



نشریه علمی پژوهشهای علوم دامی ایران

جلد ۱۵ شماره ۲
سال ۱۴۰۲

۲۰۰۸-۲۰۱۶: شایا

(شماره پایانی: ۵۴)

عنوان مقالات

تغذیه نشخوار کنندگان

تأثیر ویتامین‌های محلول در چربی (A، D3 و E) و روغن بذر کتان بر فراسجده‌های خونی و سیستم ایمنی گوساله‌های شیر خوار..... ۱۳۹

مهر داد، موحسنی، عبدالصمد، مهدی، سید علی رضا و کیلی، عباسعلی، تاسریان

اثر سطوح مختلف بودر آب پیو بر عملکرد رشد، فراسجده‌های تخمیری، ریخت‌شناسی شکمبه،

تجزیه پذیری و تولید پروتئین میکروبی در برده‌های پروازی..... ۱۵۳

محمد حسن پور، بدله جاشی، دله اسداله، تیموری باقری، زینبخت انصاری پیرمرانی

تأثیر شکل فیزیکی بونجه و فرآوری دانه جو بر ابتدای نیتروژن، قابلیت آذین‌های سلولایزیک،

فراسجده‌های خون و جمعیت میکروبی شکمبه در برده‌های پروازی نژاد دالاق..... ۱۷۱

رامنا رحمن علی آبادی، علی قورچی، نورمحمد ترحی نژاد، عبدالحمید توغدری، مختارمهاجر، رضا مهدیاسی

تغذیه طیور

مقایسه اثرات سطوح مختلف سلنیوم آلی و معدنی بر عملکرد، جمعیت میکروبی، ریخت‌شناسی روده و

اسیدیته روده کور مرغ‌های تخم‌گذار..... ۱۸۷

زهرا تهاهی، پرویز دستار، احسان اسکویان، سیدرضا هاشمی

تأثیر فرآوری حرارتی بر گوارش پذیری مواد مغذی و انرژی قابل سوخت و ساز دانه کلزا در جوجه‌های گوشتی..... ۲۰۱

نصرت‌الله قاضی، حسن کرمانشاهی، حسین زلفی

تأثیر تکمیل ویتامین E جیره غذایی بر کیفیت اسپرم تازه خروس‌های مادر گوشتی سوبه راس ۳۰۸

جانش یافته با تنش اکسیداتیو..... ۲۱۳

فیض‌الله نعمتی، نامدار کمرانی، محمد ستاری، امیر کریمی، مقصود بشاری

اثر سطح انرژی و پروتئین جیره بر عملکرد رشد جوجه‌های بومی خرگه از ۵۷ تا ۹۱ روزگی..... ۲۲۷

محمد زار دین‌زاتی، محمود قرانی، فرزاد باقرزاده، کاسانی، طائی قرنی، آرون

اثر افزودن جدا به‌های لاکتوباسیلوسی جدا سازی شده از دستگاه گوارش طیور بومی ایران بر عملکرد، خصوصیات لاشه، فراسجده-

های خونی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی..... ۲۴۳

سید محمد انصاری سرشک، محمد متقی طلب، مریم رومیان، رامین فیصلی

ارزیابی استفاده از کنجاله آفتابگردان تخمیری در جیره بر عملکرد رشد، جمعیت میکروبی ایلئوم و شاخص‌های

خونی در جوجه‌های گوشتی..... ۲۵۷

یوسف ابدولمان، محمد کاظمی فرد، مقصود و هاشمی، پویان مهریان

تأثیر ویتامین D3 و ویتامین C بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ و جوجه‌درآوری در مرغان مادر گوشتی..... ۲۷۳

رضا کدکلی، روح‌اله کیانفر، حسین جان‌محمدی، وو کیون کیم، محمد علیانی

ژنتیک

بررسی اثر بیماری پیتید CLF36 منتقل شده از لاکتوفرین شتری بر مسیر پیام‌رسان NF- κ B در محیط

شیه‌سازی شده مولکولی (In silico)..... ۲۷۸

حجت‌الله دانی، مجتبی طهمورث‌پور، محمد جواد سخاوی، علی جواد منش

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 ۱۳۸۸/۴/۳۰ از وزارت علوم تحقیقات و فناوری (از جلد ۱ سال ۱۳۸۸)

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

جلد ۱۵ شماره ۲ تابستان ۱۴۰۲

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: دکتر حسن نصیری مقدم

سرمدبیر: دکتر رضا ولی زاده

اعضای هیئت تحریریه:

دکتر رضا ولی زاده	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر محسن دانش مسگران	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر غلامرضا قربانی	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر سید محمد مهدی طباطبایی	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه بوعلی سینا همدان
دکتر مرتضی چاچی	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
دکتر حسن نصیری مقدم	استاد تغذیه طیور	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر ابوالقاسم گلیان	استاد تغذیه طیور	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر جواد پور رضا	استاد تغذیه طیور	دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر فتح الله بلداجی	استاد تغذیه طیور	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر احمد حسن آبادی	استاد تغذیه طیور	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر بهروز دستار	استاد تغذیه طیور	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر جواد ضمیری	استاد فیزیولوژی حیوانی	دانشگاه شیراز
دکتر نصراله پیرانی	دانشیار ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه شهرکرد
دکتر محمدرضا نصیری	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مجتبی طهمورث پور	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر سعید زره داران	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مهدی سرگلزایی	دانشیار ژنتیک	دانشگاه گوئلف، کانادا

نشانی: مشهد، میدان آزادی، پردیس دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، دبیرخانه نشریات علمی، دفتر نشریه پژوهشهای

علوم دامی ایران. صندوق پستی ۹۱۷۷۵-۱۱۶۳

نمابر: ۰۵۱-۳۸۷۸۷۴۳۰

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

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

این نشریه در پایگاه های زیر نمایه می شود:

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

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

اسامی ارزیابان جلد ۱۵ شماره ۲ (تابستان ۱۴۰۲) نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران (به ترتیب الفبا)

دکتر محمد جواد آگاه	مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس
دکتر علیرضا ایوبی	دانشگاه تهران
دکتر زانا پیرخضریانیان	دانش آموخته دکتری دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر حسنا حاجاتی	سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تبریز
دکتر مصطفی حسین آبادی	دانش آموخته دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر سید جواد حسینی واثان	دانشگاه بیرجند
دکتر محسن دانشیار	دانشگاه ارومیه
دکتر بهروز دستار	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر عطیه رحیمی	دانش آموخته دکتری دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر داوود زحمتکش	دانشگاه زنجان
دکتر حیدرزرقی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر علی اکبر سالاری	دانش آموخته دکتری دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر سید داود شریفی	دانشگاه تهران
دکتر عبدالمنصور طهماسبی	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر امیرحسین علیزاده قمصری	موسسه تحقیقات علوم دامی کشور
دکتر محمد قادرزاده	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
دکتر شاهرخ قوتی رودسری	دانشگاه گیلان
دکتر محسن کاظمی	مجتمع آموزش عالی تربت جام
دکتر روح اله کیانفر	دانشگاه تبریز
دکتر اکبر یعقوب فر	سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

صفحه	تغذیه نشخوارکنندگان
۱۳۹	تأثیر ویتامین‌های محلول در چربی (A, D3 و E) و روغن بذر کتان بر فراسنجه‌های خونی و سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار مهرداد موحدنسب، عبدالمنصور طهماسبی، سید علیرضا و کیلی، عباسعلی ناصریان
۱۵۳	اثر سطوح مختلف پودر آب پنیر بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های تخمیری، ریخت‌شناسی شکمبه، تجزیه‌پذیری و تولید پروتئین میکروبی در بره‌های پرواری محمد حسن‌پور، یداله چاشنی دل، اسداله تیموری یانسری، زریخت انصاری پیرسرای
۱۷۱	تأثیر شکل فیزیکی یونجه و فرآوری دانه جو بر ابقای نیتروژن، فعالیت آنزیم‌های سلولاییتیک، فراسنجه‌های خون و جمعیت میکروبی شکمبه در بره‌های پرواری نژاد دالاق راحله رجبی علی‌آبادی، تقی قورچی، نورمحمد تربتی‌نژاد، عبدالحکیم توغدری، مختارمهاجر، رضا طهماسبی
	تغذیه طیور
۱۸۷	مقایسه اثرات سطوح مختلف سلنیوم آلی و معدنی بر عملکرد، جمعیت میکروبی، ریخت‌شناسی روده و اسیدیته روده کور مرغ- های تخم‌گذار زهره تهامی، بهروز دستار، احسان اسکوئیان، سیدرضا هاشمی
۲۰۱	تأثیر فرآوری حرارتی بر گوارش‌پذیری مواد مغذی و انرژی قابل سوخت و ساز دانه کلزا در جوجه‌های گوشتی نجیب‌الله فیاض، حسن کرمانشاهی، حیدر زرقی
۲۱۳	تأثیر مکمل ویتامین E جیره غذایی بر کیفیت اسپرم تازه خروس‌های مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ چالش یافته با تنش اکسیداتیو ذبیح‌اله نعمتی، نامدار کامرانی، محمد ستاری، امیر کریمی، مقصود بشارتی
۲۲۷	اثر سطح انرژی و پروتئین جیره بر عملکرد رشد جوجه‌های بومی خزک از ۷ تا ۹۱ روزگی محمد زردادزائی، محمود قزاقی، فرزاد باقرزاده کاسمانی، هادی فرجی آروق
۲۴۳	اثر افزودن جدایه‌های لاکتوباسیلوسی جداسازی شده از دستگاه گوارش طیور بومی ایران بر عملکرد، خصوصیات لاشه، فراسنجه- های خونی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی سید محمد انتظار سرشکه، مجید متقی طلب، مریم رویان، رامین صیقلانی
۲۵۷	ارزیابی استفاده از کنجاله آفتابگردان تخمیری در جیره بر عملکرد رشد، جمعیت میکروبی ایلئوم و شاخص‌های خونی در جوجه- های گوشتی یوسف دیده‌بان، محمد کاظمی‌فرد، منصور رضایی، پویان مهربان
۲۷۳	تأثیر ویتامین D3 و ویتامین C بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ و جوجه‌درآوری در مرغان مادر گوشتی رضا کنعانی، روح‌اله کیان‌فر، حسین جان‌محمدی، وو کیون کیم، مجید علیایی
	ژنتیک
۲۸۷	بررسی اثر مهار پیپتید CLF36 مشتق شده از لاکتوفرین شتری بر مسیر پیام‌رسان NF-κB در محیط شبیه‌سازی شده مولکولی (In silico) حجت‌الله یامی، مجتبی طهمورث‌پور، محمد جواد سخاوتی، علی جواد منش

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

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

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

نکات مهم:

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

ت) دستورالعمل تهیه مقاله؛ روش تحریر

- ✓ کلیه قسمت‌های مقاله بایستی توسط Word 2007 و با فاصله خطوط ۱ و رعایت ۲/۵ سانتی متر حاشیه از هر طرف تهیه شده باشد.
- ✓ فونت B Mitra با اندازه فونت ۱۴ بکار رود.
- ✓ حداکثر تعداد صفحات مقاله ۱۵ صفحه باشد.
- ✓ از نشانه گذاری های متداول چون نقطه، ویrgول و ... به درستی استفاده شود.
- ✓ رعایت نیم فاصله در کلمات ترکیبی و جمع مانند اندازه گیری، شده اند، می شود، می توان، نکته ها و ... ضروری است.
- ✓ معادله ها در متن مقاله باید به ترتیب از ابتدا تا انتها شماره گذاری شوند.
- ✓ واحدهای مورد استفاده در متن مقاله باید بر اساس سیستم بین المللی متریک (SI) باشد.
- ✓ تعداد پاورقی ها به حداقل برسد و شماره پاورقی ها در هر صفحه از عدد یک آغاز شود.

ث) ترتیب بخش ها

بخشهای ضروری هر مقاله شامل: عنوان، چکیده فارسی، واژه های کلیدی، مقدمه، مواد و روش ها، نتایج و بحث، نتیجه گیری کلی، منابع، عنوان انگلیسی و چکیده مبسوط انگلیسی می باشند. بخشهای پیشنهادات و سپاسگزاری بصورت اختیاری و کاملاً خلاصه شده می توانند به متن مقاله پس از بخش نتیجه گیری کلی اضافه شوند.

۱- عنوان

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

۲- چکیده فارسی

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

۳- واژه های کلیدی

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

۴- مقدمه

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

۵- مواد و روش ها

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

۶- نتایج و بحث

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

۶-۱- نحوه تهیه جدول ها و شکل ها

۶-۱-۱- جدول

✓ **الگوی جدول باید دقیقاً مشابه جدول نمونه ذیل باشد.**

✓ **عنوان و اطلاعات نوشتاری درون جدول به دو صورت فارسی و انگلیسی نوشته شوند، اما اعداد فقط به انگلیسی نوشته شوند.**

✓ فونت عنوان و محتویات جدول برای فارسی B Mitra و برای انگلیسی Times New Roman با اندازه ۱۰ باشد. زیرنویس با اندازه فونت ۹ نوشته شود.

✓ عنوان جدول در بالا و با فرمت وسط چین نوشته و گویای نتایج مندرج در آن باشد. عنوان از شماره جدول با خط تیره جدا شود. در کل جدول **فقط عبارت جدول و شماره آن** پررنگ گردد و از ارائه پررنگ سایر قسمت‌های جدول خودداری شود. (جدول ۱- تأثیر)

✓ هر جدول با یک خط افقی از عنوان آن و سر جدول با یک خط افقی از متن جدول جدا و در زیر متن جدول نیز یک خط افقی کشیده شود. در صورت لزوم می‌توان برای تقسیم سر جدول از خطوط افقی در داخل کادر سر جدول استفاده کرد.

✓ تیمارها در ردیف اول، سر جدول و به صورت وسط چین، اما متغیرها در سمت چپ جدول و به صورت چپ چین ارائه گردد.

✓ از کشیدن هر گونه خط عمودی در جدول خودداری شود.

✓ توضیحات اضافی عنوان و متن جدول باید بصورت زیر نویس ارائه شوند و ارتباط آنها با جدول و عنوان با استفاده از علامت‌های عددی در بالا و سمت راست جمله‌ها، اعداد و غیره به صورت توان و اندازه کوچکتر مشخص شود. برای نوشتن زیر نویس یک سطر به جدول اضافه و آن سطر را Merge کرده و زیر نویس‌ها را در آن بنویسید تا خطوط شروع جدول و زیر نویس هم‌راستا باشند.

✓ توضیحات زیرنویس در صورتی که به زبان فارسی است، راست چین و در صورتی که به زبان انگلیسی است، چپ چین باشند.

✓ واحدهای مربوط به هر پارامتر جدول روبروی آن نوشته شود و اگر کل پارامترهای جدول یک واحد دارند در عنوان جدول نوشته شود. (مانند مثال زیر):

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

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

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

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

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

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

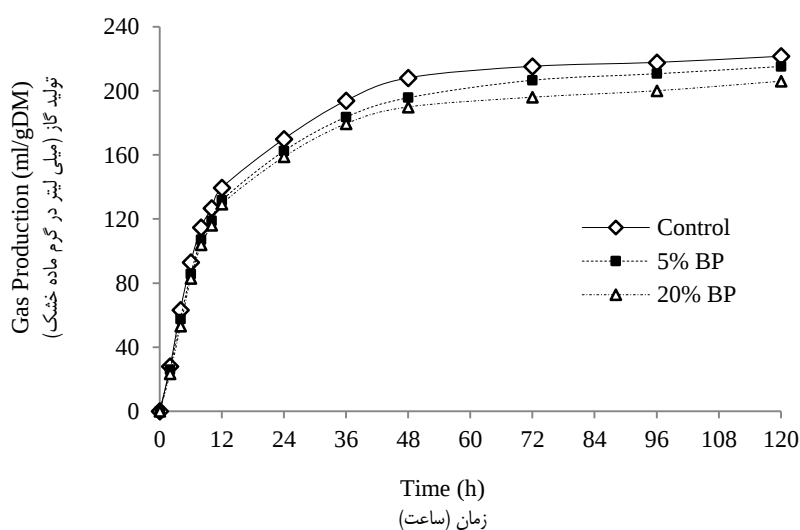
²Blood urea nitrogen

³Aspartate Aminotransferase

⁴Alanine Aminotransferase

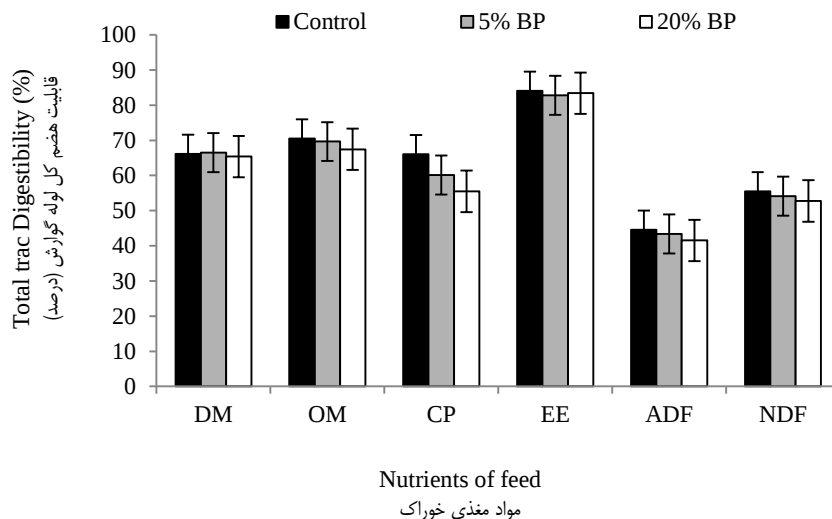
⁵Low density lipoprotein

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



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

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



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

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

۷- نتیجه گیری کلی

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

۸- سپاسگزاری

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

۹- منابع

الف) ارجاع به منابع (درون متنی)

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

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

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

ب- منابع مورد استفاده

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

۹-۱- نکات مهم در مورد نوشتن منابع (برون متنی)

- ✓ در نوشتن لیست منابع و ارجاعات از **روش رفرنس نویسی 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](https://doi.org/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 disinfections published since 1980. Pages 82-92 in Natl. *Mastitis Council Regional Meeting proceeding*, Harrisburg, PA. Natl. Mastitis council, Inc., Madison. WI.

۹-۱-۴- درگاه الکترونیکی (Web Site)

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

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

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

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

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

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

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

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



The Effect of Fat-Soluble Vitamins (A, D, E) and Flaxseed Oil on Blood Parameters and Immune System of Suckling Calves

Mehrdad Movahednasab¹, Abdolmansour Tahmasbi^{2*}, Seyed Alireza Vakili², Abbas Ali Naserian²

Received: 13-02-2022

Revised: 12-06-2022

Accepted: 03-07-2022

Available Online: 03-07-2022

How to cite this article:

Movahednasab, M., Tahmasbi, A., Vakili, S. A., & Naserian, A. A. (2023). The effect of fat-soluble vitamins (A, D, E) and flaxseed oil on blood parameters and immune system of suckling calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 15(2), 137-150.

DOI: [10.22067/ijasr.2022.75288.1067](https://doi.org/10.22067/ijasr.2022.75288.1067)

Introduction: One of the most important factors in the profitability of dairy farms is effective management methods in keeping and feeding infant calves. Several factors such as underdeveloped immune system and environmental stress can increase the survival power of the animal. Researchers suggest different factors can to improve the immune system of neonatal calves, including the use of fat-soluble vitamins and unsaturated fatty acids. While these vitamins play a major role in the immune system of animals, the supply of fat-soluble vitamins in the calf's diet is essential for promotion the normal growth of muscles and the skeleton of the body. Common symptoms of a deficiency in fat-soluble vitamins in neonatal calves include retardation of growth, and susceptibility to infectious diseases.

Materials and Methods: This experiment was performed in the farm of Ferdowsi University of Mashhad. Twenty-eight Holstein female calves with an average bodyweight of 37.74 kg ($\pm$ 4.76) were used from birth to 56 days of age. On the fourth day, the calves were randomly assigned to one of four treatments. All calves received colostrum for the first 3 d and then whole milk at 8% of bodyweight in the two-equal part in the morning (4.00 A.M) and evening (16 P.M) until weaning. The experimental treatments included: 1) whole milk with starter (Control), 2) control diet supplemented with flax seed oil (0.3 ml per kilogram of body weight), 3) control diet and weekly injection of 7 cc of fat-soluble vitamins (A, D3, E), 4) control diet which supplemented with flaxseed oil (0.3 ml per kilogram of body weight) plus weekly injection of 7 cc of fat-soluble vitamins (A, D3, E). Flax seed oil was mixed into milk (morning feeding) until weaning. During the experiment period, calves had ad libitum access to starter diet and water. Blood sample were harvested from jugular vein for collection of full blood for Complete Blood Count (CBC) test and blood serum metabolites. Serum was stored in -20 centigrade until further analysis. Complete blood count (CBC) test was performed to determine the number of blood cells white blood cells, red blood cells, lymphocytes, monocytes, eosinophils, granulocytes, hemoglobin and hematocrit. Serum blood metabolites, total protein, creatinine, beta-hydroxybutyric acid, albumin, liver enzymes (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase), antioxidant capacity (malondialdehyde and total antioxidant capacity) were analyzed using Alpha Classic autoanalyzer. Data were analyzed using SAS version 9.4 as a completely randomized design experiment. For all results, significant differences between treatments were declared at $P \leq 0.05$ and tendencies were declared at $0.05 < P \leq 0.10$. Least square means for each treatment are reported in the tables and were separated using Tukey-kramer test.

Results and Discussion: The results of this study showed that the use of flaxseed oil and injection of fat-soluble vitamins during preweaning had no significant effect on the Serum concentrations of total protein, creatinine, beta-hydroxybutyric acid, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, malondialdehyde, total antioxidant capacity and had no significant effect on the starter feed intake, daily weight gain, rectal temperature of calves. Calves received flax seed oil and fat-soluble vitamins injection had the highest Red blood cells, White blood cells, Hematocrit, Lymphocytes, Monocytes, Eosinophils and hemoglobin

1- M.Sc. Student, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

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

*Corresponding Author's Email: tahmasebi@ferdowsi.um.ac.ir

concentration. Calves received flaxseed oil and fat-soluble vitamins injection have the highest serum cholesterol concentration ($P<0.00$).

Conclusion: The results of this study indicated that inclusion of flaxseed oil and injection of fat-soluble vitamins (A, D, E) had no significant effect on blood serum parameters such as total protein, creatinine, albumin, beta-hydroxybutyric acid, malondialdehyde and total antioxidant capacity, but partially improved the immune system (white blood cells, monocytes, eosinophils) and reduces liver enzymes such as aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase, which indicates an increase in animal health.

Keywords: Blood parameters, Fat-soluble vitamins, Flaxseed oil, Holstein calves, Immune system

تأثیر ویتامین‌های محلول در چربی (A, D3 و E) و روغن بذر کتان بر فراسنجه‌های خونی و سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار

مهرداد موحدنسب^۱، عبدالمنصور طهماسبی^{۲*}، سید علیرضا وکیلی^۲، عباسعلی ناصریان^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۲

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی افزودن روغن کتان و ویتامین‌های محلول در چربی (A, D3 و E) بر سیستم ایمنی، آنزیم‌های کبدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فراسنجه‌های خونی با استفاده از گوساله‌های شیرخوار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارهای مورد آزمایش عبارتند از: ۱- شیر کامل همراه با خوراک آغازین (شاهد) ۲- جیره شاهد به همراه شیر مکمل شده با روغن کتان ۳- جیره شاهد و تزریق هفته‌ای هفت سی سی ویتامین محلول در چربی و ۴- جیره شاهد به همراه شیر مکمل شده با روغن کتان همراه تزریق هفته‌ای هفت سی سی ویتامین محلول در چربی. نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر افزایش وزن، میزان مصرف خوراک، دمای رکتوم، میزان پروتئین تام، کراتینین، بتا هیدروکسی بوتیریک اسید، آلبومین، درصد لنفوسیت‌ها، درصد گرانولوسیت‌ها، آنزیم‌های کبدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تأثیر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$)، درحالی‌که بیشترین سطح کلسترول در تیمار حاوی روغن کتان + ویتامین و کمترین در گروه شاهد مشاهده شد. میزان گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، درصد مونوسیت‌ها، درصد ائوزینوفیل و هموگلوبین به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$). به‌طوری‌که مقدار گلبول‌های قرمز و هماتوکریت در تیمار حاوی روغن کتان + ویتامین بیشترین و در گروه شاهد کمترین مقدار دیده شد و بیشترین و کمترین میزان گلبول‌های سفید خون در تیمارهای حاوی روغن کتان + ویتامین و گروه شاهد مشاهده شد. در تیمار حاوی روغن کتان + ویتامین نسبت به سایر تیمارها بیشترین میزان هموگلوبین مشاهده شد. نتایج نشان داد که افزودن روغن کتان و ویتامین‌های محلول در چربی احتمالاً باعث بهبود سیستم ایمنی در گوساله‌ها می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: روغن بذر کتان، سیستم ایمنی، فراسنجه‌های خونی، گوساله شیرخوار هلشتاین، ویتامین‌های محلول در چربی

مقدمه

پروتئین و سایر مواد مغذی را برای گوساله‌ها تأمین کند، مورد توجه قرار دارد (Delir et al., 2020). از طرفی، فقدان یا کمبود برخی از مواد مغذی و نیز مواد معدنی می‌تواند گوساله را به چالش‌های متعدد مواجه کند و سبب بروز مشکلاتی در رشد و سلامتی گوساله‌های شیرخوار شود (Delir et al., 2020). تغذیه گوساله‌ها در طول دوره ابتدای زندگی می‌تواند تأثیر بسزایی در روند تولید و چرخه زندگی گله گاوهای شیری داشته باشد (Terler et al., 2022). عواملی همچون نوع و نژاد گاو، فصل، میزان حجم تولیدی آغوز، رژیم غذایی مورد استفاده و نهایتاً مدیریت، بر ترکیبات شیر تأثیر می‌گذارد (Conneely

در صنعت دامپروری تولید گوساله‌های سالم جایگزین نقش مهمی در عملکرد اقتصادی واحد دامپروری خواهد داشت (Xu et al., 2021). مدیریت و تغذیه صحیح گوساله‌های شیرخوار می‌تواند در فرآیند سلامت و تندرستی گوساله‌های شیری و بهره‌وری کلی گله مؤثر واقع شود (Blakely et al., 2019). در مراحل اولیه زندگی گوساله، شکمبه توسعه کامل نیافته و حیوان قادر به مصرف خوراک جامد به‌مقدار کافی نیست، لذا شیر به‌عنوان مهمترین منبع غذایی که می‌تواند انرژی،

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

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

(*- نویسنده مسئول: tahmasebi@ferdowsi.um.ac.ir (Email: tahmasebi@ferdowsi.um.ac.ir))

از راه دهانی)، ۳- جیره شاهد و تزریق هفته‌ای هفت سی سی ویتامین محلول در چربی (A, D3, E) ۴- جیره شاهد به همراه شیر مکمل شده با روغن بذر کتان به صورت گاواژه (۰/۳ میلی لیتر به ازای هر کیلو وزن بدن) و تزریق هفته‌ای هفت سی سی ویتامین محلول در چربی بود.

گوساله‌های تازه متولد شده بعد از ۳۰ دقیقه، از مادر جدا و به قفس‌های انفرادی دارای بستر کاه منتقل شدند. در یک ساعت اول بعد از زایمان به تمامی گوساله‌ها چهار لیتر کلستروم داده شد. قفس‌ها هر روز تمیز و هر هفته بستر آن‌ها به صورت کامل تخلیه و تعویض می‌گردید. در سن چهار روزگی (تغذیه با کلستروم)، گوساله تحت تیمار آزمایشی قرار گرفتند و در طی دوره آزمایش دسترس آزاد به مخلوط یونجه و استارتر (با نسبت‌های ۳ به ۹۷) و آب تازه داشتند. همچنین روزانه چهار لیتر شیر کامل با استفاده از سطل در دو وعده در ساعات پنج صبح و ۱۷ بعد از ظهر در اختیار آنان قرار می‌گرفت. شاخ سوزی با استفاده از پماد شاخ سوز بین ساعات ۱۰ تا ۱۳ در فاصله دو تا سه هفتگی عمر صورت گرفت. مصرف خوراک، افزایش وزن و دمای رکتوم حیوانات هر دو هفته مورد ارزیابی قرار می‌گرفت و ثبت می‌شد. از محلول ویتامینی استریل تزریقی آدویت شرکت رازک (حاوی ماده مؤثره در هر میلی لیتر محلول شامل: Vitamin A ۵۰۰۰۰ IU، Vitamin E ۲۰ mg، Vitamin D3 ۱۰۰۰۰ IU) برای اجرای آزمایش استفاده شد. اقلام و ترکیبات شیمیایی جیره پایه در جدول ۱ و ترکیب اسیدهای چرب روغن کتان در جدول ۲ نشان داده شده است.

فراسنجه‌های اندازه گیری شده

خون‌گیری در روزهای ۱، ۴، ۱۴ و ۲۸ و ۵۶ قبل از تغذیه شیر وعده صبح، به وسیله سرنگ از سیاهرگ وادج گوساله‌ها انجام شد و سپس خون به داخل لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد (K3-EDTA) ریخته و به آزمایشگاه انتقال یافت. تست CBC برای تعیین تعداد سلول‌های خونی (گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها، ائوزینوفیل، گرانولوسیت، هموگلوبین و هماتوکریت) در آزمایشگاه صورت گرفت. به منظور تعیین فراسنجه‌های خونی (بتا هیدروکسی بوتیریک اسید، کلسترول، پروتئین تام، آلبومین و کراتین) و آنزیم‌های کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP)) و فعالیت آنتی اکسیدانی (مالون دی آلدهید و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام) از سرم تهیه شده استفاده گردید. به منظور تهیه سرم، نمونه‌های خونی به لوله‌های استریل لخته ساز منتقل و پس از لخته شدن در درجه حرارت اتاق، سانتریفوژ (به مدت ۱۵ دقیقه، با دور ۳۰۰۰ در دقیقه (۱۵۰۹ xg)) گردید و سرم آن‌ها جمع‌آوری و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد به منظور

McGee et al., 2019 et al., 2013 ; McGee et al., 2005). ویتامین‌ها بخشی از ترکیبات آلی بوده که به طور مستقیم یا غیرمستقیم تأثیر زیادی بر سلامت و تندرستی بدن دارند. نحوه جذب، ذخیره و حذف ویتامین‌ها در بدن بسته به نوع محلول بودن آن‌ها در آب و یا چربی است (Ravisankar et al., 2015). ویتامین‌های محلول در چربی^۱ (FSV) نقش‌های بیولوژیکی زیادی در حفظ سلامت بدن، عملکرد سیستم ایمنی (Rho and Kim., 2022)، عملکرد عضلات و همچنین سلامت چشم دارند (Ravisankar et al., 2015). بذر کتان حاوی بسیاری از ترکیبات زیست فعال از جمله آلفالینولئیک اسید (ALA)، لیگنان، پروتئین، موسیلاژ، مواد معدنی، فیبرهای غذایی، ترکیبات فنلی و غیره است (Bechlin et al., 2019 ; Tang et al., 2021). و به عنوان یک ماده غذایی مهم در نظر گرفته می‌شود. از طرفی، روغن بذر کتان به عنوان یکی از کاربردی‌ترین ترکیبات بذر کتان، که می‌تواند تأثیرات مثبتی مانند محافظت از قلب و عروق، ضد تومور، ضد التهاب، درمان دیابت و غیره بر سلامت داشته باشد (Tang et al., 2021). سطح ALA در روغن بذر کتان بین ۴۸ تا ۶۲ درصد است (Bakowska-Barczak et al., 2020; Goyal et al., 2018). سایر ترکیبات موجود در روغن بذر کتان مانند ترکیبات فرار، ترکیبات فنلی، توکوفرول، فیتواسترول‌ها و غیره شناسایی شده‌اند (Tang et al., 2021). همچنین اسیدهای چرب روغن بذر کتان عمدتاً از اسید لینولنیک، اسید لینولئیک، اسید اولئیک، اسید استئاریک و اسید پالمیتیک تشکیل شده است (Zhang et al., 2017). با توجه به تأثیر مهم ویتامین‌های محلول در چربی و همچنین روغن بذر کتان بر فرآیند متابولیسمی و سلامتی حیوان، هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر انفرادی و تجمعی روغن کتان و ویتامین‌های محلول در چربی (A, D, E) بر سیستم ایمنی، فعالیت آنتی اکسیدانی و فراسنجه‌های خونی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مرکز تحقیقات گاوهای شیری دانشگاه فردوسی مشهد در تیر ماه سال ۱۳۹۹ انجام شد. جهت اجرای این مطالعه از ۲۸ رأس گوساله ماده هلشتاین سه روزه با میانگین وزنی (۳۷/۷ ± ۴/۸) کیلوگرم استفاده شد. گوساله تا سن ۵۶ روزگی (زمان قطع شیر) تحت تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و هفت تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- شیر کامل همراه با خوراک آغازین (شاهد) ۲- جیره شاهد به همراه شیر مکمل شده با روغن بذر کتان به صورت گاواژه دهانی (۰/۳ میلی لیتر به ازای هر کیلو وزن بدن) (تغذیه و وارد کردن مایعات غذایی

جدول ۱- اقلام تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره آغازین آزمایش

Table 1- Ingredients and chemical compounds of the initial test diet

اقلام خوراکی Ingredients (%DM)	
ذرت آسیاب شده	45
Ground corn	
جو آسیاب شده	15
Milled barley	
کنجاله سویا	29
Soybean meal	
سبوس گندم	9
Wheat bran	
مکمل ویتامینی	1
Mineral-vitamin premix	
سنگ آهک	1
Limestone	
ترکیب شیمیایی Chemical composition	
پروتئین خام (%)	20.1
Crude protein (%)	
ماده خشک (%)	90.5
Dry mater (%)	
کربوهیدرات‌های غیر الیافی ^۱ (NFC)	57.7
عصاره اتری (%)	3.1
Ether extract (EE)(%)	
فسفر (%)	0.6
Phosphorus (%)	
کلسیم (%)	0.7
Calcium (%)	
خاکستر (%)	5.29
Ash (%)	
ماده آلی (%)	94.71
Organic matter (%)	
فیبر نامحلول در شوینده خنثی (%)	57.7
Neutral detergent fiber (%)	
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (%)	6.9
Acid detergent fiber (%)	

اقلام تشکیل‌دهنده مکمل ویتامینی در جیره آغازین: ویتامین D3 (IU/Kg) 300000، ویتامین E (IU/Kg) 3000، کلسیم (mg/kg) 7011، فسفر (mg/kg) 30000، منیزیم (mg/kg) 20700، سدیم (mg/kg) 40000، منگنز (mg/kg) 5000، روی (mg/kg) 10000، مس (mg/kg) 3000، سلنیوم (mg/kg) 100، ید (mg/kg) 120، سلنیوم آلی (mg/kg) 2، کبالت (mg/kg) 100، آنتی‌اکسیدان (mg/kg) 1000.

Vitamin supplement components in the initial diet: vitamin D3 (IU/Kg) 300000, vitamin E (IU/Kg) 3000, calcium (mg/kg) 7011, phosphorus (mg/kg) 30000, magnesium (mg/kg) 20700, Sodium (mg/kg) 40000, manganese (mg/kg) 5000, zinc (mg/kg) 10000, copper (mg/kg) 3000, selenium (mg/kg) 100, iodine (mg/kg) 120, organic selenium (mg/kg) 2, cobalt (mg/kg) 100, antioxidant (mg/kg) 1000.

¹Non fiber carbohydrate = NFC=100-(CP%+EE%+Ash%+(NDF%-NDIP))

محققین گزارش نمودند که افزودن اسیدهای چرب غیر اشباع C18:2 و C18:3 در خوراک گوساله‌ها شیرخوار تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن نداشته است (Kadkhoday et al., 2017) حال آن که گوساله‌های تغذیه شده با نمک‌های کلسیمی روغن کتان وزن نهایی بیشتری را نشان دادند (Thiessen et al., 2004). این تفاوت در نتیجه، ممکن است به دلیل، مصرفی ویتامین و یا شرایط آزمایش باشد. از طرفی، محققین بیان کردند که استفاده از روغن‌های C18:3 (لینولنیک اسید) در جیره‌های استارتر گوساله‌های شیرخوار منجر به بالا رفتن افزایش وزن می‌گردد (Garcia et al., 2015; Hill et al., 2009).

افزودن چربی به ویژه اسیدهای چرب تأثیری بر دمای رکتوم نداشته است که هم‌سود با نتایج به دست آمده از آزمایشات سایر محققین می‌باشد (Ghorbani et al., 2020; Hill et al., 2011). دمای رکتوم به منظور تعیین سلامتی حیوان، که نشان‌دهنده بیماری‌هایی همچون اسهال، نفخ، سرماخوردگی، افسردگی و کاهش اشتها است، تعیین می‌گردد. در گوساله‌هایی که دمای رکتوم آن‌ها بیش از ۳۹/۵ درجه سلسیوس باشد، به عنوان گوساله‌های تبادر شنا سایی می‌گردند. همانگونه که در جدول ۵ مشخص است، دمای رکتوم تمامی گوساله زیر ۳۹ درجه می‌باشد که در دامنه طبیعی درجه حرارت گوساله سالم (۳۸-۳۹ درجه سلسیوس) می‌باشد. اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۶ گزارش شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، سطح پروتئین تام، کراتینین، بتا هیدروکسی بوتیریک اسید و آلبومین تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$). در حالی که سطح کلسترول خون گوساله‌های شیری به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$)، به طوری که بیشترین مقدار کلسترول در تیمار حاوی روغن کتان + ویتامین و کمترین آن در گروه شاهد و حاوی ویتامین مشاهده شد.

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین مصرف خوراک گوساله‌ها در طول آزمایش (گرم در روز)

Table 3- The effect of experimental treatments on the average feed intake of calves during the experiment (g/day)

	تیمارهای آزمایشی				SEM ¹	P value ²
	شاهد Control	روغن کتان Flax seed oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان + ویتامین Flax seed oil + vitamin		
دو هفته اول (g/day) The first two weeks	63.0	59.8	62.3	60.2	4.507	0.949
دو هفته دوم (g/day) The second two weeks	274.4	274.7	300.9	255.8	27.880	0.426
دو هفته سوم (g/day) The third two weeks	430.1	415.2	446.9	398.8	15.050	0.163
دو هفته چهارم (g/day) The fourth two weeks	932.7	929.4	953.7	923.3	8.353	0.084

¹ میانگین خطای استاندارد

² سطح احتمال معنی دار شدن $P=0.05$

¹ Standard error of mean

² Probability value $p=0.05$

به منظور تعیین فراسنجه‌های خونی از کیت‌های شرکت پارس آزمون و رندکس، با دستگاه اتوآنالایزر مدل Alpha Classic و طبق دستورالعمل کارخانه سازنده، استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS ۹/۴ و به روش GLM آنالیز شد و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون توکی - کرامر در سطح آماری ۹۵ درصد مقایسه گردید.

جدول ۲- ترکیب اسیدهای چرب روغن بذر کتان (% از کل اسیدهای چرب) (۲۶)

Table 2 - Fatty acid profile of flaxseed oil (% of total fatty acids)

اسیدهای چرب Fatty acids	
C16:0	7.05
C18:0	4.23
Total SFA	11.28
Total MUFA	26.85
Total PUFA	61.86

نتایج و بحث

همان‌طور که در جداول ۳، ۴ و ۵ مشاهده می‌شود، مصرف خوراک، افزایش وزن و دمای رکتوم تحت تأثیر تیمارهای مورد آزمایش قرار نگرفت، داده‌های به دست آمده هم‌سود با نتایج گزارش شده با سایر محققین می‌باشد (Hill et al., 2011; Kadkhoday et al., 2017). در حالی که کریمی و همکاران (Karimi et al., 2021) تأثیر معنی‌داری در استارتر مصرفی گوساله‌های شیرخوار تغذیه شده با منابع مختلف چربی گزارش کردند. مطالعات نشان می‌دهد که خوراک مصرفی می‌تواند متأثر از سن، میزان چربی کل جیره، نوع چربی و نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع به اشباع جیره باشد (Doppenberg and Palmquist., 1991; Ghorbani et al., 2020; Hill et al., 2011).

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر افزایش وزن روزانه گوساله‌ها در طول آزمایش (گرم در روز)

Table 4- The effect of experimental treatments on daily weight gain of calves during the experiment (g / day)

	تیمارهای آزمایشی				SEM ¹	P value ²
	شاهد Control	روغن کتان Flax seed oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان + ویتامین Flax seed oil + vitamin		
دو هفته اول (g/day) The first two weeks	138.8	153.1	188.8	133.7	34.67	0.671
دو هفته دوم (g/day) The second two weeks	425.5	406.1	419.4	423.5	71.46	0.997
دو هفته سوم (g/day) The third two weeks	565.3	654.1	629.6	576.5	73.98	0.805
دو هفته چهارم (g/day) The fourth two weeks	644.9	673.5	734.7	736.7	62.03	0.658

¹ میانگین خطای استاندارد

² سطح احتمال معنی دار شدن P=0/05

¹Standard error of mean

²Probability value p= 0.05

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین دمای رکتوم گوساله‌ها در طول آزمایش (درجه سانتی‌گراد)

Table 5- The effect of experimental treatments on the average rectal temperature of calves during the experiment (° C)

	تیمارهای آزمایشی				SEM ¹	P value ²
	شاهد Control	روغن کتان Flax seed oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان + ویتامین Flax seed oil + vitamin		
دو هفته اول (g/day) The first two weeks	38.71	38.69	38.86	38.87	0.143	0.724
دو هفته دوم (g/day) The second two weeks	38.63	38.70	38.57	38.64	0.144	0.940
دو هفته سوم (g/day) The third two weeks	38.54	38.73	38.47	38.66	0.101	0.306
دو هفته چهارم (g/day) The fourth two weeks	38.49	38.53	38.63	38.77	0.163	0.620

¹ میانگین خطای استاندارد

² سطح احتمال معنی دار شدن P=0/05

¹Standard error of mean

²Probability value p= 0.05

در آزمایشات خود نشان دادند که افزودن اسیدهای چرب غیرا شباع منجر به افزایش کلسترول خون گوساله‌ها شده است (Huuskonen et al., 2005; Ivan et al., 2013).

همچنین در تحقیق دیگری گزارش شد که ویتامین E و مکمل سلنیوم غلظت کلسترول سرم گاوهای هلشتاین-فریزین (HF) را به‌طور قابل توجهی بالاتر برد (Sobiech et al., 2015). بر خلاف نتایج این آزمایش، آهنگرانی و همکاران (Ahangarani et al., 2021) بیان کردند، افزودن روغن دانه کتان به شیر گوساله‌های ماده هلشتاین در ماه اول بعد از تولد باعث کاهش کلسترول خون نسبت به شاهد شده است (Ahangarani et al., 2021). افزودن ۰/۲ میلی‌لیتر در کیلوگرم وزن بدن روغن کتان به شیر گوساله‌ها سبب افزایش معنی‌دار غلظت کل پروتئین، آلبومین و گلوبولین در پلاسما و کاهش معنی‌دار غلظت کل لیپیدها گردید (El-Hamd et al., 2015). به‌علاوه افزودن مکمل روغن بذر کتان باعث کاهش معنی‌دار سطح

تحقیقات نشان داد که افزودن ویتامین محلول در چربی (ویتامین E) به همراه سلنیوم در جیره گوساله‌های نر شیرخوار هلشتاین بر پروتئین کل و آلبومین تأثیر معنی‌داری نداشت (Asadi et al., 2021). روند تغییرات غلظت کلسترول در دوره‌های مختلف در نمودار شماره ۱ آورده شده است. در مطالعه دیگری محققین با بررسی اثرات مکمل روغن بذر کتان به‌عنوان منبع اسیدهای چرب امگا ۳ بر روی گاو نر فریزین نشان دادند که سطح سرمی آلبومین در حیوانات دریافت‌کننده مکمل روغن بذر کتان تفاوتی معنی‌داری با شاهد نداشت (Abu El-Hamd et al., 2019). به‌علاوه اسیدلینوئیک و ویتامین C تأثیر معنی‌داری بر پروتئین کل و آلبومین گوساله هلشتاین تازه متولد شده در سن یک تا هشت روز نداشته است (Ramezani et al., 2018). با توجه به اینکه مصرف اسید چرب با چند پیوند دوگانه، نقش مهمی در استریفه کردن استرهای کلسترول دارد، میزان کلسترول افزایش پیدا می‌کند. همسو با این آزمایش، برخی از محققین

صفاوی، متاثر از شرایط فیزیولوژیکی، ژنتیکی و تغذیه‌ای قرار دارد و در حیوانات مختلف متفاوت است، لذا چنانچه با سطح متفاوت برای این ترکیبات حادث گردد، ممکن است متاثر از رژیم غذایی و نسبت متفاوت اسیدهای چرب در این گونه مواد خوراکی باشد. از طرفی، بیان می‌شود مصرف اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه به دلیل نقش آن‌ها در استریفیکاسیون استرهای کلسترول، باعث افزایش میزان کلسترول خون می‌شود. گزارش گردیده است که روغن‌های مانند کتان و سویا به دلیل تأثیرات مثبتی که بر روی بهبود فعالیت سلول‌های کبدی دارند، باعث افزایش در سنتز آلبومین در خون می‌شوند (Ahangarani et al., 2021). مشخص گردیده است که کم بودن نسبت پروتئین تام به آلبومین نشان‌دهنده کاهش اثرات عوامل استرس‌زا است، پس می‌توان نتیجه گرفت که اسید لینولنیک با کم کردن نسبت این دو فراسنجه خونی باعث کاهش استرس و بهبود سیستم ایمنی خواهد شد (Ramezani et al., 2018). روند تغییرات بتا هیدروکسی بوتیرات در زمان‌های مختلف در نمودار ۲ گزارش شده است. اثر تیمارهای آزمایشی بر آنزیم‌های کبدی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۷ و نمودارها ۳ و ۴ گزارش شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی بر آنزیم‌های کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP)) گوساله‌های شیرخوار مشاهده نمی‌شود ($P > 0.05$).

کلسترول تام در گاوهای نر دریافت‌کننده مکمل نسبت به گروه شاهد شد و همچنین روغن بذر کتان اثر معنی‌داری بر سطوح سرمی پروتئین کل، گلوبولین، گلوکز، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) و تری گلیسرید در حیوانات دریافت‌کننده این روغن در مقایسه با گروه شاهد شد (۱). می‌توان چنین بیان کرد که تفاوت نتیجه این مطالعه‌ای با یافته‌های دیگر (افزایش کلسترول سرمی گوساله‌های مورد آزمایش) ممکن است به دلیل وجود ۹۶ درصد تری‌آسیل گلیسرید (TAG)، ۱/۴ درصد لیپید قطبی، گلیکو و فسفولیپید در روغن بذر کتان باشد (Dunford., 2015).

متابولیسم کلسترول به دو مسیر برون‌زایی و درون‌زایی تقسیم می‌شود. در مسیر درون‌زایی، کلسترول توسط سلول کبد و بافت‌های خارج کبدی سنتز می‌شود و به عنوان جزئی از لیپوپروتئین‌ها وارد گردش خون می‌شود یا به صفا ترشح می‌شود. در مسیر آگزوژن یا برون‌زایی، کلسترول از منابع غذایی و صفاوی در روده جذب شده و در نهایت، وارد گردش خون می‌شود. نقش دو اسید چرب امگا ۳ ایکوزاپنتانویک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانویک اسید (DHA) در تجزیه آپوپروتئین‌ها به‌ویژه آپوپروتئین B-100 کاملاً به اثبات رسیده است.

تناقض در نتایج به دست آمده از گزارشات مختلف نشان‌دهنده عدم نتیجه‌گیری خاص در خصوص متابولیسم کلسترول و لیپوپروتئین‌ها می‌باشد. با توجه به این واقعیت که متابولیسم هر لیپوپروتئین (VLDL، LDL و HDL) و نیز کلسترول و اسیدهای

جدول ۶- اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار

Table 6- The effect of experimental treatments on blood parameters of suckling calves

	تیمار				SEM ¹	P value ²
	شاهد	روغن کتان	ویتامین	روغن کتان + ویتامین		
Control	Flax seed oil	Vitamin	Flax seed oil + vitamin			
کلسترول (mg/dl)	84.43 ^b	97.13 ^{ab}	91.65 ^b	109.83 ^a	4.503	0.00
Cholesterol (mg/dl)						
پروتئین تام (g/dl)	5.66	5.77	5.42	5.45	0.117	0.10
Total protein (g/dl)						
کراتینین (mg/dl)	1.17	1.14	1.15	1.16	0.062	0.98
Creatinine (mg/dl)						
بتا هیدروکسی بوتیریک اسید (nmol/l)	0.17	0.16	0.16	0.18	0.017	0.77
Beta-hydroxybutyric acid (nmol/l)						
آلبومین (g/dl)	3.38	3.35	3.26	3.29	0.042	0.199
Albumin (g/dl)						

^a و ^b تفاوت ارقام در هر ردیف با حروف نامشابه معنی‌دار است ($P < 0.05$).

¹ میانگین خطای استاندارد

² سطح احتمال معنی‌دار شدن $P = 0.05$

^b and ^a, the difference between numbers in each row with dissimilar letters is significant ($P < 0.05$).

¹Standard error of mean

²Probability value $p = 0.05$

بین‌المللی) و A (۲۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی) به گوساله‌های ماده هلشتاین نر بود، تأثیر معنی‌داری بر میزان آنزیم AST تأثیر مشاهده نکردند (Moradian et al., 2016). اومور و همکاران (Omur et al., 2016) نیز بیان کردند که ویتامین‌های محلول در چربی (A، E و D) و عناصر کمیاب (مس، منگنز، سلنیوم و روی) در جیره گاوهای براون سوییس تأثیر معنی‌داری بر آنزیم‌های کبدی (AST، ALT و ALP) نداشت (Omur et al., 2016).

عدم تأثیر روغن بذر کتان و به عبارتی اسیدهای چرب امگا ۳ بر آنزیم‌های کبدی در آزمایشات متعددی گزارش گردیده است (El-Hamd et al., 2015; Nazir et al., 2013).

در مطالعه دیگری بیان شد که افزودن روغن کتان و ماهی به نسبت ۱:۱ به عنوان منبع اسیدهای چرب n-3 به آغوز گوساله نر و ماده هلشتاین تأثیری بر فعالیت آنتی اکسیدانی نخواهد داشت (Opengorth et al., 2020). مرادیان و همکاران (Moradian et al., 2016) در مطالعه خود که تزریق ویتامین‌های E (۳۰۰ واحد

جدول ۷- اثر تیمارهای آزمایشی بر آنزیم‌های کبدی گوساله‌های شیرخوار

Table 7- The effect of experimental treatments on liver enzymes in suckling calves

	تیمار Treatment				SEM ¹	P value ²
	شاهد Control	روغن کتان Flax seed oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان + ویتامین Flaxseed oil + vitamin		
اسپاراتات ترانس آمیناز (u/l) Spartate transaminase (u/l)	66.30	68.96	67.74	60.74	3.213	0.288
آلانین آمینوترانسفراز (u/l) alanine aminotransferase (u/l)	16.13	20.39	16.61	15.26	1.384	0.052
آلکالین فسفاتاز (u/l) alkaline phosphatase (u/l)	469.50	515.00	456.80	456.70	32.62	0.543

¹ میانگین خطای استاندارد

² سطح احتمال معنی دار شدن P=۰/۰۵

¹Standard error of mean

²Probability value p= 0.05

گوساله‌های شیرخوار تأثیر معنی‌داری نداشت (P > ۰/۰۵).

اثر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۸ گزارش شده است. نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر میزان مالون دی‌آلدهید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام

جدول ۸- اثر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوساله‌های شیرخوار

Table 8- The effect of experimental treatments on the antioxidant activity of infant calves

	تیمار Treatment				SEM ¹	P value ²
	شاهد Control	روغن کتان Flax seed oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان + ویتامین Flaxseed oil + vitamin		
مالون دی‌آلدهید (nmol/ml) Malondialdehyde (nmol/ml)	2.048	1.974	1.965	2.335	0.1594	0.320
ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (mmol/l) Total antioxidant capacity (mmol/l)	0.539	0.549	0.504	0.528	0.0148	0.181

¹ میانگین خطای استاندارد

² سطح احتمال معنی دار شدن P=۰/۰۵

¹Standard error of mean

²Probability value p= 0.05

گوساله‌های شیرخوار تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P > ۰/۰۵)، اما میزان گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، درصد مونوسیت‌ها، درصد ائوزیوفیل و هموگلوبین

اثر تیمارهای آزمایشی بر سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۹ و نمودارهای ۵ و ۶ گزارش شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، درصد لنفوسیت‌ها و گرانولوسیت‌های پلاسمای خون

مونوسیت‌ها به ترتیب در گروه شاهد و تیمار حاوی روغن کتان + ویتامین کمترین و بیشترین میزان را نشان دادند. درصد ائوزینوفیل در گروه شاهد کمترین و تیمارهای حاوی روغن کتان + ویتامین و روغن کتان بیشترین میزان را به خود اختصاص دادند. همچنین در تیمار حاوی روغن کتان + ویتامین بیشترین میزان هموگلوبین نسبت به تیمارهای دیگر قابل مشاهده بود.

گوساله‌های شیرخوار به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$). مقدار گلبول‌های قرمز و هماتوکریت در تیمار حاوی روغن کتان + ویتامین بیشترین و در گروه شاهد و تیمار حاوی روغن کتان کمترین میزان را دارا بودن و تعداد گلبول‌های سفید نیز در تیمارهای حاوی روغن کتان + ویتامین و ویتامین بی‌شتترین و در گروه شاهد و تیمار حاوی روغن کتان کمترین مشاهده شد. درصد

جدول ۹- اثر تیمارهای آزمایشی بر سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار

Table 9- The effect of experimental treatments on the immune system of infant calves

	تیمار Treatment				SEM ¹	P value ²
	شاهد Control	روغن کتان Flax seed oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان + ویتامین Flaxseed oil + vitamin		
گلبول‌های قرمز خون* (10 ⁶ /μl) RBC (10 ⁶ /μl)	6.221 ^b	6.300 ^b	6.531 ^{ab}	6.885 ^a	0.1216	0.001
گلبول‌های سفید خون* (10 ³ /μl) WBC (10 ³ /μl)	8.025 ^b	8.043 ^b	8.677 ^a	9.152 ^a	0.1647	0.000
هماتوکریت* (%) HCT (%)	30.61 ^b	31.24 ^b	31.99 ^{ab}	34.20 ^a	0.6760	0.002
لنفوسیت‌ها (%) Lymphocytes (%)	48.69	50.37	51.14	50.54	0.7362	0.114
مونوسیت‌ها (%) Monocytes (%)	4.857 ^c	6.029 ^{ab}	5.314 ^{bc}	6.543 ^a	0.2252	0.000
ائوزینوفیل (%) Eosinophils (%)	3.474 ^b	4.629 ^a	4.257 ^{ab}	4.657 ^a	0.2186	0.000
گرانولوسیت (%) Granulocytes (%)	38.37	37.61	39.26	39.23	0.8126	0.425
هموگلوبین (g/dl) Hemoglobin (g/dl)	9.582 ^b	9.797 ^b	10.121 ^b	10.890 ^a	0.1822	0.000

^{a, b} میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$)

¹ میانگین خطای استاندارد

² سطح احتمال معنی دار شدن $P = 0.05$

³ گلبول‌های قرمز خون

⁴ گلبول‌های سفید خون

⁵ هماتوکریت

^{a, b} Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

¹ Standard error of mean

² Probability value $p = 0.05$

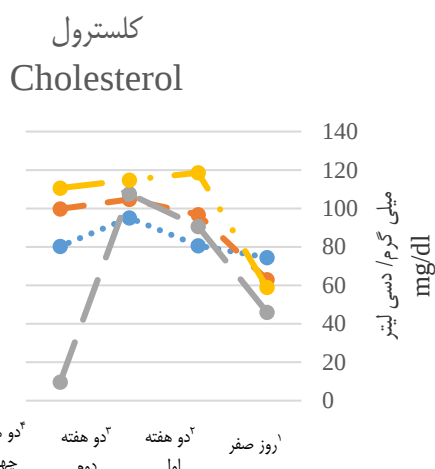
³ Red Blood Cell

⁴ White Blood Cell

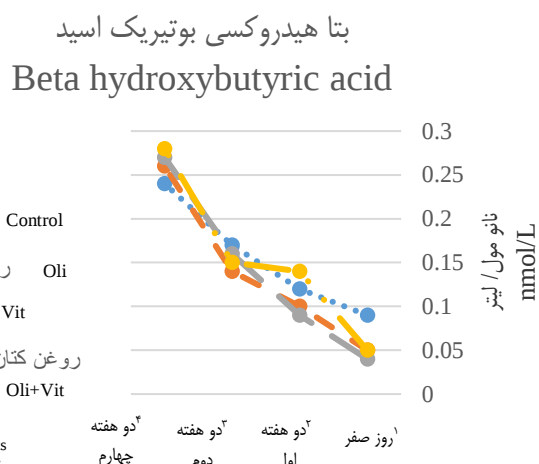
⁵ Hematocrit

و نمو، و ایمنی گوساله‌های شیری کمک می‌کنند (Lashkari et al., 2021; Weiss., 2017).

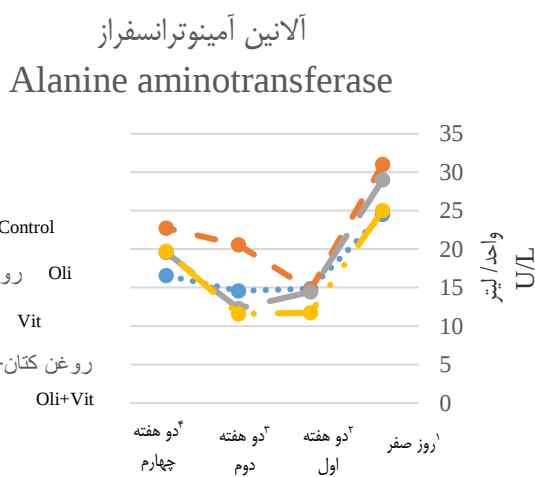
در شیر غلظت برخی از مینرال‌ها و ویتامین‌های ضروری محلول در چربی A، D و E کم بوده و ضروری به نظر می‌رسد که این مواد به شیر مورد استفاده حیوان افزوده شود (Blakely et al., 2019). ثابت شده است که ویتامین‌های محلول در چربی A، D و E به رشد



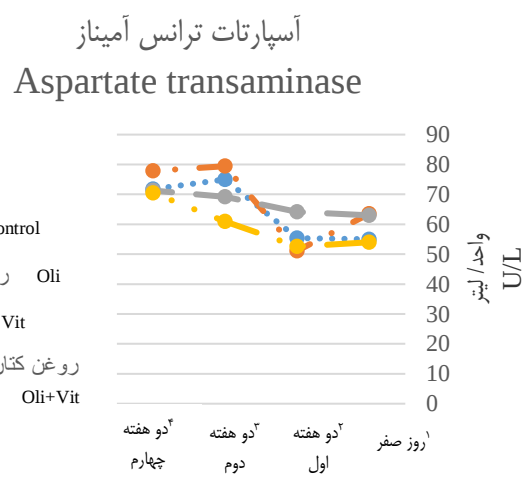
شکل ۱- میانگین تغییرات کلسترول خونی گوساله‌ها در دوره‌های مختلف
Figure 1- Average blood cholesterol changes of calves in different periods



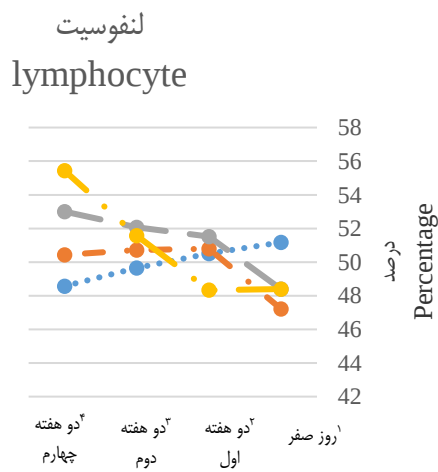
شکل ۲- میانگین تغییرات بتا هیدروکسی بوتیریک اسید خونی گوساله‌ها در دوره‌های مختلف
Figure 2- The average changes of beta-hydroxybutyric acid in the blood of calves in different periods



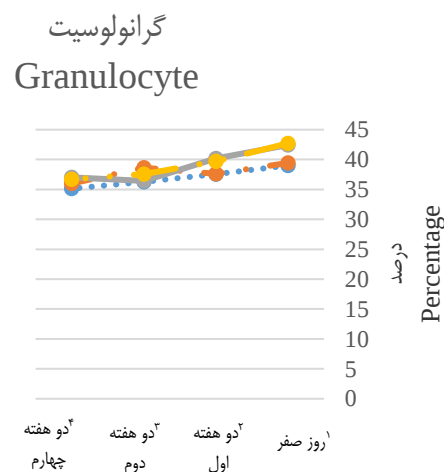
شکل ۳- میانگین تغییرات آلانین آمینوترانسفراز خونی گوساله‌ها در دوره‌های مختلف
Figure 3- Average changes of blood alanine aminotransferase of calves in different periods



شکل ۴- میانگین تغییرات آسپارات ترانس آمیناز خونی گوساله‌ها در دوره‌های مختلف
Figure 4- The average changes of blood aspartate transaminase of calves in different periods



شکل ۵- میانگین تغییرات لنفوسیت خونی گوساله‌ها در دوره‌های مختلف
Figure 5- The average changes of blood lymphocytes of calves in different periods



شکل ۶- میانگین تغییرات گرانولوسیت خونی گوساله‌ها در دوره‌های مختلف
Figure 6- The average changes of blood granulocytes of calves in different periods

ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) مورد استفاده قرار می‌گیرد، و این اسید که خود از نوع اسیدهای چرب امگا ۳ محسوب می‌شود، به نوبه خود به‌عنوان پیش‌ساز اغلب ایکوزانوئیدها است.

مصرف روغن کتان به‌دلیل بالا بودن آلفا لینولینیک می‌تواند در این راستا نقش ویژه‌ای را ایفا نماید. از طرفی، ویتامین E، با نقش خود در جلوگیری از تخریب اکسیداتیو ممبران سلولی و ارگان‌های درون آن مثل میتوکندری‌ها، میکروزوم‌ها و لیزوزوم‌ها، تأثیر بسزایی در بهبود سیستم ایمنی داشته باشند و همان‌گونه ردی و همکاران (Reddy et al., 1987) گزارش نموده‌اند، افزودن ویتامین E منجر به افزایش تعداد سلول‌های T و B در خون می‌شود و در نتیجه، بهبود سیستم ایمنی گردیده است (Reddy et al., 1987).

نتیجه‌گیری کلی

داده‌های این مطالعه نشان داد که که افزودن روغن کتان و ویتامین‌های محلول در چربی (A، D و E) بر افزایش وزن، خوراک مصرفی، دمای رکتوم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مالون در آلدهید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام)، آنزیم‌های کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز) و برخی از فرا سنج‌های خونی (پروتئین تام، کراتینین، بتا هیدروکسی بوتیریک اسید و آل‌بومین) در گوساله‌های شیرخوار هلاشتاین تأثیر معنی‌داری نداشته است، ولی سبب افزایش معنی‌دار کلاسترول خون و افزایش فرا سنج‌های ایمنی همچون لنفوسیت، منوسیت و گلبول‌های سفید خون گردیده است. با توجه به یافته فوق توصیه می‌گردد که در شرایطی که حیوان در معرض استرس‌ها و عفونت قرار گرفته است، استفاده از این روغن می‌تواند در تقویت عفونت و افزایش ایمنی‌زایی سیستم دفاعی بدن مؤثر واقع گردد.

با توجه به ترکیبات بسیار با ارزش روغن بذر کتان، این ماده نیز می‌تواند سبب بهبود سلامتی و عملکرد سیستم ایمنی گردد (Elgaml et al., 2020). مطابق با نتایج این آزمایش، در مطالعه انجام شده توسط مهری و همکاران (Mohri et al., 2005) گزارش شده است که تزریق ویتامین E و سلنیوم بر روی گوساله‌ها در سن ۱ تا ۱۴ روز بعد از تولد سبب افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید، هماتوکریت در هفته چهارم و هموگلوبین در هفته سوم گردیده است (Mohri et al., 2005). در پژوهش دیگری بیان شد که افزودن روغن کتان و ویتامین محلول در چربی (E) به شیر گوساله‌های شیرخوار ماده هلاشتاین در سن چهار روزگی سبب بهبود سیستم ایمنی در دوره قبل و بعد از شیرگیری شد (Geraili et al., 2018). افزودن روغن کتان به میزان ۰/۲ میلی‌لیتر در کیلوگرم میانگین وزن بدن به شیر گوساله‌های تازه متولد شده تا زمان از شیرگیری نژاد فریزین سبب افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های قرمز و سفید، درصد مونوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و غلظت هموگلوبین شد، اما بر مقدار درصد لنفوسیت‌ها تأثیر معنی‌داری نداشت (El-Hamd et al., 2015). یکی از دلایل احتمالی بهبود در سیستم ایمنی ممکن است به‌دلیل وجود ترکیبات فنلی همچون اسید فنولیک، لیگنان‌ها و ترکیبات فلاونوئیدی می‌باشد (Tang et al., 2021) از طرفی، وجود مقادیر زیاد از اسیدهای چرب امگا ۳ در دانه کتان نیز می‌تواند بر سیستم ایمنی حیوان تأثیرگذار باشد.

ویتامین E به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی محسوب می‌گردد (Agustinho et al., 2020). ایکوزانوئیدها ترکیبات شبه هورمونی هستند که نقش اساسی در پاسخ ایمنی دارند (El-Hamd et al., 2015) با توجه به غلظت بالای آلفالینولینیک اسید در روغن بذر کتان (Elgaml et al., 2020) و اینکه این اسید به‌عنوان پیش‌ساز

References

1. Abu El-Hamd, M. A., Metwally, A. S. M., Hegazy, M. M., Ghallab, Z. R., & Elateeqy, O.A. (2019). Effect of supplementation of omega-3 fatty acids on blood parameters and semen quality of Friesian bulls. *Slovenian Veterinary Research*, 56. <https://doi.org/10.26873/SVR-817-2019>
2. Agustinho, B. C., Zeoula, L. M., Santos, N. W., Machado, E., Yoshimura, E. H., Ribas, J. C., Bragatto, J. M., Stemposki, M. R., Santos, V. J. D., & Faciola, A.P. (2020). Effects of flaxseed oil and vitamin e supplementation on digestibility and milk fatty composition and antioxidant capacity in water buffaloes. *Animals*, 10(8), 1294. <https://doi.org/10.3390/ani10081294>
3. Ahangarani, M. A., Dehghani, M. R., & Naserian, A. A. (2021). The effect of adding sources of fat to milk on performance, growth, health, blood and ruminal parameters of Holstein female dairy calves in the first month after birth. *Animal Production*, 23(2), 179-189. (In Persian). <https://doi.org/10.22059/jap.2020.293595.623477>
4. Asadi, M., Ghoorchi, T., Toghdory, A., Rajabi Aliabadi, R., Iri Tomaj, R., & Sahneh, M. (2021). Comparison of selenium and vitamin E recommended NRC and ARC by diet and injection methods on performance, digestibility, some blood metabolites and skeletal growth indices of suckling Holstein calves. *Journal of Animal Science Research*, 31(2), 57-69. (In Persian). <https://doi.org/10.22034/as.2021.36647.1526>
5. Bakowska-Barczak, A., Larminat, M. A., & Kolodziejczyk, P. P. (2020). The application of flax and hempseed in food, nutraceutical and personal care products. In: R. M. Kozlowski and M. M. Talzarczyk, eds. *Handbook of natural fibres*. Woodhead Publishing, London, UK, 557–590.

6. Bechlin, T. R., Granella, S. J., Christ, D., Coelho, S. R. M., & Viecegli, C. A. (2019). Evaluation of grain and oil quality of packaged and ozonized flaxseed. *Journal of Stored Products Research*, 83, 311-316. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2019.07.014>
7. Beheshti Moghadam, M. H., Rezaei, M., Behgar, M., & Kermanshahi, H. (2019). Effects of gamma and electron radiation on chemical composition and some phyto-chemical properties of whole flaxseed. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 321, 1019-1025. <https://doi.org/10.1007/s10967-019-06679-3>
8. Blakely, L. P., Poindexter, M. B., Stuart, R. L., & Nelson, C. D. (2019). Supplementing pasteurized waste-milk with vitamins A, D, and E improves vitamin status of dairy calves. *The Bovine Practitioner*, 134-141. <https://doi.org/10.21423/bovine-vol53no2p134-141>
9. Conneely, M., Berry, D. P., Sayers, R., Murphy, J. P., Lorenz, I., Doherty, M. L., & Kennedy, E. (2013). Factors associated with the concentration of immunoglobulin G in the colostrum of dairy cows. *Animal*, 7(11), 1824-1832. <https://doi.org/10.1017/S1751731113001444>
10. Delir, S., Mohammad zadeh, H., Taghizadeh, A., & paya, H., (2020). Effects of application of vitamin-mineral supplement in milk on performances of Holstein suckling calves. *Journal of Animal Science Research*, 30(3): 105-117. (In Pershan). <https://doi.org/10.22034/as.2021.38432.1557>
11. Doppenberg, J., & Palmquist, D. L. (1991). Effect of dietary fat level on feed intake, growth, plasma metabolites and hormones of calves fed dry or liquid diets. *Livestock Production Science*, 29(2-3), 151-166. [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(91\)90063-V](https://doi.org/10.1016/0301-6226(91)90063-V)
12. Dunford, N. T. (2015). Hemp and flaxseed oil: properties and applications for use in food. In *Specialty oils and fats in food and nutrition* (pp. 39-63). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-376-8.00002-8>
13. Elgaml, N. B., El-Hamd, A., El-Diahy, Y. M., & Elshora, M. A. (2020). Effect of Flaxseed Oil on Feeding Dairy Friesian Cows on the Fatty Acid and Chemical Composition of Milk and Physiochemical Properties of Yoghurt. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 11(11), 293-298. <https://doi.org/10.21608/jfds.2020.130425>
14. El-Hamd, A., El-Diahy, Y. M., El-Maghraby, M. M., & Elshora, M. A. (2015). Effect of flaxseed oil on digestibility, blood parameters, immuno-response and productive performance of suckling Friesian calves. *Journal of Animal and Poultry Production*, 6(12), 755-765. <https://doi.org/10.21608/jappmu.2015.52963>
15. Garcia, M., Shin, J. H., Schlaefli, A., Greco, L. F., Maunsell, F. P., Santos, J. E. P., ... & Thatcher, W. W. (2015). Increasing intake of essential fatty acids from milk replacer benefits performance, immune responses, and health of preweaned Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 98(1), 458-477. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8384>
16. Geraili, M., Torbati Nejad, N.M., Naserian, A.A. & Toghdory, A., (2018). The effect of flaxseed oil on the immune response of calves in heat stress conditions. *The 1st National Conference on Ruminant and Poultry Metabolic Disorders, University of Zanjan, Iran*. (In Pershan).
17. Ghorbani, H., Kazemi-Bonchenari, M., HosseinYazdi, M., & Mahjoubi, E. (2020). Effects of various fat delivery methods in starter diet on growth performance, nutrients digestibility and blood metabolites of Holstein dairy calves. *Animal Feed Science and Technology*, 262, 114429. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114429>
18. Giarola, T. M. o., Pereira, C. G., Prado, M. E. T., de Abreu, L. R., & de Resende, J. V. (2019). Effects of golden flaxseed flour on ice recrystallization in Uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess.) diet sherbet. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 2120-2135. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02377-w>
19. Goyal, A., Patel, A., Sihag, M. K., Shah, N., & Tanwar, B. (2018). Therapeutic potential of flaxseed. In *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods* (pp. 255-274). Academic Press. [10.1016/B978-0-12-814625-5.00013-3](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814625-5.00013-3)
20. Hill, T. M., Bateman II, H. G., Aldrich, J. M., & Schlotterbeck, R. L. (2009). Effects of changing the essential and functional fatty acid intake of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 92(2), 670-676. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1368>
21. Hill, T. M., VandeHaar, M. J., Sordillo, L. M., Catherman, D. R., Bateman Ii, H. G., & Schlotterbeck, R. L. (2011). Fatty acid intake alters growth and immunity in milk-fed calves. *Journal of Dairy Science*, 94(8), 3936-3948. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3935>
22. Huuskonen, A., Khalili, H., Kiljala, J., Joki-Tokola, E., & Nousiainen, J. (2005). Effects of vegetable fats versus lard in milk replacers on feed intake, digestibility, and growth in Finnish Ayrshire bull calves. *Journal of Dairy science*, 88(10), 3575-3581. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)73042-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73042-3)
23. Ivan, M., Petit, H. V., Chiquette, J., & Wright, A. D. (2013). Rumen fermentation and microbial population in lactating dairy cows receiving diets containing oilseeds rich in C-18 fatty acids. *British Journal of Nutrition*, 109(7), 1211-1218. <https://doi.org/10.1017/S0007114512003030>
24. Kadkhoday, A., Riasi, A., Alikhani, M., Dehghan-Banadaky, M., & Kowsar, R. (2017). Effects of fat sources and dietary C18: 2 to C18: 3 fatty acids ratio on growth performance, ruminal fermentation and some blood components of Holstein calves. *Livestock Science*, 204, 71-77. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.08.012>
25. Karimi, A., Alijoo, Y. A., Kazemi-Bonchenari, M., Mirzaei, M., & Sadri, H. (2021). Effects of supplemental fat sources and forage feeding levels on growth performance, nutrient digestibility, ruminal fermentation, and nitrogen utilization in dairy calves. *Animal*, 15(4), 100179. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100179>
26. Lan, Y., Ohm, J. B., Chen, B., & Rao, J. (2020). Physicochemical properties and aroma profiles of flaxseed proteins

- extracted from whole flaxseed and flaxseed meal. *Food Hydrocolloids*, 104, 105731. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105731>
27. Lashkari, S., Jensen, S. K., Hansen, C. B., Krogh, K., Theilgaard, P., Raun, B. M., & Vestergaard, M. (2021). Feeding concentrate pellets enriched by natural vitamin E keeps the plasma vitamin E above the critical level in calves post-weaning. *Livestock Science*, 253, 104672. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104672>
28. McGee, M., & Earley, B. (2019). passive immunity in beef-suckler calves. *Animal*, 13(4), 810-825. <https://doi.org/10.1017/S1751731118003026>
29. McGee, M., Drennan, M. J., & Caffrey, P. J. (2005). Effect of suckler cow genotype on cow serum immunoglobulin (Ig) levels, colostrum yield, composition and Ig concentration and subsequent immune status of their progeny. *Irish journal of agricultural and food research*, 173-183.
30. Mohri, M., Seifi, H. A., & Khodadadi, J. (2005). Effects of preweaning parenteral supplementation of vitamin E and selenium on hematology, serum proteins, and weight gain in dairy calves. *Comparative Clinical Pathology*, 14, 149-154. <https://doi.org/10.1007/s00580-005-0581-3>
31. Moradian, M., Rahchamani, R., Banihasan, E., Gharebashi, A.M. & Zeighamy, A., (2016). The effect of injection of vitamins A and E on passive transfer of immunoglobulin G and some blood parameters in calf. *Journal of Ruminant Research*, 4(2). (In Persian). <https://doi.org/10.22069/EJRR.2020.18054.1750>
32. Nazir, G., Ghuman, S. P. S., Singh, J., Honparkhe, M., Ahuja, C. S., Dhaliwal, G. S., ... & Agarwal, S. K. (2013). Improvement of conception rate in postpartum flaxseed supplemented buffalo with Ovsynch+ CIDR protocol. *Animal reproduction science*, 137(1-2), 15-22. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.11.012>
33. Newkirk, R. (2015). Flax feed industry guide. *Flax Canada*, 1-24.
34. Omur, A., Kirbas, A., Aksu, E., Kandemir, F., Dorman, E., Kaynar, O., & Ucar, O. (2016). Effects of antioxidant vitamins (A, D, E) and trace elements (Cu, Mn, Se, Zn) on some metabolic and reproductive profiles in dairy cows during transition period. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19(4). <https://doi.org/10.1515/pjvs-2016-0088>
35. Opgenorth, J., Sordillo, L. M., Gandy, J. C., & VandeHaar, M. J. (2020). Colostrum supplementation with n-3 fatty acids does not alter calf outcome on a healthy commercial farm. *Journal of dairy science*, 103(12), 11689-11696. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18046>
36. Ramezani, M., Seifdavati, J., Seifzadeh, S., Abdibenemar, H., & Razmazar, V. (2018). The effects of conjugated linoleic acid and vitamin C on growth performance, some blood metabolites and blood cell counts of Holstein suckling calves. *Journal of Ruminant Research*, 6(2), 101-116. <https://doi.org/10.22069/EJRR.2018.14986.1634>
37. Ravisankar, P., Reddy, A. A., Nagalakshmi, B., Koushik, O. S., Kumar, B. V., & Anvith, P. S. (2015). The comprehensive review on fat soluble vitamins. *IOSR Journal of Pharmacy*, 5(11), 12-28. <https://doi.org/10.13189/ijbb.2018.060103>
38. Reddy, P. G., Morrill, J. L., Minocha, H. C., & Stevenson, J. S. (1987). Vitamin E is immunostimulatory in calves. *Journal of Dairy Science*, 70(5), 993-999. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80104-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80104-2)
39. Rho, S. J., & Kim, Y. R. (2022). Improving solubility and stability of fat-soluble vitamins (A, D, E, and K) using large-ring cycloamylose. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 153, 112502. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112502>
40. Sobiech, P. R. Z. E. M. Y. S. Ł. A. W., Żarczyńska, K. A. T. A. R. Z. Y. N. A., Rękawek, W. O. J. C. I. E. C. H., Snarska, A. N. N. A., Eleusizowa, A. N. A. R. A., Kowalczyk, E., & Illek, J. O. S. E. F. (2015). Effect of parenteral supplementation of selenium and vitamin E on selected blood biochemical parameters in HF cows during the transition period. *Medycyna weterynaryjna*, 71, 683-9. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.06.006>
41. Tang, Z. X., Ying, R. F., Lv, B. F., Yang, L. H., Xu, Z., Yan, L. Q., ... & Wei, Y. S. (2021). Flaxseed oil: Extraction, Health benefits and products. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 13(1), 1-19. <https://doi.org/10.15586/qas.v13i1.783>
42. Terler, G., Poier, G., Klevenhusen, F., & Zebeli, Q. (2022). Replacing concentrates with a high-quality hay in the starter feed in dairy calves: I. Effects on nutrient intake, growth performance, and blood metabolic profile. *Journal of Dairy Science*, 105(3), 2326-2342. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21078>
43. Thiessen, D. L. (2004). Optimization of feed peas, canola and flaxseed for aqua feeds: The Canadian prairie perspective. *Avances en Nutrición Acuicola*.
44. Weiss, W. P. (2017). A 100-Year Review: From ascorbic acid to zinc—Mineral and vitamin nutrition of dairy cows. *Journal of dairy science*, 100(12), 10045-10060. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12935>
45. Xu, H. J., Wang, L. H., Zhang, Q. Y., Jiang, X., Zhang, C. R., & Zhang, Y. G. (2021). Effects of 25-hydroxyvitamin D3 on growth performance, fecal scores, vitamin D3 metabolites, antioxidant status, and inflammatory and stress-related parameters in weaning calves. *Animal Feed Science and Technology*, 281, 114946. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114946>
46. Zhang, X., Yin, P., Yang, L., Hang, F., Sun, L., & Liu, Y. (2017). Oil contents in flaxseeds from different origins and fatty acid compositions of flaxseed oils. *China Oils and Fats*, 42(11), 142-146.



The Effect of Different Levels of Whey Powder on Growth Performance, Fermentation Parameters, Ruminal Morphology, Degradability and Microbial Protein Biosynthesis in Fattening Lambs

Mohammad Hasanpour¹, Yadollah Chashnidel ^{2*}, Asadolah Teymouri Yanesari², Zarbakht Ansari Pirsarei ²

Received: 16-05-2022

Revised: 19-07-2022

Accepted: 04-09-2022

Available Online: 04-09-2022

How to cite this article:

Hasanpour, M., Chashnidel, Y., Teymouri Yanesari, A., & Ansari Pirsarei, Z. (2023). The effect of different levels of whey powder on growth performance, fermentation parameters, ruminal morphology, degradability and microbial protein biosynthesis in fattening lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 15(2), 151-168.

DOI: [10.22067/ijasr.2022.76313.1072](https://doi.org/10.22067/ijasr.2022.76313.1072)

Introduction: One of the valuable unconventional foods is whey powder, which is a by-product of cheese production. Whey powder is used as an important source of energy and protein in animal nutrition. By reviewing the composition of whey powder based on dry matter and comparing it with the needs of livestock, its nutritional value can be understood. Whey powder as a feedstuff also has properties of a prebiotic; it contains a significant amount of lactose that is not absorbed to a large extent, but is fermented and converted to lactic acid and volatile fatty acids, which may stimulate the establishment of lactobacilli in the small intestine. Whey powder in animal feed, in addition to preventing environmental problems, reduces feed costs and improves yield. Adding whey powder to this juice probably improves and increases the weight of animals fed with whey powder by stimulating the microorganisms of the digestive system and as a result, by better synthesizing the required nutrients and improving the absorption of nutrients from the digestive system. This study was conducted to determine the effect of different levels of whey powder on growth performance, fermentation parameters, ruminal morphology, degradability and microbial protein biosynthesis in fattening Zell lambs.

Material and methods: In the first experiment, ruminal degradability of dry matter and crude protein were measured with nylon bag technique using three fistulated Zell sheep with mean weight of about 40 kg and mean age of about 10 months. In this experiment, nylon bags made of polyester (Dacron) with a pore diameter of 45 ± 5 micrometers and dimensions of 9×7 cm were used. Incubation time in rumen consisted of 0, 4, 8, 16, 24, 36, 48, 72 and 96. In the second experiment, the effect of different levels of whey powder on fermentation parameters, ruminal morphology and microbial protein biosynthesis, an experiment in completely randomized design (CRD) with four diets containing zero, 1.5, 3 and 4.5 % whey powder on 24 male lambs with initial mean weight of 24 ± 2 kg and mean age of 4.5 ± 0.52 months for 90 days was performed. Every day, a certain amount of feed in the form of TMR was weighed for each experimental treatment and was provided to the experimental lambs at 8 am and 5 pm. To determine the

1- Ph.D. Student in Animal Nutrition, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.

2- Associated professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.

3- professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.

*Corresponding Author's Email: yhashnidel2002@yahoo.com

daily weight gain of the experimental lambs, weighing was done with a digital metal scale every 14 days until the end of the 90th day of the experiment. Data obtained were analyzed by statistical software SAS (version 1.9). Comparison of experimental treatment means was done using Duncan's multi-range test at a significance level of 0.05.

Results and discussion: A significant difference was observed for final weight, dry matter consumption and daily weight gain among the experimental treatments, and the highest values were found in the 4.5% whey powder treatment. Significant differences were observed in pH, ammonia nitrogen, total volatile fatty acids, and acetic acid among the experimental treatments. Specifically, the treatment with 4.5% whey powder exhibited the highest levels of fermentation parameters. Additionally, the 4.5% whey powder treatment showed the highest population of total bacteria at 2 and 4 hours after feeding, as well as the highest protozoa population at 4 hours after feeding. Moreover, the 4.5% whey powder treatment demonstrated the highest thickness, height, and density of villi compared to the other experimental treatments. Furthermore, significant differences were found in the degradability parameters of dry matter and crude protein among the experimental treatments. In particular, the soluble, degradable, and effective rumen degradability in passage rate constant parts exhibited significant differences. The amount of gas produced from the fermentable part also showed a significant difference between the experimental treatments. The control treatment showed the lowest amount of gas produced from the fermentable part, which was significantly lower than the other treatments. However, no significant difference was observed between the experimental treatments in other parameters of gas production.

The highest amount of microbial protein production was observed in the treatment of 3% whey powder.

Conclusion: The consumption of higher levels of whey powder at a maximum of 4.5% in the diet of fattening lambs improved the growth performance and some ruminal indices and decomposability of dry matter and crude protein.

Keywords: Dairy by-products, Protozoa Ruminants, Rumen villi, Volatile fatty acids

اثر سطوح مختلف پودر آب پنیر بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های تخمیری، ریخت‌شناسی شکمبه، تجزیه‌پذیری و تولید پروتئین میکروبی در بره‌های پرواری

محمد حسن پور^۱، یداله چاشنی دل^{۲*}، اسداله تیموری یانسری^۳، زربخت انصاری پیرسرای^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۳

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی اثر افزودن سطوح مختلف پودر آب پنیر بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های تخمیری، ریخت‌شناسی بافت شکمبه، تجزیه‌پذیری و تولید پروتئین میکروبی در بره‌های نر پرواری آمیخته‌های زل و افشاری انجام شد. از تعداد ۲۴ رأس بره با میانگین سن 135 ± 21 روز و میانگین وزن اولیه 24 ± 2 کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی و به مدت ۹۰ روز برای انجام آزمایش حاضر استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد (فاقد پودر آب پنیر) و تیمارهای حاوی ۱/۵، ۳ و ۴/۵ درصد پودر آب پنیر در جیره (بر اساس درصدی از ماده خشک جیره) بودند. اختلاف آماری معنی داری برای وزن پایان پروار، ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد، به طوری که تیمار حاوی ۴/۵ درصد پودر آب پنیر از بیشترین مقادیر برای این پارامترها برخوردار بود. همچنین اختلاف معنی داری برای پی‌اچ، نیتروژن آمونیاکی، کل اسیدهای چرب فرار و اسید استیک مایع شکمبه در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد، به طوری که تیمار حاوی ۴/۵ درصد پودر آب پنیر از بیشترین مقادیر برای این فراسنجه‌ها برخوردار بود. همچنین تیمار حاوی ۴/۵ درصد پودر آب پنیر دارای بیشترین جمعیت کل باکتری‌ها به‌فاصله دو و چهار ساعت بعد از خوراک‌دهی و نیز بیشترین جمعیت پروتوزوای شکمبه‌ای به‌فاصله چهار ساعت بعد از خوراک‌دهی برخوردار بود. تیمار حاوی ۴/۵ درصد پودر آب پنیر از بیشترین میزان ضخامت، ارتفاع، عرض و تراکم پرزها در بین تیمارهای آزمایشی برخوردار بود. اختلاف معنی داری برای فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد. بخش غیرقابل تجزیه نیز در تیمار سه درصد پودر آب پنیر نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی داری داشت. اختلاف معنی داری در مقدار گاز تولیدی از بخش قابل تخمیر بین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد. بیشترین مقدار ساخت پروتئین میکروبی در تیمار حاوی سه درصد پودر آب پنیر مشاهده شد. در مجموع، استفاده از سطوح بالاتر پودر آب پنیر (۴/۵ درصد) در جیره بره‌های پرواری سبب بهبود عملکرد رشد و برخی از شاخص‌های شکمبه‌ای و تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام شد.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب فرار، پرزهای شکمبه، پروتوزوآ، دام نشخوارکننده، فرآورده‌های فرعی لبنی

مقدمه

پنیر است. پروار حیوانات با پودر آب پنیر به‌عنوان یک روش ارزان قیمت مطرح می‌باشد که در آن هزینه خوراک به‌ازای هر کیلوگرم افزایش وزن از سایر روش‌ها کمتر می‌باشد (Barile et al., 2009). لذا با توجه به تولید زیاد آب پنیر در کشور (حدود دو میلیون تن در سال) و قابلیت مصرف آن توسط دام‌های نشخوارکننده، تغذیه آن در جیره این حیوانات

کمبود مواد خوراکی متعارف و افزایش قیمت آن‌ها در کشور موجب شده، تا عمده بقایای صنایع مختلف کشاورزی در سطح وسیع در تغذیه دام مورد استفاده قرار بگیرند. در این میان، یکی از مواد خوراکی غیر متعارف و با ارزش، پودر آب پنیر بوده که فرآورده فرعی حاصل از تولید

۱- دانشجوی دوره دکتری تغذیه دام، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

۳- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

(*- نویسنده مسئول: (Email: ychashnidel2002@yahoo.com)

عنوان یکی از منابع پروتئینی تجزیه‌پذیر شکمبه‌ای بوده، که در تغذیه نشخوارکنندگان در حال رشد مورد استفاده قرار می‌گیرد (DePeters *et al.*, 1986).

با توجه به اینکه مطالعات اندکی در خصوص تأثیر سطوح مختلف پودر آب پنیر بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های شکمبه‌ای و تجزیه‌پذیری بره‌های پرواری انجام شده است و با توجه به افزایش روز افزون تولید آب پنیر در کشور، انجام آزمایشات علمی متعدد برای بررسی اثرات آن در تغذیه دام ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین، این آزمایش با هدف بررسی اثر افزودن سطوح مختلف پودر آب پنیر به جیره بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های تخمیری، ریخت‌شناسی بافت شکمبه، تجزیه پذیری و بیوسنتز پروتئین میکروبی در بره‌های نر پرواری آمیخته‌های زل انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در ماه‌های تیر لغایت شهریور ۱۴۰۰ در یک مزرعه خصوصی پرورش گوسفند متعلق به آقای حسن‌پور واقع در استان مازندران، شهرستان ساری به مدت ۹۰ روز انجام شد.

آزمایش اول: در این آزمایش، اثر سطوح مختلف پودر آب پنیر بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام جیره در گوسفندان فیه‌ستوله‌دار، مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین اثر پودر آب پنیر بر تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام جیره‌های آزمایشی، از سه رأس گوسفند زل فیه‌ستولاگذاری شده شکمبه‌ای با میانگین وزن $40 \pm 2/5$ کیلوگرم استفاده شد. دام‌ها داخل قفس‌های متابولیکی نگهداری و در ساعات هشت صبح و ۲۰ شب با جیره دارای نسبت ۷۰ به ۳۰ علوفه به کنسانتره در سطح نگهداری تغذیه می‌شدند. سه تکرار از هر نمونه (حدود سه گرم) در کیسه‌های داکرون به ابعاد 14×7 سانتی‌متر و قطر منفذ ۴۵ میکرون در ساعات متوالی صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۸، ۲۴، ۳۰ و ۹۶ ساعت شکمبه‌گذاری شد. پیش از شکمبه‌گذاری، کیسه‌ها در آب ولرم خیسانده شده و پس از پایان زمان شکمبه‌گذاری، کیسه‌ها با جریان آرام آب سرد با ماشین لباسشویی شستشو داده شدند تا رنگ آب خروجی کاملاً شفاف شود. سپس به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. اتلاف زمان صفر از طریق غوطه‌ور کردن سه کیسه از هر نمونه در آب ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و محاسبه میزان ناپدید شده محاسبه شد. اندازه‌گیری در صد پروتئین خام با استفاده از روش کج‌لدال صورت گرفت.

با کمک نرم‌افزار Neway، میزان ناپدید شدن مواد مغذی در زمان‌های مختلف انکوباسیون و فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری با استفاده از معادله ارسکوف و مکدونالد (Ørskov and McDonald, 1979) برآورد شد و برازش داده‌ها با استفاده از معادله تجزیه‌پذیری مؤثر

یک ضرورت قابل توجیه است (Mirshahi, 2012). پودر آب پنیر، باقیمانده پنیر یا کازئین است که از پروتئین‌های حیوانی مورد استفاده در زنجیره غذایی انسانی می‌باشد. این ماده خوراکی دارای تعادل مناسبی از مواد مغذی است و می‌تواند در جیره دام استفاده شود (de Miranda *et al.*, 2021). پودر آب پنیر به دلیل وجود بقایای مواد مغذی شیر (مانند لاکتوز، پروتئین‌ها، لیپیدها و ویتامین‌ها)، به عنوان یکی از مهم‌ترین فرآورده‌های جنبی صنایع لبنی و با ارزش، در تغذیه دام وارد شده است (Yadav *et al.*, 2015). لاکتوز موجود در آب پنیر به آسانی تخمیر شده و منبع عالی کربوهیدرات‌های با قابلیت هضم بالا (انرژی) برای میکروب‌های شکمبه می‌باشد. همچنین پودر آب پنیر دارای ۱۴ درصد پروتئین خام (بر اساس ماده خشک) می‌باشد که این پروتئین‌ها محلول و دارای کیفیت عالی می‌باشند که منبع نیتروژن مناسبی برای میکروب‌های شکمبه محسوب می‌شوند (DePeters *et al.*, 1986). افزون بر این پودر آب پنیر احتمالاً از طریق تغییر در سیستم‌های آنزیمی دستگاه گوارش، کاهش اختلالات گوارشی، تحریک ریزجانداران دستگاه گوارش و بهبود جذب مواد مغذی از دستگاه گوارش، باعث بهبود عملکرد رشد در دام‌های نشخوارکننده می‌شود (Cotanch *et al.*, 2006).

