# نشریه علمی
# پژوهشهای علوم دامی ایران

جلد ۱۶ شماره ۳
سال ۱۴۰۳

(شماره پیاپی: ۵۹)

شاپا: ۲۰۰۸-۳۱۰۶


## عنوان مقالات


**تغذیه نشخوارکنندگان**

**تأثیر نسبت‌های مختلف متیونین- روی و اکسید روی بر شاخص‌های عملکردی و اسهال گوساله‌های شیرخوار هلشتاین ..... ۳۱۹**
مرتضی رضاپور، یداله چاشنی‌دل، اسداله تیموری یانسری، عیسی دیرنده

**تعیین نیاز عنصر روی در گوساله‌های شیرخوار با استفاده از برخی مدل‌های غیرخطی..... ۳۳۳**
محمد جواد الیاسی، خلیل زابلی

**اثر فرآوری سیلاژ کاه نخود با اوره، ملاس و آنزیم سلولاز بر ترکیب شیمیایی، تولید گاز، قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای..... ۳۴۹**
زهرا عباسی ناوند، جمال سیف دواتی، مجتبی علیپور عین‌الدین، حسین عبدی بنمار، فرزاد میرزایی آقجه قشلاق، رضا سیدشریفی

**اثر مواد فعال سطحی (سورفاکتانت‌ها) بر ویژگی‌های ظاهری و غلظت مواد مغذی دانه ذرت فرآوری شده با روش بخارپز- پولکی..... ۳۶۹**
فرزانه محمدی، محسن دانش مسگران، سید علیرضا وکیلی، عبدالمنصور طهماسبی، محمدرضا حسین دخت

**تغذیه طیور**

**تأثیر مخمر اتولیزشده بر شاخص‌های عملکرد رشد و فیزیولوژیکی جوجه‌های گوشتی پرورش یافته در تراکم بالا ..... ۳۸۷**
سمانه قاسمی نژاد، سمیه سالاری

**ارزیابی خصوصیات شیمیایی و قابلیت جذب منابع مختلف منگنز با استفاده از تکنیک قطعات وارونه روده و بررسی اثر سطوح و منابع مختلف منگنز بر عملکرد و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی ..... ۴۰۳**
فاروق کارگر، حسن کرمانشاهی، علی جوادمنش، رضا مجیدزاده هروی

**بررسی اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و خصوصیات استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی ..... ۴۱۷**
سیده اعظم خاتمی، میرداریوش شکوری، نعمت هدایت ایوریق

**بهبود عملکرد رشد و کاهش تلفات با مکمل سازی عصاره اتانولی برگ مو (*Vinifera Vitis*) در جوجه‌های گوشتی تحت آسیت القایی..... ۴۳۵**
مختار فتحی، تیمور تنها، رضا طاهرخانی، وحید رضایی کما

**ژنتیک**

**واکاوی ژنتیکی تلاقی‌های دوطرفه کرم ابریشم در لاین‌ها و آمیخته‌های جدید ایرانی ..... ۴۴۹**
شهلا نعمت اللهیان، سید حسین حسینی مقدم، بابک ربیعی، سید ضیاالدین میرحسینی

# نشریه علمی
# پژوهشهای علوم دامی ایران

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

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

**جلد ۱۶ شماره ۳ پاییز ۱۴۰۳**

**صاحب امتیاز و ناشر**: دانشگاه فردوسی مشهد

**مدیر مسئول** : دکتر حسن نصیری مقدم

**سردبیر** : دکتر رضا ولی زاده



**اعضای هیئت تحریریه** :

| | | |
|---|---|---|
| دکتر رضا ولی زاده | استاد تغذیه نشخوارکنندگان | دانشگاه فردوسی مشهد |
| دکتر محسن دانش مسگران | استاد تغذیه نشخوارکنندگان | دانشگاه فردوسی مشهد |
| دکتر مرتضی چاجی | استاد تغذیه نشخوارکنندگان | دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان |
| دکتر حسن علی عربی | استاد تغذیه نشخوارکنندگان | دانشگاه بوعلی سینا- همدان |
| دکتر جمال سیف دواتی | استاد تغذیه نشخوارکنندگان | دانشگاه محقق اردبیلی |
| دکتر حسن نصیری مقدم | استاد تغذیه طیور | دانشگاه فردوسی مشهد |
| دکتر ابوالقاسم گلیان | استاد تغذیه طیور | دانشگاه فردوسی مشهد |
| دکتر حسین جانمحمدی | استاد تغذیه طیور | دانشگاه تبریز |
| دکتر فریبرز خواجعلی | استاد تغذیه طیور | دانشگاه شهرکرد |
| دکتر احمد حسن آبادی | استاد تغذیه طیور | دانشگاه فردوسی مشهد |
| دکتر بهروز دستار | استاد تغذیه طیور | دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان |
| 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 عباس پاکدل | استاد ژنتیک و اصلاح نژاد | دانشگاه صنعتی اصفهان |
| دکتر حسن دوستی | استاد ریاضیات و آمار | دانشگاه مکواری، استرالیا |
| دکتر مهدی سرگلزایی | دانشیار ژنتیک | دانشگاه گوئلف، کانادا |



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

**نمابر**: ۰۵۱-۳۸۷۸۷۴۳۰

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



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

**این نشریه در پایگاه های زیر نمایه می شود:**

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

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

بسم الله الرحمن الرحیم

## مندرجات


**تغذیه نشخوارکنندگان** **صفحه**

**تأثیر نسبت‌های مختلف متیونین- روی و اکسید روی بر شاخص‌های عملکردی و اسهال گوساله‌های شیرخوار هلشتاین** ۳۱۹
مرتضی رضاپور، یداله چاشنی‌دل، اسداله تیموری یانسری، عیسی دیرنده

**تعیین نیاز عنصر روی در گوساله‌های شیرخوار با استفاده از برخی مدل‌های غیرخطی** ۳۳۳
محمد جواد الیاسی، خلیل زابلی

**اثر فرآوری سیلاژ کاه نخود با اوره، ملاس و آنزیم سلولاز بر ترکیب شیمیایی، تولید گاز، قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای** ۳۴۹
زهرا عباسی ناوند، جمال سیف دواتی، مجتبی علیپور عین‌الدین، حسین عبدی بنمار، فرزاد میرزایی آقجه قشلاق، رضا سیدشریفی

**اثر مواد فعال سطحی (سورفاکتانت‌ها) بر ویژگی‌های ظاهری و غلظت مواد مغذی دانه ذرت فرآوری شده با روش بخارپز- پولکی** ۳۶۹
فرزانه محمدی، محسن دانش مسگران، سید علیرضا وکیلی، عبدالمنصور طهماسبی، محمدرضا حسین دخت

**تغذیه طیور**

**تأثیر مخمر اتولیزشده بر شاخص‌های عملکرد رشد و فیزیولوژیکی جوجه‌های گوشتی پرورش یافته در تراکم بالا** ۳۸۷
سمانه قاسمی نژاد، سمیه سالاری

**ارزیابی خصوصیات شیمیایی و قابلیت جذب منابع مختلف منگنز با استفاده از تکنیک قطعات وارونه روده و بررسی اثر سطوح و منابع مختلف منگنز بر عملکرد و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی** ۴۰۳
فاروق کارگر، حسن کرمانشاهی، علی جوادمنش، رضا مجیدزاده هروی

**بررسی اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و خصوصیات استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی** ۴۱۷
سیده اعظم خاتمی، میرداریوش شکوری، نعمت هدایت ایوریق

**بهبود عملکرد رشد و کاهش تلفات با مکمل سازی عصاره اتانولی برگ مو (*Vinifera Vitis*) در جوجه‌های گوشتی تحت آسیت القایی** ۴۳۵
مختار فتحی، تیمور تنها، رضا طاهرخانی، وحید رضایی کما

**ژنتیک**

**واکاوی ژنتیکی تلاقی‌های دوطرفه کرم ابریشم در لاین‌ها و آمیخته‌های جدید ایرانی** ۴۴۹
شهلا نعمت اللهیان، سید حسین حسینی مقدم، بابک ربیعی، سید ضیاالدین میرحسینی

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

**Research Article**
**Vol. 16, No.3, 2024, p. 317-330**

# The Effect of Different Ratio of Methionine-Zinc and Zinc Oxide on Performance Indicators and Diarrhea in Suckling Holstein Calves

**Morteza Rezapour[1], Yadollah Chashnidel[2*], Asadollah Teimouri Yansari[3], Essa Dirandeh[4]**

1- Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, University of Sari Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran.
2- Associated Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, University of Sari Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran.
3- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, University of Sari Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran.
4- Associated Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, University of Sari Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran.
*Corresponding Author's Email: ychashnidel2002@yahoo.com

Received: 01-09-2023
Revised: 12-11-2023
Accepted: 15-11-2023
Available Online: 15-11-2023

**How to cite this article:**
Rezapour, M., Chashnidel, Y., Teimouri Yansari, A., & Dirandeh, E. (2024). The effect of different ratio of methionine-zinc and zinc oxide on performance indicators and diarrhea in suckling Holstein calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16*(3), 317-330. (in Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.83930.1168

**Introduction:** Diarrhea is the main cause of calf mortality in the first two weeks after birth. Even when calves recover from diarrhea, they may subsequently show impaired growth. Considering this fact and especially following the ban of antibiotics in many countries, it is very important to identify effective anti-diarrheal supplements for use in suckling calves. Zinc is an effective anti-inflammatory and anti-diarrheal substance that improves the function of the immune system, reduces the number of pathogenic bacteria and increases the relative abundance of beneficial microbes in the digestive system. It is thought that the mechanisms of anti-diarrheal effect of zinc element are due to regulation of intestinal fluid transfer and mucosal integrity, strengthening of immunity and modulation of oxidative stress. The purpose of this experiment is to investigate the use of different proportions of organic (methionine-zinc) and inorganic (zinc oxide) sources of zinc to prevent diarrhea, improve the condition of the immune system and performance indicators of suckling calves.

**Materials and Methods:** A total of 50 suckling Holstein calves were used over 70 days in a completely randomized design with 5 treatments and 10 replications. The experimental treatments were different proportions of organic and inorganic zinc supplements, including 1) zinc supplementation, 100% Methionine-zinc 2) combination of 75% methionine-zinc and 25% zinc oxide, 3) combination of 50% methionine-zinc and 50% zinc oxide, 4) combination of 25% methionine-zinc and 75% zinc oxide, and 5) 100% zinc oxide. All treatments received 1.96 mg of zinc supplementation per kilogram of body weight. Zinc supplements mixed with milk were fed to the calves from day one to day 14, and performance monitoring continued for 70 days. The stool score was evaluated on a scale of 1 to 4. Diarrhea was defined as the presence of grade 3 or 4 stools for 2 consecutive days. Data were analyzed in a completely randomized design using the GLM procedure of SAS. For variables

©2023 The author(s). This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.
http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.83930.1168

measured over time (average daily gain, dry matter intake, and feed conversion ratio), time was added to the model as a repeated factor.

**Results and Discussion:** The results showed that experimental treatments did not significantly effect the average daily gain, dry matter intake, and feed conversion ratio of the calves fed with Different ratios of mineral (zinc oxide) and organic (methionine-zinc) sources of zinc. In addition, the average of fecal consistency score did not differ significantly among the treatments. The results blood analysis demonstrated that treatment 100% methionine-zinc had higher level of concentration alkaline phosphatase. However, among the treatments contained methionine-zinc, a decrease in the ratio of methionine-zinc resulted in a decrease in Alkaline phosphatase concentration. Higher ratios of zinc oxide caused a significant decrease in the concentration of superoxide dismutase in the blood on the 14th and 70th day of the experiment. Also, on the 70th day of the test, the antioxidant capacity of whole blood was significantly higher in treatments containing methionine-zinc than in treatment %100 zinc oxide. The results showed that other blood parameters were not significantly influenced by the treatments in this study. In general, production performance did not change in different ratios of organic and mineral sources, the lack of effect of replacing zinc oxide with methionine-zinc on the performance of the present calves may be due to the provision of sufficient levels of zinc for all calves. So that the zinc supplement, taking into account its purity percentage, reached the same amount (1.96 mg of zinc supplement per kilogram of body weight) in all treatments.

**Conclusion:** In the present study, overall production performance and blood parameter concentrations did not change with different ratios of organic and mineral sources. However, the activity of antioxidant enzymes was higher with higher ratios of the organic supplement (methionine-zinc) compared to the mineral source (zinc oxide). The lack of positive effect of replacing zinc oxide with methionine-zinc on the performance of the present calves may be due to the provision of sufficient levels of zinc for all calves. And it can be said that when a mineral is supplied at a sufficient level, the chemical form and bioavailability of resources are less important on performance.

