). Induction of estrus in non-lactating dairy goats with different estrous synchrony protocols. *Animal Reproduction Science, 85*(1-2), 117-124. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.03.005
16. Garoussi, M. T., Farzaneh, N., Gallehdar, E., & Mohri, M. (2012). Reproductive performance in out-of-breeding season of fatty ewes using implant norgestomet with or without PMSG. *Tropical Animal Health and Production, 44*(5), 965-968. DOI 10.1007/s11250-011-9993-z.
17. Gonzalez-Bulnes, A., Santiago-Moreno, J., Garcia-Garcia, R. M., Del Campo, A., Gomez-Brunet, A., & Lopez-Sebastian, A. (2001). Origin of the preovulatory follicle in Mouflon sheep (*Ovis gmelini musimon*) and effect on growth of remaining follicles during the follicular phase of oestrous cycle. *Animal Reproduction Science, 65*(3-4), 265-272. https://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00076-8.
18. Gonzalez-Bulnes, A., Garcia-Garcia, R. M., Souza, C. J. H., Santiago-Moreno, J., Lopez-Sebastian, A., Cocero, M. J., & Baird, D. T. (2002). Patterns of follicular growth in superovulated sheep and influence on endocrine and ovarian response. *Reproduction in Domestic Animals, 37*(6), 357-361. https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2002.00385.x.
19. Gordon, I. R. (1997). Controlled reproduction in farm animal's series, vol. 2. Controlled reproduction in sheep and goats. New York: CAB International.
20. Habibizad, J., Tohidi, M., Meamar, M., & Alipoor, M. (2019). Reproductive performance changes in Lak and Torki Ghashghaei ewes by using eCG in nomadic breeding condition. *Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences, 13*(2), 43-55. (In Persian).
21. Haji Ghorbani, H., Tabatabaei, S. H., & Karimi, N. (2018). Effects of injection of PGF2α and eCG after CIDR removal on reproductive performance in Atabay ewes in non-breeding season. *Journal of Animal Environment, 10*(4), 91-98. (In Persian).
22. Hejazi, P., Masoumi, R., Shahmoradi, M., Rostami, B., & Bagherinia Amiri, M. (2018). Evaluation of reproductive performance of Afshari ewes with a short estrus synchronization program in nonbreeding season. *Research on*

Animal Production, *9*(21), 80-85. (In Persian). DOI: 10.29252/rap.9.21.80.