نتایج برخی مطالعات نشان داد که مصرف پودر آب پنیر در جیره سبب بهبود عملکرد رشد در بره‌های پرواری (Barile *et al.*, 2009; Lupu *et al.*, 2019) و بهبود افزایش وزن روزانه در گوساله‌ها می‌شود (Lammers *et al.*, 1998). محققین گزارش کردند که مصرف پودر آب پنیر در دام‌های پرواری به دلیل افزایش جمعیت باکتری‌ها و پروتوزوآهای مایع شکمبه، به بهبود تخمیر شکمبه کمک می‌کند (Lee *et al.*, 2019). پودر آب پنیر دارای خاصیت پری‌بیوتیکی نیز می‌باشد (Mirshahi, 2012)؛ به طوری که دارای مقدار قابل توجهی (حدود ۶۵ درصد) لاکتوز است که تا حدود زیادی جذب نمی‌شود، بلکه تخمیر می‌گردد و به اسید لاکتیک و اسیدهای چرب فرار، تبدیل می‌شود که ممکن است استقرار لاکتوباسیل‌ها را در روده باریک تحریک کند. بالا رفتن غلظت اسیدهای چرب فرار، باعث کاهش پی‌اچ دستگاه گوارش شده که این امر سبب کاهش رشد باکتری‌های بیماری‌زا می‌شود (Iji *et al.*, 2001). نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که مصرف پودر آب پنیر در جیره سبب بهبود برخی فراسنجه‌های شکمبه‌ای مانند تثبیت نوسانات پی‌اچ مایع شکمبه (Zamani *et al.*, 2019)، افزایش جمعیت میکروب‌های مایع شکمبه، بهبود تخمیر شکمبه‌ای (Iji *et al.*, 2001)، افزایش تعداد و فعالیت جمعیت پروتوزوآی شکمبه‌ای (Pierce *et al.*, 2006) و نیز توسعه پرزهای شکمبه (Miranda *et al.*, 2019) در دام‌های نشخوارکننده می‌شود. همچنین نتایج یک مطالعه نشان داد که ساخت پروتئین میکروبی شکمبه‌ای در نشخوارکنندگان به دلیل حضور لاکتوز در پودر آب پنیر بهبود می‌یابد (Juengst, 1979). همچنین عنوان شده است که پودر آب پنیر به

پودر آب پنیر بود که به ۲۴ رأس بره نر با میانگین وزن 24 ± 2 کیلوگرم و میانگین سن 135 ± 21 روز به مدت ۹۰ روز تغذیه شدند. جیره‌ها از نظر انرژی قابل متابولیسم و پروتئین قابل متابولیسم مشابه بودند. دام‌ها پس از انتقال به جایگاه انفرادی و طی مدت ۱۵ روز دوره عادت‌پذیری به جایگاه و جیره مصرفی، به مدت ۹۰ روز تحت تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. جیره دام‌ها با نرم‌افزار سیستم تغذیه ن‌شخوارکنندگان کوچک (SRNS) تنظیم شد (Tedeschi et al., 2010). خوراک به صورت کاملاً مخلوط و دو بار در روز و به‌فاصله ۱۲ ساعت (هشت صبح و ۲۰ عصر) در اختیار دام‌ها قرار گرفت. هر روز صبح، باقیمانده خوراک روز قبل از آخور جمع‌آوری و توزین شد. به این ترتیب، مقدار خوراک مصرفی روزانه و درصد خوراک باقی‌مانده حیوان تعیین شد. به‌منظور بررسی عملکرد پرواری دام‌ها، وزن‌کشی دام‌ها به صورت ماهانه تا پایان مدت آزمایش با اعمال ۱۲ ساعت گرسنگی قبل از توزین انجام و مقدار مصرف خوراک به صورت روزانه به‌منظور محاسبه ضریب تبدیل خوراک اندازه‌گیری شد.

پودر آب پنیر مورد استفاده محصول شرکت زرین البرز ایرانیان بود که به‌صورت پودر در کیسه‌های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی و در بازار مصرف عرضه شده بود. این پودر دارای اسیدیته‌ای بین ۵/۸ تا ۶/۸ پروتئین خام ۱۲/۵ درصد، لاکتوز ۶۴ درصد، چربی ۱/۵ درصد و رطوبتی معادل ۴/۵ درصد بود. همچنین پودر آب پنیر مورد استفاده طبق آنالیز شرکت تولیدکننده فاقد باکتری‌های /شیریش‌یا کولای، سالمونلا، استافیلوکوکوس و کلی‌فرم بود. این پودر در سطوح مختلف پس از مخلوط شدن با جیره مصرفی، در اختیار دام‌های آزمایشی قرار گرفت. مایع شکمبه بره‌های آزمایشی در روز ۹۰ آزمایش دو ساعت بعد از مصرف خوراک با استفاده از لوله مری، از شکمبه بره‌های آزمایشی مایع شکمبه گرفته شد. با استفاده از دستگاه پی‌اچ‌متر دیجیتال قابل حمل (مدل ۸۲۷ متروم^۱) اندازه‌گیری پی‌اچ مایع شکمبه بلافاصله بعد از گرفتن نمونه مایع شکمبه بره‌های آزمایشی انجام شد. برای جلوگیری از تأثیر بزاق بر پی‌اچ مایع شکمبه، نخستین نمونه گرفته شده دور ریخته شد. سپس نمونه مایع شکمبه با پارچه متقال چهار لایه صاف شده و نمونه‌ای از آن برای تعیین نیتروژن آمونیاکی و ترکیب اسیدهای چرب فرار به‌طور جداگانه برداشته (۱۰ میلی‌لیتر) سپس به آن معادل همان حجم اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال اضافه و برای تجزیه آزمایشگاهی در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بره‌های آزمایشی با استفاده از روش تیتراسیون (Conway, 1950) انجام شد.

ارسو کوف و مک‌دونالد (Ørskov and McDonald, 1979) $P=a+bc/c+k$ انجام شد که در آن، P: مقدار تجزیه‌پذیری مؤثر ماده مغذی در زمان t، a: بخش محلول با سرعت تجزیه‌پذیری بالا (%)، b: بخش نامحلول و دارای پتانسیل تجزیه‌پذیری، c: ثابت نرخ تجزیه پذیری بخش b در واحد زمان (درصد/ساعت) و k: نرخ جریان خروجی از شکمبه بود. فراسنجه‌های فوق با نرخ عبور فرضی ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ محاسبه شدند (Ørskov and McDonald, 1979).

برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های تولید گاز، با استفاده از روش منک و استینگاس (Menke and Steingass, 1988) ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه آسیاب شده (با اندازه ذرات یک میلی‌متر)، ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی و ۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه در ویال‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری (سه تکرار برای هر تیمار) ریخته شد، همچنین سه ویال شیشه‌ای به عنوان بلانک قرار داده شد. مایع شکمبه از سه رأس گوسفند فیسوله قبل از خوراک‌دهی وعده صبح گرفته و با بزاق مصنوعی با نسبت یک به دو مخلوط شد. ویال‌های شیشه‌ای در حمام آب گرم (۳۸/۶ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. میزان گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از کشت ثبت شد و فراسنجه‌ها با استفاده از معادله ۱ مورد بررسی قرار گرفتند، مقدار ME و OMD تیمارهای مختلف با استفاده از معادله ۲ و ۳ منک و استینگاس (Menke and Steingass, 1988) محاسبه شد.

معادله (۱)

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

که در این معادله، b: تولید گاز از بخش نامحلول، ولی قابل تخمیر (میلی‌لیتر/۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، c: ثابت نرخ تولید گاز برای بخش b، t: زمان انکوباسیون و Y: گاز تولیدی در زمان t می‌باشد.

معادله (۲)

$$ME(MJ/kgDM) = 2.2 + 0.136GP + 0.0057CP + 0.0002859EE^2$$

معادله (۳)

$$OMD(g/kgDM) = 14.88 + 0.8893GP + 0.0448CP + 0.0651CA$$

که در این معادله‌ها، GP: گاز تولید شده زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون، CP: میزان پروتئین خام (گرم/کیلوگرم ماده خشک) و CA: میزان خاکستر خام (گرم/کیلوگرم ماده خشک) است.

آزمایش دوم: در این آزمایش، تأثیر افزودن سطوح مختلف پودر آب پنیر بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های تخمیری، ریخت‌شناسی بافت شکمبه، تجزیه‌پذیری و بیوسنتز پروتئین میکروبی در بره‌های نر پرواری آمیخته‌های زل و افشاری مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور تعداد ۲۴ رأس بره نر با وزن تقریباً یکسان استفاده شد. تیمارها شامل چهار جیره غذایی حاوی سطوح صفر (شاهد)، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ درصد

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده (درصدی از ماده خشک)

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

اقلام Ingredients	تیمارهای آزمایشی Experimental diets			
	شاهد Control	۱/۵ درصد پودر آب پنیر 1.5% whey powder	۳ درصد پودر آب پنیر 3% whey powder	۴/۵ درصد پودر آب پنیر 4.5% whey powder
یونجه خشک Alfalfa hay	25	25	25	25
کاه گندم Wheat straw	5	5	5	5
دانه ذرت Corn grain	22.3	22.3	22.3	22.3
دانه جو Barley grain	26	26	26	26
سیوس گندم Wheat bran	10.4	8.9	7.4	5.9
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین خام) Soybean meal (44% CP)	10	10	10	10
پودر آب پنیر Whey powder	0	1.5	3	4.5
مکمل معدنی+ویتامینی ^۱ Mineral + vitamin premix	0.5	0.5	0.5	0.5
پودر صدف Oyster powder	0.5	0.5	0.5	0.5
نمک Salt	0.3	0.3	0.3	0.3
ترکیب شیمیایی Chemical composition				
انرژی قابل سوخت و ساز (مگاکالری/کیلوگرم ماده خشک) ME (Mcal/kg DM)	2.78	2.89	2.92	2.96
پروتئین خام (درصدی از ماده خشک) Crude protein (% of DM)	14.25	14.28	14.31	14.40
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصدی از ماده خشک) NDF (% of DM)	34.45	33.28	34.19	33.30
کلسیم (درصدی از ماده خشک) Calcium (% of DM)	0.69	0.68	0.66	0.67
فسفر (درصدی از ماده خشک) Phosphorus (% of DM)	0.32	0.31	0.33	0.32

^۱ هر کیلوگرم از مکمل ویتامینی شامل ۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃ و یک گرم ویتامین E. هر کیلوگرم از مکمل معدنی شامل ۱۸۰ گرم کلسیم، ۹۰ گرم فسفر، ۲۰ گرم منیزیم، ۶۰ گرم سدیم، دو گرم منگنز، سه گرم آهن، ۰/۳ گرم مس، سه گرم روی، یک گرم کبالت، یک گرم سلنیوم، یک گرم ید، سه گرم آنتی‌اکسیدانت.

^۱ Mineral vitamin mix composition: 500,000 IU/kg of vitamin A; 100,000 IU/kg of vitamin D₃; 1 g/kg of vitamin E; Mineral mineral mix composition: Mg; 180 g/kg of Ca; 90 g/kg of P; 20 g/kg of Mn; 60 g/kg of Na; 2 g/kg of Mn; 3 g/kg of Zn; 1 g/kg of Co; 1 g/kg of Se; 1 g/kg of I; 3 g/kg of antioxidants.

اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه شامل استیک، پروپیونیک، بوتیریک، والریک و ایزوالریک به‌روش اوتنس‌تین و بارتلی (Ottenstein and Bartley, 1971) با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC – PU4410 – PHILIPS) با ستون شیشه‌ای (۱/۶۵ متر × ۴/۶ میلی متر) انجام شد. میزان تزریق نمونه‌ها به ستون یک میکرولیتر بود. دمای محل تزریق و محل تشخیص ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد بود. دمای

در این روش، ۵۰ میلی‌لیتر از مایع شکمبه در ظرف درب‌دار ریخته و ۰/۸ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال به آن اضافه شد. نمونه‌ها در فریزر ۱۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شدند. پس از یخ‌گش -ایی نمونه‌ها با تقطیر آمونیاک ش -کمبه و جمع‌آوری آن با استفاده از تیتراول اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال، نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه تعیین شد. اندازه‌گیری ترکیب

رنگ متیلن بلو، بریلینت گرین و لوگول در تاریکی و در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. برای شمارش یک میلی لیتر از نمونه رنگ آمیزی شده و با نه میلی لیتر گلیسرول ۳۰ در صد رقیق و سپس شمارش مژکداران با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰ انجام شد. هر نمونه چهار بار با لام هماسیتومتر (نئوبار) مورد شمارش قرار گرفت. نتایج شمارش به صورت غلظت (تعداد پروتوزوا در هر میلی لیتر از مایع شکمبه) با استفاده از معادله ۴ گزارش شد (Dehority, 2003).

$$N = 10/4 \times a \times d \quad \text{معادله (۴)}$$

که در این معادله، N: تعداد مژده‌داران در یک میلی لیتر از مایع شکمبه، a: تعداد مژده‌داران در چهار بخش در لام هماسیتومتر (نئوبار) و d: نرخ رقت نمونه است.

به منظور تعیین مشتقات پورینی ادرار، کل ادرار تولیدی ۲۴ ساعته هر حیوان در پنج روز نمونه‌گیری در ظرف‌های مخصوص زیر قفس های متابولیسمی، جمع‌آوری شد. نمونه‌های ادرار جمع‌آوری شده هر حیوان در پایان هر دوره با هم مخلوط شد و ۲۰ میلی لیتر از آن، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تعیین مجموع گزانتین و هیپوگزانتین از روش آنزیمی (کیت‌های X7373 و H9377 شرکت سیگما) استفاده شد. بر اساس این روش مجموع گزانتین و هیپوگزانتین نمونه‌ها از طریق واکنش تحت تأثیر آنزیم گزانتین اکسیداز در انکوباسیون به مدت ۶۰ دقیقه و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به اسید اوریک به جذب نوری در طول موج ۲۹۳ نانومتر دستگاه اتو آنالیزر (مدل RA1000) تعیین شد که با در نظر گرفتن حجم ادرار، تولید روزانه مجموع گزانتین و هیپوگزانتین شد (Chen et al., 1990). برای محاسبه پروتئین میکروبی طبق مراحل ذیل اقدام شد:

$$Y = 0.84X + (0.15W75e - 0.25X) \quad \text{معادله (۵)}$$

که در این معادله، Y: مشتقات پورینی دفع شده (میلی مول در میلی لیتر ادرار)، X: پورین‌های جذب شده (میلی مول در میلی لیتر ادرار)، W: وزن متابولیکی (کیلوگرم) و e: عدد ثابت نه (۲/۷۱۸) بود. اگر کل دفع ادراری مشتقات پورینی بیشتر از ۰/۶ میلی مول به‌ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی در روز باشد، سهم پورین‌های با منشأ درونی خیلی کم خواهد بود و ممکن است صفر باشد. در این صورت مقدار پورین‌های جذب شده برحسب معادله زیر به‌دست می‌آید (Chen and Gomes, 1992).

$$X = Y \div 0.84 \quad \text{معادله (براک)}$$

۲- بر اساس معادله زیر نیتروژن میکروبی (گرم در میلی لیتر ادرار) اندازه‌گیری شد (Chen and Gomes, 1992).

اولیه ستون برابر با ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد بود که پس از به‌میزان پنج درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا دمای ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافته و به مدت یک دقیقه در این دما باقی ماند. در نهایت، دمای ستون به میزان نه درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا دمای ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و این دما به مدت ۱۰ دقیقه به منظور خارج شدن همه نقطه‌های اوج (پیک‌ها) و اطمینان از تمیز شدن ستون حفظ شد. از نیتروژن به عنوان گاز حامل استفاده شد. جهت بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی بافت دیواره شکمبه بره‌ها، در پایان آزمایش سه بره از هر تیمار به طور تصادفی انتخاب، ذبح و دستگاه گوارش آن‌ها جدا شد. پس از بستن انتهای ابتدای آن، چربی ذخیره‌ای جدا شده، وزن پر و خالی شکمبه، نگاری، هزارلا و شیردان تعیین شدند. سپس با آب سرد به خوبی شسته، شکمبه و نگاری توسط چاقو باز شده و از نه نقطه (سه محل در هر قسمت از مرکز، کیسه‌های پشتی و شکمی) و از هر نقطه سه نمونه به اندازه یک سانتی‌متر مربع نمونه‌گیری و نمونه با محلول ۲۰ در صد فرمالین ثابت شده و به وسیله دستگاه میکروسکوپ بینی کولار با بزرگ‌نمایی ۲۰- صافات طول، عرض پرزها (۱۰- پرز از هر نمونه)، ضخامت دیواره شکمبه و با بزرگ‌نمایی ۱۰- تراکم پرزها در هر سانتی‌متر مربع در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (Greenwood et al., 1997).

پس از آخرین وزن‌کشی دوره پرواربندی و قبل از کشتار، نمونه‌گیری از مایع شکمبه برای اندازه‌گیری جمعیت کل باکتری‌ها (سه ساعت بعد مصرف وعده خوراک صبح) انجام شد، به طوری که بلافاصله نمونه‌ها در فلاسک آب گرم (۳۹ درجه سانتی‌گراد) به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه محیط کشت (شامل محلول نمکی ۱ حاوی فسفات هیدروژن دی پتاسیم و محلول نمکی ۲ حاوی فسفات دی هیدروژن پتاسیم، سولفات آمونیوم، کلرید سدیم و کلرید کلسیم) با پی‌اچ ۷/۵۸ تهیه (Orpin, 1977) و سپس مقداری از مایع شکمبه با محلول رقیق‌سازی مخلوط و رقت‌های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ تهیه و سپس از هر رقت سه تکرار با تلقیح ۰/۵ میلی لیتر از محلول رقیق در محیط کشت تهیه شد و با گازدهی با CO₂ به مدت ۳۰ ثانیه درب لوله‌های کشت محکم بسته شد و در انکوباتور با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از ۱۴ روز بررسی و قرائت پی‌اچ و با تغییر پی‌اچ و مشاهده رنگ کدر و خاکستری در ته هر لوله، رشد باکتری مثبت تلقی شد و سپس با استفاده از جداول MPV (محتمل‌ترین روش) شمارش انجام شد (Dehority, 2003). برای اندازه‌گیری جمعیت پروتوزوآهای مایع شکمبه بره‌های آزمایشی در روز ۹۰ آزمایش، تعداد سه رأس بره از هر تیمار انتخاب شد. ۲۰ میلی لیتر مایع شکمبه با استفاده از لوله پلاستیکی از شکمبه حیوان در یک ساعت قبل از وعده خوراک، یک و سه ساعت بعد از وعده خوراک صبح از شکمبه حیوانات گرفته شد. با استفاده از پارچه متقال چهار لایه صاف و با حجم مساوی از فرمالین ۱۸ درصد مخلوط و پس از رنگ‌آمیزی با

خوراک اهمیت تغذیه‌ای زیادی دارد. زیرا نسبت مهمی از ترکیبات این بخش شامل نشاسته غیرمحلول و مقاوم به حل شدن در آب می‌باشد (Van Soest et al., 1991). همزمان با افزایش نرخ تجزیه پذیری ماده خشک، مقدار نشاسته قابل دسترس برای میکروب‌های افزایش می‌یابد. بنابراین، مواد خوراکی با نرخ تجزیه‌پذیری پایین‌تر، مطلوب‌تر خواهند بود (Ghorbani and Hadrj-Hussaini, 2002). با توجه به نقش پری‌بیوتیکی پودر آب پنیر در افزایش بقای باکتری‌های شکمبه و نیز افزایش جذب آمونیاک، ساخت پروتئین میکروبی بهبود می‌یابد (de Miranda et al., 2021). گزارش شده است که مصرف آب پنیر در جیره گاوهای گوشتی سبب افزایش ظاهری نرخ ناپدیدشدن پروتئین خام در مایع شکمبه شد (Nocek and Kautz, 2006). از دلایل احتمالی نتایج متفاوت در فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری در مطالعات علمی مختلف می‌توان به عواملی نظیر رفتارهای تغذیه‌ای، سلامت دام، ماهیت و روابط بین جمعیت‌های میکروبی مایع شکمبه، ماهیت و ترکیب شیمیایی جیره، مقدار ماده خشک مصرفی، تعداد دفعات خوراک اشاره کرد که می‌تواند تراکم گروه‌های مختلف ریزجانداران شکمبه را تحت تأثیر قرار دهد (Forbes and France, 1993).

فراسنجه‌های آزمون تولید گاز

نتایج مربوط به فراسنجه‌های تولید گاز در جدول ۳ نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری برای مقدار گاز تولید شده از بخش قابل تخمیر در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد ($P < 0.05$). بیشترین و کمترین مقدار گاز تولیدی از بخش قابل تخمیر به ترتیب در شاهد و تیمار حاوی سه درصد آب پنیر مشاهده شد. در سایر فراسنجه‌های تولید گاز تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. گزارش شده است که مقدار گاز تولیدی و پتانسیل تولید گاز بین تیمارهای آزمایشی حاوی آب پنیر معنی‌دار نبود (Mousavi Alaei Baher et al., 2016). علائی باهر و همکاران (Alaei Baher et al., 2019) گزارش دادند که تیمارهای حاوی آب پنیر نسبت به شاهد دارای حجم گاز تولیدی بالاتری در ساعات مختلف انکوباسیون بود.

دفع مشتقات پورینی و ساخت پروتئین میکروبی

نتایج مربوط به دفع مشتقات پورینی و ساخت پروتئین میکروبی در جدول ۴ نشان می‌دهد که برای آلاتوتئین دفعی و پروتئین میکروبی تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای آزمایشی وجود دارد ($P < 0.05$).

معادله (۶) $70X \div (0.83 \times 0.116 \times 1000)$ = نیتروژن میکروبی که در این معادله، X: پورین‌های جذب شده (به‌دست آمده از فرمول اول)، Y: مقدار ازت موجود در پورین‌ها (میلی گرم در میلی مول)، ۰/۸۳: قابلیت هضم پورین میکروبی و ۰/۱۶: نسبت ازت پورینی به کل ازت موجود در میکروب‌های شکمبه می‌باشد.

۳- مقادیر به‌دست آمده نیتروژن میکروبی را در عدد ۶/۲۵ ضرب نموده و مقدار پروتئین میکروبی (گرم در میلی لیتر ادرار) محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و شش تکرار و با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) (SAS, 2001) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مدل آماری این طرح شامل $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ بود. در این مدل Y_{ij} : متغیر وابسته، μ : میانگین کل، T_i : اثر تیمار و e_{ij} : اثرات اشتباه آزمایشی است. مقایسه میانگین تیمارها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد (Duncan, 1955).

نتایج و بحث

فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام

نتایج فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام در جدول ۲ نشان داد که در بخش سریع تجزیه (محلول)، قابل تجزیه، غیرقابل تجزیه و نرخ ثابت تجزیه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود دارد ($P < 0.05$). با مصرف سه درصد پودر آب پنیر مقادیر بخش‌های محلول، قابل تجزیه و نرخ ثابت تجزیه نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین مقادیر بخش غیرقابل تجزیه نیز در تیمار سه درصد پودر آب پنیر نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری یافت.

در فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری پروتئین خام، تیمار ۱/۵ درصد پودر آب پنیر به‌طور معنی‌داری سبب افزایش بخش محلول و تیمار سه درصد پودر آب پنیر سبب کاهش بخش محلول شد. تیمار ۳ و ۴/۵ درصد پودر آب پنیر به ترتیب سبب افزایش و کاهش بخش غیرقابل تجزیه شد. نرخ ثابت تجزیه در تیمار ۳ و ۴/۵ درصد پودر آب پنیر به ترتیب سبب افزایش و کاهش نرخ ثابت تجزیه شد. در یک مطالعه گزارش شده است که میزان تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای مؤثر سه نوع پودر آب پنیر (با نام‌های تجاری شیدز، نصر دالیا و پگاه) به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار گرفت (Tanha, 2020). بخش قابل تجزیه

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام (درصد)

Table 2- The effect of experimental treatments on the parameters of dry matter and crude protein degradability (%)

صفات Items	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-Value
	شاهد Control	۱/۵ درصد پودر	۳ درصد پودر آب	۴/۵ درصد پودر		
		آب پنیر 1.5% whey powder	پنیر 3% whey powder	آب پنیر 4.5% whey powder		
فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک Dry matter degradability parameters						
بخش محلول Soluble part	30.7 ^a	27.5 ^{ab}	25.1 ^b	29.1 ^a	0.66	0.002
بخش کندتجزیه Slowly degradable	63.2	60.4	60.1	61.1	1.34	0.15
بخش قابل تجزیه Degradable part	93.8 ^a	87.9 ^{ab}	85.2 ^b	90.2 ^{ab}	0.41	0.003
بخش غیرقابل تجزیه Undegradable part	6.11 ^b	12.04 ^{ab}	14.8 ^a	9.77 ^{ab}	0.06	0.002
نرخ ثابت تجزیه Degradation rate	5.19 ^a	4.24 ^{ab}	3.11 ^b	3.23 ^b	0.14	0.001
تجزیه‌پذیری مؤثر ماده مغذی در نرخ عبور (درصد در ساعت) Effective rumen degradability in passage rate constant (%/h)						
۰/۰۲	49.7 ^a	41.5 ^{ab}	36.3 ^b	45.1 ^{ab}	1.07	0.003
۰/۰۴	43.3 ^a	37.1 ^{ab}	34.1 ^b	39.4 ^{ab}	0.74	0.003
۰/۰۶	38.1 ^a	32.6 ^{ab}	32.6 ^{ab}	35.4 ^a	0.98	0.002
فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری پروتئین خام Crude protein degradability parameters						
بخش محلول Soluble part	9.04 ^{ab}	11.2 ^a	8.16 ^b	10.4 ^b	0.78	0.001
بخش کندتجزیه Slowly degradable	85.4	81.1	83.1	84.2	1.59	0.75
بخش قابل تجزیه Degradable part	94.5 ^a	92.3 ^b	91.3 ^b	94.6 ^a	0.52	0.001
بخش غیرقابل تجزیه Undegradable part	5.50 ^b	7.65 ^{ab}	8.70 ^a	5.33 ^b	0.05	0.002
نرخ ثابت تجزیه Degradation rate	3.11 ^{ab}	2.95 ^{ab}	3.70 ^a	2.44 ^b	0.16	0.002
تجزیه پذیری مؤثر ماده مغذی در نرخ عبور (درصد در ساعت) Effective rumen degradability in passage rate constant (%/h)						
۰/۰۲	44.2 ^a	42.5 ^a	39.1 ^b	41.2 ^{ab}	1.12	0.003
۰/۰۴	40.2 ^a	41.1 ^a	36.7 ^b	37.1 ^b	0.69	0.002
۰/۰۶	35.5 ^a	36.4 ^a	32.2 ^b	33.9 ^b	0.82	0.002

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$)

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

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر برخی فراسنجه‌های تولید گاز (میلی‌لیتر در ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)

Table 3- Effect of experimental treatments on some gas production parameters (ml/200 mg DM)

صفات Items	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-Value
	شاهد Control	۱/۵ درصد پودر آب پنیر 1.5% whey powder	۳ درصد پودر آب پنیر 3% whey powder	۴/۵ درصد پودر آب پنیر 4.5% whey powder		
دارای پتانسیل تولید گاز (b) Potential gas production (b)	53.3 ^b	57.6 ^a	59.2 ^a	55.1 ^{ab}	1.37	0.02
ثابت نرخ تولید گاز Constant rate of gas production (c, %/h)	0.08	0.09	0.08	0.08	0.002	0.17
میزان گاز تولیدی در زمان ۹۶ ساعت انکوباسیون The gas production at 96 h of incubation	60.1	61.3	58.2	59.6	1.49	0.36
قابلیت هضم مواد آلی Organic matter digestibility (%)	64.7	65.3	64.3	65.6	0.98	0.10
انرژی قابل سوخت و ساز ME (Mj/kg DM)	9.6	9.7	9.5	9.4	0.13	0.08

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$)Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

دارای لاکتوز است و لاکتوز مت‌شکل از گلوکز و گالاکتوز در شکمبه تخمیر می‌شود، این امر سبب افزایش ساخت پروتئین میکروبی در دام‌های نشخوارکننده می‌شود (Windschitl and Schingoethe, 1984). مطالعات نشان داد که نوع پودر آب پنیر مورد استفاده در جیره (شیرین یا تخمیر شده) و ترکیبات شیمیایی آن سبب بروز تفاوت در نتایج مربوط به نرخ ساخت پروتئین میکروبی در تحقیقات مختلف می‌شود (Lammers et al., 1998).

بیشترین و کمترین مقدار آلانتوئین دفعی به ترتیب در تیمار ۴/۵ درصد آب پنیر و تیمار ۱/۵ درصد آب پنیر و بیشترین و کمترین مقدار پروتئین میکروبی به ترتیب در تیمار سه درصد آب پنیر و تیمار ۱/۵ درصد آب پنیر مشاهده شد. در سایر مشتقات پورینی ادرار تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. یکی از دلایل احتمالی بهبود ساخت پروتئین میکروبی در تیمار دریافت‌کننده پودر آب پنیر در تحقیق حاضر این بود که مصرف آب پنیر استفاده از نیترژن را برای ساخت پروتئین میکروبی افزایش می‌دهد. همچنین پودر آب پنیر چون

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر دفع مشتقات پورینی ادرار و ساخت پروتئین میکروبی

Table 4- The effect of experimental treatments on excretion of urinary purine derivatives and microbial protein production

صفات Items	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-Value
	شاهد Control	۱/۵ درصد پودر آب پنیر 1.5% whey powder	۳ درصد پودر آب پنیر 3% whey powder	۴/۵ درصد پودر آب پنیر 4.5% whey powder		
آلانتوئین دفعی (میلی‌مول در روز) Allantoin excretion (mmol/day)	8.11 ^a	7.23 ^b	9.11 ^a	9.66 ^a	0.21	0.001
اسید اوریک (میلی‌مول در روز) Uric acid (mmol/day)	0.41	0.38	0.40	0.39	0.04	0.65
گزانتین و هیپوگزانتین (گرم در روز) Xanthine and hypoxanthine (g/day)	1.33	1.56	1.23	1.48	0.15	0.30
مشتقات پورینی (میلی‌مول در روز) Purine derivatives (mmol/day)	11.2	9.07	10.66	11.4	1.08	0.40
پروتئین میکروبی (گرم در روز) Microbial protein (g/day)	44.1 ^{ab}	40.2 ^b	47.7 ^a	46.1 ^a	1.29	0.002

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$)Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

عملکرد رشد (ماده خشک مصرفی، وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی)

نتایج مربوط به صفات عملکردی بره‌های پرواری در جدول ۵ نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری در صفات وزن پایان پروار، ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه در بین تیمارهای آزمایشی وجود دارد ($P < 0.05$). بیشترین و کمترین وزن پایان دوره پروار به ترتیب در تیمار حاوی ۴/۵ درصد آب پنیر و شاهد، بیشترین و کمترین ماده خشک مصرفی به ترتیب در تیمار سه درصد آب پنیر و شاهد و همچنین بیشترین و کمترین افزایش وزن روزانه به ترتیب در تیمار ۴/۵ درصد آب پنیر و شاهد مشاهده شد. هم‌سو با این نتایج، برخی مطالعات نشان دادند که مصرف آب پنیر سبب افزایش ماده خشک مصرفی (DePeters et al., 1986; Eseceli et al., 2021) و بهبود روند افزایش وزن (DeFrain et al., 2004; Lammers et al., 1998) در دام‌های نشخوارکننده شد. افزودن پودر آب پنیر احتمالاً از طریق تغییر در سیستم‌های آنزیمی، کاهش اختلالات گوارشی و تحریک ریزجانداران دستگاه گوارش و بهتر نمودن جذب مواد مغذی از دستگاه گوارش باعث بهبود و افزایش وزن دام‌های تغذیه شده با آب پنیر می‌شود (Chung and Day, 2004) که می‌تواند از دلایل احتمالی بهبود عملکرد رشد در بره‌های مصرف‌کننده پودر آب پنیر در تحقیق حاضر باشد.

نتایج چندین مطالعه نشان داد که مصرف آب پنیر در جیره اثر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی بره‌های پرواری ندارد (Barile et al., 2013; Poliquit and Sanchez, 2013) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. پودر آب پنیر به دلیل وجود بقایای مواد مغذی شیر مانند لاکتوز، پروتئین‌ها، لیپیدها، ویتامین‌ها و برخی مواد معدنی به عنوان یک منبع بالقوه مواد مغذی برای رشد حیوان و نیز نقش پروبیوتیکی آب پنیر (Mirshahi, 2012; Miranda et al., 2019)، مصرف آن در جیره دام‌های پرواری می‌تواند به عنوان یکی از عوامل بهبود عملکرد رشد معرفی شود. یکی دیگر از دلایل احتمالی بهبود وزن نهایی و ماده خشک مصرفی بره‌های پرواری در اثر مصرف پودر آب پنیر در تحقیق حاضر می‌تواند به این دلیل باشد که پودر آب پنیر دارای محتوای بالای پروتئین و انرژی (لاکتوز) (Poliquit and Sanchez, 2013) و نیز دارای خاصیت بهبوددهنده طعم خوراک (Sedaghat et al., 2019) است.

آب پنیر به عنوان یکی از منابع پروتئینی تجزیه پذیر شکمبه‌ای بوده، که در تغذیه نشخوارکنندگان در حال رشد مورد استفاده قرار می‌گیرد (DePeters et al., 1986). نشان داده شده است که با مصرف آب پنیر توسط نشخوارکنندگان به دلیل افزایش جمعیت پروتوزوای مایع شکمبه (Lee et al., 2019)؛ و به دنبال آن بهبود تجزیه الیاف خام، ساخت میکروبی پروتئین افزایش می‌یابد (Maiga et al., 1996). گزارش شده است که ساخت پروتئین میکروبی شکمبه‌ای به دلیل حضور لاکتوز در پودر آب پنیر بهبود می‌یابد (Juengst, 1979). اندازه‌گیری پروتئین میکروبی در شکمبه می‌تواند وضعیت متابولیسم نیتروژن در شکمبه را نشان دهد. احتمالاً فراهم بودن انرژی قابل تخمیر برای ریزجانداران شکمبه به دلیل لاکتوز موجود در آب پنیر، منجر به افزایش نرخ تولید پروتئین میکروبی شده است (Russell et al., 1992). کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی با تغذیه پودر آب پنیر به بره‌های آزمایشی در تحقیق حاضر، می‌تواند به دلیل استفاده مناسب از نیتروژن آزاد شده در شکمبه و همزمانی آزاد شدن نیتروژن آمونیاکی و انرژی جیره جهت ساخت پروتئین میکروبی باشد و به همین دلیل دفع نیتروژن از شکمبه نیز کمتر بوده است (Salary et al., 2013). همچنین دو شرط اساسی برای استفاده بهینه از نیتروژن آمونیاکی در ساخت پروتئین میکروبی شامل غلظت مطلوب نیتروژن آمونیاکی تولید شده در شکمبه و در دسترس بودن منبع انرژی برای ریزجانداران عنوان شده است (Russell et al., 1992) که در تحقیق حاضر، افزایش ساخت پروتئین میکروبی در تیمارهای دریافت‌کننده سه درصد پودر آب پنیر احتمالاً مربوط به استفاده بهینه از نیتروژن آمونیاکی تولید شده در شکمبه است (Salary et al., 2013).

پروتئین میکروبی در تأمین نیاز نیتروژن نشخوارکنندگان نقش مهمی دارد و اکثر اسیدهای آمینه مورد نیاز برای رشد، نگهداری و تولید حیوان میزبان را فراهم می‌کند (Vaithyanathan et al., 2007). مشتقات پورینی ادرار برای تخمین پروتئین میکروبی در شکمبه حیوانات نشخوارکننده استفاده می‌شود، زیرا یک همبستگی میان جریان دئودنومی اسیدهای نوکلئیک و مشتقات پورینی گزارش شده است (Chen et al., 1990). در تحقیق حاضر اثرات مثبت پودر آب پنیر در تولید پروتئین میکروبی موجب کاهش دفع آلانتوئین شد. احتمالاً کاهش تولید پروتئین میکروبی در شکمبه می‌تواند در نهایت، سبب دفع کمتر آلانتوئین شود (Makkar, 2003).

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد بره‌های پرواری

Table 5- The effect of experimental treatments on the growth performance of fattening lambs

صفات Items	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-value
	شاهد Control	۱/۵ درصد پودر آب پنیر 1.5% whey powder	۳ درصد پودر آب پنیر 3% whey powder	۴/۵ درصد پودر آب پنیر 4.5% whey powder		
وزن اولیه پروار (کیلوگرم) Initial weight of fattening (kg)	25.60	26.13	25.38	24.66	2.01	0.648
وزن نهایی پروار (کیلوگرم) Final weight of fattening (kg)	43.13 ^b	47.88 ^a	46.33 ^{ab}	49.50 ^a	1.03	0.027
ماده خشک مصرفی (گرم) Dry matter intake (g)	1454 ^b	1623 ^a	1797 ^a	1713 ^a	40.22	0.001
افزایش وزن روزانه (گرم) Daily weight gain (g)	227.1 ^b	245.4 ^{ab}	262.8 ^a	275.3 ^a	4.61	0.002
ضریب تبدیل غذایی FCR	6.33	6.87	6.75	6.42	0.26	0.195

میانگین‌های هر ردیف با حروف متفاوت در سطح آماری ۰/۰۵ دارای اختلاف آماری معنی‌داری هستند.

The mean of each row with different letters have significant difference ($P < 0.05$).

شاخص‌های شکمبه‌ای به‌خصوص کاهش نوسانات پی‌اچ مایع شکمبه و افزایش نسبت اسیدهای چرب فرار به‌ویژه اسیداستیک در اثر مصرف ۴/۵ درصد پودر آب پنیر توسط بره‌های پرواری می‌باشد. تخمیر لاکتوز آب پنیر (نقش پری‌بیوتیکی) در دستگاه گوارش حیوان میزبان و تبدیل آن به اسید لاکتیک و اسیدهای چرب فرار استقرار لاکتوباسیل‌ها را در روده تحریک می‌کند و در ادامه، بالا رفتن غلظت اسیدهای چرب، باعث کاهش پی‌اچ دستگاه گوارش و سبب کاهش رشد باکتری‌های بیماری‌زا می‌شود (Gülşen et al., 2002; Patel, 2015). نتیجه یک مطالعه نشان داد که پی‌اچ مایع شکمبه گاوهای شیری در تیمارهای حاوی آب پنیر نسبت به شاهد بالاتر بود (Zamani et al., 2019).

در یک مطالعه بیان شد که با افزایش سطح پروتئین تک سلولی حاصل از آب پنیر مقدار پی‌اچ و غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بره‌های زل کاهش یافت (Mousavi Anijdan et al., 2016). تیوند (Thivend, 1978) گزارش داد که لاکتوز موجود در آب پنیر به‌سرعت توسط باکتری‌ها و پروتوزوا در شکمبه تجزیه و به اسید لاکتیک تبدیل می‌شود که سبب کاهش پی‌اچ مایع شکمبه شد. همچنین گزارش شده است که مصرف آب پنیر در گاوهای فستوله شده باعث کاهش پی‌اچ شکمبه در ۱/۵ و ۳ ساعت بعد از مصرف خوراک صبح شد (Thivend, 1978). نتیجه یک مطالعه روی تلیسه‌ها نشان داد که مصرف پودر آب پنیر به‌دلیل کاهش نرخ تجزیه‌پذیری پروتئین خام در شکمبه، سبب کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه نسبت به شاهد شد (Shapiro and Volcani, 1977).

گزارش شده است که هضم مؤثر و بیشتر پروتئین پودر آب پنیر در روده باریک (قابلیت هضم حدود ۶۵ درصد در نشخوارکنندگان) با توجه به قابلیت هضم بالای محتوی پروتئینی آب پنیر به‌دلیل مقادیر بالای اسیدهای آمینه لیزین و ترئونین (Mehri et al., 2004) نسبت به سایر محتویات پروتئینی جیره (Gülşen et al., 2002) احتمالاً می‌توانند سبب جذب بالاتر مواد مغذی و در پی آن بهبود عملکرد رشد در حیوان میزبان شود (El-Tanboly and El-Hofi Khoeshid, 2017). نتیجه یک تحقیق روی بره‌های پرواری بیان کرد که وزن پایانی بدن با مصرف پودر آب پنیر نسبت به شاهد بهبود یافت (Nocek and Kautz, 2006).

فراسنجه‌های شکمبه‌ای (پی‌اچ، نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه)

نتایج مربوط به فراسنجه‌های شکمبه‌ای بره‌های پرواری در جدول ۶ نشان داد که تفاوت معنی‌داری در پی‌اچ مایع شکمبه، نیتروژن آمونیاکی، کل اسیدهای چرب فرار و اسید استیک در بین تیمارهای آزمایشی وجود دارد ($P < 0.05$). به‌شترین و کمترین مقدار پی‌اچ مایع شکمبه به‌ترتیب در تیمارهای ۱/۵ و ۳ درصد پودر آب پنیر، بیشترین و کمترین غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه به‌ترتیب در تیمار ۴/۵ درصد پودر آب پنیر و شاهد، بیشترین غلظت کل اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه به‌ترتیب در تیمار ۴/۵ درصد آب پنیر و شاهد و همچنین بیشترین و کمترین غلظت اسید استیک به‌ترتیب در تیمار حاوی ۴/۵ درصد آب پنیر و شاهد مشاهده شد. نتایج حاضر بیانگر بهبود برخی

جدول ۶- اثر تیمارهای آزمایشی بر pH، نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه بره‌های پرواری در پایان آزمایش
Table 6- Effect of experimental treatments on pH, ammonia nitrogen and ruminal VFA of fattening lambs at the end of the experiment

صفات Items	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-value
	شاهد Control	۱/۵ درصد پودر آب پنیر 1.5% whey powder	۳ درصد پودر آب پنیر 3% whey powder	۴/۵ درصد پودر آب پنیر 4.5% whey powder		
pH مایع شکمبه Rumen fluid pH	6.29 ^{ab}	6.61 ^a	6.18 ^b	6.49 ^a	0.10	0.02
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Ammonia nitrogen (mg/dL)	10.82 ^b	12.44 ^a	11.2 ^{ab}	13.5 ^a	0.34	0.02
کل اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول/لیتر) Total VFA (mmol/L)	88.6 ^b	92.1 ^{ab}	91.0 ^{ab}	97.3 ^a	2.09	0.03
اسید استیک Acetic acid	44.5 ^b	49.8 ^{ab}	50.7 ^{ab}	55.6 ^a	1.61	0.03
اسید پروپیونیک Propionic acid	26.6	24.6	22.34	24.8	1.23	0.19
اسید بوتیریک Butyric acid	14.6	14.9	15.3	14.2	1.38	0.24
اسید والریک Valeric acid	1.54	1.61	1.43	1.24	0.26	0.41
اسید ایزووالریک Isovalric acid	1.34	1.21	1.45	1.51	0.29	0.62
نسبت استات به پروپیونات Acetate /propionate	1.88	2.21	2.41	2.28	0.17	0.49

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$)

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

شکمبه همراه با کاهش سطح نیتروژن اوره‌ای خون، احتمالاً می‌تواند سبب ابقاء بیشتر نیتروژن در بدن حیوانات شود (Scharenberg et al., 2007). نشان داده شد که کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی به دلیل استفاده بهینه از نیتروژن سبب افزایش ساخت پروتئین میکروبی در شکمبه می‌شود (Van Soest et al., 1991).

جمعیت پروتوزوا و کل باکتری‌های مایع شکمبه

نتایج مربوط به جمعیت پروتوزواها و جمعیت کل باکتری‌های مایع شکمبه بره‌های پرواری در جدول ۷ نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری برای جمعیت کل باکتری‌ها در زمان‌های دو و چهار ساعت بعد از خوراک‌دهی و همچنین در جمعیت پروتوزوای مایع شکمبه در زمان چهار ساعت بعد از خوراک‌دهی در بین تیمارهای آزمایشی وجود دارد ($P < 0.05$). بیشترین جمعیت کل باکتری‌های مایع شکمبه در دو و چهار ساعت بعد از خوراک‌دهی به ترتیب در تیمار ۳ و ۴/۵ درصد پودر آب پنیر مشاهده شد. بیشترین جمعیت پروتوزوای مایع شکمبه در چهار ساعت بعد از خوراک‌دهی در تیمار ۴/۵ درصد پودر آب پنیر مشاهده شد. این نتایج حاکی از بهبود جمعیت ریزجانداران مایع

تغذیه گوساله‌های نر پرواری با پودر آب پنیر به دلیل استفاده باکتری‌های شکمبه از لاکتوز به عنوان سوبسترا جهت تولید اسید بوتیریک، سبب افزایش غلظت بوتیرات و اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه شد (Grummer et al., 1983). یکی از دلایل احتمالی کاهش پی‌اچ مایع شکمبه در بره‌های دریافت‌کننده سه درصد آب پنیر در تحقیق حاضر نسبت به شاهد، به دلیل نقش پری‌بیوتیکی پودر آب پنیر در کاهش پی‌اچ مایع شکمبه به وسیله افزایش جمعیت پروتوزوا است (Brossard et al., 2006). کاهش پی‌اچ مایع شکمبه می‌تواند ناشی از تخمیر سریع‌تر مواد مغذی و افزایش نسبت مولی اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه باشد (Steele et al., 2011). کاهش میزان تجزیه‌پذیری پروتئین خام در شکمبه، در اثر مصرف پودر آب پنیر توسط بره‌های پرواری در تحقیق حاضر را می‌توان یکی از دلایل اصلی کاهش معنی‌دار سطح نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه عنوان کرد (Stienezen et al., 1996). لاکتوز موجود در آب پنیر یکی از منابع مهم انرژی برای میکروب‌های شکمبه محسوب شده که امکان استفاده از نیتروژن غیرپروتئینی در شکمبه را ممکن می‌سازد (DeFraen et al., 2004). کاهش میزان نیتروژن آمونیاکی مایع

(Hosseinpour, 2008) گزارش دادند که جمعیت پروتوزوای مایع شکمبه در گوسفند با مصرف آب پنیر افزایش داشت. یکی از دلایل احتمالی افزایش جمعیت باکتری‌ها و پروتوزوای مایع شکمبه بره‌های پرواری در تحقیق حاضر، استفاده از لاکتوز پودر آب پنیر به عنوان منبع انرژی توسط باکتری‌های مایع شکمبه می‌باشد (Miron *et al.*, 1990). علاوه بر این، آب پنیر می‌تواند نوع، فعالیت یا محیط میکروب‌ها را تغییر دهد (Galloway *et al.*, 1992). همچنین پودر آب پنیر به عنوان نقش پری‌بیوتیکی آن می‌تواند باعث تثبیت پی‌اچ مایع شکمبه شده و از این طریق می‌تواند باعث افزایش تعداد و فعالیت پروتوزوای مایع شکمبه شود (DeFrain *et al.*, 2004; Pierce *et al.*, 2006).

شکمبه با مصرف پودر آب پنیر در بره‌های پرواری بود. تخمیر لاکتوز موجود در پودر آب پنیر منجر به تولید کربوهیدرات‌های با قابلیت تخمیر بالا برای ریزجانداران شکمبه‌ای می‌شود (Miron *et al.*, 1990). همچنین پودر آب پنیر به دلیل دارا بودن پروتئین‌ها محلول با کیفیت عالی، منبع نیتروژن مناسبی برای میکروب‌های مایع شکمبه بره‌های پرواری بودند و به دنبال آن افزایش جمعیت باکتری‌های مایع شکمبه در تحقیق حاضر قابل پیش‌بینی بود (Bayat, 2002). لی و همکاران (Lee *et al.*, 2019) عنوان کردند که مصرف پودر آب پنیر در گاوهای نر سبب افزایش معنی‌دار جمعیت میکروب‌های شکمبه و بهبود تخمیر شکمبه‌ای می‌شود. جعفری خورشیدی و حسین پور (Jafari Khorshid and

جدول ۷- اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت کل باکتری‌ها و پروتوزوای مایع شکمبه بره‌های پرواری در پایان آزمایش

Table 7- The effect of experimental treatments on the total population of rumen bacteria and protozoa in fattening lambs at the end of the experiment

of the experiment						
صفات Items	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				خطای	احتمال معنی‌داری P-value
	شاهد	۱/۵ درصد پودر آب	۳ درصد پودر آب	۴/۵ درصد پودر	استاندارد	
	Control	پنیر 1.5% whey powder	پنیر 3% whey powder	آب پنیر 4.5% whey powder	میانگین SEM	
جمعیت کل باکتری‌ها						
Total bacterial population						
۱۰ ^۹ × تعداد در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه Number per ml of ruminal fluid × 10 ⁹						
ساعت صفر (قبل از خوراک‌دهی) Zero hour (before feeding)	2.27	2.30	2.28	2.32	0.04	0.27
دو ساعت بعد از خوراک‌دهی 2 hours after feeding	2.08 ^b	2.18 ^{ab}	2.27 ^a	2.22 ^a	0.03	0.027
چهار ساعت بعد از خوراک‌دهی 4 hours after feeding	1.94 ^b	2.09 ^{ab}	2.05 ^{ab}	2.18 ^a	0.04	0.04
جمعیت پروتوزوایها						
Protozoan populations						
۱۰ ^۶ × تعداد در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه Number per ml of ruminal fluid × 10 ⁶						
ساعت صفر (قبل از خوراک‌دهی) Zero hour (before feeding)	4.36	4.51	4.64	4.49	0.06	0.15
دو ساعت بعد از خوراک‌دهی 2 h after feeding	4.13	4.29	4.46	4.59	0.07	0.46
چهار ساعت بعد از خوراک‌دهی 4 hours after feeding	3.23 ^b	3.47 ^{ab}	3.54 ^{ab}	3.87 ^a	0.07	0.03

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$)

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

مصرف سه درصد پودر آب پنیر به‌طور معنی‌داری سبب افزایش ضخامت و تراکم پرزهای شکمبه شد. همچنین ارتفاع و عرض پرزهای شکمبه با مصرف ۴/۵ درصد پودر آب پنیر به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی بالاتر بود.

خصوصیات ریخت‌شناسی بافت دیواره شکمبه

نتایج خصوصیات پرزها و ریخت‌شناسی شکمبه بره‌های پرواری در جدول ۸ نشان داد که تفاوت معنی‌داری در ضخامت، ارتفاع، عرض و تراکم پرزهای شکمبه بین تیمارهای آزمایشی وجود دارد ($P < 0.05$).

جدول ۸- اثر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات توسعه پرزهای شکمبه بره‌های پرواری در پایان آزمایش

Table 8- The effect of experimental treatments on the developmental characteristics of rumen villi of fattening lambs at the end of the experiment

صفات Items	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-value
	شاهد Control	۱/۵ درصد پودر آب پنیر 1.5% whey powder	۳ درصد پودر آب پنیر 3% whey powder	۴/۵ درصد پودر آب پنیر 4.5% whey powder		
وزن شکمبه-نگاری (کیلوگرم) Weight of rumen- reticulum (kg)	1.24	1.36	1.28	1.40	0.11	0.75
حجم شکمبه-نگاری (لیتر) Volume of rumen- reticulum (liters)	6.21	6.78	6.92	7.10	0.47	0.42
ضخامت دیواره شکمبه (میلی‌لیتر) Thickness of rumen wall (mm)	1.35 ^b	1.46 ^{ab}	1.56 ^a	1.41 ^{ab}	0.03	0.02
ارتفاع پرزهای شکمبه (میلی‌لیتر) Height of rumen villi (mm)	2.58 ^b	2.74 ^{ab}	2.66 ^{ab}	2.79 ^a	0.03	0.02
عرض پرزهای شکمبه (میلی‌لیتر) of rumen villi (mm) Width	1.29 ^b	1.35 ^b	1.45 ^a	1.52 ^a	0.03	0.03
تراکم پرزها (تعداد در سانتی‌متر مربع) Density of villi (number/square centimeter)	71.5 ^b	84.3 ^a	91.6 ^a	80.2 ^{ab}	3.02	0.03

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$)Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

مصرف پودر آب پنیر در تحقیق حاضر، روند توسعه پرزهای شکمبه قابل پیش‌بینی بود.

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع، نتایج نشان داد که وزن پایان دوره پروار و ماده خشک مصرفی به‌ترتیب با مصرف سطوح ۴/۵ و ۳ درصد پودر آب پنیر بهبود یافته است. بهبود در برخی فراسنجه‌های شکمبه‌ای شامل کاهش نوسانات پی‌اچ و نیتروژن آمونیاکی، افزایش کل اسیدهای چرب فرار و اسید استیک مایع شکمبه، افزایش جمعیت پروتوزوآ و کل باکتری‌های مایع شکمبه و نیز پرزهای شکمبه با مصرف سطح ۴/۵ درصد پودر آب پنیر مشاهده شد. همچنین بهبود در فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام و نیز افزایش ساخت پروتئین میکروبی در تیمار ۴/۵ و ۳ درصد پودر آب پنیر حاصل شد. با توجه به نتایج حاصل، مصرف سطوح بالاتر پودر آب پنیر حداکثر ۴/۵ درصد در جیره مصرفی بره‌های پرواری به بهبود پارامترهای شکمبه‌ای و تجزیه‌پذیری کمک خواهد نمود.

نتایج دو مطالعه نشان داد که مصرف پودر آب پنیر در تغذیه دام‌های نشخوارکننده با افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه، سبب توسعه بافت‌های شکمبه شد (Brossard et al., 2006; Iji et al., 2001). میراندا و همکاران (Miranda et al., 2019) گزارش دادند که توسعه پرزهای شکمبه در گوساله‌های دریافت‌کننده آب پنیر نسبت به شاهد بالاتر بود. گزارش شده است که ارتفاع پرزهای شکمبه در گوساله‌های هلشتاین دریافت‌کننده پودر آب پنیر نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (de Miranda et al., 2021). با مصرف جیره حاوی پودر آب پنیر، به‌دلیل استفاده میکروب‌های شکمبه از لاکتوز به‌عنوان منبع انرژی و در نتیجه، افزایش نرخ تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه، توسعه پرزهای شکمبه اتفاق می‌افتد (de Miranda et al., 2021). نتیجه دو مطالعه نشان داد که مصرف پودر آب پنیر در جیره سبب افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه در گوسفند (Anderson, 1975) و گوساله‌های پرواری (Bragg et al., 1986) شد. با توجه به اینکه رشد و تکامل طبیعی پرزهای شکمبه به جذب اسیدهای چرب فرار وابسته است (Krause and Oetzel, 2006)؛ لذا با افزایش غلظت آن در اثر

References

- Alaei Baher, S., Mohammadzadeh, H., Taghizadeh, A., & Hosseinkhani, A. (2019). The effect of bacterial and prebiotic additives on chemical composition, gas production and aerobic stability of corn silage. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 2, 193-179. (In Persian). <https://doi.org/10.22067/IJASR.V10I2.63019>.
- Anderson, M. J. (1975). Metabolism of liquid whey fed to sheep. *Journal of Dairy Science*, 12, 1856-1859. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(75\)84798-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(75)84798-9).
- Arowolo, M. A., & He, J. (2018). Use of probiotics and botanical extracts to improve ruminant production in the tropics: A review. *Animal Nutrition*, 3, 241-249. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.04.010>.
- Barile, D., Tao, N., Lebrilla, C. B., Coisson, J. D., Arlorio, M., & German, J. B. (2009). Permeate from cheese whey ultrafiltration is a source of milk oligosaccharides. *International Dairy Journal*, 19(9), 524-530. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.03.008>.
- Bragg, D. S. A., Murphy, M. R., & Davis, C. L. (1986). Effect of source of carbohydrate and frequency of feeding on rumen parameters in dairy steers. *Journal of Dairy Science*, 69(2), 392-402. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80417-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80417-9).
- Brossard, L., Chaucheyras-Durand, F., Michalet-Doreau, B., & Martin, C. (2006). Dose effect of live yeasts on rumen microbial communities and fermentations during butyric latent acidosis in sheep: new type of interaction. *Animal Science*, 82(6), 829-836. <https://doi.org/10.1017/ASC200693>.
- Bayat, A. (2002). The use of whey instead of water and its effect on the performance of Holstein fattening calves. Master Thesis, Department of Animal Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (In Persian).
- Chen, X. B., & Gomes, M. J. (1992). Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of the technical details. International Feed Resources Unit Rowett Research Institute, Bucksburn Aberdeen AB2 9SB, UK Occasional Publication.
- Chen, X. B., Hovell, F. D., Ørskov, E. R., & Brown, D. S. (1990). Excretion of purine derivatives by ruminants: effect of exogenous nucleic acid supply on purine derivative excretion by sheep. *British journal of Nutrition*, 63(1), 131-142. <https://doi.org/10.1079/bjn19900098>.
- Conway, E. J. (1950). Micro-diffusion analysis and volumetric error, Crosby. Lockwood and Son Ltd, London.
- Cotanch, K. W., Darrah, J. W., Webster, T. M., & Hoover, W. H. (2006). The effect of feeding lactose in the form of whey permeates on the productivity of lactating dairy cattle. WH Miner Agric. Res. Inst. Chazy, NY. www.whminer.com/research/whm-06-1.pdf. Accessed Jan, 7, 2013.
- Chung, C. H., & Day, D. F. (2004). Efficacy of *Leuconostoc mesenteroides* (ATCC 13146) isomaltooligosaccharides as a poultry prebiotic. *Poultry Science*, 83(8), 1302-1306. <https://doi.org/10.1093/ps/83.8.1302>.
- Dehority, B. A. (2003). Rumen Microbiology. London, UK. Nottingham University.
- DeFrain, J. M., Hippen, A. R., Kalscheur, K. F., & Schingoethe, D. J. (2004). Feeding lactose increases ruminal butyrate and plasma β -hydroxybutyrate in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87(8), 2486-2494. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73373-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73373-1).
- DePeters, E. J., Fisher, L. J., & Stone, J. L. (1986). Effect of adding dried whey to starter diet of early and late weaned calves. *Journal of Dairy Science*, 69(1), 181-186. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80384-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80384-8).
- De Miranda, M. V. F., Teófilo, T. D. S., de Assis, A. P. P., Leite, H. M. D. S., de Moura, A. K., Melo, V. L. D. L., ... & Lima, P. D. O. (2021). Morphological and Volumetric Characteristics of Holstein-Gir Crossbred Calves' Stomachs Fed Diets Comprising Cheese Whey and Milk Powder. *Journal of Sustainable Development*, 14(2). <https://doi.org/10.5539/jsd.v14n2p179>.
- Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, 11(1), 1-42. <https://doi.org/10.2307/3001478>.
- El-Tanboly, E. S., El-Hofi, M. K., & Khorshid, A. (2017). Recovery of cheese whey, a by-product from the dairy industry for use as an animal feed. *Journal of Nutritional Health and Food Engineering*, 6(5), 148. <https://doi.org/10.15406/jnhfe.2017.06.00215>.
- Eseceli, H., Esen, S., Keten, M., Altiner, A., & Bilal, T. (2021). Effect of Whey Protein-Enriched Water on Performance and in Vivo Carcass Measurements in Fattening Merino Lambs. *Alinteri Journal of Agriculture Sciences*, 36(1), 61-65. <https://doi.org/10.47059/alinteri/V36I1/AJAS2101>.
- Forbes, J. M., & France, J. (1993). Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. Cab International.
- Galloway Sr, D. L., Goetsch, A. L., Sun, W., Forster Jr, L. A., Murphy, G. E., Grant, E. W., & Johnson, Z. B. (1992). Digestion, feed intake, and live weight gain by cattle consuming bermudagrass hay supplemented with whey. *Journal of Animal Science*, 70(8), 2533-2541. <https://doi.org/10.2527/1992.7082533x>.
- Ghorbani, G. R., & Hadj-Hussaini, A. (2002). In situ degradability of Iranian barley grain cultivars. *Small Ruminant Research*, 44(3), 207-212. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(02\)00082-2](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(02)00082-2).
- Greenwood, R. H., Morrill, J. L., Titgemeyer, E. C., & Kennedy, G. A. (1997). A new method of measuring diet abrasion and its effect on the development of the forestomach. *Journal of Dairy Science*, 80(10), 2534-2541. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76207-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76207-6).
- Gülşen, N., Coşkun, B., Umucalılar, H. D., Inal, F., & Boydak, M. (2002). Effect of lactose and dried whey supplementation on growth performance and histology of the immune system in broilers. *Archives of Animal Nutrition*, 56(2), 131-139. <https://doi.org/10.1080/00039420214186>.
- Grummer, R. R., Staples, C. R., & Davis, C. L. (1983). Effect of defaunation on ruminal volatile fatty acids and pH

- of steers fed a diet high in dried whole whey. *Journal of Dairy Science*, 66(8), 1738-1741. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(83\)82000-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)82000-1).
26. Jafari Khorshidi, K., & Hosseinpour, A. (2008). The effect of using different levels of fermented and concentrated whey in the diet on the rate of microbial protein synthesis and changes in protozoan populations in sheep rumen. *Journal of Clinical Research in Large Livestock*, 8. (In Persian).
27. Iji, P. A., Saki, A., & Tivey, D. R. (2001). Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 1. Intestinal weight and mucosal development. *British Poultry Science*, 42(4), 505-513. <https://doi.org/10.1080/00071660120073151>.
28. Jeacocke, R. E. (1977). Continuous measurements of the pH of beef muscle in intact beef carcasses. *International Journal of Food Science & Technology*, 12(4), 375-386. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb00120.x>.
29. Juengst Jr, F. W. (1979). Use of total whey constituents—Animal feed. *Journal of Dairy Science*, 62(1), 106-111. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(79\)83210-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(79)83210-5).
30. 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>.
31. Lammers, B. P., Heinrichs, A. J., & Aydin, A. (1998). The effect of whey protein concentrate or dried skim milk in milk replacer on calf performance and blood metabolites. *Journal of Dairy Science*, 81(7), 1940-1945. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75767-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75767-4).
32. Lee, S. B., Lee, K. W., Lee, J. S., Kim, K. H., & Lee, H. G. (2019). Impacts of whey protein on starch digestion in rumen and small intestine of steers. *Journal of Animal Science and Technology*, 61(2), 98. <https://doi.org/10.5187/jast.2019.61.2.98>.
33. Lupo, C. R., Grecco, F. C. D. A. R., Eleodoro, J. I., Filho, L. F. C. C., Serafim, C. C., dos Santos, J. S., & Hernandez, C. (2019). Viability of the use of bovine milk whey at lamb finishing: performance, carcass, and meat parameters. *Journal of Applied Animal Research*, 47(1), 449-453. <https://doi.org/10.1080/09712119.2019.1653302>.
34. Makkar, H. P. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49(3), 241-256. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00142-1](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00142-1).
35. Maiga, H. A., Schingoethe, D. J., & Henson, J. E. (1996). Ruminal degradation, amino acid composition, and intestinal digestibility of the residual components of five protein supplements. *Journal of Dairy Science*, 79(9), 1647-1653. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76528-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76528-1).
36. Mehri, M., Zare, S. A., & Samie, A. (2004). The effects of supplementation of whey powder on broiler performance. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 4, 1007-1013.
37. Menke, H. H., & Steingass, H. (1988) Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, 7-55.
38. Mirshahi, S. (2012). Whey is a source of probiotics, *Veterinary Journal*, 47, 77-80 (In Persian).
39. Miranda, M. V. F. G. D., Morais, M. R. P. T. D., Lima, R. N. D., Leite, H. M. D. S., Assis, A. P. P. D., Teófilo, T. D. S., & Lima, P. D. O. (2019). Performance and development of gastric compartments of calves fed with cheese whey and transition milk. *Ciência Rural*, 49. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190308>.
40. Miron, J., Ben-Ghedalia, D., Yokoyama, M. T., & Lamed, R. (1990). Some aspects of cellobiose effect on bacterial cell surface structures involved in lucerne cell walls utilization by fresh isolates of rumen bacteria. *Animal Feed Science and Technology*, 30(1-2), 107-120. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(90\)90055-D](https://doi.org/10.1016/0377-8401(90)90055-D).
41. Mousavi Anijdan, S. T., Chashnidel, Y., Teymouri Yansari, A., & Jafari Sayadi, A. (2016). The Effect of Different Levels of Single Cell Whey Protein on Feed Consumption, Dry and Nutrient Digestibility and Rumen Parameter of Gas Production in Zell Breeding Phases, 2nd National Congress of New Technologies of Iran Aiming at Sustainable Development, Tehran, Iran. (In Persian).
42. Nik-Khah, A. (1984). The growth and carcass quality of Afshari, Turkey and Mehraban lambs on different diets. In *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 15, 498-499.
43. Nocek, J. E., & Kautz, W. P. (2006). Direct-fed microbial supplementation on ruminal digestion, health, and performance of pre-and postpartum dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89(1), 260-266. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72090-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72090-2).
44. Orpin, C. G. (1977). The rumen flagellate *Piromonas communis*: its life-history and invasion of plant material in the rumen. *Microbiology*, 99(1), 107-117. <https://doi.org/10.1099/00221287-99-1-107>.
45. Ottenstein, D. M., & Bartley, D. A. (1971). Separation of free acids C2-C5 in dilute aqueous solution column technology. *Journal of Chromatographic Science*, 9(11), 673-681. <https://doi.org/10.1093/chromsci/9.11.673>.
46. Ørskov, E. R., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92(2), 499-503. <https://doi.org/10.1017/S0021859600063048>.
47. Patel, S. (2015). Functional food relevance of whey protein: A review of recent findings and scopes ahead. *Journal of Functional Foods*, 19, 308-319. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.040>.
48. Pierce, K. M., Sweeney, T., Brophy, P. O., Callan, J. J., Fitzpatrick, E., McCarthy, P., & O'Doherty, J. V. (2006). The effect of lactose and inulin on intestinal morphology, selected microbial populations and volatile fatty acid concentrations in the gastro-intestinal tract of the weanling pig. *Animal Science*, 82(3), 311-318. <https://doi.org/10.1079/ASC200634>.

49. Poliquit, A. R., & Sanchez, S. L. (2013). Performance of Growing Lambs as Influenced by Liquid Acid Whey Supplementation. *Annals of Tropical Research*, 35(1), 61-73. <https://doi.org/10.32945/atr3515.2013>.
50. Russell, J. B., O'connor, J. D., Fox, D. G., Van Soest, P. J., & Sniffen, C. J. (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. *Journal of Animal Science*, 70(11), 3551-3561. <https://doi.org/10.2527/1992.70113551x>.
51. Sedaghat, A., Ghorchi, T., & Toghdari, A. (2019). The effect of using different levels of whey powder on performance, digestibility and blood parameters in fattening periods, Master Thesis, Animal Science Engineering, Animal Nutrition, Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran. (In Persian).
52. Salary N, A., M. H. Fathi Nasri, H. Farhangfar, and H. Naeemipour. 2013. Effect of two different levels of fiber on feed intake, average daily gain, feed efficiency and ruminal metabolites of Holstein calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 4, 323-334. <https://doi.org/10.22067/ijasr.v4i4.20332>.
53. SAS. (2001). Statistical Analysis System User's Guide: Statistics. SAS Institute, Cary, NC.
54. Scharenberg, A., Arrigo, Y., Gutzwiller, A., Wyss, U., Hess, H. D., Kreuzer, M., & Dohme, F. (2007). Effect of feeding dehydrated and ensiled tanniferous sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on nitrogen and mineral digestion and metabolism of lambs. *Archives of Animal Nutrition*, 61(5), 390-405. <https://doi.org/10.1080/17450390701565081>.
55. Shapiro, D., & Volcani, R. (1977). Liquid acid whey to growing heifers. 2nd ed. Min. Agric., Cattle Div., Ext. Serv. (Hebrew).
56. Serafim, C. C., de Almeida Rego, F. C., Fabris, J. T., Molina, J. F., Lupo, C. R., Gasparini, M. J., & dos Santos, J. S. (2017). Consumo de nutrientes e perfil metabólico de cordeiros confinados com diferentes teores de soro de leite em pó na dieta. *Uniciências*, 21(1), 7-11. <https://doi.org/10.17921/1415-5141.2017v21n1p7-11>.
57. Steele, M. A., Croom, J., Kahler, M., AlZahal, O., Hook, S. E., Plaizier, K., & McBride, B. W. (2011). Bovine rumen epithelium undergoes rapid structural adaptations during grain-induced subacute ruminal acidosis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 300(6), R1515-R1523. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00120.2010>.
58. Stienezen, M., Waghorn, G. C., & Douglas, G. B. (1996). Digestibility and effects of condensed tannins on digestion of sulla (*Hedysarum coronarium*) when fed to sheep. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 39(2), 215-221. <https://doi.org/10.1080/00288233.1996.9513180>.
59. Tanha, T. (2020). Study of whey powder proteins and determination of rumen degradation by nylon bag method. *Journal of Experimental Animal Biology*, 29, 141-133. (In Persian).
60. Tedeschi, L. O., Cannas, A., & Fox, D. G. (2010). A nutrition mathematical model to account for dietary supply and requirements of energy and other nutrients for domesticated small ruminants: The development and evaluation of the Small Ruminant Nutrition System. *Small Ruminant Research*, 89(2-3), 174-184. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.041>.
61. Thivend, P. (1977). Use of whey in feeding ruminants with particular reference to pollution problems. *World Animal Review*. FAO. Italy. 23-32.
62. Vaithyanathan, S., Bhatta, R., Mishra, A. S., Prasad, R., Verma, D. L., & Singh, N. P. (2007). Effect of feeding graded levels of Prosopis cineraria leaves on rumen ciliate protozoa, nitrogen balance and microbial protein supply in lambs and kids. *Animal Feed Science and Technology*, 133(3-4), 177-191. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.04.003>.
63. Van Soest, P. V., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch 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](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).
64. Windschitl, P. M., & Schingoethe, D. J. (1984). Microbial protein synthesis in rumens of cows fed dried whole whey. *Journal of Dairy Science*, 67(12), 3061-3068. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81673-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81673-2).
65. Yadav, J. S. S., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2015). Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology Advances*, 33(6), 756-774. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.002>.
66. 66-Zamani, J., Azizi, A., & Jahani Azizabadi, H. (2019). The effect of alfalfa replacement with straw processed with sodium hydroxide and whey on yield, characteristics of rumen fermentation, milk production and chemical metabolites of Holstein lactating cows, Master Thesis in Animal Nutrition, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Iran. (In Persian).



The Effects of Physical Form of Alfalfa and Processing of Barley Grain on Nitrogen Retention, Activity of Cellulolytic Enzyme, Blood Parameters and Rumen Microbial Population in Dalagh Fattening Lambs

Raheleh Rajabi Aliabadi¹, Taghi Ghoorchi^{2*}, Nor Mohammad Torbati Nejad², Abdolkhaki Toghdory³, Mokhtar Mohajer⁴, Reza Tahmasbi⁵

Received: 11-07-2022
Revised: 24-12-2022
Accepted: 26-12-2022
Available Online: 26-12-2022

How to cite this article:

Rajabi Aliabadi, R., Ghoorchi, T., Torbati Nejad, N. M., Toghdory, A., Mohajer, M., & Tahmasbi, R. (2023). The effects of physical form of alfalfa and processing of barley grain on nitrogen retention, activity of cellulolytic enzyme, blood parameters and rumen microbial population in Dalagh fattening lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 15(2), 169-183.

DOI: [10.22067/ijasr.2022.77388.1084](https://doi.org/10.22067/ijasr.2022.77388.1084)

Introduction: The fodder used in animal feed is in the form of silage, crushed and pellets. If used a a pelleted form, the animal will spend less time for eating so the activity and the maintenance requirements will be decrease. Part of the improvement in pellet diet is due to less energy consumption during feeding. In other words, the use of pellet rations reduces the energy consumed by the animal for eating and also increases the availability of vital nutrients and energy (Fluharty *et al.*, 2017). Alfalfa is one of the forage plants that can produce more than two tons of protein per hectare per year. Pelleted alfalfa is a perfect feed for dairy cows, sheep and goats, horses, camels, rabbits and other livestock animals as it improves their performance and production (Fluharty *et al.*, 2017). The activities of ruminal protozoa contribute significantly to the digestion of plant cell wall polymers and their absence from the rumen may have a negative effect on the extent of fiber digestion. Fiber-degrading enzymes include total cellulase activity, carboxymethylcellulase, and microcrystalline cellulase. The activity of these enzymes is in three separate parts of the rumen contents, including tiny particles (microbes attached to the rumen particle), intracellular part (cells that are freely suspended in the liquid part of the ruminal fluid) and extracellular part (enzymes in the liquid part) are measured (Agarwal *et al.*, 2000). The aim of this study was to investigate the effect of alfalfa physical shape and barley grain processing on nitrogen retention, activity of enzyme cellulolytic, blood parameters and rumen microbial population in Dalagh breed fattening lambs.

Materials and Methods: Thirty male lambs with an approximate age of 3.5±1.2 months with an average weight of 17 ± 1.1 kg were used. The experiment was statistically analyzed in the form of a factorial experiment based on a completely randomized design with two factors. The experimental variables include: physical form of forage (chopped vs. pelleted form) and barley grain processing

1- Ph.D. Student, Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.

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

4- Assistant Professor, Gorgan Agricultural Jihad Research Center, Iran.

5- Associated Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.

*Corresponding Author's Email: ghoorchit@yahoo.com

(whole vs. grounded vs. steam flaked). The experiment was performed in the 98 days (14 days of habituation and 84 days of the main course) with 6 treatments and 5 replications. Experimental diets were equal in protein and energy content and includes: 1- Pelleted alfalfa with whole barley grain 2- Pelleted alfalfa with ground barley grain 3- Pelleted alfalfa with flaked barley grain 4- Alfalfa with whole barley grain 5-Alfalfa with ground barley grain 6 -Alfalfa with flaked barley grain. Rumen fluid was sampled on day 84 at 3 hours after feeding and blood samples were taken from the lambs in the penultimate week of the fattening period 3 hours after morning feeding from the cervical vein.

Results and Discussion: Nitrogen consumption and fecal extracted nitrogen in lambs feces were significantly affected by the physical shape of the forage, which nitrogen consumption and fecal nitrogen excretion in lambs fed with pelleted alfalfa compared to chopped alfalfa were increased ($P < 0.05$). The processing of barley grain didn't significant effect on apparent nitrogen balance parameters ($P > 0.05$). The total number of rumen bacteria, lactic acid, coliform and rumen protozoa were not affected by the physical form of the forage ($P > 0.05$). However, the number of total bacteria and rumen protozoa in lambs fed with flaked barley grain were higher than milled barley grain and also in milled barley grain were greater than whole barley grain ($P < 0.05$). Activity of carboxymethyl cellulase and microcrystalline cellulase enzymes in intra cellular, extra cellular, solid and total rumen fluids of lambs fed pelleted alfalfa forage and flaked barley was higher than chopped alfalfa, however, there was no significant difference between treatments ($P > 0.05$). The blood glucose of lambs was significantly higher in lambs fed by flaked barley than milled barley and in milled barley was higher than whole barley grain ($P < 0.05$) The blood urea nitrogen of lambs was significantly lower in lambs fed by flaked barley than milled barley and in milled barley was lower than whole barley grain ($P < 0.05$).

Conclusion: The results of our experiment showed that the use of pelleted alfalfa and flaked barley grain in the diet of fattening of lambs due to numerical increasing trend in digested nitrogen, statistical reducing of urea nitrogen and numerical increasing trend in total rumen bacteria and cellulase enzymes activity had the best performance of rumen, which ultimately ensures the health of livestock. For recommendation using pelleted form of forage and flaked barley grain for farmers is required more study to investigate rumen and post rumen digestion rate of nitrogen and also, the cost of processing. While the lamb performance increase compared to the cost of processing, it can be recommended to the farmer to instead of consuming alfalfa and barley grain as a traditional way, use the processed form of them to improve the efficiency of the use of nutrients and increase the performance of the animals.

Key words: Cellulolytic enzymes activity, Nitrogen balance, Pelleted alfalfa, Flaked barley grain.

تأثیر شکل فیزیکی یونجه و فراوری دانه جو بر ابقای نیتروژن، فعالیت آنزیم‌های سلولاییتیک، فراسنجه‌های خون و جمعیت میکروبی شکمبه در بره‌های پرواری نژاد دالاق

راحله رجبی علی‌آبادی^۱، تقی قورچی^{۲*}، نورمحمد تربتی‌نژاد^۳، عبدالحکیم توغدری^۳، مختارمهاجر^۴، رضا طهماسبی^۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۵

چکیده

به منظور بررسی تأثیر شکل فیزیکی علوفه یونجه و فراوری دانه جو بر ابقای نیتروژن، فعالیت آنزیم‌های سلولاییتیک، فراسنجه‌های خون و جمعیت میکروبی شکمبه در بره‌های پرواری نژاد دالاق از ۳۰ رأس بره نر $3/5 \pm 1/2$ ماهه با میانگین وزن $17 \pm 1/1$ کیلوگرم استفاده شد. این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور اصلی شامل شکل فیزیکی علوفه (خرد شده در مقابل پلت شده) و فراوری دانه جو (کامل، آسیاب شده و فلیک شده) که در یک دوره ۹۸ روزه (۱۴ روز عادت‌پذیری و ۸۴ روز دوره اصلی) با شش تیمار و پنج تکرار انجام شد. جیره‌های آزمایشی از نظر محتوی پروتئین و انرژی برابر بودند و شامل: ۱- یونجه خرد شده با دانه کامل جو، ۲- یونجه خرد شده با دانه جو آسیاب شده، ۳- یونجه خرد شده با دانه جو فلیک شده، ۴- یونجه پلت شده با دانه کامل جو، ۵- یونجه پلت با دانه جو آسیاب شده، ۶- یونجه پلت با دانه جو فلیک شده، بودند. نمونه‌گیری از مایع شکمبه سه ساعت بعد از خوراک‌دهی و خون‌گیری در هفته ماقبل آخر دوره پرواریندی، انجام شد. یونجه پلت در مقایسه با یونجه خرد شده باعث افزایش نیتروژن مصرفی و نیتروژن هضم شده گردید ($P < 0/05$)، اما بر ابقای نیتروژن تأثیر معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$). تیمار جو فلیک منجر به افزایش تعداد کل باکتری‌ها و پروتوزوای شکمبه نسبت به دانه جو کامل و آسیاب شده شد ($P < 0/05$). مقدار گلوکز خون بره‌ها به‌طور معنی‌دار در تیمار دریافت‌کننده جو فلیک شده، بیشتر از جو کامل و آسیاب شده و مقدار نیتروژن اوره‌ای خون به‌طور معنی‌دار کمتر بود ($P < 0/05$). به‌طور کلی، علوفه یونجه به‌صورت پلت شده و جو به‌صورت فلیک شده، در جیره گوسفند پرواری به‌دلیل روند افزایشی در هضم نیتروژن، کاهش معنی‌دار در نیتروژن اوره‌ای خون و روند افزایشی در تعداد کل باکتری‌ها و آنزیم‌های میکروکریستالین سلولاز و کربوکسی متیل سلولاز شکمبه سبب بهبود عملکرد شکمبه و در نهایت، موجب تضمین سلامت دام می‌شود.

واژه‌های کلیدی: توازن نیتروژن، جو فلیک شده، فعالیت آنزیم‌های سلولاییتیک، یونجه پلت شده.

مقدمه

علوفه‌ای که در تغذیه دام مورد استفاده قرار می‌گیرد به‌فرم سیلاژ، خرد شده و پلت می‌باشند. در صورت استفاده از جیره پلت، دام زمان کمتری را صرف غذا خوردن خواهد کرد، لذا با کاهش فعالیت، میزان احتیاجات نگهداری آن نیز کاهش خواهد یافت. بخشی از بهبود کاربرد جیره پلت، به‌علت مصرف کمتر انرژی در هنگام تغذیه می‌باشد. به عبارت دیگر، استفاده از جیره پلت، انرژی صرف شده دام برای غذا خوردن را کاهش می‌دهد و قابلیت دسترسی حیاتی مواد مغذی و انرژی را نیز افزایش می‌دهد (Fluharty et al., 2017). ارزش غذایی علوفه‌های مورد استفاده در تغذیه دام توسط مجموعه عواملی شامل ترکیبات شیمیایی، ضرایب هضمی، تجزیه‌پذیری و خوش‌خوراکی مشخص می‌شود (Sufi Siavash and Janmohammadi, 2009).

- ۱- دانشجوی دکتری گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
- ۲ و ۳- استاد و استادیار، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
- ۴- استادیار، مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی گرگان ایران.
- ۵- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

(Email: ghoorchit@yahoo.com)

(*) نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/ijasr.2022.77388.1084

آزمایشگاه علوم دامی مرکز تحقیقات علوم دامی گرگان صورت گرفت. پلت یونجه مورد نیاز از کارخانه خوارک دام و طیور زرین دانه پویا یزد تهیه گردید و جو وارسته صحرا مورد نیاز نیز از بازار خریداری و به سه قسمت جو کامل و جو آسیاب شده و جو فلیک شده، تقسیم گردید. فرمول کنسانتره متناسب با نیازهای توصیه شده در NRC (2007) برای بره‌های در حال رشد تهیه گردید و قسمت کنسانتره جیره بدون جو در کارخانه خوارک دام و طیور گرگان دشت تهیه شد و به مزرعه تحقیقاتی پرورش گوسفند دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی منتقل گردید. تنها تفاوت جیره‌ها از نظر شکل فیزیکی یونجه و نوع فرآوری دانه جو بود و اقلام تشکیل‌دهنده و درصد آن در جیره کاملاً یکسان بود (جدول ۱). پلت کردن یونجه با استفاده از دستگاه پرس پلت کارخانه خوارک دام و طیور انجام شد. برای اینکار یونجه کامل کوبیده شده تا از الک پنج میلی‌متری عبور کند و با افزودن یک درصد بنتونیت جهت چسبندگی و مقدار کمی بخار در کاندیشن پخت شده و با دستگاه پرس پلت با دای سه میلی‌متری عملیات پلت‌سازی انجام شد و در نهایت، با دستگاه کولر خنک شد. جهت آسیاب کردن دانه جو از آسیاب با توری دو میلی‌متری استفاده شد. فلیک کردن (پولکی کردن) دانه جو با بخار ابتدا دانه جو در داخل محفظه‌ای عمودی برای پخت در معرض بخار به مدت چهار دقیقه قرار گرفت تا رطوبت آن به حدود ۲۰ درصد برسد، بلافاصله از بین غلطک‌هایی که از هم ۱/۵ میلی‌متر فاصله و در حال گردش عبور داده شد. دمای پخت ۹۰ درجه سانتی‌گراد و فشار پنج بار بود. آزمایش در دوره ۹۸ روزه (۱۴ روز عادت‌پذیری و ۸۴ روز دوره اصلی) با شش تیمار و پنج تکرار انجام شد که جیره‌های آزمایشی از نظر محتوی پروتئین و انرژی برابر بودند و شامل: ۱- یونجه خرد شده با دانه کامل جو، ۲- یونجه خرد شده با دانه جو آسیاب شده، ۳- یونجه خرد شده با دانه جو فلیک شده، ۴- یونجه پلت شده با دانه کامل جو، ۵- یونجه پلت با دانه جو آسیاب شده، ۶- یونجه پلت با دانه جو فلیک شده، بودند. به منظور انجام این آزمایش، در ماه اسفند سال ۱۳۹۸ تعداد ۳۰ رأس بره نر نژاد دالاق با میانگین وزن زنده $17 \pm 1/1$ کیلوگرم و سن ۳-۴ ماه از مزرعه دامی زیر نظر جهاد کشاورزی استان گلستان انتخاب شدند و به مزرعه آموزشی-پژوهشی شماره یک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند.

تعادل نیتروژن برای هر دام از اختلاف نیتروژن مصرفی و دفعی در هر روز به دست آمد، بدین صورت که نیتروژن مصرفی از اختلاف نیتروژن خوراک داده شده و باقی‌مانده آخور هر دام تصحیح شد. نیتروژن دفعی نیز از مجموع نیتروژن دفعی مدفوع و دفعی ادرار محاسبه گردید. معادله مورد استفاده در محاسبه ابقای نیتروژن در ذیل آورده شده است (Asadi et al., 2018).

در سیستم پرواربندی، جو به عنوان یک غله بومی به عنوان مهم‌ترین منبع نشاسته مورد استفاده قرار می‌گیرد. بر اساس تحقیقاتی که انجام گرفته، مشخص شده است که نشاسته جو به سرعت در شکمبه تخمیر می‌شود، نوع فرآوری غله بر تجزیه‌پذیری آن در شکمبه و همچنین قابلیت هضم آن در دستگاه گوارش موثر می‌باشد و به عبارت دیگر، بر استفاده آن در شکمبه یا عبور آن به بخش‌های پایینی دستگاه گوارش موثر است (Horadagoda et al., 2008).

متابولیسم نیتروژن به ترکیب جیره و گونه حیوان بستگی دارد (Woodward and Reed, 1997). بر این اساس، متخصصان تغذیه نشخوارکنندگان همواره در تلاش بوده‌اند تا با تعدیل رقابت بین جمعیت‌های مختلف میکروبی ساکن در شکمبه، بازدهی استفاده از انرژی و پروتئین را بهبود بخشند. پژوهش‌های متعددی نشان داده که فرآوری غلات بر تولید اسیدهای چرب فرار، اسیدیته شکمبه و غلظت آمونیاک شکمبه موثر است. در این ارتباط، با توجه به نوع غله و نوع فرآوری نتایج متفاوتی برای هر یک از این فراسنجه‌ها گزارش شده است. همچنین گزارش شده که غلات فرآوری شده وقتی به همراه علوفه استفاده می‌شوند، تأثیرات کمتری بر تولید اسیدهای چرب فرار و اسیدیته شکمبه دارند (Delahoy et al., 2003).

شکمبه یک اکوسیستم میکروبی غیر هوازی است که توسط جمعیت پیچیده میکروبی شامل باکتری، پروتوزوا و قارچ‌ها اشغال شده است. زمانی که دانه به جیره نشخوارکنندگان اضافه می‌شود، پروتوزوای شکمبه با افزایش تعدادشان با این شرایط خود را وفق می‌دهند و به اندازه کافی نشاسته اضافی را از بین می‌برند (Ghoorchi and Seyed Almoosavi, 2018). نوع فرآوری نقش اساسی بر استفاده باکتری‌های شکمبه از نشاسته و یا عبور نشاسته به قسمت‌های پایین‌تر دستگاه گوارش و هضم در آنجا دارد و نشخوارکنندگان برای به دست آوردن انرژی از مواد گیاهی به تخمیر میکروبی در شکمبه وابسته‌اند (Jouany and Ushida, 1999).

با فرض اینکه شکل فیزیکی و فرآوری خوراک بر فعالیت آنزیم‌های سلولایتیک، ابقای نیتروژن، میکروب‌های شکمبه و خون تأثیر می‌گذارد. نیاز به تحقیقات دو خوراک غالب یونجه و جو در تغذیه دام ضروری به نظر رسید. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثرات شکل فیزیکی یونجه و فرآوری دانه جو بر ابقای نیتروژن، برخی از فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای و فراسنجه‌های خونی در بره‌های پرواری نژاد دالاق می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تمامی مراحل انجام این تحقیق در مزرعه تحقیقاتی شماره یک واحد پرورش گوسفند دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده (بر حسب درصد ماده خشک یا واحدهای ارائه شده)

Table 1- Feed ingredients and chemical composition of experimental diets (% of dry matter or unit provided)

جیره‌های آزمایشی Experimental diet's	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments					
	یونجه پلت، جو فلیک شده Pellet alfalfa-flaked barley	یونجه پلت، جو آسیاب Pellet alfalfa-ground barley	یونجه پلت، جو کامل Pellet alfalfa-whole barley	یونجه خرد شده، جوفلیک شده Alfalfa-Flaked barley	یونجه خرد شده، جو آسیاب Alfalfa-ground barley	یونجه خرد شده، جو کامل Alfalfa-whole barley
یونجه خرد شده Chopped alfalfa				25.0	25.0	25.0
یونجه پلت شده Pelleted alfalfa	25.0	25.0				
دانه جو کامل Whole barely grain			56.5			
دانه جو آسیاب شده Milled barley grain		56.5				
دانه جو فلیک شده Flaked barley grain				56.5		
سبوس گندم Wheat bran	11.3	11.3	11.3	11.3	11.3	11.3
کنجاله سویا Soybean meal	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
کلرید آمونیوم Amoniom colorid	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
پودر صدف Oyster shell	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
نمک Salt	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0/5
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
*مکمل مواد معدنی- ویتامین Minerals and vitamins premix	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
ترکیب شیمیایی Chemical composition						
انرژی قابل متابولیسم، مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک Metabolizable energy (Mcal/kgDM)			2.62	فسفر Phosphorus		0.35
پروتئین خام Crude protein			14.91	فیبر نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber		30.82
عصاره اتری Ether extract			1.2	فیبر نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber		14.08
کلسیم Calcium			0.92	فیبر خام Crude fiber		4.63

* مکمل ویتامین و معدنی شامل ویتامین A ۱۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین D3 ۲۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی، متیزیم ۳۲۰۰۰ میلی‌گرم، منگنز ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم، روی ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم، مس ۳۰۰ میلی‌گرم، سلنیوم ۱۰۰ میلی‌گرم، ید ۱۰۰ میلی‌گرم، آهن ۳۰۰۰ میلی‌گرم، کبالت ۱۰۰ میلی‌گرم، فسفر ۳۰۰۰ میلی‌گرم، مونسین ۱۵۰۰ میلی‌گرم، آنتی‌اکسیدان ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد.

Contained per kilogram of supplement: 1000,000 IU vitamin A 250,000 IU vitamin D3, 3,000 IU vitamin E, 110 g Ca, 45 g Mg, 10000 mg Mn, 10000 mg Zn, 300 mg Cu, 100 mg Se, 100 mg I, 3000 mg Fe, 100 mg Co, 30000 Mg P, 11500 Mg Mo, and 100Mg antioxidant.

در نهایت، تعادل نیتروژن هر تیمار از میانگین‌گیری تعادل نیتروژن دام‌های همان تیمار در هفت روز دوره جمع‌آوری به دست

آمد.

(Hristov et al., 1999). محاسبه فعالیت آنزیمی: فعالیت آنزیم‌های سلولیتیک در هر حیوان در هر یک از سه بخش شیرابه شکمبه محاسبه گردید. گلوکز آزاد شده در اثر فعالیت هر یک از آنزیم‌های مورد آزمون بر اساس روش میلر (Miller et al., 1959) تخمین زده شد. فعالیت آنزیمی نمونه‌ها بر حسب نانومول در دقیقه در میلی‌لیتر قندهای آزاد شده (گلوکز) و به کمک منحنی استاندارد تعیین گردید (Dousti et al., 2018, Agarwal, 2000).

جهت بررسی اثرات احتمالی جیره‌های آزمایشی بر روی فراسنجه‌های خونی دام‌ها، در هفته ماقبل آخر دوره پرواربندی، از دام‌ها سه ساعت پس از تغذیه صبح از سیاهرگ گردنی (وداج) نمونه خون گرفته شد. عمل خون‌گیری با استفاده از لوله‌های ونوجکت صورت گرفت و خون گرفته شده بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد و نمونه‌ها به منظور جداسازی پلاسما در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و تا روز آزمایش در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Asadi et al., 2018). در نهایت، گلوکز، اوره، تری‌گلیسیرید، کلسترول و نیترژن اوره‌ای خون با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل Brite 600 plus) و به وسیله کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون تعیین گردید. داده‌های آزمایش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور اصلی شامل شکل فیزیکی علوفه (خرد شده در مقابل پلت شده) و فراوری دانه جو (کامل، آسیاب شده و فلیک شده) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مدل آنالیز آماری طرح به شرح زیر است:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + TP_{ij} + e_{ijk}$$

که در این معادله، Y_{ijk} : فراسنجه مورد اندازه‌گیری، μ : میانگین کل، T_i : اثر شکل فیزیکی، P_j : اثر فراوری، TP_{ij} : اثر متقابل i امین تیمار و j امین تکرار، e_{ijk} : خطای تصادفی می‌باشند. داده‌های تکرار شونده با رویه MIXED و سایر داده‌ها با رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. میانگین تیمارها توسط آزمون توکی در سطح معنی‌داری پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

جدول ۲ تأثیر شکل فیزیکی علوفه و نوع فراوری غله بر توازن ظاهری نیترژن (نیترژن مصرفی، نیترژن دفعی ادرار، نیترژن دفعی مدفوع، کل نیترژن دفعی، نیترژن ابقا شده و نیترژن هضم شده) در جیره‌های آزمایشی بره‌ها را نشان می‌دهد. نیترژن مصرفی و نیترژن دفعی مدفوع بره‌ها به‌طور معنی‌دار تحت تأثیر شکل فیزیکی علوفه قرار گرفت، به‌نحوی که یونجه پلت شده نسبت به یونجه خرد شده باعث افزایش نیترژن مصرفی و نیترژن دفعی مدفوع بره‌ها شد

در معادله‌های زیر تمامی واحدها (گرم/روز) می‌باشد.