**Keywords:** Diarrhea, Immune system, Newborn calf, Zinc methionine, Zinc oxide

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

مقاله پژوهشی
جلد ۱۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۳۳۰-۳۱۷

# تأثیر نسبت‌های مختلف متیونین- روی و اکسید روی بر شاخص‌های عملکردی و اسهال گوساله های شیرخوار هلشتاین

مرتضی رضاپور[۱]، یداله چاشنی‌دل[۲*]، اسداله تیموری یانسری[۳]، عیسی دیرنده[٤]

تاریخ دریافت:۱۴۰۲/۰۶/۰۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۸/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۲۴

## چکیده

اسهال، یکی از عوامل اصلی مرگ و میر گوساله‌ها در دو هفته اول پس از تولد است، بنابراین شناسایی ترکیبات مؤثر بر پیشگیری از اسهال برای گوساله‌های شیرخوار، بسیار مهم است. به‌منظور بررسی نسبت‌های مختلف مکمل‌های روی بر بهبود اسهال و عملکرد گوساله‌ها، تعداد ۵۰ راس گوساله هلشتاین شیرخوار در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و ۱۰ تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل مصرف مکمل روی به‌صورت ۱) ۱۰۰درصد متیونین- روی، ۲) ۷۵ درصد متیونین- روی و ۲۵ درصد اکسید روی، ۳) ۵۰ درصد متیونین- روی و ۵۰ درصد اکسید روی، ۴) ۲۵ درصد متیونین- روی و ۷۵ درصد اکسید روی و ۵) ۱۰۰ درصد اکسید روی بود. مکمل روی از روز اول تولد تا روز ۱۴ به گوساله‌ها تغذیه شد و بررسی عملکرد به‌مدت ۷۰ روز تا زمان قطع شیر ادامه داشت. ماده خشک مصرفی، افزایش وزن روزانه و امتیاز قوام مدفوع گوساله‌ها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. نسبت‌های بالاتر اکسید روی سبب کاهش معنی‌دار غلظت آلکالین فسفاتاز و سوپراکسید دیسموتاز خون در روز ۱۴ و ۷۰ آزمایش شد. همچنین در روز ۷۰ آزمایش، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل خون، در تیمارهای حاوی متیونین- روی، به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار ۵ (۱۰۰ درصد اکسید روی) بود. در مجموع، عملکرد تولیدی، در نسبت‌های مختلف منبع آلی و معدنی تغییر نکرد، عدم تأثیر جایگزینی اکسید روی با متیونین- روی بر عملکرد گوساله‌ها در مطالعه حاضر ممکن است به‌دلیل ارائه سطوح کافی روی برای همه گوساله‌ها باشد. بنابراین می‌توان بیان داشت، در زمانی که عنصر روی در سطح کافی تأمین شود، شکل شیمیایی و زیست‌فراهمی منابع دارای اهمیت کمتری هستند.

**واژه‌های کلیدی:** اسهال، اکسید روی، سیستم ایمنی، گوساله شیرخوار، متیونین روی

## مقدمه

گوساله‌های شیرخوار به دلایل مختلف در هفته‌های ابتدایی در معرض عوامل عفونت‌زا زیادی قرار دارند که چالش‌های ایمنی برای گوساله ایجاد می‌کنند. روده در تسهیل همزمان جذب مواد مغذی و در عین حال، جلوگیری از نفوذ باکتری‌ها به داخل پورتال و گردش خون سیستمیک، نقطه کانونی انتقال باکتری‌ها است. اسهال، یک بیماری چند عاملی است که تحت تأثیر در معرض بودن عوامل بیماری‌زا، مدیریت پرورش، شرایط محیطی، وضعیت تغذیه‌ای و ایمنی بدن قرار می‌گیرد. نرخ مرگ و میر گوساله‌ها قبل از قطع شیر ۷/۸ درصد است که اسهال یا سایر مشکلات گوارشی ۵۶/۵ درصد از این مرگ و میر را تشکیل می‌دهد (Adab *et al.*, 2020) . همچنین، اسهال به‌عنوان عامل اصلی مرگ و میر در گوساله‌ها، به‌ویژه در دو هفته اول پس از تولد منجر به استفاده از آنتی بیوتیک‌ها و ایجاد خسارت اقتصادی در مزارع پروش گاو شیری می‌شود (Santman-Berends *et al.*, 2018). علاوه‌براین، حتی هنگامی که گوساله‌ها از اسهال بهبود می‌یابند، متعاقب آن ممکن است اختلال رشد را نشان دهند، که این بر بهره‌وری در مراحل دیگر پرورش آن‌ها تأثیر می‌گذارد (Cho and Yoon, 2014). با توجه به این واقعیت و به‌ویژه در پی ممنوعیت آنتی‌بیوتیک در بسیاری از کشورها، شناسایی داروها و مکمل‌های مؤثر برای پیشگیری و درمان اسهال در گوساله‌های شیرخوار، بسیار مهم است. در این میان، مکمل‌های خوراکی روی برای کاهش بروز اسهال و بهبود سلامتی گوساله می‌تواند مورد توجه قرار گیرد (Wang

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
۲- گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
۳- استاد، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
۴- دانشیار، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: ychashnidel2002@yahoo.com)
http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.83930.1168

(*et al*., 2018).

بـه‌طور کلـی، مـواد معـدنی کـم مصـرف بـرای عملکردهـای فیزیولوژیکی مانند رشد و نمو، ایمنی و تولید مثـل حیوانـات ضـروری هستند. در نتیجه، کمبود آن‌ها می‌تواند بر عملکرد حیوانات تأثیر منفی بگذارد. در این میان روی، یـک عنصـر کمیـاب، دارای عملکردهـای بیولوژیکی بسیاری، از جملـه حفـظ یکپـارچگی بافـت اپیتلیـال روده، تقسیم سلولی و پاسخ ایمنی مناسب اسـت (Schulte *et al*., 2016). روی، به‌عنوان یک ماده ضد التهـابی و ضـد اسـهالی مـؤثر محسـوب می‌شود (Hu *et al*., 2013) و باعث بهبود عملکرد سامانه ایمنی می‌شود، تعداد باکتری‌های بیماری‌زا را کاهش و فراوانی نسبی میکروب‌هـای مفیـد دسـتگاه گـوارش را افـزایش می‌دهـد (Sales, 2013). هنگامی که از منابع معدنی روی، ماننـد اکسـید روی (ZnO) اسـتفاده شود، رشد و ایمنی حیوان تقویت و میزان بروز اسهال کاهش می‌یابـد (Mattioli *et al*., 2018). در یـک پـژوهش، اسـتفاده از روی بـرای پیشگیری از اسهال در گوساله‌های نـوزاد بررسـی شـد، گوسـاله‌هـای تحت درمان با روی، از نظر عددی بهبود بالینی سریع‌تر، افزایش وزن و شانس بیشتری در شرایط سـلامتی و زنـده مانـدن، در مقایسـه بـا گوساله‌های دریافت‌کننده دارو نشـان دادنـد (Glover *et al*., 2013). برخی از پژوهشگران نشان داده‌اند کـه مکمـل اکسـید روی (۳۸۰ یـا ۵۷۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم خوراک) باعث کاهش شاخص اسهال و افزایش ترشح IgA در مخاط دئودنـوم شـد (Shen *et al*., 2014). در همین راستا، گزارش شد کـه مصـرف مکمـل اکسـید روی باعـث کاهش بروز اسهال گوسـاله در سـه روز اول پـس از تولـد و افـزایش غلظـت IgG و IgM در سـرم طـی دو هفتـه اول زنـدگی مـی‌شـود (Chang *et al*., 2020). در همین مطالعه، محققان نشان دادنـد کـه منبع آلـی روی (متیـونین- روی) عملکـرد رشـد را ارتقـا داده و بـروز اسهال در گوساله‌ها را در طـول ۱۴ روز اول تولـد کـاهش مـی‌دهـد. بنابراین، آن‌ها پیشنهاد کردند که در سه روز اول پس از تولد از اکسید روی به‌عنوان مکمل روی استفاده شود و در ادامه، از منبـع آلـی روی (متیونین- روی) استفاده گردد. تجویز خوراکی اکسـید روی، عملکـرد رشد را بهبود می‌بخشد و به‌طور مؤثری شیوع اسهال در خوک‌هـای از شیر گرفته شده را کـاهش مـی‌دهـد (Hu *et al*., 2013). در نتیجـه، اسـتفاده از مکمـل روی بـرای جلـوگیری از اسـهال در گوسـاله‌هـای شیرخوار می‌تواند مصرف داروها از جمله آنتی بیوتیک‌ها را به حـداقل برساند. گزارش شده است که اکسـید روی تنهـا شـکل معـدنی روی است که به‌طور مؤثری شیوع اسهال را کاهش می‌دهـد (Glover *et al*., 2013). با توجه به مطالب ذکر شده، تاکنون اسـتفاده از نسـبت‌های مختلف دو منبع روی (اکسید روی و متیونین روی) بـر گوسـاله‌های شیرخوار بررسی نشده است. هـدف از ایـن آزمـایش، اسـتفاده از نسـبت‌های مختلـف متیـونین- روی و اکسـید روی بـر پیشـگیری از اسهال، وضعیت سیستم ایمنی و شاخص‌های عملکردی گوسـاله‌هـای شیرخوار است.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در گاوداری واحد شـیر و گوشـت مهدشـت، شـرکت زراعی دشت ناز ساری در زمستان ۱۴۰۰ انجام شد. در این مطالعه، از تعداد ۵۰ راس گوساله ماده هلشتاین شیرخوار تازه متولـد شـده سـالم (با میـانگین وزن تولـد ۵/۵۴ ± ۳۷/۶۷) در قالـب یـک طـرح کـاملاً تصادفی با پنج تیمار و ۱۰ تکرار استفاده شد. همه گوساله‌هـا در یـک بازه زمانی ۱۰ روزه متولد شدند. تیمارهای آزمایش نسبت‌های مختلف مکمل‌های آلی و معدنی روی، به‌ترتیب تیمار ۱) ۱۰۰ درصد متیونین- روی ۲) ۷۵ درصـد متیـونین- روی و ۲۵ درصـد اکسـید روی ۳) ۵۰ درصد متیونین- روی و ۵۰ درصد اکسید روی ۴) ۲۵ درصد متیونین- روی و ۷۵ درصد اکسید روی و ۵) ۱۰۰ درصد اکسید روی بودنـد. بـر اساس مطالعات انجام شده (Feldmann *et al*., 2019; Glover *et al*., 2013; Wei *et al*., 2019; Chang *et al*., 2020) سـطح ۸۰ میلی‌گرم مکمل روی در روز برای گوساله‌های شیرخوار توصـیه شـده است. در مطالعه(Feldmann et al., 2019) نشان دادند که وزن تولد در گوساله‌های ماده می‌توانـد بـر پاسـخ گوسـاله‌هـا بـه مکمـل روی تأثیرگذار باشد. در این پژوهش، مقدار مکمل روی بر اساس وزن تولد با در نظر گرفتن میانگین وزن گروه‌های دریافت‌کننده مکمل روی در مطالعه فوق مورد استفاده قرار گرفت و تمـام گوسـاله‌ها مقـدار ۱/۹۶ میلی‌گرم عنصر روی به‌ازای هر کیلوگرم وزن بـدن دریافـت کردنـد و مکمل به‌صورت over-supplement به آغوز و یا شیر اضافه می‌شـد. در این پژوهش، اکسید روی (از شرکت گیوان شیمی) با درصد خلوص ۷۶/۹ درصـــــد و متیـــــونین- روی (ZINPRO®;Zinpro Corporation) با درصـد خلـوص چهـار درصـد اسـتفاده شـد. همـه گوساله‌ها در یک بازه زمانی ۱۰ روزه متولد شدند. گوسـاله‌هـای تـازه متولد شده بلافاصله بعد از تولد از مادر جدا شده و در یـک بـاکس بـا ابعاد ۱/۹×۱/۵×۱/۲ با بستر کاه قرار می‌گرفتند (بستر به‌صورت یک روز در میان تعویض می‌گردید). ناف گوساله‌ها با تنتورید هفت درصـد محلول ضدعفونی شد. آغوز و شـیر مصـرفی قبـل از مصـرف توسـط گوساله‌ها، پاستور می‌شد. گوساله‌ها در طی شش ساعت بعد از تولد بـا چهار لیتر آغوز تغذیه شدند. شیر مصرفی در دو وعـده (۸ صـبح و ۱۶ عصر) در اختیارگوساله‌ها قرار می‌گرفت. برنامه شیردهی گوساله‌هـا تـا ۱۴ روزگی شش لیتر، از ۱۵ تـا ۴۹ روزگـی هفـت لیتـر، از ۴۹ تـا ۶۳ روزگی پنج و از ۶۴ تا ۷۰ روزگی سه لیتر و به‌صورت تک وعده بود. از روز چهارم، گوساله‌ها در تمام تیمارها دسترسی آزاد به خوراک آغازین (شامل ۹۰ درصد کنسانتره آغازین و ۱۰ درصد یونجه خشک) داشتند. مقـدار مناسـب مکمـل روی (اکسـید روی و متیـونین روی) بـا ۲۰۰ میلی‌لیتر آغوز و یا شیر مخلوط شد و با استفاده از یک شیرنوش به هر

گوساله خورانده شد و پس از آن، مابقی شیر تغذیه می‌شد. مکمل روی تا ۱۴ روزگی به مصرف گوساله‌ها رسید و پس از آن، تا روز قطع شیرگوساله‌ها در تمام تیمارها شرایط یکسانی داشتند. بر اساس سن، قطع شیر گوساله‌ها انجام شد و سن قطع شیر گوساله‌ها در تمام تیمارها ۷۰ روزگی بود. در طول دوره آزمایش، مقدار ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه گوساله‌ها اندازه‌گیری و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد.