23. Iglesias, R. R., Ciccioli, N. H., Irazoqui, H., & Giglioli, C. (1996). Ovulation rate in ewes after single oral glucogenic dosage during a ram-induced follicular phase. *Animal Reproduction Science*, *44*(4), 211-221.
24. Johnson, S. K., Dailey, R. A., Inskeep, E. K., & Lewis, P. E. (1996). Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Domestic Animal Endocrinology*, *13*(1), 69-79.
25. Joseph, I. B. J. K., Currie, W. D., & Rawlings, N. C. (1992). Effects of time after ovariectomy, season and oestradiol on luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion in ovariectomized ewes. *Reproduction*, *94*(2), 511-523.
26. Kuru, M., Sogukpinar, O., Makav, M., & Cetin, N. (2017). Effect of barium selenate injections on fertility of Pirlak ewes subjected to estrus synchronization during non-breeding season. *Medycyna Weterynaryjna*, *73*(8), 479-482. DOI: 10.21521/mw.5758.
27. Kuru, M., Kükürt, A., Oral, H., & Öğün. M. (2018). Clinical use of progesterone and its relation to oxidative stress in ruminants. pp. 303–327 in Sex Hormones in Neurodegenerative Processes and Diseases.
28. Kuru, M., Kuru, B. B., Sogukpinar, O., Sen, C. C., Oral, H., & Kirmizibayrak, T. (2020). Oestrus synchronisation with progesterone-containing sponge and equine chorionic gonadotropin in Pirlak ewes during the non-breeding season: can Toryum improve fertility parameters? *Journal of Veterinary Research*, *64*(4), 573-576. DOI: 10.2478/jvetres-2020-0074.
29. Kusina, N. T., Tarwirei, F., Hamudikuwanda, H., Agumba, G., & Mukwena, J. (2000). A comparison of the effects of progesterone sponges and ear implants, PGF2 alpha, and their combination on efficacy of estrus synchronization and fertility of Mashona goat does. *Theriogenology*, *53*(8), 1567-1580. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00298-3.
30. Leyva, V., Buckrell, B. C., & Walton, J. S. (1998). Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology*, *50*(3), 395-416.
31. Martemucci, G., Toteda, F., Facciolongo, A. M., D'Alessandro, A., & Gambacorta, M. (1997). Ovarian response, serum oestradiol-17beta concentration, and embryo yield in anestrus ewes treated with PMSG or two porcine gonadotrophin pituitary extracts. *Zootecnica E Nutrizione Animale*, *23*, 81-88.
32. Martinez, M. F., McLeod, B., Tattersfield, G., Smaill, B., Quirke, L. D., & Juengel, J. L. (2015). Successful induction of oestrus, ovulation and pregnancy in adult ewes and ewe lambs out of the breeding season using a GnRH+progesterone oestrus synchronisation protocol. *Animal Reproduction Science*, *155*, 28-35. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.01.010.
33. Martinez-Ros, P., Astiz, S., Garcia-Rosello, E., Rios-Abellan, A., & Gonzalez-Bulnes, A. (2018). Effects of short-term intravaginal progestagens on the onset and features of estrus, preovulatory LH surge and ovulation in sheep. *Animal Reproduction Science*, *197*, 317-323. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.08.046.
34. Martinez-Ros, P., Rios-Abellan, A., & Gonzalez-Bulnes, A. (2019). Influence of progesterone-treatment length and eCG administration on appearance of estrous behavior, ovulatory success and fertility in sheep. *Animals*, *9*(1), 9. https://doi.org/10.3390/ani9010009.
35. Masoodi, R., Kohram, H., Lotfi, M., & Ghaffari, M. (2014). Evaluation of reproductive parameters in different programs of CIDR insertion and eCG injection in Mahabadi does during nonbreeding season. *Iranian Veterinary Journal*, *10*(1), 96-102. (In Persian).
36. Menchaca, A., & Rubianes, E. (2004). New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*, *16*(4), 403-413. https://doi.org/10.1071/RD04037.
37. Menchaca, A., dos Santos-Neto, P. C., Cuadro, F., Souza-Neves, M., & Crispo, M. (2018). From reproductive technologies to genome editing in small ruminants: An embryo's journey. *Animal Reproduction*, *15*(Supplement 1): 984-995. http://dx.doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0022.
38. Neisi, Z., Mamouei, M., Roshanfekr, H., Vakili Tabatabaei, S., & Sari, M. (2016). Comparison the pregnancy rates in different synchronization and ovulation protocols in Khuzestan buffalo. *Journal of Animal Science Research*, *26*(1), 43-50. (In Persian).
39. Oliveira, M. E. F., Ayres, H., Oliveira, L. G. D., Barros, F. F. P. D. C., Oba, E., Bicudo, S. D., & Vicente, W. R. R. (2016). Effects of season and ovarian status on the outcome of long-term progesterone-based estrus synchronization protocols and ovulatory follicle development in Santa Ines ewes under subtropical conditions. *Theriogenology*, *85*(3), 452-460. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.09.024.
40. Öztürkler, Y., Çolak, A., Baykal, A., & Güven, B. (2003). Combined effect of a prostaglandin analogue and a progestagen treatment for 5 days on oestrus synchronization in Tushin ewes. *Indian Veterinary Journal*, *80*, 917-920.
41. Ryan, J. P., Hunton, J. R., & Maxwell, W. M. (1991). Increased production of sheep embryos following superovulation of Merino ewes with a combination of pregnant mare serum gonadotropin and follicle stimulating hormone. *Reproduction, Fertility and Development*, *3*(5), 551-560.
42. Sadeghi Panah, A., Masoudi, R., Naeejian, H. R., & Akbari-Sharif, A. (2015). Effect of eCG, PGF2α and GnRH hormones on ewes' reproductive performance in breeding season. *Iranian Journal of Animal Science*, *46*(2), 189-

194. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijas.2015.55650.
43. Sadeghi Panah, H. (2016). Induction and synchronization of estrus through hormone therapy. Publication of Agricultural Education, Agric. Handbook No. 95. (In Persian).
44. Sareminejad, P., Tabatabaei, S., Mamouei, M., Mirzadeh, K., & Boujarpour, M. (2014). The effects of short and long term medroxy progesterone acetate (MAP) sponge treatments on reproductive performance during the non-breeding season of arabian ewes. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, *4*(4), 747-751.
45. Swelum, A. A. A., Alowaimer, A. N., & Abouheif, M. A. (2015). Use of fluorogestone acetate sponges or controlled internal drug release for estrus synchronization in ewes: Effects of hormonal profiles and reproductive performance. *Theriogenology, 84*(4), 498-503. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.03.018.
46. Takada, L., Bicudo, S. D., Rodrigues, C. F. D. C., Coelho, L. D. A., Mendes, L. C. N., & Perri, S. H. V. (2012). Ovarian response of Suffolk ewes to estrous synchronization using short-term protocol. *Revista Brasileira de Zootecnia, 41*(2), 314-319. https://doi.org/10.1590/S1516-35982012000200012.
47. Tempest, W. M., & Minter, C. M. (1987). Synchronized breeding and lambing. pp. 221–237 in New Techniques in Sheep Production. Butterworth-Heinemann.
48. Tsonis, C. G., Cahill, L. P., Carson, R. S., & Findlay, J. K. (1984). Identification at the onset of luteolysis of follicles capable of ovulation in the ewe. *Reproduction, 70*(2), 609-614.
49. Ueno, D., Goto, A., Hazano, K., Haneda, S., & Matsui, M. (2021). Sustained high progesterone concentrations during estradiol-progesterone based estrus synchronization protocol in Japanese Black cows affects fertility by influencing preovulatory follicle size and its ovulation. *Japanese Journal of Veterinary Research, 69*(3), 151-161. DOI: 10.14943/jjvr.69.3.151.
50. Ustuner, B., Gunay, U., Nur, Z., & Ustuner, H. (2007). Effects of long and short-term progestagen treatments combined with PMSG on oestrus synchronization and fertility in Awassi ewes during the breeding season. *Acta Veterinaria Brno, 76*(3), 391-397. https://doi.org/10.2754/avb200776030391.
51. Ungerfeld, R., & Rubianes, E. (2002). Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Ruminant Research*, *46*(1), 63-66. https://doi.org/10.1016/S0921-4488(02)00105-0.
52. Van Cleeff, J., Karsch, F. J., & Padmanabhan, V. (1998). Characterization of endocrine events during the periestrous period in sheep after estrous synchronization with controlled internal drug release (CIDR) device. *Domestic Animal Endocrinology, 15*(1), 23-34.
53. Viñoles, C., Forsberg, M., Banchero, G., & Rubianes, E. (2001). Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, *55*(4), 993-1004. DOI: 10.1016/s0093-691x(01)00460-5 .
54. Viñoles, C., Paganoni, B., Milton, J. T. B., Driancourt, M. A., & Martin, G. B. (2011). Pregnancy rate and prolificacy after artificial insemination in ewes following synchronisation with prostaglandin, sponges, or sponges with bactericide. *Animal Production Science*, *51*(6), 565-569. https://doi.org/10.1071/AN10200.

Contents

« Scientific Journal»

Iranian Journal of Animal Science Research

Vol. 15 **No. 1** **Spring 2023**

Publisher: Ferdowsi University of Mashhad (F.U.M.)
Responsible Manager: H. Nassiri Moghaddam (Prof.)
Editor-in-Chief: R. Valizadeh (Prof.)

Printed by: Ferdowsi University of Mashhad, Press.

Address: P.O. Box 91775-1163, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

Phone: +98-51-38804656

Fax: +98-51-38787430

E-Mail: ijasr@ferdowsi.um.ac.ir

Web Site: https://ijasr.um.ac.ir

Ferdowsi University of Mashhad

Vol. 15 No. 1

2023

Iranian Journal of Animal Science Research

ISSN:2008-3106

Contents