نیترژن باقی مانده آخور-نیترژن خوراک داده شده=نیترژن مصرفی
نیترژن دفعی ادرار + نیترژن دفع شده از مدفوع = نیترژن دفع شده
نیترژن دفع شده - نیترژن مصرفی = تعادل نیترژن
نیترژن هضم شده^۱ = قابلیت هضم پروتئین خام × نیترژن مصرفی
(نیترژن ادرار + نیترژن مدفوع) - نیترژن مصرفی = ابقای نیترژن
برای شمارش پروتوزوآها، در هفته آخر و در زمان سه ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح، نمونه مایع شکمبه با استفاده از لوله مری از گوسفندان گرفته شد. مایع شکمبه صاف شده با استفاده از فرمالین سه درصد فیکس شد و سپس تعداد پروتوزوآها در زیر میکروسکوپ شمارش شد (Dehority, 1984). و تعداد پروتوزوآها در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$= \frac{n1+n2}{2} \times 1000 \times d$$

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های سلولیتیک شکمبه شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز نمونه‌های شیرابه شکمبه توسط لوله مری سه ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح از دام‌ها در آخرین روز دوره آزمایش جمع‌آوری و بلافاصله توسط یک فلاسک عایق با دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه تغذیه دانشکده علوم دامی دانشگاه منابع طبیعی و کشاورزی گرگان انتقال داده شدند.

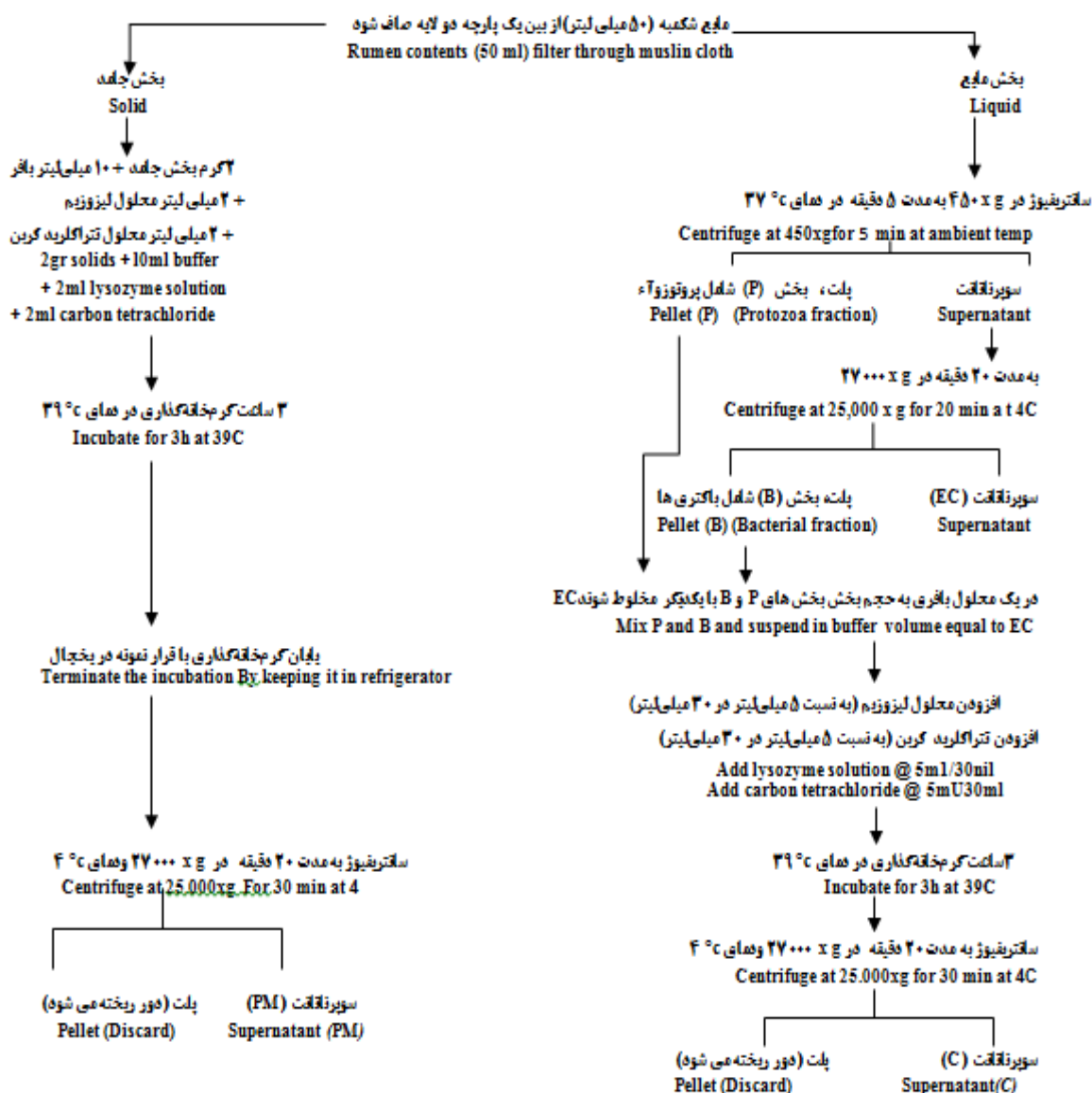
بخش‌بندی شیرابه شکمبه: به‌منظور بخش‌بندی آنزیم‌های

مورد بررسی در شیرابه شکمبه به سه بخش جامد^۲، خارج سلولی^۳ و درون سلولی^۴، ابتدا شیرابه (حدود ۵۳ میلی‌لیتر) توسط دو لایه پارچه صاف گردید و مواد باقی‌مانده روی پارچه به‌عنوان بخش جامد در نظر گرفته شد. برای جداسازی بخش‌های پروتوزوایی و باکتریایی، ابتدا شیرابه با دور ۴۵۰×g به مدت پنج دقیقه در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. پلت به‌دست آمده به‌عنوان بخش پروتوزوایی در نظر گرفته شد. مایع شفاف رویی (سوپرناتانت) مجدداً با دور ۲۷۰۰۰×g به مدت ۲۳ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. پلت به‌دست آمده در این مرحله به‌عنوان بخش باکتریایی مشخص شد. در نهایت، مایع شفاف رویی به‌عنوان منبع آنزیم‌های خارج سلولی مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱).

استخراج آنزیم‌ها از بخش‌های مختلف و تخمین فعالیت

آنزیمی: آنزیم‌های شکمبه‌ای مورد آزمایش در بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه طبق روش هریستو و همکاران استخراج گردید

- 1- Nitrogen digested
- 2- Particulate material
- 3- Extracellular
- 4- Cellular



شکل ۱- بخش بندی شیرابه شکمبه و استخراج آنزیم های هیدرولیتیک، برگرفته از آگاروال (۲۰۰۰)، PM، میکروب های چسبیده به مواد خوراکی در شکمبه؛ EC، بخش خارج سلولی (شیرابه شکمبه)؛ C، بخش درون سلولی (میکروب های معلق در مایع شکمبه) (Agarwal, 2000 Dousti et al.,2018).

Figure 1- Fractionation of rumen contents and extraction of hydrolytic enzymes, Agarwal (2000), PM = Particulate Material, EC= Extracellular, C= Cellular

هضم شده) نسبت به جو آردی و جو کامل شد، اما این افزایش معنی دار نبود ($P > 0.05$)، بنابراین نوع فرآوری غله تأثیر معنی داری بر توازن ظاهری نیتروژن نداشت. اثر متقابل شکل فیزیکی علوفه و نوع فرآوری غله تأثیر معنی دار بر روی هیچ کدام از خصوصیات توازن ظاهری نیتروژن نداشت ($P > 0.05$).

اما در مقدار بقیه خصوصیات توازن ظاهری نیتروژن بره ها تفاوت معنی داری در اثر شکل فیزیکی علوفه حاصل نشد ($P > 0.05$)، جو فلیک شده، نیز باعث افزایش مقدار تمامی خصوصیات اندازه گیری توازن ظاهری نیتروژن (نیتروژن مصرفی، نیتروژن دفعی ادرار، نیتروژن دفعی مدفوع، کل نیتروژن دفعی، نیتروژن ابقا شده، نیتروژن

استفاده از نیتروژن خوراک به وسیله ریزجانداران شکمبه نه تنها به سرعت و نرخ شکسته شدن منابع نیتروژنی وابسته است، بلکه قابلیت استفاده از منابع انرژی قابل تخمیر شکمبه‌ای جیره نیز بر سنتز پروتئین میکروبی مؤثر است (Ghoorchi and Seyed Almoosavi, 2018).

در این پژوهش، یونجه پلت شده نسبت به یونجه خرد شده باعث افزایش معنی‌دار نیتروژن مصرفی و نیتروژن دفعی مدفوع گردید ($P < 0.05$) که می‌توان نیتروژن مصرفی بالاتر در گوسفندان مصرف‌کننده یونجه پلت شده نسبت به یونجه خرد شده را به مصرف ماده خشک بالاتر در این گوسفندان نسبت داد. نیتروژن دفعی مدفوع به موازات افزایش مصرف ماده خشک و نیتروژن تغیر کرد. گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی یونجه پلت که بالاترین مصرف ماده خشک و نیتروژن را داشته، دارای بیشترین دفع نیتروژن از طریق مدفوع بودند. نیتروژن دفعی مدفوع از بدن گوسفندان تحت تاثیر نیتروژن مصرفی می‌باشد. بدیهی است با افزایش ماده خشک مصرفی، ماده آلی قابل هضم مصرفی نیز افزایش می‌یابد (Mutsvangwa, 2007) (Kiran and Mir Mohammadi, 2013). در پژوهشی اثر شکل فیزیکی خوراک در جیره‌های با و بدون کود بستر جوجه‌های گوشتی بر عملکرد بره‌های پرواری مورد بررسی قرار گرفت، بلوک کردن جیره‌ها تأثیری معنی‌داری روی هیچ یک از پارامترهای تعادل نیتروژن (نیتروژن مصرفی، نیتروژن دفعی مدفوع، نیتروژن دفع شده از ادرار، کل نیتروژن دفع شده و نیتروژن ابقا شده) نداشت (Mir Mohammadi, 2013). که با نتایج این پژوهش مغایرت دارد، دلیل احتمالی تحت تأثیر قرار نگرقتن در این تحقیق را می‌توان به مصرف تقریباً یکسان ماده خشک در تیمارهای مختلف نسبت داد.

در پژوهشی با بررسی نوع فرآوری دانه جو بر عملکرد، قابلیت هضم مواد مغذی گزارش کردند که مصرف نیتروژن، نیتروژن دفعی مدفوع، نیتروژن دفعی ادرار، نیتروژن هضم شده، نیتروژن ابقا شده (گرم در روز) و درصد نیتروژن ابقا شده در گوسفندان تحت تأثیر فرآوری دانه قرار نگرفتند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (Masumimoghadam et al., 2015) همچنین در سال ۲۰۰۷ با فرآوری دانه جو به صورت فلیک شده و پرک در جیره بره‌های پرواری گزارش کردند که فرآوری دانه جو هیچگونه تأثیر معنی‌داری بر ابقای ظاهری نیتروژن نداشت که با نتایج این پژوهش سازگاری دارد (Kiran and Mutsvangwa, 2007).

جدول ۳ نتایج تأثیر شکل فیزیکی علوفه و فرآوری غله بر تعداد پروتوزوا و جمعیت میکروبی شکمبه ($\times 10^4$ /mL) (کل باکتری‌ها، اسید لاکتیک و کلی فرم) بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی را بیان می‌کند. شکل فیزیکی علوفه نتوانست باعث تغییر معنی‌دار در تعداد کل باکتری‌های شکمبه، اسیدلاکتیک، کلی فرم و پروتوزوا

شکمبه شود. تیمارهای مختلف نوع فرآوری جو تعداد کل باکتری‌ها و پروتوزوا شکمبه را به طور معنی‌دار تغییر دادند ($P < 0.05$) و در تیمار جو فلیک شده، تعداد کل باکتری‌ها و پروتوزوا شکمبه بیشتر از دو تیمار دیگر بود. تعداد کل باکتری‌ها و پروتوزوا شکمبه در تیمار جو فلیک شده < جو آردی > جو کامل بود. تفاوتی در تعداد اسیدلاکتیک و کلی فرم شکمبه بره‌ها در اثر نوع فرآوری غله به طور معنی‌دار ایجاد نشد. تعداد کل باکتری‌ها، اسیدلاکتیک، کلی فرم و پروتوزوا شکمبه بره‌ها به طور معنی‌دار تحت تأثیر اثر متقابل شکل فیزیکی علوفه و نوع فرآوری غله قرار نگرفتند.

شکمبه یک اکوسیستم میکروبی غیرهوازی است که توسط جمعیت پیچیده میکروبی شامل باکتری، پروتوزوا و قارچ‌ها اشغال شده است (Martinez et al., 2010). ثابت شده است که میزان زیادی از فعالیت فیبرولایتیکی شکمبه توسط پروتوزوا انجام می‌شود و حذف پروتوزوای مؤکدار از شکمبه باعث کاهش قابلیت هضم سلولز می‌شود. پروتوزوا با بلعیدن گرانول‌های نشاسته نرخ تجزیه پذیری نشاسته را در شکمبه کاهش می‌دهند و این امر فرآیند تخمیر شکمبه-ای را کاهش داده که به سبب آن از افت شدید پی‌اچ شکمبه ممانعت می‌شود. در مجموع، پروتوزواها در شکمبه موجب بهبود شرایط تخمیر و کنترل جمعیت باکتریایی شکمبه می‌شوند، باکتری‌ها به تغییرات پی‌اچ شکمبه حساس هستند، اما نسبت به پروتوزواها حساسیت کمتری دارند (Ghoorchi and Seyed Almoosavi, 2018).

در پژوهشی تأثیر دو شکل فیزیکی پلت و آسیاب جیره را بر پارامترهای شکمبه‌ای بره‌های پرواری دالاق بررسی کردند. آن‌ها تعداد کل باکتری‌ها، کلی فرم و پروتوزوا را اندازه گرفتند و تفاوت معنی‌داری بین جیره پلت و آسیاب شده مشاهده نکردند که موافق با نتایج در پژوهش حاضر می‌باشد (Asadi et al., 2018). در پژوهشی تحت عنوان تأثیر شکل فیزیکی جیره بر قابلیت هضم مواد مغذی، تخمیر شکمبه، نشخوار، عملکرد رشد و جمعیت پروتوزوا در بره‌های در حال رشد گزارش کردند که اختلاف معنی‌داری در جمعیت پروتوزوایی شکمبه در بره‌های پرواری دریافت‌کننده جیره پلت و آردی وجود نداشت (Karimizadeh et al., 2017).

در پژوهشی با بررسی اثر فرآوری گندم بر فراسنجه‌های شکمبه-ای گزارش شد که تیمارهای آسیاب شده نسبت به تیمارهای بدون فرآوری به شکل مؤثرتری منجر به افزایش جمعیت پروتوزوا شد (Valizadeh Ghalebeig et al., 2018) که همسو با نتایج پژوهش ما می‌باشد. بالاتر بودن جمعیت کل باکتری‌ها و پروتوزوا در جو فلیک شده، نسبت به آسیاب می‌تواند به این علت باشد که افزایش ماندگاری در شکمبه و کند کردن نرخ تخمیر و مصرف محصولات تخمیری توسط ریزجانداران نسبت داده شود سبب پایداری محیط شکمبه و حداکثر رشد میکروبی در این تیمارها می‌شود (Valizadeh Ghalebeig et al., 2018).

جدول ۲- تأثیر شکل فیزیکی علوفه و فرآوری غله بر توازن ظاهری نیتروژن (گرم در روز) در جیره‌های آزمایشی

Table 2- The effect of physical form of forage and grain processing on apparent nitrogen balance (g/day) in experimental diets

تیمارها Treatments	مصرف نیتروژن Nitrogen consumption	نیتروژن دفعی ادراری Urine excreted nitrogen	نیتروژن مدفوع Fecal excreted nitrogen	کل نیتروژن دفعی Total excreted nitrogen	نیتروژن ابقا شده Retained nitrogen	نیتروژن هضم شده Digested nitrogen
شکل فیزیکی Physical shape						
یونجه خرد شده Chopped alfalfa	33.08 ^b	5.83	7.56 ^b	13.38	19.69	20.27
یونجه پلت شده Pelleted alfalfa	35.37 ^a	6.77	8.57 ^a	15.35	20.01	22.64
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.082	0.070	0.072	0.098	0.124	0.056
سطح معنی‌داری P value	0.041	0.85	0.041	0.77	0.83	0.69
نوع فرآوری Type of processing						
جو سالم Whole barley grain	33.84	5.99	7.80	13.48	20.05	20.96
جوآردی Milled barley grain	34.04	6.11	7.86	13.97	20.06	21.43
جو فلیک شده Flaked barley grain	34.79	6.45	8.21	14.66	20.13	22.25
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.100	0.086	0.089	0.120	0.152	0.069
سطح معنی‌داری P value	0.99	0.68	0.75	0.54	0.63	0.82
اثر متقابل شکل فیزیکی × نوع فرآوری Interaction physical shape × type of processing						
یونجه خرد شده × جو سالم Chopped alfalfa × whole barley grain	32.81	5.28	7.24	12.53	20.28	19.91
یونجه خرد شده × جوآردی Chopped alfalfa × milled barley grain	32.99	5.41	7.35	12.76	20.23	20.14
یونجه خرد شده × جو فلیک شده Chopped alfalfa × flaked barley grain	33.64	5.95	7.37	13.32	20.32	20.88
یونجه پلت شده × جو سالم Pelleted alfalfa × whole barley grain	34.88	6.35	8.13	14.48	20.44	22.04
یونجه پلت شده × جوآردی Pelleted alfalfa × milled barley grain	35.08	6.48	8.14	14.62	20.46	22.76
یونجه پلت شده × جو فلیک شده Pelleted alfalfa × flaked barley grain	36.14	6.95	8.33	15.28	20.86	23.79
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.141	0.121	0.126	0.169	0.216	0.098
سطح معنی‌داری P value	0.064	0.542	0.073	0.061	0.668	0.446

^a و ^b حروف غیرمتشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی هستند ($P < 0.05$).

^{a, b} Different letters in columns represent significant differences between the experimental groups ($P < 0.05$).

جدول ۳- تأثیر شکل فیزیکی علوفه و فرآوری غله بر تعداد پروتوزوا و جمعیت میکروبی شکمبه ($\times 10^4$ / mL)

Table 3- The effect of physical form of forage and grain processing on the number of protozoa and rumen microbial population ($\times 10^4$ /mL)

تیمارها Treatments	کل باکتری‌ها Total bacteria	اسیدلاکتیک Lactic acid	کلی‌فرم Coliform	تک‌یاخته‌ها Protozoa
شکل فیزیکی Physical shape				
یونجه خرد شده Chopped alfalfa	10.18	8.25	5.90	9.21
یونجه پلت شده Pelleted alfalfa	10.54	8.58	6.13	9.60
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.017	0.015	0.013	0.016
سطح معنی‌داری P value	0.618	0.258	0.075	0.885
نوع فرآوری Type of processing				
جو سالم Whole barley grain	10.23 ^c	8.28	5.95	9.26 ^c
جو آردی Milled barley grain	10.41 ^b	8.44	6.06	9.47 ^b
جو فلیک شده Flaked barley grain	10.44 ^a	8.52	6.05	9.50 ^a
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.021	0.019	0.015	0.019
سطح معنی‌داری P value	0.0001	0.315	0.069	0.041
اثر متقابل شکل فیزیکی × نوع فرآوری Interaction physical shape × type of processing				
یونجه خرد شده × جو سالم Chopped alfalfa × whole barley grain	10.12	8.15	5.86	9.08
یونجه خرد شده × جو آردی Chopped alfalfa × milled barley grain	10.21	8.28	5.92	9.27
یونجه خرد شده × جو فلیک شده Chopped alfalfa × flaked barley grain	10.23	8.33	5.92	9.30
یونجه پلت شده × جو سالم Pelleted alfalfa × whole barley grain	10.35	8.43	6.03	9.45
یونجه پلت شده × جو آردی Pelleted alfalfa × milled barley grain	10.62	8.60	6.20	9.68
یونجه پلت شده × جو فلیک شده Pelleted alfalfa × flaked barley grain	10.65	8.71	6.17	9.70
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.030	0.026	0.022	0.028
سطح معنی‌داری P value	0.610	0.224	0.070	0.783

^{a, b} حروف غیرمتشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی هستند ($P < 0.05$).

^{a, b} Different letters in columns represent significant differences between the experimental groups ($P < 0.05$).

متفاوت (Camra et al., 2010) و همچنین زمان نمونه‌گیری از مایع شکمبه (Leedle et al., 1986) نسبت داد به عبارت دیگر، نوع جیره تغذیه شده به حیوانات، باعث تغییر جمعیت میکروبی و متعاقب آن تغییر در الگوی آنزیمی شده است.

کاظمی (Kazemi, 2017) با بررسی اثر فرآوری ذرت بر فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک (شامل میکروکریستالین سلولاز، کربوکسی متیل سلولاز) در بخش جامد، درون سلولی و خارج سلولی شکمبه، هیچگونه اثر معنی‌داری بین نوع فرآوری و آنزیم‌های شکمبه گزارش نکردند که با نتایج این پژوهش سازگاری دارد.

نتایج به‌دست آمده از جدول ۵ تأثیر شکل فیزیکی علوفه و نوع فرآوری غله بر فرانسجه‌های خونی (گلوکز، اوره، کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین با چگالی بالا، لیپوپروتئین با چگالی پایین) را نشان می‌دهد. مقدار گلوکز، اوره خون، کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین با چگالی بالا، لیپوپروتئین با چگالی پایین خون بره‌ها تحت تأثیر شکل فیزیکی علوفه قرار نگرفتند. اما نوع فرآوری غله توانست فرانسجه‌های خونی را به‌طور معنی‌دار تحت تأثیر قرار بدهد. مقدار گلوکز خون بره‌ها به‌طور معنی‌دار در تیمار دریافت‌کننده جو فلیک شده، بیشتر از دو تیمار دیگر بود ($P < 0.05$). به‌طوری که در جو فلیک شده <جو آردی> جو کامل بود. مقدار اوره خون بره‌ها به‌طور معنی‌دار در تیمار دریافت‌کننده جو کامل بیشتر از دو تیمار دیگر بود ($P < 0.05$). مقدار کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین با چگالی بالا، لیپوپروتئین با چگالی پایین خون بره‌ها تفاوت معنی‌داری در اثر دریافت سه تیمار جو فلیک شده، جو آردی و جو کامل نداشت. اثر متقابل شکل فیزیکی علوفه و نوع فرآوری خوراک هیچ تأثیر معنی‌داری بر روی فرانسجه‌های خون بره‌ها نداشت.

براساس نتایج به‌دست آمده در آزمایش عباسی و همکاران (Abbasi, i et al., 2015) بین نیتروژن اوره‌ای، گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول خون گاوهای شیرده در بین دو جیره آزمایشی آردی و پلت اختلاف معنی‌داری وجود نداشت که موافق با نتایج این پژوهش است. همچنین موافق با نتایج پژوهش حاضر کریمی زاده و همکاران (Karimizadeh et al., 2017) در رابطه با استفاده از سه شکل فیزیکی کنسانتره (مش، پلت و بلوک) در جیره پایانی بره‌های پرواری نشان دادند کنسانتره آردی و پلت اختلاف معنی‌داری بر غلظت گلوکز و نیتروژن اوره‌ای خون، کلسترول و تری‌گلیسرید ایجاد نکرد.

در مطالعات مختلف چنین استنباط شده‌است که بازدهی رشد ریزجانداران عمده شکمبه‌ای به‌طور قابل ملاحظه‌ای با تغییر اسیدیته شکمبه متغیر است. باکتری‌های سلولیتیک و تولیدکننده متان به سرعت به افت اسیدیته شکمبه به زیر شش حساسیت نشان می‌دهند و از بین می‌روند. همچنین پروتوزوای شکمبه هم در اسیدیته پایین ناشی از تغذیه جیره‌های با کنسانتره بالا یا غنی از غلات از بین می‌روند (Bonhomme, 1990). بنابراین، استفاده از روش‌هایی که سبب کاهش سرعت تجزیه غلات شود فرصت کافی را به دیواره شکمبه برای جذب اسیدهای چرب فرار می‌دهد و بنابراین، از کاهش اسیدیته در شکمبه و در نتیجه، مرگ باکتری‌ها و پروتوزوای جلوگیری می‌کند که این امر در ارتباط با نوع فرآوری مشهود بود.

نتایج حاصل از تأثیر شکل فیزیکی علوفه و نوع فرآوری غله بر فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز در سه بخش داخل سلولی، خارج سلولی، جامد و کل مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در جدول ۴ گزارش شده است. فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز در سه بخش سلولی، خارج سلولی، جامد و کل مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با یونجه پلت بیشتر از یونجه خرد شده بود، اما تفاوت معنی‌دار نبود. همچنین بین تیمارهای مختلف از لحاظ نوع فرآوری، فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز در سه بخش سلولی، خارج سلولی، جامد و کل مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جو آردی و جو بود. فعالیت آنزیم میکروکریستالین سلولاز در سه بخش سلولی، خارج سلولی، جامد و کل مایع شکمبه تحت تأثیر نوع فرآوری قرار نگرفت. همچنین هیچ تفاوت معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز مایع شکمبه بره‌ها هنگام بررسی اثر متقابل بین شکل فیزیکی علوفه و نوع فرآوری غله در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$).

نتایج آزمایش حاضر مخالف با یافته‌های محقق دیگر در بره‌های پرواری است که فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک (شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز) در بخش جامد، درون سلولی و خارج سلولی شکمبه را اندازه‌گیری کردند و در رابطه با تأثیر عامل شکل فیزیکی در میزان فعالیت آنزیم‌های شکمبه‌ای در تغذیه بره‌های پرواری از جیره آردی و بلوک، نشان دادند که عامل شکل فیزیکی موجب کاهش معنی‌داری در فعالیت کل کربوکسی متیل سلولاز شد و این گزارش با نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر مغایرت دارد (Mir Mohammadi, 2013). تفاوت در نتایج به‌دست آمده در این تحقیق را می‌توان به نوع جیره و شرایط نگهداری دام و مدیریت

جدول ۴- تأثیر شکل فیزیکی علوفه و نوع فرآوری غله بر فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز (میکرومول گلوکز آزاد شده در ساعت در هر میلی لیتر مایع شکمبه)

Table 4- The effect of physical form of forage and type of grain processing on the carboxymethyl cellulase and microcrystalline cellulase enzymes (micromoles of glucose released per hour per ml of ruminal fluid)

تیمارها Treatments	میکروکریستالین سلولاز Microcrystalline cellulase				کربوکسی متیل سلولاز Carboxy methyl cellulase			
	بخش سلولی Cellular part	بخش جامد Solid part	بخش سلولی Extracellular part	کل Total	بخش سلولی Cellular part	بخش جامد Solid part	بخش سلولی Extracellular part	کل Total
شکل فیزیکی Physical shape								
یونجه خرد شده Chopped alfalfa	129.05	65.02	236.24	430.33	132.49	60.84	238.07	431.42
یونجه پلت شده Pelleted alfalfa	149.92	72.83	265.72	488.48	166.50	80.98	272.94	520.43
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	1.732	1.150	0.723	2.875	0.923	1.011	0.851	1.673
سطح معنی‌داری P value	0.229	0.258	0.337	0.297	0.189	0.231	0.278	0.315
نوع فرآوری Type of processing								
جو سالم Whole barley grain	140.32	65.52	238.93	444.78	152.17	66.49	244.46	463.13
جوآردی Milled barley grain	137.10	69.38	258.14	464.62	146.39	79.64	255.59	481.63
جو فلیک شده Flaked barley grain	141.05	71.88	255.88	468.81	149.91	66.63	266.48	483.02
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	2.120	1.401	0.886	3.519	1.129	1.241	1.042	2.044
سطح معنی‌داری P value	0.388	0.391	0.352	0.311	0.401	0.345	0.289	0.311
اثر متقابل شکل فیزیکی × نوع فرآوری Interaction physical shape × type of processing								
یونجه خرد شده × جو سالم Chopped alfalfa × whole barley grain	133.01	62.20	223.75	418.96	124.91	54.49	225.87	405.28
یونجه خرد شده × جوآردی Chopped alfalfa × Milled barley grain	131.56	64.90	237.82	424.28	141.39	69.23	239.36	449.98
یونجه خرد شده × جو فلیک شده Chopped alfalfa × flaked barley grain	122.60	67.98	247.16	437.75	131.17	58.83	248.99	439.00
یونجه پلت شده × جو سالم Pelleted alfalfa × whole barley grain	147.65	68.85	254.09	470.59	179.44	78.48	263.06	520.98
یونجه پلت شده × جوآردی Pelleted alfalfa × Milled barley grain	142.65	73.86	287.47	494.97	151.40	90.04	271.82	513.27
یونجه پلت شده × جو فلیک شده Pelleted alfalfa × flaked barley grain	159.49	75.78	264.59	499.88	168.65	74.46	283.96	527.04
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	2.996	1.985	1.253	4.977	1.594	1.754	1.475	2.890
سطح معنی‌داری P value	0.915	0.845	0.626	0.529	0.385	0.521	0.295	0.289

^a و ^b حروف غیرمتشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی هستند ($P < 0.05$).

^{a,b} Different letters in columns represent significant differences between the experimental groups ($P < 0.05$).

جدول ۵- تأثیر شکل فیزیکی علوفه و فرآوری غله بر فرانسجه‌های خونی (میلی گرم بر دسی لیتر)

Table 5- The effect of physical form of forage and grain processing on blood parameters (mg/dl)

تیماها Treatments	گلوکز Glucose	اوره Urea	کلسترول Cholesterol	تری گلیسیرید Triglyceride	لیپوپروتئین با چگالی بالا HDL	لیپوپروتئین با چگالی پایین LDL
شکل فیزیکی Physical shape						
یونجه خرد شده Chopped alfalfa	67.81	14.69	76.39	20.52	65.91	24.54
یونجه پلت شده Pelleted alfalfa	76.31	11.49	78.85	23.54	71.56	27.51
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.234	0.879	0.091	0.093	0.159	0.071
سطح معنی‌داری P value	0.399	0.449	0.230	0.420	0.071	0.685
نوع فرآوری Type of processing						
جو سالم whole barley grain	69.22 ^c	14.20 ^a	76.95	21.09	66.67	25.06
جو آردی Milled barley grain	72.89 ^b	12.86 ^b	77.26	22.02	69.21	25.96
جو فلیک شده Flaked barley grain	74.06 ^a	12.21 ^c	78.65	22.97	70.32	27.04
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.286	0.107	0.112	0.115	0.194	0.088
سطح معنی‌داری P value	0.008	0.045	0.185	0.350	0.068	0.650
اثر متقابل شکل فیزیکی × نوع فرآوری Interaction physical shape × type of processing						
یونجه خرد شده × جو سالم Chopped alfalfa × whole barley grain	66.26	15.88	75.72	19.69	64.64	23.64
یونجه خرد شده × جو آردی Chopped alfalfa × milled barley grain	68.66	14.21	76.16	20.51	66.05	24.42
یونجه خرد شده × جو فلیک شده Chopped alfalfa × flaked barley grain	68.52	13.98	77.29	21.35	67.03	25.54
یونجه پلت شده × جو سالم Pelleted alfalfa × whole barley grain	72.19	12.52	78.19	22.48	68.70	26.48
یونجه پلت شده × جو آردی Pelleted alfalfa × milled barley grain	77.12	11.51	78.36	23.54	72.38	27.51
یونجه پلت شده × جو فلیک شده flaked barley grain × pelleted alfalfa	79.62	10.44	80.01	24.59	73.59	28.53
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.405	0.152	0.158	0.162	0.275	0.124
سطح معنی‌داری P value	0.069	0.056	0.276	0.389	0.062	0.619

^a و ^b حروف غیرمتشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی هستند ($P < 0.05$).

^{a,b} Different letters in columns represent significant differences between the experimental groups ($P < 0.05$).

مشاهده نکرد؛ علت را می‌توان در نوع غله مصرفی، نوع فرآوری، میزان کنسانتره، مصرف همزمان چند نوع غله و سطوح غله مصرفی

کاظمی (Kazemi, 2017) با بررسی تأثیر فرآوری‌های فیزیکی دانه ذرت بر گلوکز مغایر با نتایج این پژوهش تفاوت معنی‌داری

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از آزمایش حاضر نشان می‌دهد که به‌کار بردن علوفه یونجه به‌صورت پلت شده و جو به‌صورت فلیک شده، در جیره گوسفند پرواری به‌دلیل روند افزایشی در هضم نیتروژن، کاهش معنی‌دار در نیتروژن اوره‌ای خون و روند افزایشی در تعداد کل باکتری‌ها و آنزیم‌های میکروکریستالین سلولاز و کربوکسی متیل سلولاز شکمبه سبب بهبود عملکرد شکمبه و در نهایت، موجب تضمین سلامت دام می‌شود.

جیره دانست. نتایج این پژوهش بیانگر عدم تأثیر معنی‌دار فرآوری‌های جو بر روی اوره خون، کلسترول و تری‌گلیسیرید خون بره‌های پرواری بود، که با نتایج بررسی کاظمی (Kazemi, 2017) در ارتباط با تأثیر فرآوری‌های فیزیکی دانه ذرت در بره‌های افشاری مطابقت داشت. همچنین با فرآوری دانه جو به دو صورت فلیک شده، و آسیاب شده گزارش کردند که فرآوری به‌صورت فلیک شده، باعث کاهش گلوکز خون گردید، اما این کاهش معنی‌دار نبود که با نتایج این پژوهش مطابقت ندارد (Babaei et al., 2015).

References

- Abbasi, M., Bashtani, M., Foroughi, A., Ganji, F., & Farhangfar, H. (2016). Comparison of flour and pellet concentrate on lactation performance, nutritional behaviors and some blood metabolites in lactating cows. *Journal of Animal Science Research*, 26(3), 162-151. (In Persian).
- Agarwal, N., Agarwal, I., Kamra, D. N., & Chaudhary, L. C. (2000). Diurnal variations in the activities of hydrolytic enzymes in different fractions of rumen contents of Murrah buffalo. *Journal of Applied Animal Research*, 18, 73-80. DOI: <https://doi.org/10.1080/09712119.2000.9706325>
- Asadi, M., Toghdory, A., Ghoorchi, T., & Kargar, S. (2018). Effect of physical form of the concentrate and buffer type on the rumen and blood parameters and microbial protein synthesis in fattening Dalagh lamb. *Animal Science Journal (Pajouhesh and Sazandegi)*, 122, 143-158. (In Persian). DOI: <https://doi.org/10.22069/ejrr.2018.14976.1632>
- Babaei, M., Chashnidel, Y., & Dirande, A. (2015). Effect of cobalt and barley grain processing on yield, nutrient digestibility and ruminal and blood parameters in fattening stages. *Journal of Animal Science Research*, 1-13. (In Persian). DOI: <https://doi.org/20.1001.1.22520872.1395.5.1.1.1>
- Bonhomme, A. (1990). Rumen ciliates: Their metabolism and relationships with bacteria and their hosts. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 30(3-4):203-266. DOI: [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(90\)90016-2](https://doi.org/10.1016/0377-8401(90)90016-2)
- Dehority, B.A. (1984). Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(1):182-185. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.48.1.182-185.1984>
- Delahoy, J. E., Muller, L. D., Bargo, F., Cassidy, T. W., & Holden, L. A. (2003). Supplemental carbohydrates sources for lactating dairy cows on pasture. *Journal of Dairy Science*, 86:906- 915. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73673-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73673-X)
- Dousti, F., Ghoorchi, T., Sepahvand, A., Dastar, B., & Azarfar, A. (2018). The effect of different levels olive cake in fermentation parameters, enzyme cellulytic and the rumen microbial protein production Lory male Lambs. *Irianian Journal of Animal Science Research*, 9(4):424-436. (In Persian). DOI: <https://doi.org/10.22067/ijasr.v9i4.56420>
- Fluharty, F. L., Zerby, H. N., Lowe, G. D., Clevenger, D. D., & Relling, A. E. (2017). Review of Effects of feeding corn silage, pelleted, ensiled, or pelleted and ensiled alfalfa on growth and carcass characteristics of lamb. *South African Journal of Animal Science*, 47:5-19. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v47i5.14>
- Ghoorchi, T., & Seyed Almoosavi, S. M. M. (2018). Ruminant Nutrition Principles. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources Publications, Iran. 310 pp. (In Persian).
- Horadagoda, A., Fulkerson, W., Barchia, I., Dobos, R., & Nandra, K. (2008). The effect of grain species, processing and time of feeding on the efficiency of feed utilization and microbial protein synthesis in sheep. *Journal of Livestock Science*, 114:117-126. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2007.04.016>
- Hristov, A. N., McAllister, T. A., & Cheng, K. J. (1999). Effect of diet, digesta processing, freezing and extraction procedure on some polysaccharide degrading activities of ruminal contents. *Canadian Journal of Animal Science*, 79: 73-81. DOI: <https://doi.org/10.4141/A98-056>
- Jouany, J. P. & Ushida, K. (1999). The role of protozoa in feed digestion. *Asian- Australian Journal of Animal Science*, 12:113- 128. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.1999.113>
- Karimizadeh, E., Chaji, M., & Mohammadabadi, T. (2017). The effects of journal physical form of diet on nutrient digestibility. Rumen fermentation, rumination, growth performance and protozoa population of finishing lambs. *Journal of Animal Nutrition*, 3(2):139-144. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.01.004>
- Kazemi, F. (2017). The effect of barley replacement with processed corn on growth performance, dry matter digestibility, ruminal and blood parameters, microbial population, microbial protein, cellulase enzyme activity and economic profitability of Afshari lamb. Ph.D Thesis. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. (In Persian).

16. Kiran, D., & Mutsvangwa, T. (2007). Effects of barley grain processing and dietary ruminally degradable protein on urea nitrogen recycling and nitrogen metabolism in growing lambs. *Journal of Animal Science*, 85:3391–3399. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0081>
17. Leedle, J. A. Z., Barsuhn, I., & Hespell, R. B. (1986). Postprandial trends in estimated ruminal digesta polysaccharides and their relation to changes in bacterial groups and rumen fluid characteristics. *Journal of Animal Science*, 62:789-803. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas1986.623789x>
18. Martinez, M.E., Ranilla, M. J., Tejido, M. L., Saro, C., & Carro, M. D. (2010). Comparison of fermentation of diets of variable composition and microbial populations in the rumen of sheep and rusitec fermenters. II. Protozoa population and diversity of bacterial communities. *Journal of Dairy Science*, 93:3699-3712. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2934>
19. Masumimghodam, M. (2015) Effect of dietary non-fibrous carbohydrate level and barley grain processing on yield, nutrient digestibility and carcass characteristics of fattening lambs. M.Sc. Thesis, Yasuj University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Yasuj, Iran. (In Persian).
20. Mir Mohammadi, D. (2013). The effect of physical form of feed in diets with and without broiler litter on the performance of fattening lambs. M.Sc. Thesis. Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. (In Persian).
21. Miller, J. L. 1959. Modified DNS method for reducing sugars. *Analytical Chemistry*, 31:426–429. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ac60147a030>
22. National Research Council. (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervide and New York Camelids. National Academy of Science, Washington, DC.
23. Santra, S., & Karim, S. A. (2000). Growth performance of faunated and defaunated Malpura weaner lambs. *Journal of Animal Feed Science Technology*, 86:251-260.
24. Sufi Siavash, R., & Janmohammadi, H. (2009). Livestock Nutrition. Translation. Amidi Publications, Tabriz, Iran. (In Persian).
25. Valizadeh Ghalebeig, A., Ghoorchi, T., & Hasani, S. (2020). Effects of physicochemical processing of wheat grain on ruminal microbial population, biochemical parameters and blood safety in Afshari male lambs. *Scientific Research Journal of Animal Environment*, 12(3):41-51. (In Persian). DOI: <https://doi.org/10.22034/aej.2020.110258>
26. Woodward, A., & Reed, J.D. (1997). Nitrogen metabolism of sheep and goats consuming *Acacia brevispica* and *Sesbania sesban*. *Journal of Animal Science*, 75:1130-1139. DOI: <https://doi.org/10.2527/1997.7541130x>



Comparison of Organic and Mineral Selenium on Performance, Microbial Population, Intestinal Histopathology and Cecum Acidity of Laying Hens

Zahra Tahami¹, Behrouz Dastar^{2*}, Ehsan Oskoueian³, Seyed Reza Hashemi⁴

Received: 14-08-2022

Revised: 04-10-2022

Accepted: 17-10-2022

Available Online: 17-10-2022

How to cite this article:

Tahami, Z., Dastar, B., Oskoueian, E., & Hashemi, S.R. (2023). Comparison of Organic and Mineral Selenium on Performance, Microbial Population, Intestinal Histopathology and Cecum Acidity of Laying Hens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 15(2), 185-197.
DOI:10.22067/ijasr.2022.78197.1096

Introduction: Selenium is an essential mineral for many metabolic functions of the body, including the activation of enzymes and the optimal biochemical and physiological function of birds (Antongiovanni *et al.*, 2007). Selenium protects cell membranes from oxidative damage and can therefore improve nutrient efficiency (Arner *et al.*, 2012). The small intestine is the most important part in the digestion and absorption of nutrients, while the large intestine and intestinal tract are very important areas for the accumulation of microbes (Chitra *et al.*, 2013). Gastrointestinal health is one of the most important and effective factors in bird function. Gastrointestinal microbial population affects the nutrition and health of various animal species, including poultry. These microorganisms need trace elements such as selenium to perform their normal metabolic functions. Selenium may affect bacterial cells by disrupting the respiratory chain (Pappas *et al.*, 2005). In addition to improving the quality and composition of intestinal microflora, selenium can have a positive effect on the morphology of the intestine as an antioxidant (Haghighi-khoshkhoo *et al.*, 2010). Despite these benefits, the effect of selenium on intestinal microbial population is largely unknown, so the aim of this study was to investigate the effect of different levels of organic and inorganic selenium in the diet on microbial population, intestinal morphology and intestinal acidity in laying hens.

Materials and Methods: The experiment was conducted in a completely randomized design with 300 laying hens of high-line strains from 23 to 35 weeks of age with 5 treatments, 6 replications and 10 hens per replication. Experimental treatments include 1- Base diet (without selenium), 2- Base diet + 0.5 mg/kg sodium-selenite, 3- Base diet + mg/kg 1 selenite-sodium, 4- Base diet + mg/kg 0.5 selenium-methionine, 5-base diet + 1 mg/kg selenium-methionine. At the end of the experiment, two birds were randomly selected from each replicate; To evaluate the microbial population, a sample of the contents of the cecum on the culture medium was used (1). Tissue samples were prepared and then measured using a microscope, villi length, villi width, crypt depth, and number of goblet cells (9). To measure acidity, samples were taken from the contents of the cecum, and acidity was measured by a pH meter.

Results and Discussion: The results indicate that consuming 1 mg/kg of selenium-methionine increased the villi area compared to the control treatment. The experimental treatments did not affect villi length, villi

1- Ph.D of Poultry Nutrition, Department of Animal and Poultry Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

2- Professor of Poultry Nutrition, Department of Animal and Poultry Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

3- Assistant Professor in Biotechnology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Mashhad, Iran.

4- Associate Professor in Poultry Physiology, Department of Animal and Poultry Genetics, Breeding and Physiology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

*Corresponding Author's Email: dastar@gau.ac.ir

width, crypt depth, number of goblet cells, and the ratio of villus length to crypt depth. The consumption of 1 mg/kg of selenium-methionine significantly decreased the population of *Salmonella* and increased the population of *Lactobacillus* in the cecal compared to other experimental treatments. The consumption of 0.5 and 1 mg/kg of selenium-methionine caused a significant decrease in the population of aerobic bacteria compared to the control treatment. The acidity of cecal contents in the treatment containing 1 mg/kg of selenium-methionine was significantly reduced compared to the control treatment. Several studies (Langhout *et al.*, 1999, Lukaszewicz *et al.*, 2011, Pappas *et al.*, 2005) have reported that using organic sources of selenium reduces the coliform population. In mice, dogs, and laying hens, selenium intake has been shown to increase the number of *Lactobacillus* and decrease *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in the cecum (Langhout *et al.*, 1999, Lukaszewicz *et al.*, 2011, Pappas *et al.*, 2005). Increasing the population of beneficial bacteria due to the provision of sufficient selenium for their synthesis is also an antioxidant property of selenium in preserving the life of these bacteria. It appears that beneficial bacteria, such as *Lactobacillus*, can competitively eliminate harmful bacteria such as *Escherichia coli* in the gut (Lukaszewicz *et al.*, 2011). An increase in the number of pathogenic bacteria in the intestine causes the villi to shorten and the lining to shrink (Attia *et al.*, 2010). Numerous studies demonstrate that the consumption of diets containing selenium compounds has destructive effects on harmful intestinal bacteria (Chantiratikul *et al.*, 2008, Hashemi *et al.*, 2012, Heindl *et al.*, 2010, Horn *et al.*, 2009, Langhout *et al.*, 1999). Adding organic selenium to the diet of broilers increases the weight of the intestines due to the growth of villi and intestinal lamina propria (Haghighi-khoshkhoo *et al.*, 2010, Heindl *et al.*, 2010). The lack of selenium consumption on morphology can be attributed to the levels of selenium used, as well as the bird's lack of stress. Selenium can exert its effect more effectively under stress conditions. Most harmful bacteria grow in an environment with acidity close to 7 or slightly higher, while beneficial bacteria multiply in an acidic environment and compete with pathogenic bacteria (Cooke *et al.* 1973). An increase in acidity leads to a decrease in *Escherichia coli* and *Salmonella* in the gastrointestinal tract. Therefore, the consumption of organic sources of selenium reduces the population of pathogenic microorganisms (aerobic bacteria, *Escherichia coli*, and *Salmonella*) and increases the population of *Lactobacillus* competitively, followed by an increase in gastrointestinal acidity. This improvement may lead to an increase in digestion, absorption, and performance (Kasaikina *et al.*, 2011).

Conclusion: According to the results of this study, it can be said that consuming organic sources of selenium (levels of one and 0.5 mg of selenium-methionine per kg of feed) significantly reduces the population of harmful aerobic bacteria, bacteria. *Salmonella* and *Escherichia coli* and cause a competitive increase in the beneficial population of *Lactobacillus*; The consequence of this operation is to increase the acidity of the cecum and reduce the damage and microbial destruction to the intestinal tissue, and therefore with positive changes in the morphology of the small intestine will lead to improved bird function.

Keywords: Intestinal morphology, Laying hens, Microbial population

مقایسه اثرات سطوح مختلف سلنیوم آلی و معدنی بر عملکرد، جمعیت میکروبی، ریخت‌شناسی روده و اسیدیته‌ی روده کور مرغ‌های تخم‌گذار

زهره تهامی^۱، بهروز دستار^{۲*}، احسان اسکویان^۳، سیدرضا هاشمی^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۲۵

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف سلنیوم آلی و غیرآلی در جیره بر عملکرد، جمعیت میکروبی، ریخت‌شناسی روده و اسیدیته روده کور مرغ‌های تخم‌گذار انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳۰۰ قطعه مرغ تخم‌گذار سوبه‌های-لاین از سن ۲۳ تا ۳۵ هفتگی با پنج تیمار، شش تکرار و ۱۰ قطعه مرغ در هر تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره پایه (فاقد سلنیوم)، ۲- جیره پایه + ۰/۵ mg/kg سلنیت-سدیم، ۳- جیره پایه + ۱ mg/kg سلنیت-سدیم، ۴- جیره پایه + ۰/۵ mg/kg سلنیوم-متیونین، ۵- جیره پایه + ۱ mg/kg سلنیوم-متیونین بودند. درصد تولید، توده وزنی و وزن تخم‌مرغ و در ریخت‌شناسی روده از جمله طول پرز، عرض پرز، عمق کریپت، تعداد سلول‌های گابلت، نسبت طول پرز به عمق کریپت و مساحت پرز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. مصرف یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم-متیونین سبب کاهش معنی‌دار جمعیت *سالمونلا* و افزایش معنی‌دار جمعیت *لاکتوباسیلوس* روده کور در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شد، با این حال بین تیمارهای آلی و معدنی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. مصرف ۰/۵ و یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم-متیونین سبب کاهش معنی‌دار جمعیت باکتری‌های هوازی نسبت به شاهد شد. اسیدیته محتویات روده کور در تیمار حاوی یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم-متیونین نسبت به شاهد و تیمارهای دریافت‌کننده سلنیت-سدیم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. از نتایج حاصل می‌توان نتیجه گرفت؛ مصرف یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم-متیونین با کاهش جمعیت *سالمونلا* و افزایش جمعیت *لاکتوباسیلوس* اثرات مثبتی بر ریخت‌شناسی روده داشته و سبب افزایش اسیدیته محتویات روده کور می‌شود.

واژه‌های کلیدی: جمعیت میکروبی، ریخت‌شناسی روده، مرغ تخم‌گذار.

مقدمه

(Al., 2013). سلنیوم یک جزء اساسی از آنزیم گلوکوتیون پراکسیداز است که در سم‌زدایی پراکسید هیدروژن و هیدروپراکسیدهای لیپیدی نقش بازی می‌کند و با اثر آنتی‌اکسیدانی سبب بهبود پاسخ‌های ایمنی می‌شوند (Koyancu and Yerlikaya, 2007).

روده کوچک مهم‌ترین بخش در زمینه هضم و جذب مواد مغذی می‌باشد، درحالی‌که روده بزرگ و روده کور نواحی بسیار مهمی برای

سلنیوم یک ماده معدنی است که برای بسیاری از اعمال متابولیکی بدن از جمله فعال شدن آنزیم‌ها و عملکرد مناسب بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی پرندگان ضروری است (Arner, 2012). سلنیوم غشای سلولی را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت نموده و در نتیجه، می‌تواند سبب بهبود کارایی استفاده از مواد مغذی شود (Chitra et

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

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

۳- استادیار بیوتکنولوژی پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی. مدیریت بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شرق و شمال شرق (مشهد)، ایران.

۴- دانشیار گروه ژنتیک، اصلاح و فیزیولوژی دام و طیور، دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

(Email: dastar@gau.ac.ir

*)- نویسنده مسئول:

الکترون در زنجیره تنفسی و سبب ایجاد اختلال می‌شود (Yang et al., 2009). ریزجانداران روده به وضعیت سلیوم جیره غذایی حساس هستند. نتایج نشان می‌دهد، جیره غذایی حاوی سلیوم می‌تواند بر ترکیب و تعداد باکتری‌های موجود و استقرار آن‌ها در دستگاه گوارش، تأثیر بگذارد (Zhihua et al., 2011). حدود یک چهارم از جمعیت میکروبی روده توانایی بیان سلنوپروتئین‌ها را دارد؛ بنابراین، آن‌ها برای رشد بهینه نیاز به سلیوم دارند. این استفاده از سلیوم توسط ریزجانداران در دسترس بودن این عنصر را برای بیان سلنوپروتئین‌های میزبان کاهش می‌دهد. در نتیجه، جمعیت میکروبی مقدار نیاز میزبان به سلیوم را افزایش می‌دهد (Kasaikina et al., 2011). به نظر می‌رسد باکتری‌های سودمند (از قبیل لاکتوباسیلوس) می‌توانند از طریق حذف رقابتی تعداد باکتری‌های مضر همانند/شریشیاکلاسی را در روده کاهش دهند. علاوه بر آن، در زمان استفاده از سلیوم غیرآلی، کاهش جمعیت لاکتوباسیل سبب افزایش جمعیت/شریشیاکلاسی در دیواره روده جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده سلیوم آلی می‌گردد (Ying et al., 2009). در واقع، سلیوم آلی دارای قابلیت زیستی و تعامل بهتری با باکتری‌های مفید و خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری نسبت به شکل‌های دیگر آن است؛ علاوه بر این فرم آلی در مقایسه با معدنی سمیت کم‌تری دارد (Utterback et al., 2005). در موش، سگ و مرغ تخم‌گذار گزارش کردند که مصرف سلیوم منجر به افزایش قابل‌توجهی در تعداد لاکتوباسیلوس‌ها و همچنین کاهش معنی‌داری در جمعیت باکتری‌های/شریشیاکلاسی و/ستافیلوکوکوس در روده کور می‌گردد (Zhihua et al., 2011; Yang et al., 2009; Ying et al., 2009). اسیدپتیه مناسب تجمع باکتری‌های بیماری‌زا را در دیواره‌ی روده باریک کاهش داده، جمعیت باکتری‌های مفید را به‌شکل رقابتی افزایش و باعث کاهش تولید ترکیبات سمی باکتری‌ها و تغییر در ریخت‌شناسی دیواره روده پرنده‌گان شده و در نتیجه، از تخریب و آسیب سلول‌های مخاطی دیواره روده جلوگیری می‌کند (Garcia et al., 2007). بیشتر باکتری‌های بیماری‌زا در اسیدپتیه نزدیک به هفت یا کمی بالاتر از آن رشد می‌کنند، درحالی‌که ریزجانداران مفید در محیط اسیدی رشد و تکثیر می‌شوند و با باکتری‌های بیماری‌زا رقابت می‌کنند (Ford, 1974). افزایش اسیدپتیه منجر به کاهش باکتری‌های/شریشیاکلاسی و سالمونلا در دستگاه گوارش می‌شود. با مصرف منابع آلی سلیوم جمعیت ریزجانداران بیماری‌زا (باکتری‌های هوازی،/شریشیاکلاسی و سالمونلا) کاهش و به شکل رقابتی جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها افزایش پیدا می‌کند و به دنبال افزایش فعالیت لاکتوباسیل‌ها اسیدپتیه دستگاه گوارش افزایش یافته که منجر به بهبود هضم و جذب و عملکرد خواهد شد (Samik et al., 2007).

با توجه به مطالبی که بیان شد از آنجا که هنوز جنبه‌های زیادی

استقرار میکروب‌ها هستند (Ebrahimi, 2007). سلامتی دستگاه گوارش یکی از عوامل مهم و مؤثر در عملکرد پرنده می‌باشد. مواد مغذی، الکترولیت‌ها از طریق پرزهای روده کوچک جذب می‌شود که ارتفاع پرزها می‌تواند بر هضم و جذب مواد غذایی مؤثر باشد (Ghiassi Ghalehkandi et al., 2011). ریخت‌شناسی پرزهای روده و سلول‌های اپیتلیال به عملکرد و سرعت رشد روده مربوط می‌شود که در آن افزایش ارتفاع پرزهای روده نشان‌دهنده فعال بودن عملکرد پرزهای روده است (Langhout et al., 1999). کمبود سلیوم باعث التهاب مخاط روده می‌شود (Liu et al., 2016). نتایج نشان می‌دهند که کمبود سلیوم بر مخاط و سلول‌های ژژنوم تأثیر می‌گذارد. عوامل زیادی مانند سن، میکروفلور روده و مواد غذایی بر روی ارتفاع پرزها و رشد تأثیر می‌گذارد (Wang et al., 2011). نتایج برخی از پژوهش‌های محققین حاکی از تأثیر مثبت افزودن سلیوم بر پارامترهای روده می‌باشد. گزارش شده است سلیوم آلی تأثیر مثبتی در محافظت از پرزهای روده در برابر بیماری‌ها دارد و باعث افزایش طول پرزها و عمق کریپت در ژژنوم و ایلئوم نسبت به سلیت سدیم و یا بدون سلیوم در جوجه گوشتی شد (Read-Snyder et al., 2009). احمدی و همکاران (Ahmadi et al., 2019) گزارش کردند استفاده از سطوح مختلف سلیوم در بلدرچین ژاپنی، هیچ تأثیری بر طول پرز روده کوچک ندارد، اما به‌طور معنی‌داری باعث افزایش عمق کریپت در ۳۵ روزگی شد. نانوسلیوم (۰/۱ تا ۰/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر وزن، طول و عرض دوازدهه ژژنوم و ایلئوم تأثیری نداشت. گزارش کردند مکمل نانوسلیوم بر ارتفاع پرزها در تمام قسمت‌های روده به‌جز ایلئوم روده جوجه گوشتی مؤثر بود (Zamani-Moghaddam et al., 2017). نتایج نشان داده است مصرف مخمرسلیوم در جوجه گوشتی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش طول پرز، نسبت طول پرز به عمق کریپت شد (Tong et al., 2020).

جمعیت میکروبی دستگاه گوارش بر تغذیه و سلامتی گونه‌های مختلف حیوانی از جمله طیور تأثیر می‌گذارد. این میکروب‌های روده موجوداتی زنده بوده و دارای احتیاجات غذایی هستند، بنابراین توانایی هضم و جذب در دستگاه گوارش حیوان، وابسته به گونه گسترش یافته و کل جمعیت میکروب‌های آن می‌باشد (Ebrahimi, 2007). ریزجانداران روده‌ای نقش مهمی در تنظیم فرایندهایی مانند بلوغ و تکثیر سلول‌های روده، هضم غذا، حفاظت از باکتری‌های بیماری‌زا و پاسخ مخاط ایمنی بدن دارند (Hattori and Taylor, 2009). در باکتری‌های هوازی نظیر/شریشیاکلاسی، تولید انرژی از طریق آنزیم‌های تنفسی که به زنجیره تنفسی متکی هستند، انجام می‌گیرد؛ به احتمال زیاد سلیوم با برهم‌زدن زنجیره تنفسی باعث اثرگذاری بر سلول‌های باکتری می‌شود (Zhihua et al., 2011). با بررسی تعامل بین سلیوم و آنزیم‌های زنجیره تنفسی در/شریشیاکلاسی مشخص شد سلیوم از طریق یکسری از مکانیسم‌های ناشناخته باعث جلوگیری از حمل‌ونقل

میکرون تهیه و با روش هماتوکسیلین-اُوزین رنگ آمیزی شد. نمونه بافتی تهیه شد و سپس با استفاده از میکروسکوپ نوری، پارامترهای طول ویلی، عرض ویلی، عمق کریپت و تعداد سلول‌های گابلت اندازه گیری شد. همچنین نسبت طول ویلی به عمق کریپت محاسبه شد (Haghighi-Khoshkhou et al., 2010). مقدار یک گرم از محتویات روده کور در شرایط بدون آلودگی برداشته شد و در ۹ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد. این مخلوط تا غلظت 10^{-7} رقیق سازی شد. سری رقت با استفاده از محلول استریل بافر فسفات PBS تهیه و شمارش باکتری‌های منتخب به روش قطره‌ای و محیط‌های کشت مناسب به شرح زیر انجام شد. این رقت‌های ساخته شده میزان ۱۰۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت MRS جهت شمارش باکتری‌های تولیدکننده لاکتیک اسید کشت شد. در محیط کشت Macconkey agar برای شمارش /شرشیاکلای و محیط کشت Brilliant green agar جهت شمارش سالمونلا، شمارش کل جمعیت باکتری‌های هوازی از محیط کشت Nutrient agar به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. پس از طی زمان انکوباسیون تعداد کلنی‌های رشد کرده روی پلت‌ها که بین ۳۰ تا ۳۰۰ بودند، شمارش شدند و جمعیت باکتری‌ها بر اساس CFU/g محتویات روده کور گزارش شد (Hashemi et al., 2012). برای محاسبه اسیدیته روده کور، یک گرم از محتویات روده کور برداشته و در نه میلی لیتر آب دی‌یونیزه ریخته شد، سپس به وسیله پی‌اچ‌متر اندازه‌گیری شد. داده‌های آزمایش پس از بررسی‌های لازم از نظر نرمال بودن و آزمون همگنی واریانس‌ها توسط نرم‌افزار SAS (SAS, 2013) در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه واریانس شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، نتایج نشان می‌دهد درصد تولید، توده وزنی تخم‌مرغ و متوسط وزن تخم‌مرغ تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ($P > 0.05$). نتایج حاصل از مصرف سلنیوم آلی و معدنی بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی در رابطه با وزن در تخم‌گذار می‌باشد؛ به این ترتیب که بالاترین وزن نهایی بدن در تیمار یک میلی گرم در کیلوگرم سلنیوم معدنی مشاهده شد، درحالی‌که کمترین وزن بدن در تیمارهای بدون سلنیوم و تیمار یک میلی گرم در کیلوگرم سلنیوم آلی مشاهده شد ($P < 0.05$)؛ سایر مقایسات تیماری تفاوت معنی‌داری با هم نشان ندادند ($P > 0.05$).

از تأثیر مصرف منابع مختلف سلنیوم بر عملکرد طیور ناشناخته است لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر سطوح مختلف سلنیوم آلی و غیرآلی در جیره بر عملکرد، جمعیت میکروبی، ریخت‌شناسی روده و اسیدیته روده کور در مرغ‌های تخم‌گذار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آزمایشی به مدت ۱۲ هفته با استفاده از ۳۰۰ قطعه مرغ تخم‌گذار سفید واریته‌های-لین W-36 در مجموعه زنجیره تولیدی صالح کاشمر انجام شد. پس از دو هفته دوره سازگاری، مرغ‌ها به صورت انفرادی توزین و در واحدهای آزمایشی توزیع و تیمارها به طور تصادفی به آن‌ها اختصاص یافت. میانگین وزن ابتدایی مرغ‌ها 140.0 ± 15.0 گرم بود. مرغ‌ها در شروع آزمایش ۲۳ هفته سن داشتند و با توجه به احتیاجات غذایی توصیه شده در راهنمای مدیریت تجاری سویه W-36 (سال ۲۰۱۵) با فرمول ذکر شده در جدول ۱ تغذیه شدند. هر تیمار شامل شش تکرار و ۱۰ قطعه مرغ تخم‌گذار بود. تیمارهای آزمایشی مورد استفاده در این مطالعه شامل: ۱- شاهد (جیره پایه فاقد سلنیوم)، تیمار ۲- جیره پایه + ۰/۵ میلی گرم در کیلوگرم سلنیت-سدیم، تیمار ۳- جیره پایه + ۱ میلی گرم در کیلوگرم سلنیت-سدیم، تیمار ۴- جیره پایه + ۰/۵ میلی گرم در کیلوگرم سلنیوم-متیونین، تیمار ۵- جیره پایه + ۱ میلی گرم در کیلوگرم سلنیوم-متیونین بود. سلنیوم معدنی مورد استفاده به شکل سلنیت-سدیم (Na_2SeO_3) با خلوص ۴۲ در صد و سلنیوم آلی به شکل سلنیوم-متیونین با خلوص ۲۰۰۰ قسمت در میلیون بود. سلنیوم-متیونین مورد استفاده در این آزمایش تولید شده در شرکت دانش بنیان توسعه مکمل زیست‌فناور آریانا بود. در طی آزمایش مرغ‌ها دسترسی آزاد به آب و خوراک داشتند و برنامه نوردی سالن شامل ۱۶ ساعت روشنائی و هشت ساعت تاریکی بود و سعی شد تا تمامی شرایط پرورش نظیر نور و دما مطابق با راهنمای پرورش سویه باشد. مرغ‌ها در انتهای آزمایش برای محاسبه میانگین وزن پایان دوره به صورت انفرادی توزین و محاسبات آماری انجام می‌شود. تخم‌مرغ‌های تولیدی روزانه و در ساعت مشخصی جمع‌آوری و توزین می‌شدند. درصد تولید از تقسیم تعداد تخم‌مرغ تولیدی به تعداد مرغ موجود و وزن توده تخم‌مرغ تولیدی از حاصل ضرب درصد تولید در میانگین وزن تخم‌مرغ محاسبه شد.

در انتهای دوره آزمایش از هر تکرار دو قطعه پرنده که به میانگین وزن آن تکرار نزدیک بود، به طور تصادفی انتخاب و کشتار شد. به منظور بررسی ریخت‌شناسی روده باریک حدود ۰/۵ سانتی‌متر از بافت ژل‌نوم را بریده، به وسیله آب مقطر شست و شو داده و داخل فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شد. سپس، مقاطع عرضی با ضخامت پنج

جدول ۱- اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌ی پایه

اجزا متشکله Components	%
ذرت Corn (CP=8%)	58.7
کنجاله سویا Soybean meal (CP=44%)	30
روغن سویا Soybean oil	1.2
کربنات کلسیم Calcium carbonate	7
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	2
کلرید سدیم Sodium chloride	0.28
دی‌ال‌متیونین DL-Methionine	0.2
ال‌لیزین هیدروکلرید L-Lysine HCl	0.12
مکمل معدنی (بدون سلنیوم) ^۱ Mineral premix (without selenium) ¹	0.25
مکمل ویتامینه ^۲ Vitamin premix ²	0.25
ترکیب شیمیایی Chemical composition	
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم) Metabolizable energy (Kcal/kg)	2840
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	17.02
کلسیم (درصد) Calcium (%)	4.4
فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorous (%)	0.52
لیزین قابل هضم (درصد) Digestible lysine (%)	0.94
متیونین قابل جذب (درصد) Digestible methionine (%)	0.45
متیونین سیستین قابل جذب (درصد) Digestible methionine+cystine (%)	0.7
تبادل آنیون-کاتیون (میلی‌اکی‌والان/گرم) (mEq/g) Anion-cation balance	217

^۱ هر کیلوگرم از جیره حاوی: ۵۵ میلی‌گرم آهن، ۸۸ میلی‌گرم منگنز، ۸۸ میلی‌گرم روی، ۵/۵ میلی‌گرم مس، ۱/۷ میلی‌گرم ید.

^۲ هر کیلوگرم از جیره حاوی: ۸۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۳۳۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۱۶۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۲/۲ میلی‌گرم ویتامین K₃، ۲/۵ میلی‌گرم ویتامین B₁، ۵/۵ میلی‌گرم ویتامین B₂، ۲۸ میلی‌گرم ویتامین B₃، ۶/۶ میلی‌گرم ویتامین B₅، ۳/۳ میلی‌گرم ویتامین B₆، ۰/۶ میلی‌گرم ویتامین B₉، ۲۲/۱ میلی‌گرم ویتامین B₁₂، ۵۵ میلی‌گرم بیوتین، ۱۱۰ گرم کولین کلراید و ۴۰۰ میلی‌گرم B.H.T. بود.

¹ Provides per kilogram of diet: Iron, 55 mg; manganese, 88 mg; zinc, 88 mg; copper, 5.5mg; iodine, 1.7 mg.

² Provides per kilogram of diet: vitamin A, 8800000 IU; vitamin D₃, 3300000 IU; vitamin E, 16500 IU; vitamin K₃, 2.2 mg; vitamin B₁, 2.5 mg; vitamin B₂, 5.5 mg; vitamin B₃, 28 mg; vitamin B₅, 6.6 mg; vitamin B₆, 3.3 mg; vitamin B₉, 0.6 mg; vitamin B₁₂, 22.1 mg; vitamin B₇, 55 mg and choline chloride, 110 g.

مقایسه با سلنیوم معدنی سبب افزایش معنی‌دار در صد تولید تخم‌مرغ می‌شود (Scheideler et al., 2010). تناقضات مشاهده در بین نتایج محققین می‌تواند به سطوح سلنیوم مورد استفاده در جیره پایه برگردد. افزودن مکمل سلنیوم به جیره باعث افزایش وزن نهایی در جوجه‌های گوشتی شد (Heindl et al., 2010). سلنیوم جزئی از آنزیم ۵-یدوتیرونین‌دی‌یدیناز است. این آنزیم کاتالیزور واکنش تبدیل تیروکسین (T₄) به تیروییدوتیرونین (T₃) است و در نتیجه، سلنیوم با نقشی که در هورمون تیروئید دارد، باعث بهبود رشد می‌شود. سلنیوم آلی و معدنی بر عملکرد پرند، در پاسخ رشد پرندگان به مکمل سلنیوم به سطح استرس پرند بستگی دارد. پرندگانی که با مکمل آلی در سلنیوم تغذیه شدند، افزایش وزن روزانه بیشتری داشتند (Holovsk et al., 2013).

مشابه با نتایج این بررسی بسیاری از محققین گزارش کرده‌اند که استفاده از مکمل سلنیوم در جیره تأثیری بر تولید تخم‌مرغ، وزن تخم‌مرغ و توده وزنی در مرغ‌های تخم‌گذار ندارد (Chantiratikul et al., 2008; Jiakui and Xialong, 2004). نتایج نشان دادند مصرف سلنیوم آلی در مرغ‌های تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری بر درصد تولید تخم‌مرغ نداشت (Payne et al., 2005; Utterback et al., 2005). از سوی دیگر، برخی نتایج حاکی از افزایش درصد تولید تخم‌مرغ، توده وزنی تخم‌مرغ با مصرف منابع سلنیوم می‌باشد که با نتایج این بررسی در تضاد است. نتایج بررسی Attia و همکاران (Attia et al., 2010) نشان داد، مصرف سلنیوم مخمر در جیره مرغ‌های تخم‌گذار سبب افزایش معنی‌دار وزن تخم‌مرغ و وزن توده تخم‌مرغ در مقایسه با سلنیوم معدنی شد. مصرف ۰/۲ قسمت در میلیون سلنیوم به شکل معنی‌داری سبب بهبود بازده تخم‌مرغ شد. مصرف مخمر سلنیوم در

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر پارامترهای تولید تخم مرغ در کل دوره تولید مرغ‌های تخم‌گذار

Table 2- Effect of experimental treatments on the egg production traits of laying hens in whole production period

تیمارهای آزمایشی Treatments	درصد تولید (%) Egg production (%)	توده وزنی (گرم/پرند/روز) Egg mass (g/hen/d)	وزن تخم‌مرغ (گرم) Egg weight (g)	وزن بدن (کیلوگرم) Body weight (kg)
شاهد Control	91.01	50.34	55.29	1495.38 ^b
سلنیت-سدیم ۰/۵ SeNa0.5	92.40	51.45	55.65	1520.37 ^{ab}
سلنیت-سدیم ۱ SeNa1	91.96	51.32	55.80	1549.15 ^a
سلنیوم-متیونین ۰/۵ SeMet0.5	90.83	50.17	55.24	1524.33 ^{ab}
سلنیوم-متیونین ۱ SeMet1	90.08	49.47	54.92	1506.16 ^b
خطای معیار SEM	1.681	1.091	0.351	0.013
سطح احتمال P-value	0.872	0.681	0.432	9.51

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

Values within a column with different superscripts different at ($P < 0.05$).

میکروفلور روده و مواد غذایی بر روی ارتفاع پرزها و رشد تأثیر می‌گذارد (Yamauchi et al., 2006). تغییر در دیواره‌ی روده و سطح جذب مواد مغذی را به حضور ریز جانداران بیماری‌زا ربط داده‌اند؛ افزایش تعداد باکتری‌های بیماری‌زا در روده عامل کوتاه شدن پرزها و کاهش لایه‌های پوششی است (Cooke and Bird, 1973). مشابه با نتایج این تحقیق، نتایج بررسی‌های متعددی نشان می‌دهد، مصرف جیره‌های حاوی ترکیبات سلنیوم اثرات از بین برنده‌ای بر باکتری‌های مضر روده دارد (Dhingra and Bansal, 2006; Lukaszewicz et al., 2006).

جدول ۳ تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ریخت‌شناسی ژژنوم در مرغ تخم‌گذار را نشان می‌دهد. طول پرز، عرض پرز، عمق کریپت، تعداد سلول‌های گابلت، نسبت طول پرز به عمق کریپت و مساحت پرز تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$). بررسی ساختار بافتی قسمت ژژنوم روده باریک از این نظر می‌تواند مهم باشد که طبق گزارش‌های انجام‌شده این قسمت از روده باریک به‌عنوان ناحیه عمده جذب از دستگاه گوارش در نظر گرفته می‌شود (Hattori and Taylor, 2009). عوامل زیادی مانند سن،

شد ($P < 0.05$). با این حال، تفاوت معنی‌داری در جمعیت باکتری‌های هوازی بین تیمارهای مصرف‌کننده سطوح ۰/۵ و یک میلی گرم در کیلوگرم سلنیوم-متیونین مشاهده نشد ($P > 0.05$). مصرف یک میلی گرم در کیلوگرم سلنیوم-متیونین سبب افزایش معنی‌دار جمعیت *لاکتوباسیلوس* روده کور در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شد ($P < 0.05$). همچنین مصرف ۰/۵ میلی گرم در کیلوگرم سلنیوم-متیونین و یک میلی گرم در کیلوگرم سلنیت-سدیم سبب افزایش معنی‌دار جمعیت *لاکتوباسیلوس* در مقایسه با شاهد شدند ($P < 0.05$); با این حال، جمعیت *لاکتوباسیلوس* بین تیمارهای مصرف‌کننده سلنیت-سدیم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P > 0.05$). مصرف یک میلی گرم در کیلوگرم سلنیوم-متیونین در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی سبب کاهش معنی‌دار جمعیت *شرشیاکلا* شد ($P < 0.05$). همچنین منابع آلی در مقایسه با منابع معدنی به شکل مؤثرتری جمعیت *شرشیاکلا* روه کور را کاهش داد ($P < 0.05$). نتایج نشان داد مصرف ۰/۵ و یک میلی گرم در کیلوگرم سلنیوم-متیونین. همچنین مصرف یک میلی گرم در کیلوگرم سلنیت-سدیم سبب کاهش معنی‌دار جمعیت *سالمونلا* در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شد ($P < 0.05$).

ریزجانداران روده به وضعیت سلنیوم جیره غذایی حساس هستند و سلنیوم می‌تواند بر ترکیب و تعداد باکتری‌های موجود و استقرار آن‌ها در دستگاه گوارش تأثیرگذار باشد (Kasaikina et al., 2011). این یافته ممکن است به استفاده از سلنیوم توسط ریزجانداران مختلف و سمیت سلنیوم بر روی میکروب‌های مشخصی مرتبط باشد. البته اثر سمی سلنیوم بر روی باکتری‌ها بسته به نوع منبع سلنیوم موجود در جیره دارد (Marina et al., 2011). در چندین بررسی (Shabani et al., 2019; Yang et al., 2009; Zhihua et al., 2011) گزارش شده است استفاده از نانوسلنیوم و سلنیوم-متیونین جمعیت باکتری‌های کلی فرم را کاهش می‌دهند؛ که در زمان استفاده از منبع معدنی سلنیوم در جیره، کاهش جمعیت *لاکتوباسیل* سبب افزایش جمعیت *شرشیاکلا* در روده جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده نانوسلنیوم و سلنیوم آلی می‌گردد که در انطباق کامل با نتایج این بررسی است.

حدود یک چهارم از جمعیت میکروبی روده توانایی بیان سلنوپروتئین‌ها را دارد؛ بنابراین، آن‌ها برای رشد بهینه نیاز به سلنیوم دارند. این استفاده از سلنیوم توسط ریزجانداران در دسترس بودن این عنصر را برای بیان سلنوپروتئین‌های میزبان کاهش می‌دهد. در نتیجه، جمعیت میکروبی مقدار نیاز میزبان به سلنیوم را افزایش می‌دهد (Kasaikina et al., 2011). مشابه با نتایج این بررسی گزارش شد تعداد کل باکتری‌ها و باکتری *شرشیاکلا* در روده در زمان مصرف

al., 2011; Koyancu and Yerlikaya. 2007; Pappas et al., 2019; Shabani et al., 2005). افزودن نانوسلنیوم به جیره جوجه‌های گوشتی به دلیل رشد پرزها و لامیناپروپریا^۱ روده باعث افزایش وزن روده‌ها می‌شود (Kasaikina et al., 2011; Marina et al., 2011). همچنین مشابه با نتایج این بررسی با افزایش جمعیت ریزجانداران مفید (*لاکتوباسیل*‌ها)، کاهش اسیدیته تجمع باکتری‌های بیماری‌زا را در دیواره روده باریک کاهش داده و باعث کاهش تولید ترکیبات سمی به وسیله باکتری‌ها و تغییر در ریخت‌شناسی دیواره روده پرندگان شده و در نتیجه، از تخریب و آسیب سلول‌های مخاطی دیواره روده جلوگیری می‌کند (Garcia et al., 2007). افزایش اسیدیته به کمتر از شش و تحریک رشد میکروفلور مفید زمینه فعالیت آنزیم‌ها را نیز بهبود می‌بخشد (Antongiovanni et al., 2007). از سویی، سلنیوم برای حفظ ساختار لوزالمعدة ضروری است که در نتیجه، سبب بهبود هضم و جذب مواد مغذی از روده می‌شود؛ بهبود هضم و جذب سبب رشد اندام‌ها از جمله بخش‌های مختلف دستگاه گوارش می‌شود؛ بنابراین، می‌تواند بر ریخت‌شناسی روده مؤثر باشد. مشابه با نتایج این بررسی گزارش شده است، استفاده از سطوح مختلف سلنیوم در بلدرچین ژاپنی، هیچ تأثیری بر طول پرز روده کوچک ندارد (Ahmadi et al., 2019). سلنیوم معدنی هیچ تأثیری در ارتفاع پرزها در مقایسه با جیره شاهد نداشت (Zamani-Moghaddam et al., 2017). از سوی دیگر، گزارش شده سلنیوم آلی در مقایسه با سلنیت-سدیم تأثیر مثبتی در محافظت از پرزهای روده در برابر بیماری‌ها دارد و باعث افزایش طول پرزها و عمق کریپت در ژژنوم و ایلئوم می‌شود (Read-Snyder et al., 2009). مخمر سلنیوم در جوجه گوشتی به طور معنی‌داری باعث افزایش طول پرز، نسبت طول پرز به عمق کریپت شد (Tong et al., 2020). کمبود سلنیوم باعث التهاب مخاط روده می‌شود (Liu et al., 2016). نتایج یک بررسی دیگر نشان می‌دهد کمبود سلنیوم بر مخاط و سلول‌های ژژنوم تأثیر می‌گذارد (Wang et al., 2011).

لذا با توجه مطالب عنوان‌شده معنی‌دار نشدن فراسنجه‌های ریخت‌شناسی می‌تواند به سطوح مورد استفاده سلنیوم و همچنین در شرایط استرس قرار نداشتن پرند نسبت داده شود؛ چرا که سلنیوم با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی در شرایط تنش می‌تواند به شکل مؤثرتری عمل نماید و بر روی هر یک از این بخش‌ها تأثیر خود را اعمال نماید.

جدول ۴ تأثیر تیمارهای آزمایشی بر روی جمعیت میکروبی روده کور مرغ‌های تخم‌گذار را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد، مصرف یک میلی گرم در کیلوگرم خوراک به شکل معنی‌داری سبب کاهش جمعیت باکتری‌های هوازی نسبت به شاهد و تیمارهای حاوی سلنیت-سدیم

سمیت کمتری دارد (Utterback et al., 2005). گزارش کردند مصرف سطوح ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی گرم نانو سلنیوم تأثیر معنی داری بر جمعیت کل باکتری های ایلئوم در جوجه گوشتی نداشت، با این حال مصرف ۰/۳ میلی گرم نانو سلنیوم سبب کاهش معنی دار جمعیت *اشرشیا کلائی* ایلئوم شد (SohiratTorfyet al., 2016). مشابه با نتایج این تحقیق، در موش (Yang et al., 2009)، سگ (Zhijhua et al., 2011) و مرغ تخم گذار (Ying et al., 2009) گزارش کردند که مصرف سلنیوم منجر به افزایش قابل توجهی در تعداد *لاکتوباسیلوس* ها و همچنین کاهش معنی داری در جمعیت باکتری های *اشرشیا کلائی* و *استافیلوکوکوس* در روده کور می گردد.

سلنیوم آلی و غیر آلی کاهش می یابد. همچنین مشابهاً تعداد کل باکتری های هوازی در ژژنوم و روده کور پرندگان تغذیه شده با سلنیوم آلی کمتر بود؛ به نظر می رسد باکتری های سودمند (از قبیل *لاکتوباسیلوس*) می توانند از طریق حذف رقابتی تعداد باکتری های مضر همانند *اشرشیا کلائی* را در روده کاهش دهند. علاوه بر آن، در زمان استفاده از سلنیوم معدنی، کاهش جمعیت *لاکتوباسیل* سبب افزایش جمعیت *اشرشیا کلائی* در دیواره روده جوجه های گوشتی در مقایسه با گروه های دریافت کننده سلنیوم آلی می گردد (Ying et al., 2009). در واقع، سلنیوم آلی دارای قابلیت زیستی و تعامل بهتری با باکتری های مفید و خاصیت آنتی اکسیدانی قوی تری نسبت به شکل های دیگر آن است؛ علاوه بر این فرم آلی در مقایسه با معدنی

جدول ۳- اثر سلنیت- سدیم و سلنیوم- متیونین بر ریخت شناسی ژژنوم مرغ های تخم گذار

Table 3- Effect of selenite-sodium and selenium-methionine on the morphology of the jejunum of laying hens

تیمارهای آزمایشی Treatments	ارتفاع پرز (میلی متر) Height of villi (mm)	عرض پرز (میلی متر) Villous width (mm)	عمق کریپت (میلی متر) Crypt depth (mm)	سلول های گابلت Goblet cell	ارتفاع پرز به عمق کریپت Height of villi/ crypt depth	مساحت پرز (میلی متر ^۲) Villous surface area (mm ²)
شاهد Control	1021.00	167.67	105.33	0.706	9.740	169955
سلنیت-سدیم ۰/۵ SeNa0.5	958.68	123.33	97.00	0.0898	10.153	116883
سلنیت-سدیم ۱ SeNa1	1077.67	123.33	116.33	1.136	9.386	141258
سلنیوم-متیونین ۰/۵ SeMet0.5	978.67	125.67	105.67	1.043	9.366	122458
سلنیوم-متیونین ۱ SeMet1	925.33	112.33	109.67	0.655	8.851	103556
خطای معیار SEM	54.46	19.38	9.12	0.16	0.59	19563.72
سطح احتمال P-value	0.346	0.343	0.668	0.225	0.632	0.175

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

Values within a column with different superscripts different at ($P < 0.05$).

باریک کاهش داده، جمعیت باکتری های مفید را به شکل رقابتی افزایش و باعث کاهش تولید ترکیبات سمی باکتری ها و تغییر در مورفولوژی دیواره روده پرندگان شده و در نتیجه، از تخریب و آسیب سلول های مخاطی دیواره روده جلوگیری می کند (Garcia et al., 2007). بیشتر باکتری های بیماری زا در اسیدیت نزدیک به هفت یا کمی بالاتر از آن رشد می کنند، در حالی که ریزجانداران مفید در محیط اسیدی رشد و تکثیر می شوند و با باکتری های بیماری زا رقابت می کنند (Ford, 1974). افزایش اسیدیت منجر به کاهش باکتری های

جدول ۵ تأثیر تیمارهای آزمایشی بر اسیدیت محتویات روده کور مرغ های تخم گذار را نشان می دهد. نتایج نشان می دهد مصرف یک میلی گرم در کیلوگرم سلنیوم- متیونین سبب افزایش معنی دار اسیدیت محتویات روده کور در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شد ($P < 0.05$). همچنین مصرف ۰/۵ میلی گرم در کیلوگرم سلنیوم- متیونین سبب افزایش معنی دار اسیدیت محتویات روده کور نسبت به تیمارهای ۰/۵ میلی گرم سلنیت- سدیم و شاهد شد ($P < 0.05$). اسیدیت مناسب تجمع باکتری های بیماری زا را در دیواره روده

سالمونلا) کاهش یافته و به شکل رقابتی جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها افزایش پیدا کرده است و به دنبال افزایش فعالیت لاکتوباسیل‌ها اسیدیته دستگاه گوارش افزایش یافته که منجر به بهبود هضم و جذب و عملکرد شده است (Samik et al., 2007).

اشرشیاکلاهی و سالمونلا در دستگاه گوارش می‌شود (Samik et al., 2007). مشابه همین نتیجه، در پی مصرف منابع آلی سلینیوم نسبت به شاهد به‌دست آمد؛ به این ترتیب که با مصرف منابع آلی سلینیوم جمعیت ریزجانداران بیماری‌زا (باکتری‌های هوازی، اشرشیاکلاهی و

جدول ۴- اثر سلنیت- سدیم و سلینیوم- متیونین بر جمعیت میکروبی روده کور مرغ‌های تخم‌گذار (log cfu/g⁻¹)

Table 4- Effect of selenite-sodium and selenium-methionine on the cecal microbial population of laying hens (log cfu/g⁻¹)

تیمارهای آزمایشی Treatments	باکتری‌های هوازی Aerobic bacteria	لاکتوباسیلوس Lactobacillus	اشرشیاکلاهی Escherichia coli	سالمونلا Salmonella
شاهد Control	10.757 ^a	7.370 ^d	5.248 ^a	2.926 ^a
سلنیت-سدیم ۰/۵ SeNa0.5	10.537 ^{ab}	7.455 ^{bd}	5.111 ^b	2.866 ^{ab}
سلنیت-سدیم ۱ SeNa1	10.511 ^b	7.564 ^{bc}	5.025 ^c	2.835 ^b
سلینیوم-متیونین ۰/۵ SeMet0.5	10.435 ^{bc}	7.600 ^b	4.091 ^d	2.793 ^b
سلینیوم-متیونین ۱ SeMet1	10.333 ^c	7.792 ^a	4.835 ^e	2.647 ^c
خطای معیار SEM	0.048	0.037	0.021	0.025
سطح احتمال P-value	0.0013	0.0001	0.0001	0.0001

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

Values within a column with different superscripts different at ($P < 0.05$).

جدول ۵- اثر سلنیت- سدیم و سلینیوم- متیونین بر اسیدیته محتویات روده کور مرغ‌های تخم‌گذار

Table 5- Effect of selenite-sodium and selenium-methionine on cecal acidity in laying hens

تیمارهای آزمایشی Treatments	پی‌اچ pH
شاهد Control	6.57 ^a
سلنیت-سدیم ۰/۵ SeNa0.5	6.55 ^a
سلنیت-سدیم ۱ SeNa1	6.37 ^{ab}
سلینیوم-متیونین ۰/۵ SeMet0.5	6.23 ^b
سلینیوم-متیونین ۱ SeMet1	5.93 ^c
خطای معیار SEM	0.089
سطح احتمال P-value	0.0001

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

Values within a column with different superscripts different at ($P < 0.05$).

این منابع بر جمعیت‌های میکروبی دستگاه گوارش مرتبط باشد. گزارش‌هایی مبنی بر قابلیت بالاتر جذب برای مکمل آلی سلینیوم در

عدم تأثیر معنی‌دار مصرف منابع معدنی سلینیوم در مقایسه با شاهد بر افزایش اسیدیته دستگاه گوارش می‌تواند به‌میزان جذب آن و تأثیر

مضر هوازی، باکتری‌های سالمونلا و/شرشیاکلائی شده و سبب افزایش رقابتی جمعیت مفید لاکتوباسیلوس‌ها می‌شود؛ پیامد این عمل افزایش اسیدیته روده کور و کاهش آسیب و تخریب میکروبی به بافت روده است و لذا، با تغییرات مثبتی در ریخت‌شناسی روده باریک منجر به بهبود عملکرد پرند خواهد شد. لذا، مصرف سلنیوم آلی در مقایسه با سلنیوم معدنی کارایی بالاتری داشته و بر عملکرد مؤثرتر می‌باشد.

سپاسگزاری

از شرکت دانش‌بنیان توسعه مکمل زیست‌فناور آریانا بابت تأمین سلنیوم آلی، زنجیره تولید یکپارچه گوشت مرغ صالح کا شمر، به‌ویژه جناب آقای قدیر صالحی که در اجرای این طرح کمک کرده‌اند و معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تشکر و قدردانی می‌شود.