**جدول ۱**- اقلام خوراکی و ترکیب مواد مغذی جیره آغازین (درصد از ماده خشک)

**Table 1-** Feed ingredients and nutrient composition of the starter

| اقلام خوراکی (درصد ماده خشک) Feed ingredients (% DM) | | | |
|---|---|---|---|
| یونجه Alfalfa hay | 10.00 | مکمل معدنی[1] Mineral premix[1] | 1.10 |
| کنجاله سویا Soybean meal | 30.60 | مکمل ویتامینی[2] Vitamin premix[2] | 1.10 |
| ذرت Corn grain | 32.90 | جوش شیرین Bicarbonate Sodium | 1.30 |
| جو Barley grain | 18.00 | اکسید منیزیم Magnesium- oxide | 0.40 |
| فول فت سویا Full Fat Soybean | 1.80 | توکسین بایندر Toxin binder | 0.50 |
| نمک Salt | 0.90 | کربنات کلسیم Calcium- carbonate | 1.40 |
| ترکیب مواد مغذی جیره آغازین(درصد ماده خشک) Nutrient composition of the starter diet (% DM) | | | |
| ماده خشک DM (%) | 87.31 | الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF | 20.09 |
| پروتئین خام CP | 21.69 | عصاره اتری EE | 0.94 |
| الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF | 27.15 | خاکستر[3] Ash | 6.55 |

[1] هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی ۱۶۷ میلی‌گرم ید، ۶۷ میلی‌گرم کبالت، ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۸۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۶۷ میلی‌گرم سلنیوم، ۷۰۰۰ میلی‌گرم مس

[2] هر کیلوگرم مکمل ویتامینه حاوی ۹۳۳ هزار واحد بین‌المللی ویتامین A، حاوی ۲۹۳ هزار واحد بین‌المللی ویتامین D3 و حاوی هشت هزار واحد بین‌المللی ویتامین E

[3] هر کیلوگرم استارتر حاوی ۳۱ ppm عنصر روی

[1]Each kilogram of mineral supplement contains 167 mg of iodine, 67 mg of cobalt, 20,000 mg of zinc, 18,000 mg of manganese, 67 mg of selenium, 7,000 mg of copper.

[2]Each kilogram of vitamin supplements contains 933,000 IU of vitamin A, 293,000 IU of vitamin D3 and 8,000 IU of vitamin E.

[3] Each kilogram of starter contains 31 ppm of zinc element

امتیاز اسکور مدفوع در یک مقیاس ۱ تا ۴ مورد بررسی قرار گرفت، که اسکور ۱ نرمال، ۲ خمیری، ۳ نیمه مایع و ۴ مایع با رنگ غیر طبیعی بود (Teixeira *et al.*, 2015). نمرات ۱ و ۲ عادی در نظر گرفته می‌شد و اسهال به‌عنوان وجود مدفوع درجه ۳ یا ۴ به‌مدت دو روز متوالی تعریف شد (Marcondes *et al.*, 2016). خون‌گیری از گوساله‌ها در روزهای اول، ۱۴ و روز آخر آزمایش (قطع شیر)، قبل از تغذیه شیر وعده صبح با استفاده از لوله ونوجکت پنج میلی‌لیتری از سیاهرگ گردن انجام شد. نمونه‌های خون با رعایت اصول سرد نگه داشتن به‌سرعت به آزمایشگاه ارسال شد و پس از تهیه سرم مقادیر پروتئین کل، گلوبولین، آلبومین، روی، آهن، مس و غلظت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) با روش (Miller *et al.*, 1993) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) با روش (Paglia and Valentine, 1967) با استفاده از کیت‌های راندوکس انگلستان اندازه‌گیری شد. داده‌های آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده ار رویه GLM نرم‌افزار SAS آنالیز شدند. در رابطه با فراسنجه‌های مربوط به افزایش وزن، میانگین مصرف خوراک و بازده خوراک، وزن اولیه گوساله‌ها به‌عنوان کوواریت (متغیر کمکی) در نظر گرفته شد و میانگین‌های تیمارها توسط آزمون دانکن در سطح پنج درصد مقایسه شدند.

مدل آماری مورد استفاده به‌منظور پردازش داده‌ها مربوط به

عملکرد:

معادله (۱) $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta (BW_{ij} - X) + e_{ij}$

که در آن، Yij: مشاهده مربوط به گوساله j ام در تیمار i ام، μ: میانگین کل، Ti: اثر تیمار i ام، $\beta (BW_{ij} - X)$: وزن اولیه به‌عنوان متغیر کمکی و eij: خطای آزمایش است.

## نتایج و بحث

### شاخص‌های عملکردی

### مصرف ماده خشک

نتایج اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های عملکردی در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که مصرف استارتر و ماده خشک مصرفی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > ۰/۰۵$). ماده خشک مصرفی از مجموع ماده خشک استارتر و شیر مصرفی گوساله‌ها محاسبه شد.

عنصر روی برای صفات تولیدی مطلوب مانند رشد و سلامتی ضروری است. مقدار کم عنصر روی در جیره، می‌تواند باعث کاهش مصرف خوراک شود، زیرا مصرف جیره‌های حاوی غلظت کم روی می‌تواند تولید کوله سیستوکینین را افزایش دهد (Cousins *et al.*, 2003). همچنین، مصرف کمتر از نیاز عنصر روی باعث کاهش ترشح لپتین از ذخایر چربی بدن می‌شود (Kwun *et al.*, 2007). که هر دو هورمون، کوله سیستوکینین و لپتین، در فرآیند سیری نقش دارند. همچنین، کمبود روی بر اثربخشی انسولین و سنتز انسولین تأثیر می‌گذارد (Jing *et al.*, 2008). اختلال در پیام‌رسانی انسولین و مقاومت به انسولین ممکن است در تنظیم اشتها در طول دوره کمبود روی تأثیر داشته باشد. در پژوهشی گزارش شد که گوساله‌های تغذیه شده با جیره بدون مکمل مواد معدنی، وزن بیشتری در مقایسه با گوساله‌های دارای مکمل در جیره خود در طی حمل و نقل از دست می‌دهند و ماده خشک کمتری مصرف می‌کنند، نتایج این مطالعه نشان داد که در طی دوره‌های تنش، افزودن عناصر کم مصرف به جیره ممکن است برای حفظ ماده خشک مصرفی حیاتی می‌باشد (Genther and Hansen, 2014). در پژوهش حاضر، مقدار روی دریافتی در تیمارها یکسان بود و تنها نوع مکمل آن از نظر معدنی یا آلی بودن تفاوت داشت، بنابراین تفاوتی در مصرف خوراک ایجاد نکرد.

### میانگین افزایش وزن روزانه

منطبق با ماده خشک مصرفی نتایج آزمایش نشان داد که نسبت‌های مختلف منابع معدنی (اکسید روی) و آلی روی (متیونین- روی) بر متوسط افزایش وزن روزانه گوساله‌ها از نظر آماری تفاوت معنی‌دار ایجاد نکرده است (جدول ۲). در این میان، تیمار ۴ (۲۵ درصد متیونین- روی و ۷۵ درصد اکسید روی) به‌صورت عددی و نه آماری دارای میانگین افزایش وزن روزانه بیشتری نسبت به دیگر تیمارها در طول دوره آزمایش بود. موافق با نتایج پژوهش حاضر، در پژوهشی دیگر استفاده از مکمل‌های معدنی غیر آلی (سولفات روی) و آلی (متیونین روی، پروپیونات روی و گلیسینات روی) در جیره بره‌ها نشان داد که در همه تیمارهایی که مکمل دریافت کردند، ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه بالاتر از تیمار بدون مکمل روی بود، امّا نوع مکمل (آلی یا معدنی) اثر معنی‌داری بر ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه نداشت (Alimohamady *et al.*, 2019). ماتولی و همکاران (Mattioli *et al.*, 2018) بیان کردند که در مقایسه با گروه کنترل در روزهای ۴۰، ۸۰، و۱۲۰ پس از تولد، در گوساله‌هایی که به‌صورت زیر جلد هر روز اکسید روی را تزریق می‌کردند (یک میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) افزایش وزن بیشتری نشان دادند. بنابراین، نوع مکمل روی بر افزایش وزن روزانه تأثیری ندارد و تنها دریافت سطح کافی روی در جیره برای اثربخشی بر فراسنجه‌های عملکردی مهم است که هم‌راستا نتایج پژوهش ما می‌باشد.

روی یک ماده معدنی کمیاب است که در عملکرد فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1)، هورمون رشد (GH) و سنتز DNA بسیار مهم است. محققان دریافتند که در طول رشد و تکثیر سلول، دو مرحله پیک غلظت روی وجود دارد. مشخص شده است که این تغییرات غلظت سبب تنظیم سیگنالی فسفوریلاسیون می‌شود، به‌طوری‌که کاهش داخل سلولی غلظت روی، پروتئین تیروزین فسفاتاز را برای سنتز DNA مهار می‌کند و به‌طور مؤثری تکثیر سلولی را متوقف می‌کند (Li and Maret, 2009). این کنترل سنتز DNA نشان می‌دهد که هموستاز روی در سلول برای عملکرد مناسب سلولی بسیار مهم است. بنابراین، تأمین سطوح کافی روی با استفاده از انواع مکمل معدنی و آلی می‌تواند بر افزایش وزن مؤثر باشد.

### ضریب تبدیل خوراک

اثر نسبت‌های مختلف مکمل اکسید روی و متیونین روی بر ضریب تبدیل خوراک در دوره ۱ تا ۱۴ روزگی و ۱۴ تا ۷۰ روزگی (از شیرگیری) معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$، جدول ۲). همان‌طور که نوع مکمل روی تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه نداشت، تفاوت ضریب تبدیل خوراک هم بین تیمارها از نظر آماری معنی‌دار نشد. گزارش شد که افزایش سلامت کلی و انسجام بافت اپیتلیال روده با مکمل روی می‌تواند انرژی مورد نیاز برای نگهداری این سیستم‌ها را کاهش داده و از نظر تئوری منجر به انرژی بیشتر شود، بنابراین پارامترهای تولید را بهبود ببخشد (Nayeri *et al.*, 2014). در پژوهش حاضر، همه تیمارها سطح یکسانی از روی مصرف کردند، بنابراین تنها نوع مکمل روی، تأثیری بر ضریب تبدیل خوراک نداشت.

**جدول ۲**- اثر تیمارها بر روی میانگین مصرف خوراک، افزایش وزن، ضریب تبدیل خوراک

**Table 2-** Effects of treatments on average feed intake, weight gain and feed conversion ratio

| عملکرد Performance | تیمارهای آزمایشی Experimental treatments | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100% ZnMET | 75% ZnMET +25% ZnO | 50% ZnMET +50% ZnO | 25% ZnMET +75% ZnO | 100% ZnO | SEM | P-value |
| وزن اولیه (کیلوگرم) Initial weight (kg) | 37.37 | 37.71 | 37.42 | 37.77 | 37.60 | 0.78 | 0.98 |
| استارتر مصرفی (گرم در روز) Starter intake(g/d) | | | | | | | |
| 1-14 days | 19.67 | 21.56 | 25.67 | 27.22 | 22.33 | 2.38 | 0.17 |
| 14-70 days | 600.56 | 654.33 | 628.44 | 630.78 | 620.89 | 43.19 | 0.93 |
| 1-70 days | 484.22 | 527.78 | 507.78 | 510.00 | 501.22 | 34.56 | 0.93 |
| ماده خشک مصرفی(گرم در روز) Dry matter intake(g/d) | | | | | | | |
| 1-14 days | 679.67 | 681.55 | 685.67 | 687.22 | 682.33 | 2.38 | 0.17 |
| 14-70 days | 1308.56 | 1362.33 | 13336.44 | 1338.78 | 1328.89 | 43.19 | 0.93 |
| 1-70 days | 1182.67 | 1206.22 | 1206.22 | 1208.33 | 1199.56 | 34.56 | 0.93 |
| افزایش وزن روزانه(گرم در روز) Daily gain(g/d) | | | | | | | |
| 1-14 days | 146.67 | 147.22 | 146.22 | 151.00 | 145.33 | 2.14 | 0.40 |
| 14-70 days | 672.67 | 655.44 | 656.33 | 747.56 | 638.67 | 36.07 | 0.25 |
| 1-70 days | 528.67 | 514.78 | 515.78 | 587.89 | 501.89 | 28.99 | 0.26 |
| ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio (g DMI/g gain) | | | | | | | |
| 1-14 days | 4.55 | 4.78 | 4.78 | 4.67 | 4.89 | 0.15 | 0.59 |
| 14-70 days | 1.97 | 2.10 | 2.10 | 1.88 | 2.13 | 0.13 | 0.63 |
| 1-70 days | 2.27 | 2.43 | 2.40 | 2.15 | 2.43 | 0.15 | 0.45 |

[1] متیونین- روی، [2] اکسید روی

[1] Zinc-methionine (ZnMET)

[2] Zinc oxide (ZnO)

**قوام مدفوع**

نسبت‌های مختلف منابع معدنی (اکسید روی) و آلی (متیونین- روی) روی بر متوسط امتیاز قوام مدفوع گوساله‌ها و روزهای مبتلا به اسهال، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد ($P > ۰/۰۵$، جدول ۲). در پژوهشی گزارش شد که مکمل روی آلی باعث کاهش اسهال از هفته دوم پس از تولد می‌شود (Ma *et al.*, 2020). پژوهشی دیگر نشان دادند که تجویز خوراکی اکسید روی (ZnO)، عملکرد رشد را بهبود می‌بخشد و به‌طور مؤثری شیوع اسهال در خوک‌های از شیر گرفته شده را کاهش می‌دهد (Hu *et al.*, 2013). در پژوهشی با مکمل کردن منابع آلی و معدنی روی بیان کردند که مکمل اکسید روی باعث کاهش بروز اسهال در سه روز اول زندگی و افزایش غلظت IgG و IgM در سرم می‌شود و مکمل متیونین- روی باعث افزایش عملکرد رشد و کاهش بروز اسهال در ۱۴ روز اول پس از تولد می‌شود (Chang *et al.*, 2020).

تصور می‌شود مکانیسم‌های اثر ضد اسهال عنصر روی به‌دلیل تنظیم انتقال مایعات روده و یکپارچگی مخاطی، تقویت ایمنی و تعدیل تنش اکسیداتیو است (Wei *et al.*, 2019). پروتئوباکتریا یک شاخه اصلی باکتری‌های گرم منفی هستند، که باعث تولید اندوتوکسین LPS می‌شود و می‌توانند وارد خون شود، تعداد سلول-های دیواره روده را کاهش داده و نفوذپذیری روده را افزایش دهند و منجر به پاسخ التهابی مزمن شوند (Cani *et al.*, 2007). چانگ و همکاران (Chang *et al.*, 2020) نشان دادند که فراوانی نسبی پروتئوباکتریا در گروه گوساله‌های دریافت‌کننده اکسید روی در روز اول کمتر از گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده متیونین- روی بود، به این معنی که مکمل اکسید روی ممکن است تولید مثل پروتئوباکتریا، به‌عنوان یک باکتری مضر را مهار می‌کند.

در پژوهش حاضر، نوع مکمل و نسبت‌های مختلف آن‌ها تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی ایجاد نکرد. به نظر می‌رسد که این تفاوت به‌دلیل مقدار استفاده از مکمل در این پژوهش باشد، به‌طوری‌که مکمل روی با درنظر گرفتن درصد خلوص آن در همه تیمارها به‌مقدار مساوی (۱/۹۶ میلی‌گرم مکمل روی به‌ازای هر

کیلوگرم وزن بدن) به مصرف گوساله‌ها رسید. بنابراین، گوساله‌های شیرخوار در همه تیمارها روی کافی دریافت کردند و نوع آلی یا معدنی بودن مکمل تفاوتی بر قوام مدفوع و یا روزهای مبتلا به اسهال نداشت.

**فراسنجه‌های خونی**

اثر نوع مکمل روی بر فراسنجه‌های خونی در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج این مطالعه نشان داد که میانگین غلظت پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین خون گوساله‌های تغذیه شده با نسبت‌های مختلف منابع معدنی و آلی روی در روز اول، روز ۱۴ و روز ۷۰ تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P > ۰/۰۵).

موافق با نتایج پژوهش حاضر، داده‌های مطالعه کومار و همکاران (Kumar *et al*., 2018). نیز نشان داد که افزودن سولفات روی یا متیونین روی (Himedia، هند) اثر قابل توجهی بر غلظت پروتئین کل سرم ندارد. مطابق با یافته‌های حاضر، هیچ تأثیری بر پروتئین کل و آلبومین به‌دلیل مکمل‌سازی سولفات روی یا پروپیونات روی در گوساله‌های گاومیش گزارش نکردند (Shanigaram *et al*., 2015). افزایش غلظت گلوبولین برای پاسخ ایمنی بدن ضروری است و باعث دفاع در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شود، زیرا گلوبولین‌های سرم نقش مهمی در پاسخ ایمنی (ایمونوگلوبولین‌ها یا آنتی بادی‌ها) و خط اولیه دفاعی دارند (Anil *et al*., 2020) همه این مطالعات نشان دادند که مکمل روی در جیره می‌تواند بر غلظت پروتئین‌های خون مؤثر باشد و در صورت دریافت سطوح کافی روی، نوع مکمل مصرفی (آلی یا معدنی) نقش چندانی بر فراسنجه‌های خونی ندارد.

**جدول ۳**- اثر تیمارهای آزمایشی بر قوام مدفوع و تعداد روزهای ایتلا به اسهال

**Table 3-** Effects of experimental treatments on stool consistency and the number of days of diarrhea

| قوام مدفوع Stool consistency | تیمارهای آزمایشی Experimental treatments | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100% ZnMET | 75% ZnMET +25% ZnO | 50% ZnMET +50% ZnO | 25% ZnMET +75% ZnO | 100% ZnO | SEM | P-value |
| قوام مدفوع Stool consistency | | | | | | | |
| 1-14 days | 2.60 | 2.41 | 2.31 | 2.30 | 2.24 | 0.11 | 0.15 |
| 14-70 days | 2.38 | 2.44 | 2.40 | 2.31 | 2.18 | 0.11 | 0.44 |
| 1-70 days | 2.41 | 2.44 | 2.38 | 2.30 | 2.19 | 0.09 | 0.24 |
| روزهای مبتلا به اسهال The number of days of diarrhea | | | | | | | |
| 1-14 days | 3.44 | 4.78 | 4.22 | 3.22 | 4.55 | 0.18 | 0.53 |
| 14-70 days | 2.78 | 2.67 | 3.00 | 2.55 | 2.78 | 0.21 | 0.98 |
| 1-70 days | 6.22 | 7.44 | 7.22 | 5.78 | 7.33 | 0.20 | 0.83 |

[1] متیونین- روی
[2] اکسید روی
[1] Zinc-methionine (ZnMET)
[2] Zinc oxide (ZnO)

**مواد معدنی خون (مس، آهن و روی)**

اثر نسبت‌های مختلف منابع معدنی (اکسید روی) و آلی (متیونین- روی) عنصر روی بر غلظت مس (Cu)، آهن و روی سرم خون در روز اول، ۱۴ و ۷۰ آزمایش معنی‌دار نبود (جدول ۴، P>۰/۰۵). برخی مطالعات پیشین هیچ اثری بر غلظت مس سرم در گوساله‌های دریافت‌کننده مکمل روی (اکسید روی) مشاهده نکردند (Zaboli *et al*., 2013). موافق با نتایج این بررسی، در پژوهشی دیگر استفاده از مکمل‌های آلی و معدنی روی تأثیر معنی‌داری بر غلظت سرمی مس در بره‌ها نداشت (Alimohamady *et al*., 2019). همچنین، هیچ اثر معنی‌داری بر غلظت مس در خون گوساله‌ها قبل و بعد شیرگیری (Abdollahi *et al*., 2020) و بزغاله‌ها (Zaboli *et al*., 2013) با مصرف اشکال مختلف عنصر روی مشاهده نشد. به نظر می‌رسد، زمانی‌که سطح کافی روی در جیره تأمین می‌شود، نوع مکمل مصرفی و نسبت آن‌ها تأثیری بر غلظت مس در سرم خون ندارد. عنصر روی به‌عنوان کاتالیزور در متابولیسم آهن و در سنتز هم نقش دارد. اختلال در جذب آهن می‌تواند ناشی از کاهش عناصر کمیاب مانند روی باشد که در ساختار آنزیم‌هایی یافت می‌شود که متابولیسم آهن را هماهنگ یا کاتالیز می‌کنند. به نظر می‌رسد که مکمل روی در حیوانات جوان که در معرض خطر کمبودهای تغذیه‌ای روی هستند، بر وضعیت آهن تأثیر مطلوبی دارد (Wei *et al*., 2019). در پژوهش حاضر، همه تیمارها سطوح کافی روی را دریافت کردند، بنابراین کمبودی در مقدار روی وجود نداشت که سبب تغییر غلظت آهن شود.

غلظت روی در پلاسمای خون یا سرم خون، پرکاربردترین شاخص وضعیت روی است. غلظت روی پلاسما معمولاً به مکمل روی پاسخ می‌دهد، به‌ویژه در شرایطی که سطح مصرف روی کم باشد. مطالعات قبلی نشان داد که مکمل روی، غلظت روی پلاسما را در بره‌ها (Mallaki *et al*., 2015) و بزهای نر (Jia *et al*., 2009) افزایش می‌دهد. در پژوهش حاضر، سطح مصرف روی در همه تیمارها یکسان بود، بنابراین هیچ تفاوت معنی‌داری در غلظت روی سرم با مکمل کردن منابع آلی یا معدنی روی مشاهده نشد.

**جدول ٤**- غلظت‌های فراسنجه‌های خونی و زیرمغذی‌ها در سرم گوساله‌های هلشتاین تغذیه شده با نسبت‌های مختلف متیونین- روی و اکسید روی

**Table 4-** The concentrations of Blood parameters and micronutrients in serum of Holstein dairy calves fed with different ratios of methionine-zinc and ZnO

| فراسنجه‌های خونی Blood parameters | تیمارهای آزمایشی Experimental treatments | | | | | SEM | P-value |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100% ZnMet[1] | 75% ZnMet +25% ZnO[2] | 50% ZnMet +50% ZnO | 25% ZnMet +75% ZnO | 100% ZnO | | |
| آلبومین Albumin (g/dl) | | | | | | | |
| First day | 3.00 | 2.83 | 2.93 | 2.80 | 2.53 | 0.11 | 0.09 |
| Day 14 | 2.80 | 2.47 | 2.57 | 2.70 | 2.83 | 0.16 | 0.46 |
| Day 70 | 3.023 | 3.17 | 3.17 | 3.33 | 3.37 | 0.11 | 0.58 |
| پروتئین کل Total protein (mg/dl) | | | | | | | |
| First day | 6.43 | 6.70 | 6.53 | 6.70 | 6.33 | 0.20 | 0.65 |
| Day 14 | 5.87 | 5.90 | 5.90 | 6.00 | 5.87 | 0.10 | 0.88 |
| Day 70 | 6.13 | 5.93 | 6.00 | 6.00 | 5.90 | 0.11 | 0.64 |
| گلوبولین Globulin (mg/dl) | | | | | | | |
| First day | 3.43 | 3.86 | 3.60 | 3.90 | 3.80 | 0.20 | 0.44 |
| Day 14 | 3.07 | 3.43 | 3.33 | 3.30 | 3.03 | 0.19 | 0.51 |
| Day 70 | 2.90 | 2.77 | 2.83 | 2.67 | 2.53 | 0.15 | 0.52 |
| آهن Fe (µg/dL) | | | | | | | |
| First day | 69.67 | 67.11 | 67.00 | 63. 08 | 61.67 | 11.02 | 0.12 |
| Day 14 | 123.33 | 117.33 | 109.33 | 119.00 | 96.67 | 26.90 | 0.61 |
| Day 70 | 159.33 | 110.33 | 123.33 | 98.00 | 92.33 | 41.92 | 0.10 |
| مس Copper (µg/dL) | | | | | | | |
| First day | 89.33 | 103.00 | 89.00 | 89.00 | 89.00 | 10.51 | 0.43 |
| Day 14 | 89.33 | 89.00 | 87.33 | 88.00 | 87.67 | 8.28 | 0.15 |
| Day 70 | 70.00 | 75.67 | 77.33 | 70.00 | 70.00 | 9.59 | 0.28 |
| روی Zinc (µg/dL) | | | | | | | |
| First day | 224.00 | 145.33 | 151.67 | 264.33 | 246.33 | 36.43 | 0.13 |
| Day 14 | 166.00 | 90.00 | 106.33 | 103.33 | 83.33 | 24.74 | 0.21 |
| Day 70 | 93.67 | 81.00 | 123.33 | 64.67 | 101.33 | 18.10 | 0.28 |

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0.05$). [1] متیونین- روی، [2] اکسید روی

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

[1] Zinc-methionine (ZnMET)

[2] Zinc oxide (ZnO)

غلظت مواد معدنی در خون اغلب برای ارزیابی وضعیت مواد معدنی مورد استفاده قرار می‌گیرند، زیرا به‌طور قابل توجهی با وضعیت تغذیه برخی از مواد معدنی، مرتبط هست. با این حال، محدودیت‌هایی در اندازه گیری مواد معدنی خونی وجود دارد، زیرا مواد معدنی اغلب در فرآیند تولید گلبول‌های قرمز و قبل از ورود به جریان خون به‌عنوان واحدهای عملکردی گلبول‌های قرمز در آن‌ها ذخیره می‌شوند (Suttle, 2010). گلبول‌های قرمز در گاو تقریباً ۱۶۰ روز عمر می کنند، بنابراین غلظت مواد معدنی خون کامل بسیار آهسته تغییر می کند و حیوان ممکن است برای مدتی دچار کمبود شود، قبل از اینکه غلظت‌ها کمبود را نشان دهند. علاوه‌براین، مکانیسم‌های هموستاتیک می‌توانند برای محدود کردن تغییرات غلظت پلاسمایی مواد معدنی خاص تا زمانی که ذخایر درون‌زا به‌طور قابل توجهی تخلیه شوند،

عمل کند. به نظر می‌رسد که سطح مصرف روی در جیره صرف نظر از معدنی یا آلی بودن آن در تغییرات غلظت مواد معدنی در خون نقش مؤثرتری دارد.

**شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی**

اثر نسبت‌های مختلف منابع معدنی و آلی عنصر روی بر غلظت آلکالین فسفاتاز خون در تیمارها در روز ۱۴ و ۷۰ معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که غلظت آلکالین فسفاتاز خون گوساله‌های تغذیه شده با تیمارهای دارای روی آلّی (متیونین- روی) بدون در نظر گرفتن نسبت آن بیشتر از تیمار ۵ (۱۰۰ درصد اکسید روی) بود، امّا در بین تیمارهای دارای متیونین- روی با کاهش نسبت روی آلی، غلظت آلکالین فسفاتاز به‌صورت عددی کاهش پیدا کرد.