مقایسه با سلنیوم معدنی داده شده است (Yousefi et al., 2017)؛ جذب بالاتر به معنی تأثیرگذاری بیشتری می‌باشد. گزارش شده مصرف نانوسلنیوم و سلنیوم-متیونین جمعیت باکتری‌های کلی‌فرم را کاهش می‌دهند. حال آن که در زمان استفاده از منبع معدنی سلنیوم در جیره، کاهش جمعیت لاکتوباسیل سبب افزایش جمعیت شرشیاکلائی در روده جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده نانوسلنیوم و سلنیوم آلی می‌گردد (Yang et al., 2009; Zhihua et al., 2011).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این بررسی، می‌توان عنوان داشت مصرف منابع آلی سلنیوم (سطوح یک و ۰/۵ میلی‌گرم سلنیوم-متیونین در هر کیلوگرم خوراک) به‌شکل معنی‌داری سبب کاهش جمعیت باکتری‌های

References

- Ahmadi, M., Ahmadian, A., Poorghasemi, M., Makovicky, P., & Seidavi, A. (2019). Nano-Selenium affects on duodenum, jejunum, ileum and colon characteristics in chicks: An animal model. *International Journal of Nano Dimension*, 10(2), 225-229.
- Antongiovanni, M., Buccioni, A., Petacchi, P., Leeson, S., Minieri, S., Martini, A., & Cecchi, R. (2007). Butyric acid glycerides in the diet of broiler chickens: Effects on gut histology and carcass composition. *Italian Journal of Animal Science*, 6(1), 9-25. DOI: 10.4081/ijas.2007.19
- Arner, E. S. J. (2012). History of selenium research. *Journal of Food Science*, 58, 1-19.
- Attia, Y. A., Abdalah, A. A., Zeweil, H. S., Bovera, F., Tag El-Din, A. A., & Araft, M. A. (2010). Effect of inorganic or organic selenium supplementation on productive performance, egg quality and some physiological traits of dual-purpose breeding hens. *Czech Journal of Animal Science*. 55(11): 505-519.
- Chantiratikul, A., Chinrasri, O., & Chantiratikul, P. (2008). Effect of sodium selenite and zinc-L-selenomethionine on performance and selenium concentrations in eggs of laying hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 21(7), 1048-1052.
- Chitra P., Edwin, S. C. & Moorthy, M. (2013). Effect of dietary vitamin E and selenium supplementation on Japanese quail broilers. *Indian Journal of Veterinary and Animal Science Research*, 43(3): 195-205.
- Cooke, R. H. & Bird, F. H. (1973). Duodenal villus area and epithelial cellular migration in conventional and germ-free chicks. *Poultry Science*, 52(6), 2276-2280.
- Dhingra, S. & Bansal, M. P. (2006). Attenuation of LDL receptor gene expression by selenium deficiency during hypercholesterolemia. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 282(1), 75-82. DOI: 10.1007/s11010-006-1266-1.
- Ebrahimi, H. (2007). Intestinal ecology: Interactions between nutrition, gastrointestinal tract and microbial population. *Chakaw*, 16(3), 51-69. (In Persian).
- Ford, D. J. (1974). The effect of microflora on gastrointestinal pH in the chick. *British Poultry Science*, 15(1), 131-140. DOI: 10.1080/00071667408416086
- 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. DOI: 10.3382/japr.2006-00116
- Ghasi Ghalehkandi, J., Valil, M. R., Ebrahimnashad, Y., Salamatdoust Nobar, R., Karamouz, H. & Nazeri, M. (2011). Effect of different levels of perlite on performance of broiler chicks. *Advances in Environmental Biology*. 5(4), 776-779.
- Haghighi-khoshkhoo, P., Akbari-Azad, G., Moayer, F., & Pajohandeh, A. H. (2010). The effect of butyrate oral additive on breeding efficiency and small intestine morphology in broilers. *Journal of Veterinary Clinical Research*, 1(4), 242-235. (In Persian).
- Hashemi, S. R., Zulkifli, I., Davoodi, H., Zunita, Z., & Ebrahimi, M. (2012). Growth performance, intestinal microflora, plasma fatty acid profile in broiler chickens fed herbal plant (*Euphorbia hirta*) and mix of acidifiers. *Animal Feed Science and Technology*, 178 (4), 167-174. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2012.09.006
- Hattori, M., & Taylor, T. D. (2009). The human intestinal microbiome: A new frontier of human biology. *DNA*

- Research, 16(1), 1-12. DOI: [10.1093/dnares/dsn033](https://doi.org/10.1093/dnares/dsn033)
16. Heindl, J., Ledvinka, Z., Tumova, E., & Zita, L. (2010). The importance, utilization and sources of selenium for poultry: A review. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 41(1), 55-64.
17. Holovsk, J. R., K. Holovsk, K. V., Boldiz, S., Cekonov, O. V., Len, M. Levkut, Javorsk, P., & Leng, L. (2003). Antioxidant enzyme activity in liver tissue of chickens fed diets supplemented with various forms and amounts of selenium. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 12(1), 143-152. DOI: [10.22358/jafs/67691/2003](https://doi.org/10.22358/jafs/67691/2003)
18. [Horn](#), N. L., Donkin, S. S., Applegate, T. J., & Adeola, O. (2009). Intestinal mucin dynamics: Response of broiler chicks and White Pekin ducklings to dietary threonine. *Poultry Science*, 88(9): 1906-1914. DOI: [10.3382/ps.2009-00009](https://doi.org/10.3382/ps.2009-00009)
19. Jiakui, L. & Xiaolong, W. (2004). Effect of dietary organic versus inorganic selenium in laying hens on the productivity, selenium distribution in egg and selenium content in blood, liver and kidney. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18(1): 65-68. DOI: [10.1016/j.jtemb.2004.04.002](https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2004.04.002)
20. Kasaikina M. V., Kravtsova, M. A., Lee, B. C., Seravalli, J., Peterson, D. A., Walter, J., Legge, R., Benson, A., Hatfield, D. L., & Gladyshev, V. N. (2011). Dietary selenium affects host selenoproteome expression by influencing the gut microbiota. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 25(7): 2492-2499. DOI: [10.1096/fj.11-181990](https://doi.org/10.1096/fj.11-181990)
21. Koyancu, M., & Yerlikaya, H. (2007). Effect of selenium vitamin E injections of ewes on reproduction and growth of their quail broilers. *South African Journal of Animal Science*, 37(3): 233-236.
22. Langhout, D. J., Schutte, J. B., Van Leeuwen, P., Wiebenga, J., & Tamminga, S. (1999). Effect of dietary high and low methylated citrus pectin on the activity of the ileal microflora and morphology of the small intestinal wall of broiler chickens. *British Poultry Science*, 40(3): 340-347. DOI: [10.1080/00071669987421](https://doi.org/10.1080/00071669987421)
23. Liu, Z., Qu, Y., Wang, J., & Wu, R. (2016). Selenium deficiency attenuates chicken duodenal mucosal immunity via activation of the NF- κ B signaling pathway. *Biological Trace Element Research*, 172(2): 465-473. DOI: [10.1007/s12011-015-0589-8](https://doi.org/10.1007/s12011-015-0589-8)
24. Lukaszewicz, E., Kowalczyk, K., & Jerysz, A. (2011). The effect of sex and feed supplementation with organic selenium and vitamin E on the growth rate and zoometrical body measurements of oat-fattened White Koluda geese. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 35(6): 435-442. DOI: [10.3906/vet-1008-420](https://doi.org/10.3906/vet-1008-420)
25. Marina, V., Kasaikina, M. A., Kravtsova, B. L., Javier, S., Daniel, A., Peterson, J. W., Ryan- Ledge, A. K., Benson, D. H., & Vadim, N. J. (2011). Dietary selenium effects host selenoproteome expression by influencing the gut microbiota. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 25(7): 2492-2499. DOI: [10.1096/fj.11-181990](https://doi.org/10.1096/fj.11-181990)
26. Mehrbakhsh-Bandari, M. A., Asadpour, L., & Poorhamad, A. (2017). Antibacterial effect of selenium and selenium-ampicillin nanoparticles on clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, 11(6):184-191. (In Persian).
27. Pappas, A. C., Acamovic, T., Sparks, N. H. C., Surai, P. F., & Devitt, R. M. (2005). Effects of supplementing broiler breeder diets with organic selenium and polyunsaturated fatty acids on egg quality during storage. *Poultry Science*, 84(6): 865-874. DOI: [10.1093/ps/84.6.865](https://doi.org/10.1093/ps/84.6.865)
28. Payne, R. L., Lavergne, T. K., & Southern, L. L. (2005). Effect of inorganic versus organic selenium on hen production and egg selenium concentration. *Poultry Science*, 84(2): 232-237. DOI: [10.1093/ps/84.2.232](https://doi.org/10.1093/ps/84.2.232)
29. Read-Snyder, J., Edens, F. W., Cantor, A. H., Pescatore, A. J., & Pierce, J. L. (2009). Effect of dietary selenium on small intestine villus integrity in reovirus-challenged broilers. *International Journal of Poultry Science*, 8(9): 829-835. DOI: [10.3923/ijps.2009.829.835](https://doi.org/10.3923/ijps.2009.829.835)
30. Samik, K. P., Gobinda, H., Manas, K. M., & Gautam, S. (2007). Effect of organic acid salt on the performance and gut health of broiler chicken. *Poultry Science*, 44: 389-395. DOI: doi.org/10.2141/jpsa.44.389
31. SAS .2013. The SAS System for Windows, Release 9.4. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, 556 p.
32. Scheideler, S., Weber, P., & Monsalve, D. (2010). Supplemental vitamin E and selenium effects on egg production, egg quality, and egg deposition of α -tocopherol and selenium. *Journal of Applied Poultry Research*, 19(4): 354-360. DOI: [10.3382/japr.2010-00198](https://doi.org/10.3382/japr.2010-00198)
33. Shabani, R., Fakhraei, G., Mansouri-Yarahmadi, H., & Seydavi, A. (2019). Effect of different sources of selenium supplement on yield, carcass characteristics, ileum bacterial population, blood parameters, liver enzymes, hormonal activity and antioxidant activity of blood plasma in broilers. *Journal of Animal Environment*, 12(3):85-97. (In Persian).
34. Sohirat Torfy, M., Mirzadeh, K. H., Tabatabaei, M., Vakili, S., & Chabi, M. 2016. Effects of different levels of water-soluble nanoselenium on yield, bacterial ileum population, macroscopic characteristics, some blood biochemical parameters and litter quality in broilers. *Journal of Animal Science Research*, 26(4):32-47. (In Persian).
35. Tong, C., Peng, L., Li-Hui, Y., Lin, L., Kang, L., & Yueli, C. (2020). Selenium-rich yeast attenuates ochratoxin A-induced small intestinal injury in broiler chickens by activating the Nrf2 pathway and inhibiting NF-KB activation. *Journal of Functional Foods*, 12(14): 6150-16158. DOI: [10.1016/j.jff.2020.103784](https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103784)
36. Utterback, P. L., Parsons, C. M., Yoon, I., & Butler, J. (2005). Effect of supplementing selenium yeast in diets of

- laying hens on egg selenium content. *Poultry Science*, 84(12): 1900-1901. DOI: [10.1093/ps/84.12.1900](https://doi.org/10.1093/ps/84.12.1900)
37. Wang, B., Wang, G. E., Yue, W. B., Zhang, M. A., & Shi, X. P. (2011). Effects of different selenium sources on production performance, slaughter performance, meat quality, immune and antioxidant in the early goose. *Journal Animal Physiology and Animal Nutrition*, 95 (4): 440-8
38. Yamauchi, K., Buwjoom, T., Koge, K., & Ebashi, T. (2006). Histological intestinal recovery in chickens refed dietary sugar cane extract. *Poultry Science*. 85(4): 645-651. DOI: [10.1093/ps/85.4.645](https://doi.org/10.1093/ps/85.4.645)
39. Yang, J., Huang, K., Qin, S., Wu, X., Zhao, Z., & Chen, F. (2009). Antibacterial action of selenium-enriched probiotics against pathogenic *Escherichia coli*. *Digestive Diseases and Sciences*, 54(2): 246-254.
40. Ying, Q., Wang, Z., & Cai, S. (2009). Study on the effects of different selenium sources on production performance of broilers. *Henan Agricultural University*. p. 831.
41. Yousefi, M., Qabel, M. R., Ghaziani-Shad, A., & Pourhamad, A. (2017). The effect of organic and inorganic selenium supplementation on performance, reproduction, some blood parameters and immune system of broilers. *Research and Construction*, 2:12-19. (In Persian).
42. Zamani-Moghaddam, A. K., Mehraei-Hamzekolaie, M. H., Khajali, F. & Hassanpour, H. (2017). Role of selenium from different sources in prevention of pulmonary arterial hypertension syndrome in broiler chickens. *Biological Trace Element Research*. 180(1): 164-170. DOI: [10.1007/s12011-017-0993-3](https://doi.org/10.1007/s12011-017-0993-3)
43. Zhihua, R., Zhiping, Z., Yangquan, W., & Kehe, H. (2011). Preparation of selenium/zinc-enriched probiotics and their effect on blood selenium and zinc concentrations, antioxidant capacities and intestinal micro flora in canine. *Biological Trace Element Research*, 141(1): 170-183. DOI: [10.1007/s12011-010-8734-x](https://doi.org/10.1007/s12011-010-8734-x)



Effect of Heat Processing on Nutrient Digestibility and Metabolizable Energy of Canola Seed in Broiler Chickens

Najeebullah Fayaz¹, Hassan Kermanshahi², Heydar Zarghi^{3*}

Received: 14-03-2022

Revised: 24-07-2022

Accepted: 26-07-2022

Available Online: 26-07-2022

How to cite this article:

Fayaz, N., Kermanshahi, H., and Zarghi, H. (2023). Effect of heat processing on nutrient digestibility and metabolizable energy of canola seed in broiler chicken. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 15(2), 199-210.
DOI:10.22067/ijasr.2022.75836.1068

Introduction: During the past decades, rapeseed production, including canola varieties, has surpassed peanut, sunflower, and even cottonseed in production, and ranks second among oilseed crops worldwide. Due to its drought endurance, canola may be the preferable grain for cultivation in several locations of Iran. Canola seed (CS) is an economic feed ingredient containing well-balanced protein (19 to 22%) and a high oil content, up to 45% in some cases. Apart from the oil content of CS, its concentration of dietary fiber, glucosinolates, and tannins are of concern. Canola has less glucosinolates and erucic acid than rapeseed. It, resulting in a higher level of vital nutrients and higher nutrient density. The nutrient composition and presence of anti-nutritional factors in CS may also affect its quality and feeding value for poultry. However, the presence of some glucosinolates, erucic acid, and other undesirable compounds such as phytates, polyphenols, and soluble non-starch polysaccharides (NSPs) may reduce nutrient digestibility and performance of the chickens. Heat process affects the rate of protein denaturation, starch gelatinization, digestive enzymes accessibility, bacterial counts and toxin degradation of feed. On the other hand, starch gelatinization by heat processing may increase amylase effects to break the chains of amylose and amylopectin, which in turn increases the digestibility of less digestible carbohydrates, improves metabolizable energy and digestibility of amino acids in beans, soybeans, peas and canola. Some concerns have been raised about the inclusion levels of CS in broiler diets. This experiment was carried out to investigate the effect of processing method on apparent metabolizable energy (AME), apparent metabolizable energy corrected for nitrogen (AME_n), apparent dry matter digestibility (ADMD), and apparent nutrients digestibility (and) of CS (Nafis variety) in broiler chickens.

Materials and Methods: This study was designed to determine the nutrient digestibility and, AME_n value of crud and heat processed CS. The CS used in this research was of the Nafis variety, which was sourced from the Astan Quds Razavi farm, Mashhad, Iran. The obtained CS sample was divided to three equal subsamples. One part was unprocessed, second part was micronized; one hour before processing CS was moistened by 20% of the weight, and then placed in a single layer on a vibrating conveyor belt under the infrared emission source at a speed of 6.25 cm/s until the surface temperature of the grain should reach 130°C, and third part super-conditioned under humidity of 16% and temperature of 75-85°C for 3-4 minutes. A total of 48, day-old Ross 308 male broiler chicks was obtained from a commercial hatchery. Chicks were reared and housed in battery brooders in a room. From day one to 10 and 11 to 15, chicks had ad libitum access to conventional corn-soybean meal starter and grower diets, respectively, to meet the nutrient specification of the strain as recommended by Ross 308 manual. A common corn-soybean meal diet was formulated to serve as the reference diet to meet or exceed the nutrient requirements of broiler chicks as described for the Ross 308. The CS samples (row, micronized, and super-conditioning) were

1- Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

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

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

*Corresponding Author's Email: Kermansh@um.ac.ir

incorporated into the reference diet at a 40% inclusion rate (60% reference diet and 40% CS). The digestion trial included a 4-day preliminary period in 16–19d of age, followed by 4 days of recorded total feed consumption and excreta collection. The feed was provided ad libitum during the preliminary and the collection period. During the collection period (20–23d of age) total feed intake was measured, and excreta from each cage were collected twice a day, pooled, and kept frozen at -20°C until subsequent analyses. The excreta samples were oven-dried at 60°C for 72 hours to determine dry matter content. The dried excreta and diet samples were ground through 20 mesh screens, and nutrient content was determined according to (AOAC, 2000). The gross energy of the dried excreta and diet samples was measured with Bomb-calorimeter (Model 1266, PARR). The apparent nutrients digestibility, AME and AME_n of the reference and test diets were determined. Accordingly, apparent nutrients digestibility, AME and AME_n of the CS was calculated as: " $AND, AME \text{ and } AME_n \text{ CS} = [AND, AME \text{ and } AME_n \text{ of test diet} - 0.6 \times AND, AME \text{ and } AME_n \text{ of reference diet}] / 0.4$ ".

Results and Discussion: The average of dry matter, crude protein, ether extract, fiber, ash, and gross energy for CS were 96.20, 17.70, 46.60, 6.00, 4.11%, and 7137 kcal/kg, respectively. The apparent digestibility of dry matter, crude protein, crude fat and AME_n for raw CS in broiler chickens were 54.28±1.19%, 69.42±1.13%, 77.1±1.32%, and 4673±268 kcal/kg of dry matter. Processing of canola by micronization and super-conditioning method numerically increased the dry matter content of CS by 2.46% and 0.88%, respectively. Crude fat and crude protein content also changed with a similar trend to dry matter content. The effect of canola processing on AME and AME_n in broilers was not significantly ($P > 0.05$). Micronizing process of CS increased ADMD and AME_n values of 7.47% and 117 kcal/kg than non-processed seed, respectively. Super-conditioning process was less effective than micronization on improving CS nutrient digestibility and AME_n values.

Conclusion: The outcomes of the present study showed that spit non-significant effect of heat processing on energy value and nutrients digestibility of CS (Nafis variety) that might be due to better tolerance of chickens fed recent varieties of CS. However, the change in nutrients digestibility and AME_n values of CS with processing by super-conditioning method was poor, a trend of improving nutrient digestibility and AME_n values were seen in micronize process. More research is needed to clarify the response of the chickens when CS in the raw, micronized or conditioned forms.

Keywords: Apparent metabolizable energy, Canola seed, Heat processing, Broiler chickens

تأثیر فرآوری حرارتی بر گوارش پذیری مواد مغذی و انرژی قابل سوخت و ساز دانه کلزا در جوجه‌های گوشتی

نجیب‌الله فیاض^۱، حسن کرمانشاهی^{۲*}، حیدر زرقی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۴

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر فرآوری حرارتی بر گوارش پذیری ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای ازت (AME_n) دانه کلزا با استفاده از تعداد ۴۸ قطعه جوجه خروس گوشتی سویه راس (۳۰۸) در سن ۲۳-۱۶ روزگی، به روش جایگزینی ماده خوراکی مورد آزمایش با بخشی از جیره مرجع (۶۰ در صد جیره مرجع + ۴۰ در صد دانه کلزا خام یا فرآوری شده) و رکورد کل خوراک مصرفی و فضولات دفعی انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار شامل دانه کلزای خام، میکرونایز و سوپرکاندیشنینگ، شش تکرار و دو قطعه پرنده در هر تکرار انجام شد. میزان قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و AME_n دانه کلزای خام به ترتیب $54/28 \pm 1/19$ درصد، $69/42 \pm 1/13$ درصد، $77/77 \pm 1/32$ درصد و $46/73 \pm 2/68$ کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک به دست آمد. اثر فرآوری دانه کلزا (میکرونایز و سوپرکاندیشنینگ) بر قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و AME_n آن معنی دار نبود. بر اساس نتایج به دست آمده از این آزمایش؛ فرآوری حرارتی اثری بر بهبود قابلیت هضم مواد مغذی و انرژی قابل سوخت و ساز دانه کلزای رقم نفیس نداشت. تحقیقات بیشتری برای روشن شدن اثر فرآوری حرارتی بر گوارش پذیری مواد مغذی و انرژی قابل سوخت و ساز دانه کلزا در جوجه‌های گوشتی مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری، جوجه‌های گوشتی، دانه کلزا، فرآوری حرارتی.

مقدمه

(2020). دانه کلزا تقریباً حاوی ۵۵-۴۰ درصد چربی خام و ۲۲ درصد پروتئین خام است، بیش از ۸۵ درصد چربی آن را اسیدهای چرب ۱۸ کربنی تشکیل می‌دهند، از این مقدار، ۶۰ درصد آن را اسید اولئیک ۱۸:۱ تشکیل می‌دهد (Ackman, 1990; Shen et al., 1983). دانه کلزا محتوای مقدار فراوان اسیدهای آمینه ضروری مانند لیزین، ترئونین، تریپتوفان و اسیدهای آمینه گوگرددار است (Szymeczko et al., 2010). بنابراین، می‌تواند به عنوان منبع خوراکی مناسب برای تأمین انرژی و پروتئین در جیره‌های متراکم طیور مطرح شود (Salmon et al., 1988). نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است، با استفاده از دانه کامل کلزا و سویا می‌توان جیره‌های عملی با سطح

هزینه خوراک تولید محصولات طیور معمولاً بین ۶۵ تا ۷۵ درصد کل هزینه‌های تولید را در برمی‌گیرد (Haq and Akhtar, 2004)؛ بنابراین، متخصصان تغذیه توجه بیشتری به بررسی جایگزینی مواد کم‌هزینه و باکیفیت برای جیره طیور می‌کنند. منابع پروتئینی گیاهی بخش اصلی تأمین‌کننده پروتئین در جیره طیور هستند که حدود ۳۳/۵ درصد کل هزینه خوراک طیور تجاری را تشکیل می‌دهند (Savage et al., 1980). کلزا یک دانه روغنی با سطح پروتئین بالا، اصلاح شده گونه شلغم روغنی (Rapeseed) است (Veluri and Olukosi, 2010).

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

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

۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

*- نویسنده مسئول: (Email: Kermansh@um.ac.ir)

نشاسته، دسترسی آنزیم‌های گوارشی به نشاسته، تخریب باکتری‌ها و سموم قارچی موجود در مواد خوراکی تأثیر می‌گذارد (Attar et al., 2019; Netto et al., 2017). فرآیند کاندیشنینگ باعث تسهیل شکسته شدن زنجیره‌های آمیلوز و آمیلوپکتین توسط آنزیم آمیلاز می‌شود، که در نتیجه آن قابلیت هضم کربوهیدرات افزایش می‌یابد. طی فرآیند کاندیشنینگ ساختار سوم پروتئین‌ها تغییر یافته و قابلیت هضم آن‌ها افزایش می‌یابد (Abdollahi et al., 2020; Netto et al., 2019). تحقیقات مختلف نشان داده است، فرآوری اجزای خوراک و یا کل جیره به‌روش کاندیشنینگ باعث بهبود شاخص‌های عملکرد رشد در جوجه‌های گوشتی می‌شود (Abdollahi et al., 2010; Attar et al., 2017; Liu et al., 2013; Lopez and Leeson, 2019; Netto et al., 2007). با تاباندن شعاعه روی کاشی‌های سرامیکی یا عناصر سیم نیکرومی، تشعشع مادون قرمز تولید می‌شود، جذب تشعشع توسط دانه‌ها باعث گرمایش داخلی سریع و متعاقب آن ژلاتینه شدن نشاسته می‌شود (Lawrence, 1973). این فرآیند میکرونایز کردن نامیده می‌شود. گزارش شده است، فرآوری خوراک به‌روش میکرونایز باعث بهبود ارزش غذایی جیره خوک‌های در حال رشد (Lawrence, 1973; Douglas et al., 1980) و جوجه‌های گوشتی (Savage et al., 1991) می‌شود. در آزمایش دیگر گزارش شده با میکرونایز نخود ارزش غذایی آن در جوجه‌های در حال رشد بهبود یافته است (Igbasan and Guenter, 1997). با توجه به مطالب فوق، این آزمایش به‌منظور بررسی اثر فرآوری حرارتی (میکرونایز و سوپرکاندیشنینگ) بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی و انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای ازت (AME_n) دانه کلزا در جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه دانه کلزا مورد آزمایش

دانه کلزا استفاده شده در این طرح پژوهشی از نوع رقم نفیس بود که از مزرعه نمونه آستان قدس رضوی به‌مقدار لازم تهیه و به سه قسمت مساوی تقسیم شد. یک قسمت آن بدون فرآوری، قسمت دوم فرآوری حرارتی به‌روش میکرونایز (در شرکت فرآورده‌های فردوسی مشهد) و قسمت سوم فرآوری حرارتی به‌روش سوپرکاندیشنینگ (در شرکت خوراک دام و طیور دردانه خراسان رضوی) شد. برای میکرونایز کردن از دستگاه میکرونایزر سرامیکی گازی استفاده شد. به این منظور یک ساعت قبل از فرآوری، دانه کلزا به‌میزان ۲۰ درصد وزن ماده مرطوب شد و سپس دانه‌ها به‌صورت یک‌لایه روی نوار نقاله ارتعاشی زیر منبع انتشار مادون‌قرمز با سرعت ۶/۲۵ سانتی‌متر بر ثانیه قرار گرفتند تا زمانی که دمای سطح دانه به ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد برسد.

انرژی و مواد مغذی بالا را در تغذیه جوجه‌های گوشتی (Bayley and Summers, 1975)، بوقلمون‌های گوشتی (۴۵)، شترمرغ (Brand et al., 2000)، خوک‌های پرواری (Brand et al., 1999)، مرغ‌ان تخم‌گذار پر تولید (Najib and Al-Khateeb, 2004; Newkirk and Classen, 2002; Nwokolo and Sim, 1989b) و نشخوارکنندگان پر تولید (Hill, 1991) تهیه کرد.

گزارش شده است استفاده از دانه کلزای خام در تغذیه جوجه‌های گوشتی و خوک باعث کاهش عملکرد شد می‌شود (Bayley and Summers, 1975). گلوکوزینولات و اسید اروسیدیک مهم‌ترین ترکیبات ضدتغذیه‌ای در دانه کلزا و به‌طور کلی، در گیاهان خانواده براسیکا است (Bell, 1993). برخی ترکیبات نامطلوب دیگر موجود در دانه کلزا شامل فیتات‌ها، پلی‌فنول‌ها، مواد ایجادکننده بوی بد و تلخ، کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم و سایر عوامل ضدتغذیه‌ای ناشناخته است (Leeson and Summers, 2001; Liang et al., 2002; Maheshwari et al., 1981). به‌طور کلی، فرآوری حرارتی مواد خوراکی قابلیت هضم پروتئین‌ها را باغیر فعال کردن مهارکننده‌های آنزیمی و تغییر دادن ساختار مولکولی پروتئین، باعث ایجاد مکان‌های جدیدی برای اثر آنزیم‌ها (Camire et al., 1990)، همچنین قابلیت هضم نشاسته را با تغییر ساختمان کریستالی آن (Attar et al., 2019; Netto et al., 2017) بهبود می‌دهد. محققین گزارش کردند با اعمال فرآوری حرارتی بر روی مواد خوراکی با مقدار گلوکوزینولات بالایی می‌توان امکان استفاده از این نوع مواد خوراکی را برای تهیه جیره طیور فراهم نمود (Smithard and Eyre, 1986). فرآوری حرارتی نه تنها باعث کاهش گلوکوزینولات‌ها (Fenwick et al., 1986) در کلزا می‌شود، بلکه آنزیم‌های پروتئیناز را غیرفعال می‌کند، این ترکیب قادر است گلوکوزینولات را به متابولیت‌های سمی حاوی ایزو تیوسیاناتات (isothiocyanate)، اگزاژو لیدین-۲ تیون (oxazolidine-2-thione) و نیتریل‌ها (nitriles) هیدرولیز کند (Huang et al., 1995). اثرات مفید فرآوری حرارتی برای از بین بردن عوامل ضد تغذیه‌ای و بهبود انرژی قابل سوخت و ساز و قابلیت هضم اسیدهای آمینه دانه‌های مورد استفاده در تغذیه هم‌چون لوبیا، سویا، نخود فرنگی و کلزا در مطالعات مختلف تأیید شده است (Alonso et al., 2002; Bayley and Summers, 1975; Jeunink and Cheftel, 1979; Jiménez et al., 2009; Liang et al., 2002; Marzo et al., 2002). همچنین گزارش شده است فرآوری حرارتی باعث افزایش خوش خوراکی کلزا در تغذیه موش‌های می‌شود (Smithard and Eyre, 1986).

در کارخانه‌های تولید خوراک دام و طیور فرآیند کاندیشنینگ قبل از عبور دان از دای انجام می‌شود، که در این مرحله فرآوری خوراک تحت تأثیر حرارت، رطوبت و فشار انجام می‌شود (Attar et al., 2017). کاندیشنینگ، بر ساختار مولکولی پروتئین، بلوری

(Kiczorowska et al., 2016). در فرآوری حرارتی سوپر کاندیشنینگ رطوبت ۱۶ درصد و حرارت ۷۵-۸۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳-۴ دقیقه روی دانه کلزا اعمال شد (Teymouri and Hassanabadi, 2021).

پرندگان، جایگاه و شرایط پرورش
در این آزمایش، تعداد ۱۲۰ قطعه جوجه خروس گوشتی یک روزه راس ۳۰۸ تهیه شد. جوجه ها تا سن ۱۵ روزگی با جیره و شرایط یکسان پرورش یافتند.

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره های آزمایشی

Table 1- The ingredient and nutrient composition of experimental diets

Ingredient composition اجزای تشکیل دهنده					Nutrient composition ترکیب مواد مغذی				
اقلام خوراکی (%) Ingredients (%)	جیره مرجع Reference diet	جیره آزمایش ^۱ Test diet ¹			مواد مغذی Nutrient	جیره مرجع Reference diet	جیره آزمایش ^۱ Test diet ¹		
		1	2	3			1	2	3
دانه کلزا Canola seed	0.00	40.00	40.00	40.00	انرژی قابل سوخت و ساز (کیلو کالری / کیلوگرم) ME (kcal/kg)	3100	-	-	-
ذرت Corn	51.50	30.90	30.90	30.90	انرژی خام (کیلو کالری / کیلوگرم) GE (kcal/kg)	4500	5555	5651	5561
کنجاله سویا Soybean meal	38.50	23.10	23.10	23.10	پروتئین خام (%) CP (%)	21.50	19.98	20.06	19.92
روغن گیاهی Vegetable oil	6.16	3.70	3.70	3.70	چربی خام (%) Crude Fat (%)	8.09	23.50	23.78	23.87
دی کلسیم فسفات Di-calcium phosphate	1.51	0.91	0.91	0.91	کلسیم (%) Ca (%)	0.87	-	-	-
سنگ آهک Limestone	1.11	0.67	0.67	0.67	فسفر قابل دسترس (%) Available P, (%)	0.43	-	-	-
نمک طعام Common salt	0.44	0.26	0.26	0.26	سدیم (%) Na (%)	0.20	-	-	-
مکمل ویتامینه ^۲ Vitamin- premix ²	0.25	0.15	0.15	0.15	متیونین قابل هضم (%) Digestible Met (%)	0.47	-	-	-
مکمل معدنی ^۳ Mineral- Premix ³	0.25	0.15	0.15	0.15	متیونین + سیستین قابل هضم (%) Digestible Met + Cys (%)	0.87	-	-	-
دی-ال-متیونین DL-Methionine	0.24	0.14	0.14	0.14	لیزین قابل هضم (%) Digestible Lys (%)	1.15	-	-	-
دی-ال-لیزین L-lysine-HCl	0.04	0.02	0.02	0.02	ترئونین قابل هضم (%) Digestible Thr (%)	0.77	-	-	-

^۱ جیره های آزمایش ۱، ۲ و ۳ به ترتیب از مخلوط ۴۰ درصد دانه کلزای خام، میکرونایز یا سوپر کاندیشنینگ + ۶۰ درصد جیره مرجع حاصل شدند.

^۲ هر کیلوگرم جیره حاوی ۱۱۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A؛ ۱۸۰۰ واحد بین المللی ویتامین D₃؛ ۳۶ میلی گرم؛ ویتامین E؛ ۵ میلی گرم ویتامین K₃؛ ۱/۵۳ میلی گرم؛ ویتامین B_۱؛ ۷/۵ میلی گرم ریبوفلاوین؛ ۱۲/۲۴ میلی گرم اسید پانتوتیک؛ ۳۰/۴ میلی گرم نیاسین؛ ۱/۵۳ میلی گرم پیریدوکسین؛ ۰/۰۳ میلی گرم بیوتین؛ ۱ میلی گرم اسید فولیک؛ ۱/۶ میلی گرم سیانو کوبالامین؛ ۱۱۰۰ میلی گرم کولین کلراید، ۰/۱۲۵ میلی گرم اتوکسی کوئین.

^۳ هر کیلوگرم جیره حاوی ۸۴/۵ میلی گرم روی (سولفات-روی)، ۱۶۰ میلی گرم منگنز (سولفات-منگنز)، ۲۰ میلی گرم مس (سولفات-مس)، ۲۵۰ میلی گرم آهن (سولفات آهن)، ۱/۶ میلی گرم ید (یدات کلسیم) و ۰/۲ میلی گرم سلنیوم (سلنیت سدیم) می باشد.

¹Test diets 1, 2, and 3 were prepared from a mixture of 60% reference diet + 40% crude, micronized or super-conditioning canola seed, respectively.

²Vitamin premix Supplied the following, per kilogram of diet: vitamin A, 11000 IU; vitamin D₃, 1800 IU; vitamin E, 36 mg; vitamin K₃, 5 mg; thiamine, 1.53 mg; riboflavin, 7.5 mg; panthotenic acid, 12.24 mg; niacin, 30.4 mg; pyridoxine, 1.53 mg; biotin, 0.03 mg; folic acid, 1 mg; cyanocobalamin, 1.6 mg; choline chloride, 1100 mg; etoxycoin, 0.125 mg;

³Mineral premix Supplied the following per kilogram of diet: Zn(Zn-sulfate), 84.5 mg; Mn (Mn-sulfate), 160 mg; Cu (Cu-sulfate), 20 mg; Fe (Fe-sulfate), 250 mg; I(calcium iodate), 1.6 mg; Se (Sodium selenite), 0.2 mg.

جوجه‌های هر قفس در سه روز آزمایش با کسر جیره باقی‌مانده از جیره داده شده تعیین شد. فضولات دفعی داخل آن در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند تا کاملاً خشک شوند. پس از جدا نمودن فلس، پر و سایر ضایعات احتمالی، وزن کل فضولات دفع شده هر قفس تعیین شد (Zarghi et al., 2011).

تجزیه شیمیایی

ترکیب شیمیایی (ماده خشک، خاکستر، چربی خام، ازلت) نمونه‌های دانه کلزا با و بدون فراوری (سوپرکاندیشنینگ و میکرونایز)، جیره مرجع، جیره‌های آزمایش و فضولات مطابق روش‌های پیشنهادی AOAC (۲۰۰۰) تعیین شدند (AOAC, 2002). به این منظور، نمونه خوراک و کل فضولات مربوط به هر قفس آسیاب و همگن شدند. برای تعیین ماده خشک، نمونه‌ها داخل دستگاه ازلت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد، سپس داخل دسیکاتور تا درجه حرارت آزمایشگاه سرد و ماده خشک آن تعیین گردید. چربی خام توسط دستگاه سوکسله دستی و ازلت توسط دستگاه کج‌لدال اتومات تعیین شد. برای تعیین انرژی خام نمونه‌های دانه کلزا، جیره مرجع، جیره‌های آزمایش و فضولات از بمب کالریمتر (Model, PARR 1261) استفاده شد.

محاسبات

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی (ماده خشک، خاکستر، ماده آلی، پروتئین خام و چربی خام) در جیره مرجع و جیره‌های آزمایش از طریق معادله ۱، انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری (AME) جیره مرجع و جیره‌های آزمایش از طریق معادله ۲ و از طریق معادله ۳ با تصحیح تعادل ازلت مقدار AME_n در جیره مرجع و جیره‌های آزمایش محاسبه شدند. قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی (ماده خشک، خاکستر، ماده آلی، پروتئین خام و چربی خام)، AME و AME_n برای دانه کلزا خام، سوپرکاندیشنینگ و میکرونایز از طریق معادله ۴ به دست آمد (Chibowska et al., 2000; Toghyani et al., 2017).

در سن ۱۶ روزگی تعداد ۴۸ قطعه از پرندگان انتخاب و به‌طور تصادفی بین ۲۴ قفس متابولیکی، (دو قطعه جوجه در هر قفس متابولیکی) توزیع شدند. هر قفس متابولیکی دارای ۳۰ سانتی متر طول ۴۰ سانتی متر عمق و ۴۵ سانتی متر ارتفاع و به آب‌خوری پستانکی خودکار، دان‌خوری ناودانی دستی و سینی کشویی گالوانیزه مخصوص جمع‌آوری فضولات مجهز بود.

تیمارهای آزمایشی

در این آزمایش، گوارش‌پذیری مواد مغذی و AME_n دانه کلزا به‌روش جایگزینی ماده خوراکی مورد آزمایش با بخشی از جیره مرجع و رکورد کل خوراک مصرفی و فضولات دفعی انجام شد (Toghyani et al., 2017; Chibowska et al., 2000). جیره مرجع بر اساس احتیاجات جوجه‌های گوشتی توصیه شده توسط راهنمای راس ۳۰۸ سال ۲۰۱۹ (Aviagen, 2019) و آنالیز مواد خوراکی (Leeson and Summers, 2005) به کمک نرم‌افزار جیره نویسی UFFDA تنظیم شد. با مخلوط دانه کلزای خام، میکرونایز یا سوپرکاندیشنینگ با جیره مرجع (۶۰ درصد جیره مرجع + ۴۰ درصد ماده خوراکی مورد آزمایش) سه جیره آزمایش تهیه شد (جدول ۱). آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار (سه جیره آزمایش + یک جیره مرجع)، شش تکرار و دو قطعه پرنده در هر تکرار انجام شد.

رکوردبرداری

جوجه‌ها به مدت هشت روز با جیره‌های آزمایشی (سه جیره آزمایش + یک جیره مرجع) تغذیه شدند که چهار روز اول (۱۶-۱۹) به منظور دوره عادت‌پذیری و چهار روز بعد (۲۰-۲۳) به عنوان دوره رکورد خوراک و جمع‌آوری فضولات در نظر گرفته شد. در دوره جمع‌آوری فضولات، پس از اعمال ۱۲ ساعت محرومیت از غذا (Tiemouri et al., 2019). سینی‌های مخصوص جمع‌آوری فضولات در زیرقفس‌ها قرار گرفتند. جوجه‌ها به مدت سه روز کامل به صورت آزاد با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند و پس از اعمال ۱۲ ساعت محرومیت از غذا سینی‌های جمع‌آوری فضولات برداشته شدند. مقدار جیره مصرفی

معادله (۱)

$$AND_{Reference\ and\ Test\ diets} = \frac{(Nf \times FI) - (Ne \times EX)}{(Nf \times FI)} \times 100$$

معادله (۲)

$$AME_{Reference\ and\ Test\ diets} = \frac{(GEf \times FI - GEe \times EX)}{FI}$$

معادله (۳)

$$AMEN_{Reference \text{ and } Test \text{ diet}} = AME_{Reference \text{ and } Test \text{ diet}} - \frac{8.22 \times (Ni - Ne)}{FI} \quad \text{معادله (۴)}$$

$$AND, AME \text{ and } AMEN_{CS} = \frac{[AND, AME \text{ and } AMEN_{Test \text{ diet}} - 0.6 \times AND, AME \text{ and } AMEN_{Reference \text{ diet}}]}{0.4}$$

پروتئین خام، فیبر خام، خاکستر و انرژی خام برای نمونه دانه کلزای مورد مطالعه به ترتیب ۹۶/۲۰، ۴۶/۶۰، ۱۷/۷۰، ۶/۰۰ و ۴/۱۱ درصد و ۷۱۳۷ کیلوکالری در کیلوگرم به دست آمد. ترکیب شیمیایی نمونه دانه کلزای مورد آزمایش در این مطالعه در محدوده اعداد گزارش شده توسط سایر محققین می باشد (Assadi et al., 2011; Hill, and anderson, 1958; Liang et al 2002; Newkirk and Classen, 2002; Salmon et al., 1988). فرآوری دانه کلزا به روش میکرونایز و سوپرکاندیشنینگ باعث افزایش ماده خشک در دانه کلزا به ترتیب به میزان ۲/۴۶ و ۰/۸۸ درصد شد. چربی خام و پروتئین خام نیز دارای تغییر باروند مشابه ماده خشک بودند. مطابق با نتایج به دست آمده از این آزمایش گزارش شده است که میکرونایز دانه ها باعث تغییر در ترکیب آن ها می شود (Igbasan and Guenter, 1996; Douglas et al., 1991; Lee et al., 1995; Netto et al., 2019). این محققین گزارش کردن که فرآوری (میکرونایز) دانه جو و ذرت منجر به کاهش رطوبت، پروتئین خام و برعکس باعث افزایش چربی می شود.

قابلیت هضم مواد مغذی دانه کلزا

نتایج مربوط به اثر فرآوری بر قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام، مواد آلی و خاکستر دانه کلزا در جوجه های گوشتی در جدول ۳ گزارش شده است. قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام، مواد آلی و خاکستر دانه کلزا تحت تأثیر فرآوری واقع نشد ($P > 0.05$). میانگین قابلیت هضم ماده خشک و چربی خام در دانه کلزای میکرونایز شده به ترتیب 61.75 ± 1.45 و 80.87 ± 1.53 درصد بر اساس ماده خشک به دست آمد. در حالی که در دانه کلزا خام قابلیت هضم ماده خشک و چربی خام به ترتیب 54.28 ± 1.19 و 77.77 ± 1.32 درصد در دانه کلزای سوپرکاندیشنینگ شده به ترتیب 53.23 ± 1.19 و 78.79 ± 1.53 بود. با بررسی نتایج مشاهده می شود، اگرچه فرآوری دانه کلزا به روش سوپرکاندیشنینگ و یا میکرونایز تأثیر معنی داری بر قابلیت هضم مواد مغذی دانه کلزا نداشت، ولی با فرآوری دانه کلزا به روش میکرونایز قابلیت هضم ماده خشک و قابلیت هضم چربی خام آن به ترتیب به میزان ۷/۴۷ و ۳/۰۱ درصد بهبود یافته است.

در این معادله ها، $AND_{Reference \text{ and } Test \text{ diet}}$: قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی جیره مرجع و یا جیره آزمایش (مخلوط ۶۰ درصد جیره مرجع + ۴۰ درصد دانه کلزا خام، میکرونایز، سوپرکاندیشنینگ)، Nf : غلظت ماده مغذی خوراک، FI : مقدار مصرف خوراک، Ne : غلظت ماده مغذی فضولات و EX : مقدار فضولات دفعی، $AME_{Reference \text{ and } Test \text{ diet}}$: انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری (کیلوکالری در گرم) جیره مرجع و یا جیره آزمایش (مخلوط ۶۰ درصد جیره مرجع + ۴۰ درصد دانه کلزا خام، میکرونایز، سوپرکاندیشنینگ)، GEf : انرژی خام خوراک، GEe : انرژی خام فضولات، $AMEN_{Reference \text{ and } Test \text{ diet}}$: انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای ازت (کیلوکالری در گرم) جیره مرجع و یا جیره آزمایشی (مخلوط ۶۰ درصد جیره مرجع + ۴۰ درصد دانه کلزا خام، میکرونایز، سوپرکاندیشنینگ)، Ni : میزان ازت مصرفی (گرم)، Ne : میزان ازت دفعی به (گرم)، $AND, AME \text{ and } AMEN_{CS}$: قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی/انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری/انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای ازت دانه کلزا (خام، میکرونایز، سوپرکاندیشنینگ) می باشند.

آنالیز آماری

نتایج به دست آمده از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS ویرایش ۹/۱ (۲۰۰۳) روش مدل عمومی خطی (GLM) تجزیه و تحلیل شدند. میانگین های مربوطه با آزمون توکی در سطح احتمالی پنج درصد ($P < 0.05$) مقایسه شدند. مدل ریاضی طرح آماری به شرح معادله ۶ بود.

$$X_{ij} = \mu + T_i + E_{ij} \quad \text{معادله (۶)}$$

در این معادله، X_{ij} : مقدار صفت مورد نظر، μ : میانگین کل، T_i : اثر تیمار و E_{ij} : خطای آزمایش در هر مشاهده می باشند.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی دانه کلزا

ترکیب شیمیایی نمونه دانه کلزای رقم نفیس مورد استفاده در مطالعه حاضر در جدول ۲ گزارش شده است. میانگین ماده خشک، چربی خام،

جدول ۲- ترکیب شیمیایی دانه کلزا (رقم نفیس)

Table 2- Chemical composition of canola seed (Nafis variety)

ماده مغذی (%) Nutrient%	خام Crude	میکرونایز Micronized	سوپرکاندیشنینگ Super-conditioning
ماده خشک (%) Dry matter (%)	96.20	98.66	97.08
انرژی خام (کیلوکالری/کیلوگرم) Gross energy (kcal/kg)	7137	7377	7152
پروتئین خام (%) Crud protein (%)	17.70	17.89	17.54
چربی (%) Ether extract (%)	46.60	47.32	47.53
فیبر خام (%) Crude fiber (%)	6.00	6.15	6.05
کلسیم (%) Calcium (%)	0.66	0.68	0.67
فسفر (%) Phosphorous (%)	0.33	0.34	0.33
خاکستر (%) Ash (%)	4.11	4.81	3.86

جدول ۳- اثر فرآوری حرارتی بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی دانه کلز (رقم نفیس) در جوجه‌های گوشتی

Table 3- Effect of heat processing on apparent nutrient digestibility of canola seed (Nafis variety) in broiler chicken

تیمار Treatment	قابلیت هضم ظاهری (%) Apparent digestibility (%)				
	خاکستر Ash	پروتئین خام Crude protein	چربی Crude fat	ماده آلی Organic matter	ماده خشک Dry matter
خام Crude	22.13	69.42	77.77	56.00	54.28
میکرونایز Micronization	26.98	69.33	80.78	62.67	61.75
سوپرکاندیشنینگ Super- conditioning	25.51	65.98	78.79	54.53	53.23
خطای استاندارد Standard error	1.39	1.38	1.53	1.17	1.19
سطح احتمال معنی‌داری P-value	0.465	0.270	0.963	0.237	0.225
کانتراست خام با فرآوری Crude vs. process	0.751	0.477	0.944	0.284	0.299

در جدول فوق $\pm$ نشان‌دهنده خطای استاندارد است.

In the above table, $\pm$ represents the standard error.

دستگاه گوارش پرنده شود (Jiménez *et al.*, 2009). در این آزمایش با فرآوری دانه کلزا به روش سوپرکاندیشنینگ قابلیت هضم پروتئین خام به میزان شش در صد کاهش یافته است. مطابق با نتایج به دست آمده از این آزمایش، گزارش شده است که پلت کردن خوراک ممکن است باعث کاهش قابلیت هضم مواد مغذی در برخی شرایط گردد (Svihus *et al.*, 2005; Abdollahi *et al.*, 2010). این کاهش به خصوص در رابطه با قابلیت هضم اسیدهای آمینه لیزین و آرژنین می‌تواند به علت بروز واکنش میلارد باشد. همچنین تخریب

مطابق با نتایج به دست آمده از این آزمایش گزارش شده است که فرآوری حرارتی اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم پروتئین خام دانه ذرت ندارند (Teymouri and Hassanabadi, 2021). در مقابل با نتایج این آزمایش و گزارش فوق در آزمایش بررسی اثر فرآوری حرارتی بر روی دانه ذرت و برنج نشان داده شده که با پختن قابلیت هضم مواد مغذی بهبود یافته است (JM *et al.*, 2007). فرآوری حرارتی ممکن است باعث تخریب دیواره سلولی گیاهی، آزادسازی محتوای آن و افزایش قابلیت دسترسی مواد مغذی برای فرآیند هضم و جذب در

پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای و تولید نشاسته‌های پس رفتی و ایجاد ترکیبات مقاوم به هضم و کاهش انرژی قابل دسترس باشد (Abdollahi et al., 2010). گزارش شده است قابلیت هضم ایلئومی پروتئین و اسید آمینه در روش فرآوری حرارتی با مدت زمان طولانی کاهش می‌یابد (Vahjen et al., 2014).

انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای ازت دانه کلزا

نتایج تعیین انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری (AME) و انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای ازت (AME_N) دانه کلزا خام و فرآوری شده (میکرونایز-سوپرکاندیشنینگ) در جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ گزارش شده است. انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای ازت دانه کلزا خام رقم نفیس در جوجه‌های گوشتی ۴۶۷۳ کیلوکالری در کیلوگرم برآورد شد. نتایج حاصل از این آزمایش در دامنه گزارش سایر محققین؛ ۴۵۰۱-۴۷۹۱ برای شش رقم (Toghyani et al., 2017)، ۴۶۲۰ (Leeson and Summers, 2005)، ۴۶۹۱ (Barekatain et al., 2015.) کیلوکالری در کیلوگرم

ماده خشک ارزش AME_N دانه کلزا در جوجه‌های گوشتی قرارداد. تفاوت در ارزش انرژی قابل سوخت و ساز دانه کلزا تعیین شده در مطالعات مختلف به عواملی از جمله واریته، شرایط زراعی و آب وهوایی، محتویات مواد مغذی، سطح فاکتورهای ضد تغذیه‌ای، پاسخ متفاوت پرندگان نسبت داده شده است (Sibbald, 1977; Assadi et al., 2011). با افزایش فیبر جیره سرعت عبور محتویات از دستگاه گوارش افزایش یافته و باعث کاهش هضم مواد مغذی و ارزش انرژی ماده خوراکی می‌شود (Toghyani et al., 2017). انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری مواد خوراکی شدیدا تحت تأثیر وجود برخی کمپلکس‌های مضر مانند (تانن‌ها، فیتات‌ها و پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای نامحلول) واقع است، این مواد موجب کاهش اثربخشی آنزیم‌های گوارشی طی فرایند هضم همچنین کاهش تماس مواد مغذی هضم شده با سطح جذب می‌شوند (Lee et al., 1995). محققین گزارش نمودند که مقادیر AME_N و AME با محتوای پروتئین دانه کلزا همبستگی منفی و با چربی خام همبستگی مثبت دارد (Toghyani et al., 2014).

جدول ۴- اثر فرآوری حرارتی بر انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای ازت دانه کلزا (رقم نفیس) در جوجه‌های گوشتی

Table 4- Effect of heat processing on apparent metabolizable energy corrected for nitrogen of canola seed (Nafis variety) in broiler chicken

تیمار Treatment	انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری تصحیح شده برای ازت، (کیلوگرم/کیلوکالری) ماده خشک	انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری، (کیلوگرم/کیلوکالری)
	AME _N (kcal/kg) DM	AME (kcal/kg) DM
خام Crude	4673	4926
میکرونایز Micronization	4790	5089
سوپرکاندیشنینگ Super-conditioning	4705	4918
خطای استاندارد Standard error	104.77	102.68
سطح احتمال معنی‌داری P-value	0.512	0.313

اثر فرآوری بر AME و AME_N دانه کلزا در جوجه‌های گوشتی معنی‌دار ($P > 0.05$) نشد. نتایج به دست آمده از این آزمایش با گزارش سایر محققین مطابقت دارد (Toghyani et al., 2017; Teymouri and Hassanabadi, 2021; Salavati and Golian, 2021). اگرچه در این آزمایش اثر فرآوری حرارتی بر انرژی قابل سوخت و ساز دانه کلزا معنی‌دار نشد، ولی با فرآوری به روش میکرونایز AME_N دانه کلزا به میزان ۱۱۷ کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک افزایش یافته است (۴۷۹۰ کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک AME_N دانه کلزا میکرونایز در مقایسه با ۴۶۷۳ کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک

اثر فرآوری بر AME و AME_N دانه کلزا در جوجه‌های گوشتی معنی‌دار ($P > 0.05$) نشد. نتایج به دست آمده از این آزمایش با گزارش سایر محققین مطابقت دارد (Toghyani et al., 2017; Teymouri and Hassanabadi, 2021; Salavati and Golian, 2021). اگرچه در این آزمایش اثر فرآوری حرارتی بر انرژی قابل سوخت و ساز دانه کلزا معنی‌دار نشد، ولی با فرآوری به روش میکرونایز AME_N دانه کلزا به میزان ۱۱۷ کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک افزایش یافته است (۴۷۹۰ کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک AME_N دانه کلزا میکرونایز در مقایسه با ۴۶۷۳ کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک

با توجه به نتایج به دست آمده از این آزمایش مشاهده می‌شود که

گزارش سایر محققین (Lopez and Leeson, 2007; Barekatain et al., 2015; Toghyani et al., 2017; Nwokolo and Sim, 1989a) مطابقت دارد. گزارش شده است که این کاهش ارزش انرژی به دلیل ابقای مثبت ازت در بدن پرندگان در حال رشد می‌باشد (Lopez and Leeson, 2007).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به دست آمده از این آزمایش؛ میزان قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و AME_n برای دانه کلزا خام رقم نفیس در جوجه‌های گوشتی به ترتیب $54/28 \pm 1/19$ درصد، $69/42 \pm 1/13$ درصد، $77/77 \pm 1/32$ درصد و $46/73 \pm 2/68$ کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک به دست آمد. فرآوری حرارتی (میکرونايز و سوپرکاندیشنینگ) اثری بر بهبود قابلیت هضم مواد مغذی و انرژی قابل سوخت و ساز دانه کلزا (رقم نفیس) نداشت. به طور کلی، تحقیقات بیشتری برای روشن شدن پا سخ جوجه‌ها گوشتی به دانه کلزا به شکل‌های خام و یا فرآوری شده مورد نیاز است.

AME و AME_n برآورد شده برای دانه کلزا دارای تفاوت قابل توجه‌ای است (AME دانه کلزای خام $49/26$ کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک و AME_n آن $46/73$ کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک تعیین شد). پرندگان در حال رشد عمدتاً ازت را به صورت ترکیب بدن (رشد) حفظ می‌کنند، که این مقدار ازت ذخیره شده دفع انرژی را کاهش می‌دهد (Toghyani et al., 2014). درآزمایشات تعادلی برای تعیین انرژی قابل سوخت‌وساز بسته به این که ذخیره ازت مثبت و یا منفی باشد، مقادیر انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری و حقیقی برای تعادل صفر ازت تصحیح می‌شود. تصحیح شامل محاسبه مقدار انرژی ($8/22$ کیلوکالری انرژی به ازای گرم ازت که به فرم اسید اوریک دفعی) اضافی است که اگر چنانچه همه ازتی که ابقاء شده بود، کاتابولیزه و دفع می‌شد، می‌توانست در فضولات ظاهر شود (Hill, 1958 and anderson). تصحیح برای ابقای صفر ازت باعث این اطمینان می‌شود که خوراک مصرف شده در تعیین ارزش انرژی تماماً به عنوان منبع انرژی در بدن مورد استفاده قرار می‌گیرد (Leeson and Summers, 2001). مقدار AME بالاتر نسبت به AME_n برآورد شده برای دانه کلزا در جوجه‌های گوشتی در این آزمایش با

References

1. Abdollahi, M., Zaefarian, F., Hall, L., & Jendza, J. (2020). Feed acidification and steam-conditioning temperature influence nutrient utilization in broiler chickens fed wheat-based diets. *Poultry Science*, 99(10), 5037-5046. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.056>
2. Abdollahi, M., Ravindran, V., Wester, T., Ravindran, G., & Thomas, D. (2010). Influence of conditioning temperature on performance, apparent metabolisable energy, ileal digestibility of starch and nitrogen and the quality of pellets, in broiler starters fed maize-and sorghum-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 162(3-4), 106-115. [doi:10.1016/j.anifeedsci.2010.08.017](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.08.017)
3. Ackman, R. (1990). Canola fatty acids an ideal mixture for health, nutrition, and food use. pp. 81-98 in Canola and rapeseed. Springer.
4. Alonso, R., Grant, G., Frühbeck, G., & Marzo, F. (2002). Muscle and liver protein metabolism in rats fed raw or heat-treated pea seeds. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 611-618. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00186-9](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00186-9)
5. AOAC. (2002). Official methods of analysis. 17th ed. Washington, DC, USA: AOAC International.
6. Assadi, E., Janmohammadi, H., Taghizadeh, A., & Alijani, S. (2011). Nutrient composition of different varieties of full-fat canola seed and nitrogen-corrected true metabolizable energy of full-fat canola seed with or without enzyme addition and thermal processing. *Journal of Applied Poultry Research*, 20(1), 95-101. <https://doi.org/10.3382/japr.2010-00201>
7. Attar, A., Kermanshahi, H., & Golian, A. (2017). Effects of conditioning and sodium bentonite on performance, relative weight of different organs and blood parameters of broiler chickens in grower period. *Animal Production*, 19(2), 441-453. <https://doi.org/10.22059/jap.2017.61708>
8. Aviagen. (2019). Ross 308: broiler nutrition specification. H. Aviagen Inc., AL, ed, USA.
9. Barekatain, M., Wu, S., Toghyani, M., & Swick, R. (2015). Effects of grinding and pelleting condition on efficiency of full-fat canola seed for replacing supplemental oil in broiler chicken diets. *Animal Feed Science and Technology*, 207, 140-149. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.05.020>
10. Bayley, H., & Summers, J. (1975). Nutritional evaluation of extruded full-fat soybeans and rapeseeds using pigs and chickens. *Canadian Journal of Animal Science*, 55(3), 441-450. <https://doi.org/10.4141/cjas75-053>
11. Bell, J. (1993). Factors affecting the nutritional value of canola meal: A review. *Canadian Journal of Animal Science* 73(4), 689-697. <https://doi.org/10.4141/cjas93-075>
12. Brand, T., Van der Merwe, J., & Brandt, D. (1999). Full-fat canola seed meal as a protein source for weaner and grower-finisher pig. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 39(1), 21-28. <https://doi.org/10.1071/EA98100>
13. Brand, T., De Brabander, L., Van Schalkwyk, S., Pfister, B., & Hays, P. (2000). The true metabolisable energy

- content of canola oilcake meal and full-fat canola seed for ostriches (*Struthio camelus*). *British Poultry Science*, 41(2),201-203. <https://doi.org/10.1080/713654905>
14. Camire, M., Camire, A., & Krumhar, K. (1990). Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29(1):35-57. <https://doi.org/10.1080/10408399009527513>
15. Chibowska, M., Smulikowska, S., & Pastuszevska, B. (2000). Metabolisable energy value of rapeseed meal and its fractions for chickens as affected by oil and fibre content. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 9(2),371-378. <https://doi.org/10.22358/jafs/68054/2000>
16. Douglas, J., Sullivan, T., Abdul-Kadir, R., & Rupnow, J. (1991). Influence of infrared (micronization) treatment on the nutritional value of corn and low-and high-tannin sorghum. *Poultry Science*, 70(7),1534-1539. <https://doi.org/10.3382/ps.0701534>
17. Fenwick, G., Spinks, E., Wilkinson, A., Heaney, R., & Legoy, M. (1986). Effect of processing on the antinutrient content of rapeseed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37(8),735. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740370805>
18. Haq, A., & Akhtar, M. (2004). Poultry farming. Higher Education Commission.
19. Hill, F., & Anderson, D., (1958). Comparison of metabolizable energy and productive energy determinations with growing chicks. *Journal of Nutrition*, 64,587-603.
20. Hill, R. (1991). Rapeseed meal in the diets of ruminants. Nutrition abstracts and reviews. Series B, Livestock Feeds and Feeding (United Kingdom).
21. Huang, S., Liang, M., Lardy, G., Huff, H., Kerley, M., & Hsieh, F. (1995). Extrusion processing of rapeseed meal for reducing glucosinolates. *Animal Feed Science and Technology*, 56(1-2),1-9. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00826-9](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00826-9)
22. Igbasan, F., & Guenter, W. (1996). The enhancement of the nutritive value of peas for broiler chickens: An evaluation of micronization and dehulling processes. *Poultry Science*, 75(10),1243-1252. <https://doi.org/10.3382/ps.0751243>
23. Igbasan, F., & Guenter, W. (1997). The influence of micronization, dehulling, and enzyme supplementation on the nutritional value of peas for laying hens. *Poultry Science* 76(2),331-337. <https://doi.org/10.1093/ps/76.2.331>
24. Jeunink, J., & Cheftel, J. (1979). Chemical and physicochemical changes in field bean and soybean proteins texturized by extrusion. *Journal of Food Science*, 44(5),1322-1325. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1979.tb06430.x>
25. Jiménez, ME., González, AJM., González, SA., Lázaro, R., & Mateos, G. (2009). Effect of dietary fiber and fat on performance and digestive traits of broilers from one to twenty-one days of age. *Poultry Science*, 88(12),2562-2574. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00179>
26. JM, GA., Jiménez, ME., Lázaro, R. & Mateos, G. (2007). Effect of type of cereal, heat processing of the cereal, and inclusion of fiber in the diet on productive performance and digestive traits of broilers. *Poultry Science*, 86(8),1705-1715. <https://doi.org/10.1093/ps/86.8.1705>
27. Kiczorowska, B., Samolińska, W., & andrejko, D. (2016). Effect of micronized pea seeds (*Pisum sativum* L.) as a substitute of soybean meal on tissue fatty acid composition and quality of broiler chicken meat. *Animal Science Journal*, 87(11),1396-1406. <https://doi.org/10.1111/asj.12592>
28. Lawrence, T. (1973). An evaluation of the micronization process for preparing cereals for the growing pig. 1. Effects on digestibility and nitrogen retention. *Animal Science* 16(2),99-107. <https://doi.org/10.1017/S0003356100029913>
29. Lee, K., & Sim, J. (1995). Metabolizable energy and amino acid availability of full-fat seeds, meals, and oils of flax and canola. *Poultry Science*, 74(8):1341-1348. <https://doi.org/10.3382/ps.0741341>
30. Leeson, S., & Summers, J. (2001). Nutrition of the chicken. No. 04; SF494, L4 2001., Guelph, Ontario, Canada N1H 6N8.
31. Leeson, S., & Summers, J. (2005). Commercial poultry Nutrition, university books. Guelph, Ontario, Canada:177-178.
32. Liang, M., Huang, S., Huff, H., Kerley, M. & Hsieh, F. (2002). Extrusion cooking of rapeseed meal for feeding value improvement. *Applied Engineering in Agriculture*, 18(3),325. <https://DOI:10.13031/2013.8584>
33. Liu, S., Selle, P., & Cowieson, A. (2013). Influence of conditioning temperatures on amino acid digestibility coefficients at four small intestinal sites and their dynamics with starch and nitrogen digestion in sorghum-based broiler diets. *Animal Feed Science and Technology*, 185(1-2),85-93. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.07.008>
34. Lopez, G. & Leeson, S. (2007). Relevance of nitrogen correction for assessment of metabolizable energy with broilers to forty-nine days of age. *Poultry Science*, 86(8),1696-1704. <https://doi.org/10.1093/ps/86.8.1696>
35. Maheshwari, P., Stanley, D. & Gray, J. (1981). Detoxification of rapeseed products. *Journal of Food Protection*, 44(6),459-470. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-44.6.459>
36. Marzo, F., Alonso, R., Urdaneta, E., Arricibita, F., & Ibanez, F. (2002). Nutritional quality of extruded kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L. var. Pinto) and its effects on growth and skeletal muscle nitrogen fractions in rats. *Journal of Animal Science*, 80(4),875-879. <https://doi.org/10.2527/2002.804875x>
37. Najib, H., & Al-Khateeb, S. (2004). The effect of incorporating different levels of locally produced canola seeds (*Brassica napus*, L.) in the diet of laying hen. *International Journal of Poultry Science*, 3(7),490-496.

- <https://DOI: 10.3923/ijps.2004.490.496>
38. Netto, M.T., Massuquetto, A., Krabbe, E., Surek, D., Oliveira, S., & Maiorka, A. (2019). Effect of conditioning temperature on pellet quality, diet digestibility, and broiler performance. *Journal of Applied Poultry Research*, 28(4),963-973. <https://doi.org/10.3382/japr/pfz056>
 39. Newkirk, R. & Classen, H. (2002). The effects of toasting canola meal on body weight, feed conversion efficiency, and mortality in broiler chickens. *Poultry Science*, 81(6):815-825. <https://doi.org/10.1093/ps/81.6.815>
 40. Nwokolo, E., & Sim, J. (1989a). Barley and full-fat canola seed in broiler diets. *Poultry Science*, 68(10),1374-1380. <https://doi.org/10.3382/ps.0681374>
 41. Nwokolo, E. & Sim, J. (1989b). Barley and full-fat canola seed in layer diets. *Poultry Science*, 68(11),1485-1489. <https://doi.org/10.3382/ps.0681485>
 42. Salavati, S., & Golian, A. (2021). Determination of metabolisable energy of wheat processed at different temperatures and effect of their inclusion in mash diets with and without enzyme supplementation on small intestine morphology and growth performance of broiler chickens during 11-24 days. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 3(2),275-290. (In Persian).
 43. Salmon, R., Stevens, V., & Ladbroke, B. (1988). Full-fat canola seed as a feedstuff for turkeys. *Poultry Science*, 67(12),1731-1742. <https://doi.org/10.3382/ps.0671731>
 44. Savage, G., Smith, W., & Briggs, P. (1980). A note on the influence of micronization and polyethylene glycol on the nutritional value of brown sorghum for growing pigs. *Animal Science*, 30(1),157-160. <https://doi.org/10.1017/S0003356100023904>
 45. Shen, H., Summers, J., & Leeson, S. (1983). The influence of steam pelleting and grinding on the nutritive value of canola rapeseed for poultry. *Animal Feed Science and Technology*, 8(4),303-311. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(83\)90050-0](https://doi.org/10.1016/0377-8401(83)90050-0)
 46. Sibbald, I. (1977). The true metabolizable energy values for poultry of rapeseed and of the meal and oil derived therefrom. *Poultry Science*, 56(5),1652-1656. <https://doi.org/10.3382/ps.0561652>
 47. Smithard, R., & Eyre, M. (1986). The effects of dry extrusion of rapeseed with other feedstuffs upon its nutritional value and anti-thyroid activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37(2),136-140. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740370206>
 48. Svihus, B., Uhlen, A., & Harstad, O. (2005). Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 122(3-4),303-320. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.02.025>
 49. Szymeczko, R., Topolinski, T., Burlikowska, K., Piotrowska, A., Boguslawska, T., & Blaszyk, J. (2010). Effects of different levels of rape seeds in the diet on performance, blood and bone parameters of broiler chickens. *Journal of Central European Agriculture*, 11(4), 393-400. <https://DOI:10.5513/JCEA01/11.4.843>
 50. Teymouri, M., & Hassanabadi, A. (2021). Influence of corn conditioning temperature and enzyme supplementation on growth performance, nutrient utilisation and intestine morphology of broilers fed mash corn-soy diets. *Italian Journal of Animal Science*, 20(1):1015-1028. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1943015>
 51. Tiemouri, H., Zarghi, H., & Golian, A. (2019). Effect of enzyme supplementation on AMEn, dry matter and crude protein digestibility of hull-less barley in broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 13(3),369-388. (In Persian).
 52. Toghyani, M., Rodgers, N., Barekatin, M., Iji, P., & Swick, R. (2014). Apparent metabolizable energy value of expeller-extracted canola meal subjected to different processing conditions for growing broiler chickens. *Poultry Science*, 93(9),2227-2236. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03790>
 53. Toghyani, M., Swick, R., & Barekatin, R. (2017). Effect of seed source and pelleting temperature during steam pelleting on apparent metabolizable energy value of full-fat canola seed for broiler chickens. *Poultry Science*, 96(5),1325-1333. <https://doi.org/10.3382/ps/pew401>
 54. Vahjen, W., Mader, A., Knorr, F., Ruhnke, I., Röhe, I., Hafeez, A., Villodre, C., Männer, K., & Zentek, J. (2014). The effects of different thermal treatments and organic acid levels in feed on microbial composition and activity in gastrointestinal tract of broilers. *Poultry Science*, 93(6),1440-1452. <https://DOI: 10.3382/ps.2013-03763>
 55. Veluri, S., and Olukosi, O. (2020). Metabolizable energy of soybean meal and canola meal as influenced by the reference diet used and assay method. *Animals*, 10(11),2132. <https://doi.org/10.3390/ani10112132>
 56. Zarghi, H., Golian, A., Kermanshahi, H., & Aghel, H. (2011). Effect of enzyme supplementation on metabolisable energy of corn, wheat and triticale grains in broiler chickens using total excreta collection or marker methods. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 3(2),105-112. (In Persian).



The Effect of Oxidative Stress and Dietary Vitamin E Supplementation on Fresh Sperm Quality of Ross 308 Broiler Breeder Roosters

Zabihollah Nemati^{1*}, Namdar Kamrani², Mohammad Sattari², Amir Karimi³, Magsoud Besharati¹

Received: 24-05-2022

Revised: 26-09-2022

Accepted: 18-01-2023

Available Online: 18-01-2023

How to cite this article:

Nemati, Z., Kamrani, N., Sattari, M., Karimi, A., & Besharati, M. (2023). The effect of oxidative stress and dietary vitamin E supplementation on fresh sperm quality of Ross 308 broiler breeder roosters. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 15(2), 211-223.

DOI: [10.22067/ijasr.2023.75961.1070](https://doi.org/10.22067/ijasr.2023.75961.1070)

Introduction: Oxidative stress is an imbalance between oxidants and antioxidants at the cellular level which leads to the condition of infertility in male. Oxidation of cell macromolecules, cell death by necrosis, apoptosis and damage of tissue structure are the results of another oxidative stress damage. This process eventually leads to a variety of diseases, reduced growth performance and even death (Min et al. 2018). Poultry face a variety of environmental, technological, nutritional, and biological stresses that reduce their productivity and reproductive performance. Most of these stresses at the molecular level are associated with oxidative stress and damage to biologically important molecules (Surai et al. 2019). Qualitative characteristics of sperm, blood testosterone level, and plasma lipid peroxidation are affected by severe oxidative stress (Khan, 2011). Vitamin E is an important known antioxidant and protect cell membrane of sperm cell from damage of reactive oxygen species in male reproductive system of animal. Feeding of this vitamin has beneficial effect on testes weight, semen quality indexes, testosterone and antioxidant enzymes such as glutathione peroxidase and superoxide dismutase in birds and mammals. The objective of this experiment was to investigate the effect of diet vitamin E supplementation on fresh sperm quality in broiler breeder roosters challenged with oxidative-stress.

Materials and Methods: Eighteen Ross 308 male broiler breeder at 28 weeks of age were randomly assigned into 3 experimental groups including control group, dexamethasone group (subcutaneous injection of 4 mg dexamethasone per kg body weight) and dexamethasone group receiving supplemented diet with of vitamin E (200 mg per kg of feed). Each experimental group consisted of 6 birds. Sperm samples were taken from roosters using abdominal massage method and analyzed for quality characteristics and antioxidant status. Sperm concentration was determined by counting spermatopzoa using hemocytometer. The pooled sperm sample was diluted by using poultry semen extender and then 10 μ l of diluted sperm mixed with 10 ml of 3% NaCl. The chambers of hemacytometer filled with 10 μ l sperm suspension and allowed to settle for 3 minutes. Numbers of sperm cell in 5 of the large squares of chamber were assessed. Computer assisted semen analyses (CASA) were performed to determine sperm motility, with settings adjusted to detecting domestic fowl according to a previously described method (Froman and Feltmann, 2000). Total, progressive and non-progressive motility (%), as well as immotile sperms were measured. Also, sperm kinematic values including straight line velocity (VSL (μ m/s)), curvilinear velocity (VCL (μ m/s)), average path velocity (VAP (μ m/s)), amplitude of lateral head displacement (ALH (μ m)), and beat-cross frequency (BCF (Hz)) were measured. Progression ratios were also calculated using the mentioned velocity measurements: straightness (STR = VSL/VAP) and linearity (LIN = VSL/VCL).

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

2- M.Sc. Graduate Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

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

*Corresponding Author's Email: znnemati@yahoo.com, znemati@tabrizu.ac.ir

Results and discussions: The results indicate that dexamethasone-induced oxidant stress caused an increase in MDA levels (5.4) and a decrease in the activity of antioxidant enzymes such as glutathione peroxidase (52.51) and superoxide dismutase (108.62), as well as sperm motility parameters and sperm cell membrane integrity in comparison to the control group. However, when vitamin E was added to the roosters' diet, it improved the negative effects of oxidative stress on sperm motility parameters, antioxidant status (Total antioxidant capacity (1.65), superoxide dismutase (155.10) and glutathione peroxidase (87.77) enzymes), sperm viability (88.05), and sperm cell membrane integrity (89.72) ($P<0.05$). These findings suggest that dexamethasone injection caused a sharp decline in sperm quality by reducing sperm motility, antioxidant enzyme activity, and plasma membrane integrity, while vitamin E supplementation improved sperm quality by enhancing the antioxidant status and protecting the sperm cell membrane from the damage caused by reactive oxygen species in broiler breeders.

Avian sperm are highly susceptible to lipid peroxidation due to their high content of long-chain polyunsaturated fatty acids. Lipid peroxidation produces reactive species that damage sperm membrane function and motility, ultimately reducing the fertility potential of aged roosters. Therefore, the antioxidant defense plays a critical role in maintaining semen quality (Surai et al., 2006).

Conclusion: It can be concluded that the inclusion of vitamin E in diet remarkably improved the sperm motility characteristics and antioxidant status of sperm in broiler breeder roosters challenged with oxidative stress. On bases of this finding it's recommended to use of vitamin E in the rooster diet to elucidate negative effect of oxidative stress.

Keywords: Broiler breeder rooster, Oxidative stress, Sperm quality, Vitamin E

تأثیر مکمل ویتامین E جیره غذایی بر کیفیت اسپرم تازه خروس‌های مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ چالش یافته با تنش اکسیداتیو

ذبیح‌اله نعمتی^{۱*}، نامدار کامرانی^۲، محمد ستاری^۲، امیر کریمی^۳، مقصود بشارتی^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۲۸

چکیده

هدف از انجام این آزمایش، بررسی اثر افزودن ویتامین E به جیره غذایی بر کیفیت اسپرم در خروس‌های تحت تنش اکسیداتیو بود. تعداد ۱۸ قطعه از خروس گله مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ در سن ۲۸ هفتگی به صورت تصادفی در سه گروه آزمایشی شامل گروه شاهد، گروه دگزاتازون (تزریق زیر پوستی چهار میلی گرم دگزاتازون به ازای کیلوگرم وزن بدن) و گروه دگزاتازون دریافت کننده جیره مکمل شده با ۲۰۰ میلی گرم ویتامین E در کیلوگرم خوراک، اختصاص داده شد. هر گروه آزمایشی شامل شش پرنده بود. اسپرم‌گیری از خروس‌ها با استفاده از روش ماساژ شکمی انجام و خصوصیات کیفی و وضعیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های اسپرم به روش استاندارد ارزیابی شد. نتایج نشان داد، القای تنش اکسیداتیو با تزریق دگزاتازون سبب افزایش مالون دی آلدئید و کاهش یکپارچگی غشای پلاسمای، فعالیت آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و شاخص‌های حرکتی اسپرم، در مقایسه با گروه شاهد شد. افزودن ویتامین E به جیره غذایی خروس‌ها سبب بهبود اثرات منفی تنش اکسیداتیو بر شاخص‌های حرکتی اسپرم، وضعیت آنتی اکسیدانی اسپرم (ظرفیت آنتی اکسیدانی و آنزیم‌های سوپراکسیداز و گلوکاتایون پراکسیداز)، قابلیت زنده‌مانی و یکپارچگی غشای اسپرم شد. می‌توان نتیجه گرفت، گنجاندن ویتامین E در جیره غذایی می‌تواند سبب بهبود خصوصیات حرکتی و وضعیت آنتی اکسیدانی اسپرم در خروس‌های تحت تنش شود.

واژه‌های کلیدی: خروس مادر گوشتی، تنش اکسیداتیو، کیفیت اسپرم، ویتامین E.

مقدمه

خوراک، سرعت رشد، و باروری هم کاهش می‌یابد (El-Lethey et al., 2000; Gross, 1993). اثرات کاتابولیکی بیش از حد هورمون‌های گلوکوکورتیکوئید از منابع درون‌زا یا برون‌زا قبلاً به خوبی اثبات شده است (Akiba et al., 1992; Ohtsuka et al., 1992). به طوری که با استفاده از گلوکوکورتیکوئیدها و وضعیت تنش اکسیداتیو در مرغ ایجاد می‌شود (Eid et al., 2003). به طور مشابه در آزمایش تجربی نشان داده شده است که استفاده از گلوکوکورتیکوئید مصنوعی دگزاتازون (DEX)، اثرات منفی افزایش کورتیکواسترون را در بدن پرنده القاء می‌کند (Eid et al., 2006). مطالعات قبلی نشان

یکی از مسائل اساسی در صنعت طیور مدرن که تولیدکنندگان آن مواجه هستند، تنش است. پرندگان اغلب در معرض عوامل تنش‌زا محیطی، تغذیه‌ای و عوامل بیماری‌زا مانند سموم، محدودیت، حمل و نقل و تنش گرمایی قرار دارند (Mishra and Jha, 2019; Nemati et al., 2014a; Nemati et al., 2014b; Nemati et al., 2015). در شرایط استرس، علاوه بر اینکه سیستم غدد درون‌ریز و محور آدرنال - هیپوتالاموس - هیپوفیز و غدد تیروئید پرنده به میزان قابل توجهی تحت تأثیر تنش قرار می‌گیرد (Siegel, 1980)، بلکه میزان مصرف

۱- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۲- فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

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

*- نویسنده مسئول: (Email: znnemati@yahoo.com, znemati@tabrizu.ac.ir)

مواد و روش‌ها

حیوان و گروه‌های آزمایشی

این تحقیق در سالن مرغداری دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی با ۱۸ قطعه خروس سویه راس ۳۰۸ با میانگین وزنی 380 ± 80 گرم در سن ۲۸ هفتگی در سه گروه و شش پرنده در هر گروه به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. سالن مجهز به سیستم پرورش در قفس انفرادی، آبخوری نیپلی و غذادهی دستی بود و همه گروه‌های آزمایشی با دو نوبت غذادهی (۱۰۰ گرم در روز برای هر خروس) بر اساس جیره غذایی بر پایه کاتالوگ ۲۰۱۸ سویه راس ۳۰۸ (جدول ۱) و دسترسی آزاد به آب، با برنامه نوردهی ۱۵ ساعت روشنایی و نه ساعت تاریکی نگهداری شدند. گروه‌های آزمایشی شامل ۱- جیره غذایی پایه (شاهد) ۲- جیره غذایی پایه و تزریق زیر پوستی دگزامتازون به مقدار چهار میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن (دگزامتازون) ۳- دگزامتازون + ویتامین E به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک، بودند. مکمل ویتامین E (آلفا توکوفرول استات) با درجه خلوص ۶۰ درصد از شرکت لابراتوار ساینس ایران تهیه شد. به منظور عادت‌دهی خروس به مدت ۱۴ روز در داخل قفس نگهداری و به‌روشنی ماساژ شکمی اسپرم‌گیری شدند، سپس در هفت روز بعد خروس‌های آزمایشی به غیر از گروه شاهد تزریق دگزامتازون را به صورت یک روز در میان دریافت کردند.

اسپرم‌گیری و تزریق دگزامتازون

دگزامتازون مورد نیاز از شرکت دارویی ابوریحان تهیه شد و به صورت زیرجلدی و از ناحیه شکمی در سه نوبت یک روز در میان به مدت یک هفته انجام گرفت (Min et al., 2018) به صورت مشابه نیز در گروه شاهد تزریق محلول سرم فیزیولوژیکی، انجام گرفت. سه هفته پس از اعمال گروه‌های آزمایشی، اسپرم‌گیری از خروس‌ها با استفاده از روش ماساژ شکمی دو بار در هفته و به مدت دو هفته انجام گرفت (Burrows and Quinn, 1937). نمونه‌های منی هر خروس داخل میکروتیوب جمع‌آوری شده و به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار داده شدند تا ارزیابی اولیه از نظر تحرک، غلظت و رنگ اسپرم انجام شود. اسپرم‌های با تحرک ۷۵ درصد و غلظت مناسب به عنوان اسپرم‌های طبیعی در نظر گرفته شده و در مرحله بعدی آزمایش، جهت از بین بردن اثرات فردی، نمونه‌ها با هم مخلوط شدند. رقیق‌کننده بلت سویل بهبودیافته برای رقیق کردن اسپرم و اندازه‌گیری خصوصیات کیفی آن استفاده شد. مواد تشکیل‌دهنده محیط رقیق‌کننده از شرکت مرک آلمان تهیه گردید که شامل پتاسیم دی فسفات (۱۲/۷ گرم در لیتر)، سدیم گلوتمات (۸/۶۱ گرم در لیتر)، فروکتوز (۵ گرم در لیتر)، سدیم استات (۴/۳ گرم در لیتر)، تریس (۱/۹ گرم در لیتر)، پتاسیم سترات (۰/۶۴ گرم در لیتر)، پتاسیم مونو فسفات (۰/۶۵ گرم در لیتر)، کلراید

می‌دهد، تزریق دگزامتازون به میزان ۰/۲ تا ۰/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به عنوان یک عامل سرکوب‌کننده سامانه ایمنی (Fowles et al., 1993)، و واسطه‌گر تنش قبل از تولد عمل می‌کند (Maccari et al., 2003; Welberg and Seckl, 2001) و در سطح چهار میلی‌گرم در روز سبب القاء تنش اکسیداتیو در مرغ‌های تخم‌گذار (El-Habbak et al., 2005) و خروس‌های مادر (Min et al., 2018) می‌شود. در شرایط تنش اکسیداتیو گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن شکل می‌گیرد که آن‌ها می‌توانند با اکسیداسیون ماکرومولکول‌ها، اسکلت سلولی و آکسونمی اسپرم سازنده را تغییر می‌دهد و منجر به کاهش تحرک اسپرم (De Lamirande and Ggnon, 1992)، مهار لقاح اسپرم و تخمک‌ها (John Aitken et al., 1989) و کاهش باروری می‌شود (Wishart, 1984). یکی از راهکارهای مقابله با شرایط تنش اکسیداتیو در پرنده استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها است چرا که مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی پاسخ فیزیولوژیکی به تنش در حیوان را افزایش می‌دهند (Eid et al., 1999; Taniguchi et al., 2003). بنابراین، در حال حاضر به منظور جلوگیری از ایجاد شرایط تنش اکسیداتیو، از آنتی‌اکسیدان‌های مختلف از قبیل مکمل ویتامینی، آنتی‌اکسیدان‌ها و عصاره‌های گیاهی به صورت انفرادی و یا توأم در جیره غذایی در طیور استفاده می‌شود (Mishra and Jha, 2019; Nemati et al., 2022). ویتامین E جزء اصلی سیستم آنتی‌اکسیدانی اسپرم محسوب می‌شود (Lenzi et al., 1996) که کارآمدترین رویش محافظ رادیکال‌های پراکسید در لایه‌های فسفولیپید غشای سلول است. اثرات سودمند ویتامین E جیره غذایی بر بهبود رشد و پروکسیداسیون بافت، پایداری گوشت (Guo et al., 2013; Nemati et al., 2020b) و عملکرد تولید مثلی خروس (Danikowski et al., 2002) و وضعیت آنتی‌اکسیدانی خون بلدرچین (Nemati et al., 2020a) گزارش شده است. همچنین ویتامین E می‌تواند کیفیت اسپرم منجمد را در گاو‌ها (Towhidi and Parks, 2012)، قوچ‌ها (Silva et al., 2013) و خروس‌ها بهبود بخشد (Amini et al., 2015a; Moghbeli et al., 2016). افزودن مکمل ویتامین E به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره غذایی سبب افزایش غلظت آن را در خون و مایع منی خروس می‌شود و علاوه بر این باعث ایجاد تغییرات مفیدی در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مشخصات لیپید مایع منی خروس در شرایط عادی (Surai et al., 1997b) و بهبود عملکرد ایمنی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی در خروس‌های مادر تحت تنش اکسیداتیو با دگزامتازون می‌شود (Min et al., 2018). بنابراین، با توجه به اهمیت موضوع و ضرورت ارزیابی کیفیت اسپرم در خروس‌های مرغ مادر، این آزمایش با هدف بررسی تأثیرگذاری ویتامین E بر ویژگی‌های حرکتی و قدرت زنده‌مانی اسپرم و سیستم آنتی‌اکسیدانی خروس‌های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو از طریق تزریق دگزامتازون بود.

منیزیم (۰/۳۴ گرم در لیتر) بودند.

جدول ۱- جیره غذایی خروس مادر راس ۳۰۸ در دوره آزمایش
Table 1- Ross 308 male broiler breeder diet in experimental period

مقدار Content	ترکیب شیمیایی Chemical composition	مقدار (%) Content (%)	مواد خوراکی ^۱ Ingredient ^۱
2750	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم) Metabolism Energy (kcal/kg)	57	دانه ذرت Corn
12	پروتئین خام (%) Crude protein (%)	10	کنجاله سویا (پروتئین خام، ۴۴٪) Soybean meal (Cp, 44%)
0.45	متیونین - سیستئین (%) Methionine-cysteine (%)	11	دانه جو Barley grain
0.5	لازین (%) Lysine (%)	18	سبوس گندم Wheat bran
0.38	ترئونین (%) Threonine (%)	1.3	دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate
0.7	کلسیم (%) Calcium (%)	1.6	پوسته صدف Oyster shell
0.35	فسفر (%) Phosphorus (%)	0.5	مکمل ویتامین معدنی ^۱ Mineral vitamin supplement
0.18	سدیم (%) Sodium	0.3	نمک طعام Common salt
0.16	کلر (%) Chlorine (%)	0.05	سدیم بیکربنات Sodium bicarbonate
1	لینولئیک اسید (%) Linoleic acid (%)	0.11	دی ال - متیونین DL-Methionine
		0.01	ویتامین B Vitamin B
		0.01	ویتامین ای Vitamin E
		0.01	کولین کلراید Choline chloride

^۱ هر کیلوگرم مکمل شامل: ویتامین A ۳۶۰۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین D3 ۸۰۰۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین E ۷۲۰۰ واحد بین المللی، ویتامین B1 ۷۲۰ میلی گرم، ویتامین B2 ۲۶۴۰ میلی گرم، اسید پانتوتنیک ۴۰۰۰ میلی گرم، اسید نیکوتینیک ۱۲۰۰۰ میلی گرم، ویتامین B6 ۱۲۰۰ میلی گرم، اسید فولیک ۴۰۰ میلی گرم، ویتامین B12 ۶ میلی گرم، ویتامین K3 ۸۰۰ میلی گرم، بیوتین ۴۰ میلی گرم، کولین کلراید ۱۰۰۰۰۰ میلی گرم و آنتی اکسیدان ۴۰۰۰۰ میلی گرم. ۴۰ گرم منگنز به شکل سولفات منگنز، ۸۰ میلی گرم سلنیوم، ۵۰ گرم آهن به شکل سولفات آهن، ۱۰ گرم مس به شکل سولفات مس، ۴۰۰ میلی گرم ید.

^۱ Vitamin and mineral premix provides per kilogram of diet: vitamin A, 3600,000 IU ; vitamin D3, 800,000 IU; vitamin E, 7200 IU; thiamin HCl, 720 mg; riboflavin, 2640 mg; nicotinic acid, 12000 mg; folic acid, 400 mg; pyridoxine, 1200 mg; biotin, 40 mg; vitamin B12, 6 mg; choline Cl, 100,000 mg; Antioxidant, 40000 mg; Mn (from MnSO4·H2O), 40 mg; Se, 80 mg; Fe (from FeSO4·7H2O), 50 g; Cu (from CuSO4·5H2O), 10 g; Cu [from CuSO4], 10 g; I, 400 mg.

ارزیابی تحرک اسپرم با سیستم کاسا

تحرک کل، تحرک پیش رونده، میانگین سرعت در مسیر، سرعت در مسیر مستقیم، سرعت در مسیر منحنی، خطی بودن تحرک، درصد مستقیم الخط بودن حرکت اسپرم ها، تحرک عرضی سر، فرکانس حرکات جانبی توسط سیستم آنالیز رایانه ای مجهز به میکروسکوپ فاز کنتراست (Labomed LX400) با بزرگنمایی ۱۰۰ و نرم افزار (Video test-sperm 3.2, USA)، ارزیابی شد. بدین منظور ۱۰ میکرولیتر از نمونه منی رقیق شده را روی لام ریخته و یک لامل تمیز روی آن قرار داده شد و فرآیندهای جنبایی اسپرم با استفاده از

کامپیوتر ارزیابی شد (da Silva Maia *et al.*, 2009).

ارزیابی یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم

این آزمایش بر اساس تست هایپواسموتیک (HOST) حاوی فروکتوز (نه گرم) و سیترات سدیم (۴/۹ گرم)، ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر با اسمولاریته ۱۰۰ میلی اسمول در محیط اسپرم طراحی شد. اسپرم های با دم گره خورده به عنوان اسپرم های دارای غشای یکپارچه و اسپرم های که دم آن ها صاف بود، به عنوان اسپرم دارای غشای غیر یکپارچه تلقی شد (Revell and Mrode, 1994). برای این منظور

مقادیر ضرایب تغییرات سنجش داخل و بین اندازه‌گیری‌ها به ترتیب ۳/۵ و ۴/۷ بود. کلیه خوانش‌ها با دستگاه اتوالایزر (آل سیون ۳۰۰) و در آزمایشگاه مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های به دست آمده از این آزمایش شامل تحرک کل، تحرک پیش رونده، زنده‌مانی، یکپارچگی غشاء و داده‌های مربوط به میزان مالون دی آلدئید سمینال پلاسما (MDA)، فعالیت گلو تاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و ظرفیت آنتی اکسیدان توسط رویه GLM نرم افزار SAS و در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت (معادله ۱). مقایسات میانگین گروه‌ها با آزمون دانکن انجام شده و نتایج به صورت میانگین مربعات خطا در سطح ۵ درصد ($P < 0.05$) گزارش گردید.

معادله (۱)

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$
 که در این معادله، Y_{ij} : مقدار عملکرد صفت وابسته نمونه زام در تیمار i ام، μ : میانگین کل تیمار، T_i : اثر تیمار و e_{ij} : اثرات باقی مانده، هستند.

نتایج و بحث

نتیجه آنالیز داده‌های مربوط به تحرک کل و زنده‌مانی اسپرم تازه در شکل ۱ مشاهده می شود. میزان زنده‌مانی اسپرم خروس‌ها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P \leq 0.05$). بیشترین و کمترین مقدار زنده‌مانی به ترتیب مربوط به خروس‌های دریافت‌کننده دگزامتازون و جیره غذایی حاوی مکمل ویتامین E و گروه دریافت‌کننده دگزامتازون بود. ایجاد تنش اکسیداتیو القایی با تزریق دگزامتازون سبب کاهش عددی میزان زنده‌مانی اسپرم در مقایسه با گروه شاهد شد. افزودن مقادیر بالای مکمل ویتامین E به جیره غذایی خروس‌های تحت تنش نه تنها سبب جبران اثرات منفی تنش بر میزان زنده‌مانی اسپرم شد، بلکه میزان آن را در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد. مشابه نتایج این آزمایش، افزایش در زنده‌مانی اسپرم خروس پس از مکمل‌سازی جیره با ویتامین E به مقدار ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شده است (Asl et al., 2018). همچنین محققین گزارش کردند، ویتامین E با افزایش زنده‌مانی اسپرم، کیفیت منی خروس را بهبود می‌بخشد (Franchini et al., 2001). نتایج نشان می‌دهد، گروه دریافت‌کننده دگزامتازون، سبب کاهش معنی‌دار در تحرک کل اسپرم در مقایسه با گروه شاهد شد (شکل ۱). بیشترین مقدار تحرک پیش‌رونده مربوط به گروه شاهد می‌باشد که اختلاف معنی‌داری با دو گروه دیگر دارد. گروه دریافت‌کننده دگزامتازون که جیره آن‌ها با ویتامین E مکمل‌سازی شده بود، در مقایسه با گروه

۱۰ میکرولیتر اسپرم رقیق‌شده را با ۲۰ میکرولیتر محلول هاست مخلوط کرده و وضعیت اسپرم‌های با دم صاف و دم پیچیده زیر میکروسکوپ (Olympus, Japan) با عدسی ۴۰× مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

وضعیت زنده‌مانی اسپرم

وضعیت زنده‌مانی اسپرم‌ها به وسیله رنگ‌آمیزی اتوزین-نگروزین بررسی شد. برای این منظور، ۱۰ میکرولیتر منی رقیق‌شده را با ۲۰ میکرولیتر رنگ حاوی رنگ اتوزین (۱/۶۷ گرم)، رنگ نگرزین (۱۰ گرم) و سیترات سدیم (۲/۹ گرم) در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط کرده و گسترشی بر روی لام تهیه شد و زنده‌مانی تعداد ۲۰۰ اسپرم به وسیله میکروسکوپ نوری (Olympus, Japan) با بزرگ‌نمایی ۴۰× مورد بررسی قرار گرفت. اسپرم‌هایی که به طور کلی یا جزئی رنگ قرمز مایل به بنفش به خود گرفته بودند را مرده و اسپرم‌هایی که رنگ نگرفته بودند، اسپرم‌های زنده در نظر گرفته شد (Evans and Maxwell, 1987).

اندازه‌گیری وضعیت آنتی اکسیدانی اسپرم

برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید، مقدار یک میلی لیتر از منی رقیق‌شده با یک میلی لیتر کلرید سدیم ۰/۹ درصد مخلوط شده و سپس نمونه‌ها با دور ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شده و به تعداد سه بار با بافر سیترات شستشو و مجدداً سانتریفیوژ شدند. در نهایت، محلول رویی دور ریخته شده و رسوب باقی‌مانده اسپرم‌ها در یک میلی لیتر آب دیونیزه حل شد. برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی آلدئید مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از هر نمونه را برداشته و با یک میلی لیتر محلول اسیدتری کلریدریک ۲۰ درصد و تیوباربیتوریک اسید ۰/۵ درصد مخلوط شده و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس نمونه‌ها بعد از سرد شدن، به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در پایان، عدد جذب مالون دی آلدئید محلول بالایی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (JENWAY-6405، انگلیس) در طول موج ۵۸۶ نانومتر، خوانده شده و غلظت مالون دی آلدئید ثبت شد (Peris et al., 2007b).

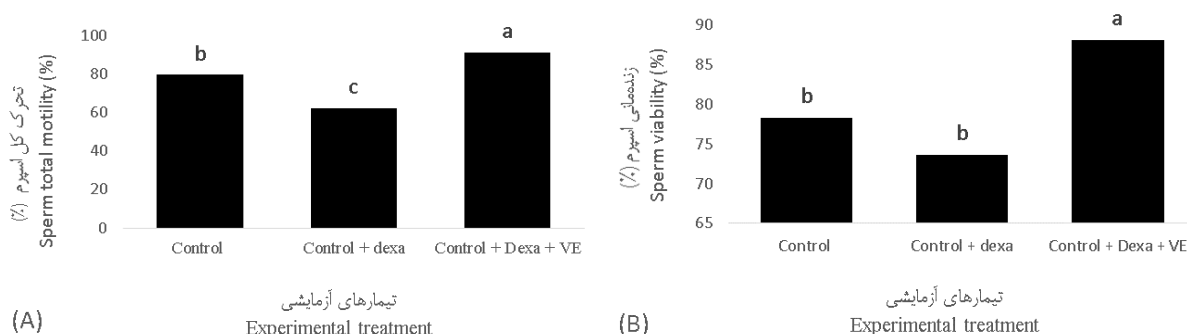
شاخص‌های ظرفیت کل آنتی اکسیدانی و سوپراکسید دیسموتاز در اسپرم توسط کیت‌های تجاری شرکت طب پژوهان (ایران-تهران) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد؛ ضرایب تغییرات سنجش داخل و بین اندازه‌گیری‌ها به ترتیب ۵/۷ و ۳/۷ درصد برای ظرفیت کل آنتی اکسیدانی و ۸/۰ و ۷/۱ درصد برای سنجش سوپراکسید دیسموتاز بود. سنجش فعالیت گلو تاتیون پراکسیداز توسط کیت تجاری زلیو (Zellbio GmbH, Germany) انجام شد و

شاخص های حرکتی را کاهش می دهد ($P \leq 0.05$). دگزامتازون احتمالاً سبب افزایش تولید گونه های واکنش پذیر اکسیژن می شود، به طوری که نتایج افزایش مالونیل آلدئید و کاهش آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پروکسیداز اسپرم (جدول ۴) به واسطه شرایط استرسی مؤید این موضوع است و این امر می تواند دلیل تأثیر منفی آن بر اکثر شاخص های حرکتی باشد که نتایج ما همسو با نتایج سایر محققان است، مبنی بر افزایش مالونیل آلدئید و کاهش آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز در بدن است. محققین نشان دادند، تولید بالاتر گونه های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) ممکن است تعداد سلول های آسیب دیده را افزایش داده باشد و اثرات منفی بر روی شاخص های حرکتی اسپرم داشته باشد (Rover Júnior et al., 2001).