در پژوهشی، با تغذیه بره‌ها با ۳۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم عنصر روی به فرم‌های سولفات روی، روی-متیونین، روی-پروتئینات و روی- گلیسینات، افزایش غلظت آلکالین فسفاتاز در خون را نسبت به تیمار کنترل (بدون مکمل روی) گزارش نمودند؛ همچنین تیمارهای دریافت‌کننده انواع مکمل آلی و معدنی روی، تفاوت معنی‌داری در غلظت آلکالین فسفاتاز با یکدیگر در روز ۳۵ آزمایش نداشتند، امّا در روز ۷۰ آزمایش غلظت آلکالین فسفاتاز در تیمار روی گلیسینات به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار متیونین روی بود (Alimohamady *et al.*, 2019). در پژوهشی دیگر، فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در حیوانات دارای کمبود روی (گروه کنترل) نسبت به حیوانات دریافت‌کننده مکمل روی کاهش یافت (Cho *et al.*, 2007). امّا نجف‌زاده و همکاران (Najafzadeh *et al.*, 2013) بیان کردند که فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در بره تغذیه شده با نانو اکسید روی با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک کاهش یافت. آلکالین فسفاتاز یک آنزیم وابسته به روی است که در جایگاه فعال خود با حضور چهار عنصر روی حداکثر فعالیت را نشان می‌دهد. گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد، فعالیت آلکالین فسفاتاز در بدن تحت تأثیر فاکتورهای متعددی قرار می‌گیرد و تنوع زیادی در غلظت آن مشاهده می‌شود، بنابراین نمی‌تواند شاخص مناسبی از غلظت روی بدن باشد (Seifdavati *et al.*, 2018). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که این مفهوم که متیونین روی ممکن است متفاوت از روی معدنی متابولیزه شوند و بنابراین، ممکن است برخی از فرآیندهای متابولیکی را به‌طور متفاوت تغییر دهند (Alimohamady *et al.*, 2019)، تأیید می‌کند.

اثر نسبت‌های مختلف منابع معدنی (اکسید روی) و آلّی (متیونین- روی) عنصر روی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل(TAC) تیمارها در روز اول و ۱۴ معنی‌دار نبود، در حالی که روز ۷۰ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بین تیمارهای مختلف تفاوت معناداری داشت (P < ۰/۰۵، جدول ۵). در این دوره ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در تیمار اول و دیگر تیمارهای داری متیونین- روی بالاتر از تیمار ۵ (۱۰۰ درصد اکسید روی) بود.

برخی پژوهش‌ها افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را با مکمل کردن روی در جیره گزارش کردند (Patel *et al.*, 2021; Shen *et al.*, 2021). در مقابل، در پژوهشی دیگر هیچ تغییر قابل توجهی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل پس از مصرف مکمل روی گزارش نکردند (Ulutaş *et al.*, 2020). در پژوهش حاضر، افزایش معنی‌داری در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل گروه‌های مصرف‌کننده سطوح بالاتر متیونین روی نسبت به اکسید روی مشاهده شد. برخلاف نتایج ما در پژوهشی، با مصرف منابع مختلف آلی (پروتئین- روی و گلایسین- روی) و معدنی روی (سولفات روی) هیچ تفاوت معنی‌داری در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل مشاهده نشد (Grešáková *et al.*, 2021). در پژوهش صوفی و همکاران (Soufi *et al.*, 2022) نیز، مصرف منابع آلی (روی- پلی‌ساکارید)، معدنی (سولفات روی) و نانو (نانو روی) مکمل روی در جیره تأثیر معنی‌داری در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نداشتند که ممکن است به‌دلیل این واقعیت باشد که عوامل محیطی و تغذیه باعث ایجاد استرس اکسیداتیو برای حیوانات نشده است. در مطالعه حاضر، مکمل متیونین روی بیش از مکمل اکسید روی قدرت آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشیده است.

اثر نسبت‌های مختلف منابع معدنی (اکسید روی) و آلّی (متیونین- روی) عنصر روی بر غلظت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) خون در روز ۱۴ و ۷۰ آزمایش معنی‌دار بود (P < ۰/۰۵). در روز ۱۴، غلظت سوپراکسید دیسموتاز خون در تیمار ۵ (۱۰۰ درصد اکسید روی) پایین‌تر از سایر گروه‌ها بود و در روز ۷۰ آزمایش، غلظت سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای ۱ و ۲ (نسبت بالاتر متیونین روی) بالاتر از تیمارهای دیگر بود (P < ۰/۰۵). اثر نسبت‌های مختلف منابع معدنی و آلّی عنصر روی بر غلظت گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) خون در روز اول، روز ۱۴ و روز ۷۰ آزمایش معنی‌دار نبود (P> ۰/۰۵).

در یک پژوهش نشان داده شد که در بین تیمارها، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در بره‌های حاوی روی آلی به‌طور معنی‌داری بیشتر از فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در گروه کنترل است (Alimohamady *et al.*, 2019). آن‌ها پیشنهاد کردند که روی موجود در جیره پایه برای فعالیت‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز کافی نیست و افزودن ۳۰ میلی‌گرم روی/کیلوگرم ماده خشک به‌صورت منابع آلی می‌تواند تعادل آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشد. برخلاف نتایج ما در پژوهشی، غلظت سوپراکسید دیسموتاز با مکمل کردن منابع معدنی روی (سولفات روی) نسبت به منابع آلی روی (پروتئین- روی) در خون بره‌ها افزایش یافت (Soufi *et al.*, 2022). در پژوهشی دیگر، غلظت سوپراکسید دیسموتاز با مکمل

کردن منابع مختلف آلی، معدنی و نانو در بره‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت (Grešáková *et al.*, 2021).

**جدول ۵**- آنزیم‌های وابسته به روی و شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در سرم گوساله‌های هلشتاین تغذیه شده با نسبت‌های مختلف متیونین- روی و اکسید روی

**Table 5-** Zinc-dependent enzymes and antioxidant indicators in the serum of Holstein dairy calves fed with different ratios of methionine-zinc and ZnO

| فراسنجه‌ها Parameters | تیمارهای آزمایشی Experimental treatments | | | | | SEM | P-value |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100% ZnMET[1] | 75% ZnMET +25% ZnO[2] | 50% ZnMET +50% ZnO | 25% ZnMET +75% ZnO | 100% ZnO | | |
| آلکالین فسفاتاز Alp (U/L) | | | | | | | |
| First day | 601.67 | 505.67 | 476.33 | 543.67 | 471.33 | 57.66 | 0.51 |
| Day 14 | 684.00[a] | 678.00[a] | 617.67[ab] | 464.67[ab] | 410.33[b] | 68.59 | 0.05 |
| Day 70 | 288.33[a] | 265.33[ab] | 216.67[bc] | 191.67[c] | 172.67[c] | 21.50 | 0.02 |
| ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل TAC (µM) | | | | | | | |
| First day | 1.96 | 1.38 | 1.85 | 1.69 | 1.76 | 0.18 | 0.28 |
| Day 14 | 1.76 | 1.42 | 1.80 | 0.88 | 1.05 | 0.27 | 0.14 |
| Day 70 | 1.84[a] | 1.83[ab] | 1.73[abc] | 1.69[bc] | 1.64[c] | 0.04 | 0.03 |
| سوپراکسید دیسموتاز SOD (U/ml) | | | | | | | |
| First day | 11.27 | 8.00 | 10.61 | 11.21 | 10.00 | 0.80 | 0.20 |
| Day 14 | 11.70[a] | 11.05[a] | 10.75[a] | 11.46[a] | 3.19[b] | 0.64 | 0.01 |
| Day 70 | 14.01[a] | 14.53[a] | 11.76[b] | 11.62[b] | 10.86[b] | 0.32 | 0.01 |
| گلوتاتیون پراکسیداز GPx (mU/ml) | | | | | | | |
| First day | 6.85 | 7.78 | 8.26 | 7.75 | 7.81 | 1.43 | 0.097 |
| Day 14 | 10.97 | 11.09 | 13.07 | 11.89 | 12.17 | 2.01 | 0.94 |
| Day 70 | 5.83 | 6.39 | 6.11 | 6.39 | 8.03 | 0.47 | 0.06 |

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05). [1] متیونین- روی، [2] اکسید روی

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

[1] Zinc-methionine (ZnMET)

[2] Zinc oxide (ZnO)

سوپراکسید دیسموتاز یکی از اجزای اصلی سیستم آنتی‌اکسیدانی است. صرف نظر از منبع روی، مکمل روی به‌دلیل افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز وضعیت آنتی‌اکسیدانی نشخوارکنندگان را بهبود می‌بخشد (Grešáková *et al.*, 2021). در پژوهشی، غلظت سوپراکسید دیسموتاز در گروه‌های مصرف‌کننده مکمل روی افزایش یافت (Patel *et al.*, 2021). در مقابل، مندل و همکاران (Mandal *et al.*, 2007) فعالیت سوپراکسید دیسموتاز مشابهی را در میان گروه کنترل در مقایسه با گوساله‌های آمیخته با ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم روی به‌صورت سولفات روی یا پروپیونات- روی مشاهده کردند. افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز پس از مصرف مکمل روی ممکن است به این دلیل باشد که روی یک جزء ذاتی سوپراکسید دیسموتاز، یک جاذب اصلی رادیکال‌های آزاد موجود در سیتوپلاسم انواع بسیاری از سلول‌ها است (Spears and Weiss, 2008).

## نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر در مجموع، عملکرد تولیدی و غلظت فراسنجه‌های خونی در نسبت‌های مختلف منبع آلی و معدنی تغییر نکرد، امّا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در نسبت‌های بالاتر مکمل آلی (متیونین- روی) نسبت به منابع معدنی (اکسید روی) بیشتر بود. عدم تأثیر مثبت جایگزینی اکسید روی با متیونین- روی بر عملکرد گوساله‌های حاضر ممکن است به‌دلیل ارائه سطوح کافی روی برای همه گوساله‌ها باشد و می‌توان بیان داشت، در زمانی که عنصر روی در سطح کافی تأمین می‌شود، شکل شیمیایی و زیست‌فراهمی منابع دارای اهمیت کمتری بر عملکرد هستند.

**References**


1. Abdollahi, M., Rezaei, J., & Fazaeli, H. (2020). Performance, rumen fermentation, blood minerals, leukocyte and antioxidant capacity of young Holstein calves receiving high-surface ZnO instead of common ZnO. *Archives of Animal Nutrition, 74*(3), 189-205. https://doi.org/10.1080/1745039x.2019.1690389
2. Adab, M., Mahjoubi, E., Yazdi, M. H., & Collier, R. J. (2020). Effect of supplemental dietary Zinc and its time of inclusion on pre-weaning phase of Holstein heifer calves: Growth performance and health status. *Livestock Science, 231*, 103891. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.103891
3. Alimohamady, R., Aliarabi, H., Bruckmaier, R. M., & Christensen, R. G. (2019). Effect of different sources of supplemental zinc on performance, nutrient digestibility, and antioxidant enzyme activities in lambs. *Biological Trace Element Research, 189*(1), 75-84. https://doi.org/10.1007/s12011-018-1448-1
4. Anil, T. S. V., Seshaiah, C. V., Ashalatha, P., & Sudhakar, K. S. (2020). Effect of dietary nano zinc oxide supplementation on haematological parameters, serum biochemical parameters and hepato-renal bio-markers in crossbred calves. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 9*, 2034-2044.
5. Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., Neyrinck, A. M., Fava, F., Tuohy, K. M., Chabo, C., Waget, A., Delmée, E., Cousin, B., Sulpice, T., Chamontin, B., Ferrières, J., Tanti, J. F ,.Gibson, G. R., Casteilla, L., Delzenne, N. M., Alessi, M. C., & Burcelin, R. (2007). Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes, 56*(7), 1761-1772. https://doi.org/10.2337/db06-1491
6. Chang, M. N., Wei, J. Y., Hao, L. Y., Ma, F. T., Li, H. Y., Zhao, S. G., & Sun, P. (2020). Effects of different types of zinc supplement on the growth, incidence of diarrhea, immune function, and rectal microbiota of newborn dairy calves. *Journal of Dairy Science, 103*(7), 6100-6113. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2019-17610
7. Cho, Y. E., Lomeda, R. A., Ryu, S. H., Sohn, H. Y., Shin, H. I., Beattie, J. H., & Kwun, I. S. (2007). Zinc deficiency negatively affects alkaline phosphatase and the concentration of Ca, Mg and P in rats. *Nutrition Research and Practice, 1*(2), 113-119. https://doi.org/10.4162/nrp.2007.1.2.113
8. Cho, Y. I., & Yoon, K. J. (2014). An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of Veterinary Science, 15*(1), 1-17. http://dx.doi.org/10.4142/jvs.2014.15.1.1
9. Cousins, R. J., Blanchard, R. K., Moore, J. B., Cui, L., Green, C. L., Liuzzi, J. P., Cao, J., & Bobo, J. A. (2003). Regulation of zinc metabolism and genomic outcomes. *The Journal of Nutrition, 133*(5 Suppl 1), 1521s-1526s. http://dx.doi.org/10.1093/jn/133.5.1521S
10. Feldmann, H. R., Williams, D. R., Champagne, J. D., Lehenbauer, T. W., & Aly, S. S. (2019). Effectiveness of zinc supplementation on diarrhea and average daily gain in pre-weaned dairy calves: A double-blind, block-randomized, placebo-controlled clinical trial. *PLoS One, 14*(7), e0219321. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219321
11. Genther, O. N., & Hansen, S. L. (2014). Effect of dietary trace mineral supplementation and a multi-element trace mineral injection on shipping response and growth performance of beef cattle. *Journal of Animal Science, 92*(6), 2522-2530. http://dx.doi.org/10.2527/jas.2013-7426
12. Glover, A. D., Puschner, B., Rossow, H. A., Lehenbauer, T. W., Champagne, J. D., Blanchard, P. C., & Aly, S. S. (2013). A double-blind block randomized clinical trial on the effect of zinc as a treatment for diarrhea in neonatal Holstein calves under natural challenge conditions. *Prev Vet Med, 112*(3-4), 338-347. http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.09.001
13. Grešáková, Ľ., Tokarčíková, K., & Čobanová, K. (2021). Bioavailability of dietary zinc sources and their effect on mineral and antioxidant status in lambs. *Agriculture, 11*(11), 1093.
14. Hu, C. H., Xiao, K., Song, J., & Luan, Z. S. (2013). Effects of zinc oxide supported on zeolite on growth performance, intestinal microflora and permeability, and cytokines expression of weaned pigs. *Animal Feed Science and Technology, 181*, 65–71. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.02.003
15. Jia, W., Zhu, X., Zhang, W., Cheng, J., Guo, C., & Jia, Z. (2009). Effects of source of supplemental zinc on performance, nutrient digestibility and plasma mineral profile in Cashmere goats. *Asian-australasian Journal of Animal Sciences, 22*, 1648-1653.
16. Jing, M. Y., Sun, J. Y., & Wang, J. F. (2008). The effect of peripheral administration of zinc on food intake in rats fed Zn-adequate or Zn-deficient diets. *Biological Trace Element Research, 124*(2), 144-156. http://dx.doi.org/10.1007/s12011-008-8132-9
17. Kumar, A., Sahu, D., Chandra, G., Yadav, S. P., Kumar, R., Jaiswal, V., Maurya, P., & Singh, R. K. (2018). Effect of different sources of zinc on growth performance and haemato-biochemical profiles of Murrah Buffalo calves. *Indian Journal of Animal Nutrition, 35*, 409. http://dx.doi.org/10.5958/2231-6744.2018.00062.2
18. Kwun, I. S., Cho, Y. E., Lomeda, R. A., Kwon, S. T., Kim, Y., & Beattie, J. H. (2007). Marginal zinc deficiency in rats decreases leptin expression independently of food intake and corticotrophin-releasing hormone in relation to food intake. *The British Journal of Nutrition, 98*(3), 485-489. http://dx.doi.org/10.1017/s0007114507730763
19. Li, Y., & Maret, W. (2009). Transient fluctuations of intracellular zinc ions in cell proliferation. *Experimental Cell Research, 315*(14), 2463-2470. http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2009.05.016

20. Ma, F., Wo, Y., Li, H., Chang, M., Wei, J., Zhao, S., & Sun, P. (2020). Effect of the source of zinc on the tissue accumulation of zinc and jejunal mucosal zinc transporter expression in Holstein dairy calves. *Animals (Basel), 10*(8). http://dx.doi.org/10.3390/ani10081246
21. Mallaki, M., Norouzian, M., & Khadem, A. (2015). Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization,and plasma zinc status in lambs. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 39*, 75-80. http://dx.doi.org/10.3906/vet-1405-79
22. Mandal, G. P., Dass, R., Isore, D. P., Garg, A., & Ram, G. (2007). Effect of zinc supplementation from two sources on growth, nutrient utilization and immune response in male crossbred cattle (Bos indicus X Bos taurus) bulls. *Animal Feed Science and Technology, 138*, 1-12. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.09.014
23. Marcondes, M., Pereira, T., Chagas, J., Filgueiras, E., Castro, D. M., Costa, G., Sguizzato, A., & Sainz, R. (2016). Performance and health of Holstein calves fed different levels of milk fortified with symbiotic complex containing pre- and probiotics. *Tropical Animal Health and Production, 48*. http://dx.doi.org/10.1007/s11250-016-1127-1
24. Mattioli, G. A., Rosa, D. E., Turic, E., Relling, A. E., Galarza, E., & Fazzio, L. E. (2018). Effects of copper and zinc supplementation on weight gain and hematological parameters in pre-weaning calves. *Biological trace element research, 185*(2), 327-331. http://dx.doi.org/10.1007/s12011-017-1239-0
25. Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science (Lond), 84*(4), 407-412. http://dx.doi.org/10.1042/cs0840407
26. Najafzadeh, H., Ghoreishi, S., Mohammadian, B., Rahimi, E., Afzalzadeh, M., Kazemivarnamkhasti, M., & Ganjealidarani, H. (2013). Serum biochemical and histopathological changes in liver and kidney in lambs after zinc oxide nanoparticles administration. *Veterinary World, 6*, 534. http://dx.doi.org/10.5455/vetworld.2013.534-537
27. Nayeri, A., Upah, N. C., Sucu, E., Sanz-Fernandez, M. V., DeFrain, J. M., Gorden, P. J., & Baumgard, L. H. (2014). Effect of the ratio of zinc amino acid complex to zinc sulfate on the performance of Holstein cows. *Journal of Dairy Science, 97*(7), 4392-4404. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7541
28. Paglia, D. E., & Valentine, W. N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 70*(1), 158-169.
29. Patel, B., Kumar, N., Kotresh Prasad, C., Rajpoot, V., & Lathwal, S. S. (2021). Effect of zinc supplementation on physiological and oxidative stress status of peri-parturient Karan Fries cows during heat stress condition. *Journal of Entomology and Zoology Studies, 9*, 4.
30. Sales, J. (2013). Effects of pharmacological concentrations of dietary zinc oxide on growth of post-weaning pigs: a meta-analysis. *Biological Trace Element Research, 152*(3), 343-349. http://dx.doi.org/10.1007/s12011-013-9638-3
31. Santman-Berends, I., de Bont-Smolenaars, A. J. G., Roos, L., Velthuis, A. G. J., & van Schaik, G. (2018). Using routinely collected data to evaluate risk factors for mortality of veal calves. *Preventive Veterinary Medicine, 157*, 86-93. http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.05.013
32. Schulte, J. N., Brockmann, G. A., & Kreuzer-Redmer, S. (2016). Feeding a high dosage of zinc oxide affects suppressor of cytokine gene expression in Sal*monella typhimurium* infected piglets. *Veterinary Immunology and Immunopathology, 178*, 10-13. http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.06.009
33. Seifdavati, J., Jahan Ara, M., Seyfzadeh, S., Abdi Benamar, H., Mirzaei Aghjehgheshlagh, F., Seyedsharifi, R., & Vahedi, V. (2018). The Effects of zinc oxide nano particles on growth performance and blood metabolites and some serum enzymes in Holstein suckling calves. . *Iranian Journal of Animal Science Research, 10*(1), 11. (In Persian).http://dx.doi.org/10.22067/ijasr.v10i1.62376.
34. Shanigaram, P., Nagalakshmi, D., & Kumar, K. (2015). Effect of zinc supplementation on haematology and serum biochemical constituents in Murrah buffalo calves. *Indian Journal of Animal Research, 49*, 482. http://dx.doi.org/10.5958/0976-0555.2015.00095.3
35. Shen, J., Chen, Y., Wang, Z., Zhou, A., He, M., Mao, L., Zou, H., Peng, Q., Xue, B., Wang, L., Zhang, X., Wu, S., & Lv, Y. (2014). Coated zinc oxide improves intestinal immunity function and regulates microbiota composition in weaned piglets. *The British Journal of Nutrition, 111*(12), 2123-2134. http://dx.doi.org/10.1017/s0007114514000300
36. Shen, X., Song, C., & Wu, T. (2021). Effects of nano-copper on antioxidant function in copper-deprived guizhou black goats. *Biological Trace Element Research, 199*(6), 2201-2207. http://dx.doi.org/10.1007/s12011-020-02342-1
37. Soufi, B., Alijoo, Y. A., Khamisabadi, H., & Khoobbakht, Z. (2022). The effect of inorganic, organic and nano-zinc sources on growth performance, blood parameters and antioxidant activity of Sanjabi lambs. *Journal of Ruminant Research, 9*(4), 19-32.
38. Spears, J. W., & Weiss, W. P. (2008). Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal, 176*(1), 70-76. http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.015
39. Suttle, N. F. (2010). *Mineral Nutrition of Livestock.* 4th ed. Wallingford, Oxfordshire, CABI
40. Teixeira, A. G., Stephens, L., Divers, T. J., Stokol, T., & Bicalho, R. C. (2015). Effect of crofelemer extract on

severity and consistency of experimentally induced enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhea in newborn Holstein calves. *Journal of Dairy Science, 98*(11), 8035-8043. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9513

41. Ulutaş, E., Eryavuz, A., Bülbül, A., Rahman, A., Küçükkurt, İ., & Uyarlar, C. (2020). Effect of zinc supplementation on haematological parameters, biochemical components of blood and rumen fluid, and accumulation of zinc in different organs of goats. *Pakistan Journal of Zoology, 52*. http://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/20190603230641
42. Wang, B., Yang, C. T., Diao, Q. Y., & Tu, Y. (2018). The influence of mulberry leaf flavonoids and *Candida tropicalis* on antioxidant function and gastrointestinal development of preweaning calves challenged with *Escherichia coli* O141:K99. *Journal of Dairy Scienc, 101*(7), 6098-6108. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13957
43. Wei, J., Ma, F., Hao, L., Shan, Q., & Sun, P. (2019). Effect of differing amounts of zinc oxide supplementation on the antioxidant status and zinc metabolism in newborn dairy calves. *Livestock Science, 230*, 103819. http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2019.103819
44. Zaboli, K., Aliarabi, H., Bahari, A., & Abbasalipourkabir, R. (2013). Role of dietary nano-zinc oxide on growth performance and blood levels of mineral: A study on Iranian Angora (Markhoz) goat kids. *Journal of Pharmaceutical and Health Science, 2*(1), 19-26.

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

**Research Article**
**Vol. 16, No.3, 2024, p. 331-345**

# Determination of Zinc Requirement in Suckling Calves using Some Non-Linear Models

**Mohammad Javad Elyasi[1], Khalil Zaboli[2*]**

1- M.Sc. Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
*Corresponding author: zaboli@basu.ac.ir

Received: 14-02-2024
Revised: 28-05-2024
Accepted: 02-06-2024
Available Online: 03-12-2024

**How to cite this article:**
Elyasi, M. J., & Zaboli, KH. (2024). Determination of zinc requirement in suckling calves using some non-linear models. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16*(3), 331-345. (in Persian with English abstract). http://doi.org//10.22067/IJASR.2024.86874.1190

**Introduction:** Currently, trace elements are provided to livestock with the aim of achieving optimal growth and enhancing performance in the majority of farm animals. Zinc (Zn) is one of these elements. It has been found that Zn is present within the structure of numerous enzymes and plays a crucial role in various essential physiological functions within the body. Regarding a low concentration of Zn in surface soils in Iran (less than 0.8 mg/kg), resulting in Zn deficiency in plants grown in these soils. Consequently, the consumption of these plants as animal feed can lead to Zn deficiency in the animals' bodies. Therefore, it is imperative to include Zn in the diet of all animals. However, one of the basic problems regarding for addition of Zn to the livestock diets in Iran is the lack of accurate knowledge of the livestock requirement for Zn (according to the country's geographical conditions). The present study was carried out to determine the optimal requirement of Zn in Holstein suckling calves using some models.

**Materials and Methods:** In this experiment, a total of 30 Holstein suckling calves (5 treatments, n=6 calves/treatment) aged from 4 (42.75 ± 3.26 kg mean body weight) to 70 days (93.52 ± 3.97 kg mean body weight) were used in a completely random design. The experimental treatments consisted of zero (control), 15, 30, 45 and 60 mg Zn/kg DM of diet (in the form of zinc sulfate). The calves were fed with whole milk (approximately 10% of birth weight) in two equal meals daily at 08:00 and 19:00 and each calf's specific Zn requirement was supplemented to the evening meal milk in the form of zinc sulphate solution. Starter and fresh water were freely available for the calves throughout the experiment. The starter feed, provided in pellet form, consisted of a blend of corn grain, soybean meal, corn gluten, barley grain, wheat bran, sodium bicarbonate, and mineral and vitamin supplements. Additionally, chopped wheat straw (5%) and alfalfa hay (5%) incorporated into the starter feed from the 15th day of age until the weaning stage. During the experimental period, the calves' performance (including dry matter intake, average daily weight gain, feed conversion ratio and weaning weight) was systematically assessed. lood samples were taken from the jugular vein at the end of the trial (day 70) before the morning feeding for measurement of blood zinc and some parameters (glucose, urea, albumin and total protein) concentration.The performance of calves was assessed using simple broken line, quadratic broken line, and quadratic regression models. Subsequently, the Zn requirements for calves were estimated based on the optimal performance of calves as determined by these models.

**Results and Discussion:** Results showed that the including Zn to the diet of calves had no significant effect on dry matter intake and feed conversion ratio. Also, no significant differences were observed among treatments for the concentration of glucose, urea, albumin and total protein in blood serum. But it significantly increased the

©2023 The author(s). This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.
http://doi.org//10.22067/IJASR.2024.86874.1190

average daily weight, blood zinc concentration and weaning weight of the calves ($p<0.05$). According to the analysis using a simple linear model, there was no statistically significant correlation between the Zn requirement and dry matter intake or daily weight gain. However, a significant correlation ($p<0.05$) was observed between the Zn requirement and weaning weight, as well as feed conversion ratio. Consequently, the Zn requirement for calves to achieve weaning weight and feed conversion ratio was determined to be 76.43 and 74.87 mg Zn/ kg DM in the diet, respectively. Based on the quadratic broken line model fitting, there was no statistically significant association between the Zn requirement for calves and their dry matter intake. However, a significant correlation was observed between the Zn requirement and other measured attributes ($p<0.05$). Consequently, the Zn requirement for daily weight gain, weaning weight, and feed conversion ratio was determined to be 83.96, 89.18, and 89.53 mg Zn/kg DM in the diet, respectively. Based on the quadratic regression model analysis, it was found that there was no statistically significant relationship between the Zn requirement and dry matter intake. However, a significant correlation was observed between the Zn requirement and other measured variables ($p<0.05$). Specifically, the Zn requirement for daily weight gain, weaning weight, and feed conversion ratio was determined to be 86.99, 79.50, and 86.99 mg Zn/kg DM in the diet, respectively. Fulfilling the Zn needs of calves resulted in optimal performance in terms of daily weight gain, weaning weight, and feed conversion ratio, with values of 759.2 g/d, 97.25 kg, and 2.21, respectively.