نتایج داده های مربوط به یکپارچگی غشای پلاسمایی در جدول ۳ نشان داده شده است. تزریق دگزامتازون سبب کاهش یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم در مقایسه با دو گروه دیگر شده است. استفاده از ویتامین E در جیره خروس های تحت تنش با دگزامتازون سبب حفظ مناسب یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم شد که نشان دهنده نقش محافظتی ویتامین E می باشد که موافق با نظر سایر پژوهشگران می باشد که بیان کرده اند، ویتامین E به واسطه محافظت از غشای سلولی (Peris et al., 2007a; Zhang et al., 2001) از طریق قطع واکنش زنجیره پراکسیداسیون لیپیدی و به دام انداختن گونه های واکنش پذیر اکسیژن به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی شناخته شده است (Niki, 2014).

دریافت کننده دگزامتازون، دارای تحرک پیش رونده بیشتر می باشد (جدول ۲). مطابق با آزمایش حاضر، نشان دادند که تزریق دگزامتازون به مقدار چهار میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، سبب کاهش تحرک کل در مقایسه با گروه شاهد شد (Eid et al., 2006). افزودن ویتامین E به خوراک خروس های تحت تنش (دریافت کننده دگزامتازون) سبب بهبود تحرک کل در مقایسه با گروه های شاهد و دریافت کننده دگزا شد ($P \leq 0.05$). استفاده از ویتامین E به مقدار ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خوراک در جیره خروس های محلی مصری که تحت تنش اکسیداتیو با تزریق چهار میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن قرار گرفته بودند، سبب بهبود تحرک اسپرماتوزوآ در مقایسه با گروه شاهد و سایر گروه ها شد (Eid et al., 2006) که مشابه نتایج آزمایش حاضر می باشد. همچنین در مطالعه ای نشان دادند که افزودن ویتامین E در جیره غذایی خروس، سبب افزایش تحرک اسپرماتوزوئید شد (Asl et al., 2018). همچنین افزودن مقدار دو میلی گرم سیکلودکستین - ویتامین E در رقیق کننده اسپرم قوچ، سبب بهبود تحرک اسپرماتوزوآ شد (Benhenia et al., 2018). در مطالعه اخیر در مورد انسان ها، محققان دریافتند که مصرف آنتی اکسیدان بیشتر با افزایش تعداد اسپرم و تحرک بیشتر آن همراه است (Eskenazi et al., 2005). پیشنهاد شده است که ویتامین E با اتصال به اندو پراکسیدها می تواند مورفولوژی و تحرک سلول های اسپرم را حفظ کند (Marin-Guzman et al., 2000).

اثر تنش اکسیداتیو و مکمل ویتامین E بر خصوصیات حرکتی اسپرم تازه خروس ها در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تزریق دگزامتازون به عنوان عامل ایجاد تنش اکسیداتیو، سایر



شکل ۱- اثرات افزودن مکمل ویتامین E بر تحرک کل (A) و زندهمانی اسپرم تازه (B) خروس های مادر گوشتی تحت استرس اکسیداتیو با دگزامتازون
Figure 1- Effects of vitamin E supplementation on the total motility (A) and viability (B) of fresh sperm in broiler breeder roosters under oxidative stress with dexamethasone

جدول ۲- اثرات افزودن مکمل ویتامین E بر تحرک و شاخص‌های حرکتی اسپرم خروس‌های مادر گوشتی تحت استرس اکسیداتیو با دگزامتازون
Table 2- Effects of vitamin E supplementation on the motility parameters of broiler breeder rooster sperm under oxidative stress with dexamethasone

فراسنجه‌ها ^۱ Parameters ¹	تیمارها ^۲ Treatment			انحراف استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی داری P value
	شاهد Control	شاهد با دگزامتازون Control with dexamethasone	ویتامین E با دگزامتازون Vitamin E with dexamethasone		
تحرک پیش‌رونده (%) PM (%)	42.53 ^a	27.03 ^c	35.83 ^b	1.61	<0.0001
میانگین سرعت در مسیر (میکرومتر در ثانیه) VAP (μm.s)	40.04 ^a	17.96 ^b	27.02 ^b	2.88	0.0014
سرعت در مسیر مستقیم (میکرومتر در ثانیه) VSL (μm.s)	34.8 ^a	15.24 ^b	20.69 ^b	2.92	0.0029
سرعت در مسیر منحنی (میکرومتر در ثانیه) VCL (μm.s)	74.09 ^b	40.49 ^b	70.09 ^a	3.85	0.0003
خطی بودن تحرک (%) LIN (%)	38.69	30.81	29.87	2.68	0.0863
درصد مستقیم‌الخط بودن حرکت اسپرم‌ها (%) STR (%)	77.14	65.91	73.29	3.21	0.0916
جنبایی عرضی سر (میکرومتر) ALH (μm)	2.01 ^a	1.03 ^b	1.97 ^a	0.105	0.0002
فرکانس حرکات جانبی (هرتز) BCF (Hz)	13.89 ^b	15.13 ^a	14.73 ^{ab}	0.27	0.0275

^۱ تیمارها با حروف متفاوت در هر سطر از نظر آماری تفاوت معنی‌دار دارند ($P < 0.05$).

^۱ Different letters in the same row show statistically differences ($P < 0.05$).

^۲ حرکت پیش‌رونده، میانگین سرعت در مسیر، سرعت در مسیر مستقیم، سرعت در مسیر منحنی، خطی بودن تحرک، درصد مستقیم‌الخط بودن حرکت اسپرم‌ها، جنبایی عرضی سر و فرکانس حرکات جانبی.

^۲ Pm (Progressive Motility), VAP (Average Path Velocity), VSL (Straight Line Velocity), VCL (Curvi Linear Velocity), LIN (Linearity), STR (Straightness), ALH (Lateral Head Displacement), BCF (Beat Cross Frequency).

جدول ۳- اثرات افزودن مکمل ویتامین E بر یکپارچگی غشای پلاسمایی و زنده‌مانی اسپرم تازه خروس تحت استرس اکسیداتیو با دگزامتازون
Table 3- Effects of vitamin E supplementation on plasma membrane integrity and fresh sperm count survival under oxidative stress with dexamethasone

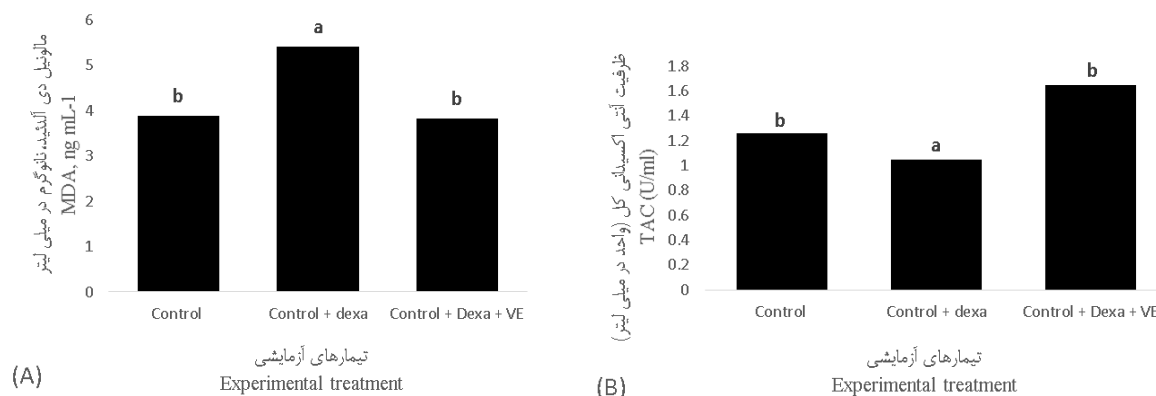
فراسنجه‌ها Parameters	تیمارها ^۱ Treatments			انحراف استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی داری P value
	شاهد Control	شاهد با دگزامتازون Control with dexamethasone	ویتامین E با دگزامتازون Vitamin E with dexamethasone		
یک‌پارچگی غشاء (%) Membrane integrity (%)	80.78 ^b	71.92 ^c	89.72 ^a	1.28	<0.0001

^۱ تیمارها با حروف متفاوت در هر سطر از نظر آماری تفاوت معنی‌دار دارند ($P < 0.05$).

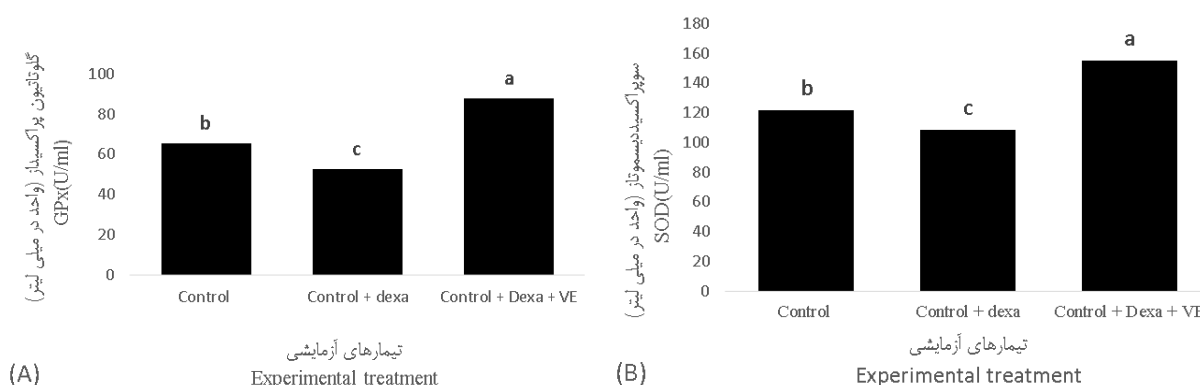
^۱ Different letters in the same row show statistically differences ($P < 0.05$).

سوپراکسید دیسموتاز در اسپرم و پلاسمای منی وجود دارد که با حذف رادیکال‌های آزاد سبب حفظ اسپرم در برابر آسیب اکسیداتیو می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که در پلاسمای منی رقیق شده یک منبع مهم آنتی‌اکسیدانی وجود دارد که اسپرم‌ها را در فرآیند انجماد علیه تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند که البته ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمای منی بخاطر رقیق‌سازی پایین آمده و به همین دلیل از آنتی‌اکسیدان‌های خارجی علاوه بر آنتی‌اکسیدان‌های موجود در پلاسمای منی در محیط رقیق‌کننده‌های منی استفاده می‌شود و توانایی آن‌ها در بهبود کیفیت و عملکرد اسپرم بعد از فرایند انجماد- یخ‌گشایی گزارش شده است (Bailey et al., 2000). گلاتاتیون یک تری‌پپتید داخلی است که با انتقال یک اتم هیدروژن یا یک الکترون سلول‌ها را در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند. همچنین در بازسازی آنتی‌اکسیدان‌های دیگر مانند اسید آسکوربیک بسیار مهم است (Steenvoorden and van Henegouwen, 1997). کمبود گلاتاتیون می‌تواند به بی‌ثباتی در قطعه میانی اسپرم و در نتیجه، تحرک معیوب آن منجر شود (Hansen and Deguchi, 1996; Ursini et al., 1997). گلاتاتیون از غشای پلاسمایی در برابر پراکسیداسیون لیپیدی محافظت کرده، سوپراکسیدها را پاکسازی نموده، و مانع از تشکیل اکسیژن می‌شود. ان-استیل‌ال-سیستئین، پیش‌ساز گلاتاتیون است که باعث بهبود تحرک اسپرم و کاهش آسیب دیدن DNA به وسیله گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Oeda et al., 1997). مطالعات نشان داده‌اند که سیستئین و گلاتاتیون باعث بهبود معنی‌دار تحرک، زنده‌مانی و سلامت غشای اسپرم گونه‌های مختلف پستانداران بعد از فرایند انجماد- یخ‌گشایی می‌شود (Tuncer et al., 2010). محققان نشان داده‌اند که گلاتاتیون پراکسیداز و ویتامین E جزء اصلی سیستم آنتی‌اکسیدانی اسپرم خروس هستند (Surai et al., 1998; Surai et al., 1997a). سوپراکسید دیسموتاز یکی از کارآمدترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بدن می‌باشد و اولین خط دفاعی بدن در برابر گونه‌های فعال اکسیژن است که تبدیل آنیون سوپراکسید (O_2^-) را به هیدروژن پراکسید و اکسیژن، تسریع می‌کند که سپس، هیدروژن پراکسید تولید شده توسط گلاتاتیون پراکسیداز و کاتالاز حذف می‌گردد (Carocho and Ferreira, 2013). مطالعات انجام شده روی اثرات افزودن آلفاتوکوفرول، آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و اسید آسکوربیک نشان می‌دهند که این ترکیبات با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، اسپرم‌ها را در برابر آسیب‌هایی که در طول انجماد- یخ‌گشایی ایجاد می‌شوند، محافظت می‌کند (Malo et al., 2011).

نتایج افزودن مکمل ویتامین E به جیره غذایی خروس‌های مادر تحت تنش اکسیداتیو با دگزامتازون بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی در شکل ۲ و آنزیم‌های گلاتاتیون پروکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز اسپرم تازه در شکل ۳ نمایش داده شده است. نتایج آزمایش نشان داد، مالون دی‌آلدهید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در خروس‌های تحت تنش با دگزامتازون در مقایسه با گروه شاهد و خروس‌های دریافت‌کننده مکمل ویتامین E افزایش یافت. بیشترین مقدار ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های گلاتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز نیز در اسپرم خروس‌های دریافت‌کننده دگزامتازون و جیره غذایی حاوی مکمل ویتامین E مشاهده گردید. نتایج نشان داد که افزودن ویتامین E به رژیم‌های غذایی خروس‌های تحت تنش اکسیداتیو باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌شود، زیرا پراکسیداسیون لیپیدها در رژیم‌های غذایی با حضور ویتامین E کاهش یافته و در نتیجه، می‌تواند منجر به افزایش تحرک و زنده‌ماندن اسپرم‌شود. علاوه بر این، داده‌های آزمایش حاضر تأیید کردند که مکمل رژیم غذایی ویتامین E از بروز پراکسیداسیون لیپید اسپرم جلوگیری می‌کند که مطابق با نتایج سایر محققین می‌باشد (Asl et al., 2018). از آنجا که ویتامین E در قسمت لیپید غشایی واقع شده است، جایی که روند لیپوپراکسیداسیون اتفاق می‌افتد، این ویتامین می‌تواند برای جلوگیری از تشکیل پراکسیداسیون لیپید غشایی عمل کند و بنابراین، متغیرهای کیفیت اسپرم را تقویت می‌کند (Surai et al., 2001). بنابراین، می‌توان استدلال کرد که این اثرات مثبت ویتامین E بر روی تحرک اسپرم و افزایش در صد اسپرم زنده در معرض تنش اکسیداتیو می‌تواند با خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ویتامین مرتبط باشد (Brzezińska-Ślebodzińska et al., 1995). MDA یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپید آلدئیدی واکنش‌پذیر و جهش‌زا در پلاسمای منی است (Shang et al., 2004) و می‌تواند به‌عنوان یک ابزار تشخیصی ناباروری در نرها در نظر گرفته شود (Tavilani et al., 2008). همبستگی منفی بالایی بین مالون دی‌آلدهید و تحرک اسپرم در خوک‌ها نشان داده شده است (Breininger et al., 2005). در اسپرم خروس، کیفیت ضعیف مایع منی مانند تحرک اسپرم با مقادیر بیشتری از مالون دی‌آلدهید همراه است (Amini et al., 2015b). پراکسیداسیون باعث ایجاد تغییرات نامطلوب در ساختار بخش آکروزومی اسپرم‌ها می‌شود و در نتیجه، تحرک و زنده‌ماندن اسپرم‌ها را کاهش می‌دهد (Dimitrov et al., 2007). افزایش غلظت آنتی‌اکسیدانی پلاسمای منی (TAC)، ممکن است نقش معنی‌داری در مالون دی‌آلدهید اسپرم داشته باشد، زیرا بازدارنده‌های مختلفی شامل کاتالاز، گلاتاتیون پراکسیداز و



شکل ۲- اثرات افزودن مکمل ویتامین E بر مالونیل دی آلدئید (A) و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (B) اسپرم خروس تحت تنش اکسیداتیو با دکزامتازون
Figure 2- Effects of vitamin E supplementation on MDA (a) and TAC (B) of rooster sperm under oxidative stress with dexamethasone



شکل ۳- اثرات افزودن مکمل ویتامین E بر آنزیمهای گلوکاتایون پروکسیداز (A) و سوپر اکسید دیسموتاز (B) اسپرم خروس تحت تنش اکسیداتیو با دکزامتازون
Figure 3- Effects of vitamin E supplementation on GPx (A) and SOD (B) enzymes of rooster sperm under oxidative stress with dexamethasone

نتیجه گیری کلی

فعالیت آنزیمهای گلوکاتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز اسپرم شد. گنجاندن ویتامین E به میزان ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره غذایی سبب بهبود قابل توجه در زندهمانی (۲۰ درصد) و خصوصیات حرکتی شامل تحرک کل (۴۶ درصد)، تحرک پیشرونده (۲۲ درصد)، میانگین سرعت در مسیر (۵۰ درصد)، جنبایی عرضی سر (۹۱ درصد) و وضعیت آنتی اکسیدانی اسپرم در خروسهای مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو در سن ۲۸ هفتگی شد.

نتایج این تحقیق نشان داد، القای تنش اکسیداتیو در بدن با تزریق دکزامتازون سبب افت شدید در شاخصهای حرکتی اسپرم شامل تحرک کل، تحرک پیشرونده، شاخصهای حرکتی، یکپارچگی غشای پلاسمایی، زندهمانی اسپرم شد. همچنین تنش اکسیداتیو سبب افزایش مالون دی آلدئید و کاهش یکپارچگی غشای پلاسمایی،

References

1. Akiba, Y., Ngago, H., & Horiguchi, M. (1992). Effects of corticosterone injected at graded dose levels and implanted with tube at low levels on growth and hepatic lipid and abdominal fat deposition in broiler chickens. *Japanese Poultry Science*, 29,287-295. <https://doi.org/10.2141/jpsa.29.287>
2. Amini, M. R., Kohram, H., Shahaneh, A. Z., Zhandi, M., Sharideh, H., & Nabi, M. M. (2015a). The effects of different levels of vitamin E and vitamin C in modified Beltsville extender on rooster post-thawed sperm quality. *Cell Tissue Banking*, 16,587-592. <https://doi.org/10.1007/s10561-015-9506-9>
3. Amini, M. R., Kohram, H., Zare-Shahaneh, A., Zhandi, M., Sharideh, H., & Nabi, M. M. (2015b). The effects of different levels of catalase and superoxide dismutase in modified Beltsville extender on rooster post-thawed sperm quality. *Cryobiology*, 70,226-232. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2015.03.001>
4. Asl, R. S., Shariatmadari, F., Sharafi, M., Torshizi, M. A. K., & Shahverdi, A. (2018). Dietary fish oil supplemented with vitamin E improves quality indicators of rooster cold-stored semen through reducing lipid peroxidation. *Cryobiology*, 84,15-19. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2018.08.008>
5. Bailey, J. L., Bilodeau, J., & Cormier, N. (2000). Semen cryopreservation in domestic animals: a damaging and capacitating phenomenon. *Journal of Andrology*, 21,1-7.
6. Benhenia, K., Rahab, H., Smadi, M.-A., Benmakhlouf, H., Lamara, A., Idres, T., & Iguer-Ouada, M. (2018). Beneficial and harmful effects of cyclodextrin-vitamin E complex on cryopreserved ram sperm. *Animal Reproduction Science*, 195,266-273. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.06.004>
7. Breininger, E., Beorlegui, N. B., O'Flaherty, C. M., & Beconi, M. T. (2005). Alpha-tocopherol improves biochemical and dynamic parameters in cryopreserved boar semen. *Theriogenology*, 63,2126-2135. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.08.016>
8. Brzezińska-Slebodzińska, E., Ślebodziński, A., Pietras, B., & Wieczorek, G. (1995). Antioxidant effect of vitamin E and glutathione on lipid peroxidation in boar semen plasma. *Biological Trace Element Research*, 47,69-74. <https://doi.org/10.1007/BF02790102>
9. Burrows, W., & Quinn, J. (1937). The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poultry Science*, 16,19-24. <https://doi.org/10.3382/ps.0160019>
10. Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chemical Toxicology*, 51,15-25. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>
11. da Silva Maia, M., Bicudo, S. D., Azevedo, H. C., Sicherle, C. C., de Sousa, D. B., & Rodello, L. (2009). Motility and viability of ram sperm cryopreserved in a Tris-egg yolk extender supplemented with anti-oxidants. *Small Ruminant Research*, 85,85-90. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.07.001>
12. Danikowski, S., Sallmann, H. P., Halle, I., & Flachowsky, G. (2002). Influence of high levels of vitamin E on semen parameters of cocks. *Journal of Animal Physiology Animal Nutrition*, 86,376-382. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0396.2002.00396.x>
13. De Lamirande, E., & Ggnon, C. (1992). Reactive oxygen species and human spermatozoa: I. Effects on the motility of intact spermatozoa and on sperm axonemes. *Journal of Andrology*, 13,368-378.
14. Dimitrov, S., Atanasov, V., Surai, P., & Denev, S. (2007). Effect of organic selenium on turkey semen quality during liquid storage. *Animal Reproduction Science*, 100,311-317. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.07.007>
15. Eid, Y., Ebeid, T., & Younis, H. (2006). Vitamin E supplementation reduces dexamethasone-induced oxidative stress in chicken semen. *British Poultry Science*, 47,350-356. <https://doi.org/10.1080/00071660600753912>
16. Eid, Y., Ohtsuka, A., & Hayashi, K. (2003). Tea polyphenols reduce glucocorticoid-induced growth inhibition and oxidative stress in broiler chickens. *British Poultry Science*, 44,127-132. <https://doi.org/10.1080/0007166031000085427>
17. El-Habbak, M., Abou-EL-Soud, S., & Ebeid, T. (2005). Effect of induced stress by dexamethasone administration on performance, egg quality and some blood parameters of laying hens. *Egyptian Poultry Science*, 25,89-105.
18. El-Lethey, H., Aerni, V., Jungi, T., & Wechsler, B. (2000). Stress and feather pecking in laying hens in relation to housing conditions. *British Poultry Science*, 41,22-28. <https://doi.org/10.1080/00071660086358>
19. Eskenazi, B., Kidd, S., Marks, A., Slotter, E., Block, G., & Wyrobek, A. (2005). Antioxidant intake is associated with semen quality in healthy men. *Human Reproduction*, 20,1006-1012. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh725>
20. Evans, G., & Maxwell, W. C. (1987). Salamons' artificial insemination of sheep and goats. Butterworths.
21. Fowles, J. R., Fairbrother, A., Fix, M., Schiller, S., & Kerkvliet, N. I. (1993). Glucocorticoid effects on natural and humoral immunity in mallards. *Developmental Comparative Immunology*, 17,165-177. [https://doi.org/10.1016/0145-305X\(93\)90026-M](https://doi.org/10.1016/0145-305X(93)90026-M)
22. Franchini, A., Bergonzoni, M. L., Melotti, C., & Minelli, G. (2001). The effects of dietary supplementation with high doses of vitamin E and C on the quality traits of chicken semen. *Archiv für Geflügelkunde*, 65 (2001): 76-81
23. Gross, W. (1993). General principles of stress and welfare. *Livestock Handling Transport*,21-33.

24. Guo, S., Al-Sadi, R., Said, H. M., & Ma, T. Y. (2013). Lipopolysaccharide causes an increase in intestinal tight junction permeability in vitro and in vivo by inducing enterocyte membrane expression and localization of TLR-4 and CD14. *The American Journal of Pathology*, 182,375-387. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2012.10.014>
25. Hansen, J., & Deguchi, y. (1996). Selenium and fertility in animals and man--a review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 37,19-30. <https://doi.org/10.1186/BF03548116>
26. John Aitken, R., Clarkson, J. S., & Fishel, S. (1989). Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. *Biology of Reproduction*, 41,183-197. <https://doi.org/10.1095/biolreprod41.1.183>
27. Lenzi, A., Picardo, M., Gandini, L., & Dondero, F. (1996). Lipids of the sperm plasma membrane: from polyunsaturated fatty acids considered as markers of sperm function to possible scavenger therapy. *Human Reproduction Update*, 2,246-256. <https://doi.org/10.1093/humupd/2.3.246>
28. Maccari, S., Darnaudery, M., Morley-Fletcher, S., Zuenä, A., Cinque, C., & Van Reeth, O. (2003). Prenatal stress and long-term consequences: implications of glucocorticoid hormones. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 27,119-127. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(03\)00014-9](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(03)00014-9)
29. Malo, C., Gil, L., Cano, R., Martínez, F., & Galé, I. (2011). Antioxidant effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on boar epididymal spermatozoa during cryopreservation. *Theriogenology*, 75,1735-1741. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.01.013>
30. Marin-Guzman, J., Mahan, D., & Pate, J. (2000). Effect of dietary selenium and vitamin E on spermatogenic development in boars. *Journal of Animal Science*, 78,1537-1543. <https://doi.org/10.2527/2000.7861537x>
31. Min, Y., Niu, Z., Sun, T., Wang, Z., Jiao, P., Zi, B., Chen, P., Tian, D., & Liu, F. (2018). Vitamin E and vitamin C supplementation improves antioxidant status and immune function in oxidative-stressed breeder roosters by up-regulating expression of GSH-Px gene. *Poultry Science*, 97,1238-1244. <https://doi.org/10.3382/ps/pex417>
32. Mishra, B., & Jha, R. (2019). Oxidative stress in the poultry gut: Potential challenges and interventions. *Frontiers in Veterinary Science*, 6,60. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00060>
33. Moghbeli, M., Kohram, H., Zare-Shahaneh, A., Zhandi, M., Sharafi, M., Nabi, M. M., Zahedi, V., & Sharideh, H. (2016). Are the optimum levels of the catalase and vitamin E in rooster semen extender after freezing-thawing influenced by sperm concentration? *Cryobiology*, 72,264-268. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2016.03.008>
34. Nemati, Z., Ahmadian, H., Besharati, M., Lesson, S., Alirezalu, K., Domínguez, R., & Lorenzo, J. M. (2020a). Assessment of Dietary Selenium and Vitamin E on Laying Performance and Quality Parameters of Fresh and Stored Eggs in Japanese Quails. *Foods*, 9,1324. <https://doi.org/10.3390/foods9091324>
35. Nemati, Z., Alirezalu, K., Besharati, M., Amirdahri, S., Franco, D., & Lorenzo, J. M. (2020b). Improving the Quality Characteristics and Shelf Life of Meat and Growth Performance in Goose Fed Diets Supplemented with Vitamin E. *Foods*, 9,798. <https://doi.org/10.3390/foods9060798>
36. Nemati, Z., Dehgani, P., Besharati, M., & Amirdahri, S. (2022). Dietary carob fruit (*Ceratonia siliqua* L.) supplementation improves spermatogenesis, semen quality and embryonic death via antioxidant effect in aging broiler breeder roosters. *Animal Reproduction Science*, 239,0378-4320. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2022.106967>
37. Nemati, Z., Janmohammadi, H., Taghizadeh, A., Moghaddam, G., & Maleki Nejad, H. 2014a. Effect of bentonite supplementation to the contaminated diets with aflatoxin B1 on broiler performance. In: 6th Iranian congress on animal science, Tabriz
38. Nemati, Z., Janmohammadi, H., Taghizadeh, A., Nejad, H. M., Mogaddam, G., & Arzanlou, M. (2014b). Occurrence of Aflatoxins in poultry feed and feed ingredients from northwestern Iran. *European Journal of Zoological Research*, 3,56-60.
39. Nemati, Z., Karimi, A., & Besharati, M. 2015. Impact of Aflatoxin Contaminated Feed and Yeast Cell Wall Supplementation on Immune System in Broiler Chickens. In: Proceedings of International Conference on Innovations in Chemical & Agricultural Engineering. p 8-9.
40. Niki, E. (2014). Role of vitamin E as a lipid-soluble peroxy radical scavenger: in vitro and in vivo evidence. *Free Radical Biology Medicine*, 66,3-12. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.03.022>
41. Oeda, T., Henkel, R., Ohmori, H., & Schill, W. B. (1997). Scavenging effect of N-acetyl-L-cysteine against reactive oxygen species in human semen: a possible therapeutic modality for male factor infertility? *Andrologia*, 29,125-131. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1997.tb00305.x>
42. Ohtsuka, A., Hayashi, K., Noda, T., & Tomita, Y. (1992). Reduction of corticosterone-induced muscle proteolysis and growth retardation by a combined treatment with insulin, testosterone and high-protein-high-fat diet in rats. *Journal of Nutritional Science Vitaminology*, 38,83-92. <https://doi.org/10.3177/jnsv.38.83>
43. Peris, S. I., Bilodeau, J. F., Dufour, M., & Bailey, J. L. (2007a). Impact of cryopreservation and reactive oxygen species on DNA integrity, lipid peroxidation, and functional parameters in ram sperm. *Molecular Reproduction Development*, 74,878-892. <https://doi.org/10.1002/mrd.20686>
44. Peris, S. I., Bilodeau, J. F., Dufour, M., & Bailey, J. L. (2007b). Impact of cryopreservation and reactive oxygen species on DNA integrity, lipid peroxidation, and functional parameters in ram sperm. *Molecular Reproduction and Development*, 74,878-892. <https://doi.org/10.1002/mrd.20686>

45. Revell, S., & Mrode, R. (1994). An osmotic resistance test for bovine semen. *Animal Reproduction Science*, 36,77-86. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(94\)90055-8](https://doi.org/10.1016/0378-4320(94)90055-8)
46. Rover Júnior, L., Höehr, N. F., Vellasco, A. P., & Kubota, L. T. (2001). Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. *Química Nova*, 24,112-119. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000100019>
47. Shang, X.-J., Li, K., Ye, Z.-Q., Chen, Y.-G., Yu, X., & Huang, Y.-F. (2004). Analysis of lipid peroxidative levels in seminal plasma of infertile men by high-performance liquid chromatography. *Archives of Andrology*, 50,411-416. <https://doi.org/10.1080/01485010490484138>
48. Siegel, H. (1980). Physiological stress in birds. *Bioscience*, 30,529-534. <https://doi.org/10.2307/1307973>
49. Silva, S. V., Soares, A. T., Batista, A. M., Almeida, F. C., Nunes, J. F., Peixoto, C. A., & Guerra, M. M. P. (2013). Vitamin E (Trolox) addition to Tris-egg yolk extender preserves ram spermatozoon structure and kinematics after cryopreservation. *Animal Reproduction Science*, 137,37-44. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.12.002>
50. Steenvoorden, D. P., & van Henegouwen, G. M. B. (1997). The use of endogenous antioxidants to improve photoprotection. *Journal of Photochemistry Photobiology B: Biology*, 41,1-10. [https://doi.org/10.1016/S1011-1344\(97\)00081-X](https://doi.org/10.1016/S1011-1344(97)00081-X)
51. Surai, P., Blesbois, E., Grasseau, I., Chalah, T., Brillard, J.-P., Wishart, G., Cerolini, S., & Sparks, N. (1998). Fatty acid composition, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity and total antioxidant activity of avian semen. *Comparative Biochemistry Physiology Part B: Biochemistry Molecular Biology*, 120,527-533. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(98\)10039-1](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(98)10039-1)
52. Surai, P., Fujihara, N., Speake, B., Brillard, J., Wishart, G., & Sparks, N. (2001). Polyunsaturated fatty acids, lipid peroxidation and antioxidant protection in avian semen-Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 14,1024-1050. <https://doi.org/10.5713/ajas.2001.1024>
53. Surai, P., Ionov, I., Kostyuk, I., Wishart, G., Speake, B., Noble, R., Macpherson, A., & Sparks, N. (1997a). Effect of vitamin E and selenium in the cockerel's diet on lipid peroxidation in the spermatozoa. *British Poultry Science*, 38,S54-S55.
54. Surai, P., Kutz, E., Wishart, G., Noble, R., & Speake, B. (1997b). The relationship between the dietary provision of α -tocopherol and the concentration of this vitamin in the semen of chicken: effects on lipid composition and susceptibility to peroxidation. *Reproduction*, 110,47-51. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1100047>
55. Taniguchi, N., Ohtsuka, A., & Hayashi, K. (1999). Effect of dietary corticosterone and vitamin E on growth and oxidative stress in broiler chickens. *Nihon Chikusan Gakkaiho*, 70,195-200. <https://doi.org/10.2508/chikusan.70.195>
56. Tavilani, H., Goodarzi, M. T., Vaisi-Raygani, A., Salimi, S., & Hassanzadeh, T. (2008). Activity of antioxidant enzymes in seminal plasma and their relationship with lipid peroxidation of spermatozoa. *International Braz J Urol*, 34,485-491. <https://doi.org/10.1590/S1677-55382008000400011>
57. Towhidi, A., & Parks, J. (2012). Effect of n-3 fatty acids and α -tocopherol on post-thaw parameters and fatty acid composition of bovine sperm. *Journal of Assisted Reproduction Genetics*, 29,1051-1056. <https://doi.org/10.1007/s10815-012-9834-7>
58. Tuncer, P. B. et al. (2010). The effect of cysteine and glutathione on sperm and oxidative stress parameters of post-thawed bull semen. *Cryobiology*, 61,303-307. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2010.09.009>
59. Ursini, F., Maiorino, M., & Roveri, A. (1997). Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx): more than an antioxidant enzyme? *Biomedical Environmental Sciences: BES*, 10,327-332.
60. Welberg, L. A., & Seckl, J. R. (2001). Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of the brain. *Journal of Neuroendocrinology*, 13,113-128. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2001.00601.x>
61. Wishart, G. (1984). Effects of lipid peroxide formation in fowl semen on sperm motility, ATP content and fertilizing ability. *Reproduction*, 71,113-118. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0710113>
62. Zhang, J., Nicholls-Grzemeski, F., Tirmenstein, M., & Fariss, M. (2001). Vitamin E succinate protects hepatocytes against the toxic effect of reactive oxygen species generated at mitochondrial complexes I and III by alkylating agents. *Chemico-Biological Interactions*, 138,267-284. [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(01\)00278-2](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(01)00278-2)



Effect of Dietary Energy and Protein Level on Growth Performance of Native Khazak Chickens from 7 to 91 Days of Age

Mohammad Zardadzaei¹, Mahmoud Ghazaghi^{2*}, Farzad Bagherzadeh Kasmani³, Hadi Faraji-Arough⁴

Received: 19-04-2022

Revised: 09-06-2022

Accepted: 01-08-2022

Available Online: 01-08-2022

How to cite this article:

Zardadzaei, M., Ghazaghi, M., Bagherzadeh Kasmani, F., & Faraji-Arough, H. (2023). Effect of dietary energy and protein level on growth performance of native Khazak chickens from 7 to 91 days of age. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 15(2), 225-239.

DOI: [10.22067/ijasr.2022.76308.1071](https://doi.org/10.22067/ijasr.2022.76308.1071)

Introduction : In order to maximize poultry production, it is important to have knowledge of the bird's requirements. This can help to increase their production capacity. Since feed is a major expense in poultry production, it is crucial to consider the main components of the feed. Energy and protein are vital nutrients for poultry. Energy is necessary for body function, while protein is an essential constituent of all tissues in the bird's body. Proteins have a significant impact on the growth performance of birds, and they are also the most expensive nutrient in broiler diets. A lot of research has been done to better utilize feed by the animal and reduce feeding costs. This is important because diets that contain excessive amounts of certain nutrients can lead to nutrient loss and increased breeding costs. The Khazak hen is a native hen of the Sistan region and is known for its small body size. Achieving better growth performance in this bird requires determining the optimal levels of energy and dietary protein in different phases of production. Since there is no information about the optimal level of energy and protein in the growth period for Khazak chickens, so this study was conducted to determine the effect of different levels of energy and protein on growth performance of Khazak native chickens and select the best combination of energy and protein levels at 7 to 91 days of age.

Materials and Methods: The research was performed on Khazak chickens in the Research Center of Domestic Animals (RCDA) in the University of Zabol, Zabol, Iran. A total of 360 seven- day- old chicks were randomly allocated to 9 dietary treatments including three levels of energy (2600, 2800 and 3000 kcal / kg) and protein (17, 19 and 21%) as a factorial experiment in a completely randomized design with four replications, and 10 birds in each replication. The chicks entered the experimental pen in seven days of old and they were examined with experimental diets for 12 weeks. The birds had *ad libitum* access to feed and water throughout the experiment. Environmental conditions in terms of light, temperature and humidity were considered similar for experimental treatments. Weighing chickens and feed intake were measured weekly. Other parameters including average daily body weight gain, feed conversion ratio, daily energy and protein intake, energy and protein efficiency ratio were calculated based on the body weight and feed intake data, in three age ranges (7 to 35, 35 to 63 and 63 to 91 days of age) and the whole period. The collected data were analyzed using GLM procedure of SAS software version 9.1 and the means were compared with Tukey test at 5% level.

Results and Discussion: The study results indicate that varying energy and protein levels had a significant impact on weight gain, feed intake (except during the 63-91 day age range), feed conversion ratio, and energy and protein intake (excluding the 63-91 day age range) during all three periods studied as well as over the entire period ($P < 0.05$). Furthermore, the interaction between energy and protein showed a significant effect on all variables studied across all periods ($P < 0.05$). However, the impact of energy and protein levels on protein efficiency ratio (PER) and energy efficiency ratio (EER) was not significant. During the starter period, physical limitations may cause birds to consume less energy with low-density diets. Thus, when birds consume diets that are low in energy

1- M.Sc. Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.

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

3- Associate Professor, Department of Animal Science, Agriculture Faculty, University of Zabol, Zabol, Iran.

4- Assistant Professor, Department of Ostrich, Special Domestic Animals Institute, Research Institute of Zabol, Zabol, Iran.

*Corresponding Author's Email: ghazagh207@yahoo.com

and protein during this period, their energy consumption declines due to these physical limitations. The study results indicate that determining optimal energy and protein levels in the diet is crucial for maximizing the performance of native chickens. To balance poultry performance and economic production, an applied feeding program that compromises between the animal's nutritional requirements and management needs is necessary. Consequently, one approach to achieving this balance is by developing a diet formulation that can regulate a specific ratio of protein to renewable energy.

Conclusion: Although, the many performance variables were not significant between energy levels of 3000 with 2800 kcal/kg and protein levels of 21 with 19%, but the negative effect on performance was observed by reducing energy level to 2600 kcal/kg and protein level to 17 %. So level of 2800 kcal/kg and 19% for energy and protein suggested for these ages of chickens.

Keywords: Daily weight gain, Khazak chick, Protein efficiency ratio, Feed conversion ratio.

اثر سطح انرژی و پروتئین جیره بر عملکرد رشد جوجه‌های بومی خزک از ۷ تا ۹۱ روزگی

محمد زرددزائی^۱، محمود قزاقی^{۲*}، فرزاد باقرزاده کاسمانی^۳، هادی فرجی آروق^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۱۰

چکیده

این پژوهش با هدف تعیین اثر سطوح مختلف انرژی و پروتئین جیره بر عملکرد رشد جوجه‌های بومی خزک و انتخاب بهترین ترکیب از سطوح انرژی و پروتئین در سن ۷ تا ۹۱ روزگی انجام شد. تعداد ۳۶۰ قطعه جوجه هفت روزه به صورت تصادفی در نه تیمار شامل سه سطح انرژی (۲۸۰۰، ۳۰۰۰ و ۳۲۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم) و سه سطح پروتئین (۱۷، ۱۹ و ۲۱ درصد) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و تعداد ۱۰ قطعه پرنده در هر تکرار توزیع شدند. جوجه‌ها از هفت‌روزگی وارد پن‌های آزمایشی شده و به مدت ۱۲ هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. وزن کشتی جوجه‌ها و مصرف دان به صورت هفتگی انجام شده و با استفاده از اطلاعات وزن بدن و مصرف خوراک، متوسط افزایش وزن بدن روزانه، ضریب تبدیل غذایی، انرژی و پروتئین مصرفی روزانه، راندمان مصرف انرژی و پروتئین در سه محدوده سنی (۷ تا ۳۵، ۳۵ تا ۶۳ و ۶۳ تا ۹۱ روزگی) و کل دوره محاسبه شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح پنج درصد انجام شد. نتایج نشان داد که اثر سطوح مختلف انرژی و پروتئین بر متوسط افزایش وزن، مصرف خوراک (به‌استثنای سنین ۶۳ تا ۹۱ روزگی)، ضریب تبدیل، مصرف انرژی، مصرف پروتئین (به‌استثنای سنین ۶۳ تا ۹۱ روزگی) سه دوره مورد مطالعه و کل دوره، تأثیر معنی‌دار داشت. همچنین تأثیر متقابل سطوح انرژی و پروتئین جیره بر تمامی متغیرهای مورد مطالعه در کلیه دوره‌ها معنی‌داری بود. اثر سطوح انرژی و پروتئین جیره به ترتیب بر راندمان مصرف پروتئین و راندمان مصرف انرژی معنی‌دار نبود. اختلاف بین پرندگان تغذیه شده با جیره‌های با سطح انرژی ۳۰۰۰ و ۲۸۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم و سطح پروتئین ۲۱ با ۱۹ درصد از شاخص‌های عملکردی مورد مطالعه معنی‌دار نبود، اما کاهش سطح انرژی جیره به ۲۶۰۰ کیلوکالری و پروتئین جیره به ۱۷ درصد اثر منفی بر بروز شاخص‌های عملکردی نشان داد. نتیجه کلی اینکه، سطح انرژی ۲۸۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم و ۱۹ درصد پروتئین برای این سنین جوجه‌های خزک پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: افزایش وزن روزانه، جوجه خزک، راندمان مصرف پروتئین، ضریب تبدیل غذایی.

مقدمه

پرورش طیور، اجزای اصلی خوراک مورد استفاده در جیره باید مورد توجه قرار گیرد. پروتئین و انرژی مهم‌ترین مواد مغذی در جیره هستند که بخش عمده‌ای از هزینه جیره را به خود اختصاص می‌دهند و به طور گسترده عملکرد طیور را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Wijten et al., 2004). انرژی و پروتئین ماده مغذی بسیار مهم برای طیور

یکی از راهکارها برای افزایش تولیدات طیور در داخل کشور، آشنایی با احتیاجات پرنده به منظور بهره‌گیری از حداکثر ظرفیت تولیدی آن‌ها است. با توجه به هزینه بالای خوراک در واحدهای

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۴- استادیار، گروه پژوهشی شترمرغ، پژوهشکده دام‌های خاص، پژوهشگاه زابل، زابل، ایران.

(*)- نویسنده مسئول: (Email: ghazagh207@yahoo.com)

می‌باشند. انرژی برای عملکرد بدن و پروتئین جزء اصلی ضروری همه بافت‌های بدن پرنده است.

ناکافی بودن پروتئین در جیره غذایی باعث کاهش نرخ رشد خواهد شد و باعث می‌شود، پروتئین از بافت‌هایی که کمتر حیاتی هستند جهت نگهداری عملکرد بافت‌های خیلی حیاتی مورد استفاده قرار گیرد (NRC, 1994). از طرف دیگر، در صورت زیاد بودن پروتئین جیره ممکن است پروتئین دفع شده و منجر به آلودگی محیط زیست و افزایش هزینه‌های تولید گردد (Leeson and Summers, 2005). تراکم انرژی هم یک تعیین‌کننده مهم در هزینه تغذیه به‌ازای هر واحد تولیدکننده طیور است و مشخص شده است که تراکم بالای انرژی غذا باعث کاهش مصرف خوراک شده و ضریب تبدیل غذایی در طیور را بهبود می‌دهد (Dozier et al., 2011; Wickramasuriya et al., 2015). از سوی دیگر، نمی‌توان از این امر مستثنی شد که مصرف خوراک با انرژی بالا منجر به افزایش انرژی مصرفی شده و به‌موجب آن باعث رسوب بیشتر چربی شکمی و لاشه (Dozier et al., 2011) و کاهش عملکرد رشد (Maliwan et al., 2018) شود.

امروزه، نگرانی عمومی در مورد استفاده از ژنوتیپ جوجه‌های گوشتی مدرن برای تولید گوشت مرغ در حال افزایش است و تمایل به سمت مصرف گوشت‌هایی که منشأ آن‌ها از جوجه‌های گوشتی با رشد کم به‌جای جوجه‌هایی با رشد سریع است، وجود دارد (Dyubele et al., 2010). طیور روستایی با توجه به دسترسی آسان و فراوان کلیه ملزومات از جمله زمین، نیروی کار و خوراک در مناطق روستایی دارای چشم‌اندازهای چشمگیری برای توسعه آینده هستند. این بخش می‌تواند در افزایش درآمدهای خانواری و بهبود سلامتی خانواده‌ها از طریق تغذیه بهتر کمک کند (Shehbaz and Hassan Khan, 2008). با توجه به اینکه ۷۰ درصد هزینه تولید در واحدهای تولیدی طیور مربوط به تغذیه است، تاکنون تحقیقات زیادی در جهت به‌کارگیری هر چه بهتر خوراک توسط حیوان و کاستن هزینه‌های تغذیه صورت گرفته است. جیره غذایی که حاوی مقدار بیش از حد برخی مواد مغذی باشد منجر به اتلاف این مواد و افزایش هزینه‌های پرورش می‌شود (Pesti and Miller, 1997).

اگرچه تحقیقات انجام شده در مورد اثرات سطوح انرژی و پروتئین بر عملکرد رشد بیشتر در سویه‌های گوشتی انجام شده است، اما تحقیقات در سویه‌های تخم‌گذار بسیار اندک است. اخیراً مطالعات در مورد اثرات سطوح انرژی و پروتئین بر مرغ‌های بومی و آمیخته انجام گرفته است. مطالعات قبلی پروتئین مورد نیاز برای جوجه‌های آمیخته مختلف را در سنین ۰ تا ۱۱۲ روزگی در حدود ۱۵-۲۱ درصد با انرژی ۲۶۰۰-۳۲۰۰ کیلو کالری بر کیلوگرم گزارش کردند (Pingmuang et al., 2001). در بررسی سطوح مختلف انرژی و پروتئین روی عملکرد جوجه‌های بومی دسی در فاز رشد (۹-۲۰ هفتگی) گزارش شد که سطوح مختلف انرژی تأثیر معنی‌دار بر افزایش وزن، خوراک

مصرفی و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های ماده نداشت (Shehbaz and Hassan Khan, 2008). در مطالعه جوجه‌های بومی مالزی گزارش شد که دامنه ۱۰/۵ تا ۱۱/۵ مگاژول بر کیلوگرم انرژی برای این جوجه‌ها در مرحله آغازین ممکن است اقتصادی باشد و استفاده از سطح انرژی ۱۲/۵ مگاژول بر کیلوگرم که برای جوجه‌های گوشتی تجاری استفاده می‌شود، برای جوجه‌های بومی مالزی توجیه‌پذیر نیست (Engku Azahan et al., 2011). در مطالعه دیگر سطوح پروتئین (۱۸، ۲۱ و ۲۲ درصد) بر وزن بدن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل جوجه‌های عربی معنی‌دار گزارش نشد و جهت کاهش هزینه خوراک، جیره حاوی ۱۸ درصد پروتئین برای جوجه‌های عربی پیشنهاد شد (Al-Khalifa and Al-Nasser, 2012).

برای جوجه‌های بومی آسل در سیستم‌های پرورشی متراکم، سطح ایده‌آل برای سطوح انرژی و پروتئین در هشت هفته اول به‌ترتیب ۲۶۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم و ۱۶ درصد گزارش شد همچنین بیان گردید که برای به‌دست آوردن ضریب تبدیل غذایی بهتر، جیره حاوی ۲۸۰۰ کیلوکالری انرژی و ۱۶ درصد پروتئین می‌تواند ایده‌آل باشد (Haunshi et al., 2012). همچنین در بررسی تأثیر سطوح مختلف انرژی و پروتئین بر عملکرد ۶۰ روز اول دوره رشد جوجه‌های بومی اندونزی مشاهده شد که سطوح مختلف پروتئین بر افزایش وزن بدن، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل معنی‌دار نبوده، اما سطوح مختلف انرژی بر ضریب تبدیل تأثیر معنی‌داری گزارش شد (Sompie et al., 2015). نیازهای پروتئینی جوجه‌های دورگ کورات در سنین ۱ تا ۸۴ روزگی با فاصله ۲۱ روزگی در چهار فاز) و در هر فاز اثر پنج سطح مختلف پروتئین مورد مطالعه قرار گرفت و گزارش شد که وزن بدن، متوسط افزایش روزانه و پروتئین مصرفی در همه فازها با افزایش پروتئین مصرفی به‌طور معنی‌دار افزایش یافت. با این حال، مصرف خوراک و انرژی مصرفی تفاوت معنی‌داری بین سطوح مختلف پروتئین نشان نداد (Maliwan et al., 2019). مرغ خزک، مرغ بومی منطقه سیستان است که دارای جثه کوچک و پاهای کوتاه است و به دلیل پاکوتاهی به‌نام خزک نامیده شده است. میانگین وزن جوجه‌های یک‌روزه در این پرنده ۲۶/۳۲ گرم بوده و در ۲۹ هفتگی وزن خروس و مرغ‌ها به‌ترتیب ۱۱۹۷/۷۸ و ۹۸۰/۰۵ گرم می‌رسد. در هفته‌های اول جوجه‌های ماده نرخ رشد بالاتری نسبت به جوجه نرها داشته، اما از هفته سوم به بعد نرخ رشد در جوجه‌های نر بالاتر از جوجه‌های ماده است (Faraji Arough et al., 2019). بر اساس اطلاعات جمع‌آوری شده در پژوهش‌کنده دام‌های خاص، مرغ‌ها در ۱۹۵/۶ روزگی به بلوغ رسیده و سالانه به‌طور میانگین ۱۲۰ تخم می‌گذارند. مرغ‌ها در هفته چهارم تخم‌گذاری به پیک تولید می‌رسند و بعد پیک، شیب کاهش تولید تخم کم بوده و در طول سال نرخ تخم‌گذاری تقریباً ثابتی دارند. دستیابی به عملکرد بهتر رشد در این پرنده نیازمند تعیین سطوح بهینه انرژی و پروتئین جیره در فازهای مختلف تولید است. از آنجایی که

کل دوره (۷ تا ۹۱ روزگی) از روی عملکرد هفتگی محاسبه شد. ضریب تبدیل خوراک نیز برای هر یک از دوره‌ها بر اساس نسبت خوراک مصرفی روزانه به افزایش وزن روزانه به دست آمد. با توجه به میزان مصرف خوراک روزانه و درصد پروتئین جیره‌ای که جوجه‌ها در جیره خود دریافت کردند، مصرف پروتئین روزانه به صورت معادله ۱ محاسبه گردید (Karomy et al., 2019):

$$PI = \frac{FI \times CP}{100} \quad \text{معادله (۱)}$$

که در این معادله، PI: مصرف پروتئین به گرم، FI: میزان مصرف خوراک روزانه به گرم و CP: درصد پروتئین جیره است.

م شباهه مصرف پروتئین، مصرف انرژی روزانه (EI) با استفاده از میزان مصرف خوراک (FI) و میزان انرژی جیره (ME) مطابق معادله ۲ محاسبه شد (Karomy et al., 2019):

$$EI = \frac{FI \times ME}{100} \quad \text{معادله (۲)}$$

ضریب راندمان پروتئین (PER) برای هر تکرار به صورت گرم افزایش وزن بدن برای هر گرم پروتئین مصرفی محاسبه شد، درحالی که ضریب راندمان انرژی (EER) به صورت نسبت گرم افزایش وزن بدن به کل انرژی متابولیسم مصرفی ضربدر ۱۰۰ به دست آمد.

داده‌های حاصله پس از ثبت و ویرایش، به وسیله نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ با استفاده از رویه GLM تجزیه و تحلیل شده و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون توکی با احتمال ۹۵ درصد انجام شد. مدل آماری برای تجزیه و تحلیل داده‌ها به صورت زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ijk}$$

که در مدل بالا، Y_{ijk} : مقدار هر مشاهده، μ : میانگین مشاهدات، A_i : اثر سطح i از عامل A (سه سطح انرژی)، B_j : اثر سطح j از عامل B (سه سطح پروتئین)، AB_{ij} : اثر متقابل بین دو فاکتور A و B و e_{ijk} : اثرات باقیمانده است.

نتایج و بحث

اثر سطوح مختلف انرژی و پروتئین جیره بر عملکرد رشد جوجه‌های خزک در سنین ۷ تا ۳۵ روزگی در جدول ۲ آورده شده است. سطوح انرژی بر متغیرهای متوسط مصرف خوراک روزانه، متوسط افزایش روزانه وزن بدن، ضریب تبدیل، مصرف پروتئین روزانه، راندمان مصرف انرژی و پروتئین تأثیر معنی‌دار داشت ($P < 0.05$)، اما اثر آن بر مصرف انرژی معنی‌دار نبود. با افزایش سطوح انرژی متوسط افزایش روزانه وزن بدن، راندمان مصرف انرژی و پروتئین روند افزایشی داشت، اما متوسط مصرف خوراک روزانه، ضریب تبدیل و مصرف پروتئین کاهش یافت. به هر حال روند افزایشی و کاهش متغیرهای مورد مطالعه در جیره‌های حاوی ۲۸۰۰ و ۳۰۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی قابل متابولیسم با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند، اما نسبت به جیره حاوی ۲۶۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی قابل متابولیسم تفاوت معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

اطلاعاتی از سطح بهینه انرژی و پروتئین در دوره رشد برای این پرنده وجود ندارد، بنابراین تحقیق حاضر با هدف تعیین اثر سطوح مختلف انرژی و پروتئین جیره بر عملکرد رشد در سنین ۷ تا ۹۱ روزگی و انتخاب سطح انرژی و پروتئین در این سنین انجام شد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در مزرعه مرغداری پژوهشکده دام‌های خاص دانشگاه زابل با جوجه‌های بومی خزک انجام شد. در سن هفت روزگی تعداد ۳۶۰ جوجه بومی با میانگین وزنی مشابه به طور تصادفی در نه گروه با شش تکرار ۱۰ قطعه‌ای مورد استفاده قرار گرفت. جیره‌های غذایی بر پایه ذرت - کنجاله سویا با سه سطح انرژی قابل متابولیسم (۲۶۰۰، ۲۸۰۰ و ۳۰۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم) و سه سطح از پروتئین خام (۱۶، ۱۹ و ۲۱ درصد) در یک آزمایش فاکتوریل 3×3 به مدت ۱۲ هفته تغذیه شدند. با عنایت به فقدان وجود اطلاعات در خصوص نیازهای تغذیه‌ای نژاد خزک و شباهت جثه، سرعت رشد و ... این نژاد به نژادهای تیپ تخمی، از توصیه‌های احتیاجات طیور انجمن تحقیقات ملی آمریکا (Leeson and Summers, 2005) برای دوره رشد سویه‌های تخم‌گذار با پوسته قهوه‌ای برای انتخاب سطوح ۲۸۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی و ۱۷ درصد پروتئین استفاده شد. همچنین با توجه به تفاوت‌های نژاد خزک، نیاز به بررسی جیره‌های رقیق‌تر و غنی‌تر از این سطوح بوده که سطوح بالاتر و پائین‌تر با توجه به سطوح استفاده شده در مرغ‌های بومی و دورگ در تحقیقات دیگر انتخاب گردید (Leeson and Summers, 2005; Nguyen et al., 2010; Magala et al., 2012; Perween et al., 2016). ترکیب جیره‌ها و مواد مغذی آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

جوجه‌ها در طول دوره آزمایش به طور آزاد به غذا و آب دسترسی داشتند. شرایط محیطی از لحاظ نور، دما و رطوبت برای تمام پرندگان تحت آزمایش در قبل و حین دوره یکسان در نظر گرفته شد. دمای سالن در هفته اول آزمایش ۳۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و هر هفته دو درجه کاهش داده شد تا به ۲۴ درجه سانتی‌گراد برسد. با توجه به اینکه کارهای مشابه انجام شده برای مرغان بومی و آمیخته (Maliwan et al., 2018; Sompie et al., 2015) ۲۴ ساعت نوردهی منظور شده بود، در این تحقیق هم ۲۴ ساعت در نظر گرفته شد. در طول دوره‌های آزمایشی، تعداد و وزن تلفات به طور روزانه جهت محاسبه روز مرگ ثبت شدند. وزن‌کشی جوجه‌ها و خوراک مصرفی پس از اعمال گرسنگی به صورت هفتگی انجام گرفته و با توجه به عدد روز مرگ، افزایش وزن روزانه و خوراک مصرف روزانه قابل محاسبه بود.

از آنجایی که طول دوره آزمایش ۱۲ هفته بود، صفات عملکردی برای سه دوره چهار هفته‌ای (۷ تا ۳۵، ۳۵ تا ۶۳، ۶۳ تا ۹۱ روزگی) و

جدول ۱- ترکیب (درصد) و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی
Table 1- Composition (%) and nutrients of experimental diets

اجزای خوراک Ingredient	جیره‌ها* Diets*								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ذرت Corn	57.92	55.36	52.81	66.87	64.31	61.82	73.79	67.66	61.44
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین خام) Soybean meal (44% CP)	18.07	23.45	28.87	19.76	25.15	30.64	21.29	26.54	31.80
سبوس گندم Wheat bran	19.46	16.94	14.29	8.87	6.35	3.43	-	-	-
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.64	1.62	1.60	1.75	1.73	1.72	1.84	1.80	1.76
کربنات کلسیم Calcium CO ₃	1.47	1.45	1.43	1.43	1.41	1.39	1.40	1.38	1.37
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	0.54	0.32	0.17	0.41	0.19	0.17	0.30	0.18	0.17
نمک NaCl	0.29	0.29	0.29	0.30	0.30	0.30	0.21	0.30	0.30
مکمل معدنی Mineral premix ¹	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل ویتامینه Vitamin premix ²	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
دی ال - متیونین DL-methionine	0.11	0.06	0.05	0.10	0.06	0.03	0.10	0.05	0.03
روغن Oil	-	-	-	-	-	-	0.57	1.59	2.63
ترکیبات شیمیایی محاسبه شده Calculated chemical composition									
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم) Metabolizable energy (kcal/kg)	2600	2600	2600	2800	2800	2800	3000	3000	3000
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	17.00	19.00	21.00	17.00	19.00	21.00	17.00	19.00	21.00
لیزین (درصد) Lysine (%)	0.78	0.91	1.05	0.79	0.92	1.06	0.79	0.93	1.07
متیونین (درصد) Methionine (%)	0.33	0.35	0.36	0.33	0.35	0.35	0.33	0.35	0.35
متیونین + سیستئین (درصد) Methionine + cysteine (%)	0.62	0.63	0.66	0.62	0.63	0.66	0.62	0.63	0.65
کلسیم (درصد) Calcium (%)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorus (%)	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50

* سطوح انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم) و پروتئین خام (درصد) جیره‌ها در تیمار ۱ (۲۶۰۰ و ۱۷)، ۲ (۲۶۰۰ و ۱۹)، ۳ (۲۶۰۰ و ۲۱)، ۴ (۲۸۰۰ و ۱۷)، ۵ (۲۸۰۰ و ۱۹)، ۶ (۲۸۰۰ و ۲۱) و ۷ (۳۰۰۰ و ۱۷)، ۸ (۳۰۰۰ و ۱۹) و ۹ (۳۰۰۰ و ۲۱) بود.

^۱ مکمل معدنی این موارد را در هر کیلوگرم جیره تأمین نمود: ۶۵ میلی‌گرم منگنز؛ ۵۵ میلی‌گرم روی؛ ۵۰ میلی‌گرم آهن؛ ۸ میلی‌گرم مس؛ ۱/۸ میلی‌گرم ید؛ ۰/۳۰ میلی‌گرم سلنیم؛ ۰/۲۰ میلی‌گرم کبالت و ۰/۱۶ میلی‌گرم مولیبدن.

^۲ مکمل ویتامینه این موارد را در هر کیلوگرم جیره تأمین نمود: ۱۱۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A؛ ۲۱۰۰ واحد بین‌المللی کوله کلسیفرول؛ ۲۲ واحد بین‌المللی ویتامین E؛ ویتامین B₁₂ ۱۰/۶۰؛ ریبوفلاوین، ۴/۴۰ mg؛ ۳۵ میلی‌گرم نیکوتین‌آمید؛ ۲۵ میلی‌گرم کلسیم پنتوتنات؛ ۱/۵۰ میلی‌گرم منادیون؛ ۰/۸۰ میلی‌گرم فولیک اسید؛ ۳ میلی‌گرم تیامین؛ ۱۰ میلی‌گرم پیریدوکسین؛ ۱ میلی‌گرم بیوتین؛ ۵۶۰ میلی‌گرم کولین کلراید و ۱۲۵ میلی‌گرم اتوکسی‌کوئین.

* The levels of metabolizable energy (kcal/kg) and crude protein (%) of diets were in treatment 1 (2600 and 17), 2 (2600 and 19), 3 (2600 and 21), 4 (2800 and 17), 5 (2800 and 19), 6 (2800 and 21), 7 (3000 and 17), 8 (3000 and 19) and 9 (3000 and 21).

¹ Mineral premix provided per kilogram of diet: 65 mg Mn; 50 mg Fe; 8 mg Cu; 1.8 mg I; 0.30 mg Se; 0.20 mg Co; and 0.16 mg Mo.

² Vitamin premix provided per kilogram of diet: 11,500 IU vitamin A; 2,100 IU cholecalciferol; 22 IU vitamin E; 0.60 mg vitamin B₁₂; 4.4 mg riboflavin; 40 mg nicotinamide; 35 mg calcium pantothenate; 1.50 mg menadione; 0.80 mg folic acid; 3 mg thiamine; 10 mg pyridoxine; 1 mg biotin; 560 mg choline chloride; and 125 mg ethoxyquin.

قرار نگرفت. اما ضریب تبدیل و مصرف پروتئین به شدت تحت تأثیر سطوح پروتئین جیره قرار گرفتند، به طوری که هر سه سطح پروتئین باهم تفاوت معنی داری داشتند ($P < 0.05$). اما برای بقیه متغیرها سطح ۲۱ درصد پروتئین با ۱۹ درصد و ۱۹ با ۱۷ درصد تفاوت معنی دار نشان نداد.

اثرات متقابل سطوح انرژی و پروتئین بر تمامی متغیرهای مورد مطالعه در محدوده سنی ۳۵ تا ۶۳ روزگی نیز معنی دار بود ($P < 0.05$). جیره با سطح انرژی ۳۰۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم و ۲۱ درصد پروتئین بالاترین متوسط افزایش وزن روزانه و راندمان مصرف انرژی و پایین ترین مصرف خوراک روزانه نسبت به سایر تیمارها داشت، اگرچه تفاوت آن ها با برخی تیمارهای مورد آزمایش به خصوص تیمار حاوی ۲۸۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم قابل متابولیسم و ۱۹ درصد پروتئین معنی دار نبود. به هر حال، بالاترین و پایین ترین ضریب تبدیل به ترتیب مربوط به تیمار حاوی ۲۶۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی و ۱۷ درصد پروتئین و تیمار حاوی ۳۰۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم و ۲۱ درصد پروتئین به دست آمد که با بسیاری از تیمارهای مورد آزمایش تفاوت معنی داری داشتند ($P < 0.05$).

تأثیر سطوح انرژی و پروتئین و اثرات متقابل آن ها بر عملکرد رشد در محدوده سنی ۶۳ تا ۹۱ روزگی در جدول ۴ آورده شده است. اثر سطوح انرژی بر مصرف خوراک روزانه، مصرف پروتئین و راندمان مصرف انرژی تأثیر معنی دار نداشت، اما بر بقیه متغیرها معنی دار بود ($P < 0.05$). سطح پروتئین بر تمامی متغیرها به استثنای راندمان مصرف پروتئین جوجه ها در محدوده سنی ۶۳ تا ۹۱ روزگی معنی دار بود ($P < 0.05$)، به طوری که با افزایش سطح پروتئین جیره متوسط افزایش وزن بدن، مصرف پروتئین و راندمان مصرف انرژی افزایش یافته و مصرف خوراک روزانه، ضریب تبدیل و مصرف انرژی روند کاهشی داشت. تمامی متغیرها به طور معنی داری تحت تأثیر اثرات متقابل سطوح انرژی و پروتئین قرار گرفتند ($P < 0.05$) و جیره حاوی ۳۰۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی قابل متابولیسم و ۲۱ درصد پروتئین بالاترین افزایش وزن روزانه و راندمان مصرف انرژی و پروتئین و پایین ترین مصرف خوراک و ضریب تبدیل داشت که با برخی تیمارها تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) و با برخی تفاوت معنی دار نبود.

تأثیر سطوح پروتئین جیره در سن ۷ تا ۳۵ روزگی بر تمامی متغیرها به استثنای راندمان مصرف پروتئین تفاوت معنی دار داشت (جدول ۲؛ $P < 0.05$)، به طوری که جوجه هایی که با جیره حاوی سطوح بالای پروتئین (۱۹ و ۲۱ درصد) تغذیه می شدند، دارای متوسط افزایش وزن بدن، پروتئین مصرفی، راندمان مصرف انرژی بالاتر و خوراک مصرفی، ضریب تبدیل و انرژی مصرفی پایین تر نسبت به جوجه های تغذیه شده با جیره حاوی ۱۷ درصد پروتئین بودند. همان طور که در جدول ۲ مشاهده می شود، اثرات متقابل سطوح انرژی و پروتئین جیره نیز بر تمامی متغیرها تأثیر معنی دار داشت ($P < 0.05$) و بالاترین افزایش وزن، راندمان مصرف پروتئین و انرژی و پایین ترین مصرف خوراک، ضریب تبدیل و مصرف انرژی و پروتئین در جیره های با سطوح بالای انرژی و پروتئین به دست آمد، اما در بسیاری از متغیرها در جوجه هایی که با جیره های حاوی ۳۰۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی و ۲۱ درصد پروتئین تغذیه می شدند، نسبت به جوجه هایی که جیره های حاوی ۲۸۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم و ۱۹ درصد پروتئین استفاده می کردند، تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

جدول ۳ تأثیر سطوح مختلف انرژی و پروتئین و اثرات متقابل آن ها را بر عملکرد رشد جوجه های خزک در بازه سنی ۳۵ تا ۶۳ روزگی را نشان می دهد. سطوح بالای انرژی به طور معنی داری متوسط افزایش وزن روزانه، انرژی مصرفی و راندمان مصرف پروتئین را نسبت به سطوح پایین افزایش داده و از طرفی، مصرف خوراک روزانه، ضریب تبدیل و مصرف پروتئین با افزایش سطح پروتئین کاهش یافت ($P < 0.05$). با وجود اینکه روند افزایشی و کاهشی معنی دار متغیرها با افزایش سطوح انرژی مشاهده شد، اما بسیاری از متغیرها بین سطوح ۳۰۰۰ و ۲۸۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم تفاوت معنی داری نداشت. با وجود اینکه راندمان مصرف انرژی با افزایش سطح انرژی روند افزایشی داشت، اما تفاوت بین سطوح انرژی از لحاظ راندمان مصرف انرژی معنی دار نبود.

با بالا رفتن سطوح پروتئین جیره، متوسط افزایش وزن روزانه، مصرف پروتئین و راندمان مصرف انرژی در سنین ۳۵ تا ۶۳ روزگی نیز به طور معنی دار افزایش یافت و برای مصرف خوراک روزانه، ضریب تبدیل و مصرف انرژی روند کاهشی مشاهده شد (جدول ۳). راندمان مصرف پروتئین در این محدوده سنی تحت تأثیر سطوح پروتئین جیره

جدول ۲- اثر سطوح انرژی و پروتئین جیره بر عملکرد رشد جوجههای خیزک در سنین ۳۵ تا ۷۰ روزگی
Table 2- Effect of dietary protein (CP) and energy (ME) on growth performance of Khazak chickens from 7 to 35 days of age

عوامل Factors	سطوح levels	متوسط افزایش وزن (گرم/روز/پرند) ADG (g/day/bird)	متوسط مصرف خوراک (گرم/روز/پرند) ADFI (g/day/bird)	ضریب تبدیل FCR	مصرف پروتئین (گرم/روز/پرند) CP intake (g/day/bird)	مصرف انرژی (کیلوکالری/روز/پرند) ME intake (kcal/day/bird)	پروتئین مصرف (گرم/گرم) PER (g/g)	راندام مصرف انرژی (درصد) EER (%)
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم) ME (kcal/kg)	2,600	5.956 ^b	18.457 ^a	3.135 ^a	3.503 ^a	47.987	1.701 ^b	12.437 ^b
	2,800	6.345 ^{ab}	16.833 ^b	2.666 ^b	3.181 ^b	47.133	1.998 ^a	13.537 ^a
	3,000	6.429 ^a	16.295 ^b	2.544 ^b	3.088 ^b	48.886	2.085 ^a	13.183 ^{ab}
سطح احتمال P value		0.0381	0.0001	0.0001	0.0001	0.1406	0.0001	0.0305
خطای استاندارد میانگین SEM		0.131	0.215	0.061	0.043	0.603	0.040	0.281
پروتئین خام (درصد) CP (%)	17	5.899 ^b	17.930 ^a	3.066 ^a	3.048 ^c	50.075 ^a	1.925	11.768 ^b
	19	6.332 ^{ab}	17.137 ^b	2.728 ^b	3.256 ^b	47.850 ^b	1.956	13.256 ^a
	21	6.499 ^a	16.518 ^b	2.551 ^b	3.469 ^a	46.082 ^b	1.886	14.133 ^a
سطح احتمال P value		0.0095	0.0004	0.0001	0.0001	0.0003	0.4297	0.0001
خطای استاندارد میانگین SEM		0.131	0.215	0.061	0.043	0.603	0.040	0.281
اثر متقابل انرژی و پروتئین ME×CP interaction	2,600-17	5.349 ^b	18.680 ^a	3.503 ^a	3.176 ^{de}	48.569 ^{abc}	1.684 ^c	11.010 ^c
	2,600-19	6.055 ^{ab}	18.573 ^a	3.101 ^{ab}	3.529 ^{ab}	48.290 ^{abc}	1.718 ^{bc}	13.997 ^{ab}
	2,600-21	6.465 ^a	18.116 ^{abc}	2.802 ^{bcd}	3.805 ^a	47.102 ^{abc}	1.702 ^c	13.760 ^{ab}
	2,800-17	6.278 ^{ab}	18.389 ^{ab}	2.934 ^{bc}	3.127 ^{de}	51.490 ^a	2.010 ^{abc}	12.199 ^{abc}
	2,800-19	6.370 ^{ab}	16.266 ^d	2.560 ^{cd}	3.090 ^{de}	45.545 ^{bc}	2.063 ^a	13.996 ^{ab}
	2,800-21	6.388 ^{ab}	15.844 ^d	2.504 ^{cd}	3.328 ^{bc}	44.365 ^c	1.922 ^{abc}	14.414 ^a
	3,000-17	6.072 ^{ab}	16.721 ^{bcd}	2.761 ^{bcd}	2.843 ^d	50.165 ^{ab}	2.134 ^a	12.094 ^{bc}
	3,000-19	6.571 ^a	16.571 ^{de}	2.523 ^{cd}	3.148 ^{de}	49.715 ^{ab}	2.087 ^a	13.217 ^{abc}
	3,000-21	6.643 ^a	15.593 ^d	2.347 ^d	3.275 ^{bc}	46.779 ^{abc}	2.034 ^{ab}	14.239 ^{ab}
سطح احتمال P value		0.0165	0.0001	0.0001	0.0001	0.0010	0.0001	0.0003
خطای استاندارد میانگین SEM		0.227	0.373	0.105	0.074	1.044	0.069	0.487

^{a-b} Means within each column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).
^{d, e, b, a} در هر ستون، میانگین‌هایی با حروف متفاوت معنی دار هستند ($P < 0.05$).

جدول ۳- اثر سطوح انرژی و پروتئین جیره بر عملکرد رشد جوجه‌های خُرک در سنین ۲۵ تا ۶۳ روزگی
Table 3- Effect of dietary protein (CP) and energy (ME) on growth performance of Khazak chickens from 35 to 63 days of age

عوامل Factors	سطوح levels	متوسط افزایش وزن ADG (g/day/bird)	متوسط مصرف خوراک ADFI (g/day/bird)	روزانه (گرم/روز/پرنده) ADFI (g/day/bird)	ضریب تبدیل FCR	مصرف پروتئین CP intake (g/day/bird)	مصرف انرژی ME intake (kcal/day/bird)	پروتئین (گرم/گرم) PER (g/g)	راندمان مصرف انرژی (درصد) EER (%)
انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری/کیلوگرم) ME (kcal/kg)	2,600	8.404 ^b	40.207 ^a	4.854 ^a	7.624 ^a	104.538 ^b	1.101 ^c	8.067	
	2,800	8.897 ^{ab}	38.627 ^{ab}	4.358 ^b	7.329 ^{ab}	108.155 ^{ab}	1.225 ^b	8.234	
	3,000	9.497 ^a	37.452 ^b	3.995 ^c	7.096 ^b	112.357 ^a	1.340 ^a	8.507	
سطح احتمال P value		0.0007	0.0147	0.0001	0.0094	0.0143	0.0001	0.2585	
خطای استاندارد میانگین SEM		0.175	0.621	0.098	0.112	1.751	0.029	0.186	
	17	8.420 ^b	39.855 ^a	4.782 ^a	6.775 ^c	111.408 ^a	1.252	7.594 ^b	
	19	8.907 ^{ab}	38.862 ^{ab}	4.415 ^b	7.384 ^b	108.686 ^{ab}	1.210	8.195 ^b	
CP (%)	21	9.471 ^a	37.569 ^b	4.010 ^c	7.890 ^a	104.956 ^b	1.203	9.018 ^a	
سطح احتمال P value		0.0010	0.0480	0.0001	0.0001	0.0474	0.4521	0.0001	
خطای استاندارد میانگین SEM		0.175	0.621	0.098	0.112	1.751	0.029	0.186	
	2,600-17	7.625 ^d	41.828 ^a	5.487 ^a	7.111 ^{bcd}	108.752 ^{ab}	1.073 ^b	7.013 ^c	
	2,600-19	7.930 ^{de}	39.252 ^{ab}	4.976 ^{ab}	7.458 ^{abcd}	102.055 ^b	1.068 ^b	7.801 ^c	
اثر متقابل انرژی و پروتئین ME×CP interaction	2,600-21	9.657 ^{ab}	39.541 ^{ab}	4.100 ^{de}	8.304 ^a	102.807 ^{ab}	1.163 ^{ab}	9.387 ^{ab}	
	2,800-17	9.124 ^{abc}	38.681 ^{ab}	4.264 ^{bc}	6.576 ^d	108.305 ^{ab}	1.393 ^a	8.459 ^{abc}	
	2,800-19	9.245 ^{abc}	40.014 ^{ab}	4.330 ^{bc}	7.603 ^{ab}	112.040 ^{ab}	1.216 ^{ab}	8.250 ^{abc}	
	2,800-21	8.320 ^{bcd}	37.186 ^{ab}	4.480 ^{bc}	7.809 ^{ab}	104.120 ^{ab}	1.066 ^b	7.992 ^{bc}	
	3,000-17	8.509 ^{bcd}	39.056 ^{ab}	4.596 ^{bc}	6.640 ^{dc}	117.166 ^a	1.290 ^{ab}	7.311 ^c	
	3,000-19	9.547 ^{ab}	37.321 ^{ab}	3.939 ^{de}	7.091 ^{bcd}	111.964 ^{ab}	1.347 ^a	8.535 ^{abc}	
	3,000-21	10.434 ^a	35.980 ^b	3.449 ^d	7.556 ^{abc}	107.941 ^{ab}	1.382 ^a	9.676 ^a	
سطح احتمال P value		0.0001	0.0293	0.0001	0.0001	0.0289	0.0001	0.0001	
خطای استاندارد میانگین SEM		0.303	1.076	0.169	0.194	3.033	0.050	0.322	

^{a-b} Means within each column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

^{a-b} در هر ستون، میانگین‌هایی با حروف متفاوت معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

جدول ۵ تأثیر سطوح مختلف انرژی و پروتئین جیره و اثرات متقابل آن‌ها بر عملکرد رشد کل دوره (۷ تا ۹۱ روزگی) جوجه‌های خزک را نشان می‌دهد. سطوح انرژی بر تمامی متغیرها به‌استثنای راندمان مصرف انرژی معنی‌دار بود ($P < 0.05$) و متوسط افزایش وزن بدن، مصرف خوراک، مصرف پروتئین و راندمان مصرف پروتئین در جیره‌های حاوی ۲۸۰۰ و ۳۰۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی قابل متابولیسم نسبت به جیره حاوی ۲۶۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی قابل متابولیسم معنی‌دار بود ($P < 0.05$)، اما دو سطح ۲۸۰۰ و ۳۰۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم تفاوت معنی‌دار نداشت. به هر حال ضریب تبدیل خوراک کل دوره بین سه سطح انرژی مورد مطالعه تفاوت معنی‌دار نداشت ($P < 0.05$). اگرچه راندمان مصرف پروتئین در کل دوره مورد مطالعه تحت تأثیر سطوح مختلف پروتئین جیره قرار نگرفت (جدول ۵)، اما مابقی متغیرها بین سطوح مختلف پروتئین جیره معنی‌دار بودند ($P < 0.05$). بهبود در متوسط افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک، ضریب تبدیل و راندمان مصرف انرژی با افزایش سطوح پروتئین جیره در کل دوره به‌دست آمد. همچنین اثرات متقابل سطوح انرژی و پروتئین بر تمامی متغیرهای مورد مطالعه در کل دوره معنی‌دار بود. متوسط افزایش وزن روزانه، راندمان مصرف انرژی و پروتئین در جیره حاوی ۳۰۰۰ کیلوکالری انرژی و ۲۱ درصد پروتئین بالاترین مقدار داشت که با برخی از تیمارها تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) و با برخی دیگر به‌خصوص تیمار حاوی ۲۸۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی و ۱۹ درصد پروتئین تفاوت معنی‌دار نداشت. پایین‌ترین مقدار ضریب تبدیل و خوراک مصرفی روزانه در جیره حاوی ۳۰۰۰ کیلوکالری انرژی و ۲۱ درصد پروتئین بود که نسبت به جیره حاوی ۳۰۰۰ کیلوکالری انرژی و ۱۹ درصد پروتئین معنی‌دار نبود.

برخلاف نژادهای گوشتی، اطلاعات کمی در مورد راندمان تغذیه‌ای نژادهای بومی وجود دارد. در همین راستا، تعیین سطوح بهینه انرژی و پروتئین جیره برای حداکثر رساندن پارامترهای تولیدی جوجه‌های بومی خیلی مهم است. شاید یک برنامه تغذیه کاربردی باید توافقی بین نیازهای تغذیه‌ای و مدیریتی را جهت تعادل عملکرد طيور و تولید اقتصادی نشان دهد (Miah et al., 2014). از این رو، یکی از راه‌های ممکن برای دستیابی به این تعادل، فرمولاسیون جیره‌ای است که بتواند نسبت خاصی از انرژی به پروتئین را تنظیم کند (NRC, 1994).

افزایش پروتئین جیره باعث بهبود افزایش وزن بدن نسبت به سطوح پایین پروتئین جیره می‌شود که می‌تواند به دلیل قابلیت هضم بهتر جیره و سطوح بالای انرژی و اسیدهای آمینه در این جیره باشد

در مطالعه تأثیر سطوح مختلف انرژی و پروتئین در جوجه‌های بتونگ گزارش شد که با افزایش سطح پروتئین جیره، میزان انرژی مصرفی کاهش و پروتئین مصرفی افزایش یافت، اما تفاوت بین سطوح پروتئین معنی‌دار نبود، با این حال تفاوت بین سطوح انرژی از لحاظ میزان انرژی مصرفی معنی‌دار گزارش شد (Nguyen et al., 2010) که مشابه نتایج یافته‌های تحقیق حاضر بود. مشابه یافته‌های تحقیق حاضر، در بررسی چهار سطح انرژی بر عملکرد رشد جوجه‌های بومی دسی در سنین ۳ تا ۱۴ هفتگی گزارش شد که سطوح انرژی بر عملکرد رشد تأثیر معنی‌دار داشته و با توجه به عملکرد بهتر سطح ۲۸۰۰ کیلوکالری، این سطح به عنوان سطح بهینه برای دوره رشد پیشنهاد شد (Miah et al., 2014).

در مطالعه تأثیر سطوح مختلف انرژی و پروتئین در جوجه‌های بتونگ گزارش شد که با افزایش سطح پروتئین جیره، میزان انرژی مصرفی کاهش و پروتئین مصرفی افزایش یافت، اما تفاوت بین سطوح پروتئین معنی‌دار نبود، با این حال تفاوت بین سطوح انرژی از لحاظ میزان انرژی مصرفی معنی‌دار گزارش شد (Nguyen et al., 2010) که مشابه نتایج یافته‌های تحقیق حاضر بود. مشابه یافته‌های تحقیق حاضر، در بررسی چهار سطح انرژی بر عملکرد رشد جوجه‌های بومی دسی در سنین ۳ تا ۱۴ هفتگی گزارش شد که سطوح انرژی بر عملکرد رشد تأثیر معنی‌دار داشته و با توجه به عملکرد بهتر سطح ۲۸۰۰ کیلوکالری، این سطح به عنوان سطح بهینه برای دوره رشد پیشنهاد شد (Miah et al., 2014).

جدول ۴- اثر سطوح انرژی و پروتئین جیره بر عملکرد رشد چوچه‌های خیزک در سنین ۶۳ تا ۹۱ روزگی
 Table 4- Effect of dietary protein (CP) and energy (ME) on growth performance of Khazak chickens from 63 to 91 days of age

عوامل Factors	سطوح levels	متوسط افزایش وزن ADG (g/day/ bird)	متوسط مصرف خوراک ADFI (g/day/ bird)	متوسط روزانه (گرم/روز/پرند) FCR	ضرب تبدیل	مصرف پروتئین (گرم/روز/پرند) CP intake (g/day/bird)	مصرف انرژی (کیلوکالری/روز/پرند) ME intake (kcal/day/bird)	راندمان مصرف پروتئین (گرم/گرم) PER (g/g)	راندمان مصرف انرژی (درصد) EER (%)
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم) ME (kcal/kg)	2,600	7.462 ^b	58.568	7.962 ^a	7.962 ^a	11.101	152.277 ^b	0.678 ^b	4.946
	2,800	8.131 ^{ab}	56.898	7.035 ^{ab}	7.035 ^{ab}	10.804	159.314 ^{ab}	0.758 ^{ab}	5.111
	3,000	8.782 ^a	55.285	6.483 ^b	6.483 ^b	10.458	165.855 ^a	0.839 ^a	5.346
سطح احتمال P value		0.0018	0.0614	0.0043	0.0043	0.0510	0.0034	0.0020	0.3627
خطای استاندارد میانگین SEM		0.233	0.932	0.288	0.288	0.177	2.552	0.029	0.196
پروتئین خام (درصد) CP (%)	17	7.635 ^b	58.910 ^a	7.795 ^a	7.795 ^a	10.015 ^c	164.813 ^a	0.766	4.657 ^b
	19	8.135 ^{ab}	56.908 ^{ab}	7.158 ^{ab}	7.158 ^{ab}	10.813 ^b	159.157 ^{ab}	0.756	5.121 ^{ab}
	21	8.606 ^a	54.934 ^b	6.527 ^b	6.527 ^b	11.536 ^a	153.477 ^b	0.753	5.626 ^a
سطح احتمال P value		0.0230	0.0199	0.0160	0.0160	0.0001	0.0149	0.9468	0.0065
خطای استاندارد میانگین SEM		0.233	0.932	0.288	0.288	0.177	2.552	0.029	0.196
انرژی متقابل انرژی و پروتئین ME × CP interaction	2,600-17	7.347 ^b	61.387 ^a	8.383 ^a	8.383 ^a	10.436 ^{bcd}	159.606 ^{ab}	0.708 ^{ab}	4.627 ^b
	2,600-19	7.026 ^b	56.891 ^{ab}	8.292 ^a	8.292 ^a	10.809 ^{abcd}	147.917 ^b	0.660 ^b	4.823 ^{ab}
	2,600-21	8.014 ^b	57.427 ^{ab}	7.212 ^{ab}	7.212 ^{ab}	12.060 ^a	149.310 ^b	0.667 ^b	5.387 ^{ab}
	2,800-17	7.740 ^b	55.973 ^{ab}	7.241 ^{ab}	7.241 ^{ab}	9.516 ^d	156.725 ^b	0.816 ^{ab}	4.952 ^{ab}
	2,800-19	8.842 ^{ab}	59.713 ^{ab}	6.769 ^{ab}	6.769 ^{ab}	11.345 ^{abc}	167.195 ^{ab}	0.779 ^{ab}	5.284 ^{ab}
	2,800-21	7.812 ^b	55.008 ^{ab}	7.095 ^{ab}	7.095 ^{ab}	11.552 ^{ab}	154.023 ^b	0.680 ^{ab}	5.098 ^{ab}
	3,000-17	7.818 ^b	59.370 ^{ab}	7.762 ^a	7.762 ^a	10.093 ^{dc}	178.109 ^a	0.775 ^{ab}	4.392 ^b
	3,000-19	8.538 ^{ab}	54.120 ^{ab}	6.413 ^{ab}	6.413 ^{ab}	10.283 ^{bcd}	162.359 ^{ab}	0.830 ^{ab}	5.255 ^{ab}
	3,000-21	9.991 ^a	52.366 ^b	5.275 ^b	5.275 ^b	10.997 ^{abc}	157.098 ^{ab}	0.913 ^a	6.391 ^a
سطح احتمال P value		0.0009	0.0106	0.0047	0.0047	0.0001	0.0016	0.0141	0.0199
خطای استاندارد میانگین SEM		0.403	1.615	0.499	0.499	0.306	4.420	0.049	0.340

^{a, b} Means within each column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

^{d, c, b, a} در هر ستون، میانگین‌هایی با حروف متفاوت معنی دار هستند ($P < 0.05$).

جدول ۵- اثر سطوح انرژی و پروتئین جیره بر عملکرد رشد جوجههای خنک در سنین ۷ تا ۹۱ روزگی
Table 5- Effects of dietary protein (CP) and energy (ME) on growth performance of Khazak chickens from 7 to 91 days of age

عوامل Factors	سطوح levels	متوسط افزایش وزن ADG (g/day/bird)	متوسط مصرف خوراک روزانه (گرم/روز/پرند) ADFI (g/day/bird)	ضریب تبدیل FCR	مصرف پروتئین (گرم/روز/پرند) CP intake (g/day/bird)	مصرف انرژی (کیلوکالری/روز/پرند) ME intake (kcal/day/bird)	راندمان پروتئین (گرم/گرم) PER (g/g)	راندمان مصرف انرژی (درصد) EER (%)
انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری/کیلوگرم) ME (kcal/kg)	2,600 2,800 3,000	7.274 ^b 7.958 ^a 8.236 ^a	39.077 ^a 37.453 ^b 36.344 ^b	5.317 ^a 4.687 ^b 4.341 ^c	7.410 ^a 7.105 ^b 6.881 ^b	101.601 ^b 104.868 ^{ab} 109.033 ^a	0.983 ^b 1.127 ^a 1.196 ^a	7.187 7.593 7.596
سطح احتمال P value		0.0001	0.0009	0.0001	0.0006	0.0010	0.0001	0.0770
خطای استاندارد میانگین SEM		0.113	0.453	0.098	0.084	1.243	0.20	0.140
پروتئین خام (درصد) CP (%)	17 19 21	7.318 ^b 7.958 ^a 8.192 ^a	38.898 ^a 37.636 ^{ab} 36.340 ^b	5.215 ^a 4.767 ^b 4.363 ^c	6.613 ^c 7.151 ^b 7.632 ^a	108.765 ^a 105.231 ^{ab} 101.505 ^b	1.111 1.116 1.078	6.743 ^c 7.560 ^b 8.074 ^a
سطح احتمال P value		0.0001	0.0019	0.0001	0.0001	0.0013	0.3854	0.0001
خطای استاندارد میانگین SEM		0.113	0.453	0.098	0.084	1.243	0.20	0.140
اثر متقابل انرژی و پروتئین ME × CP interaction	2,600-17 2,600-19 2,600-21 2,800-17 2,800-19 2,800-21 3,000-17 3,000-19 3,000-21	6.773 ^c 7.004 ^{de} 8.045 ^{bc} 7.714 ^{cd} 8.652 ^{ab} 7.507 ^{cde} 7.466 ^{cde} 8.218 ^{abc} 9.023 ^{ab}	40.632 ^a 38.239 ^{abc} 38.362 ^{abc} 37.681 ^{abc} 38.664 ^{ab} 36.013 ^{bc} 38.382 ^{ab} 36.004 ^{bc} 34.646 ^c	5.791 ^a 5.456 ^{ab} 4.705 ^{bc} 4.813 ^{bc} 4.553 ^c 4.693 ^{bc} 5.040 ^{abc} 4.292 ^{dc} 3.690 ^d	6.907 ^{bcd} 7.266 ^{bc} 8.056 ^a 6.406 ^d 7.346 ^{bc} 7.563 ^{ab} 6.525 ^d 6.840 ^{dc} 7.276 ^{bc}	105.643 ^{ab} 99.421 ^b 99.740 ^b 105.507 ^{ab} 108.260 ^{ab} 100.836 ^b 115.147 ^a 108.013 ^{ab} 103.939 ^b	0.981 ^{bc} 0.968 ^c 0.999 ^{bc} 1.208 ^a 1.179 ^a 0.994 ^{bc} 1.143 ^{ab} 1.202 ^a 1.242 ^a	6.418 ^d 7.073 ^{bcd} 8.072 ^{ab} 7.329 ^{bcd} 7.996 ^{ab} 7.453 ^{bcd} 6.482 ^{dc} 7.611 ^{abc} 8.696 ^a
سطح احتمال P value		0.0001	0.0005	0.0001	0.0001	0.0004	0.0001	0.0001
خطای استاندارد میانگین SEM		0.195	0.785	0.170	0.146	2.153	0.035	0.242

^{a-b} Means within each column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).
^{d, c, b, a} در هر ستون، میانگین‌هایی با حروف متفاوت معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

ضریب تبدیل تأثیر معنی‌داری داشت (Sompie et al., 2015). در پژوهش بر روی جوجه‌های بومی واناراجا، تأثیر سطوح مختلف انرژی و پروتئین بر مصرف خوراک، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل

در بررسی تأثیر سطوح مختلف انرژی و پروتئین بر عملکرد ۶۰ روز اول دوره رشد جوجه‌های بومی اندونزی، تأثیر معنی‌دار سطوح مختلف پروتئین بر عملکرد مشاهده نشد، اما سطوح مختلف انرژی بر

پروتئین باشد. همان‌طور که نتایج تحقیق حاضر نشان داد، تعیین سطوح بهینه انرژی و پروتئین جیره برای حداکثر رساندن عملکرد جوجه‌های بومی خیلی مهم است. شاید یک برنامه تغذیه کاربردی باید توافقی بین نیازهای تغذیه‌ای و مدیریتی را جهت تعادل عملکرد طیور و تولید اقتصادی نشان دهد (Miah et al., 2014). از این رو، یکی از راه‌های ممکن برای دستیابی به این تعادل، فرمولاسیون جیره‌ای است که بتواند نسبت خاصی از پروتئین به انرژی قابل سوخت‌سازی را تنظیم کند (NRC, 1994).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر نشان داد که بالاترین افزایش وزن روزانه و پایین‌ترین مقدار مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل در سنین ۷ تا ۹۱ روزگی جوجه‌های خزک با مصرف جیره حاوی سطوح بالای انرژی و پروتئین به‌دست آمد. همچنین راندمان مصرف انرژی و پروتئین به‌ترتیب با افزایش پروتئین و انرژی روند افزایشی داشت و بالاترین راندمان پروتئین و انرژی مصرفی در سطوح بالای انرژی و پروتئین حاصل شد. اگرچه بسیاری از شاخص‌های عملکردی بین پرندگان تغذیه شده با جیره با سطح انرژی ۳۰۰۰ و ۲۸۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم و سطح پروتئین ۲۱ و ۱۹ درصد تفاوت معنی‌دار نشان نداد، اما اثر منفی بر شاخص‌های عملکردی با کاهش سطح انرژی به ۲۶۰۰ کیلوکالری و پروتئین جیره به ۱۷ درصد مشاهده شد، بنابراین جهت عملکرد بهتر رشد و مدیریت تغذیه‌ای بهتر جوجه‌های خزک در سنین ۷ تا ۹۱ روزگی، جیره حاوی ۲۸۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی و ۱۹ درصد پروتئین پیشنهاد می‌گردد. علاوه‌براین، نتایج تحقیق حاضر می‌تواند فرصتی را برای کاربردهای بیشتر در سایر نژادهایی با نرخ رشد مشابه جوجه‌های خزک فراهم کند.