**Conclusion:** Overall, these results showed that the optimal dietary Zn requirement for Holstein suckling calves falls within the range of 74.89-89.53 mg Zn/kg DM of diet. Furthermore, providing this level of Zn in the diet resulted in the highest performance in calves.

**Keywords**: Performance, Suckling calf, Zinc

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

مقاله پژوهشی
جلد ۱۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۳۴۵-۳۳۱

# تعیین نیاز عنصر روی در گوساله‌های شیرخوار با استفاده از برخی مدل‌های غیرخطی

محمد جواد الیاسی[۱]، خلیل زابلی[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۵
تاریخ بازنگری:۱۴۰۳/۰۳/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۱۳

## چکیده

عنصر روی یکی از عناصر مورد نیاز گوساله‌های شیرخوار است. اما عدم اطلاع دقیق از مقدار نیاز حیوان به آن، همیشه یک چالش اساسی بوده است. برای انجام این آزمایش، از تعداد ۳۰ رأس گوساله شیرخوار هلشتاین (پنج تیمار با شش تکرار) از سن ۴ (۴۲/۷۵ کیلوگرم) تا ۷۰ روزگی (۹۳/۵۲ کیلوگرم) در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تیمارها شامل سطوح صفر (شاهد)، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میلی‌گرم عنصر روی (به‌شکل سولفات روی) در هر کیلوگرم ماده خشک جیره بود که به شیر وعده عصر اضافه می‌شد. در طول دوره آزمایش، عملکرد گوساله‌ها اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری غلظت عنصر روی و فراسنجه‌های گلوکز، اوره، آلبومین و پروتئین‌کل، خون‌گیری از گوساله‌ها در روز آخر آزمایش، قبل از وعده غذایی صبح (ناشتا) انجام شد. داده‌های مربوط به عملکرد با استفاده از مدل‌های خط شکسته ساده، خط شکسته درجه دو و تابعیت درجه دو برازش شدند. نتایج نشان داد که افزودن عنصر روی به جیره گوساله‌ها سبب افزایش معنی‌دار وزن روزانه، وزن از شیرگیری و غلظت عنصر روی در خون شد ($p< ۰/۰۵$). مقدار عنصر روی مورد نیاز گوساله‌ها براساس برازش مدل‌های فوق، در محدوده ۸۹/۵۳ تا ۷۴/۸۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک جیره بود. با تأمین شدن نیاز عنصر روی در گوساله‌ها، بهترین عملکرد افزایش وزن روزانه، وزن از شیرگیری و ضریب تبدیل غذایی در آن‌ها به‌ترتیب ۷۵۹/۲ گرم در روز، ۹۷/۲۵ کیلوگرم و ۲/۲۱ مشاهده شد. به‌طور کلی، استفاده از عنصر روی در محدوده ۸۹/۵۳-۷۴/۸۷ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره سبب بهترین عملکرد در گوساله‌ها شد.

**واژه های کلیدی:** عملکرد، عنصر روی، گوساله شیرخوار

## مقدمه

امروزه در اکثر واحدهای دامپروری، جهت رشد مناسب و بهبود عملکرد دام‌ها، از مواد معدنی کم‌مصرف در جیره غذایی آن‌ها استفاده می‌شود. یکی از این عناصر کم مصرف، عنصر روی (Zn) می‌باشد. گزارش شده است که عنصر روی در ساختمان بسیاری از آنزیم‌های بدن حضور دارد و از این طریق، بر عملکرد بسیاری از اعمال حیاتی بدن از قبیل رشد، متابولیسم کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، تقسیم و بازسازی سلول‌های بدن، سیستم ایمنی و تولید بافت‌های پوششی تأثیرگذار است (McDowell, 1992). براساس نظر اکثر محققین، کمبود عنصر روی، عوارض منفی بسیار زیادی در بدن دام ایجاد می‌کند که مهم‌ترین آن کاهش اشتها و به دنبال آن کاهش دریافت سایر مواد مغذی و کاهش رشد می‌باشد (Suttle, 2010). این کاهش اشتها می‌تواند از طریق اثر این عنصر بر بیان ژن‌های کنترل‌کننده اشتها باشد، زیرا مقدار تولید و ترشح هورمون‌ها و آنزیم‌هایی که در کنترل اشتها نقش دارند، تحت تأثیر کمبود روی تغییر می‌یابند. همچنین، عدم مصرف روی کافی در جیره، سبب تحریک کاتابولیسم پروتئین‌های بدن شده و از طریق تغییر متابولیسم اسیدهای نوکلئیک، بیوسنتز پروتئین‌ها در بدن محدود شده و رشد بافت‌های بدن تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Kaya *et al.*, 1998). علاوه‌براین، عنصر روی در سنتز ویتامین A در بدن، انتقال دی اکسید کربن، تخریب رادیکال‌های آزاد، پایداری دیواره سلول‌های قرمز خون، متابولیسم اسیدهای چرب ضروری، بیان ژن، انتقال سیگنال‌ها در سلول، رونویسی و سنتز RNA و معدنی شدن استخوان‌ها نقش دارد (NRC, 2007; Suttle, 2010).

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: zaboli@basu.ac.ir.)
http://doi.org/10.22067/IJASR.2024.86874.1190

تاکنون در مورد اثرات مثبت استفاده از مکمل روی در جیره دام-های مختلف تحقیقات بسیار زیادی انجام شده است. بر این اساس، در یک مطالعه، استفاده از مقدار ۲۰ میلی‌گرم عنصر روی به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک در جیره گوساله‌های نر، سبب افزایش وزن روزانه در آن‌ها شد (Wright and Spears, 2004). همچنین، علی-عربی و همکاران (Aliarabi *et al.*, 2015) گزارش کردند که افزودن مقادیر ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم عنصر روی به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره، سبب بهبود عملکرد وزن و ضریب تبدیل غذایی بره‌های نر پرواری شد. لذا، به‌کار بردن مکمل عنصر روی در جیره غذایی تمامی دام‌ها به‌خصوص در کشور ایران اجتناب‌ناپذیر است، زیرا غلظت این عنصر در خاک‌های سطحی ایران بسیار کم (کمتر از ۰/۸ میلی-گرم در کیلوگرم) می‌باشد (Malakouti *et al.*, 2002). بنابراین، گیاهانی که در این خاک‌ها پرورش داده می‌شوند، با کمبود روی مواجه هستند و مصرف این گیاهان به‌عنوان خوراک دام می‌تواند سبب کمبود این عنصر در بدن دام شود، امّا یکی از مشکلات اساسی در خصوص افزودن عنصر روی به جیره دام‌های کشور، عدم اطلاع دقیق از مقدار احتیاجات غذایی دام‌ها به این عنصر (با توجه به شرایط جغرافیایی کشور) می‌باشد. بدین ترتیب، تعیین نیاز دام‌ها به این عنصر همواره یک چالش برای دامپروران و متخصصان صنعت دامپروری بوده است.

در بحث تغذیه گوساله‌های شیرخوار، استفاده از مکمل‌های معدنی، به‌خصوص عنصر روی، دارای جایگاه ویژه‌ای است. مطابق جداول استاندارد غذایی، نیاز گوساله‌های در حال رشد به عنصر روی در حدود ۳۳ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره می‌باشد (NRC, 2001). درحالی‌که توصیه‌های جدید، این مقدار نیاز را ۸۴-۷۰ میلی-گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره پیشنهاد کرده‌اند (NRC, 2021). اما در گوساله‌های شیرخوار، به‌دلیل فقیر بودن شیر از نظر عنصر روی، نیاز این گوساله‌ها به عنصر روی از طریق مصرف شیر تأمین نشده و لذا افزودن عنصر روی به جیره آن‌ها ضروری می‌باشد (Suttle, 2010)، زیرا همان‌طور که قبلاً ذکر شد، کمبود این عنصر از طریق کاهش اشتها، سبب کاهش رشد و همچنین، کاهش سطح ایمنی بدن گوساله‌ها خواهد شد (Suttle, 2010). لازم به ذکر است که مقادیر گزارش شده در جداول استاندارد غذایی را نمی‌توان به‌طور قطع برای تأمین احتیاجات عنصر روی در گوساله‌های شیرخوار در کشور ایران به‌کار گرفت و نیاز است که مقدار مورد نیاز این حیوانات به عنصر روی از طریق روش‌های علمی برآورد گردد.

به‌طور کلی، به‌منظور تعیین نیاز مواد مغذی در دام‌ها از روش‌های متعددی استفاده می‌شود. یکی از این روش‌ها، استفاده از انواع مدل-های خط شکسته و روش‌های تابعیت می‌باشد (Robbins *et al.*, 2006). لازم به ذکر است که در خصوص تعیین نیاز عنصر روی در دام‌ها، تحقیقات بسیار اندکی صورت گرفته است. در یک مطالعه، با به‌کارگیری سطوح مختلف عنصر روی در جیره و استفاده از روش تابعیت درجه دو مشخص شد که نیاز بره‌های نر مهربان به عنصر روی، به‌منظور حداکثر مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه به‌ترتیب ۶۸/۵۹ و ۸۱/۳۷ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره بود (Mehradkia, 2019).

با توجه به موارد فوق و عدم وجود تحقیق جامع در خصوص مصرف سطح مطلوب عنصر روی در جیره گوساله‌های شیرخوار و اهمیت مصرف این عنصر در جیره این حیوانات، پژوهش حاضر به-منظور تعیین نیاز عنصر روی با استفاده از برخی از مدل‌های خط شکسته و تابعیت در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین انجام شد.

## مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در مجتمع کشت و صنعت اصلانی واقع در شهرستان قهاوند از توابع استان همدان انجام شد. بدین منظور، تعداد ۳۰ رأس گوساله شیرخوار نژاد هلشتاین از روز چهارم تولد (با میانگین وزن ۳/۲۶ ± ۴۲/۷۵ کیلوگرم) تا سن از شیرگیری (۷۰ روزگی، با میانگین وزن ۳/۹۷ ± ۹۳/۵۲ کیلوگرم) در جایگاه‌های انفرادی به ابعاد ۱ × ۲ متر قرارگرفتند. جایگاه نگهداری گوساله ها، ابتدا تمیز و ضدعفونی شده، و بستر پس از شعله‌افکنی، با کاه و کلش پوشانده شد. قبل از شروع آزمایش، همه گوساله‌ها به‌مدت سه روز آغوز دریافت کردند و در روز چهارم آزمایش وزن‌کشی و به‌صورت تصادفی (براساس وزن زنده) در پنج تیمار آزمایشی دسته‌بندی شدند. تیمارهای آزمایشی به‌ترتیب شامل سطوح صفر (شاهد، جیره پایه حاوی مقدار ۲۹/۶۸ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره)، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره بود. به‌منظور اضافه کردن عنصر روی به جیره، از نمک سولفات روی (تولید شده توسط شرکت SAMCHUN، کشور کره جنوبی) استفاده شد. گوساله‌ها روزانه دو وعده و در ساعات ۸:۰۰ و ۱۹:۰۰ (به‌مقدار ۱۰ درصد وزن بدن) شیر دریافت می‌کردند و مقدار مکمل روی مورد نیاز هر گوساله به‌صورت محلول سولفات روی و به‌صورت انفرادی به شیر وعده عصر هر یک از گوساله‌ها اضافه شد.

استارتر و آب تازه از روز اول آزمایش به‌صورت آزاد در اختیار گوساله‌ها قرار داشت. اجزای تشکیل‌دهنده استارتر شامل دانه ذرت، کنجاله سویا، گلوتن ذرت، دانه جو، سبوس گندم، بی‌کربنات سدیم، مکمل‌های معدنی و ویتامینه مخصوص گوساله بود که به‌صورت آماده و استارتر به‌صورت پلت شده (آجیلی) بود. از سن ۱۵ روزگی گوساله‌ها، کاه گندم خرد شده (پنج درصد) و یونجه خرد شده (پنج درصد) به استارتر آن‌ها اضافه شده و تا پایان دوره شیرخوارگی در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت (جدول ۱).

در طول دوره آزمایش، مقدار خوراک مصرفی به‌صورت روزانه اندازه‌گیری و تغییرات وزن گوساله‌ها هر دو هفته یک بار ثبت شد و

بر این اساس، صفات عملکردی (شامل مقدار ماده خشک مصرفی، میانگین افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل غذایی و وزن از شیرگیری) گوساله‌ها محاسبه شد. نمونه خون در روز آخر آزمایش، قبل از نوبت غذایی صبح، از سیاهرگ وداج گوساله‌ها (بدون اضافه کردن ماده ضدانعقاد) گرفته شد. نمونه خون جهت جداسازی سرم به آزمایشگاه ارسال شد. برای جداسازی سرم خون در آزمایشگاه، ابتدا نمونه‌های خون به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و سرم جداسازی شده به داخل میکروتیوب‌های یک میلی‌لیتری منتقل و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

به‌منظور تعیین قابلیت هضم، نمونه‌برداری از مدفوع در پنج روز آخر دوره آزمایشی از طریق رکتوم گوساله‌ها انجام شده و درصد قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی جیره با استفاده از روش خاکستر نامحلول در اسید محاسبه شد (Van Keulen and Young, 1977). برای اندازه‌گیری غلظت گلوکز، اوره، آلبومین و پروتئین کل سرم خون از کیت آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (مدل کلاسیک آلفا، ایران) و برای اندازه‌گیری غلظت عنصر روی سرم خون از دستگاه جذب اتمی (مدل واریان، استرالیا) استفاده شد.