تشکر و قدردانی

از همکاری و مساعدت پژوهش‌کننده دام‌های خاص دانشگاه زابل بابت همکاری در اجرای این پژوهش صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

خوراک معنی‌دار گزارش شد (Perween et al., 2016) و بیان کردند که تمایل مثبت در جیره‌هایی با سطوح انرژی و پروتئین بالا که بر سیستم ایمنی این پرنده جهت دستیابی به عملکرد مطلوب اقتصادی تأثیر بگذارد، وجود دارد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت.

مشابه یافته‌های تحقیق حاضر، اثر سطوح مختلف انرژی جیره بر عملکرد رشد جوجه‌های دورگ کورات در محدوده سنی ۱ تا ۲۱ و ۲۲ تا ۴۲ روزگی مورد بررسی قرار گرفت و گزارش شد که مصرف خوراک با افزایش انرژی جیره کاهش یافته و ضریب تبدیل غذایی به‌طور معنی‌دار در دو گروه سنی بهبود یافت (Maliwan et al., 2018) و بر اساس یافته‌های تحقیق خود، نیازهای انرژی برای سنین ۱ تا ۲۱ و ۲۱ تا ۴۲ روزگی را به‌ترتیب ۳۰۰۰ و ۳۱۷۵ کیلوکالری بر کیلوگرم پیشنهاد کردند (Maliwan et al., 2018). همچنین در پژوهش دیگری، نیازهای پروتئینی جوجه‌های دورگ کورات در سنین ۱ تا ۸۴ روزگی با فاصله ۲۱ روزگی (چهار فاز) مورد مطالعه قرار گرفت و تفاوت معنی‌دار بین سطوح پروتئین جیره از لحاظ مصرف خوراک، وزن بدن، مصرف انرژی گزارش نشد که مخالف یافته‌های تحقیق حاضر بود. اما افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل بین سطوح مختلف پروتئین جیره تفاوت معنی‌دار داشت و روند افزایشی در مصرف پروتئین با افزایش سطوح پروتئین جیره در چهار فاز مورد مطالعه مشاهده شد. همچنین تأثیر سطوح مختلف پروتئین بر راندمان مصرف پروتئین جوجه‌های دورگ کورات در فاز اول (هج ۲۱ روزگی) و فاز چهارم (۶۴ تا ۸۴ روزگی) و بر راندمان مصرف انرژی در دو فاز اول معنی‌دار بود (Maliwan et al., 2019). در تحقیق حاضر، اثر سطوح پروتئین بر راندمان مصرف پروتئین در سه فاز مورد مطالعه معنی‌دار نبود که مشابه برخی یافته‌های جوجه‌های دورگ کورات بود.

در دوره آغازین، پرندگان ممکن است محدودیت فیزیکی در موقع مصرف جیره با چگالی پایین داشته باشند. در واقع، کاهش در انرژی مصرفی به‌واسطه محدودیت فیزیکی در موقع مصرف جیره با انرژی و پروتئین پایین در دوره استارتر وجود دارد (Griffiths et al., 1977). در صورت کافی نبودن پروتئین جیره، کاهش در نرخ رشد وجود خواهد داشت و پروتئین بافت‌هایی که کمتر حیاتی هستند، جهت نگهداری عملکرد بافت‌های خیلی حیاتی و یا تخریب بافت‌های پروتئینی بدن باز گرفته خواهند شد (NRC, 1994). تفاوت در نتایج مطالعات مختلف می‌تواند به دلیل متفاوت بودن نژادهای مورد مطالعه، محدوده سنی مورد مطالعه، سطوح مختلف در نظر گرفته شده برای انرژی و

References

1. Al-Khalifa, H., & Al-Nasser, A. (2012). Effect of different protein levels on Arabi chicken performance. *International Journal of Poultry Science*, 11(11), 706-709. <https://doi.org/10.3923/ijps.2012.706.709>.
2. Dozier, W. A., Gehring, C. K., Corzo, A., & Olanrewaju, H. A. (2011). Apparent metabolizable energy needs of male and female broilers from 36 to 47 days of age. *Poultry Science*, 90(4), 804-814. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01132>.

3. Dyubele, N. L., Muchenje, V., Nkukwana, T. T., & Chimonyo, M. (2010). Consumer sensory characteristics of broiler and indigenous chicken meat: A South African example. *Food Quality and Preference*, 21(7), 815–819. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2010.04.005>.
4. Faraji Arough, H., Rokouei, M., Maghsoudi, A., & Mehri, M. (2019). Evaluation of non-linear growth curves models for native slow-growing Khazak chickens. *Poultry Science Journal*, 7(1), 25-32. <https://doi.org/10.22069/psj.2019.15535.1355>.
5. Engku Azahan, E. A., Azlina Azma, I. A., & Noraziah, M. (2011). Growth response of crossbred village (kampung) chickens to starter diets of differing energy contents. *Malaysian Journal of Animal Science*, 14, 51-55.
6. Griffiths, L., Leeson, S., & Summers, J. D. (1977). Influence of energy system and level of various fat sources on performance and carcass composition of broilers. *Poultry Science*, 56(3), 1018-1026. <https://doi.org/10.3382/ps.0561018>.
7. Haunshi, S., Panda, A. K., Rajkumar, U., Padhi, M. K., Niranjana, M., & Chatterjee, R. N. (2012). Effect of feeding different levels of energy and protein on performance of Aseel breed of chicken during juvenile phase. *Tropical Animal Health and Production*, 44(7), 1653-1658. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0120-6>.
8. Jafarnejad, S., & Sadegh, M. (2011). The effects different levels of dietary protein, energy and using fat on the performance of broiler chicks at the end of the third weeks. *Asian Journal of Poultry Science*, 5(1), 35-40. <https://doi.org/10.3923/ajpsaj.2011.35.40>.
9. Karomy, A. S., Habib, H. N., & Kasim, S. A. (2019). Influence of different levels of crude protein and metabolizable energy on production performance of Ross broiler. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 9(18), 20- 24. <https://doi.org/10.7176/JBAH/9-18-04>.
10. Leeson, S., & Summers, J. D. (2005). *Commercial Poultry Nutrition*. 3rd ed. Nottingham University Press, Nottingham, England.
11. Magala, H., Kugonza, D. R., Kwizera, H., & Kyarisiima, C. C. (2012). Influence of varying dietary energy and protein on growth and carcass characteristics of Ugandan local chickens. *Journal of Animal Production Advances*, 2(7), 316-324.
12. Maliwan, P., Khempaka, S., Molee, W., & Schonewille, J. T. (2018). Effect of energy density of diet on growth performance of Thai indigenous (50% crossbred) Korat chickens from hatch to 42 days of age. *Tropical Animal Health and Production*, 50(8), 1835-1841. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1628-1>.
13. Maliwan, P., Molee, W., & Khempaka, S. (2019). Response of Thai indigenous crossbred chickens to various dietary protein levels at different ages. *Tropical Animal Health and Production*, 51(6), 1427-1439. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01825-1>.
14. Miah, M. Y., Chowdhury, S. D., Bhuiyan, A. K. F. H., & Ali, M. S. (2014). Effect of different levels of dietary energy on growth performance of indigenous Desi chicks reared in confinement up to target weight of 950 g. *Livestock Research for Rural Development*, 26(7), 124-129.
15. Nguyen, T. V., Bunchasak, C., & Chantsavang, S. (2010). Effects of dietary protein and energy on growth performance and carcass characteristics of Betong chickens (*Gallus domesticus*) during growing period. *International Journal of Poultry Science*, 9, 468–472. <https://doi.org/10.3923/ijps.2010.468.472>.
16. NRC. (1994). *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th Revised Edition, National Research Council, National Academy of Sciences, Washington, D.C.
17. Perween, S., Kumar, K., Chandramoni, S. K., Singh, P. K., Kumar, M., & Dey, A. (2016). Effect of feeding different dietary levels of energy and protein on growth performance and immune status of Vanaraja chicken in the tropic. *Veterinary World*, 9(8), 893- 899. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.893-899>.
18. Pesti, G. M., & Miller, B. R. (1997). Modelling for precision nutrition. *Journal of Applied Poultry Research*, 6(4), 483-494. <https://doi.org/10.1093/japr/6.4.483>.
19. Pingmuang, R., Tangtaweewipat, S., Cheva-Isarakul, B., & Tananchai, B. (2001). Proper dietary protein and energy levels for crossbred native chickens during 6–10 weeks of age. Pages 169-177 in *Proceeding of 39th Kasetsart University Annual Conference (in Thai)*, Bangkok, Thailand.
20. Shehbaz, M., & Hassan Khan, S. (2008). Effects of different energy protein ratio on the performance of desi native chickens during growing phase. *Asian Journal of Poultry Science*, 2(1), 42-47. <https://doi.org/10.3923/ajpsaj.2008.42.47>.
21. Sompie, F. N., Bagau, B., Imbar, M. R., & Kowel, Y. H. (2015). The effects of various protein and energy in the diet on native chicken growth performance. *Scientific Papers-Animal Science Series*, 63, 221-225.
22. Wickramasuriya, S. S., Yoo, J., Kim, J. C., & Heo, J. M. (2015). The apparent metabolizable energy requirement of male Korean native ducklings from hatch to 21 days of age. *Poultry Science*, 95(1), 77–83. <https://doi.org/10.3382/ps/pev321>.
23. Wijtten, P. J. A., Lemme, A., & Langhout, D. J. (2004). Effects of different dietary ideal protein levels on male and female broiler performance during different phases of life: single phase effects, carryover effects, and interactions between phases. *Poultry Science*, 83(12), 2005-2015. <https://doi.org/10.1093/ps/83.12.2005>.
24. Wu, G., Bryant, M. M., Voitle, R. A., & Sr Roland, D. A. (2005). Effect of dietary energy on performance and egg

composition of bovans white and dekalb white hens during phase 1. *Poultry Science*, 84(10), 1610-1615. <https://doi.org/10.1093/ps/84.10.1610> .

25. Yung, L. C., Chuanhuang, C., Yenghow, C., Jennchung, H., Mingtasao, C., & Dengcheng, L. (2001). Effects of different dietary protein and energy levels on the growth performance, blood characteristics and sensory panels of caponized country chicken cockerels during finishing period. *Journal of Chinese Society Animal Science*, 30, 81-91.



The Effect of Adding *Lactobacillus* Isolates, Isolated from the Gastrointestinal Tract of Iranian Native Poultry on Performance, Carcass Characteristics, Blood Parameters and Safety Parameters of Broilers

Seyed Mohammad Entezari Sereshkeh¹, Majid Mottaghitalab^{2*}, Maryam Royan³, Ramin Seighalani⁴

Received: 22-05-2022

Revised: 07-09-2022

Accepted: 02-10-2022

Available Online: 02-10-2022

How to cite this article:

Entezari Sereshkeh, S. M., Mottaghitalab, M., Royan, M., & Seighalani, R. (2023). The effect of adding *Lactobacillus* isolates, isolated from the gastrointestinal tract of Iranian native poultry on performance, carcass characteristics, blood parameters and safety parameters of broiler. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 15(2), 241-254.

DOI: [10.22067/ijasr.2022.76829.1077](https://doi.org/10.22067/ijasr.2022.76829.1077)

Introduction: Feed additives are commonly used in poultry feed to enhance performance, promote health, and increase nutrient efficiency. The use of antibiotics as growth promoters in poultry feed has been prevalent for years. However, due to concerns regarding the accumulation of antibiotic residues in poultry products and the development of antibiotic-resistant bacterial strains, antibiotics are no longer considered desirable additives in poultry feed. As a non-therapeutic alternative to antibiotics, probiotics have been introduced as suitable candidates to promote growth. Probiotics have beneficial effects on poultry digestive enzymes, improve intestinal absorption, and neutralize toxins produced by harmful microorganisms, ultimately improving the immune system and economic performance. Among the most popular probiotic bacteria are *Lactobacilli*, as they are generally classified as safe bacteria.

Materials and methods *Lactobacillus reuteri* (*L. reuteri* ABRIG25 (MF686485)) and *salivarius* (*L. salivarius* NABRII59 (MH595987)) isolated from the digestive tract of Guilan's native chicks and Mazandaran's duck respectively, were prepared up to 1.36×10^9 CFU using MRS medium at 37 °C, under anaerobic conditions. 300 one-day-old male Arbor-Acres chicks were distributed in a completely randomized design, with 5 treatments, 4 replications (15 chicks per replicate). Experimental treatments were: 1- Basic diet as control group (Cont), 2- Basic diet + 100 g / ton *Avilamycin* as antibiotic group (Anti), 3- Basic diet + 200 g / ton commercial probiotic (*Lactofeed*®) (Plac), 4- Basic diet + 1 g / Kg of *L. salivarius* NABRII59 (MH595987) bacterial powder (Pls1), and 5- basic diet + 1 g / kg of *L. reuteri* ABRIG25 (MF686485) bacterial powder (Plr1). Daily feed intake, weight gain, and feed conversion ratio of broilers were determined and recorded in starter, grower, and finisher periods. On day 42, two chicks were slaughtered from each replicate and the weight of internal organs and carcass cuts were recorded as a percentage of carcass weight. Chicken antibody reaction were determined using SRBS suspension. On days 22 and 35 of the rearing period, two chicks were randomly selected from each cage and 0.1 cc of SRBC solution was injected into the wing's vein, intravenously. Humoral immunity test was applied on days 29 and 42, using 1 cc of blood taken from the wing vein of chickens. The hemagglutination reaction was recorded based on the last two dilutions as SRBC's antibody using the logarithm and the antibody titer against Newcastle was determined by hem agglutination inhibition (HI) test. On day 42, blood samples were taken randomly from 2 birds per replication to evaluate blood-serum parameters including glucose, cholesterol, triglyceride, HDL, LDL and VLDL. All data were analyzed using SAS software v.9.1 (2012) in GLM procedure using a completely randomized design, and comparison of statistical means was performed, using Duncan's method at the level of 0.05.

1- M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran.

2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran.

3 and 4- Assistant Professor and Researcher, North region branch, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran. (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran, Respectively.

*Corresponding Author's Email: mmotaghi@guilan.ac.ir

Results and Discussion: The present study investigated the effect of native probiotic isolates (Plr1, Pls1) compared to commercial probiotics (Plac) and antibiotics (Anti) on the growth performance of chickens. The results showed no significant differences in daily feed intake, weight gain, and feed conversion ratio between experimental treatments. However, two native probiotic isolates (Plr1, Pls1), the commercial probiotic (Plac), and the antibiotic (Anti) resulted in a significant reduction ($P < 0.05$) in proventriculus weight, while there were no significant differences in the relative weight of other organs. Both the commercial probiotic (Plac) and the native *Lactobacillus* isolates (Plr1 and Pls1) significantly improved total immunoglobulin and immunoglobulin G (IgG) levels after both the first and second injections ($P < 0.05$). *Lactobacillus salivarius* (Pls1) isolate also significantly improved immunoglobulin M (IgM) levels after the second injection. However, there were no significant differences between treatments and the control group in terms of antibody titer against Newcastle disease vaccine, blood glucose, cholesterol, triglyceride, VLDL, and LDL levels. Probiotics can affect gut microbiota by competing for nutrients and attachment sites on the intestinal epithelial cells. Additionally, they may improve blood parameters and stimulate immune system cells to produce cytokines, which play an important role in inducing and regulating immune responses in poultry. Probiotics support lactic acid-producing bacteria and stabilize the gut microflora, which has beneficial effects on feed conversion ratio by stimulating the production of digestive enzymes. Furthermore, probiotics may reduce cholesterol synthesis by fermenting indigestible carbohydrates, leading to the production of short-chain fatty acids and ultimately lowering cholesterol levels in the host bird. Discrepancies in results reported by different researchers may partly be due to differences in chick's age and breed, level of stress, diet composition, consumption period and duration, type of commercial probiotics, dose or amount of probiotic intake, management skills, and environmental conditions in different experiments.

Conclusion: The general conclusion is that the probiotic isolates used in this study are competitive with the commercial type of probiotics as well as the antibiotic used and are promising as probiotic candidate with beneficial effects on broiler's performance, blood biochemical parameters and immune system

Keywords: Avilamycin , Lacto-feed probiotic, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, Guilan' native chick



مقاله پژوهشی

جلد ۱۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۲۵۴-۲۴۱

اثر افزودن جدایه‌های لاکتوباسیلوسی جداسازی شده از دستگاه گوارش طیور بومی ایران بر عملکرد، خصوصیات لاشه، فراسنجه‌های خونی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی

سید محمد انتظاری سرشکه^۱، مجید متقی طلب^{۲*}، مریم رویان^۳، رامین صیقلانی^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۰

چکیده

در این مطالعه، اثرات استفاده از یک سویه لاکتوباسیلوس روتری جداسازی شده از دستگاه گوارش مرغ بومی گیلان و یک سویه لاکتوباسیلوس سالیاروس جداسازی شده از دستگاه گوارش اردک بومی مازندران بر عملکرد، خصوصیات لاشه، ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی بررسی شد. سیصد قطعه جوجه گوشتی نر آربراکرز پلاس در قالب طرح کاملاً تصادفی به پنج تیمار و چهار تکرار (۱۵ قطعه جوجه در هر تکرار) تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره پایه به عنوان شاهد، ۲- جیره پایه + آنتی‌بیوتیک آویلامایسین، ۳- جیره پایه + پروبیوتیک تجاری لاکتوفید[™]، ۴- جیره پایه + جدایه بومی لاکتوباسیلوس سالیاروس (*L. salivarius* NABRII59 (MH595987)) و ۵- جیره پایه + جدایه لاکتوباسیلوس روتری (*L. reuteri* ABRIG25 (MF686485)) بودند. از نظر میزان مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه، و ضریب تبدیل خوراک تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. جدایه‌های لاکتوباسیلوسی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری لاکتوفید منجر به کاهش معنی‌دار وزن پیش‌معدده شدند. همچنین هر دو جدایه لاکتوباسیلوس بومی و نیز پروبیوتیک تجاری لاکتوفید به صورت معنی‌داری باعث افزایش ایمونوگلوبولین کل و ایمونوگلوبولین G پس از دو مرحله تزریق SRBC (در روزهای ۲۲ و ۳۵) گردیدند. میزان عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل در هر دو نوبت خون‌گیری (روزهای ۲۹ و ۴۲) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. غلظت گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، ¹VLDL و ²LDL سرم خون در پرندگان تیمارهای مختلف آزمایشی مشابه بود، اما ³HDL سرم در جوجه‌های تغذیه شده با آنتی‌بیوتیک کاهش یافت ($P < 0.05$). به طور کلی، با توجه به اثرات مثبت و مشابه جدایه‌های لاکتوباسیلوس بومی با پروبیوتیک تجاری لاکتوفید و آنتی‌بیوتیک آویلامایسین بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و بهبود شاخص‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی، این باکتری‌ها می‌توانند به عنوان مکمل پروبیوتیکی در تغذیه طیور مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: آویلامایسین، پروبیوتیک لاکتوفید، لاکتوباسیلوس روتری، لاکتوباسیلوس سالیاروس، مرغ بومی.

مقدمه

طیور را به دلیل ابقای آن‌ها در تولیدات و ایجاد مقاومت‌های باکتریایی و مضرات آن در سلامت انسان به عنوان مصرف‌کننده نهایی، محدود یا ممنوع اعلام نموده‌اند (Taherpour et al., 2009). به همین دلیل،

بسیاری از کشورها استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه دام و

- 1- Very Low-Density Lipoprotein
- 2- Low-Density Lipoprotein
- 3- High-Density Lipoprotein

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

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

۳ و ۴- به ترتیب استادیار و محقق، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران.

*- نویسنده مسئول: (Email: mmotaghi@guilan.ac.ir)

افزایش ۸/۷ درصدی میزان تولید گردید. بر اساس گزارش شکریردان و همکاران (Shokryazdan et al., 2017)، استفاده از مخلوطی از سه سویه لاکتوباسیلوس *سالیواریوس* در خوراک مصرفی، علاوه بر بهبود وزن بدن، ضریب تبدیل خوراک و افزایش زنده‌مانی و کاهش کلسترول سرم، باعث افزایش معنی‌دار جمعیت باکتری‌های مفید سکومی شده، درحالی‌که از جمعیت باکتریایی نامطلوب به‌شدت می‌کاهد. ریتزی و همکاران (Ritzi et al., 2014)، گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس *سالیواریوس* در خوراک موجب بهبود افزایش وزن بدن، بهبود رشد و همچنین کاهش اثرات منفی *ایمریا* بر عملکرد طیور می‌شود. اهمیت دیگر پروبیوتیک‌ها در کاهش تری‌گلیسیرید سرمی و سازوکارهای کاهش ساخت کلسترول یا افزایش تخریب و خروج آن از بدن میزبان است. گزارش شده که استفاده از پروبیوتیک باعث کاهش کلسترول خون جوجه‌های گوشتی می‌شود (Kalavathy et al., 2003). برای توسعه ساخت پروبیوتیک‌ها، باید پس از جداسازی باکتری‌های پروبیوتیکی در شرایط آزمایشگاهی، کارایی آن‌ها در مزرعه نیز ارزیابی گردد. زیرا افزودن کشت‌های لاکتوباسیلوسی به جیره طیور نتایج متفاوتی را در پی داشته است که از جمله دلایل آن، نحوه مصرف و وجود تفاوت بین سویه‌های باکتریایی می‌باشد (Ashayerizadeh et al., 2011; Awad et al., 2006; Olmood et al., 2015). در مطالعه حاضر، اثرات یک سویه بومی لاکتوباسیلوس *روتیری* (*L. reuteri* ABRIG25 (MF686485)) جدا سازی شده از مرغ بومی گیلان و همچنین یک سویه بومی لاکتوباسیلوس *سالیواریوس* (*L. salivarius* NABRII59 (MH595987)) جدا سازی شده از اردک بومی مازندران به‌طور منفرد و جداگانه، با اثر آنتی‌بیوتیک محرک رشد (آویلامایسین) و پروبیوتیک تجاری (لاکتوفید) بر عملکرد، شاخصه‌های مربوط به لاشه، فراسنجه‌های خونی و ایمنی جوجه‌های گوشتی مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها

یک سویه لاکتوباسیلوس *روتیری* (*L. reuteri* ABRIG25 (MF686485)) جدا سازی شده از مرغ بومی گیلان و یک سویه لاکتوباسیلوس *سالیواریوس* (*L. salivarius* NABRII59 (MH595987)) جدا سازی شده از اردک بومی مازندران به‌طور جداگانه به‌صورت بی‌هوازی در محیط کشت MRS مایع در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت شدند. سپس کشت‌های حاصله در ۵۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. سوپرناتانت حاصل از سانتریفوژ خارج و خمیر حاصل از هر یک از سویه‌های لاکتوباسیلوسی به‌صورت جداگانه در فریز درایر خشک شدند. سپس هر یک از جدایه‌ها به‌منظور استفاده در جیره جوجه‌های گوشتی به‌میزان CFU/g $\times 10^9$ ۱/۳۶ در آرد ذرت رقیق شدند (Shokryazdan et al., 2017).

در سال‌های اخیر از ترکیبات مختلفی به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره طیور جهت بهبود کارایی هضم، جذب، استفاده از مواد مغذی و افزایش سوخت و ساز استفاده می‌شود. این ترکیبات شامل پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، سین‌بیوتیک‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌ها، طعم‌دهنده‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها، مواد ضد قارچ، داروهای ضد انگل، فیتوبیوتیک‌ها و غیره می‌باشند. از جمله مهم‌ترین ترکیبات جایگزین برای آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توان به پروبیوتیک‌ها اشاره نمود. سازمان بهداشت جهانی (WHO) و سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد (FAO)، پروبیوتیک‌ها را کشت‌های تک یا چند سویه، از ریزسازواره‌های زنده تعریف می‌کنند که در صورت استفاده به مقادیر مناسب، اثرات سودمندی بر میزبان خواهند داشت (Lillehoj et al., 2018). پروبیوتیک‌ها، مکمل‌های میکروبی زنده‌ای هستند که باعث بهبود تعادل میکروبی روده‌ای میزبان، جلوگیری از رشد و تکثیر میکروب‌های مضر در دستگاه گوارش و نیز بهبود بازدهی و ضریب تبدیل خوراک و نهایتاً افزایش رشد و تولید حیوان و کاهش ابتلا به بیماری‌ها می‌شوند (Fuller, 1989). سه سازوکار اصلی برای نحوه‌ی اثر پروبیوتیک‌ها شامل حذف رقابتی، اثرات ضد باکتریایی و تحریک سامانه ایمنی می‌باشد (Ohimain and Ofongo, 2012). پروبیوتیک‌ها با افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و خنثی کردن سموم تولید شده توسط سایر ریزسازواره‌ها، باعث بهبود عملکرد هضمی و افزایش سطح جذب روده و نیز ارتقای سلامت طیور می‌شوند (Kizerwetter-Swida and Binek, 2009). لاکتوباسیلوس‌ها در میان باکتری‌های پروبیوتیکی بسیار مورد توجه بوده، زیرا عموماً در گروه باکتری‌های ایمن قرار می‌گیرند (FDA, 2010). پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوسی قادرند از دو طریق سامانه ایمنی را تقویت و تحریک نمایند. این ریزسازواره‌ها یا به‌صورت یاخته‌های زنده در طول دیواره روده استقرار، تکثیر و توسعه پیدا می‌کنند، و یا اینکه با کمک پادگن‌های آزاد شده، ریزسازواره‌های غیر زنده را جذب، و مستقیماً سامانه ایمنی را تحریک می‌نمایند (Fuller, 2001). این تأثیر از طریق فعال‌سازی یاخته‌ها و پاسخ ایمنی با افزایش سازوکارهای دفاع درونی و تنظیم سامانه ایمنی مخاطی صورت می‌گیرد. ناکفایچیت و همکاران (Nakphaichit et al., 2011)، گزارش نموده‌اند که استفاده از سویه‌های لاکتوباسیلوسی در خوراک، باعث بهبود وزن بدن در هفته اول و کاهش پروتئوباکترها مخصوصاً کامپیلوباکتر می‌شود.

نتایج مطالعات متعدد تأیید کننده بهبود ایمنی و اثرات مطلوب لاکتوباسیلوس *روتیری* در مصرف‌کننده می‌باشد (Mu et al., 2018). تیمرمن و همکاران (Timmerman et al., 2006)، مشاهده نمودند که ارائه سه سویه لاکتوباسیلوس *روتیری* در آب آشامیدنی طیور به مدت ۳۱ روز باعث کاهش مرگ و میر، بهبود سلامت و عملکرد، و

آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) تنظیم گردید. اجزای خوراک و ترکیب مواد مغذی جیره پایه در جدول ۱ نشان داده شده است. به منظور ارزیابی شاخص های ایمنی سرم، خون دفیبرینه گوسفند به منظور تهیه محلول تعلیقی (آویزش) قابل تزریق SRBC با سرم ساختاری (فیزیولوژیک) قابل تزریق، شستشو و رقیق شد. در روزهای ۲۲ و ۳۵ از دوره پرورشی، به دو جوجه از هر تکرار، ۰/۱ سی سی گلبول قرمز گوسفندی از طریق ورید بال تزریق و هفت روز بعد از هر تزریق، مقدار دو سی سی خون از ورید بال گرفته شد. سپس نمونه ها به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد تا سرم از لخته خون جدا شود.

در این آزمایش، ۳۰۰ قطعه جوجه نر یک روزه (آربراکرز پلاس) به طور تصادفی بین پنج تیمار، چهار تکرار و ۱۵ قطعه پرند در هر تکرار توزیع شدند. میانگین وزن اولیه گروه های آزمایشی ۴۰ گرم بود. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱- جیره پایه به عنوان شاهد، ۲- جیره پایه + ۱۰۰ گرم در تن از آنتی بیوتیک محرک رشد آویلامایسین، ۳- جیره پایه + ۲۰۰ گرم در تن پروبیوتیک تجاری لاکتوفید، ۴- جیره پایه + یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس *salivarius* NABRII59 (MH595987) و ۵- جیره پایه + یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس *reuteri* ABRIG25 (MF686485). جیره پایه بر اساس ذرت و کنجال سویا (CP=45%) فاقد آنتی بیوتیک برای دوره

جدول ۱- اجزای خوراک و ترکیب مواد مغذی جیره در دوره های آغازین، رشد و پایانی
Table 1- Diet ingredients and nutrient composition in starter, grower and finisher periods

اجزای خوراک (درصد) Diet ingredients (percent)	دوره‌های پرورش Breeding periods			ترکیب مواد مغذی Nutrient composition	دوره‌های پرورش Breeding periods		
	آغازین	رشد	پایانی		آغازین	رشد	پایانی
	Starter	Grower	Finisher		Starter	Grower	Finisher
ذرت Corn	53.31	56.16	59.61	انرژی (کیلوکالری/کیلوگرم) ME (Kcal/Kg)	2870	3000	3080
کنجاله سویا (CP=45%) Soybean meal	39.26	35.72	31.90	پروتئین خام (درصد) CP (%)	21.82	20.48	19.06
روغن سویا Soybean oil	2.83	4.16	4.73	کلسیم (درصد) Calcium (%)	1	0.86	0.82
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	2	1.78	1.68	فسفر قابل دسترس (درصد) Available P (%)	0.47	0.43	0.40
کربنات کلسیم CaCO ₃	1.18	0.95	0.93	ترئونین (درصد) Threonine (%)	0.79	0.70	0.63
نمک خوراکی Common salt	0.36	0.29	0.30	آرژنین (درصد) Arginine (%)	1.45	1.27	1.13
مکمل ویتامینی ^۱ Vitamin premix ¹	0.25	0.25	0.25	لایزین (درصد) Lysine (%)	1.2	1.05	0.93
مکمل معدنی ^۲ Mineral premix ²	0.25	0.25	0.25	متیونین + سیستئین (درصد) Methionine + Cysteine (%)	0.89	0.80	0.73
دی ال متیونین D,L-Methionine	0.30	0.24	0.20	فیبر خام (درصد) CF (%)	2.63	2.58	2.54
ال لایزین هیدروکلراید L-Lysine HCl	0.18	0.08	0.04	روغن کل جیره (درصد) Fat (%)	5.05	6.47	7.15
ال ترئونین L-Threonine	0.08	0.03	0.01				

^۱ هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی: ویتامین A (۵۰۰۰۰۰ واحد بین المللی بر گرم)، ۱/۸ گرم؛ ویتامین B₁ (۹۸/۸٪)، ۰/۱۸ گرم؛ ویتامین B₆ (۹۸/۵٪)، ۰/۳ گرم؛ ویتامین B₁₂ (۱٪)، ۰/۱۵ گرم؛ ویتامین D₃ (۵۰۰۰۰۰ واحد بین المللی بر گرم)، ۰/۴ گرم؛ ویتامین B₉ (۸۰٪)، ۰/۱۲۵ گرم؛ ویتامین B₅ (۹۹٪)، ۳ گرم؛ ویتامین E (۵۰۰ واحد بین المللی بر گرم)، ۳/۶ گرم؛ ویتامین K₃ (۵۰٪)، ۰/۴ گرم؛ ویتامین H₂ (۲٪)، ۰/۵ گرم.

^۲ هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی: منگنز (اکسید منگنز ۶۲٪)، ۱۶ گرم؛ آهن (سولفات آهن ۲۰٪)، ۲۵ گرم؛ روی (اکسید روی ۷۷٪)، ۱۱ گرم؛ مس (سولفات مس ۲۵٪)، چهار گرم؛ ید (کلسیم یدات ۶۲٪)، ۰/۱۶ گرم؛ سلنیوم (۱٪)، دو گرم.

^۱ Each kilogram of vitamin premix contains: vitamin A (500000 IU/g), 1.8 g; vitamin B₁ (98.8 %), 0.18 g; vitamin B₆ (98.5 %), 0.3 g; vitamin B₁₂ (1 %), 0.15 g; vitamin D₃ (500000 IU/g), 0.4 g; vitamin B₉ (80 %), 0.125 g; vitamin B₅ (99 %), 3 g; vitamin E (500 IU/g), 3.6 g; vitamin K₃ (50 %), 0.4 g; vitamin H₂ (2 %), 0.5 g.

^۲ Each kilogram of mineral premix contains: Mn (manganese oxide 62 %), 16 g; Fe (iron sulfate 20 %), 25 g; Zn (zinc oxide 77 %), 11 g; Cu (copper sulfate 25 %), 4 g; I (calcium iodate 62 %), 0.16 g; Se (selenium 1 %), 2 g.

تبدیل خوراک به دست نیامد. مطابق نتایج این مطالعه، جین و همکاران (Jin et al., 1998)، احمد و همکاران (Ahmed et al., 2019) و مانت زوریس و همکاران (Mountzouris et al., 2006)، ضمن افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره طیور، در ضریب تبدیل خوراک تفاوتی نسبت به شاهد گزارش نکردند. به‌طور کلی، تأثیر سودمند پروبیوتیک‌ها در جیره بر بازده خوراک را می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی مانند پروتاز، لیپاز و آمیلاز و همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌آورده‌آز و حفظ باکتری‌های مفید در روده از طریق رقابت با باکتری‌های بیماری‌زا و فعالیت ضدکنشی علیه میکروب‌ها نسبت داد (Kamboh, 2018; Jin et al., 1998). در تقابل، مونتزوریس و همکاران (Mountzouris et al., 2006)، بهبود ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با پروبیوتیک را به‌دلیل افزایش قابلیت هضم مواد مغذی گزارش کردند. بیان شده که استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره طیور موجب بهبود ضریب تبدیل خوراک شده که دلیل احتمالی آن، افزایش باکتری‌های مفید به‌ویژه لاکتوباسیل‌ها در مجرای گوارشی و جلوگیری از توسعه باکتری‌های بیماری‌زا مانند *شریشیاکلی* از طریق تولید اسیدهای آلی و باکتریوسین و نیز خنثی کردن سموم حاصل از آن‌ها می‌باشد (Li et al., 2014). گزارشات متعددی در رابطه با بهبود افزایش وزن در اثر استفاده از پروبیوتیک‌ها در دسترس می‌باشد (Abd-El-Rahman et al., 2012; Hossain et al., 2015; Li et al., 2014). تأثیر پروبیوتیک ممکن است به‌دلیل رقابت بین باکتری‌های موجود در ترکیبات پروبیوتیک با جمعیت‌های میکروبی دستگاه گوارش باشد. هر چه باکتری‌های پروبیوتیک زمان بیشتری در اختیار داشته باشند، ممکن است در رقابت با جمعیت‌های میکروبی دستگاه گوارش با کارایی بهتری عمل نمایند. از طرف دیگر، با توجه به عدم توسعه کامل جمعیت میکروبی در دستگاه گوارش پرنده در سنین اولیه، ترکیبات پروبیوتیکی می‌توانند به‌شکل مناسب در دستگاه گوارش استقرار یافته، از طریق حذف رقابتی سبب کاهش فعالیت و رشد باکتری‌های مضر شوند. نتایج مطالعات متعدد حاکی است که پروبیوتیک‌ها موجب بهبود عملکرد و سلامت و کاهش نیاز نگهداری پرنده می‌شوند (Habibi et al., 2013; Hassan et al., 2018). اگرچه نتایج برخی مطالعات دیگر اشاره به عدم اثرات معنی‌دار پروبیوتیک‌ها روی بهبود عملکرد رشد دارد (Olnood et al., 2015). از جمله دلایل تفاوت یافته‌ها می‌توان به تفاوت در نوع پروبیوتیک، مقدار تجویز شده (دوز مصرف)، تعداد و نوع سویه، شرایط مدیریت و محیط (استرس و تنش‌ها)، سن و جنس جوجه و نیز ترکیب جیره (خصوصاً میزان پروتئین آن) اشاره نمود (Chen et al., 2017; Chen et al., 2022). همچنین هرچه باکتری‌ها زمان بیشتری برای استقرار در لوله گوارشی داشته باشند، در رقابت با ریزسازواره‌های نامطلوب، موفق‌تر عمل می‌کنند (Kannan

سرم‌های جدا شده با دور (rpm) ۱۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و عیار پادتن ایموگلوبین M، ایموگلوبین G و ایموگلوبولین کل، به‌روش هم‌گلوتیناسیون (HA) اندازه‌گیری شدند (Oie, 2008). همچنین در روز ۲۸ و ۴۰ پرورش، به‌طور تصادفی از دو پرنده در هر تکرار خون‌گیری به‌عمل آمد و عیار پادتن علیه نیوکاسل به‌وسیله آزمایش ممانعت از هم‌گلوتیناسیون (HI) تعیین گردید (Ghaniei and Mohammadzadeh, 2012). در روز ۴۲ پرورش به‌طور تصادفی از دو پرنده در هر تکرار، به‌منظور ارزیابی خصوصیات بیوشیمیایی خون بعد از هشت ساعت گرسنگی از ورید بال خون‌گیری به‌عمل آمد. جهت جداسازی سرم، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه قرار گرفته و فراسنجه‌های خونی شامل گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (HDL)، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم (LDL) و لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار کم (VLDL) با روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از بسته‌های تشخیصی تهیه شده از شرکت پارس‌آزمون اندازه‌گیری شدند (Nazifi, 1997).

در روز ۴۲ پرورش، دو جوجه از هر تکرار با قطع رگ گردن کشتار، و وزن اندام‌های داخلی و اجزای لاشه مانند قلب، کبد، سنگدان، پیش‌معدة، طحال، پانکراس، قلب، بورس، تیموس، لاشه، ران، سینه، بال، چربی و نسبت سینه به ران تعیین، و به صورت درصدی از وزن بدن ثبت شدند. افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی برای دوره‌های آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی)، پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) و کل دوره پرورش (۴۲-۱ روزگی) ثبت و بر اساس میزان تلفات هر گروه تصحیح شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ (۲۰۱۲) از رویه GLM و بر اساس طرح کاملاً تصادفی آنالیز، و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام شد. مدل آماری در این تحقیق به‌صورت زیر است:

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

که در این معادله، Y_{ij} : مشاهدات، μ : میانگین مشاهدات، T_j : اثر تیمار و ε_{ij} : اثر خطای تصادفی مربوط به هر مشاهده است.

نتایج و بحث

اثرات مربوط به دو جدایه لاکتوبا سیلوس بومی جدا سازی شده از دستگاه گوارش طیور بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد، پروبیوتیک تجاری لاکتوفید و شاهد بر افزایش وزن روزانه، میزان مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ آورده شده است. مشاهده شد که طی دوره‌های پرورش، تفاوتی بین تیمارهای آزمایشی از نظر میزان مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب

محرك رشد در مقایسه با شاهد کاهش یافت. در میانگین وزن نسبی سایر اندام‌ها، مانند بسیاری از مطالعات انجام شده تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای پروبیوتیکی و سایر تیمارها مشاهده نگردید (Hossain *et al.*, 2015; Shokryazdan *et al.*, 2017). منطبق با نتایج این گزارش، نتایج آواد و همکاران (Awad *et al.*, 2006)، نشان داد که گنجاندن پروبیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی تأثیری بر روده کور، کبد، طحال، تیموس و بورس نداشت.

مصرف پروبیوتیک‌ها سبب افزایش ارتفاع پرزها و خمل‌ها و عمق کریپت شده که ضمن بهبود جذب مواد مغذی (Nii *et al.*, 2020)، در جیره‌های کم پروتئین (خصوصاً از نظر سیستمین و لایزین) نیز کارآمدتر عمل می‌کند (Patterson and Burkholder, 2003). در مطالعه حاضر، وزن نسبی اندام‌های داخلی به‌صورت درصدی از وزن بدن محاسبه و در جدول ۳ گزارش شده است. در شرایط این پژوهش، مشابه با نتایج مطالعه آواد و همکاران (Awad *et al.*, 2009)، وزن پیش‌معه به‌صورت معنی‌داری در گروه پروبیوتیک تجاری، جدایه‌های لاکتوباسیلوس بومی و آنتی‌بیوتیک

جدول ۲- اثرات مصرف باکتری‌های اسید لاکتیکی بومی، آنتی‌بیوتیک محرك رشد و پروبیوتیک تجاری بر صفات تولیدی جوجه‌های گوشتی (گرم/پرنده/روز)

Table 2- Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on production traits in broilers (gram/bird/day)

صفات تولیدی Production traits		جیره‌های آزمایشی Experimental diets					P-value	SEM
		شاهد Cont ¹	آنتی‌بیوتیک Anti ¹	پروبیوتیک Plac ¹	سالیواربوس Pls ¹	روتتری Plr ¹		
دوره آغازین (۱-۱۰ روزگی) Starter (1-10 days)	افزایش وزن (گرم/پرنده/روز) Weight gain (g/bird/day)	17.60	16.86	18.03	18.36	17.23	0.88	1.13
	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/bird/day)	23.22	23.14	23.47	24.14	23.53	0.94	0.92
	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	1.33	1.38	1.30	1.31	1.37	0.53	0.03
دوره رشد (۱۱-۲۴ روزگی) Grower (11-24 days)	افزایش وزن (گرم/پرنده/روز) Weight gain (g/bird/day)	57.20	58.33	59.32	64.48	56.96	0.51	3.27
	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/bird/day)	75.72	81.00	81.01	86.64	79.28	0.15	2.66
	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	1.34	1.39	1.37	1.34	1.39	0.73	0.03
دوره پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) Finisher (25-42 days)	افزایش وزن (گرم/پرنده/روز) Weight gain (g/bird/day)	95.76	106.14	105.55	103.19	106.76	0.19	3.05
	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/bird/day)	200.36	193.91	192.56	195.50	205.98	0.43	5.46
	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	2.04	1.83	1.82	1.89	1.93	0.08	0.05
کل دوره پرورش (۴۲ روز) Whole period (42 days)	افزایش وزن (گرم/پرنده/روز) Weight gain (g/bird/day)	61.26	66.51	66.51	67.62	64.38	0.39	2.20
	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/bird/day)	112.70	110.96	109.75	113.75	110.80	0.89	3.14
	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	1.78	1.67	1.65	1.68	1.72	0.08	0.03

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

Cont¹: گروه شاهد یا کنترل مصرف‌کننده فقط جیره پایه؛ Anti: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با ۱۰۰ گرم در تن آنتی‌بیوتیک اویلامایسین؛ Plac: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با پروبیوتیک تجاری لاکتوفید مطابق توصیه تولیدکننده؛ Pls₁: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس سالیواربوس NABRII59 (MH595987)؛ Plr₁: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتتری ABRI25 (MF686485)

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

¹ Cont: Control group which consumes basic diets only; Anti: Consumer group of basic diet containing 100 grams per ton of avilamycin antibiotic; Plac: Consumer group of basic diet containing commercial probiotic (Lacto-feed) according to the manufacturer's consumption recommendations; Pls₁: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus salivarius* bacterial powder NABRII59 (MH595987); Plr₁: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus reuteri* bacterial powder ABRI25 (MF686485)

جدول ۳- اثرات مصرف باکتری‌های اسید لاکتیکی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر درصد وزن نسبی اندام‌های داخلی (گرم وزن اندام بر وزن زنده $\times 100$) و اجزای لاشه (گرم وزن اجزای لاشه بر وزن لاشه $\times 100$) در جوجه‌های گوشتی

Table 3- Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on the percentage of relative weight of internal organs (organ weight/live weight $\times 100$) and carcass components (carcass component weight/carcass weight $\times 100$) in broilers

اجزای لاشه Carcass components	جیره‌های آزمایشی Experimental diets					P-value	SEM
	شاهد Cont ¹	آنتی‌بیوتیک Anti ¹	پروبیوتیک Plac ¹	سالیواریوس Pls ₁ ¹	روتری Plr ₁ ¹		
کبد Liver	2.39	2.40	2.56	2.21	2.32	0.32	0.11
سنگدان Gizzard	1.48	1.45	1.42	1.36	1.45	0.67	0.058
پیش‌معه Proventriculus	0.40 ^a	0.32 ^b	0.32 ^b	0.34 ^b	0.33 ^b	0.030	0.018
طحال Spleen	0.11	0.10	0.12	0.13	0.11	0.13	0.008
پانکراس Pancreas	0.24	0.22	0.23	0.23	0.22	0.71	0.01
قلب Heart	0.49	0.42	0.45	0.44	0.46	0.13	0.019
بورس Bursa	0.059	0.050	0.060	0.060	0.070	0.046	0.005
تیموس Thymus	0.38	0.33	0.27	0.34	0.41	0.07	0.032
لاشه Carcass	62.35	63.23	63.76	64.46	64.45	0.32	0.80
ران Thigh	30.37	29.85	30.40	30.31	30.45	0.71	0.41
سینه Breast	38.37	38.82	38.10	39.06	39.42	0.53	0.65
بال Wing	8.37	8.16	8.22	8.57	8.35	0.88	0.15
چربی Fat	1.26	1.46	1.31	1.34	1.56	0.61	0.15
سینه به ران Breast:thigh	1.26	1.30	1.25	1.28	1.29	0.98	0.046

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

¹ Cont: گروه شاهد یا کنترل مصرف‌کننده فقط جیره پایه؛ Anti: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با ۱۰۰ گرم در تن آنتی‌بیوتیک آویلامایسین؛ Plac: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با پروبیوتیک تجاری لاکتوفید مطابق توصیه تولیدکننده؛ Pls₁: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس سالیواریوس (NABRII59 (MH595987)؛ Plr₁: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتری (NABRII59 (MH595987)؛ ABRIG25 (MF686485).

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

¹ Cont: Control group which consumes basic diets only; Anti: Consumer group of basic diet containing 100 grams per ton of avilamycin antibiotic; Plac: Consumer group of basic diet containing commercial probiotic (Lacto-feed) according to the manufacturer's consumption recommendations; Pls₁: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus salivarius* bacterial powder NABRII59 (MH595987); Plr₁: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus reuteri* bacterial powder ABRIG25 (MF686485).

است. در این مطالعه، پروبیوتیک تجاری و جدایه‌های لاکتوباسیلوسی بومی به‌صورت معنی‌داری منجر به بهبود ایمونوگلوبولین کل و ایمونوگلوبولین G پس از اولین و دومین تزریق شدند. جدایه

داده‌های مربوط به اثرات تیمارهای آزمایشی بر عیار پادتن کل، ایمونوگلوبولین M و ایمونوگلوبولین G علیه SRBC پس از دو مرحله تزریق گلبول‌های قرمز گوسفند (SRBC) در جدول ۴ نشان داده شده

عوامل بیماری‌زا ممانعت کرده و سامانه ایمنی را تحریک می‌کنند (Rowghani et al., 2007). به علاوه، پروبیوتیک‌ها قادر به آزاد کردن ویتامین‌های گروه B هستند که پاسخ ایمنی را تحریک کرده و با تولید آنزیم‌های هضمی، تولید اسیدهای چرب فرار را افزایش می‌دهند (Lehman, 2014). نتایج مطالعات محققین نشان داد که جیره‌های حاوی پروبیوتیک‌ها، از طریق تعادل جمعیت باکتری‌هایی که پاسخ ایمنی اکتسابی به وسیله لنفوسیت‌های T و B را القا می‌کنند، پاسخ ایمنی را ارتقا می‌دهند. ریز سازواره‌های مفید تکثیر یافته در اثر مصرف پروبیوتیک‌ها، باعث حذف رقابتی و تخریب ریزسازواره‌های مهاجم شده و یا از طریق جذب پادگن‌های آزاد شده از باکتری‌های غیر زنده بیماری‌زا، موجب تحریک سامانه ایمنی می‌شوند (Abd El-Hack et al., 2020). در عین حال، با افزایش تعداد لنفوسیت‌ها در یاخته‌های دیواره روده و تحریک تولید پادتن (ایمونوگلوبولین T و B)، افزایش فعالیت بیگانه‌خواری گلبول سفید، تولید ترکیبات ضد باکتریایی و افزایش ترشح گاما اینترفرون‌ها، موجب تحریک سامانه ایمنی می‌شوند (Kumar et al., 2018). بررسی اثر پروبیوتیک‌ها بر تحریک سامانه ایمنی انسان و حیوان می‌باشد (Dalloul et al., 2005).

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی در جدول شماره ۶ ارائه شده است. براساس نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر، بین تیمارهای آزمایشی با گروه شاهد از نظر غلظت گلوکز و کلسترول سرم، اختلاف معنی‌داری به دست نیامد. در نتایج به دست آمده مربوط به مقدار تری‌گلیسیرید و لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار کم (VLDL) در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نبوده، اما کم‌ترین مقدار تری‌گلیسیرید و VLDL در تیمارهای جدایه لاکتوباسیلوس سالواریوس (Pls₁) و پروبیوتیک تجاری لاکتوفید ثبت گردید. در داده‌های به دست آمده از لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (HDL) در تیمارهای جدایه لاکتوباسیلوس سالواریوس (Pls₁)، جدایه لاکتوباسیلوس روتری (Plr₁) و پروبیوتیک تجاری لاکتوفید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. غلظت HDL در تیمار آنتی‌بیوتیک آویلامایسین نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت و بیش‌ترین مقدار HDL در تیمار جدایه لاکتوباسیلوس سالواریوس (Pls₁) مشاهده شد. غلظت لیپوپروتئین‌های با چگالی کم (LDL) سرم خون در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

لاکتوباسیلوس سالواریوس (Pls₁) استفاده شده در این مطالعه به صورت معنی‌داری منجر به بهبود ایمونوگلوبولین M پس از دومین تزریق گردید. مشابه با نتایج مطالعه حاضر، اساتو و همکاران (Wondmeneh et al., 2012) گزارش کردند که ریزسازواره‌های مؤثر پروبیوتیکی منجر به افزایش پاسخ پادتن نسبت به تزریق SRBC می‌شوند. نتایج مطالعات نشان داده‌اند که بسیاری از پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوسی منجر به ظهور اثرات مفیدی بر روی شاخصه‌های سامانه ایمنی پرنده می‌شوند (Kabir et al., 2004). با توجه به افزایش اختصاصی عیار پادتن علیه SRBC می‌توان احتمال داد که تولید اختصاصی پادتن افزایش یافته که می‌تواند بیانگر بهبود وضعیت عمومی ایمنی باشد. جمعیت میکروبی روده با فراهم‌سازی سد طبیعی در برابر باکتری‌های مضر، از رشد عوامل نامطلوب ممانعت نموده و با تولید باکتریوسین‌ها یا سایر مواد ضد میکروبی، باعث ارتقاء عملکرد سامانه ایمنی می‌شوند (Elbaz and El-sheikh, 2020). به علاوه، باکتری‌های روده‌ای برای توسعه بافت لنفاوی دستگاه گوارش ضروری بوده و جهت فعالیت‌های ایمنی مخاط روده و توسعه پادتن‌های طبیعی اهمیت دارند (Rhee et al., 2005). پاسخ ثانویه پادتن علیه SRBC تزریق شده با قدرت بیشتری همراه است، زیرا با افزایش سن جوجه‌ها، سامانه ایمنی آن‌ها تکامل بیشتری می‌یابد و یاخته‌های خاطره تولید شده در پاسخ ایمنی، موجب تشدید تولید پادتن در پاسخ ثانویه می‌شوند. بهبود ایمنی تحت تأثیر پروبیوتیک‌ها از طریق افزایش پادتن‌های عمومی و اینترفرون‌ها، پادتن‌های موضعی در سطوح مخاطی بافت دیواره روده و نیز افزایش فعالیت بیگانه‌خواری ایجاد می‌شود (Lutful Kabir, 2009). تفاوت تغییرات پادتن علیه گلبول قرمز گوسفندی در آزمایش‌های مختلف ممکن است تحت تأثیر روش و محل تزریق پادگن، جنس حیوان، شرایط تغذیه‌ای، حرارت محیط، سن و ظرفیت ژنتیکی جوجه‌ها و همچنین مقدار تجویز شده (دوز مصرف) پروبیوتیک‌ها و نوع و تعداد سویه‌های باکتریایی آن‌ها باشد (Tayeri et al., 2018).

نتایج حاصل از اثرات تیمارهای آزمایشی بر عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل در روزهای ۲۸ و ۴۰ دوره پرورش در جدول ۵ نشان داده شده است. مقایسه داده‌های مربوط به میانگین عیار پادتن در این جدول حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد بود. گزارش شده است که بهبود پاسخ ایمنی در گروه‌های آزمایشی حاوی پروبیوتیک علیه نیوکاسل می‌تواند به دلایل مختلف از جمله وجود ترکیباتی نظیر باکتریوسین‌ها باشد. پروبیوتیک‌ها از طریق تولید ترکیبات ضد باکتریایی مانند باکتریوسین‌ها و دفنسین‌ها، از عمل

جدول ۴- اثرات مصرف باکتری‌های اسید لاکتیکی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر ایموگلوبولین‌های سرم جوجه‌های گوشتی پس از دو مرحله تزریق SRBC (گلبول قرمز خون گوسفند)

Table 4- Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on broiler serum immunoglobulins after two stages of SRBC injection (sheep red blood cells)

ایمونوگلوبولین Immunoglobulin	جیره‌های آزمایشی Experimental diets					P-value	SEM
	شاهد Cont ¹	آنتی‌بیوتیک Anti ¹	پروبیوتیک Plac ¹	سالیواریوس Pls ¹	روتتری Plr ¹		
ایمونوگلوبولین M (IU/ml) IgM (IU/ml)	1.25 ^a	2.12 ^a	1.87 ^{ab}	0.002 ^{ab}	1.62 ^{ab}	0.19	0.27
ایمونوگلوبولین G (IU/ml) IgG (IU/ml)	4.25 ^b	4.12 ^b	6.12 ^a	6.87 ^a	6.12 ^a	0.0001	0.35
کل (IU/ml) Total (IU/ml)	5.50 ^b	6.25 ^b	8.00 ^a	8.87 ^a	7.75 ^a	0.0001	0.38
ایمونوگلوبولین M (IU/ml) IgM (IU/ml)	1.75 ^b	2.25 ^b	2.00 ^b	3.12 ^a	2.00 ^b	0.008	0.26
ایمونوگلوبولین G (IU/ml) IgG (IU/ml)	4.87 ^b	4.75 ^b	6.25 ^a	6.00 ^a	6.37 ^a	0.002	0.34
کل (IU/ml) Total (IU/ml)	6.62 ^b	7.00 ^b	8.25 ^a	9.12 ^a	8.37 ^a	0.0001	0.35

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

¹ Cont: گروه شاهد یا کنترل مصرف‌کننده فقط جیره پایه؛ Anti: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با ۱۰۰ گرم در تن آنتی‌بیوتیک آویلامایسین؛ Plac: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با پروبیوتیک تجاری لاکتوفید مطابق توصیه تولیدکننده؛ Pls¹: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس سالیواریوس NABRII59 (MH595987)؛ Plr¹: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتتری ABRIG25 (MF686485)

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

¹ Cont: Control group which consumes basic diets only; Anti: Consumer group of basic diet containing 100 grams per ton of avilamycin antibiotic; Plac: Consumer group of basic diet containing commercial probiotic (Lacto-feed) according to the manufacturer's consumption recommendations; Pls¹: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus salivarius* bacterial powder NABRII59 (MH595987); Plr¹: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus reuteri* bacterial powder ABRIG25 (MF686485)

جدول ۵- اثرات مصرف باکتری‌های اسید لاکتیکی بومی، آنتی‌بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر عیار پادتن علیه بیماری نیوکاسل در روز ۲۲ و ۳۵

Table 5- Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on antibody titer against Newcastle disease at day 22 and 35

عیار پادتن (پادتن در میلی‌لیتر خون) Antibody titer (antibody/ml blood)	جیره‌های آزمایشی Experimental diets					P-value	SEM
	شاهد Cont ¹	آنتی‌بیوتیک Anti ¹	پروبیوتیک Plac ¹	سالیواریوس Pls ¹	روتتری Plr ¹		
عیار پادتن نیوکاسل در روز ۲۲ ND1 (at day 22)	4.25	4.25	4.50	5.00	4.00	0.45	0.39
عیار پادتن نیوکاسل در روز ۳۵ ND2 (at day 35)	4.12	4.12	4.75	5.12	4.50	0.61	0.52

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

¹ Cont: گروه شاهد یا کنترل مصرف‌کننده فقط جیره پایه؛ Anti: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با ۱۰۰ گرم در تن آنتی‌بیوتیک آویلامایسین؛ Plac: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با پروبیوتیک تجاری لاکتوفید مطابق توصیه تولیدکننده؛ Pls¹: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس سالیواریوس NABRII59 (MH595987)؛ Plr¹: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتتری ABRIG25 (MF686485)

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

¹ Cont: Control group which consumes basic diets only; Anti: Consumer group of basic diet containing 100 grams per ton of avilamycin antibiotic; Plac: Consumer group of basic diet containing commercial probiotic (Lacto-feed) according to the manufacturer's consumption recommendations; Pls¹: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus salivarius* bacterial powder NABRII59 (MH595987); Plr¹: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus reuteri* bacterial powder ABRIG25 (MF686485)

2010) و تبدیل کلسترول به کوپروستاتول اشاره نمود. تومارو دوچسنیو و همکاران (Tomaro-Duchesneau et al., 2014)، گزارش کردند که یکی از سویه های لاکتوباسیلوس روتری دارای توانایی کاهش کلسترول می باشد. گزارشات تحقیق طاهرپور و همکاران (Taherpour et al., 2009)، بیانگر آن است که افزودن پروبیوتیک در جیره جوجه های گوشتی، غلظت کلسترول و لیپوپروتئین های با چگالی کم (LDL) سرم را کاهش داد. در این گزارش غلظت تری گلیسریدها، لیپوپروتئین های با چگالی بسیار کم (VLDL) و هم چنین لیپوپروتئین های با چگالی بالا (HDL) تغییر معنی داری نشان نداد. یالسنکایا و همکاران (Yalcinkaya et al., 2008) نیز گزارش نمودند که افزودن مکمل پروبیوتیک زیست توده در جیره طیور موجب کاهش کلسترول و تری گلیسرید سرم خون گردید.

کلسترول یکی از مولکول های زیستی از دسته چربی ها است که نقش مهمی در بیماری های قلبی و عروقی دارد. کلسترول باعث ضخیم شدن شریان ها و کاهش انعطاف پذیری و سخت تر شدن عروق و نیز کاهش سرعت و یا گاهی انسداد جریان خون به قلب و سایر اندام ها می شود. سازوکارهای تأثیرگذار بر روی عارضه کلسترول بالا شامل میزان غلظت تجویز شده تأثیرگذار، بسامد اثربخشی، طول مدت درمان و قدرت اثربخشی می باشند، ولی به طور کلی، سازوکارهای مختلفی برای آن پیشنهاد شده که از جمله می توان به اثر پروبیوتیک ها بر مهار فعالیت آنزیمی هیدروکسی متیل گلو تاریل کوآنزیم A (HMG-CoA)، غیرمزدوج کردن نمک های صفراوی و افزایش دفع آن ها، کاهش ساخت و جذب کلسترول به واسطه عمل پروبیوتیک های لاکتوباسیلی (Pereira and Gibson, 2002)، متصل شدن کلسترول به دیواره سلولی پروبیوتیک ها (Liong and Shah, 2006)، ادغام شدن کلسترول درون غشای سلولی پروبیوتیک ها (Lye et al.,

جدول ۶- اثرات مصرف باکتری های اسید لاکتیکی بومی، آنتی بیوتیک محرک رشد و پروبیوتیک تجاری بر فراسنجه های خونی جوجه گوشتی

Table 6- Consumption effects of native lactic acid bacteria, growth-promoter antibiotics and commercial probiotics on blood parameters in broiler

فراسنجه های خونی (میلی گرم/دسی لیتر) Blood parameters	جیره های آزمایشی Experimental diets					P-value	SEM
	شاهد Cont ¹	آنتی بیوتیک Anti ¹	پروبیوتیک Plac ¹	سالیواربوس Pls ¹	روتتری Plr ¹		
گلوکز Glucose (mg/dl)	126.06	144.2	146.6	107.0	129.5	0.19	12.67
کلسترول Cholesterol (mg/dl)	157.86	133.30	141.88	145.64	144.94	0.30	8.07
تری گلیسرید Triglyceride (mg/dl)	58.43	58.77	57.85	57.29	60.74	0.81	2.12
لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم VLDL (mg/dl)	11.68	11.75	11.57	11.45	12.15	0.81	0.42
لیپوپروتئین با چگالی زیاد HDL (mg/dl)	72.84 ^a	52.87 ^b	59.07 ^{ab}	69.52 ^a	57.93 ^{ab}	0.058	5.12
لیپوپروتئین با چگالی کم LDL (mg/dl)	73.21	68.67	71.23	62.50	72.65	0.94	9.17

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

¹ Cont: گروه شاهد یا کنترل مصرف کننده فقط جیره پایه؛ Anti: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با ۱۰۰ گرم در تن آنتی بیوتیک اویلامایسین؛ Plac: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با پروبیوتیک تجاری لاکتوفید مطابق توصیه تولید کننده؛ Pls¹: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس سالیواربوس (NABRII59 (MH595987)؛ Plr¹: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با یک گرم در کیلوگرم از پودر باکتری لاکتوباسیلوس روتری (ABRIG25 (MF686485)

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

¹ Cont: Control group which consumes basic diets only; Anti: Consumer group of basic diet containing 100 grams per ton of avilamycin antibiotic; Plac: Consumer group of basic diet containing commercial probiotic (Lacto-feed) according to the manufacturer's consumption recommendations; Pls¹: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus salivarius* bacterial powder NABRII59 (MH595987); Plr¹: Consumer group of basic diet containing 1 g/kg *Lactobacillus reuteri* bacterial powder ABRIG25 (MF686485)

نتیجه‌گیری کلی

بر مبنای نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، غنی‌سازی جیره جوجه‌های گوشتی با جدایه‌های پروبیوتیک اسید لاکتیکی بومی منجر به بروز اثرات مفید و مطلوب و مشابه با پروبیوتیک تجاری (لاکتوفید) و آنتی‌بیوتیک محرک رشد (آویلامایسین) بر عملکرد، فرا سنجه‌های بیوشیمیایی خون و بهبود شاخص‌های پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی از طریق افزایش سطح ایموگلوبولین‌های سرم می‌گردد و بنابراین، جدایه‌های لاکتوباسیلوسی بومی مورد مطالعه در این تحقیق، نمایندگان مناسبی جهت کاربرد در ترکیب مکمل‌های پروبیوتیکی مورد استفاده در تغذیه طیور هستند. همچنین تفاوت‌های مشاهده شده در نتایج دیگر مطالعات مختلف در این زمینه، می‌تواند به‌دلیل تفاوت

در سویه باکتری، غلظت، روش مصرف باکتری، مدت زمان مصرف و شرایط مدیریت و نگهداری جوجه‌ها (مثل سن، جنس و تنش‌های محیطی و غیره) باشد.

سپاسگزاری

از مدیران و کارشناسان پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، منطقه شمال کشور (گیلان-رشت)، و آقای مهندس محمدی مدیر عامل محترم شرکت رامسر طیور بابت تمامی زحمات و حمایت‌های مالی، تامین اقلام مورد نیاز پژوهشی و فنی این پژوهش صمیمانه قدردانی و تشکر می‌نماییم.

References

1. Abd El- Hack, M. E., El- Saadony, M. T., Shafi, M. E., Qattan, S. Y., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., and Alagawany, M. (2020). Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(6), 1835-1850. <https://doi.org/10.1111/jpn.13454>.
2. Abd-El-Rahman, A. H., Kamel, H. H., Ahmed, W. M., Mogoda, O. S., and Mohamed, A. H. (2012). Effect of Bactocell and revitilyte-plus as probiotic food supplements on the growth performance, hematological, biochemical parameters and humoral immune response of Broiler Chickens. *World Applied Sciences Journal*, 18(3), 305-316. doi: 10.5829/idosi.wasj.2012.18.03.63247.
3. Ahmed, E., Abdelrahman, M., and Gahreeb, K. (2019). Effect of probiotic on growth performance, carcass traits, and clinical health parameters of broilers reared under heat stress in upper Egypt. *SVU-International Journal of Veterinary Sciences*, 2(2), 27-44. <https://doi.org/10.21608/svu.2019.11221.1012>.
4. Ashayerizadeh, A., Dabiri, N., Mirzadeh, K. H., and Ghorbani, M. R. (2011). Effects of dietary inclusion of several biological feed additives on growth response of broiler chickens. *Journal of Cell and Animal Biology*, 5, 61-6.
5. Awad, W. A., Böhm, J., Razzazi-Fazeli, E., Ghareeb, K., and Zentek, J. (2006). Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens. *Poultry Science*, 85(6), 974-979. <https://doi.org/10.1093/ps/85.6.974>.
6. Awad, W. A., Ghareeb, K., Abdel-Raheem, S., and Böhm, J. (2009). Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poultry Science*, 88(1), 49-56. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00244>.
7. Chen, F., Zhu, L., and Qiu, H. (2017). Isolation and probiotic potential of *Lactobacillus salivarius* and *Pediococcus pentosaceus* in specific pathogen free chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19, 325-332. doi:10.1590/1806-9061-2016-0413.
8. Chen, X., Ishfaq, M., and Wang, J. (2022). Effects of *Lactobacillus salivarius* supplementation on the growth performance, liver function, meat quality, immune responses and *Salmonella Pullorum* infection resistance of broilers challenged with Aflatoxin B1. *Poultry Science*, 101(3), 101651. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101651>.
9. Dalloul, R. A., Lillehoj, H. S., Tamim, N. M., Shellem, T. A., and Doerr, J. A. (2005). Induction of local protective immunity to *Eimeria acervulina* by a *Lactobacillus*-based probiotic. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 28(5-6), 351-361. doi: 10.1016/j.cimid.2005.09.001.
10. FDA. 2010. Generally recognized as safe (GRAS) notifications. Available at <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/Products/AnimalFoodFeeds/GenerallyRecognizedasSafeGRASNotification/default.htm>. First accessed on 22 April 2016.
11. Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *The Journal of Applied Bacteriology*, 66(5), 365-378. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb05105.x>.
12. Fuller, R. (2001). The chicken gut microflora and probiotic supplements. *The Journal of Poultry Science*, 38(3), 189-196. <https://doi.org/10.2141/jpsa.38.189>.
13. Ghaniei, A., and Mohammadzadeh, N. (2012). Detection of Newcastle disease virus antibodies in serum of broiler chickens of Iran. *Journal of Animal and Poultry Sciences*, 1(1), 24-28.
14. Habibi, S., Khojasteh, S., and Jafari, M. (2013). The effect of Bactocell and Protexin probiotics on performance and carcass characteristics of broiler chickens. *Journal of Novel Applied Sciences*, 2(11), 565-570.
15. Hassan, H. M., Samy, A., Youssef, A. W., and Mohamed, M. A. (2018). Research Article Using Different Feed

- Additives as Alternative to Antibiotic Growth promoter to improve growth performance and carcass traits of broilers. *International Journal of Poultry Science*, 17, 255-261. <https://doi.org/10.3923/ijps.2018.255.261> .
16. Hossain, M. M., Begum, M., and Kim, I. H. (2015). Effect of *Bacillus subtilis*, *Clostridium butyricum* and *Lactobacillus acidophilus* endospores on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, relative organ weight, microbial shedding and excreta noxious gas emission in broilers. *Veterinarni Medicina*, 60(2), 77-86. <https://doi.org/10.17221/7981-VETMED>.
17. Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N., and Jalaludin, S. (1998). Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. *Poultry Science*, 77(9), 1259-1265. <https://doi.org/10.1093/ps/77.9.1259>.
18. Kabir, S. L., Rahman, M. M., Rahman, M. B., Rahman, M. M., and Ahmed, S. U. (2004). The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. *International Journal of Poultry Science*, 3(5), 361-364.
19. Kalavathy, R., Abdullah, N., Jalaludin, S., and Ho, Y. W. (2003). Effects of *Lactobacillus* cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. *British Poultry Science*, 44(1), 139-144. <https://doi.org/10.1080/0007166031000085445> .
20. Kamboh, A. A. (Ed.). (2018). Synergetic effects of multispecies probiotic supplementation on certain blood parameters and serum biochemical profile of broiler chickens. *Journal of Animal Health and Production*, 6(1), 27-34. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.jahp/2018/6.1.27.34> .
21. Kannan, D., Viswanathan, K., and Mohan, B. (2007). The effect of feeding virginiamycin and *Lactobacillus sporogenes* on broiler production performance characters. *Journal of Veterinary & Animal Science*, 3(2), 1-106.
22. Karimi Torshizi, M. A., Moghaddam, A. R., Rahimi, S. H., and Mojangani, N. (2010). Assessing the effect of administering probiotics in water or as a feed supplement on broiler performance and immune response. *British poultry science*, 51(2), 178-184. <https://doi.org/10.1080/00071661003753756> .
23. Kizerwetter-Swida, M., and Binek, M. (2009). Protective effect of potentially probiotic *Lactobacillus* strain on infection with pathogenic bacteria in chickens. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 12, 15-20.
24. Kumar, M. V., Patil, V. M., Kiran, M., and Tendulkar, S. M. (2018). Effect of Dietary Supplementation of Probiotics (Addon Poultry Max) on Biochemical and Immune Parameters in Commercial Broiler Chicken. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(10), 1537-1542. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.710.171> .
25. Lehman, D. C. (2014). Biochemical identification of gram-negative bacteria. *Textbook of Diagnostic Microbiology-E-Book*, 182.
26. Li, Y. B., Xu, Q. Q., Yang, C. J., Yang, X., Lv, L., Yin, C. H., and Yan, H. (2014). Effects of probiotics on the growth performance and intestinal micro flora of broiler chickens. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27.
27. Lillehoj, H., Liu, Y., Calsamiglia, S., Fernandez-Miyakawa, M. E., Chi, F., Cravens, R. L., and Gay, C. G. (2018). Phytochemicals as antibiotic alternatives to promote growth and enhance host health. *Veterinary Research*, 49(1), 1-18. <https://doi.org/10.1186/s13567-019-0706-3> .
28. Liong, M. T., and Shah, N. P. (2006). Effects of a *Lactobacillus casei* synbiotic on serum lipoprotein, intestinal microflora, and organic acids in rats. *Journal of Dairy Science*, 89(5), 1390-1399. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72207-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72207-X) .
29. Lutful Kabir, S. M. (2009). The role of probiotics in the poultry industry. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(8), 3531-3546. <https://doi.org/10.3390/ijms10083531> .
30. Lye, H. S., Rusul, G., and Liong, M. T. (2010). Removal of cholesterol by *Lactobacilli* via incorporation and conversion to coprostanol. *Journal of dairy science*, 93(4), 1383-1392. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2574> .
31. Elbaz, A., and El-sheikh, S. (2020). Effect of dietary probiotic, antibiotic or combination on broiler performance, cecum microbial population and ileal development. *Mansoura Veterinary Medical Journal*, 21(3), 74-79. <https://doi.org/10.21608/mvmj.2020.21.313> .
32. Mountzouris, K., Tsirtsikos, P., Kalamara, E., and Fegeros, K. (2006). Evaluation of the effect of a new probiotic product on broiler performance and cecal microflora composition and metabolic activities. Proc International Poultry Science Forum. Atlanta, Georgia.
33. Mountzouris, K. C., Tsirtsikos, P., Palamidi, I., Arvaniti, A., Mohnl, M., Schatzmayr, G., and Fegeros, K. (2010). Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. *Poultry Science*, 89(1), 58-67. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00308> .
34. Mu, Q., Tavella, V. J., and Luo, X. M. (2018). Role of *Lactobacillus reuteri* in human health and diseases. *Frontiers in Microbiology*, 9, 757. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00757> .
35. Nakphaichit, M., Thanomwongwattana, S., Phraephaisarn, C., Sakamoto, N., Keawsompong, S., Nakayama, J., and Nitisinprasert, S. (2011). The effect of including *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5 during post-hatch feeding on the growth and ileum microbiota of broiler chickens. *Poultry Science*, 90(12), 2753-2765.

- <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01637> .
36. Nazifi, S. (1997). Hematology and clinical biochemistry of birds. *Shiraz University Publication, Shiraz, Iran*.
 37. Ohimain, E. I., and Ofongo, R. T. (2012). The effect of probiotic and prebiotic feed supplementation on chicken health and gut microflora: a review. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4(2), 135-143.
 38. Nii, T., Jirapat, J., Isobe, N., and Yoshimura, Y. (2020). Effects of oral administration of *Lactobacillus reuteri* on mucosal barrier function in the digestive tract of broiler chicks. *The Journal of Poultry Science*, 57(1), 67-76. <https://doi.org/10.2141/jpsa.0190035> .
 39. OIE, M. 2008. Chapter 2. 3. 14. Newcastle disease, in: OIE terrestrial manual: manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animal. World Organisation for Animal Health. Paris. France, pp. 598.
 40. Olmood, C. G., Beski, S. S., Choct, M., and Iji, P. A. (2015). Novel probiotics: Their effects on growth performance, gut development, microbial community and activity of broiler chickens. *Animal Nutrition*, 1(3), 184-191. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.07.003> .
 41. Patterson, J. A., and Burkholder, K. M. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science*, 82(4), 627-631. <https://doi.org/10.1093/ps/82.4.627> .
 42. Pereira, D. I., and Gibson, G. R. (2002). Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(9), 4689-4693. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.9.4689-4693.2002> .
 43. Rhee, K. J., Jasper, P. J., Sethupathi, P., Shanmugam, M., Lanning, D., and Knight, K. L. (2005). Positive selection of the peripheral B cell repertoire in gut-associated lymphoid tissues. *The Journal of Experimental Medicine*, 201(1), 55-62. <https://doi.org/10.1084/jem.20041849> .
 44. Ritzi, M. M., Abdelrahman, W., Mohnl, M., and Dalloul, R. A. (2014). Effects of probiotics and application methods on performance and response of broiler chickens to an *Eimeria* challenge. *Poultry Science*, 93(11), 2772-2778. <https://doi.org/10.3382/ps.2014-04207> .
 45. Rowghani, E., Arab, M., and Akbarian, A. (2007). Effects of a probiotic and other feed additives on performance and immune response of broiler chicks. *International Journal of Poultry Science*, 6(4), 261-265.
 46. Shokryazdan, P., Faseleh Jahromi, M., Liang, J. B., Ramasamy, K., Sieo, C. C., and Ho, Y. W. (2017). Effects of a *Lactobacillus salivarius* mixture on performance, intestinal health and serum lipids of broiler chickens. *PloS one*, 12(5), e0175959. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175959> .
 47. Stanton, T. B. (2013). A call for antibiotic alternatives research. *Trends in Microbiology*, 21(3), 111-113. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.11.002> .
 48. Taherpour, K., Moravej, H., Shivazad, M., Adibmoradi, M., and Yakhchali, B. (2009). Effects of dietary probiotic, prebiotic and butyric acid glycerides on performance and serum composition in broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 8(10).
 49. Tayeri, V., Seidavi, A., Asadpour, L., and Phillips, C. J. (2018). A comparison of the effects of antibiotics, probiotics, synbiotics and prebiotics on the performance and carcass characteristics of broilers. *Veterinary Research communications*, 42, 195-207. <https://doi.org/10.1007/s11259-018-9724-2> .
 50. Timmerman, H. M., Veldman, A., Van den Elsen, E., Rombouts, F. M., and Beynen, A. C. (2006). Mortality and growth performance of broilers given drinking water supplemented with chicken-specific probiotics. *Poultry Science*, 85(8), 1383-1388. <https://doi.org/10.1093/ps/85.8.1383> .
 51. Tomaro-Duchesneau, C., Jones, M. L., Shah, D., Jain, P., Saha, S., and Prakash, S. (2014). Cholesterol assimilation by *Lactobacillus* probiotic bacteria: an in vitro investigation. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/380316> .
 52. Wondmeneh, E., Getachew, T., and Tadelle, D. (2012). Immunomodulatory effect of effective microorganisms (EM®) in chickens. *Research Journal of Immunology*, 5(1), 17-23.
 53. Yalcinkaya, I., Guengoer, T., Başalan, M., and Erdem, E. (2008). Mannan oligosaccharides (MOS) from *Saccharomyces cerevisiae* in broilers: Effects on performance and blood biochemistry. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 32(1), 43-48.



Evaluation of the Use of Fermented Sunflower Meal in the Diet on Growth Performance, Ileum Microbial Population and Blood Indices in Broiler Chickens

Yousef Dideban¹, Mohammad Kazemifard^{2*}, Mansour Rezaei³, Pouyan Mehraban⁴

Received: 03-05-2022

Revised: 31-10-2022

Accepted: 09-11-2022

Available Online: : 09-11-2022

How to cite this article:

Didheban, Y., Kazemifard, M., Rezaei, M., & Mehraban, P (2023). Evaluation of the use of fermented sunflower meal in the diet on growth performance, ileum microbial population and blood indices in broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 15(2), 255-269.

DOI: [10.22067/ijasr.2022.76845.1078](https://doi.org/10.22067/ijasr.2022.76845.1078)

Introduction: Sunflower meal is considered as an attractive alternative to soybean meal due to its adaptation to dry and temperate climates as well as its lower anti-nutrient content than other oilseeds. Sunflower meal has a limiter that restricts its use in broiler diets. The fiber in sunflower meal has limited its use in the diet of broilers due to reduced metabolic energy as well as production. Fermentation, which uses beneficial microorganisms, can reduce the chemical composition of the feed and increase the yield of broilers by producing enzymes and using fiber as a feed source. In this study, in order to investigate the effect of fermentation on sunflower meal, growth yield, microbial population composition, blood parameters in broiler chickens were performed.

Materials and methods: The research was conducted at the research farm of Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources in 2020. In this study, 200 commercial male Ross 308 broilers were used in a completely randomized design with five treatments, five replications, and eight chickens per replication. The treatments included: 1) Control diet, 2) Diet containing sunflower meal (negative control), 3) Diet containing sunflower meal fermented with *Aspergillus Oryzae*, 4) Diet containing sunflower meal fermented with *Penicillium Funiculosum*, and 5) Diet containing sunflower meal fermented with *Aspergillus Oryzae* and *Penicillium Funiculosum*. Sunflower meal was obtained from Behpak Behshahr (Mazandaran) company, ground in the animal nutrition laboratory of Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, and sieved to a size of 2 mm. *Aspergillus Oryzae* (PTCC5010) and *Penicillium Funiculosum* (PTCC5301) were purchased as lyophilized vials from the Fungus and Bacteria Collection Center of the Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST). During the fermentation process, 1.1 liters of the mixture of distilled water and primer culture (containing at least 10^5 colony forming units per ml) was added to each kilogram of sunflower meal, and the resulting mixture was thoroughly mixed by hand for 15 minutes. The mixture was fermented in special tanks (with a one-way valve to remove the produced gases and prevent air from entering) for 7 days at 30 °C, and finally, the fermented sunflower meal was dried for three days at room temperature. All chickens were kept under the same breeding conditions during the 39-day period and had free access to feed. Experimental diets were adjusted to three periods: initial (1-10 days), growth (11-24), and final (25-39) using Table 1 of the Ross 308 Catalog of Nutritional Requirements for Broilers. The pH of fermented sunflower meal was determined using the Chiang et al. method. Sunflower meal was sampled before and after fermentation to measure dry matter, ash, crude protein

1-Former M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Sciences University (SANRU), Sari, Iran.

2-Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Sciences University (SANRU), Sari, Iran.

3- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Sciences University (SANRU), Sari, Iran.

4- Assistant Professor, Department of Basic Science, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Sciences University (SANRU), Sari, Iran.

*Corresponding Author's Email: mo.kazemifard@gmail.com

by the Kjeldahl method, crude fat by Soxhlet device, and insoluble fibers in acidic detergent and neutral detergent using a fibrotec device. Total amino acid was measured by the ninhydrin method. Soluble sugar was measured by the intron method. Total phenol content was measured using the Folin-Siocalcu reagent and spectrophotometry. Soluble proteins were measured by the Bradford method.

Results and discussion: During the fermentation of sunflower meal, pH, crude fat, soluble protein and soluble sugar decreased. The amount of crude protein, total amino acid, insoluble fiber in acidic detergent, and insoluble fiber in neutral detergent increased. In the whole breeding period, body weight gain was improved in treatments fed with fermented feed. In the treatment of *Aspergillus Oryza* + *Penicillium funiculosum*, feed consumption decreased compared to control, negative control and *Penicillium funiculosum* treatments. The feed conversion ratio increased in the negative control treatment at the age of 1-39 days compared to other treatments. In the ileum, coliform bacteria decreased in negative control treatments, *Aspergillus Oryzae*, *Aspergillus Oryzae* + *Penicillium funiculosum* compared to the control treatment, but *Penicillium funiculosum* treatment increased compared to other treatments. At 39 days of age, the use of fermented and raw feed increased the level of HDL-c in the negative control and *Aspergillus Oryzae* + *Penicillium funiculosum* treatments. The amount of LDL-c increased in the treatments of *Aspergillus Oryzae* and *Penicillium funiculosum*

Conclusion: Based on the results, the use of fermented feed in the feeding of broiler chickens during the entire breeding period has improved weight gain and feed conversion ratio.

Keywords: *Aspergillus Oryzae*, Feed conversion ratio, Weight Gain, *Penicillium Funiculosum*, Total amino acid



ارزیابی استفاده از کنجاله آفتابگردان تخمیری در جیره بر عملکرد رشد، جمعیت میکروبی ایلئوم و شاخص‌های خونی در جوجه‌های گوشتی

یوسف دیده‌بان^۱، محمد کاظمی‌فرد^{۲*}، منصور رضایی^۳، پویان مهربان^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۹

چکیده

تأثیر کنجاله آفتابگردان تخمیری بر عملکرد، جمعیت میکروبی و شاخص‌های خونی در جوجه‌های گوشتی که با استفاده از ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و پنج تکرار (هشت قطعه در هر تکرار) به مدت ۳۹ روزه مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها شامل ۱- جیره پایه (شاهد)، ۲- جیره حاوی کنجاله آفتابگردان (شاهد منفی)، ۳- جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* / *آسپرژیلوس اوریزا*، ۴- جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری با قارچ *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم* (پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم)، ۵- جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری با قارچ‌های *آسپرژیلوس اوریزا* و *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم* / *آسپرژیلوس اوریزا* + *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم* بود. ترکیبات شیمیایی کنجاله آفتابگردان، خوراک مصرفی، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل خوراک، جمعیت میکروبی ایلئوم و شاخص‌های خونی اندازه‌گیری شد. طی تخمیر کنجاله آفتابگردان میزان pH، چربی خام، پروتئین محلول و قند محلول کاهش ($P < 0.05$) یافت. میزان پروتئین خام، اسید آمینه کل، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی افزایش ($P < 0.05$) یافت. در کل دوره‌های پرورش افزایش وزن بدن در تیمارهای تغذیه شده با خوراک تخمیری بهبود ($P < 0.05$) یافت. در تیمار *آسپرژیلوس اوریزا* + *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم* م صرف خوراک نسبت به تیمارهای شاهد، شاهد منفی و *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم* کاهش ($P < 0.05$) یافت. ضریب تبدیل خوراک در شاهد منفی در سن ۱ الی ۳۹ روزگی نسبت به سایر تیمارها افزایش ($P < 0.05$) یافت. در قسمت ایلئوم نیز باکتری کلی‌فرم در تیمارهای شاهد منفی، *آسپرژیلوس اوریزا*، *آسپرژیلوس اوریزا* + *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم* نسبت به شاهد کاهش ($P < 0.05$) داشت. ولی تیمار *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم* نسبت به سایر تیمارها افزایش ($P < 0.05$) داشت. در ۳۹ روزگی استفاده از خوراک تخمیری و خام موجب افزایش میزان HDL-C در تیمارهای شاهد منفی و *آسپرژیلوس اوریزا* + *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم* ($P < 0.05$) شد. میزان LDL-C در تیمارهای *آسپرژیلوس اوریزا* و *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم* افزایش ($P < 0.05$) یافت. براساس نتایج حاصل، استفاده از خوراک تخمیری در تغذیه جوجه‌های گوشتی در کل دوره پرورش باعث بهبود افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک شده است.

واژه‌های کلیدی: اسید آمینه کل، افزایش وزن، *آسپرژیلوس اوریزا*، *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم*، ضریب تبدیل خوراک.

مقدمه

بهبود عملکرد و کاهش هزینه‌های جیره و همچنین کیفیت خوراک در

پرورش طیور حائز اهمیت می باشد (Hosseini et al., 2016;

Pirsaraei et al., 2011). صنعت طیور بسیار متکی به کنجاله سویا

ترکیب خوراک مورد استفاده در تغذیه جوجه‌های گوشتی جهت

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته تغذیه طیور، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

۳- استاد گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

۴- استادیار گروه علوم پایه، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

(*)- نویسنده مسئول: (Email: mo.kazemifard@gmail.com)

به‌عنوان منبع پروتئین در خوراک طیور است. طی سال‌های اخیر، نیاز به جایگزین مناسب و مقرون به صرفه با ارزش غذایی مناسب به‌ویژه در مناطقی که دسترسی به کنجاله سویا با محدودیت‌های روبرو است، برای تولید جوجه‌های گوشتی افزایش یافته است (Karkelanov et al., 2020; Waititu et al., 2018). کنجاله آفتابگردان با توجه به قابلیت رشد در آب و هوای خشک می‌تواند در مناطق فاقد قابلیت کشت کنجاله سویا جایگزین مناسبی باشد (Khakwani et al., 2014). استفاده از کنجاله آفتابگردان در جیره جوجه‌های گوشتی در سطح ۱۴ درصد بر عملکرد و سایر پارامترها بدون تأثیری منفی مورد استفاده قرار گرفت (Moghaddam et al., 2012). سنکویلو و دیل (Senkoylu and Dale, 2006) بیان کردند که مقادیر بسیار زیادی کنجاله آفتابگردان به‌عنوان خوراک حجیم می‌باشد و ممکن است منجر به رقیق شدن مواد مغذی در جیره غذایی جوجه‌های جوان شده. همچنین افزودن کنجاله آفتابگردان تا سطح ۴۶/۴ درصد در جیره آغازین جوجه‌های گوشتی جوان باعث کاهش وزن بدن، مصرف خوراک و افزایش ضریب تبدیل خوراک می‌شود (Senkoylu and Dale, 2006). استفاده از کنجاله آفتابگردان در جیره جوجه‌های گوشتی به‌دلیل اینکه دارای سلولز زیاد و مقدار لیزین کم می‌باشد، محدود است. اما حاوی ترکیبات ضد تغذیه‌ای کمتری می‌باشد و میزان کلسیم، فسفر و متیونین زیاد است (Tüzün et al., 2020). گزارش شده است که کنجاله آفتابگردان را پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای محلول ۴/۵ درصد و پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای نامحلول ۲۳/۱ درصد آن را تشکیل می‌دهد (Dusterhoft et al., 1992). علاوه بر فیبر خام زیاد، کنجاله آفتابگردان حاوی محتوای از مواد دیواره سلولی است که می‌تواند بر قابلیت هضم جیره غذایی تأثیر منفی بگذارد (Alagawany et al., 2015). با وجود این، دستگاه گوارش طیور پتانسیل ضعیفی برای تولید آنزیم‌های هضم‌کننده پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای مانند سلولز، گلوکان، زایلان دارد (Alagawany et al., 2017). تحقیقات نشان می‌دهد که تخمیر می‌تواند با افزایش در دسترسی به پروتئین و کاهش محتوای ترکیبات نامطلوب در مواد غذایی، موجب بهبود ارزش تغذیه‌ای جیره‌های غذایی شود (Aljubori et al., 2017). خوراک‌های تخمیر شده موجب افزایش ریزجاندانان مفیدی برای بهبود عملکرد پروبیوتیک در دستگاه گوارش می‌شوند (Borojeni et al., 2017). قارچ‌های رشته‌ای برای فرآیندهای تخمیر حالت جامد ارجحیت دارند، عمدتاً به‌دلیل توانایی آن‌ها برای رشد بر روی بسترهای با آب، نفوذ میسلیم آن‌ها به بستر جامد، و تولید اگزوانزیم‌ها (به‌عنوان مثال، آنزیم‌های آمیلولیتیک و سلولولیتیک)، که تجزیه پلی ساکاریدها (منبع اصلی کربن که اغلب در

بسترهای جامد) است را بر عهده دارند (Paulová et al., 2013). اکثر قارچ‌های سلولولیتیک مانند *تریکودرما*، *آسپرژیلوس*، *پنی سیلیوم* و غیره، تمام سه جزء سلولاز را تولید می‌کنند (Sukumaran et al., 2009). مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است قارچ رشته‌ای *پنی سیلیوم فونیکولوسوم* پتانسیل بالایی برای تولید سلولاز دارد، که حاوی یک مقدار متعادل از فعالیت‌های آنزیمی اصلی است (Maeda et al., 2010). همچنین قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* در تولید آنزیم‌های صنعتی برای فرآوری مواد غذایی استفاده شده است و به‌عنوان یک ریزجاندان مفید در نظر گرفته می‌شود (Gomi, 2014). بنابراین، با توجه به اینکه تاکنون تحقیقات اندکی بر تخمیر کنجاله آفتابگردان و تأثیر آن بر جوجه‌های گوشتی بررسی شده است، مطالعه حاضر به‌منظور بررسی خصوصیات شیمیایی و بیولوژیکی کنجاله آفتابگردان تخمیری با استفاده از قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* و *پنی سیلیوم فونیکولوسوم* بر عملکرد، جمعیت میکروبی ایلئوم و شاخص‌های خونی در جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

مراحل پژوهش و آزمایش‌های مرتبط با پژوهش حاضر در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹۹ انجام شد. در این پژوهش، از ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه تجاری راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و پنج تکرار و هشت قطعه جوجه در هر تکرار استفاده شد. تیمارها شامل ۱- جیره پایه (شاهد)، ۲- جیره حاوی کنجاله آفتابگردان (شاهد منفی)، ۳- جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیر شده با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا*، ۴- جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیر شده با قارچ *پنی سیلیوم فونیکولوسوم* و ۵- جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیر شده با قارچ‌های *آسپرژیلوس اوریزا* و *پنی سیلیوم فونیکولوسوم* در نظر گرفته شد. کنجاله آفتابگردان از شرکت بهپاک بهشهر (مازندران) تهیه و به آزمایشگاه تغذیه دام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل و سپس با آسیاب آزمایشگاه کنجاله آفتابگردان به اندازه دو میلی‌متر آسیاب شد. قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* (PTCC5010) و *پنی سیلیوم فونیکولوسوم* (PTCC5301) به‌شکل ویال لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران^۱ (IROST) خریداری شد. ویال حاوی قارچ *پنی سیلیوم فونیکولوسوم* مذکور در شرایط استریل شکسته شد، همچنین قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* نیز در شرایط استریل شکسته شد و در پلیت‌های حاوی محیط کشت PDA^۲ کشت داده شد. سپس پلیت‌ها در انکوباتور به مدت ۱۵ روز، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا قارچ‌های مذکور

تخلیه و بلافاصله با استفاده از روش رقت ۱۰ برابر تا 10^{-9} با آب مقطر استریل دی یونیزه رقیق شد. پس از آن رقت‌ها برای شمارش باکتری‌های هدف از هر نمونه با سه تکرار در محیط کشت‌های اختصاصی، کشت داده شدند. به‌طور اختصاصی باکتری‌های هوازی کل، کلی‌فرم، گونه‌های *Lactobacillus* به ترتیب در محیط‌های *Nutrient agar*، *MacConkey agar*، *MRS agar* به روش استاندارد کشت داده شدند. سپس پتری‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت انکوبه شده و کلنی‌ها شمارش شدند. و میانگین سه تکرار به صورت $\log_{10} \text{CFU/g}$ بیان شدند (Gungor et al., 2021).

اندازه‌گیری پلاسمای خون

در روز ۳۹ پرورش، خون‌گیری از سیاهرگ بال یک قطعه پرنده از هر تکرار به صورت تصادفی انجام شد. پس از انتقال خون‌ها به آزمایشگاه جهت جدا کردن پلاسما از خون نمونه‌های خونی به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد و تا زمان انجام آزمایش در یخچال و با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. غلظت گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول کل، کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL-C)، کلسترول لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL-C)، لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم (VLDL-C) در نمونه‌های پلاسما با استفاده از آنالایزر (Automatic Biochemical Analyzer, Mindray, BS-120) تجزیه و تحلیل شد.

آنالیز آماری

داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (SAS, 2004)، براساس رویه GLM مورد تجزیه آماری قرار گرفتند و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

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

که در این معادله، Y_{ij} : مقدار هر مشاهده μ : میانگین جامعه T_i : اثر تیمارها و e_{ij} : خطای آزمایشی می‌باشند.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ترکیبات تغذیه‌ای و پی‌اچ کنجاله آفتابگردان خام و تخمیر شده در جدول ۲ ارائه شده است. تخمیر موجب افزایش پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده اسید، الیاف نامحلول در شوینده خشی و اسیدآمینه کل ($P < 0.05$) شد، همچنین تخمیر کنجاله آفتابگردان موجب کاهش عصاره‌اتری، پروتئین محلول، قندهای محلول و پی‌اچ ($P < 0.05$) شد. محتوای ماده خشک، خاکستر و فنل کل تحت تأثیر تخمیر ($P > 0.05$) قرار نگرفت.

رشد و اسپور تولید کردند. در مرحله عملیات تخمیر به هر کیلوگرم از کنجاله آفتابگردان، ۱/۱ لیتر از ترکیب آب مقطر و کشت آغازگر (حاوی حداقل 10^5 واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه با دست کاملاً مخلوط شد. مخلوط حاصل درون مخازن ویژه (دارای سوپاپ یک‌طرفه جهت خروج گازهای تولید شده و ممانعت از ورود هوا) به مدت هفت روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد تخمیر شد، و در نهایت، کنجاله آفتابگردان تخمیر شده به مدت سه روز در دمای محیط خشک شد (Hassaan et al., 2018). جیره آزمایشی با استفاده از جدول ۱ احتیاجات غذایی راهنمای سویه راس ۳۰۸ برای پرورش جوجه‌های گوشتی به سه دوره آغازین (۱ الی ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ الی ۲۴) و پایانی (۲۵ الی ۳۹) تنظیم شدند. برای تعیین پی‌اچ قبل و بعد از تخمیر کنجاله آفتابگردان از روش چیا ننگ و همکاران (Chiang et al., 2009) استفاده شد، از کنجاله آفتابگردان قبل و بعد از تخمیر نمونه‌گیری انجام شد و برای اندازه‌گیری ماده خشک، خاکستر، پروتئین خام با روش کلدال و چربی خام با استفاده از دستگاه سوکسله (AOAC, 2000) و همچنین مقدار الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، الیاف نامحلول در شوینده خشی نیز با استفاده از دستگاه فیبروتک، اندازه‌گیری شد (Van Soest, 1963). اندازه‌گیری اسید آمینه کل به وسیله ناین هیدرین (Yemm et al., 1955) انجام شد. اندازه‌گیری قند محلول به وسیله انترون (McCready et al., 1950) انجام شد. میزان فنل کل نیز با استفاده از معرف فولین سیوکالچو و دستگاه اسپکتروفتومتری سنجیده شد (Meda et al., 2005). اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول به روش بردفورد (Bradford, 1967) انجام شد.

عملکرد

شرایط پرورش در طول دوره ۳۹ روزه برای همه جوجه‌ها یکسان و دسترسی به خوراک به صورت آزاد در نظر گرفته شد. خوراک‌های هر تکرار قبل از مصرف، وزن شده و با مشخص کردن وزن خوراک‌های باقی‌مانده در پایان هر دوره، در نهایت مقدار خوراک مصرفی هر تیمار برای پایان هر دوره و همچنین کل دوره محاسبه گردید. وزن کشی جوجه‌ها به صورت دوره‌ای انجام شد و افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک دوره‌های آغازین، رشد، پایانی و کل دوره تعیین گردید.

جمعیت میکروبی در روده دستگاه گوارش

نمونه ایلئوم در شرایط استریل در طول کشتار جمع‌آوری شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا شمارش جمعیت باکتری نگهداری شدند. برای شمارش باکتری‌ها، محتویات ایلئوم یخ‌زده ذوب شده، سپس یک گرم محتویات هضم ایلئوم به لوله‌های آزمایش استریل

جدول ۱- ترکیب جیره‌های آزمایشی و محتویات مواد مغذی محاسبه شده
Table 1- Composition of experimental diets and calculated nutrient contents

اجزاء (درصد) Ingredients (%)	Starter 1-10 d ۱ تا ۱۰ روزگی آغازین					Grower 11-24 d ۱۱ تا ۲۴ روزگی رشد					Finisher 25-39 d ۲۵ تا ۳۹ روزگی پایانی				
	CSBM ¹	SFM ²	FAO ³	FPE ⁴	FAP ⁵	CSBM ¹	SFM ²	FAO ³	FPE ⁴	FAP ⁵	CSBM ¹	SFM ²	FAO ³	FPE ⁴	FAP ⁵
ذرت Corn	49.54	45.09	45.40	45.40	45.40	51.76	46.61	46.80	46.80	46.80	59.13	49.41	50.82	50.82	50.82
کنجاله سویا Soybean meal	42.88	40.14	39.71	39.71	39.71	38.68	32.30	32.13	32.13	32.13	32.18	23.27	22.16	22.16	22.16
کنجاله آفتابگردان Sunflower Meal	-	6	-	-	-	-	12	-	-	-	-	18	-	-	-
کنجاله آفتابگردان تخمیری Fermented Sunflower meal	-	-	6	6	6	-	-	12	12	12	-	-	18	18	18
روغن سویا Soybean oil	2.98	4.20	4.29	4.29	4.29	4	5.07	5.04	5.04	5.04	3.50	5.72	5.16	5.16	5.16
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91	1.67	1.65	1.65	1.65	1.65	1.45	1.43	1.44	1.44	1.44
ماسه شسته شده Inert	-	-	-	-	-	1.50	-	-	-	-	1.50	-	-	-	-
کربنات کلسیم Limestone	1.17	1.15	1.15	1.15	1.15	1.06	1.03	1.03	1.03	1.03	0.96	0.92	0.92	0.92	0.92
نمک Salt	0.41	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.34	0.34	0.34	0.34	0.37	0.29	0.29	0.29	0.29
دی-آل متیونین DL methionine	0.34	0.33	0.33	0.33	0.33	0.28	0.26	0.26	0.26	0.26	0.24	0.21	0.21	0.21	0.21
مکمل معدنی Mineral premix ¹	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل ویتامینه Vitamin premix ²	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
آل-لیزین L- Lysine	0.20	0.23	0.24	0.24	0.24	0.13	0.21	0.21	0.21	0.21	0.15	0.25	0.29	0.29	0.29
آل-ترئونین L-Threonine	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.02	0.01	0.21	0.21	0.21

ادامه جدول ۱- ترکیب جیره‌های آزمایشی و محتویات مواد مغذی محاسبه شده

Continuation of table 1- Composition of experimental diets and calculated nutrient contents															
ترکیبات شیمیایی (درصد)		Chemical composition (%)													
انرژی قابل متابولیسم		2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900
Metabolizable energy (kcal/kg)		2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900
پروتئین خام		22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24
Crude protein %		22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24	22.24
چربی خام		5.20	6.38	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48
Ether extract %		5.20	6.38	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48
لیزین		1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39
Lysine%		1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39	1.39
متیونین		0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65
Methionine %		0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65
متیونین + سیستین		1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04
Methionine + cysteine %		1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04
تروئین		0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94
Threonine %		0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94
کلسیم		0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93
Calcium %		0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93
فسفر قابل دسترس		0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46
Available P %		0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46
فیبر		4.09	5.24	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15
Fiber%		4.09	5.24	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15	5.15

B1: مکمل ویتامینی در هر کیلو گرم جیره مواد زیر را تأمین می‌کند: ویتامین A (رتینول) ۷۴ میلی‌گرم؛ ویتامین D3 (کوله‌کلسیفرول) ۷۵ میلی‌گرم؛ ویتامین E (دی-آل - آلفا توکوفرول) پنج میلی‌گرم؛ ویتامین K3 (منادین) ۷/۲ میلی‌گرم؛ ویتامین B12 (تیامین) ۱/۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B2 (ریبوفلاوین) ۴/۰ میلی‌گرم؛ ویتامین B3 (نیاسین) هشت میلی‌گرم؛ ویتامین B5 (اسید پانتوتیک) ۲۵/۰ میلی‌گرم؛ ویتامین B6 (پیریدوکسین) ۷/۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B9 (اسید فولیک) ۰/۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B12 (سیانو کوبالامین) ۱۰/۰ میلی‌گرم؛ ویتامین H (بیوتین) ۸/۵ میلی‌گرم؛ کوکین کلراید، ۵۰ میلی‌گرم.
 ۲ مکمل معدنی در هر کیلو گرم جیره مواد زیر را تأمین می‌کند: روی (سولفات روی) ۶۴/۰ میلی‌گرم؛ منگنز (سولفات منگنز) ۸۰/۰ میلی‌گرم؛ سلنیوم (سلنیت سدیم) ۰/۳ میلی‌گرم؛ پد، ۱ میلی‌گرم؛ مس (سولفات مس) ۶/۰ میلی‌گرم؛ آهن (سولفات آهن) ۷۵/۰ میلی‌گرم.
 ۳ CSBM^۱: جیره پایه (شاهد) SFM^۲: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان (شاهد منفی) FAO^۳: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری با قارچ اسپیریلیوس اوریزا (اسپیریلیوس اوریزا) FPF^۴: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری با قارچ نسیسیلیوم فونیکولوسوم (نسیسیلیوم فونیکولوسوم/نسیسیلیوم فونیکولوسوم) FAP^۵: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری از قارچ‌های اسپیریلیوس اوریزا و نسیسیلیوم فونیکولوسوم (اسپیریلیوس اوریزا + نسیسیلیوم فونیکولوسوم)
 ۱ Provided in kg of diet: vitamin A (all-trans-retinol), 8,800 IU; vitamin D3 (cholecalciferol), 3,300 IU; vitamin E (DL-α-tocopheryl acetate), 18.5 IU; vitamin K3 (menadione), 2.2 mg; vitamin B1 (thiamin), 2.2 mg; vitamin B2 (riboflavin), 5.5 mg; vitamin B3 (niacin), 28.0 mg; vitamin B5 (pantothenic acid), 6.6 mg; vitamin B6 (pyridoxine), 3.5 mg; vitamin B9 (folic acid), 0.7 mg; vitamin B12 (cyanocobalamin), 0.02 mg; vitamin H2 (biotin), 0.05 mg; antioxidant 1.0 mg.
 ۲ Provided (mg/kg of diet): Mn (manganese sulfate) 80.0, Fe (iron sulfate) 75.0, Zn (zinc sulfate) 64.0, Cu (copper sulfate) 6.0, Se (Sodium Selenite) 0.3.
 ۳ CSBM^۱: Positive control + SFM^۲: Negative control FAO^۳: Fermented *Aspergillus Oryzae* FPF^۴: Fermented *Aspergillus Oryzae* FAP^۵: Fermented with *Aspergillus Oryzae* and *Penicillium Funiculosum*

جدول ۲- ترکیب شیمیایی کنجاله آفتابگردان و کنجاله آفتابگردان تخمیر شده (% بر اساس ماده خشک)

Table 2- Chemical composition of Sunflower meal and fermented Sunflower meal (% dry matter basis)

موارد Items	تیمار Treatment				SEM	P-value
	SFM ¹	FAO ²	FPF ³	FAP ⁴		
ماده خشک (درصد) Dry matter (%)	93.0	92.4	92.9	92.8	0.151	0.105
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	27.9 ^b	29.3 ^a	29.1 ^a	29.5 ^a	0.309	0.028
عصاره اتری (درصد) Ether extract (%)	0.922 ^a	0.280 ^b	0.251 ^b	0.226 ^b	0.031	<0.0001
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد) ADF ¹ (%)	27.1 ^b	29.0 ^{ab}	29.7 ^a	31.2 ^a	0.689	0.018
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) NDF ² (%)	53.8 ^{ab}	54.4 ^a	54.8 ^a	53.2 ^b	0.296	0.021
خاکستر Ash (%)	6.01	5.98	6.02	6.21	0.121	0.554
پروتئین محلول (میکرو گرم / گرم) Soluble protein (µg/g)	209 ^a	86.7 ^c	100 ^b	99.0 ^b	1.67	<0.0001
قند محلول (میکرو گرم / گرم) Soluble Sugars ¹ (µg/g)	245 ^a	116 ^b	119 ^b	127 ^b	5.59	<0.0001
اسید آمینه کل (میکرو مول / گرم) Total amino acid (µg/g)	24.4 ^c	104 ^a	72.9 ^b	106 ^a	1.30	<0.0001
فنول کل (میکرو گرم / گرم) Total phenol (µg/g)	97.0	97.0	90.3	91.7	2.57	0.208
پی‌اچ pH	5.76 ^a	4.50 ^c	4.56 ^b	4.50 ^c	0.010	<0.0001

a, b, c در هر ردیف، میانگین‌هایی که حرف لاتین مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

SEM: انحراف معیار میانگین‌ها

¹ SFM: کنجاله آفتابگردان خام FAO²: کنجاله آفتابگردان تخمیر شده با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* FPF³: کنجاله آفتابگردان تخمیر شده با قارچ *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم* FAP⁴: کنجاله آفتابگردان تخمیر شده با قارچ‌های *آسپرژیلوس اوریزا* و *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم*

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

SEM: pooled standard error of mean

¹ ADF: Acid Detergent Fibre² NDF, Neutral Detergent FibreSFM¹: Sunflower Meal; FAO²: Fermented with *Aspergillus Oryzae*; FPF³: Fermented with *Penicillium Funiculosum*; FAP⁴: Fermented with *Aspergillus Oryzae* and *Penicillium Funiculosum*

تنگ و هم‌کاران (Teng et al., 2010) گزارش داد که محتوای پروتئین خام با تخمیر باکتریایی یا قارچی، که این ریز جانداران به عنوان منبع خوبی از آنزیم‌ها انواع مختلفی از پروتئازها از جمله آمینوپپتیدازها، اندوپپتیدازهای را ترشح می‌کنند، باعث تجزیه پروتئین و افزایش اسیدهای آمینه می‌شود. مطابق با نتایج مطالعه حاضر، تخمیر تفاله انگور (Gungor et al., 2021) و تخمیر دانه انگور (Altop et al., 2018) موجب کاهش عصاره اتری شد. قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* توانایی استفاده از چربی‌ها را دارد (Yano et al., 2008). اساساً ریز جانداران از چربی‌ها به عنوان منبع انرژی (Nasseri et al., 2011; Yano et al., 2008) و یا از اسکلت کربنی آن‌ها برای ساخت پروتئین سلولی بهره می‌برند (Oseni, 2011)،

تخمیر حالت جامد می‌تواند باعث بهبود ترکیبات غذایی مواد تخمیری شود (Cao et al., 2012). مشابه با نتایج تحقیق تخمیر تفاله انگور (Gungor et al., 2021) و تخمیر کیزا (Dražbo et al., 2018) موجب افزایش پروتئین خام و فیبر خام بعد از تخمیر را گزارش کردند. افزایش پروتئین خام را می‌توان به آنزیم‌های تولید شده و یا میسلیوم توسط توسط ریز جانداران نسبت داد (Gungor et al., 2021). میسلیوم همچنین ممکن است دلیل افزایش میزان فیبر در کنجاله آفتابگردان تخمیری باشد زیرا دیواره سلولی آن غنی از پلی ساکاریدهای مختلف است (Beauvais et al., 2014). مطابق با نتایج مطالعه حاضر حسن و همکاران (Hassaan et al., 2018) گزارش کردند، تخمیر کنجاله آفتابگردان موجب افزایش اسیدهای آمینه شد.

مطالعات با استفاده از کنجاله آفتابگردان نشان می‌دهد که سطح بالای کنجاله آفتابگردان باعث کاهش عملکرد رشد جوجه‌ها می‌شود. در همین راستا، وایتی و همکاران (Waititu et al., 2018) گزارش کردند، استفاده از کنجاله آفتابگردان با پروتئین بالا موجب کاهش وزن شد. آلاگونی و همکاران (Alagawany et al., 2017) گزارش کردند، جایگزین بیشتر از ۵۰ الی ۷۵ درصد کنجاله آفتابگردان با کنجاله سویا در تغذیه جوجه‌های گوشتی، موجب کاهش معنی‌دار وزن بدن شد. توزون و همکاران (Tüzün et al., 2020) گزارش کردند، در طول آزمایش بلدرچین‌های تغذیه شده با کنجاله آفتابگردان، وزن بدن معمولاً با افزایش سطح کنجاله آفتابگردان، به‌ویژه در ۱۵ و ۲۰ درصد، کاهش می‌یابد. کاهش عملکرد با کنجاله آفتابگردان در جوجه‌های در حال رشد در مطالعه حاضر ممکن است به دلیل محتوای فیبر زیاد در این کنجاله آفتابگردان باشد. کنجاله آفتابگردان حاوی فیبر بسیار نامحلول است. به دلیل عبور سریع فیبر نامحلول از سیستم گوارش و کوتاهی طول دستگاه گوارش است، بنابراین خوراک هضم شده برای مدت کوتاهی در روده می‌ماند و در نتیجه، منجر به جذب کم مواد مغذی مورد نیاز رشد می‌شود (Tüzün et al., 2020). جزی و همکاران (Jazi et al., 2017) گزارش کردند استفاده از کنجاله پنبه دانه تخمیری، به جای کنجاله پنبه دانه، با ۱۰ و ۲۰ درصد در جیره غذایی، عملکرد جوجه‌های گوشتی را بهبود بخشید. چیانگ و همکاران (Chiang et al., 2009) گزارش کرد، استفاده از کنجاله کلزا تخمیری در تغذیه جوجه‌های گوشتی به‌طور معنی‌دار افزایش وزن را بهبود بخشید. سه دلیل اصلی برای توضیح بهبود عملکرد در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با کنجاله آفتابگردان تخمیری با استفاده از قارچ پنی سیلیوم فونیکولسوم در مقایسه با سایر تیمارها می‌توان بیان کرد. اصلی‌ترین دلیل مربوط به کاهش مقدار مواد ضدتغذیه‌ای در طی فرآیند تخمیر میکروبی می‌باشد (Yasar et al., 2018). دوم افزایش سطح کیفیت تغذیه‌ای خوراک تخمیری از طریق افزایش قابلیت هضم‌پذیری اسیدهای آمینه ضروری و سایر مواد مغذی مفید (نظیر پپتیدهای کوچک) (Sun et al., 2012) و نهایتاً فراهم شدن بهداشت و سلامت دستگاه گوارش پرنده از طریق بهبود تعادل جمعیت میکروبی به وسیله پی‌اچ پایین (به دلیل وجود اسید تولید شده در زمان تخمیر) می‌باشد (Niba et al., 2009). با توجه به نتایج تحقیق، کنجاله پنبه دانه تخمیری با استفاده از ریزجاندانر باسیلوس سوبتیلیس، اسپرژیلوس/اوریزا و اسپرژیلوس نایجر در خوراک مصرفی جوجه‌های گوشتی با جیره‌های حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد کنجاله پنبه دانه تخمیری تفاوتی با خوراک مصرفی شاهد نداشت (Jazi et al., 2017).

بنابراین با توجه به این موضوع، کاهش چربی خام در کنجاله آفتابگردان تخمیری دور از انتظار نیست. مشابه با نتایج تحقیق، تخمیر کنجاله پنبه دانه میزان پی‌اچ را کاهش داد (Jazi et al., 2017). کاهش پی‌اچ از ۵/۷۶ به حدود ۴/۵ که در طول تخمیر رخ داده است به احتمال زیاد نتیجه افزایش غلظت اسیدهای آلی است (Chiang et al., 2009). افزایش اسیدهای آلی احتمالاً به دلیل فعالیت میکروبی، تبدیل برخی از کربوهیدرات‌ها به اسیدهای آلی مانند اسید لاکتیک می‌باشد (Rai et al., 2010). مشابه نتیجه مطالعه حاضر، درازبو و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند تخمیر کنجاله کیک کلزا موجب کاهش کربوهیدرات (۹/۲۲ به ۵/۴۸) شد (Dražbo et al., 2018). در تخمیر حالت جامد، ریزجاندانر می‌توانند از بستر به عنوان منبع کربن و انرژی استفاده کنند، که موجب کاهش میزان قند محلول پس از تخمیر می‌شود (Hu et al., 2016). فرآیند تخمیر می‌تواند اثرات متعددی بر روی فنل‌ها داشته باشد که منجر به تغییرات در تشکیل مونومرها یا پلیمرهای بعدی می‌شود (Adebo and Meza, 2020). بر خلاف تحقیق حاضر، سالار و همکاران (Salar et al., 2016) افزایش فنل کل را در طی تخمیر گزارش کردند. علت افزایش فنل‌ها را به سنتز ترکیبات زیست‌فعال جدید و آزادسازی فنل‌ها به دلیل تجزیه ساختاری دیواره سلولی پس از تخمیر نسبت دادند. ولی با توجه به اینکه قارچ‌های مورد استفاده در تحقیق حاضر نتوانسته‌اند ترکیبات فیبری را تجزیه کنند، بنابراین عدم تغییر در فنل کل را می‌تواند توجیه نمود.

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی بر افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک در جدول ۳ ارائه شده است. استفاده از کنجاله آفتابگردان تخمیری در دوره آغازین موجب بهبود افزایش وزن ($P < 0.05$) شد. همچنین در دوره‌های رشد، دوره پایانی و کل دوره تیمار تغذیه شده با SFM موجب کاهش وزن ($P < 0.05$) شد. استفاده از کنجاله آفتابگردان تخمیر شده با قارچ پنی سیلیوم فونیکولسوم موجب بهبود افزایش وزن ($P < 0.05$) در تیمار FPF در دوره پایانی شد. استفاده از کنجاله آفتابگردان تخمیری و خام تأثیر بر مصرف خوراک در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی ($P > 0.05$) نداشت، ولی در کل دوره پرورش تیمار FAP نسبت به تیمار CSBM و FAF ($P < 0.05$) موجب کاهش مصرف خوراک شد. استفاده از کنجاله آفتابگردان تخمیری موجب بهبود ضریب تبدیل خوراک نسبت به SFM در دوره‌های آغازین، رشد، پایانی و کل دوره پرورش ($P < 0.05$) شد.

جدول ۳- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر افزایش وزن (گرم/روز پرنده)، مصرف خوراک (گرم/روز پرنده)، ضریب تبدیل خوراک (گرم خوراک/گرم افزایش وزن) در جوجه‌های گوشتی

Table 3- Effect of experimental treatments on the weight gain (g/bird), feed intake (g/bird), feed conversion ratio (g feed/g gain) in broilers

موارد Items	تیمار Treatment					SEM	P-value
	CSBM ¹	SFM ²	FAO ³	FPF ⁴	FAP ⁵		
افزایش وزن (گرم: روز پرنده) Weight gain (g/days bird)							
۱ الی ۱۰ روزگی 1-10 days	15.4b ^c	14.6 ^c	16.8 ^a	16.4 ^{ab}	16.7 ^a	0.408	0.004
۱۱ الی ۲۴ روزگی 11-24 days	49.8 ^a	43.5 ^b	50.8 ^a	51.3 ^a	51.3 ^a	1.40	0.003
۲۵ الی ۳۹ روزگی 25-39 days	107 ^b	98 ^c	105 ^b	109 ^a	103 ^b	1.73	0.001
۱-۳۹ روزگی 1-39 days	57.6 ^a	52.1 ^b	57.6 ^a	59.2 ^a	57.1 ^a	0.689	0.0001
مصرف خوراک (گرم:روز پرنده) Feed intake (g/days bird)							
۱ الی ۱۰ روزگی 1-10 days	19.9	19.4	20.6	20.0	20.8	0.604	0.526
۱۱ الی ۲۴ روزگی 11-24 days	91.4	96.3	94.6	94.9	91.1	1.67	0.158
۲۵ الی ۳۹ روزگی 25-39 days	194	188	180	197	176	5.63	0.065
۱-۳۹ روزگی 1-39 days	102 ^{ab}	102 ^{abc}	98.4 ^{bc}	104 ^a	96.2 ^c	1.80	0.039
ضریب تبدیل خوراک (گرم:گرم) Feed conversion ratio (g:g)							
۱ الی ۱۰ روزگی 1-10 days	1.29	1.33	1.22	1.21	1.24	0.033	0.124
۱۱ الی ۲۴ روزگی 11-24 days	1.84 ^b	2.21 ^a	1.86 ^b	1.85 ^b	1.77 ^b	0.041	0.0001
۲۵ الی ۳۹ روزگی 25-39 days	1.81 ^b	1.92 ^a	1.71 ^b	1.80 ^{ab}	1.70 ^b	0.051	0.048
۱-۳۹ روزگی 1-39 days	1.77 ^b	1.94 ^a	1.70 ^b	1.76 ^b	1.68 ^b	0.033	0.0002

^{a,b,c} در هر ردیف، میانگین‌هایی که حرف لاتین مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

SEM: انحراف معیار میانگین‌ها

¹CSBM: جیره پایه (شاهد)؛ ²SFM: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان (شاهد منفی)؛ ³FAO: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری با قارچ *اسپریژیلوس اوریزا* (آ اسپریژیلوس اوریزا)؛ ⁴FPF: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری با قارچ *پنی سیلیوم فونیکولوسوم* (پنی سیلیوم فونیکولوسوم)؛ ⁵FAP: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری از قارچ‌های *آ اسپریژیلوس اوریزا* و *پنی سیلیوم فونیکولوسوم* (آ اسپریژیلوس اوریزا + پنی سیلیوم فونیکولوسوم)

^{a,b,c} Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

SEM: pooled standard error of mean.

CSBM¹: Positive control; SFM²: Negative control; FAO³: Fermented *Aspergillus Oryzae*; FPF⁴: Fermented with *Penicillium Funiculosum*; FAP⁵: Fermented with *Aspergillus Oryzae* and *Penicillium Funiculosum*.

علمت بهبود کیفیت مواد مغذی خوراک‌های تخمیری مانند افزایش قابلیت هضم اسیدهای آمینه ضروری و سایر مواد مغذی عملکردی مانند پپتیدهای کوچک و آنزیم‌ها پس از تخمیر با شد (Teng et al., 2012). فلاح و همکاران (Falah et al., 2016) گزارش کردند

فازهی و همکاران (Fazhi et al., 2011) بیان کردند میزان خوراک مصرفی اردک‌های که با ۱۰۰ درصد کنجاله کلزا تخمیری با کمک باکترهای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *باسیلوس سوبتیلیس* تغذیه شده بودند نسبت به تیمار حاوی کنجاله سویا به‌طور جزئی بیشتر بود.

کنونی از سرعت رشد بالایی برخوردار بوده و نیاز به جیره غذایی با قابلیت هضم زیاد و ارزش غذایی زیاد را می‌طلبد. کنجاله آفتابگردان دارای محتوای فیبر بالایی است (الیاف نامحلول در شویونده خنثی=۴۵/۱۹ درصد)، که بر جذب مغذی تأثیر منفی می‌گذارد و در نتیجه موجب کاهش عملکرد می‌شود (DeAraujo et al., 2014). همسو با نتایج تحقیق، جزی و همکاران (Jazi et al., 2017) ضریب تبدیل خوراک، در تیمارهای که جیره غذایی شاهد و جیره‌های غذایی حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد کنجاله پنبه دانه تخمیری مصرف کردند، به‌طور قابل توجهی مطلوب‌تر از گروه‌های دریافت‌کننده جیره‌های غذایی حاوی کنجاله پنبه دانه بود.

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی بر کشت میکروبی در جدول ۴ ارائه شده است. با توجه به نتایج کشت میکروبی در قسمت ایلئوم نیز باکتری کلی‌فرم در تیمارهای FAP، FAO و SFM ($P < 0.05$) نسبت به شاهد کاهش داشت، ولی تیمار FPF نسبت به سایر تیمارها افزایش ($P < 0.05$) داشت.

جایگزینی کنجاله سویای تخمیری با کنجاله سویای خام موجب کاهش مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی می‌گردد که علت آن را کاهش خوش‌خوراکی جیره‌های حاوی کنجاله سویای تخمیری به‌دلیل تغییر رنگ، بو و طعم کنجاله سویا پس از تخمیر نسبت داد. همچنین انگبرگ و همکاران (Engberg et al., 2009) گزارش کردند جایگزینی خوراک‌های پروتئینی تخمیر شده به‌جای خوراک معمولی جذابیت کمتری برای تمامی پرندگان با سرعت رشد بالا داشته و در نتیجه، سبب کاهش مصرف خوراک، رفتارهای پرخاشگرانه و پر و بال‌های نامرغوب می‌گردد. به‌طور مشابه، توزون و همکاران (Tüzün et al., 2020) بیان کردند، ضریب تبدیل خوراک بلدرچین در حال رشد با افزایش سطح کنجاله آفتابگردان در جیره غذایی به‌صورت خطی افزایش می‌یابد. به همین ترتیب، مطالعه دآرائوخو و همکاران (DeAraujo et al., 2014) گزارش کردند، استفاده از کنجاله آفتابگردان در تغذیه جوجه‌های گوشتی با سطح هشت درصد موجب بدتر شدن ضریب تبدیل خوراک می‌شوند. سویه‌های جوجه گوشتی

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان پی‌اچ و جمعیت میکروبی ایلئوم ($\log_{10}$ cfu/g) در جوجه‌های گوشتی

Table 4- Effects of fermented Sunflower meal on pH and bacteria counts in the Ileum of broilers. ($\log_{10}$ cfu/g)

ایلئوم Ileum	تیمار Treatment					SEM	P-value
	CSBM ¹	SFM ²	FAO ³	FPF ⁴	FAP ⁵		
pH	6.59	5.88	6.13	6.30	5.73	0.329	0.419
باکتری کل بی‌هوازی Total anaerobic bacteria ($\log_{10}$ cfu/g)	5.95	6.02	6.60	6.84	6.19	0.493	0.664
لاکتوباسیلوس Lactobacillus ($\log_{10}$ cfu/g)	6.70	5.67	5.30	6.85	6.34	0.424	0.111
کلی‌فرم Coliform ($\log_{10}$ cfu/g)	5.30 ^b	5.00 ^c	5.15 ^{bc}	5.73 ^a	5.15 ^{bc}	0.077	0.0005

^{a, b, c} در هر ردیف، میانگین‌هایی که حرف لاتین مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

SEM: انحراف معیار میانگین‌ها

¹CSBM: جیره پایه (شاهد) ²SFM: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان (شاهد منفی) ³FAO: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* (*آسپرژیلوس اوریزا*) ⁴FPF: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری با قارچ *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم* (*پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم*) ⁵FAP: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری از قارچ‌های *آسپرژیلوس اوریزا* و *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم* (*آسپرژیلوس اوریزا* + *پنی‌سیلیوم فونیکولوسوم*)

^{a, b, c} Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

SEM: pooled standard error of mean.

CSBM¹: Positive control; SFM²: Negative control; FAO³: Fermented *Aspergillus Oryzae*; FPF⁴: Fermented with *Penicillium Funiculosum*; FAP⁵: Fermented with *Aspergillus Oryzae* and *Penicillium Funiculosum*.

کمتر ATP در ایلئوم و روده کور طیوری که از خوراک تخمیر شده تغذیه می‌شوند، نشان‌دهنده کاهش فعالیت میکروبی در این مناطق است. توضیح احتمالی این امر فقدان بسترهای قابل تخمیر، به‌ویژه قندهایی است که قبلاً در خوراک تخمیر شده است. قابلیت هضم مواد مغذی بهبود یافته نیز ممکن است به مقادیر کمتر سوبسترا موجود برای رشد باکتری کمک کند. مقدار کمتر سوبسترا در خوراک تخمیری، توسط تعداد کمتری از باکتری‌های بی‌هوازی در ایلئوم و

فعالیت میکروبی در سیستم روده نقش مهمی در عملکرد و سلامت عمومی جوجه‌های گوشتی دارد (Niba et al., 2009). در تحقیقی، تأثیر خوراک‌های تخمیر شده بر میکروفلور دستگاه گوارش مرغ‌های تخم‌گذار مورد بررسی قرار گرفت، تغذیه خوراک‌های تخمیری در مرغ‌های تخم‌گذار سبب کاهش باکتری‌های کلی‌فرم در ایلئوم می‌شود (Engberg et al., 2009). تغذیه خوراک تخمیری بر فعالیت میکروبی دستگاه گوارش تأثیر می‌گذارد. پی‌اچ بالاتر و غلظت

نامطلوب از جمله سویه‌های باکتری‌های بیماری‌زا ایجاد می‌کند (Chachaj *et al.*, 2019).

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی در جدول ۵ ارائه شده است. با توجه به نتایج در ۳۹ روزگی استفاده از کنجاله آفتابگردان تخمیری و خام موجب افزایش میزان HDL-c ($P < 0.05$) در تیمارهای SFM و FAP شد. همچنین میزان LDL-c در تیمار FAO و FPF ($P < 0.05$) افزایش یافت.

روده کور و باکتری‌های اسید لاکتیک در محتوای روده کور منعکس می‌شود (Engberg *et al.*, 2009). در نتیجه، حذف و یا کاهش جمعیت میکروبی مضر از دستگاه گوارش می‌تواند با افزایش قابلیت دسترسی و هضم و جذب مواد مغذی برای میزبان، شرایط لازم برای رسیدن به حداکثر پتانسیل رشد را فراهم نماید. شایان ذکر است که پس از فرآیند تخمیر میکروبی، محصول نهایی با کشت زنده میکروب‌های حاوی اسید لاکتیک پروبیوتیک غنی شد که می‌تواند دستگاه گوارش طیور را آلوده کند. باکتری‌های اسید لاکتیکی با تولید اسیدهای چرب فرار و باکتریوسین‌ها شرایطی را برای رشد باکتری‌های

جدول ۵- تأثیر کنجاله آفتابگردان تخمیر شده بر شاخص‌های خونی جوجه‌های گوشتی

Table 5- Effects of fermented Sunflower meal on Blood indices of broilers

موارد Item	تیمار Treatment					SEM	P-value
	CSBM ¹	SFM ²	FAO ³	FPF ⁴	FAP ⁵		
۳۹ روزگی 39 days							
گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر) Glucose (mg/dl)	200	198	203	200	203	8.23	0.992
ترگلیسیرید (میلی گرم/دسی لیتر) Triglycerides (mg/dl)	40.0	41.6	41.4	42.2	36.2	3.24	0.694
کلسترول (میلی گرم/دسی لیتر) Cholesterol (mg/dl)	213	217	216	232	206	6.90	0.144
لیپوپروتئین با چگالی بالا (میلی گرم/دسی لیتر) HDL-c (mg/dl)	38.1 ^c	48.9 ^a	37.2 ^c	40.5 ^{bc}	45.2 ^{ab}	198	0.001
لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم (میلی گرم/دسی لیتر) VLDL-c (mg/dl)	8.00	8.32	8.28	8.44	7.24	0.648	0.694
لیپوپروتئین با چگالی کم (میلی گرم/دسی لیتر) LDL-c (mg/dl)	167 ^b	161 ^b	172 ^{ab}	195 ^a	145 ^b	8.44	0.008

^{a, b, c} در هر ردیف، میانگین‌هایی که حرف لاتین مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

SEM = انحراف معیار میانگین‌ها

¹CSBM: جیره پایه (شاهد)؛ ²SFM: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان (شاهد منفی)؛ ³FAO: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری با قارچ *آسپرژیلوس اوریزا* (*آسپرژیلوس اوریزا*)؛ ⁴FPF: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری با قارچ *پنی سیلیوم فونیکولا سوم* (*پنی سیلیوم فونیکولا سوم*)؛ ⁵FAP: جیره حاوی کنجاله آفتابگردان تخمیری از قارچ‌های *آسپرژیلوس اوریزا* و *پنی سیلیوم فونیکولا سوم* (*آسپرژیلوس اوریزا* + *پنی سیلیوم فونیکولا سوم*)

^{a, b, c} Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

SEM: pooled standard error of mean.

CSBM¹: Positive control; SFM²: Negative control; FAO³: Fermented *Aspergillus Oryzae*; FPF⁴: Fermented with *Penicillium Funiculosum*; FAP⁵: Fermented with *Aspergillus Oryzae* and *Penicillium Funiculosum*.

سنتز کلسترول را کاهش می‌دهد دوم، تولید اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه، به‌ویژه پروپیونات توسط باکتری‌های لاکتوباسیلوس، سنتز کلسترول کبدی را محدود می‌کند (Ashayerizadeh *et al.*, 2018). سمبراتوویچر و همکاران (Sembratowicz *et al.*, 2020) گزارش کردند، تغذیه بوقلمون‌ها با کنجاله سویا تخمیری موجب افزایش لیپوپروتئین با چگالی بالا می‌شود. افزایش مشاهده شده در لیپوپروتئین با چگالی بالا در خون جوجه‌های تغذیه شده با کنجاله سویای

پارامترهای بیوشیمیایی خون می‌تواند عملکرد و متابولیسم مواد مغذی را نشان دهد. مشابه با نتایج، هو و همکاران (Hu *et al.*, 2016) گزارش کردند تغذیه جوجه‌های گوشتی با کنجاله کلزا تخمیری موجب کاهش کلسترول می‌شود. دو دلیل برای توضیح کاهش غلظت کلسترول خون جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با خوراک‌های تخمیری پیشنهاد شده است. اول، اسیدلاکتیک با مهار فعالیت آنزیم ۳- هیدروکسی- ۳- متیل- گلو تاریل - coA، مقدار

و کاهش پی‌اچ خوراک تخمیری شده همچنین تغذیه جوجه‌های گوشتی با کنجاله آفتابگردان تخمیری موجب بهبود افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک، نسبت به کنجاله آفتابگردان خام شده است و همچنین با شاهد نیز تفاوتی نداشته است. لذا، استفاده از کنجاله آفتابگردان تخمیری جایگزین مناسبی برای کنجاله سویا در جیره جوجه‌های گوشتی می‌تواند باشد.

تخمیری ممکن است اثر تحریک سیستم آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه، سرکوب فرآیندهای اکسیداسیون لیپید باشد (Sembratowicz et al., 2020).

نتیجه‌گیری کلی

تخمیر کنجاله آفتابگردان موجب بهبود اسیدآمینه‌کل، پروتئین خام

References

1. Adebo, O. A., & Gabriela Medina-Meza, I. (2020). Impact of fermentation on the phenolic compounds and antioxidant activity of whole cereal grains: A mini review. *Molecules*, 25(4), 927. <https://doi.org/10.3390/molecules25040927>
2. Alagawany, M., Attia, A.I., Ibrahim, Z.A., Mahmoud, R.A., & El-Sayed, S.A. (2017). The effectiveness of dietary sunflower meal and exogenous enzyme on growth, digestive enzymes, carcass traits, and blood chemistry of broilers. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(13), 12319-12327. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-017-8934-4>
3. Alagawany, M., Farag, M. R., Abd El-Hack, M. E., & Dhama, K. (2015). The practical application of sunflower meal in poultry nutrition. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 3(12), 634-648. <http://dx.doi.org/10.14737/journal.aavs/2015/3.12.634.648>
4. Aljubori, A., Idrus, Z., Soleimani, A. F., Abdullah, N., & Juan Boo, L. (2017). Response of broiler chickens to dietary inclusion of fermented canola meal under heat stress condition. *Italian Journal of Animal Science*, 16(4), 546-551. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1292830>
5. Altop, A., Güngör, E., & Erener, G. (2018). *Aspergillus niger* may improve nutritional quality of grape seed and its usability in animal nutrition through solid-state fermentation. *International Advanced Researches and Engineering Journal*, 2(3), 273-277.
6. Ashayerizadeh, A., Dastar, B., Shargh, M. S., Mahoonak, A. S., & Zerehdaran, S. (2018). Effects of feeding fermented rapeseed meal on growth performance, gastrointestinal microflora population, blood metabolites, meat quality, and lipid metabolism in broiler chickens. *Livestock Science*, 216, 183-190. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.08.012>
7. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), (2000). Official Method of Analysis of AOAC International 17th ed.
8. Beauvais, A., Fontaine, T., Aimaniananda, V., & Latgé, J. P. (2014). *Aspergillus* cell wall and biofilm. *Mycopathologia*, 178, 371-377. <https://doi.org/10.1007/s11046-014-9766-0>
9. Boroojeni, F. G., Senz, M., Kozłowski, K., Boros, D., Wisniewska, M., Rose, D., Manner, k., & Zentek, J. (2017). The effects of fermentation and enzymatic treatment of pea on nutrient digestibility and growth performance of broilers. *Animal*, 11(10), 1698-1707. <https://doi.org/10.1017/S1751731117000787>
10. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. <https://doi.org/10.1007/s11046-014-9766-0>
11. Cao, F. L., Zhang, X. H., Yu, W. W., Zhao, L. G., & Wang, T. (2012). Effect of feeding fermented Ginkgo biloba leaves on growth performance, meat quality, and lipid metabolism in broilers. *Poultry Science*, 91(5), 1210-1221. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01886>
12. Chachaj, R., Sembratowicz, I., Krauze, M., Stępniewska, A., Rusinek-Prystupa, E., Czech, A., ... & Ognik, K. (2019). The effect of fermented soybean meal on performance, biochemical and immunological blood parameters in turkeys. *Annals of Animal Science*, 19(4), 1035-1049. <https://doi.org/10.2478/aoas-2019-0040>
13. Chiang, G., Lu, W. Q., Piao, X. S., Hu, J. K., Gong, L. M., & Thacker, P. A. (2009). Effects of feeding solid-state fermented rapeseed meal on performance, nutrient digestibility, intestinal ecology and intestinal morphology of broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(2), 263-271.
14. De Araújo, W. A. G., Albino, L. F. T., Rostagno, H. S., Hannas, M. I., Pessoa, G. B. S., Messias, R. K. G., ... & Ribeiro Jr, V. (2014). Sunflower meal and enzyme supplementation of the diet of 21-to 42-d-old broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 16, 17-24. <https://doi.org/10.1590/1516-635x160217-24>
15. Drazbo, A., Ognik, K., Zaworska, A., Ferenc, K., & Jankowski, J. (2018). The effect of raw and fermented rapeseed cake on the metabolic parameters, immune status, and intestinal morphology of turkeys. *Poultry Science*, 97(11), 3910-3920. <https://doi.org/10.3382/ps/pey250>
16. Düsterhöft, E. M., Posthumus, M. A., & Voragen, A. G. J. (1992). Non- starch polysaccharides from sunflower (*Helianthus annuus*) meal and palm- kernel (*Elaeis guineensis*) meal—investigation of the structure of major

- polysaccharides. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 59(2), 151-160. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740590204>
17. Engberg, R. M., Hammershøj J, M., Johansen, N. F., Abousekken, M. S., Steenfeldt, S., & Jensen, B. B. (2009). Fermented feed for laying hens: effects on egg production, egg quality, plumage condition and composition and activity of the intestinal microflora. *British Poultry Science*, 50(2), 228-239. <https://doi.org/10.1080/0007166090273672>
 18. Falah, M., Dastar, B., Ganji, F., & Ashayerizadeh, A. (2016). Effects of fermented soybean meal and dietary protein level on performance and gastrointestinal microbial population in broiler chickens. *Animal Sciences Journal*, 28(109), 53-66. (In Persian)
 19. Fazhi, X., Lvmu, L., Jiaping, X., Kun, Q., Zhide, Z., & Zhangyi, L. (2011). Effects of fermented rapeseed meal on growth performance and serum parameters in ducks. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(5), 678-684.
 20. Gomi, K., (2014). *Aspergillus oryzae*. Encyclopedia of food microbiology, 92-96.
 21. Gungor, E., Altop, A., & Erenler, G. (2021). Effect of raw and fermented grape pomace on the growth performance, antioxidant status, intestinal morphology, and selected bacterial species in broiler chicks. *Animals*, 11(2), 364. <https://doi.org/10.3390/ani11020364>
 22. Hassaan, M. S., Soltan, M. A., Mohammady, E. Y., Elashry, M. A., El-Haroun, E. R., & Davies, S. J. (2018). Growth and physiological responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fed dietary fermented sunflower meal inoculated with *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus subtilis*. *Aquaculture*, 495, 592-601. <https://doi.org/10.3390/ani11020364>
 23. Hosseini, S. J., Kermanshahi, H., Nassirimoghaddam, H., Nabipour, A., Mirakzeh, M. T., Saleh, H., & Kazemifard, M. (2016). Effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol and hydroalcoholic extract of *Withania coagulans* fruit on bone mineralization and mechanical and histological properties of male broiler chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 18, 73-86. <https://doi.org/10.1590/18069061-2015-0016>
 24. Hu, Y., Wang, Y., Li, A., Wang, Z., Zhang, X., Yun, T., ... & Yin, Y. (2016). Effects of fermented rapeseed meal on antioxidant functions, serum biochemical parameters and intestinal morphology in broilers. *Food and Agricultural Immunology*, 27(2), 182-193. <https://doi.org/10.1080/09540105.2015.1079592>
 25. Jazi, V., Boldaji, F., Dastar, B., Hashemi, S. R., & Ashayerizadeh, A. (2017). Effects of fermented cottonseed meal on the growth performance, gastrointestinal microflora population and small intestinal morphology in broiler chickens. *British Poultry Science*, 58(4), 402-408. <http://dx.doi.org/10.1080/00071668.2017.1315051>
 26. Karkelanov, N., Chobanova, S., Dimitrova, K., Whiting, I. M., Rose, S. P., & Pirgozliev, V. (2020). Feeding value of de-hulled sunflower seed meal for broilers. *Acta Agrophysica*, (27), 31-38. <https://doi.org/10.31545/aagr/126566>
 27. Khakwani, A. A., Noor, S. H. A. R. I. F., Sadiq, M. U. H. A. M. M. A. D., Awan, I. U., Munir, M. U. H. A. M. M. A. D., Baloch, M. S., ... & Bakhsh, I. M. A. M. (2014). Impact of plant densities and NPK fertilization on growth and optimum economic return of sunflower. *Sarhad Journal of Agriculture*, 30(2), 157-164.
 28. Maeda, R. N., da Silva, M. M. P., Santa Anna, L. M. M., & Pereira, N. (2010). Nitrogen source optimization for cellulase production by *Penicillium funiculosum*, using a sequential experimental design methodology and the desirability function. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 161, 411-422. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8875-6>
 29. McCready, R. M., Guggolz, J., Silveira, V., & Owens, H. S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical Chemistry*, 22(9), 1156-1158. <https://doi.org/10.1021/ac60045a016>
 30. Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571-577. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>
 31. Moghaddam, H. N., Salari, S., Arshami, J. A. V. D., Golian, A., & Maleki, M. O. H. S. E. N. (2012). Evaluation of the nutritional value of sunflower meal and its effect on performance, digestive enzyme activity, organ weight, and histological alterations of the intestinal villi of broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 21(2), 293-304. <https://doi.org/10.3382/japr.2011-00396>
 32. Nasser, A. T., Rasoul-Amini, S., Morowvat, M. H., & Ghasemi, Y. (2011). Single cell protein: production and process. *American Journal of food Technology*, 6(2), 103-116.
 33. Niba, A. T., Beal, J. D., Kudi, A. C., & Brooks, P. H. (2009). Bacterial fermentation in the gastrointestinal tract of non-ruminants: influence of fermented feeds and fermentable carbohydrates. *Tropical Animal Health and Production*, 41, 1393-1407. <https://doi.org/10.1007/s11250-009-9327-6>
 34. Oseni, O. A., & Akindahunsi, A. A. (2011). Some phytochemical properties and effect of fermentation on the seed of *Jatropha curcas* L. *American Journal of food Technology*, 6(2), 158-165.
 35. Paulová, L., Patáková, P., & Brányik, T. (2013). Advanced fermentation processes. *Engineering aspects of food biotechnology*, 89-110.
 36. Pirsaraei, Z. A., Saki, A. A., Kazemi Fard, M., & Saleh, H. (2011). Effect of dietary tallow level on broiler breeder performance and hatching egg characteristics. *Journal of Animal and Veterinary. Advances*, 10, 1287-1291.

37. Rai, A. K., Swapna, H. C., Bhaskar, N., Halami, P. M., & Sachindra, N. M. (2010). Effect of fermentation ensilaging on recovery of oil from fresh water fish viscera. *Enzyme and Microbial Technology*, 46(1), 9-13. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2009.09.007>
38. Salar, R. K., Purewal, S. S., & Bhatti, M. S. (2016). Optimization of extraction conditions and enhancement of phenolic content and antioxidant activity of pearl millet fermented with *Aspergillus awamori* MTCC-548. *Resource-Efficient Technologies*, 2(3), 148-157. <https://doi.org/10.1016/j.reffit.2016.08.002>
39. SAS. (2004). Statistical Analysis Systems, Version 9.2. SAS Institute, Cary, NC, USA.
40. Sembratowicz, I., Chachaj, R., Krauze, M., & Ognik, K. (2020). The effect of diet with fermented soybean meal on blood metabolites and redox status of chickens. *Annals of Animal Science*, 20(2), 599-611. <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0009>
41. Senkoylu, N., & Dale, N. (2006). Nutritional evaluation of a high-oil sunflower meal in broiler starter diets. *Journal of Applied Poultry Research*, 15(1), 40-47. <https://doi.org/10.1093/japr/15.1.40>
42. Soest, P. V. (1963). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists*, 46(5), 829-835. <https://doi.org/10.1093/jaoac/46.5.829>
43. Sukumaran, R. K., Singhanian, R. R., Mathew, G. M., & Pandey, A. (2009). Cellulase production using biomass feed stock and its application in lignocellulose saccharification for bio-ethanol production. *Renewable Energy*, 34(2), 421-424. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2008.05.008>
44. Sun, H., Tang, J. W., Yao, X. H., Wu, Y. F., Wang, X., & Feng, J. (2012). Improvement of the Nutritional Quality of Cottonseed Meal by *Bacillus subtilis* and the Addition of Papain. *International Journal of Agriculture & Biology*, 14(4).
45. Teng, D., Gao, M., Yang, Y., Liu, B., Tian, Z., & Wang, J. (2012). Bio-modification of soybean meal with *Bacillus subtilis* or *Aspergillus oryzae*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 1(1), 32-38. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2011.08.005>
46. Tüzün, A. E., Olgun, O., Yıldız, A. Ö., & Şentürk, E. T. (2020). Effect of different dietary inclusion levels of sunflower meal and multi-enzyme supplementation on performance, meat yield, ileum histomorphology, and pancreatic enzyme activities in growing quails. *Animals*, 10(4), 680. <https://doi.org/10.3390/ani10040680>
47. Waititu, S. M., Sanjayan, N., Hossain, M. M., Leterme, P., & Nyachoti, C. M. (2018). Improvement of the nutritional value of high-protein sunflower meal for broiler chickens using multi-enzyme mixtures. *Poultry Science*, 97(4), 1245-1252. <https://doi.org/10.3382/ps/pex418>
48. Yano, Y., Oikawa, H., & Satomi, M. (2008). Reduction of lipids in fish meal prepared from fish waste by a yeast *Yarrowia lipolytica*. *International Journal of Food Microbiology*, 121(3), 302-307. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.012>
49. Yasar, S., uysal, C., & tosun, R. (2018). Nutritional Fortification of Sunflower Meal by *Bacillus Subtilis* ATCC PTA-6737 Fermentation. Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca. *Animal Science & Biotechnologies*, 75(2). <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-asb:2018.0008>
50. Yemm, E. W., Cocking, E. C., & Ricketts, R. E. (1955). The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst*, 80(948), 209-214. <https://doi.org/10.1039/AN9558000209>



The Effect of Vitamin D₃ and Vitamin C on Performance, Egg Quality and Hatchability of Broiler Breeder Hens

Reza Kanani¹, Ruhollah Kianfar^{2*}, Hossein Janmohammadi³, Woo Kyun Kim⁴, Majid Olyaei²

Received: 13-07-2022

Revised: 19-09-2022

Accepted: 19-10-2022

Available Online: 19-10-2022

How to cite this article:

Kanani, R., Kianfar, R., Janmohammadi, H., WK. Kim, and Olyaei, M. (2023). The effect of vitamin D₃ and vitamin C on performance, egg quality and hatchability of broiler breeder hens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 15(2), 271-283.

DOI: [10.22067/ijasr.2022.77625.1087](https://doi.org/10.22067/ijasr.2022.77625.1087)

Introduction: Vitamin D₃ is one of the important vitamins in calcium metabolism, which increases the active transport of calcium and phosphorus in the intestinal epithelium. However, the mechanism by which vitamin D₃ increases the absorption of calcium and phosphorus is not fully understood. The active form of vitamin D₃ or 1,25-hydroxycalciferol is transported to the nucleus of the intestinal cells. In the presence of 1, 25-hydroxycalciferol, a specific RNA is secreted from the cell nucleus, which is translated into a specific protein by the ribosomes, thereby increasing the uptake of calcium and phosphorus. The primary role of 1, 25-hydroxyvitamin D₃ in vertebrates in regulating calcium homeostasis is the direct action of 1,25-hydroxyvitamin D₃ on the gut, kidneys and bones by inhibiting the production of parathyroid hormone in the parathyroid glands. Vitamin C prevents stress by preventing the release of corticosteroid hormones, which can be effective for bird function, egg production and reducing mortality. In the liver, vitamin D₃ is converted into 25-hydroxycalciferol, which is later converted into calciferol hydroxylase (activated by vitamin C) in the kidneys by the enzyme 25-hydroxy molecule. This metabolite increases the absorption of calcium and phosphorus from the intestinal wall and renal tubules. The aim of this experiment is therefore the effect of vitamin D₃ and vitamin C on performance, egg quality and hatchability in broilers breeder hen at the end of the production period.

Materials and Methods: A total of 240 broiler breeder hens and 24 cocks (Ross 308) were distributed in a 2×2 factorial arrangement including two levels of vitamin D (3500 & 5500 IU) and two levels of vitamin C (0 & 150 mg/kg) with 6 replicate pens of 10 hens and one cock each. The experiment lasted for 12 weeks (from the age of 49 to 61 weeks), and during the trial, the performance traits production and hatchability were recorded. Every 28 days 4 eggs were evaluated for internal and external quality.

Results and Discussion: The results of the study showed that the main effect of vitamin D₃ had a significant impact on egg weight, with higher concentrations resulting in a reduction in egg weight. However, there was no significant effect on other performance parameters. The main effect of higher concentrations of vitamin D₃ was an increase in the number of hatching eggs, shell percentage, shell thickness, specific gravity of the eggs, a decrease in the percentage of egg breakage. However, this effect was not significant for other parameters. Increasing the level of 1,25 hydroxycalciferol significantly increased plasma calcium levels, which led to increased renal 1-alpha-hydroxylase activity, envelope secretion, reduced oocyte rupture, resulting in increased hatch fertility. The main effect of vitamin C significantly increased production percentage and reduced feed conversion and feed consumption per egg. However, there was no significant effect on other parameters. Addition of vitamin C significantly increased external characteristics of the eggs, including shell proportion, shell thickness, shell ash and phosphorus, number of hatching eggs, but reduced the number of broken eggs. However, there was no significant effect on internal parameters, except for yolk color. The use of vitamin C activates the enzyme 25-hydroxycholecalciferol hydroxylase to produce 1,25 hydroxycalciferol, which increases calcium absorption from the intestinal wall and reduces the number of ruptured eggs. Regarding the interaction of different levels of vitamin

1, 2 and 3- Ph.D. Student, Associate Professor and Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, Respectively.

4- Professor, Department of Poultry Sciences, college of Agricultural and environmental science, University of Georgia, Athens.

*Corresponding Author's Email: Rkianfar@tabrizu.ac.ir

D₃ and vitamin C, the results showed that higher levels of vitamin D₃ and vitamin C increased production percentage, egg mass, number of hatching eggs, shell thickness, phosphorus and FCR. Intake in the egg removed significantly increased, but the number of broken eggs decreased.

Conclusion: In general, according to the results of the present experiment, it can be concluded that the use of vitamin C in an amount of 150 mg / kg with 5500 IU of vitamin D₃ can increase the production percentage, increase the mass of eggs and improve the feed conversion ratio. It can also increase shell thickness and the number of chickens produced weekly and over the period, decrease the number of broken eggs, increase the number of hatching eggs, reduce feed intake per egg and feed intake per chicken at the end of the broiler breeder production period.

Keywords: Calciferol, Calcium, Eggs, Hatching, Egg shell quality.

تأثیر ویتامین D₃ و ویتامین C بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ و جوجه‌درآوری در مرغان مادر گوشتی

رضا کنعانی^۱، روح‌اله کیانفر^{۲*}، حسین جانمحمدی^۳، و وکیون کیم^۴، مجید علیایی^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۲۷

چکیده

آزمایشی به منظور بررسی تأثیر ویتامین D₃ و ویتامین C بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ و جوجه‌درآوری در مرغان مادر گوشتی انجام گرفت. تعداد ۲۴۰ قطعه مرغ و ۲۴ قطعه خروس مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ به مدت ۱۲ هفته (از سن ۴۹ تا ۶۱ هفتگی) در قالب طرح کاملاً تصادفی به شکل فاکتوریل ۲×۲ شامل دو سطح ویتامین D₃ (۳۵۰۰ و ۵۵۰۰ واحد بین‌المللی) و دو سطح ویتامین C (صفر و ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در چهار تیمار، شش تکرار و به‌ازای هر تکرار ۱۰ قطعه مرغ و یک قطعه خروس استفاده شد. در طول دوره آزمایش، صفات عملکرد تولید و جوجه‌درآوری ثبت شد و هر ۲۸ روز یک‌بار از هر تکرار تعداد چهار عدد تخم مرغ برای بررسی کیفیت داخلی و خارجی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثر اصلی ویتامین D₃ وزن تخم مرغ را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد و باعث کاهش وزن تخم مرغ در سطح بالاتر شد ($P < 0.05$). اثر اصلی ویتامین D₃ به‌طور معنی‌داری در سطح ۵۵۰۰ واحد D₃ باعث افزایش تعداد تخم مرغ قابل جوجه‌کشی، در صد پوسته، ضخامت پوسته، وزن مخصوص تخم مرغ و باعث کاهش در صد شکستگی تخم مرغ شد ($P < 0.05$). افزودن ۱۵۰ میلی‌گرم ویتامین C به‌طور معنی‌داری باعث افزایش در صد تولید و کاهش ضریب تبدیل خوراک و کاهش مصرف خوراک به‌ازای هر تخم مرغ و هر جوجه شد ($P < 0.05$). همچنین افزودن ویتامین C به‌میزان ۱۵۰ میلی‌گرم به‌طور معنی‌داری درصد پوسته، ضخامت پوسته، خاکستر و فسفر پوسته تخم مرغ، تعداد تخم مرغ قابل جوجه‌کشی، تعداد جوجه‌های تولیدی به‌صورت هفتگی و کل دوره را افزایش و تعداد تخم مرغ‌های شکسته را کاهش داد ($P < 0.05$). اثر متقابل سطوح مختلف ویتامین D₃ و ویتامین C نشان داد که سطح ۵۵۰۰ واحد ویتامین D₃ و افزودن ۱۵۰ میلی‌گرم ویتامین C به‌طور معنی‌داری باعث افزایش درصد تولید، گرم تخم مرغ تولیدی، تعداد تخم مرغ قابل جوجه‌کشی، ضخامت و فسفر پوسته و باعث کاهش ضریب تبدیل خوراک، مصرف خوراک به‌ازای هر تخم مرغ و تعداد تخم مرغ شکسته شد ($P < 0.05$). بنابراین، استفاده از ۱۵۰ میلی‌گرم ویتامین C و ۵۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃ می‌تواند باعث افزایش درصد تولید، گرم تخم مرغ تولیدی، ضخامت پوسته، کاهش تعداد تخم مرغ شکسته و بهبود ضریب تبدیل غذایی در اواخر دوره تولید مرغان مادر گوشتی باشد.

واژه‌های کلیدی: تخم مرغ، جوجه‌کشی، کلسیم، کوله کلسیفرول، کیفیت پوسته.

مقدمه

شکل فعال ویتامین D₃ یا ۲۵(OH)D₃ هیدوکسی کوله کلسیفرول به هسته سلول‌های روده منتقل می‌شود. در حضور ۲۵(OH)D₃ هیدوکسی کوله کلسیفرول، RNA ویژه‌ای توسط هسته ترشح شده که توسط ریبوزوم‌ها به پروتئین مخصوصی ترجمه می‌شود، بنابراین منجر به افزایش جذب کلسیم و فسفر می‌گردد (Wasserman, 2004).

ویتامین D₃ یکی از ویتامین‌های مهم در متابولیسم کلسیم می‌باشد که انتقال فعال کلسیم و فسفر را در اپیتلیوم روده افزایش می‌دهد. هرچند مکانیسمی که به‌واسطه آن افزایش جذب کلسیم و فسفر توسط ویتامین D₃ صورت می‌گیرد، کاملاً شناخته نشده است.

۱، ۲ و ۳- دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۴- استاد، گروه علوم طیور، کالج علوم کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه جورجیا، آتن.

(Email: Rkianfar@tabrizu.ac.ir)

(*)- نویسنده مسئول

تبع آن افزایش کلسیم خون گردد. در کبد ویتامین D₃ به ۲۵ - هیدروکسی کوله کلسیفرول تبدیل می‌شود که بعداً در کلیه‌ها این ماده توسط آنزیم ۲۵ - هیدروکسی کوله کلسیفرول هیدروکسیلاز (که توسط ویتامین C فعال می‌گردد) به ۱ و ۲۵-دی هیدروکسی کوله کلسیفرول تبدیل می‌شود که این متابولیت باعث افزایش جذب کلسیم و فسفر از دیواره روده و نیز توبول‌های کلیوی می‌شود (Franchini et al., 1993). گزارش شده است که استفاده از ویتامین C می‌تواند باعث افزایش وزن، مصرف غذا و بهبود ضریب تبدیل غذایی در شرایط تنش گرمایی و سرمایی گردد (Kucuk et al., 2003; Sahin et al., 2003). گزارش شده است که استفاده از ویتامین C تحت شرایط استرس محیطی تأثیر مفیدی بر کیفیت داخلی و خارجی تخم مرغ دارد (Cheng et al., 1990; Zapata & Gernat, 1995). با توجه به اینکه جذب کلسیم در اواخر دوره تولید کاهش می‌یابد و ویتامین D₃ و ویتامین C از عوامل موثر بر جذب کلسیم می‌باشند، به همین دلیل هدف از طرح این آزمایش تأثیر ویتامین D₃ و ویتامین C بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ و جوجه‌درآوری در مرغان مادر گوشتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در مجموع، ۲۴۰ قطعه مرغ مادر گوشتی راس ۳۰۸ و ۲۴ قطعه خروس از سن ۴۹ تا ۶۱ هفتگی به مدت ۱۲ هفته در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل ۲×۲ در چهار تیمار شامل دو سطح ویتامین D₃ (۳۵۰۰ و ۵۵۰۰ واحد بین‌المللی) و دو سطح ویتامین C (۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، شش تکرار و به‌ازای هر تکرار ۱۰ قطعه مرغ و یک قطعه خروس در پن‌های آزمایشی به ابعاد (۱/۵×۳ m²) قرار گرفتند. پرمیکس ویتامین D₃ (هر کیلوگرم پرمیکس حاوی پنج میلیون واحد بین‌المللی در کیلوگرم و ۴۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان) و پرمیکس ویتامین C (هر گرم پرمیکس حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم ویتامین C) در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت، یک جیره پایه بر اساس توصیه سویه راس ۳۰۸ سال ۲۰۱۸ تنظیم شد، سپس افزودنی‌های مد نظر جایگزین بخش خنثی جیره شدند (جدول ۱). پرندگان در محدوده بین ۲۱ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد، با میانگین ۲۴ درجه سانتی‌گراد در طول آزمایش نگهداری شده و به‌طور آزاد به آب دسترسی داشته و با مقدار محدود خوراک تغذیه شدند و یک برنامه نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی برای همه گروه‌ها در طول آزمایش اعمال شد. همه پرندگان به شیوه‌های مدیریتی مشابهی با پیروی از راهنمای مدیریت پرورش راس ۳۰۸ نگهداری شدند. سالن آزمایشی مجهز به دانخوری کانال (تراف) برای مرغ‌ها، دانخوری بشقابی برای خروس‌ها، آبخوری‌های نیپل و لانه‌های تخم‌گذاری برای جمع‌آوری دستی تخم

علی‌رغم اینکه CaBP^۱ در جذب کلسیم دخالت دارد، به نظر می‌رسد که انتقال کلسیم یک فرآیند پیچیده بوده و احتمالاً مستلزم عوامل دیگری است که به همراه CaBP فعالیت می‌کنند (Friedl et al., 1977). چنین به نظر می‌رسد که کلسیم توسط دو سیستم انتقال فعال و مکانیسم غیر قابل اشباعی که می‌تواند توسط انتشار تسهیل شده صورت گیرد، از روده به درون سلول‌های مخاطی جذب شود. ظاهراً هر دو سیستم وابسته به ویتامین D₃ هستند. مانند سایر غشاهای یک ATPase وابسته به کلسیم و آلکالین فسفاتاز در حضور ویتامین D₃ افزایش می‌یابد. چندین پروتئین نیز که ساخت آن‌ها وابسته به ویتامین D₃ است، گزارش شده‌اند. نقش اساسی ۱،۲۵-هیدروکسی ویتامین D₃ در مهره‌داران برای تنظیم هموستازی کلسیم، به صورت اثر مستقیم ۱،۲۵-هیدروکسی ویتامین D₃ بر روده، کلیه و استخوان‌ها به‌واسطه مهار تولید هورمون پاراتورمون در غدد پاراتیروئید است (Pike et al., 2007). گزارش شده است، زمانی که محتوای ویتامین D₃ جیره مرغ مادر و به تبع آن در زرده تخم مرغ کم باشد، روند جوجه‌کشی مختل خواهد شد، چرا که در حمل‌ونقل کلسیم و انتقال به پوسته اختلال ایجاد خواهد کرد (Scott et al., 1982). ویتامین C یکی از عوامل تغذیه‌ای است که می‌تواند بر عملکرد طيور و نیز کیفیت تخم مرغ مؤثر واقع شود، این ویتامین یک ویتامین محلول در آب می‌باشد و یکی از وظایف اصلی آن خاصیت آنتی‌اکسیدانی است و در غلظت‌های بالا در حضور مقادیر نسبتاً پایین برخی از یون‌های فلزی می‌تواند رادیکال‌های آزاد تولید شده در سلول‌ها را از بین ببرد (Mc Dowell, 1989). استفاده از ویتامین C در شرایط تنش‌زا بسیار مورد مطالعه قرار گرفته است و نتیجه نیز حاکی از بهبود عملکرد و تولید تخم مرغ در اثر مصرف این ویتامین می‌باشد (Coates, 1984; Hornig et al., 1984). اما استفاده از این ویتامین و نقش آن در شرایط طبیعی پرورش همواره کمتر مورد توجه بوده است. ویتامین C با پیشگیری از ترشح هورمون‌های کورتیکواستروئیدی از بروز تنش جلوگیری می‌کند که این می‌تواند بر عملکرد پرنده، تولید تخم مرغ و نیز در کاهش تلفات مؤثر واقع شود (Mc Dowell, 1989). آسیب‌های اکسیداسیونی موضعی باعث تغییر ساختار پروتئین‌ها می‌گردند که این امر می‌تواند در فعالیت آنزیم‌های پانکراس تظاهر پیدا کرده و از فعالیت صحیح آن‌ها پیشگیری نماید از این‌رو وجود یک آنتی‌اکسیدان مثل ویتامین C می‌تواند با جلوگیری از غیرطبیعی شدن پروتئین‌ها در اثر اکسیداسیون، هضم مواد مغذی و در نتیجه، راندمان استفاده از غذا را بالا ببرد (Ciftici et al., 2005). در مرغ‌های مادر گوشتی به‌دلیل تولید تخم مرغ بحث جذب کلسیم و استفاده از آن در پوسته مطرح می‌شود. استفاده از ویتامین C می‌تواند باعث افزایش جذب و به

گذاشته شده سه بار در طول آزمایش هر چهار هفته یکبار مورد ارزیابی قرار گرفت. تا زمان ارسال تخم مرغ به دستگاه جوجه‌کشی، تخم مرغ‌ها حداکثر به مدت پنج روز در یک اتاق تحت کنترل محیطی (در دمای ۱۹ تا ۲۱ درجه سانتی‌گراد و ۶۰ تا ۸۰ درصد رطوبت نسبی) نگهداری شدند. ۱۵ تخم مرغ به‌ازای هر تکرار (یک سینی برای هر تکرار) انکوبه شدند. تخم مرغ‌ها در دستگاه CASP (مدل Mg124، CASP، Amparo، SP، برزیل) در دمای ۳۷/۵ درجه سلسیوس و ۵۲/۵ درصد رطوبت نسبی در سینی‌های نشانه‌گذاری شده در هر تکرار انکوبه شدند و به‌طور تصادفی در چرخ‌های جوجه‌کشی توزیع شدند. در روز ۱۸، تخم مرغ‌ها به‌هچر (CASP، مدل Ug21، CASP، Amparo، SP، برزیل) در دمای ۳۶/۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۵ درصد تا زمان خروج از تخم مرغ منتقل شدند. جوجه‌ها از هچر خارج، شمارش شدند. در صد جوجه‌درآوری به صورت در صد جوجه‌های هچر شده نسبت به تخم مرغ‌های گذاشته شده در دستگاه جوجه‌کشی به‌دست آمد. هر جوجه به صورت بصری برای کیفیت جوجه مورد بررسی قرار گرفت و به‌عنوان جوجه درجه اول یا دوم طبقه‌بندی شد. جوجه‌های درجه یک به‌صورت تمیز، خشک، عاری از آلودگی، بدون تغییر شکل (بدون ضایعات پوستی، منقار خوش فرم، فرم پا خوب) و با ناف کاملاً بسته، بدون کیسه زرده از جوجه‌ها تعریف شدند (Bueno et al., 2016).

نتایج و بحث

اثرات ویتامین D3 و ویتامین C بر عملکرد مرغان مادر گوشتی

اثرات ویتامین D3 و ویتامین C بر عملکرد مرغان مادر گوشتی در جدول ۲ آورده شده است. اثر متقابل سطوح مختلف ویتامین D3 و ویتامین C تأثیر معنی‌داری بر توده تخم مرغ، درصد تولید تخم مرغ، ضریب تبدیل خوراک، و مصرف خوراک به‌ازای هر تخم مرغ نشان داد. بیشترین توده تخم مرغ و درصد تولید در تیمار سطح پایین ویتامین D3 همراه با افزودن ۱۵۰ میلی‌گرم ویتامین C مشاهده شد. همچنین کمترین ضریب تبدیل خوراک و کمترین مصرف خوراک به‌ازای هر تخم مرغ در تیمار ۳۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3 + ۱۵۰ میلی‌گرم ویتامین C بود. اثر اصلی ویتامین D3 در سطوح بالاتر به‌طور معنی‌داری باعث افزایش گرم تخم مرغ تولیدی، درصد تولید و کاهش ضریب تبدیل خوراک، مصرف خوراک به‌ازای هر جوجه و مصرف خوراک به‌ازای هر تخم مرغ شد. اما افزایش سطح ویتامین D3 در جیره به میزان ۵۵۰۰ واحد باعث کاهش وزن تخم مرغ (از ۶۶/۵۴ به ۶۵/۸۲ گرم) شد ($P < 0.05$) که با نتایج (Browning & Cowieson, 2015) مطابقت ندارد.

مرغ بود. نور مصنوعی توسط لامپ‌های LED تأمین می‌شد. پرندها به‌صورت جداگانه توزین شده و در پن‌ها توزیع شدند. در طول دوره آزمایش، تخم مرغ‌ها هفت بار در روز (۰۸:۰۰، ۰۹:۰۰، ۱۰:۰۰، ۱۱:۰۰، ۱۲:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۱۶:۰۰ ساعت) جمع‌آوری شدند و به‌عنوان تخم مرغ قابل جوجه‌کشی، ترک خورده و شکسته طبقه‌بندی شدند.

در طول آزمایش، تعداد و وزن تخم مرغ تولیدی هر پن ثبت شد، و سپس با استفاده از رابطه‌های راجع گرم تخم مرغ تولیدی (به‌صورت درصد تخم‌گذاری ضرب در میانگین وزن تخم مرغ)، درصد تولید تخم مرغ به صورت روز مرغ و ضریب تبدیل خوراک (به‌عنوان گرم خوراک مصرف شده به‌ازای هر گرم تخم مرغ)، مقدار خوراک مصرفی برای تولید هر عدد تخم مرغ و هر قطعه جوجه و همچنین تعداد جوجه تولیدی به‌ازای هر مرغ نیز محاسبه شد.

خصوصیات تخم مرغ (وزن و شاخص شکل تخم مرغ) و کیفیت پوسته تخم مرغ (وزن مخصوص تخم مرغ، وزن پوسته تخم مرغ نسبت به وزن کل تخم مرغ و ضخامت پوسته تخم مرغ)، پی‌اچ سفیده و پی‌اچ زرده، رنگ زرده، درصد سفیده و درصد زرده از هر تکرار چهار تخم مرغ هر ۲۸ روز یک‌بار اندازه‌گیری شد. و شاخص زرده نیز طبق فرمول زیر، از تقسیم قطر زرده به ارتفاع زرده ضربدر ۱۰۰ حاصل شد (Funk, 1948)

$$\text{شاخص زرده} = \frac{\text{قطر زرده}}{\text{ارتفاع زرده}} \times 100$$

همچنین واحد هاو (Haugh, 1937) طبق معادله زیر محاسبه شد.

$$HU = 100 \log (AH - 1.7EW^{0.37} + 7.57)$$

HU: واحد هاو AH: ارتفاع سفیده برحسب میلی‌متر و EW: وزن تخم مرغ برحسب گرم می‌باشند.

وزن مخصوص تخم مرغ با استفاده از روش فلوتاسیون (غوطه‌ور) تعیین شد (Holder & Bradford, 1979). شاخص شکل تخم مرغ با اندازه‌گیری عرض و طول تخم مرغ با کولیس برای محاسبه نسبت عرض به طول تعیین شد. برای تعیین پارامترهای پوسته تخم مرغ، تخم مرغ‌ها به صورت جداگانه شناسایی و شکسته شدند. پوسته‌های تخم مرغ در زیر آب جاری شسته و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند. سپس پوسته‌های تخم مرغ در ترازوی دقیق دیجیتالی (۰/۰۰۱) گرم توزین و وزن نسبی آن‌ها محاسبه شد. برای محاسبه میانگین ضخامت پوسته تخم مرغ، ضخامت پوسته تخم مرغ در سه ناحیه مختلف با دستگاه میکروسنج مخصوص با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

فراسنجه‌های مرتبط با جوجه‌کشی

فراسنجه‌های مرتبط با جوجه‌کشی با استفاده از تخم مرغ‌های

جدول ۱- مواد تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره پایه
Table 1- Ingredients and chemical composition of basal diet

اجزای جیره Ingredients	(%)	مواد مغذی Nutrients	آنالیز Analysis (%)
جو Barley	5	انرژی قابل سوخت‌وساز (کیلوکالری در کیلوگرم) AMEn (Kcal/kg)	2800
دانه ذرت Corn, grain	60.38	پروتئین خام Crude protein	13
کنجاله سویا Soy meal (44%)	16.58	فیبر خام Crude fiber	2.563
سبوس گندم Wheat bran	4.75	کلسیم Calcium	3.4
روغن سویا Soybean oil	2	فسفر کل Total phosphorus	0.533
دی‌کلسیم فسفات Dical. phos.	1.09	فسفر قابل دسترس Avail. phosphorus	0.32
سدیم بی‌کربنات NaHCO ₃	0.41	پتاسیم Potassium	0.606
آهک Limestone	3.02	کلر Chlorine	0.18
صدف دریایی Oyster shells	5.58	سدیم Sodium	0.23
نمک Common salt	0.22	کولین Choline	1.484
پرمیکس ویتامینه ^۱ Vitamin premix ¹	0.25	آرژنین ARG	0.906
پرمیکس مواد معدنی ^۲ Mineral premix ²	0.25	لایزین LYS	0.72
دی‌ال - متیونین DL-methionine	0.18	متیونین MET	0.414
ال - لایزین هیدروکلراید L-lysine HCl	0.01	اسید آمینه گوگردار کل TSAA	0.667
کولین کلوراید - ۷۰٪ Choline Cl -70%	0.05	ترئونین THR	0.53
ال - ترئونین L-threonine	0.01	تریپتوفان TRP	0.183
ماده خنثی Filler (sand)	0.2	تعادل آنیون کاتیون جیره DCAB (meq/kg)	210
کل Total	100		

^۱ پرمیکس ویتامینه جیره حاوی ۱۲۲۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۳۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۲۱/۶ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۲/۹ میلی‌گرم ویتامین K₃، ۳/۲ میلی‌گرم ویتامین B₁، ۱۲/۶ میلی‌گرم ویتامین B₂، ۵/۵ میلی‌گرم ویتامین B₆، ۰/۰۴۶ میلی‌گرم ویتامین B₁₂، ۲۰ میلی‌گرم پانتوتنیک اسید، ۴۰ میلی‌گرم نیاسین، ۴ میلی‌گرم اسید فولیک، ۰/۲۹ میلی‌گرم بیوتین.

^۲ پرمیکس مواد معدنی حاوی ۰/۲۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۲۰ میلی‌گرم مس، ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۱۱۵ میلی‌گرم منگنز، ۱۰۰ میلی‌گرم روی، ۲ میلی‌گرم ید.

^۱ Vitamin premix: vitamin A 12,200 IU; vitamin D₃ 3,500 IU; vitamin E 21.6 IU; vitamin K₃ 2.9 mg; vitamin B₁ 3.2 mg; vitamin B₂ 12.6 mg; vitamin B₆ 5.5 mg; vitamin B₁₂ 0.046 mg; pantothenic acid 20 mg; niacin 40 mg; folic acid 4 mg; biotin 0.29 mg

^۲ Mineral premix selenium 0.20 mg; copper 20 mg; iron 50 mg; manganese 115 mg; zinc 100 mg; iodine 2 mg

(2010). همچنین موافق با نتایج حاضر، در تحقیقی دیگر مشاهده شد که افزودن ۲۰۰۰ IU/Kg ویتامین D₃ در سن ۸۰ الی ۹۴ در جیره مرغ‌ان تخم‌گذار اثر مثبتی بر عملکرد تولید نداشت (al., 2014). با اینکه درصد تولید تخم مرغ در سطوح بالای

همچنین در آزمایشی گزارش شد که پرندگانی که جیره آن‌ها شامل ۴۲۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃ بود نسبت به پرندگانی که از سطح صفر و ۳۵۰۰ ویتامین تغذیه شدند، دارای تخم مرغ‌های سنگین‌تری در ۷۶ تا ۷۸ هفتگی بود (Kazemifard et al.,

عملکرد پرنده داشت (Volker & Weiser, 1993; Zapata *et al.*, 1995) که با نتایج حاضر مطابقت دارد. در تحقیقی گزارش شده است که مصرف ویتامین C تحت شرایط طبیعی تأثیری بر صفات عملکردی ندارد (Ajuwon *et al.*, 2002). همچنین گزارش شده است که در شرایط طبیعی، مصرف این ویتامین تأثیری بر مصرف غذا، تولید تخم مرغ و نیز ضریب تبدیل غذایی در مرغ‌های تخم‌گذار ندارد (Newman & Leeson, 1997; Keshavarz, 1996; Newman & Leeson, 1999; Balnave & Zhang, 1992). در تحقیقی، گزارش شده است که مصرف ویتامین C بر وزن تخم مرغ در شرایط پرورشی طبیعی مفید می‌باشد (Orban *et al.*, 1993). ضمن اینکه این نکته نیز بیان شده است که استفاده از ویتامین C تأثیری بر وزن تخم مرغ در شرایط طبیعی ندارد (Amaefule *et al.*, 2004). اما اثر اصلی ویتامین C تأثیر معنی‌داری بر وزن تخم مرغ و مصرف خوراک به‌ازای هر جوجه نشان نداد.

ویتامین D₃ بیشتر بود، اما به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نشان نداد. اثر اصلی ویتامین C تأثیر معنی‌داری بر عملکرد تولید داشت که باعث افزایش توده تخم مرغ، افزایش درصد تولید، کاهش ضریب تبدیل خوراک، کاهش مصرف خوراک به‌ازای هر تخم مرغ و کاهش مصرف خوراک به‌ازای هر جوجه شد.

ویتامین C می‌تواند با احیای آهن سه ظرفیتی به دو ظرفیتی باعث افزایش جذب آن از روده شود که بدین وسیله قادر خواهد بود، مقاومت به عفونت‌ها را افزایش داده و در نتیجه، باعث بهبود عملکرد پرنده گردد؛ همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن نیز در بهبود عملکرد مطرح می‌باشد (Ciftici *et al.*, 2005). نشان داده شده است که افزودن ۵۰۰ ppm ویتامین C به جیره مرغان تخم‌گذار وزن تخم مرغ را افزایش داد (Benabdeljelil & Jensen, 1990). همچنین مشاهده شده است که افزودن ویتامین C به جیره تأثیر مثبتی بر

جدول ۲- اثرات اصلی و متقابل ویتامین D₃ و ویتامین C بر عملکرد مرغان مادر گوشتی

Table 2- Main and interaction effects of vitamin D₃ and vitamin C on performance in broiler breeder hens

تیمارها Treatments	وزن تخم مرغ Egg weight (g)	توده تخم مرغ Egg mass (g)	درصد تولید تخم مرغ Egg production (%)	ضریب تبدیل خوراک FCR	مصرف خوراک به‌ازای تولید هر جوجه Feed per chicken (g)	مصرف خوراک به‌ازای تولید هر تخم مرغ Feed per egg (g)
ویتامین D ₃	3500	66.54 ^a	48.49	70.72	3.36	2690.52
Vitamin D ₃	5500	65.82 ^b	48.87	71.59	3.33	256.46
P-value	0.008	0.494	0.205	0.478	0.198	0.192
SEM	0.150	0.309	0.404	0.021	2.15	1.25
ویتامین C	0	65.97	47.95 ^b	70.26 ^b	3.40 ^a	262.24 ^a
Vitamin C	150 mg	66.39	49.41 ^a	72.05 ^a	3.30 ^b	254.75 ^b
P-value	0.106	0.014	0.014	0.013	0.023	0.015
SEM	0.174	0.389	0.468	0.026	2.15	1.50
اثرات متقابل Interaction						
3500D ₃ ×0 C	66.48	47.15 ^b	68.90 ^b	3.46 ^a	267.05	236.76 ^a
3500 D ₃ ×150 C	66.60	49.83 ^a	72.55 ^a	3.27 ^b	253.99	225.02 ^b
5500D ₃ × 0 C	65.46	48.75 ^{ab}	71.63 ^a	3.34 ^b	257.42	227.79 ^b
5500D ₃ × 150 C	66.18	49.00 ^a	71.55 ^a	3.33 ^b	255.51	228.25 ^b
SEM	0.246	0.550	0.662	0.038	3.04	2.13
P-value	0.237	0.038	0.010	0.035	0.082	0.009

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

Means with different superscripts within a column differ significantly (P<0.05).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

SEM: Standard error of the means

جوجه‌های تولیدی به‌ازای هر مرغ به‌صورت هفتگی و کل دوره و همچنین بر کیفیت جوجه تأثیر معنی‌داری نشان نداد. اما بر تخم مرغ قابل جوجه‌کشی و تخم مرغ شکسته معنی‌دار بود. که بیشترین تخم مرغ قابل جوجه‌کشی و کمترین تخم مرغ شکسته مربوط به تیمار سطح بالای ویتامین D₃ همراه با افزودن ویتامین C بود. و کمترین تخم مرغ قابل جوجه‌کشی و بیشترین تخم مرغ شکسته مربوط به

اثرات ویتامین D₃ و ویتامین C بر جوجه‌درآوری و کیفیت جوجه در مرغان مادر گوشتی

اثرات ویتامین D₃ و ویتامین C بر جوجه‌درآوری و کیفیت جوجه در مرغان مادر گوشتی در جدول ۳ آورده شده است. اثر متقابل سطوح مختلف ویتامین D₃ و ویتامین C بر درصد جوجه‌درآوری، تعداد

(*et al.*, 1990). همچنین در پژوهشی گزارش شد که افزودن ویتامین D₃ به جیره مرغان مادر تخم‌گذار مرگ و میر جنینی را کاهش داد و درصد جوجه‌درآوری نیز افزایش یافت (*Duarte et al.*, 2015). در آزمایشی دیگر گزارش دادند که افزودن مکمل کوله‌کلسیفرول هیدروکسیله به جیره مرغان مادر گوشتی درصد جوجه‌درآوری را بهبود بخشید و تولید تخم مرغ نیز بیشتر شد (*Coto et al.*, 2010). اثر اصلی ویتامین C تأثیر معنی‌داری بر تعداد تخم مرغ قابل جوجه‌کشی، تعداد تخم مرغ شکسته، تعداد جوجه‌های تولیدی به صورت هفتگی و کل دوره نشان داد که افزودن ویتامین C باعث کاهش شکستگی تخم مرغ، افزایش تخم مرغ قابل جوجه‌کشی و افزایش تعداد جوجه‌های تولیدی به صورت هفتگی و کل دوره شد. استفاده از ویتامین C می‌تواند از طریق فعال کردن آنزیم ۲۵-هیدروکسی کوله‌کلسیفرول هیدروکسیلاز ۲۵-هیدروکسی کوله‌کلسیفرول را به ۱ و ۲۵-دی هیدروکسی کوله‌کلسیفرول تبدیل می‌کند که این متابولیت باعث افزایش جذب کلسیم از دیواره روده شده و در نتیجه، باعث کاهش تعداد تخم مرغ شکسته خواهد شد (*Franchini et al.*, 1993). اما بر درصد جوجه‌درآوری، تعداد جوجه‌های تولیدی به‌ازای هر مرغ به صورت هفتگی و کل دوره و همچنین بر کیفیت جوجه تأثیر معنی‌داری نشان نداد.

تیمار سطح پایین ویتامین D₃ بدون افزودن ویتامین C بود. اثر اصلی ویتامین D₃ تأثیر معنی‌داری بر تخم مرغ قابل جوجه‌کشی و تخم مرغ غیر قابل جوجه‌کشی (شکسته) نشان داد. اما بر درصد جوجه‌درآوری، تعداد جوجه‌های تولیدی به‌ازای هر مرغ به صورت هفتگی و کل دوره و همچنین بر کیفیت جوجه تأثیر معنی‌داری نشان نداد. در مقابل نتایج حاضر گزارش شده که افزایش سطوح ویتامین D₃ در جیره مرغ‌های مادر، تولید تخم مرغ و درصد جوجه‌درآوری را افزایش و مرگ و میر جنینی را کاهش می‌دهد (*Abdulahim et al.*, 1979). این در حالی است که در مطالعه‌ای نشان داده شد که تغذیه ۱-آلفا کوله‌کلسیفرول به مدت ۲۵ هفته در جیره مرغ‌های مادر، کمبود ویتامین D₃ را جبران کرده و اثر نامطلوبی بر میزان درصد تولید و باروری نداشت، ولی به‌طور قابل توجهی منجر به کاهش درصد جوجه‌درآوری شد و دلیل آن توانایی بسیار کم مرغ برای انتقال ۱-آلفا کوله‌کلسیفرول به تخم مرغ گزارش شد (*Soares et al.*, 1979). از طرفی، افزایش میزان ۱ و ۲۵-دی هیدروکسی کوله‌کلسیفرول باعث افزایش قابل توجه میزان کلسیم پلاسما می‌شود در نتیجه، فعالیت ۱-آلفا هیدروکسیلاز کلیوی را بالا برده و باعث افزایش معنی‌دار ترشح پوستره و کاهش شکستگی تخم مرغ خواهد شد که این امر میزان باروری و جوجه‌درآوری را بالا می‌برد (*Harms*

جدول ۳- اثرات اصلی و متقابل ویتامین D₃ و ویتامین C بر جوجه‌درآوری و کیفیت جوجه در مرغان مادر گوشتی

Table 3- Main and interaction effects of vitamin D₃ and vitamin C on hatchability and chicken quality in broiler breeder hens

تیمارها Treatments	تخم مرغ قابل جوجه- کشی Settable eggs (%)	تخم مرغ غیر قابل جوجه‌کشی (شکسته) Unsettable eggs (%)	درصد جوجه‌درآوری Hatchabil ity (%)	تعداد جوجه‌های تولیدی هر مرغ در ۱۲ هفته Chicken per hen for 12 weeks	تعداد جوجه‌های تولیدی هر مرغ بر هفته chickens per hen/week	درجه‌بندی جوجه Chicken grading (%)	
						درجه یک Grade 1	درجه دو Grade 2
ویتامین D ₃	3500	97.12 ^b	2.87 ^a	91.20	52.68	4.39	89.50
Vitamin D ₃	5500	97.70 ^a	2.29 ^b	90.93	53.47	4.45	91.33
P-value		0.001	0.001	0.654	0.217	0.225	0.427
SEM		0.106	0.106	0.428	0.439	0.036	1.59
ویتامین C	0	97.05 ^b	2.94 ^a	91.20	52.30 ^b	4.36 ^b	90.67
Vitamin C	150 mg	97.77 ^a	2.22 ^b	90.94	53.85 ^a	4.48 ^a	90.17
P-value		0.0001	0.0001	0.672	0.022	0.022	0.827
SEM		0.106	0.106	0.428	0.439	0.036	1.59
اثرات متقابل Interaction							
3500 D ₃ ×0 C		96.60 ^b	3.40 ^a	91.72	51.35	4.28	90.84
3500 D ₃ ×150 C		97.65 ^a	2.35 ^b	90.70	54.01	4.50	88.17
5500 D ₃ × 0 C		97.50 ^a	2.50 ^b	90.68	53.56	4.44	90.50
5500 D ₃ × 150 C		97.90 ^a	2.10 ^b	91.18	53.68	4.47	92.17
SEM		0.150	0.150	0.605	0.621	0.051	2.26
P-value		0.042	0.042	0.223	0.085	0.082	0.349

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

Means with different superscripts within a column differ significantly (P<0.05).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

SEM: Standard error of the mean

اثرات ویتامین D₃ و ویتامین C بر کیفیت داخلی تخم مرغ در مرغان مادر گوشتی

نتایج مربوط به اثرات ویتامین D₃ و ویتامین C بر کیفیت داخلی تخم مرغ در مرغان مادر گوشتی در جدول ۴ نشان داده شده است. اثر متقابل سطوح مختلف ویتامین D₃ و ویتامین C تأثیر معنی‌داری بر هیچ یک از فاکتورهای کیفیت داخلی تخم مرغ نشان نداد. همچنین اثرات اصلی ویتامین D₃ تأثیر معنی‌داری بر هیچ یک از فاکتورهای کیفیت داخلی تخم مرغ نشان نداد. در تحقیقی گزارش دادند، افزودن ویتامین D₃ بر جیره مرغان تخم‌گذار بر تأثیر معنی‌داری بر کیفیت تخم مرغ از جمله واحد هاو نداشت (Mattila et al., 2004) که با نتایج حاضر مطابقت دارد. اثر اصلی ویتامین C بر درصد سفیده، درصد زرده، pH سفیده، pH زرده، واحد هاو و شاخص زرده تأثیر معنی‌داری نداشت، اما بر رنگ زرده تأثیر معنی‌داری نشان داد. از لحاظ

خصوصیات داخلی تخم مرغ صفات مربوط به کیفیت زرده و سفیده حائز اهمیت می‌باشند. واحد هاو یک صفت مناسب برای بیان کیفیت سفیده می‌باشد (Desouza et al., 2001). گزارش شده است که در جیره مرغ‌های تخم‌گذار استفاده از ویتامین C ۱۰۰۰ ppm می‌تواند باعث افزایش کیفیت سفیده تخم مرغ گردد (Keshavarz, 1996). همچنین در تحقیقی گزارش شده است که ارتفاع سفیده تخم مرغ در مرغ‌هایی که ویتامین C مصرف کردند، در مقایسه با آن‌هایی که مصرف نکردند بیشتر بود (Desouza et al., 2001) که مخالف با نتایج حاضر می‌باشد. در تحقیقی مشاهده شده است که افزودن ۵۰۰ پی‌پی‌ام ویتامین C تحت شرایط استرس حرارتی کیفیت تخم مرغ را بهبود بخشید (Whitehead et al., 1990) که با نتایج حاضر مطابقت ندارد. همچنین نشان داده شده است که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر ویتامین‌های E و C می‌تواند رنگ زرده در مایع تخم مرغ را در طول دوره انبارداری حفظ کند (Tarko & Tuszyński, 2006).

جدول ۴- اثرات اصلی و متقابل ویتامین D₃ و ویتامین C بر کیفیت داخلی تخم مرغ در مرغان مادر گوشتی

Table 4- Main and interaction effects of vitamin D₃ and vitamin C on the internal quality of eggs in broiler breeder hens

تیمارها Treatments		درصد سفیده Albumen (%)	پی‌اچ سفیده Albumen pH	واحد هاو Haugh unit	درصد زرده Yolk (%)	پی‌اچ زرده Yolk pH	شاخص زرده Yolk index	رنگ زرده Yolk color
ویتامین D ₃	3500	58.72	6.35	83.21	33.03	3.89	22.87	7.83
Vitamin D ₃	5500	58.71	6.40	85.42	32.52	3.85	22.48	8.04
SEM		0.275	0.042	1.19	0.247	0.027	0.239	0.102
P-value		0.983	0.493	0.206	0.162	0.292	0.250	0.167
ویتامین C	0	58.90	6.38	85.27	32.79	3.86	22.33	7.75 ^b
Vitamin C	150mg	58.53	6.42	83.35	32.76	3.87	23.01	8.12 ^a
SEM		0.275	0.042	1.19	0.247	0.027	0.239	0.102
P-value		0.342	0.890	0.269	0.938	0.831	0.058	0.018
اثرات متقابل Interaction								
3500 D ₃ ×0 C		58.93	6.33	84.44	33.08	3.91	22.34	7.66
3500 D ₃ ×150 C		58.51	6.38	81.98	32.97	3.86	22.54	8.00
5500 D ₃ × 0 C		58.88	6.43	86.11	32.49	3.81	22.33	7.83
5500 D ₃ × 150 C		58.54	6.36	84.43	32.55	3.88	22.78	8.25
SEM		0.389	0.059	1.69	0.350	0.038	0.199	0.145
P-value		0.912	0.340	0.751	0.823	0.145	0.263	0.777

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

Means with different superscripts within a column differ significantly (P<0.05).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

SEM: Standard error of the means

شاخص شکل تخم مرغ، وزن مخصوص تخم مرغ، خاکستر پوسته و کلسیم پوسته نشان نداد، اما بر ضخامت پوسته و فسفر پوسته تأثیر معنی‌داری داشت. بیشترین ضخامت پوسته مربوط به تیمار سطح بالاتر ویتامین D₃ همراه با افزودن ویتامین C بود و کمترین ضخامت نیز مربوط به تیمار سطح پایین ویتامین D₃ بدون افزودن ویتامین C بود. اثرات اصلی ویتامین D₃ تأثیر معنی‌داری بر درصد پوسته،

اثرات ویتامین D₃ و ویتامین C بر کیفیت پوسته تخم مرغ در مرغان مادر گوشتی

نتایج مربوط به اثرات ویتامین D₃ و ویتامین C بر کیفیت پوسته تخم مرغ در مرغان مادر گوشتی در جدول ۵ آورده شده است. اثر متقابل سطوح مختلف ویتامین D₃ تأثیر معنی‌داری بر درصد پوسته،

گزارش دادند، افزودن ویتامین D₃ بر جیره مرغان تخم‌گذار بر تأثیر معنی‌داری بر وزن مخصوص تخم مرغ و محتوای کلسیم در پوسته تخم مرغ نداشت. اثر اصلی ویتامین C تأثیر معنی‌داری بر درصد پوسته، ضخامت پوسته، خاکستر پوسته و فسفر پوسته نشان داد، اما بر وزن مخصوص تخم مرغ، شاخص شکل تخم مرغ و کلسیم پوسته تأثیر معنی‌داری نشان نداد. برخی از مطالعات دربرگیرنده راه‌حل‌های ممکن برای حل مشکل ضعیف بودن پوسته تخم مرغ با استفاده از ویتامین C در جیره می‌باشند (Abe et al., 1982). این ویتامین با افزایش ساخت ۱ و ۲۵-دی هیدروکسی کوله کلسیفرول جذب کلسیم از روده کوچک را افزایش داده که می‌تواند از این طریق باعث شکل‌گیری پوسته تخم مرغ و در نتیجه، افزایش کیفیت آن گردد (Dorr & Balloun, 1976). در این تحقیق، مصرف ویتامین C کیفیت پوسته (درصد، ضخامت و خاکستر) را تغییر داد. این نتیجه با نتایج آمانفول و همکاران (Amaefule et al., 2004) مطابقت ندارد. برخلاف نتایج حاضر، برخی از پژوهشگران نشان داده‌اند که ویتامین C باعث افزایش وزن مخصوص تخم مرغ می‌گردد (Konka et al., 2009; Sahin et al., 2001).

ضخامت پوسته و وزن مخصوص تخم مرغ نشان داد که در سطوح بالاتر ویتامین D₃ باعث افزایش درصد پوسته و ضخامت پوسته شد، اما بر شاخص شکل تخم مرغ، خاکستر پوسته، کلسیم و فسفر پوسته تفاوت معنی‌داری نشان نداد. که موافق با تحقیق حاضر افزایش کیفیت پوسته با تغذیه متابولیت‌های ویتامین D₃ نیز توسط کیتزل و همکاران (Kaetzel et al., 1978) و سوارس و همکاران (Soares et al., 1988) گزارش شده است. همچنین اثرات اصلی ویتامین D بر شاخص شکل تخم مرغ تأثیر معنی‌داری نشان داد. احتمالاً با افزایش ویتامین D₃ غلظت ۱ و ۲۵-هیدروکسی کوله کلسیفرول و میزان جذب کلسیم افزایش یافته و چون قسمت اعظم پوسته مربوط به کربنات کلسیم می‌باشد، بنابراین سبب افزایش ضخامت پوسته و درصد پوسته تخم مرغ می‌شود. به‌طور مشابهی، در تحقیقی گزارش شده که افزودن مکمل ۲۵-هیدروکسی کوله کلسیفرول به جیره مرغان مادر باعث افزایش ضخامت پوسته تخم مرغ شد (Coto et al., 2010). همچنین تورس و همکاران (Torres et al., 2009) دریافتند که افزودن D₃ در سطوح ۲۰۰۰ و ۳۴۰۰ IU/Kg به جیره مرغان مادر گوشتی در سن ۶۰ هفته‌گی باعث بهبود کیفیت پوسته تخم مرغ شد. ولی ماتیللا و همکاران (Mattila, et al., 2011)

جدول ۵- اثرات اصلی و متقابل ویتامین D₃ و ویتامین C بر کیفیت پوسته تخم مرغ در مرغان مادر گوشتیTable 5- Main and interaction effects of vitamin D₃ and vitamin C on egg shell quality in broiler breeder hens

تیمارها Treatments	درصد پوسته Egg shell (%)	ضخامت پوسته Shell thickness (mm)	وزن مخصوص تخم مرغ Egg gravity (g/cm ³)	شاخص شکل تخم مرغ Egg index	خاکستر پوسته Ash (%)	کلسیم پوسته Ca (%)	فسفر پوسته P (%)	
D3 ویتامین	3500	8.76 ^b	0.41 ^b	1.074 ^b	75.29	91.64	358.01	1.99
Vitamin D3	5500	8.24 ^a	0.44 ^a	1.077 ^a	75.73	91.87	360.57	2.00
SEM		0.092	0.004	0.0009	0.501	0.148	2.44	0.099
P-value		0.0007	0.0001	0.049	0.547	0.279	0.468	0.907
C ویتامین	0	8.30 ^b	0.40 ^b	1.076	76.06	91.26 ^b	356.03	1.78 ^b
Vitamin C	150 mg	8.70 ^a	0.44 ^a	1.075	74.96	92.25 ^a	362.55	2.21 ^a
SEM		0.092	0.004	0.0009	0.501	0.148	2.44	0.099
P-value		0.006	0.0001	0.545	0.137	0.0001	0.074	0.006
اثرات متقابل								
Interaction								
3500 D ₃ ×0 C		7.97	0.38 ^c	1.073	75.96	91.04	354.25	1.36 ^c
3500 D ₃ ×150 C		8.50	0.43 ^b	1.075	75.30	92.24	361.77	2.61 ^a
5500 D ₃ × 0 C		8.62	0.43 ^b	1.078	76.15	91.48	357.81	2.20 ^b
5500 D ₃ × 150 C		8.89	0.45 ^a	1.075	75.30	92.26	363.33	1.81 ^b
SEM		0.130	0.006	0.001	0.338	0.210	3.46	0.141
P-value		0.347	0.033	0.079	0.732	0.336	0.776	0.0001

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

Means with different superscripts within a column differ significantly (P<0.05).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

SEM: Standard error of the means

به‌طور کلی با توجه به نتایج آزمایش حاضر، می‌توان به این

نتیجه‌گیری کلی

نتیجه رسید که استفاده از ویتامین C به میزان ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم همراه با ۵۵۰۰ واحد بین المللی ویتامین D₃ می تواند باعث افزایش ضخامت پوسته، کاهش تعداد تخم مرغ های شکسته، افزایش تعداد تخم مرغ قابل جوجه کشی، افزایش جوجه درجه یک، افزایش درصد پوسته و همچنین افزایش کلسیم پوسته تخم مرغ در اواخر دوره تولید مرغان مادر گوشتی باشد.

References

1. Abdulrahim, S. M., Patel, M. B., & McGinnis, J. (1979). Effects of vitamin D3 and D3 metabolites on production parameters and hatchability of eggs. *Poultry Science*, 58, 858-863. <https://doi.org/10.3382/ps.0580858>
2. Abe, E., H., Horikawa, Masumura, T., Sugahara, M., Kubota, M., & Suda, T. (1982). Disorders of cholecalciferol metabolism in old egg laying hens. *Journal of Nutrition*, 112, 436-446. <https://doi.org/10.1093/jn/112.3.436>
3. Ajuwon, K. M., Matanmi, O., & Daniyan, O. C. (2002). Effect of water sources and ascorbic supplementation on egg quality and production parameters of laying hens. *Livestock Research for Rural Development*, 14, article 6.
4. Amaefule, K. U., G. S., Ojewola, & Uchegbu, E. C. (2004). The effect of methionine, lysine and/or vitamin C (ascorbic acid) supplementation on egg production and egg quality characteristics of layers in the humid tropics. *Livestock Research for Rural Development*, 16, article 64.
5. Balnave, D., & Zhang, D. (1992). Responses in egg shell quality from dietary ascorbic acid supplementation of hens receiving saline drinking water. *Australian Journal Agriculture Research*, 43, 1259-1264. <https://doi.org/10.1071/AR9921259>
6. Benabdeljelil, k. A., & Jensen, L. S. (1990). Effectiveness of ascorbic acid and chromium in counteracting the negative effects of dietary vanadium on interior egg quality. *Poultry Science*, 69, 781-786. <https://doi.org/10.3382/ps.0690781>
7. Browning, L. C., & Cowieson, A. J. (2015). Interactive effects of vitamin D3 and strontium on performance, nutrient retention, and bone mineral composition in laying hens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 1080-1087.
8. Bueno I. J. M., D., Surek, Rocha, C., Schramm, V. G., Muramatsu, K., Dahlke, F., & Maiorka, A. (2016). Effects of different limestone particle sizes in the diet of broiler breeders post molting on their performance, egg quality, incubation results, and pre-starter performance of their progeny. *Poultry Science*, 95, 860-866. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6801>
9. Cheng, T., K. C. N., Coon, & Hamre, M. L. (1990). Effect of environmental stress on the ascorbic acid requirement of laying hens. *Poultry Science*, 69, 774-780. <https://doi.org/10.3382/ps.0690774>
10. Ciftici, M., O. N., Ertas, & Guler, T. (2005). Effects of vitamin E and vitamin C dietary supplementation on egg production and egg quality of laying hens exposed to chronic heat stress. *Review Medicine Veterinary*, 156, 107-111.
11. Coates, M. E. (1984). Metabolic role of the vitamins. B. M. freeman, ed. *Physiology and biochemistry of the domestic fowl*. Academic Press, London, pp. 27-36.
12. Coto, S., Z. Cerate, Wang, F., Yan, Y., Min, F. P., Costa, P., & Waldroup, W. (2010). Effect of source e level of vitamin D on the performance of broiler breeder hens and carryover to the progeny. *International Journal of Poultry Science*, 7, 623-633. <https://doi.org/10.3923/ijps.2010.623.633>
13. Desouza P. A., H. B. A., Desouza, & Oba, A. (2001). Influence of ascorbic acid on egg quality. *Science and Food Technology*, 21, 273-275. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612001000300004>
14. Dorr, P., & Balloun S. L. (1976). Effect of dietary vitamin A, ascorbic acid and their interaction on turkey bone mineralization. *British Poultry Science*, 17, 581-599. <https://doi.org/10.1080/00071667608416316>
15. Duarte, V., C. S., Minafra, F. R. D., Santos, & Perim, F. D. S. (2015). Inclusion of canthaxanthin and 25-hydroxycholecalciferol in the diet of broiler breeders on performance and incubation parameters. *Ciência Rural*, 45, 2050-2055. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20140564>
16. Franchini, A., A., Meluzzi, Manfreda, G., & Tosurelli, C. (1993). Effects of vitamin C on broiler skeleton development. *Atti-Dell Associazione Scientifica de Produzione Animale*, 10, 451-524.
17. Friedlander, E. J., H.L., Henry, & Norman, A.W. (1977). Effects of dietary calcium and phosphorus on the relationship between the 25-hydroxyvitamin D3-1-hydroxylase and production of chick intestinal calcium-binding protein. *Journal of Biological Chemistry*, 252, 8677-8683.
18. Harms R.H., S. M., Bootwalla, Woodward, S. A., Wilson, H. R., & Untawale, G.A. (1990). Some observations on the influence of vitamin D metabolites when added to the diet of commercial laying hens. *Poultry Science*, 69, 426-432. <https://doi.org/10.3382/ps.0690426>
19. Holder D. P., & Bradford, M. V. (1979). Relationship of specific gravity of chicken eggs to number of cracked eggs

- observed and percent shell. *Poultry Science*, 58, 250-251. <https://doi.org/10.3382/ps.0580250>
20. Hornig, D., B. Glatthaar, & U. Moser. (1984). General aspects of ascorbic acid function and metabolism. I. Wegger, F. J. Tagwerker, and J. Monstgaard, eds. Workshop on ascorbic acid functions in domestic animals. *Royal danish Agricultural Society, Copenhagen, Denmark*. pp. 3-24.
21. Kaetzel D. M., J. H., Soares. & Swerdel M. R. (1978). Effects of vitamin D₃ metabolites on the bones and eggshells of aged quail and chickens. *Proceedings of the Maryland Nutrition Conference, College Park, MD*, pp. 50-54.
22. Kazemifard, M., H., Nasiri-Moghadam, & Saki, A. A. (2010). Effect of different levels of calcium, phosphorus and vitamin D₃ on the calcium, phosphorus and magnesium of plasma, hatchability and performance on broiler breeder hens. *Research Journal Biology Science*, 5(2), 223-227. <https://doi.org/10.3923/rjbsci.2010.223.227>
23. Keshavarz, K. (1996). The effect of different levels of vitamin C and cholecalciferol with adequate or marginal levels of dietary calcium on performance and egg shell quality of laying hens. *Poultry Science*, 75, 1227-1235. <https://doi.org/10.3382/ps.0751227>
24. Konka, R., F., Kirkpinar, Mert., S., & Yurtseven S. (2009). Effects of dietary ascorbic acid on growth performance, carcass, bone quality and blood parameters in broilers during natural summer temperature. *Asian Journal of Animals and Veterinary Advances*, 4, 139-147.
25. Kucuk, O., N., Sahin, Sahin K., Gursu, M. F., Gulcu, F., Ozcelik, M., & Issi, M. (2003.) Egg production, egg quality and lipid peroxidation status in laying hens maintained at low ambient temperature (6°C) and fed a vitamin C and vitamin E supplemented diet. *Veterinary Medicine Czech*, 48: 33-40.
26. Mattila P., J. Valaja, L. Rossow, E. Venalainen, & Tupasela, T. (2004). Effect of vitamin D₂ and D₃-enriched diets on egg vitamin D content, production, and bird condition during an entire production period. *Poultry Science*, 83, 433-440. <https://doi.org/10.1093/ps/83.3.433>
27. Mattila, P. H., E. Valkonen, & Valaja, J. (2011). Effect of different vitamin D supplementations in poultry feed on vitamin D content of eggs & chicken meat. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 59, 8298- 8303. <https://doi.org/10.1021/jf2012634>
28. McDowell, L. R. (1989). Vitamins in animal nutrition comparative aspects to human nutrition. Vitamin C. *Academic press, London*, pp. 365-387.
29. Nascimento D. O., G. R., Murakami, Guerra, A. Q. F. M., Rojas, I. C., Ferreira, M. F. Z., & Fanhani, J. C. (2014). Effect of different vitamin D sources and calcium levels in the diet of layers in the second laying cycle. *Revista Brasileira De Ciencia Avícola*, 16, 37-42. <https://doi.org/10.1590/1516-635x160237-42>
30. Newman, S., & Leeson S. (1997). Skeletal integrity in layers at the completion of egg production. *World's Poultry Science*, 53, 265-277.
31. Newman, S., & Leeson S. (1999). The effect of dietary supplementation with 1, 25 dihydroxycholecalciferol or vitamin C on the characteristics of the tibia of older laying hens. *Poultry Science*. 78, 85-90. <https://doi.org/10.1093/ps/78.1.85>
32. Orban, J. I., D. A. Rol, & Cummins, S. R. K., & Lovell, R. T. (1993). Influence of large doses of ascorbic acid on performance, plasma calcium, bone characteristics & egg shell quality in broilers and leghorn hens. *Poultry Science*, 62, 465-471. <https://doi.org/10.3382/ps.0720691>
33. Pike, J. W., L. A. Zella, Meyer, M. B., Fretz, J. A., & Kim, S. (2007). Molecular actions of 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ on genes involved in calcium homeostasis. *Journal of Bone and Mineral Research*, 22(S2), pp. V16-V19. <https://doi.org/10.1359/jbmr.07s207>
34. Sahin, N., & Sahin, K. (2001). Optimal dietary concentrations of vitamin c and chromium picolinate for alleviating the effect of low ambient temperature (6.2°C) on egg production, some egg characteristics and nutrient digestibility in laying hens. *Veterinary Medicine Czech*, 46, 229-236. <https://doi.org/10.17221/7887-VETMED>
35. Sahin, K., N. Sahin, Onderci, M., Gursu, M. F., & Issi, M. (2003). Vitamin C and E can alleviate negative effects of heat stress in Japanese quails. *Food Agriculture and Environment*, 2, 244-249. [https://doi.org/10.1016/s0034-5288\(02\)00126-1](https://doi.org/10.1016/s0034-5288(02)00126-1)
36. Scott, M. L., M. Nesheim, Young, R. (1982). Nutrition of the chicken, Scott, Ithaca, Nueva York, p.119.
37. Soares, J. H., M. A. Ottinger, & Buss, E. G. (1988). Potential role of 1,25-dihydroxycholecalciferol in egg shell calcification. *Poultry Science*, 67, 1322-1328. <https://doi.org/10.3382/ps.0671322>
38. Soares, J. H., M. R. Swerdel, & Ottinger, M. A. (1979). The Effectiveness of the vitamin D analog 1 α-OH-D₃ in promoting fertility and hatchability in the laying hen. *Poultry Science*, 58, 1004-1006. <https://doi.org/10.3382/ps.0581004>
39. Tarko, T., & T. Tuszyński. (2006). Influence of selected additives on color Stability of alcoholic egg liquors. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 5, 47-60.
40. Torres, C. A., S. L. Vieira, Reis, R. N., Ferreira, A. K., Silva, P. X. D., & Furtado, F. V. F., (2009). productive

- performance of broiler breeder hens fed 25- hydroxycholecalciferol. *Revista Brasileira de zootecnia*, 38, 1286-1290. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000700018>
41. Volker. L., & H., Weiser. (1993). The relevance of vitamins D3 and C for bone metabolism in poultry. Proceedings of Maryland Nutrition Conference, Baltimore, MD, 42-54.
42. Wasserman, R. H. (2004). Vitamin D and the dual processes of intestinal calcium absorption. *The Journal of Nutrition*, 134, 3137-3139. <https://doi.org/10.1093/jn/134.11.3137>
43. Whitehead, C., M.A. Mitchell, & Njoku, P. C. (1990). Effects of ascorbic acid on egg yolk and shell precursor in heat-stressed laying hens. In: proceedings of the 2nd symposium on ascorbic acid in domestic animals. Kratause Ittingen, Switzerland, Pp 262-269.
44. Zapata, L. F., & A. G., Gernat. (1995). The effect of four levels of ascorbic acid & two levels of calcium on eggshell quality of forced-molted white leghorn hens. *Poultry Science*, 74,1049-1052. <https://doi.org/10.3382/ps.0741049>.



Investigation of the Inhibitory Effects of CLF36 Peptide Derived from Camel Lactoferrin on NF- κ B Signaling Pathway in Molecular Docking Simulation (*In silico*)

Hojjat Allah Yami¹, Mojtaba Tahmoorespur^{2*}, Mohammad Hadi Sekhavati³, Ali Javadmanesh⁴

Received: 08-09-2022

Revised: 14-01-2023

Accepted: 05-02-2023

Available Online: 05-02-2023

How to cite this article:

Yami, H., Tahmoorespur, M., Sekhavati, M.H., Javadmanesh, A. (2023). Investigation of the inhibitory effects of CLF36 peptide derived from camel lactoferrin on NF- κ B signaling pathway in Molecular Docking Simulation (*In silico*). *Iranian Journal of Animal Science Research*, 15(2), 285-297.
DOI: [10.22067/ijasr.2023.78545.1100](https://doi.org/10.22067/ijasr.2023.78545.1100)

Introduction: Lactoferrin is secreted in the apo-form from epithelial cells in most exocrine fluids, such as saliva, bile, pancreatic and gastric fluids, tears and, particularly, in milk. Lactoferrin is the most dominant protein in milk after casein. This protein plays a crucial role in many biological processes including the regulation of iron metabolism, induction and modulation of the immune system, the primary defense against microorganisms, inhibiting lipid peroxidation and presenting antimicrobial activity against various pathogens such as parasites, fungi, bacteria, and viruses. The major antimicrobial effect of lactoferrin is related to its N-terminal tail where different peptides for instance lactoferricin and lactoferrampin which are important for their antimicrobial abilities are present. cLF chimera (CLF36 peptide) was derived from camel lactoferrin (cLF) consisting of 42 amino acids and has primary sequence of DLIWKLLVKAQEKFGRGKPSKRVKMMRRQWQACKSSHHHHH. In addition, the results of previous study showed that cLFchimera had anti-inflammatory and regulatory activity of the immune system. Nuclear factor kappa B (NF- κ B) transcription factors regulate several important physiological processes, including inflammation and immune responses, cell growth, apoptosis, and the expression of certain viral genes. NF- κ B dimers are located in the cytoplasm in an inactive form through association with any of several I κ B inhibitor proteins. The phosphorylation and degradation of I κ B have received great attention as key steps for the regulation of Nuclear factor kappa B (NF- κ B) complexes. Phosphorylation of the I κ B by IKK signals it for ubiquitination at specific lysine residues. The aim of this study was to investigate the inhibitory effects of the recombinant camel Lactoferrampin-Lactoferricin on nuclear factor kappa B (NF- κ B) pathway.

Materials and Methods: CLF36 peptide was prepared through a previous study in Biotechnology Laboratory of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (GenBank accession number: MH327768.1). Protein data for inhibitory combinations of the Nuclear factor kappa B (NF- κ B) pathway was collected from the Protein Data Bank (PDB) And UniProt. Physico-chemical properties analysis (atomic state, isoelectric point, half-life, hydrophobicity hydrophilicity, barometric and pH) was done using ExPASy Prot Param online server. The inhibitory effects of this peptide was assessed by Molecular Docking Simulation (*In silico*). the simulation of the interaction (Docking) of CLF36 peptide with Nuclear factor kappa B (NF- κ B) signaling pathway in upstream, pro-

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

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

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

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

*Corresponding Author's Email: Tahmoores@um.ac.ir

inflammatory cytokines (e.g., TNF- α and IL-6) and in downstream, cytoplasmic IKKB and NF- κ Bp65 was done using ClusPro 2.0 software online. interaction diagram created by LigPlot+ showing the hydrogen bond network and the hydrophobic interactions of CLF36 peptid with the upstream and downstream Nuclear factor kappa B (NF- κ B) pathways.

Results and Discussion: Bioinformatics analysis on The molecular interaction of this peptide with the active site of NF- κ B proteins suggested that in may have role of the modulators and Anti-Inflammatory of immune processes by inhibitory effect on the TNF- α and IL-6 cytokines in upstream and IKK- β and NF- κ B-p65 in downstream of the NF- κ B signaling pathway. This results are similar to the inhibitory effects of Infliximab, Camelid Fab , NEMO and GILZ on the Nuclear factor kappa B (NF- κ B) signaling pathway. Infliximab (Remicade) is a chimeric mAb and its use is not very well tolerated in the majority of patients, infliximab therapy leads to the production of antibodies to infliximab in a small subset of patients. the Camelid Fab antibody with the highest (femtomolar) potency, displays a very large surface of interaction with IL-6. the regulatory role of NEMO in the IKK complex, since a number of genetic and biochemical studies clearly demonstrate that proinflammatory IKK activation is absolutely dependent upon the presence of functional NEMO. Glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) is a glucocorticoid responsive protein that links the nuclear factor-kappa B (NF κ B) and the glucocorticoid signaling pathways. Functional and binding studies suggest that the proline-rich region at the carboxy terminus of Glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) binds the p65 subunit of Nuclear factor kappa B (NF- κ B) and suppresses the immunoinflammatory response.

Conclusion: The results of the interaction (Docking) of CLF36 peptide with Nuclear factor kappa B (NF- κ B) signaling pathway indicates that, in upstream, will be inhibitory effect of CLF36 peptide in active site of pro-inflammatory cytokines (e.g., TNF- α and IL-6) and in downstream, cFL36 peptide will bind to protein receptors of cytoplasmic IKKB and NF- κ B p65. Therefore, these findings may provide a theoretical basis for therapeutic mechanisms of CLF36 peptide.

Keywords: Pro-inflammatory Cytokines, Nuclear Factor Kappa B Pathway, Molecular Docking Simulation

بررسی اثر مهارى پپتید CLF36 مشتق شده از لاکتوفرین شتری بر مسیر پیام‌رسان NF-κB در محیط شبیه‌سازی شده مولکولی (In silico)

حجت‌الله یامی^۱، مجتبی طهمورث‌پور^{۲*}، محمد جواد سخاوتی^۳، علی جواد منش^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۶

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثرات مهارى لاکتوفرامپین- لاکتوفریسین شتری نو ترکیب بر مسیر فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF-κB) بود. این پپتید (CLF36) که با مطالعه قبلی در آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد (شماره دسترسى بانک ژن: MH327768.1) تهیه شده است. اثرات بازدارندگی این پپتید با شبیه‌سازی داکینگ مولکولی (In silico) ارزیابی شد. داده‌های پروتئین برای مسیر پیام‌رسان NF-κB از بانک داده‌های پروتئین (PDB) و UniProt جمع‌آوری شد. سپس، شبیه‌سازی برهم‌کنش (داکینگ) پپتید CLF36 با مسیر پیام‌رسان NF-κB در بالادست، سایتوکین‌های پیش‌التهابی (مانند TNF-α و IL-6) و در پایین‌دست، IKK-β و NF-κB-p65 سیتوپلاسمی با استفاده از نرم‌افزار آنالیز ClusPro 2.0 انجام شد. تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی بر اساس برهم‌کنش‌های مولکولی این پپتید با جایگاه فعال پروتئین‌های مسیر NF-κB نشان داد که ممکن است نقش تعدیل‌کنندگی و ضدالتهابی در فرایندهای ایمنی را با اثر مهارى بر روی سایتوکین‌های TNF-α و IL-6 در بالادست و IKK-β و NF-κB-p65 در پایین‌دست مسیر پیام‌رسان NF-κB داشته باشد. این نتایج مشابه با اثرات مهارى Camelid Fab، NEMO، Infiximab و GILZ بر روی مسیر پیام‌رسان NF-κB است. علاوه بر این، این یافته‌ها ممکن است یک مبنای نظری برای مکانیسم‌های درمانی پپتید CLF36 فراهم کند.

واژه‌های کلیدی: سایتوکین‌های پیش‌التهابی، شبیه‌سازی داکینگ مولکولی، مسیر فاکتور هسته‌ای کاپا B

مقدمه

(Berlutti et al., 2011)، آنتی‌باکتریائی (Embleton et al., 2013)، ضد قارچ، ضد انگلی (Leboffe et al., 2009)، تنظیم سیستم ایمنی بدن و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Kanwar et al., 2015). پپتید لاکتوفرین کایمر^۵ (CLF31)، اولین بار از طریق اتصال دو پپتید لاکتوفرامپین و لاکتوفریسین گاوی با اسیدآمینه لایزین به یکدیگر توسط بوا سچر و همکاران در سال ۲۰۰۹ به صورت تجاری

لاکتوفرین (Lf) یک گلیکوپروتئین ۸۰ کیلو دالتونی متصل به آهن است که در سیستم ایمنی ذاتی نقش مهمی ایفا می‌کند و به عنوان یک مولکول مهم دفاعی میزبان در نظر گرفته می‌شود که دارای طیف گسترده‌ای از عملکردهای فیزیولوژیکی مانند ضد ویروسی

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

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

۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۴- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

(Email: Tahmoores@um.ac.ir)

(*) نویسنده مسئول:

همکاران، در تحقیقی اثرات پپتید نوترکیب CLF36 شتری را بر شاخص‌های مختلف تولید و سلامت در مرغان گوشتی تحت چالش بیماری التهاب روده (*Necrotic enteritis*) بررسی کردند. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از پپتید CLF36 از طریق تنظیم بیان ژن‌های تولیدکننده سایتوکاین‌های پیش التهابی، پروتئین MUC2 و پروتئینی‌های اتصال به هم فشرده لایه اپیتلیال روده سبب کاهش ضایعات روده و مرگ میر در پرندگان، بهبود ویژگی‌های رشد، بهبود خصوصیات مورفولوژی روده (طول و عرض پرزهای روده)، ایجاد تعادل جمعیت میکروبی در روده شود (Daneshmand et al., 2020). نعمتی و همکاران، در پژوهشی روی سلول‌های ماکروفاژ موسی RAW264.7 نشان دادند که لاکتوفرین سبب مهار بیان سایتوکاین‌های پیش التهابی TNF- α و IL-6 شده و در نهایت، از طریق مهار بیان پروتئین p65 باعث مهار مسیر پیام‌رسان فاکتور هسته‌ای κ B شده است (Nemati et al., 2021). سانگ و همکاران، در پژوهشی به بررسی اثرات تعدیلی سیستم ایمنی پپتید لاکتوفریسین- لاکتوفرآمین کایمر گاوی (LFCA) در موش‌های مبتلا به بیماری کولیت حاد پرداختند که نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که پپتید آنتی باکتریال LFCA از طریق مهار مسیر پیام‌رسان NF- κ B می‌تواند مانع تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی شده و سبب بهبود فعالیت سد اپیتلیال روده (کاهش نفوذپذیری) و حفظ تعادل باکتریایی روده می‌شود (Song et al., 2019). دانشمند و همکاران، در پژوهشی به بررسی اثرات پپتید نوترکیب CLF36 شتری بر سلول‌های ایمنی (سایتوکاین‌های اینترلوکین ۲ و ۶) و بیان پروتئین‌های اتصال به هم فشرده لایه اپیتلیال روده (mucin2, Claudin-1 و Occludin) در مرغان گوشتی تحت چالش با باکتری *E. coli* پرداختند. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که پپتید CLF36 از طریق کاهش سطح بیان سایتوکاین‌های پیش التهابی سبب تعدیل و تنظیم پاسخ ایمنی و التهابی در پرندگان شده و از ایجاد بیماری‌های التهابی روده نظیر کولون و کولیت جلوگیری می‌شود (Daneshmand et al., 2019).

لذا هدف از این پژوهش، مطالعه اثر دقیق پپتید CLF36 مشتق شده از پروتئین لاکتوفرین شتری بر مسیرهای مهار بالادستی و پایین دستی پیام‌رسان NF- κ B در سطح مولکولی با استفاده از روش‌های مبتنی بر بیولوژی ساختاری و بررسی برهم‌کنش‌های آن با ماکرومولکول‌های خارج و داخل سلولی و در نهایت، به مقایسه عملکرد این پپتید با سایر ترکیبات پروتئینی و دارویی در مهار مسیر NF- κ B می‌باشد.

تولید گردید (Bolscher et al., 2009). همچنین در سال ۲۰۱۲ تانگ و همکاران از طریق بیان در مخمر (*Pichia pastori*) موفق به تولید پروتئین نوترکیب لاکتوفرآمین- لاکتوفریسین گاوی شدند (Tang et al., 2012). در سال ۲۰۱۸، پپتید لاکتوفرین کایمر ۳۶ (CLF36) که یک پپتید مشتق شده از لاکتوفرین شیر می‌باشد (شماره دسترسی بانک ژن: MH327768.1)، در تحقیقی در آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد به صورت نوترکیب تولید شده است. تحقیق بر روی این پپتید نشان می‌دهد که پپتید CLF36 از طریق تنظیم مسیر پیام‌رسان NF- κ B سبب تنظیم و تعدیل فعالیت پاسخ ایمنی در زمان بروز التهاب و بیماری‌های خود التهابی می‌شود (Daneshmand et al., 2019; Daneshmand et al., 2020).

از این رو، یکی از مهم‌ترین مسیرهای تنظیمی پاسخ ایمنی در بدن، مسیر پیام‌رسان فاکتور هسته‌ای کاپا B (κ B) می‌باشد که شامل مجموعه‌ای از فاکتورهای رونویسی دایمریک و تنظیم‌کننده اصلی پاسخ ایمنی و التهابی، چسبندگی سلولی، تمایز، تکثیر و آپوپتوز است و نکته مهمی که در طول این فرآیندها وجود دارد، این است که در صورت ادامه‌دار بودن فرآیند پاسخ ایمنی، یکسری از بیماری‌ها که در اصطلاح به آن‌ها بیماری‌های خودالتهابی گفته می‌شود، ایجاد می‌شوند (Dinarello, 2007). فاکتور رونویسی κ B یک پروتئین هتروداایمر است که به واسطه پروتئین مهارکننده κ B و تشکیل کمپلکس I κ B- α -RHRP65 (PDB:1NFI) به صورت غیر فعال در سیتوپلاسم قرار دارد. در زمان بروز آسیب یا پاسخ به سیگنال‌های پاتوژنیک این مسیر فعال شده و در نهایت، سبب القاء بیان ژن‌های هدف در تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی (TNF, IL1, IL6, IL8) می‌شود (Hayden et al., 2006). از این رو، یکی از استراتژی‌های مهم درمانی جهت مقابله با بیماری‌های خودالتهابی و تعدیل سیستم ایمنی، مهار مسیر بالادستی (خارج سلولی) و پایین دستی (آبشار مولکولی) و ممانعت اتصال پروتئین فعال شده NF- κ B در هسته سلول به پروموتورهای ژن‌های هدف می‌باشد (Chen et al., 2000). تاکنون مطالعات متعددی در زمینه مهار مسیر فعالیت فاکتور رونویسی NF- κ B صورت گرفته است که دلالت بر اهمیت مهار این کمپلکس پروتئینی دارد. تاکنون بیش از ۷۵۰ مهارکننده مسیر NF- κ B شناسایی شده‌اند. که انواع مختلف مولکول‌های طبیعی و سنتزی، اعم از آنتی‌اکسیدان‌ها، پپتیدها، پلی پپتیدهای مهندسی شده و پروتئین‌های ویروسی و میکروبی را شامل می‌شوند. چندین داروی ضد التهابی غیراستروئیدی (NSAID) از جمله آسپرین، ایبوپروفن، سولینداک و ایندومتاسین نیز می‌توانند مانع فعالیت NF- κ B در رده‌های سلولی شوند (Kopp and Ghosh, 1994). دانشمند و

مواد و روش‌ها

اولین قدم برای ورود به مطالعات بیوانفورماتیکی، جمع‌آوری داده‌های پروتئینی می‌باشد که اطلاعات مربوط به توالی رستپورهای سطح غشا، جایگاه‌های فعال سایر ماکرومولکول‌ها بوده و از پایگاه Uniprot (<https://www.uniprot.org>) و ساختار سه‌بعدی این پروتئین‌ها نیز از پایگاه PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/home.do>) جمع‌آوری گردید. برای بررسی ساختار پروتئین‌ها و آنالیز خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن‌ها شامل نقطه ایزوالکتریک، وزن مولکولی، نیمه عمر، تعداد دنباله‌های منفی و مثبت، شاخص آلفاتیک، شاخص بی‌ثباتی و مقدار هیدروفوبیسیتی^۱ از سرور ExPasy Prot Param (<https://web.expasy.org/protparam>) بهره گرفته شد. همچنین، با کمک سرورهای مختص مدل‌سازی نظیر سرور آنلاین I-Tasser (<https://zhanggroup.org/I-TASSER>) و Swiss model (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>)، ساختار فضایی و سه‌بعدی سایر پروتئین‌ها رسم شد و بهترین مدل‌ها بر مبنای امتیازدهی نرم‌افزار انتخاب گردید. جهت اطمینان حاصل کردن از صحت مدل‌های پیش‌بینی شده، از سرور RAMPAGE (<https://mordred.bioc.cam.ac.uk/~rapper/rampage.php>) برای بررسی نمودار رامچاندرا و از سرور SAVES v6.0 (<https://saves.mbi.ucla.edu>) به منظور بررسی سایر پارامترهای دخیل در ساختار پروتئین استفاده شد. علاوه بر این، جهت مدل‌سازی پپتید cLF36 از سرور آنلاین PEP-FOLD3.5 ([https://mobylye.rpbs.univ-paris-diderot.fr/cgi-](https://mobylye.rpbs.univ-paris-diderot.fr/cgi-bin/portal.py#forms::PEP-FOLD3)) استفاده شد و ساختار پپتید در شرایط دینامیک مولکولی^۲ (MD) با استفاده از نرم‌افزار GROMACS 5.0.1 برای ۱۰ نانوثانیه شبیه‌سازی گردید و در نهایت، کیفیت آن از طریق نرم‌افزار PROCHECK (<http://servi.cesn.mbi.ucla.edu/PROCHECK/>) مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بررسی برهم‌کنش‌های مولکولی پپتید CLF36 با ماکرومولکول‌های خارج و داخل سلولی با استفاده از روش داکینگ مولکولی مشخص گردید. به منظور انجام داکینگ مولکولی نوع و اندازه این برهم‌کنش‌ها از سرور Cluspro 2.0 (<https://cluspro.bu.edu/login.php>) و نرم‌افزارهای HADDOCK و Auto Dock بهره گرفته شد. در نهایت، جهت بررسی نتایج حاصل از برهم‌کنش‌های مولکولی پپتید CLF36 با گیرنده‌های مختلف پروتئینی به بررسی و مقایسه برهم‌کنش پپتید مورد نظر با سایر ترکیبات مهارى مسیر پیام‌رسان NF-κB با کمک

نرم‌افزار v.2.2 LigPlot⁺ و نمایش آن از طریق نرم‌افزار PyMOL2.5.2 پرداخته شد.

نتایج و بحث

توالی رستپورهای TNFRI، IL6Rα، در سطح غشا از پایگاه Uniprot استخراج گردید. ساختار سه‌بعدی TNFα، IL6، IKKβ، Ikbα و NF-κB (RHR P65) از بانک اطلاعات پروتئین (RCSB) جمع‌آوری شد. همچنین اطلاعات مربوط به ترکیبات مهارى Fab، NEMO، Camelid Fab، GILZ و NEMO نیز از پایگاه PDB به دست آمد که نتایج آن در جدول ۱ آورده شده است.

ترکیبات پروتئینی مسیر بالادستی و پایین دستی NF-κB و همچنین ساختارهای سه‌بعدی گردآوری شده به همراه توالی اسیدآمینه ای آن‌ها در در جدول ۲ نشان داده شده است.

با استفاده از سرور آنلاین PEP-FOLD3.5 مدل‌سازی پپتید CLF36 انجام شد و شبیه‌سازی ساختار پیش‌بینی شده در شرایط دینامیک مولکولی^۳ (MD) با استفاده از نرم‌افزار GROMACS 5.0.1 برای ۱۰ نانوثانیه صورت گرفت. همچنین ساختار فضایی و سه‌بعدی ترکیبات مهارى مسیر NF-κB نیز با استفاده از سرور آنلاین I-Tasser و Swiss model پیش‌بینی شد و جهت اطمینان حاصل کردن از صحت مدل‌های پیش‌بینی شده، از سرور RAMPAGE برای بررسی نمودار رامچاندرا و از سرور SAVES v6.0 به منظور بررسی سایر پارامترهای دخیل در ساختار پروتئین استفاده شد. نتایج ساختارهای پیش‌بینی شده و توالی آن‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است.

جهت بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پپتید CLF36 و مقایسه آن با سایر ترکیبات مهارى مسیر پیام‌رسان NF-κB به آنالیز وضعیت اتمی، نقطه ایزوالکتریک، نیمه عمر و همچنین بارالکتریکی و PH اسید آمینه‌های ترکیبات مهارى مسیر پیام‌رسان NF-κB پرداخته شد که نتایج آن در جدول ۴ آورده شده است.

براساس نتایج حاصل از مقایسه خواص فیزیکوشیمیایی پپتید CLF36 با ترکیبات مهارى مسیر NF-κB می‌توان گفت پپتید مورد نظر از لحاظ اندازه تفاوت قابل توجهی با آنتی‌بادی‌های Infliximab و Camelid Fab دارد. زیرا این پپتید با هدف افزایش قدرت اتصال به دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی و مثبت، از دو دومین با ساختار مارپیچ آلفا که با اسید آمینه لیزین از هم تفکیک شده‌اند، طراحی شده است. همچنین وجود اسیدآمینه تریپتوفان در ساختار این پپتید با افزایش فعالیت آنتی باکتریال شده است. برهم‌کنش اسیدهای آمینه آبگریز و قلیایی، به‌ویژه تریپتوفان و آرژنین با هسته داخلی غشاء مهم‌ترین نقش را در فعالیت ضد میکروبی این پپتید دارند (Tanhaeian et al., 2018).

ترکیبات مهارى در بافت‌ها مى‌شود، اما در برخى از درمان‌هاى بالينى كه نياز به گردش آنتى‌بادى در دوره‌هاى طولانى‌مدت دارند، مشكل ايجاد مى‌كند (Boswell et al., 2010).

همچنين شاخص‌هاى ناپايدارى و آلفايتيك پپتيد CLF36 با ساير تركيبات مهارى و به‌خصوص آنتى بادهى Infiximab و Camelid Fab در دامنه نزديك به هم قرار دارند. از اين رو نشان مى‌دهد كه پپتيد CLF36 مى‌تواند به‌عنوان يك تركيب مهارى م سير از پايدارى بالائى برخوردار باشد، زيرا آنتى‌بادى‌هاى منوكلونال در برابر دناتوره‌كننده‌هاى شيميايى و آنزيم‌هاى پروتياز مقاوم هستند و در pH شديد پايدارى بالايى دارند (Kraus et al., 2019).

نقطه ايزوالكتريك پپتيد CLF36 تفاوت زيادى نسبت به ساير تركيبات مهارى م سير پيام‌رسان دارد كه علت آن وجود اسيد آمينه‌هاى بازى آرژنين و ليزين در اين پپتيد مى‌باشد كه بالا بودن نقطه ايزوالكتريك باعث مى‌شود تا در محيط‌هاى بازى، اين پپتيد داراى فعاليت بالائى داشته باشد. از طرف ديگر، نيمه عمر پپتيد CLF36 با آنتى‌بادى Infiximab برابر مى‌باشد، اما تركيبات مهارى NEMO و GILZ كه از تركيبات طبيعي مهاركننده م سير پيام‌رسان NF- κ B در حالت ثبات سلول و در شرايط غيرالتهابى هستند از طول عمر بسيار بالاترى نسبت به تركيبات مهندسى و طراحى شده برخوردار هستند. زيرا در تركيبات مهارى مهندسى شده، کوتاه بودن نيمه عمر باعث افزايش نفوذپذيرى

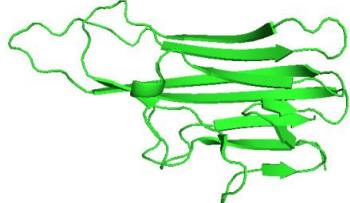
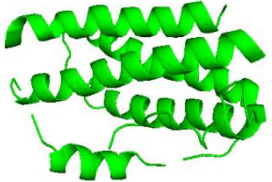
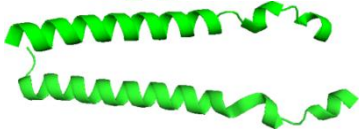
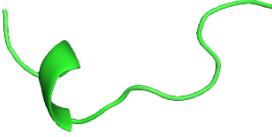
جدول ۱- مکانسیم‌های مهارى بالادستى و پايين دستى م سير NF- κ B

Table 1- Inhibitory mechanisms of Upstream and downstream of the NF- κ B pathway

منابع	مکانسیم مهارى م سير NF- κ B	مهاركننده	برهم‌كنش پروتئينى
References	Inhibitory mechanisms of the NF- κ B pathway	Inhibitory	Protein interaction
مسیر بالا دستى			
Upstream pathway			
Liang et al., 2013	مهار جايگاه اتصال رسپتور TNF α با TNFRI از طريق برهم‌كنش آرژنين ۵۲ و ۱۰۰، تيروزين ۱۰۲ و ۱۰۳ زنجيره جانبى سنگين Infiximab به‌ترتيب با اسپاراتات ۱۴۰، گلوتامات ۱۰۷، ترئونين ۱۰۵ و آلانين ۱۰۹ سايتوكاين TNF α و سپس اتصال واندروالسى گلوتامات ۵۳ و تريپتوفان ۹۴ زنجيره سبك Infiximab با هيستيدين ۵۳ و اسپارژين ۱۳۷ TNF α	Fab Infiximab (PDB: 4G3Y)	TNFR1- TNF α (PDB: 1EXT)
	Inhibition of the binding site of TNF α receptor with TNFRI through the interaction of Arg 52 and 100, Tyr 102 and 103 of the heavy side chain of Infiximab with Asp 140, Glu 107, Thr 105 and Ala 109 respectively, of TNF α cytokine and then Van der Waals binding of Glu 53 and Try 94 of Infiximab light chain with His 53 and Asn 137		
Blanchetot et al., 2016	مهار جايگاه اتصال رسپتور IL6 با IL6R از طريق برهم‌كنش ترئونين ۵۹، اسپاراتات ۵۸، تيروزين ۶۰، اسپاراتات ۵۴، ۵۶، ۱۰۲، تيروزين ۳۳ و آرژنين ۳۲ زنجيره جانبى سنگين Camelid به‌ترتيب با آرژنين ۱۶۸، گلوتامات ۱۷۲، هيستيدين ۱۶۴، ليزين ۱۷۱، آرژنين ۴۰، سرين ۳۷، آرژنين ۳۰ و اسپاراتات ۳۴ سايتوكاين IL6 و سپس اتصال اسپارژين ۲۶ زنجيره سبك Camelid با سرين ۷۶ سايتوكاين IL6	Camelid Fab (PDB: 4ZS7)	IL6—IL6R (PDB: 1P9M)
	Inhibition of IL6 receptor binding site with IL6R through interaction of Thr 59, Asp 58, Tyr 60, Asp 54, 56, 102, Tyr 33 and Arg 32 heavy side chain of Camelid with Arg 168, Glu 172, His 164, Lys 171, Arg 40, Ser 37, respectively., Arg 30 and Asp 34 of cytokine IL6 and then the connection of Asn 26 of Camelid light chain with Ser 76 of cytokine IL6		
مسیر پايين دستى			
Downstream pathway			
Rushe et al., 2008	مهار زنجيره A آنزيم مهاركننده كاپا B كيناز از طريق اتصال هيدروژنى NEMO با اسيد آمينه‌هاى سرين ۷۳۳، فنيل آلانين ۷۳۴، گلوتامين ۷۳۰، گلوتامات ۷۲۰، سرين ۷۰۵ و آرژنين ۱۰۱ و همچنين مهار زنجيره B آنزيم با برهم‌كنش NEMO با اسيد آمينه‌هاى گلوتامات ۷۱۱، گلوتامين ۷۳۲، گلوتامات ۷۲۹ و ترئونين ۷۲۶	NEMO (PDB: 3BRV)	IKK β -Ikb α (PDB: 3QA8)
	Inhibition of the A chain of kappa B kinase inhibitory enzyme through hydrogen bonding of NEMO with amino acids Ser 733, Phe 734, Gln 730, Glu 720, Ser 705 and Arg 101, as well as inhibition of the B chain of the enzyme by NEMO interaction with amino acids Glu 711, Gln 732, Glu 729 and Thr 726		
Srinivasan et al., 2014	مهار انتقال پروتئين (P65) NFKB به درون هسته از طريق برهم‌كنش اسيدآمینه‌هاى پپتيد GILZ با آرژنين ۲۹۴، ليزين ۲۹۳ و ترئونين ۳۰۰، ليزين ۲۹۵ و آرژنين ۲۹۶ از NLS P65	GILZ (PDB: 1DIP)	NLS P65-Importin α 3 (PDB: 7LF4)
	Inhibition of nuclear translocation of NFKB protein (P65) through the interaction of GILZ peptide amino acids with Arg 294, Lys 293 and Thr 300, Lys 295 and Arg 296 of NLS P65		

جدول ۲- ساختار سه بعدی ترکیبات مهار پی مسیر NF-κB

Table 2- 3 D structure of inhibitory combinations of the NF-κB pathway

ترکیبات Combinations	ساختار سه بعدی 3 D structure	توالی اسید آمینه Amino acid sequence
TNFα		VRSSSRTPSDKPV AHVVANPQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEGLYLIYSQVLFKGGCPSHTVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEPYILGGVVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGHIAL
IL6		PHRQPLTSSERIDKQIRYILDGISALRKETCNKSNMCESSKEALAENNLNLPKMAEKDGCFCQSGFNEETCLVKIITGLLEFEVYLEYLQNRFSSEEQARAVQMS TKVLIQFLQKKAKNLDAITTPDPTTNASLLTKLQANQWQLQDMTTHLILRSFKEFLQSSLRALRQM
IKKβ		AMAPAKKSEELVAEAHNLCTLLENAIQDTVREQDQSFTALDWSWLQTE
NLS p65		DRHRIEEKRKRTYETFKSIMKK

۱۰۴، آلانین ۱۰۹ و گلو تامات ۱۰۷ سایتوکاین TNFα با انرژی اتصال ۷۶۳.۸- (kcal/mol) برقرار شده است. لذا، براساس نتایج تحقیقات لیا نگ و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی اثرات مهار داروی Infliximab در سایتوکاین TNFα مسیر پیام رسان κB می توان گفت عملکرد پیپتید CLF36 در مهار اسید آمینه های آسپاراتات ۱۴۰، گلو تا مات ۱۰۷، آلانین ۱۰۹ مشا به با زنجیره سنگین داروی Infliximab و مهار اسید آمینه آسپارژین ۱۳۷ همانند زنجیره سبک داروی Infliximab بوده است که ممکن است همانند این دارو سبب مهار جایگاه فعال اتصال سایتوکاین TNFα به گیرنده اختصاصی خود TNFRI شده و در نهایت، مسیر پیام رسان NF-κB را متوقف سازد (Liang et al., 2013). همچنین نتایج این پژوهش با یافته های هو و همکاران در سال ۲۰۱۳ در بررسی اثرات مهار داروی Adalimumab Fab بر سایتوکاین پیش التهابی TNFα نیز همخوانی دارد. براساس یافته ها، برهم کنش پیپتید CLF36 با اسید آمینه های لیزین ۹۰، گلو تامات ۱۳۵، آسپارژین ۱۳۷، آرژنین ۱۳۸، ترئونین ۱۴۱ و گلو تامین ۶۷ از سایتوکاین TNFα مشابه با داروی Adalimumab Fab می باشد (Hu et al., 2013). نتایج اثرات مهار پیپتید CLF36 با سایتوکاین TNFα در شکل ۲A نشان داده شده است.

در نهایت، مدل سازی مولکولی اثرات مهار پیپتید CLF36 بر مسیر پیام رسان فاکتور هسته کاپا B و مقایسه آن با سایر ترکیبات مهار (Infliximab، Camelid Fab، NEMO، GILZ) با استفاده از نرم افزارهای بیوانفورماتیکی مختص داکینگ پروتئین-پروتئین نظیر نرم افزار آنالین ClusPro2.0 صورت گرفت. بر این اساس، میزان انرژی و موقعیت اتصال پیپتید CLF36 و ترکیبات مهار با سایتوکاین ها و گیرنده های مسیر پیام رسان NF-κB مورد بررسی قرار گرفتند که نتایج براساس رابطه ۱ در جدول ۵ نشان داده شده است (Kozakov et al., 2013; Kozakov et al., 2017).

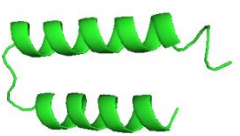
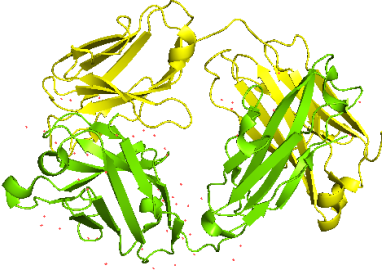
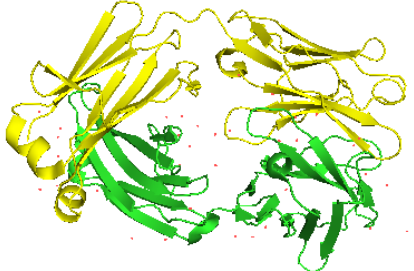
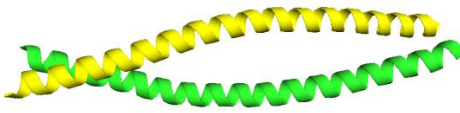
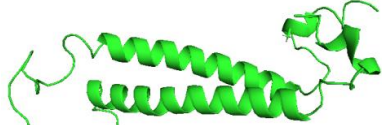
$$E = 0.40E_{rep} \pm 0.40E_{att} + 600E_{elec} + 1.00E_{DARS} \quad \text{رابطه ۱}$$

همچنین موقعیت اتصال پیپتید CLF36 با سایتوکاین ها و گیرنده های پروتئینی مسیر بالادستی و پایین دستی NF-κB در شکل ۱ نشان داده شده است.

براساس نتایج حاصله می توان گفت که در مسیر بالادستی پیام رسان NF-κB، اتصال اسید آمینه های آرژنین ۲۸، هیستیدین ۴۰، سیستئین ۳۳، گلو تامین ۲۹، لیزین ۲۵، ۱۸، آرژنین ۲۲، لیزین ۲۱ از پیپتید CLF36 به ترتیب با آسپاراتات ۱۴۰، لیزین ۹۰، گلو تامات ۱۳۵، آسپارژین ۱۳۷، آرژنین ۱۳۸، ترئونین ۱۴۱، گلو تامین ۶۷ گلو تامین

جدول ۳- ساختار سه بعدی ترکیبات مهار کننده مسیر NF-κB

Table 3- 3 D structure of inhibitory combinations of the NF-κB pathway

ترکیبات مهار کننده Combinations	ساختار سه بعدی 3 D structure	توالی اسید آمینه Amino acid sequence
CLF36		DLIWKLLVKAQEKFGRGKPSKRVKK MRRQWQACKSSHHHHH
Infliximab (Remicade)		DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHWHYQQ RTNGSPRLLIKYASEMSGIPSRFSGSGTDFTLSINT VESEDIADYYCQQSHSWPFTFGSGTNLEVKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECEVKLEESGGG LVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPKGL WVAEIRSKSINSATHYAESVKGRTISRDDSKSAVYL QMTDLRTEDTGVIYCSRNYGSTDYDWGQGTTLTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT QAVLTQPPPLVSGTPGQTVTISCAGANNDIGTYAYVS WYQQLPGTAPKLLIYKVTTRASGIPSRFSGSKSGNTA SLTISGLQSEDEADYYCASYRNFNNAVFGRGTHLTVL GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAV TVAAWKADSSPVKAGVETTPPSKQSNKNKYAASSYL TPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSEVQL QESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSITTRYAWSWIRQ PPGKGLEWMGVIDYDGDYYSPLKSRSTSISWDTSK NQFSLQLSSVTPEDTAVYYCARDPDVTGFHYDYWG QGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP MWEQGAPETLQRCLEENQELRDIAIRQSNQILRERCEE LLHFQASQREEKEFLMCKFQEARLVERLGLEKMWE QGAPETLQRCLEENQELRDIAIRQSNQILRERCEE LLHFQASQREEKEFLMCKFQEARLVERLGLEK
Camelid Fab (68F2)		
NEMO		
GILZ		MDLVKNHLMYAVREEVEILKEQIRELVEKNSQLERE NTLLKTLASPEQLEKFQSRSPPEEPAPETP EAPGGS

κB همانند زنجیره سنگین داروی Camelid Fab عمل کرده و در نهایت، سبب مهار جایگاه فعال اتصال سایتوکاین IL6 به گیرنده اختصاصی خود IL1RI خواهد شد. نتایج اثرات مهار کننده پپتید CLF36 با سایتوکاین IL6 در شکل ۲.B نشان داده شده است.

اما در مسیر پایین دست پیام رسانی NF-κB، نتایج نشان می دهد که پپتید CLF36 با اتصال به جایگاه فعال آنزیم مهار کننده کاپا B کیناز (IKKβ) و برهم کنش اسید آمینه های آرژنین ۱۶ و ۲۸ از پپتید CLF36 با تریپتوفان ۷۴۱، گلو تامین ۷۳۰ و ۷۴۳ آنزیم IKKβ و در کنار آن برهم کنش هیستیدین ۳۹، سرین ۳۵، گلو تامین ۳۱ و لیزین ۳۴ پپتید CLF36 به ترتیب با گلو تامین ۷۳۰، آسپارتات ۷۲۵، گلو تامات

از طرف دیگر، در مسیر بالادستی NF-κB، برهم کنش اسید آمینه های آسپارتات ۱، هیستیدین ۴۱، ۴۰، ۳۷ و سرین ۳۶ از پپتید CLF36 به ترتیب با اسید آمینه های آرژنین ۴۰ و ۱۶۸، لوسین ۱۶۵، هیستیدین ۱۶۴، آسپارژین ۴۸ و تریپتوفان ۱۵۷ سایتوکاین IL6 با انرژی اتصال ۷۲۳.۷ (kcal/mol) مشخص شده است. بنابراین، نتایج نشان می دهد که عملکرد پپتید cFL36 در مهار اسید آمینه های آرژنین ۴۰، ۱۶۸ و همچنین هیستیدین ۱۶۴ مشابه با نتایج بلانچتوت و همکاران ۲۰۱۶ در بررسی اثرات مهار داروی Camelid Fab بر روی سایتوکاین IL6 بوده است (Blanchetot et al., 2016). لذا، می توان گفت که احتمالاً پپتید CLF36 در مهار مسیر پیام رسانی NF-

(Rushe et al., 2008). لذا پیپتید CLF36 در مهار اسید آمینه‌های فنیل آلانین ۷۳۴، گلوتامین ۷۳۰، ۷۳۲ و ۷۲۹ آنزیم IKK β با ترکیب طبیعی مهار NEMO مشابهت دارد. بنابراین، می‌توان این گونه بیان کرد که احتمالاً پیپتید مورد نظر با مهار جایگاه فعال آنزیم IKK β ، سبب ممانعت اتصال به پروتئین I κ B α شده و آبشار مولکولی مسیر پایین دست پیام‌رسان NF- κ B قطع خواهد شد. نتایج برهم‌کنش‌های این مسیر در شکل ۲.C نشان داده است.

۷۲۹، گلوتامین ۷۳۲ و فنیل آلانین ۷۳۴ از آنزیم IKK β با انرژی اتصال -1152.9 (kcal/mol) سبب مهار جایگاه فعال این آنزیم شده و نتایج حاصله با بررسی روشه و همکاران در ۲۰۰۸ بر روی اثرات مهار NEMO در مهار جایگاه فعال آنزیم IKK β مطابقت دارد. نتایج این بررسی نشان می‌دهد که ترکیب مهار NEMO در شرایط طبیعی در سلول‌های فاقد خاصیت التهابی به اسید آمینه‌های سرین ۷۳۳، فنیل آلانین ۷۳۴، گلوتامین ۷۳۰، گلوتامات ۷۲۰، سرین ۷۰۵، گلوتامات ۷۱۱، گلوتامین ۷۳۲ و ۷۲۹ و ترئونین ۷۲۶ از جایگاه فعال آنزیم IKK β متصل شده و سبب مهار مسیر NF- κ B می‌شود

جدول ۴- مقایسه خواص فیزیکوشیمیایی پیپتید CLF36 و سایر ترکیبات مهار NF- κ B

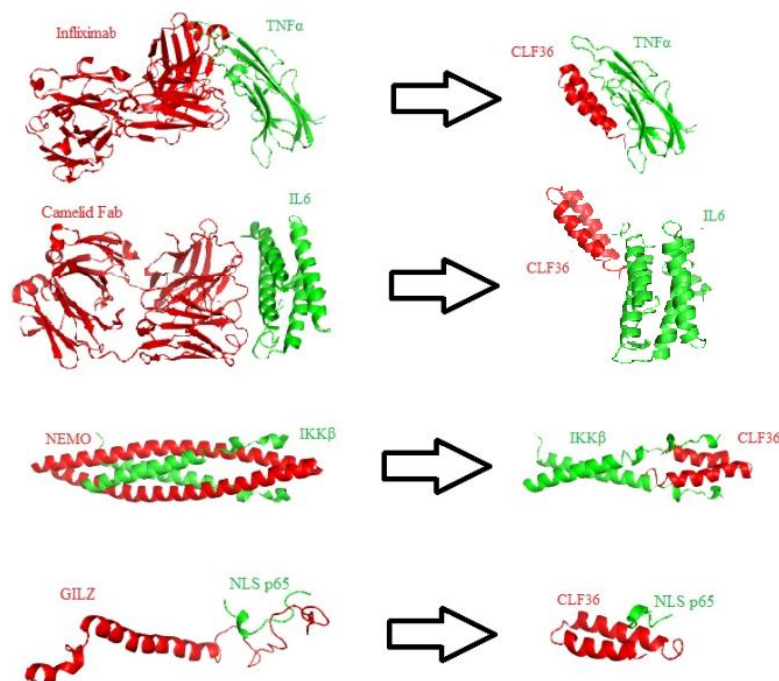
Table 4-Comparison of physicochemical properties of CLF36 peptide and other compounds inhibiting the NF- κ B

آنالیز Analyze	CLF36	Infliximab	Camelid Fab	NEMO	GILZ
وزن مولکولی Weight molecular	5139.05	47752.13	46717.05	8520.70	8712.85
نقطه ایزوالکتریک Isoelectric point	11.17	7.17	7.64	5.21	4.65
نیمه عمر Half time (hours)	1.1	1.1	0.8	30	30
دنباله‌های منفی (Asp + Glu)	2	39	30	15	16
دنباله‌های مثبت (Arg + Lys)	12	39	31	12	9
شاخص نا پایداری Instability index	56.70	54.24	47.43	58.70	78.33
شاخص آلفاتیک Index aliphatic	55.71	66.84	69.41	76.71	87.40
هیدروفوبیسیته GRAVY	-1.367	-0.369	-0.282	-0.997	-0.717

جدول ۵- مقایسه انرژی اتصال برای برهم‌کنش پیپتید CLF36 با جایگاه فعال مسیرهای بالادستی و پایین دستی NF- κ B

Table 5- Comparison of binding energy for the interaction of CLF36 peptide with the active site of NF- κ B pathway

جایگاه فعال Active site	پیپتید CLF36 CLF36 peptide	
	انرژی اتصال (کیلوکالری بر مول) - ΔG (kcal/mol)	
مسیر بالادستی Upstream pathway	مرکز Center	کمترین انرژی Lowest energy
TNF α	-736.3	-763.8
IL6	-642.8	-723.7
مسیر پایین دستی Downstream pathway		
IKK β	-1129.3	-1152.9
NF- κ B (P65)	-481.0	-534.5

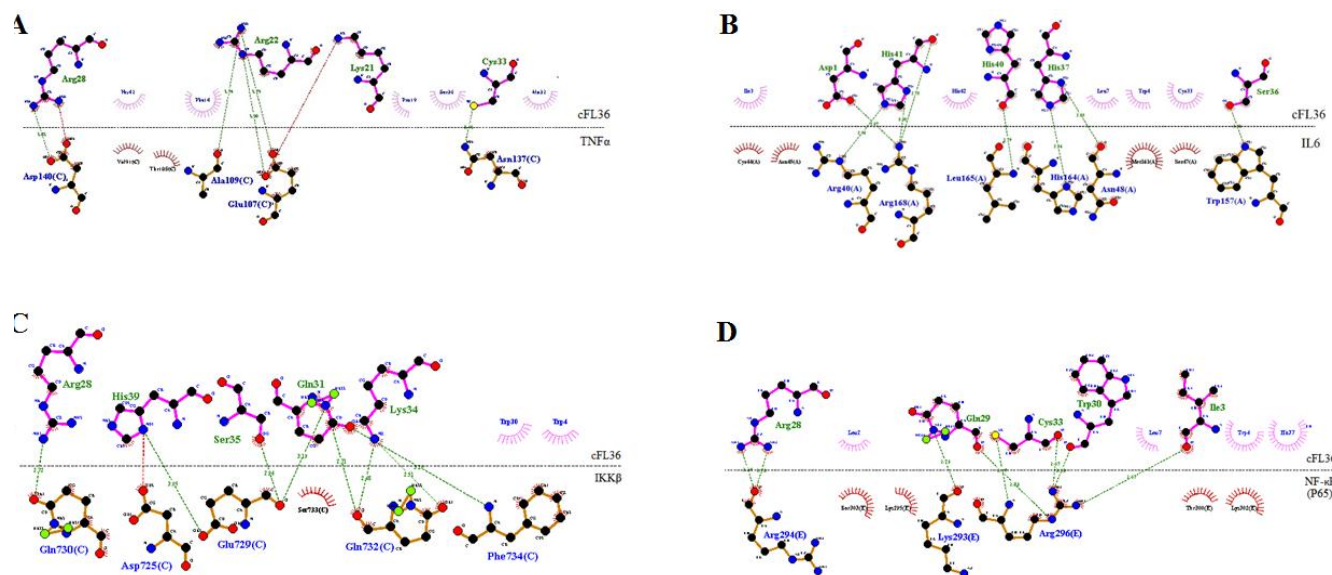


شکل ۱- موقعیت اتصال پپتید CFL36 با گیرنده‌های پروتئینی مسیر NF-κB

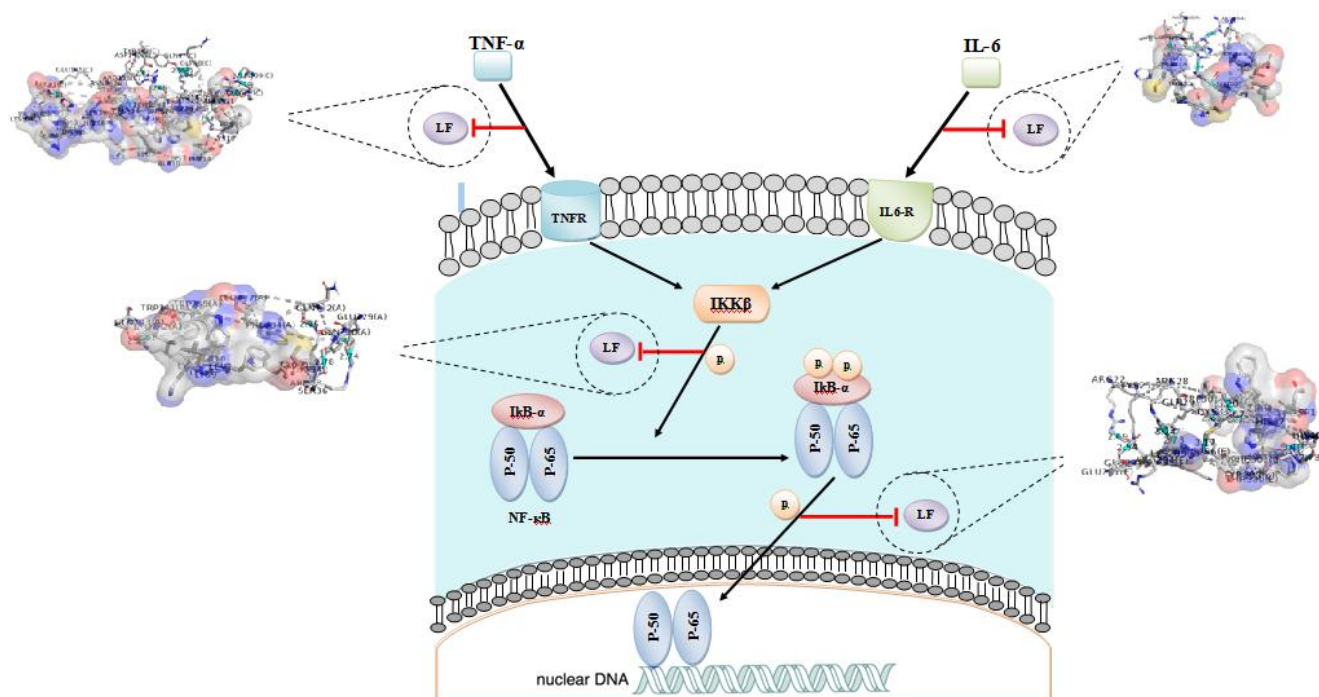
Figure 1- CFL36 peptide binding position with protein receptors of the NF-κB pathway

برهم‌کنش‌های این مسیر در شکل ۲.D نشان داده است. بنابراین، براساس نتایج حاصل از داکینگ پپتید CLF36 با پروتئین‌های مسیر NF-κB در محیط شبیه‌سازی شده مولکولی و مقایسه نتایج با اثرات مهاري سایر ترکیبات دارویی می‌توان گفت که پپتید CLF36 از طریق حفظ ساختار خود با اتصال پایدار به جایگاه فعال سایتوکاین‌های پیش التهابی $TNF-\alpha$ ، IL-6 در مسیر بالادستی فاکتور هسته کاپا B سبب مهار اتصال این سایتوکاین‌ها با رسپتورهای سطح غشای سلول هدف شده و در نهایت، پیام‌رسانی مسیر NF-κB متوقف خواهد شد. همچنین در مسیر پایین دستی این پیام‌رسان نیز پپتید CLF36 از طریق مهار جایگاه فعال آنزیم $IKK\beta$ به توقف آبشار مولکولی داخل سلولی کمک خواهد کرد. در کنار آن پپتید CLF36 با مهار جایگاه اتصال NLS فاکتور رونویسی پروتئین NF-(P65) NF-κB سبب مهار انتقال آن به درون هسته شده و در نهایت، عمل پروتئین P65 را به عنوان فاکتور رونویسی در بیان ژن‌های مربوط به سایتوکاین‌های پیش التهابی ($TNF-\alpha$ و IL-6) مختل کرده و موجب مهار مسیر پیام‌رسان NF-κB در شرایط بروز التهاب و بیماری‌های خود التهابی خواهد شد و می‌توان این پپتید را به عنوان یکی از ترکیبات مهاري این مسیر پیام‌رسان معرفی کرد. مسیرهای مهاري پپتید و برهم‌کنش آن با ترکیبات پروتئینی مسیر بالادستی و پایین دستی در شکل ۳ نشان داده شده است.

همچنین، نتایج نشان می‌دهد که پپتید CLF36 از طریق برهم‌کنش اسید آمینه‌های آرژنین ۲۸، گلوتامین ۲۹، سیستئین ۳۳ و تریتوفان ۳۰، ایزولوسین ۳ به ترتیب با اسیدهای آمینه‌های آرژنین ۲۹۴، لیزین ۲۹۵ و ۲۹۳ از جایگاه NLS پروتئین NF-κB(P65)، ممکن است سبب مهار اتصال پروتئین انتقال‌دهنده Importin $\alpha 3$ به این جایگاه فعال NLS شده و در نهایت، از انتقال پروتئین فعال NF-κB(P65) به داخل هسته جلوگیری کند. زیرا براساس نتایج فلوریو و همکاران در سال ۲۰۲۲ که به بررسی برهم‌کنش‌های پروتئین Importin $\alpha 3$ با هتروداپمر p50/p65 پرداخته‌اند، اسید آمینه‌های لیزین ۲۹۵، آرژنین ۲۹۶ و ۲۹۴ از اسید آمینه‌های اصلی در برقراری ارتباط بین پروتئین NF-κB(P65) و Importin $\alpha 3$ معرفی شده‌اند (Florino et al., 2022)؛ که این امر می‌تواند اثرات مهاري بر عملکرد فاکتور نسخه‌برداری NF-κB در بیان سایتوکاین‌های پیش التهابی درون هسته داشته باشد. همچنین نتایج ما در این پژوهش با بررسی‌های اسرینیواسان و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی اثرات مهاري پپتید GILZ بر NLS پروتئین NF-κB(P65) مطابقت دارد. نتایج آن‌ها نشان داد که پپتید GILZ از طریق برهم‌کنش با اسید آمینه‌های آرژنین ۲۹۴، لیزین ۲۹۳، ترئونین ۳۰۰، لیزین ۲۹۵ و آرژنین ۲۹۶ از NLS پروتئین P65 سبب ممانعت از اتصال آن به پروتئین انتقال‌دهنده Importin $\alpha 3$ شده و در نهایت، مانع انتقال آن به درون هسته می‌شود (Srinivasan et al., 2014). نتایج



شکل ۲- برهم کنش های مولکولی پیپتید CFL36 با مسیرهای بالادستی و پایین دستی NF-κB
Figure 2- Molecular interactions of CFL36 peptide with upstream and downstream NF-κB pathways



شکل ۳- برهم کنش های مولکولی پیپتید CFL36 با پروتئین های مسیر پیام رسان NF-κB
Figure 3- Molecular interactions of CFL36 peptide with the NF-κB proteins

نتیجه گیری کلی

نسل جدید به شمار آیند. تاکنون چندین مطالعه در زمینه اثرات پروتئین لاکتوفرین و پیپتیدهای آن بر روی سیستم ایمنی صورت گرفته و در چندین مطالعه اثرات پیپتید نو ترکیب CLF36 بر تعدیل سیستم ایمنی پرندگان مورد تأیید قرار گرفته است. مهار مسیر پیام رسان NF-

پروتئین لاکتوفرین و پیپتیدهای مشتق شده از آن به صورت طبیعی از مواد خوراکی به دست می آیند. بنابراین، دارای عوارض جانبی کمی می باشد، در نهایت می توانند کاندیدای مناسبی برای داروهای

κB به عنوان یکی از روش‌های تعدیل و تنظیم سیستم ایمنی محسوب می‌شود. براساس نتایج این پژوهش، می‌توان گفت در محیط شبیه سازی شده مولکولی، پپتید CLF36 مشتق شده از لاکتوفرین شتری اثرات مهار می‌شایی با سایر ترکیبات دارویی متداول در مهار مسیرهای بالادستی و پایین دستی پیام‌رسان NF-κB نظیر

حصول اطمینان از عملکرد پپتید CLF36 می‌بایست نتایج حاصله در شرایط آزمایشگاهی نیز مورد بررسی قرار گیرد.

References

- Berlutti, F., Pantanella, F., Natalizi, T., Frioni, A., Paesano, R., Polimeni, A., & Valenti, P. (2011). Antiviral properties of lactoferrin—a natural immunity molecule. *Molecules*, 16(8), 6992-7018. <https://doi.org/10.3390/molecules16086992>
- Blanchetot, C., De Jonge, N., Desmyter, A., Ongenae, N., Hofman, E., Klarenbeek, A., Sadi, A., Hultberg, A., Kretz-Rommel, A., & Spinelli, S. (2016). Structural mimicry of receptor interaction by antagonistic interleukin-6 (IL-6) antibodies. *Journal of Biological Chemistry*, 291(26), 13846-13854. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.695528>
- Bolscher, J. G., Adão, R., Nazmi, K., Van den Keybus, P. A., Van't Hof, W., Amerongen, A. V. N., Bastos, M., & Veerman, E. C. (2009). Bactericidal activity of LFchimera is stronger and less sensitive to ionic strength than its constituent lactoferricin and lactoferrampin peptides. *Biochimie*, 91(1), 123-132. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2008.05.019>
- Boswell, C. A., Tesar, D. B., Mukhyala, K., Theil, F. P., Fielder, P. J., & Khawli, L. A. (2010). Effects of charge on antibody tissue distribution and pharmacokinetics. *Bioconjugate Chemistry*, 21(12), 2153-2163. <https://doi.org/10.1021/bc100261d>
- Chen, Y. Q., Sengchanthalangsy, L. L., Hackett, A., & Ghosh, G. (2000). NF-κB p65 (RelA) homodimer uses distinct mechanisms to recognize DNA targets. *Structure*, 8(4), 419-428. [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(00\)00123-4](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(00)00123-4)
- Daneshmand, A., Kermanshahi, H., Sekhavati, M. H., Javadmanesh, A., & Ahmadian, M. (2019). Antimicrobial peptide, cLF36, affects performance and intestinal morphology, microflora, junctional proteins, and immune cells in broilers challenged with *E. coli*. *Scientific Reports*, 9(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50511-7>
- Daneshmand, A., Kermanshahi, H., Sekhavati, M. H., Javadmanesh, A., Ahmadian, M., Alizadeh, M., & Aldawoodi, A. (2020). Effects of cLFchimera peptide on intestinal morphology, integrity, microbiota, and immune cells in broiler chickens challenged with necrotic enteritis. *Scientific Reports*, 10(1), 11-1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74754-x>
- Dinarello, C. A. (2007). Historical insights into cytokines. *European Journal of Immunology*. *European Journal of Immunology*, 37(1), 34-45. <https://doi.org/10.1002/eji.200737772>
- Embleton, N. D., Berrington, J. E., McGuire, W., Stewart, C. J., & Cummings, S. P. (2013). Lactoferrin: Antimicrobial activity and therapeutic potential. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 18(3), 143-149. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2013.02.001>
- Florio, T. J., Lokareddy, R. K., Yeggoni, D. P., Sankhala, R. S., Ott, C. A., Gillilan, R. E., & Cingolani, G. (2022). Differential recognition of canonical NF-κB dimers by Importin α3. *Nature Communications*, 13(1), 1-16. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28846-z>
- Hayden, M., West, A., & Ghosh, S. (2006). NF-κB and the immune response. *Oncogene*, 25(51), 6758-6780. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209943>
- Hu, S., Liang, S., Guo, H., Zhang, D., Li, H., Wang, X., Yang, W., Qian, W., Hou, S., & Wang, H. (2013). Comparison of the inhibition mechanisms of adalimumab and infliximab in treating tumor necrosis factor α-associated diseases from a molecular view. *Journal of Biological Chemistry*, 288(38), 27059-27067. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.491530>
- Kanwar, J. R., Roy, K., Patel, Y., Zhou, S.F., Singh, M. R., Singh, D., Nasir, M., Sehgal, R., Sehgal, A., & Singh, R. S. (2015). Multifunctional iron bound lactoferrin and nanomedicinal approaches to enhance its bioactive functions. *Molecules*, 20(6), 9703-9731. <https://doi.org/10.3390/molecules20069703>
- Kopp, E., & Ghosh, S. (1994). Inhibition of NF-κB by sodium salicylate and aspirin. *Science*, 265(5174), 956-959. <https://doi.org/10.1126/science.8052854>
- Kozakov, D., Beglov, D., Bohnuud, T., Mottarella, S. E., Xia, B., Hall, D. R., & Vajda, S. (2013). How good is automated protein docking?. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 81(12), 2166-2159. <https://doi.org/10.1002/prot.24403>
- Kozakov, D., Hall, D. R., Xia, B., Porter, K. A., Padhorny, D., Yueh, C., Beglov, D., & Vajda, S. (2017). The ClusPro web server for protein–protein docking. *Nature Protocols*, 12(2), 255-278. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.169>
- Kraus, T., Winter, G., & Engert, J. (2019). Test models for the evaluation of immunogenicity of protein aggregates.

- International Journal of Pharmaceutics*, 559(1), 192-200. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.01.015>
18. Leboffe, L., Giansanti, F., & Antonini, G. (2009). Antifungal and antiparasitic activities of lactoferrin. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry .Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Infective Agents*, 8(2), 114-127. <https://doi.org/10.2174/187152109787846105>
19. Liang, S., Dai, J., Hou, S., Su, L., Zhang, D., Guo, H., Hu, S., Wang, H., Rao, Z., & Guo, Y. (2013). Structural basis for treating tumor necrosis factor α (TNF α)-associated diseases with the therapeutic antibody infliximab. *Journal of Biological Chemistry*, 288(19), 13799-13807. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.433961>
20. Nemati, M., Akseh, S., Amiri, M., Nejabati, H. R., Jodati, A., Maroufi, N. F., Faridvand, Y., & Nouri, M. (2021). Lactoferrin suppresses LPS-induced expression of HMGB1, microRNA 155, 146, and TLR4/MyD88/NF- κ B pathway in RAW264. 7 cells. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 43(2), 153-159. <https://doi.org/10.1080/08923973.2021.1872616>
21. Rushe, M., Silvian, L., Bixler, S., Chen, L. L., Cheung, A., Bowes, S., Cuervo, H., Berkowitz, S., Zheng, T., & Guckian, K. (2008). Structure of a NEMO/IKK-associating domain reveals architecture of the interaction site. *Structure*, 16(5), 798-808. <https://doi.org/10.1016/j.str.2008.02.012>
22. Song, L., Xie, W., Liu, Z., Guo, D., Zhao, D., Qiao, X., Wang, L., Zhou, H., Cui, W., & Jiang, Y. (2019). Oral delivery of a *Lactococcus lactis* strain secreting bovine lactoferricin–lactoferrampin alleviates the development of acute colitis in mice. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(15), 6169-6186. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09898-6>
23. Srinivasan, M., Blackburn, C., & Lahiri, D. K. (2014). Functional characterization of a competitive peptide antagonist of p65 in human macrophage-like cells suggests therapeutic potential for chronic inflammation. *Drug Design, Development and Therapy*, 8(1), 2409-2419. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S59722>
24. Tang, X. S., Shao, H., Li, T. J., Tang, Z. R., Huang, R. L., Wang, S. P., Kong, X. F., Wu, X., & Yin, Y. L. (2012). Dietary supplementation with bovine lactoferrampin–lactoferricin produced by *Pichia pastoris* fed-batch fermentation affects intestinal microflora in weaned piglets. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 168(4), 887-898. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9827-0>
25. Tanhaeian, A., Ahmadi, F. S., Sekhavati, M. H., & Mamarabadi, M. (2018). Expression and purification of the main component contained in camel milk and its antimicrobial activities against bacterial plant pathogens. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10(4), 787-793. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9416-9>

Contents

Ruminant Nutrition

- The Effect of Fat-Soluble Vitamins (A, D, E) and Flaxseed Oil on Blood Parameters and Immune System of Suckling Calves** 137

Mehrdad Movahednasab, Abdolmansour Tahmasbi, Seyed Alireza Vakili, Abbas Ali Naserian

- The Effect of Different Levels of Whey Powder on Growth Performance, Fermentation Parameters, Ruminal Morphology, Degradability and Microbial Protein Biosynthesis in Fattening Lambs** 151

Mohammad Hasanpour, Yadollah Chshnidel, Asadolah Teymouri Yanesari, Zarbakht Ansari Pirsarei

- The Effects of Physical Form of Alfalfa and Processing of Barley Grain on Nitrogen Retention, Activity of Cellulolytic Enzyme, Blood Parameters and Rumen Microbial Population in Dalagh Fattening Lambs** 169

Raheleh Rajabi Aliabadi, Taghi Ghoorchi, Nor Mohammad Torbati Nejad, Abdolhakim Toghdory, Mokhtar Mohajer, Reza Tahmasbi

Poultry Nutrition

- Comparison of Organic and Mineral Selenium on Performance, Microbial Population, Intestinal Histopathology and Cecum Acidity of Laying Hens** 185

Zahra Tahami, Behrooz Dastar, Ehsan Oskoueian, Seyed Reza Hashemi

- Effect of Heat Processing on Nutrient Digestibility and Metabolizable Energy of Canola Seed in Broiler Chickens** 199

Najeebullah Fayaz, Hassan Kermanshahi, Heydar Zarghi

- The Effect of Oxidative Stress and Dietary Vitamin E Supplementation on Fresh Sperm Quality of Ross 308 Broiler Breeder Roosters** 211

Zabihollah Nemati, Namdar Kamrani, Mohammad Sattari, Amir Karimi, Magsoud Besharati

- Effect of Dietary Energy and Protein Level on Growth Performance of Native Khazak Chickens from 7 to 91 Days of Age** 225

Mohammad Zardadzaei, Mahmoud Ghazaghi, Farzad Bagherzadeh Kasmani, Hadi Faraji-Arough

- The Effect of Adding *Lactobacillus* Isolates, Isolated from the Gastrointestinal Tract of Iranian Native Poultry on Performance, Carcass Characteristics, Blood Parameters and Safety Parameters of Broilers** 241

Seyed Mohammadreza, Entezari Sereshkeh, Majid Mottaghtalab, Maryam Royan, Ramin Seighalani

- Evaluation of the Use of Fermented Sunflower Meal in the Diet on Growth Performance, Ileum Microbial Population and Blood Indices in Broiler Chickens** 255

Yousef Didheban, Mohammad Kazemifard, Mansour Rezaei, Pouyan Mehraban

- The Effect of Vitamin D3 and Vitamin C on Performance, Egg Quality and Hatchability of Broiler Breeder Hens** 271

Reza Kanani, Ruhollah Kianfar, Hossein Janmohammadi, Woo Kyun Kim, Majid Olyaei

Genetic

- Investigation of the Inhibitory Effects of CLF36 Peptide Derived from Camel Lactoferrin on NF- κ B Signaling Pathway in Molecular Docking Simulation (*In silico*)** 285

Hojjat Allah Yami, Mojtaba Tahmoorespur, Mohammad Hadi Sekhavati, Ali Javadmanesh

« Scientific Journal»
Iranian Journal of Animal Science Research

Vol. 15

No. 2

Summer 2023

Publisher: Ferdowsi University of Mashhad (F.U.M.)

Responsible Manager: H. Nassiri Moghaddam (Prof.)

Editor-in-Chief: R. Valizadeh (Prof.)

Editorial Board:

R. Valizadeh	Ruminant Nutrition	(Prof.)	(F.U.M.)
M. Danesh Mesgaran	Ruminant Nutrition	(Prof.)	(F.U.M.)
G.R. Ghorbani	Ruminant Nutrition	(Prof.)	Esfahan Technology University
S.M. Tabatabaee	Ruminant Nutrition	(Prof.)	Bo Ali-Sina University of Hamedan
M. Chaji	Ruminant Nutrition	(Prof.)	Agricultural Science and Natural Resources University Of Khuzestan
H. Nassiri-Moghaddam	Poultry Nutrition	(Prof.)	(F.U.M.)
A. Golian	Poultry Nutrition	(Prof.)	(F.U.M.)
J. Pour-Reza	Poultry Nutrition	(Prof.)	Esfahan Technology University
F. Boldaji	Poultry Nutrition	(Prof.)	Gorgan Agricultural and Natural Resources University
A. Hassanabadi	Poultry Nutrition	(Prof.)	(F.U.M.)
B. Dastar	Poultry Nutrition	(Prof.)	Gorgan Agricultural and Natural Resources University
J. Zamiri	Animal Physiology	(Prof.)	Shiraz University
N. Pirani	Genetics & breeding	(Asso. Prof.)	Shahre kord University
M.R. Nassiri	Genetics & breeding	(Prof.)	(F.U.M.)
M.Tahmoores pour	Genetics & breeding	(Prof.)	(F.U.M.)
S. Zerehdaran	Genetics & breeding	(Prof.)	(F.U.M.)
M. Sargolzaei	Genetics	(Asso. Prof.)	University of Guelph, Canada

Printed by: Ferdowsi University of Mashhad, Press.

Address: P.O. Box 91775-1163, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

Phone: +98-51-38804656

Fax: +98-51-38787430

E-Mail: ijasr@ferdowsi.um.ac.ir

Web Site: <https://ijasr.um.ac.ir>

Contents

Ruminant Nutrition

- The Effect of Fat-Soluble Vitamins (A, D, E) and Flaxseed Oil on Blood Parameters and Immune System of Suckling Calves 137
 Mehrdad Movahedinasab, Abdolmansour Tahmasbi, Seyed Alireza Vakili, Abbas Ali Naserian
- The Effect of Different Levels of Whey Powder on Growth Performance, Fermentation Parameters, Ruminal Morphology, Degradability and Microbial Protein Biosynthesis in Fattening Lambs 151
 Mohammad Hasanpour, Yadollah Chahmidel, Asadolah Teymouri Yanesari, Zarbakht Ansari Pirsarei
- The Effects of Physical Form of Alfalfa and Processing of Barley Grain on Nitrogen Retention, Activity of Cellulolytic Enzyme, Blood Parameters and Ruminal Microbial Population in Dalagh Fattening Lambs 169
 Rahleh Rajabi Alibadi, Taghi Ghavini, Naei Mohammad Torbati Nejad, Abolhasan Toighulery, Mokhtar Mohtajer, Reza Tahmasbi

Poultry Nutrition

- Comparison of Organic and Mineral Selenium on Performance, Microbial Population, Intestinal Histopathology and Cecum Acidity of Laying Hens 185
 Zahra Tahami, Behrooz Dastar, Elsan Oskouci, Seyed Reza Hashemi
- Effect of Heat Processing on Nutrient Digestibility and Metabolizable Energy of Canola Seed in Broiler Chickens 199
 Najeebullah Fayaz, Hassan Kermanshahi, Heydar Zarghi
- The Effect of Oxidative Stress and Dietary Vitamin E Supplementation on Fresh Sperm Quality of Ross 308 Broiler Breeder Roosters 211
 Zabihollah Nemati, Namdar Kamrani, Mohammad Sattari, Amir Karimi, Magsoud Besharat
- Effect of Dietary Energy and Protein Level on Growth Performance of Native Khazak Chickens from 7 to 91 Days of Age 225
 Mohammad Zardadzei, Mahmoud Ghazaghi, Farzad Bagherzadeh Kasmani, Hadi Faraji-Arough
- The Effect of Adding *Lactobacillus* Isolates, Isolated from the Gastrointestinal Tract of Iranian Native Poultry on Performance, Carcass Characteristics, Blood Parameters and Safety Parameters of Broilers 241
 Seyed Mohammadreza, Entezari Sereshkeh, Majid Mottaghitaleb, Maryam Royan, Ramin Seighalani
- Evaluation of the Use of Fermented Sunflower Meal in the Diet on Growth Performance, Ruminal Microbial Population and Blood Indices in Broiler Chickens 255
 Yousef Didheban, Mohammad Kazemifard, Mansour Rezaei, Pouyan Mehraban
- The Effect of Vitamin D3 and Vitamin C on Performance, Egg Quality and Hatchability of Broiler Breeder Hens 271
 Reza Kanani, Ruhollah Kianfar, Hossein Janmohammadi, Woo Kyun Kim, Majid Olyaei

Genetic

- Investigation of the Inhibitory Effects of CLF36 Peptide Derived from Camel Lactoferrin on NF- κ B Signaling Pathway in Molecular Docking Simulation (*In silico*) 285
 Hojjat Allah Yami, Mojtaba Tahmoorespur, Mohammad Hadi Sekhavati, Ali Javadmanesh