**جدول ۱**- ترکیب شیمیایی مواد خوراکی

**Table 1-** Chemical composition of feed-stuffs

| ترکیبات شیمیایی<br>Chemical components | استارتر آجیلی<br>Starter | یونجه<br>Alfalfa | کاه گندم<br>Wheat straw |
|---|---|---|---|
| ماده خشک<br>Dry matter (%) | 89.00 | 93.42 | 90.37 |
| ماده آلی<br>Organic matter (%) | 93.28 | 90.25 | 93.4 |
| پروتئین خام<br>Crude protein (%) | 21.44 | 15.06 | 3.90 |
| دیواره سلولی<br>NDF (%) | 28.21 | 46.70 | 78.35 |
| دیواره سلولی بدون همی‌سلولز<br>ADF (%) | 7.20 | 34.50 | 50.10 |
| انرژی قابل متابولیسم[1]<br>ME[1] (Mcal/kg) | 3.23 | 2.09 | 1.44 |
| مواد معدنی<br>Minerals | | | |
| کلسیم<br>Ca (%) | 0.925 | 1.69 | 0.40 |
| فسفر<br>P (%) | 0.620 | 0.23 | 0.07 |
| روی<br>Zn (Mg/kg DM) | 30.98 | 23.01 | 6.48 |
| مس<br>Cu (Mg/kg DM) | 14.00 | 11.47 | 3.84 |
| آهن<br>Fe (Mg/kg DM) | 95.40 | 377.0 | 156.6 |

انرژی قابل متابولیسم با استفاده از جدول NRC (2001) محاسبه گردید.

[1] Metabolizable Energy was calculated based on NRC (2001).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد (SAS, 1999). مدل آماری به‌صورت $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ بود که در آن، $Y_{ij}$: مقدار هر مشاهده، $\mu$: اثر میانگین، $T_i$: اثر تیمار و $e_{ij}$: اثر خطای آزمایشی بود. جهت تعیین نیاز عنصر روی، از آنالیز خط شکسته ساده، خط شکسته درجه دو و تابعیت درجه دو و نرم‌افزار SAS استفاده شد (SAS, 1999). معادلات مربوط به مدل‌ها به‌صورت زیر بودند (Robbins *et al.*, 2006):

مدل خط شکسته ساده (معادله ۱):

$$Y = L + U (R - X) \quad \text{for } X < R$$
$$Y = L \quad \text{for} \quad X > R$$

مدل خط شکسته درجه دو (معادله ۲):

$$Y = L + U (R - X)^2 \quad \text{for} \quad X < R$$
$$Y = L \quad \text{for} \quad X > R$$

در معادله‌های ۱ و ۲، Y: معادل عملکرد یا پاسخ دام، L: معادل عرض نقطه شکسته یا حداکثر عملکرد دام، R: معادل طول نقطه

شکست یا مقدار نیاز حیوان به عنصر روی و U: معادل شیب خط قبل از نقطه شکست بود.

مدل تابعیت درجه ۲ (معادله ۳):

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

در معادله ۳، Y: معادل متغیر وابسته (عملکرد یا پاسخ دام)، X: معادل غلظت عنصر روی در جیره و a، b و c: پارامترهای تخمین زده شده در مدل (ثابت‌های مدل) بودند. اگر مشتق تابع معادله ۳ ($Y' = b + 2cX$) معادل صفر در نظر گرفته شود، در این صورت، مقدار X به‌دست آمده (نقطه مماس منحنی و دارای شیب صفر)، به‌عنوان نیاز عنصر روی پیش‌بینی شده در نظر گرفته می‌شود و با قرار دادن مقدار X به‌دست آمده در معادله ۳، مقدار Y یا حداکثر عملکرد (بیشترین بازده مصرف عنصر روی) به‌دست خواهد آمد.

## نتایج و بحث

نتایج مربوط به تأثیر استفاده از سطوح مختلف عنصر روی بر عملکرد گوساله‌ها در جدول ۲ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، افزودن عنصر روی به جیره گوساله‌ها سبب شد که ماده خشک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی در گوساله‌ها تغییر معنی‌داری نکند، امّا افزایش وزن روزانه و وزن از شیرگیری گوساله‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p< ۰/۰۵$). مشابه نتایج ما، در یک پژوهش که روی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین انجام گرفته بود، مشخص شد که افزودن مقدار ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک جیره عنصر روی، از طریق دو نوع مکمل اکسید روی و نانو اکسید روی، تأثیر معنی‌داری بر ماده خشک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی آن‌ها نداشت، امّا سبب بهبود افزایش وزن روزانه و وزن از شیرگیری گوساله‌ها شد (Seifdavati *et al.*, 2018). همچنین، استفاده از مقدار ۸۰ میلی‌گرم عنصر روی به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره (به‌صورت سولفات روی) به‌مدت ۹۰ روز در جیره گوساله‌های شیرخوار سبب شد که افزایش وزن روزانه گوساله‌ها بهبود یابد (Prakash Pal *et al.*, 2021)، امّا برخلاف نتایج ما، افزودن مقدار ۶۰ میلی‌گرم عنصر روی به هر کیلوگرم ماده خشک جیره (به‌صورت سولفات روی) گوساله‌های شیرخوار، اثری بر افزایش وزن روزانه آن‌ها نداشت (Arrayet *et al.*, 2002). همچنین، گزارش شده است که افزودن مقدار ۱۵۰ میلی‌گرم عنصر روی به‌ازای هر کیلوگرم از ماده خشک جیره (به‌صورت سولفات روی)، اثر منفی بر رشد گوساله‌های پرواری داشت که علت آن مصرف بیش از حد عنصر روی در جیره آن‌ها گزارش شد (Fagari-Nobijari *et al.*, 2012).

براساس نظر محققین، عنصر روی در تنظیم اشتها در بدن نقش دارد و فقدان یا کمبود آن سبب کاهش اشتها می‌شود. این کاهش اشتها می‌تواند از طریق اثر این عنصر بر بیان ژن‌های کنترل‌کننده اشتها باشد، زیرا مقدار تولید و ترشح هورمون‌ها و آنزیم‌هایی که در کنترل اشتها نقش دارند، تحت تأثیر کمبود روی تغییر می‌یابند. بر این اساس، کاهش اشتها، اولین علامت فقدان روی در بدن می‌باشد (Suttle, 2010). همچنین، کمبود عنصر روی در بدن سبب کاهش تولید و ترشح هورمون رشد و فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1) نیز می‌شود. این دو هورمون در رشد و افزایش وزن بدن تأثیر زیادی دارند (McDonald, 2000). از طرف دیگر، کمبود روی در بدن سبب کاهش متابولیسم کربوهیدرات‌ها (کاهش بیان ژن آنزیم پیروات کیناز) و کاهش ترشح هورمون انسولین در بدن می‌شود. نتیجه نهایی این وضعیت می‌تواند عملکرد حیوان را تحت تأثیر قرار دهد (Kennedy *et al.*, 1998). همچنین گزارش شده است که افزودن مقدار بیش از حد عنصر روی به جیره، از طریق کاهش خوش‌خوراکی، اثر منفی بر مصرف خوراک دارد (Malcolm-Callis *et al.*, 2000). به نظر می‌رسد که در پژوهش حاضر، مقدار عنصر روی موجود در جیره پایه (مقدار ۲۹/۶۸ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره)، تا حدودی نیاز گوساله‌های شیرخوار را تأمین کرده است، به‌طوری‌که افزودن آن به جیره پایه، تا میزان ۶۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از ماده خشک جیره، اثری بر مصرف خوراک آن‌ها نداشت، اما با توجه به اثر مثبت عنصر روی بر بهبود متابولیسم و فرآیند رشد بدن، به نظر می‌رسد که مصرف آن در سطوح بالاتر باعث بهبود عملکرد گوساله‌ها به‌خصوص در تیمار ۵ شده است.

نتایج مربوط به اثر استفاده از سطوح مختلف عنصر روی بر غلظت عنصر روی سرم خون و برخی فراسنجه‌های خونی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین در جدول ۳ ارائه شده است. مطابق جدول فوق، افزودن عنصر روی به جیره سبب افزایش معنی‌دار غلظت آن در خون گوساله‌ها شد ($p<۰/۰۵$). مشابه نتایج ما، علی‌محمدی و همکاران (Alimohamady *et al.*, 2019) گزارش کردند که افزودن مقدار ۳۰ میلی‌گرم عنصر روی به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره، سبب افزایش معنی‌دار مقدار این عنصر در خون بره‌های نر پرواری شد. همچنین دترز و همکاران (Deters *et al.*, 2021) گزارش کردند که افزودن مقدار ۱۵ میلی‌گرم عنصر روی به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره، سطح عنصر روی خون بره‌ها را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. درسلر و همکاران (Dresler *et al.*, 2016) نیز گزارش کردند که استفاده از عنصر روی در جیره گوساله‌های از شیر گرفته شده، سبب افزایش معنی‌دار غلظت عنصر روی در خون آن‌ها شد، امّا برخلاف نتایج تحقیق حاضر، فقاری- نوبیجاری و همکاران (Fagari-Nobijari *et al.*, 2012) گزارش کردند که مصرف ۱۵۰ میلی‌گرم عنصر روی به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره، اثر معنی‌داری بر مقدار این عنصر در خون گوساله‌ها نداشت که علت آن احتمالاً به‌دلیل کافی بودن مقدار عنصر روی در جیره پایه (۴۴/۸ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره) بوده است.

**جدول ۲**- اثر سطوح مختلف عنصر روی بر عملکرد گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

**Table 2-** Effect of different levels of zinc on performance of Holstein suckling calves

| فراسنجه‌ها Parameters | تیمار ۱ Treatment 1 | تیمار ۲ Treatment 2 | تیمار ۳ Treatment 3 | تیمار۴ Treatment 4 | تیمار ۵ Treatment 5 | خطای استاندارد میانگین SEM | سطح خطا p-value |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ماده خشک مصرفی (گرم بر روز) Dry matter intake (g/day) | 1532.83 | 1657.51 | 1649.43 | 1658.03 | 1692.41 | 77.92 | 0.2970 |
| افزایش وزن روزانه (گرم بر روز) Average daily gain (g) | 628.29 b | 712.50 ab | 724.29 ab | 750.36 a | 765.00 a | 43.93 | 0.0413 |
| وزن از شیرگیری (کیلوگرم) Weaning weight (kg) | 87.10 b | 93.00 ab | 94.00 ab | 96.25 a | 97.25 a | 4.00 | 0.0260 |
| ضریب غذایی تبدیل Feed conversion ratio | 2.46 | 2.33 | 2.29 | 2.21 | 2.21 | 0.11 | 0.1774 |

تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار ۱ (شاهد، جیره آغازین حاوی ۲۹/۶۸ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره)، تیمار ۲ (جیره آغازین + ۱۵ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره از طریق سولفات روی، تیمار ۳ (جیره آغازین + ۳۰ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره از طریق سولفات روی)، تیمار ۴ (جیره آغازین + ۴۵ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره از طریق سولفات روی و تیمار ۵ (جیره آغازین + ۶۰ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره از طریق سولفات روی)

حروف متفاوت در هر ردیف، نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار (p< ۰/۰۵) می باشد.

Treatments included: Treatment 1 (Control, basal diet with 29.68 mg Zn/kg DM), treatment 2 (basal diet + 15 mg Zn/kg DM as a zinc sulphate), treatment 3 (basal diet + 30 mg Zn/kg DM as a zinc sulphate), treatment 4 (basal diet + 45 mg Zn/kg DM as a zinc sulphate) and treatment 5 (basal diet + 60 mg Zn/kg DM as a zinc sulphate).

Means with different superscript letters in rows are significantly different (p<0.05).

**جدول ۳**- اثر سطوح مختلف عنصر روی بر غلظت عنصر روی خون و برخی فراسنجه‌های خونی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

**Table 3-** Effect of different levels of zinc on blood zinc concentration and some blood parameters in Holstein suckling calves

| فراسنجه‌ها Parameters | تیمار ۱ Treatment 1 | تیمار ۲ Treatment 2 | تیمار ۳ Treatment 3 | تیمار۴ Treatment 4 | تیمار ۵ Treatment 5 | خطای استاندارد میانگین SEM | سطح خطا p-value |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| عنصر روی (میلی‌گرم بر لیتر) Zinc (mg/l) | 0.93 b | 1.12 a | 1.18 a | 1.17 a | 1.17 a | 0.10 | <0001 |
| گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) Glucose (mg/dl) | 81.92 | 83.83 | 75.42 | 78.00 | 78.75 | 4.62 | 0.7245 |
| اوره (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) Urea (mg/dl) | 26.67 | 22.48 | 23.17 | 25.83 | 22.98 | 2.93 | 0.8638 |
| آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر) Albumin (g/dl) | 3.22 | 3.18 | 3.22 | 3.18 | 3.21 | 0.09 | 0.9913 |
| پروتئین کل (گرم بر دسی‌لیتر) Total protein (g/dl) | 6.07 | 5.67 | 5.71 | 5.85 | 5.92 | 0.15 | 0.3254 |

تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار ۱ (شاهد، جیره آغازین حاوی ۲۹/۶۸ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره)، تیمار ۲ (جیره آغازین + ۱۵ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره از طریق سولفات روی، تیمار ۳ (جیره آغازین + ۳۰ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره از طریق سولفات روی)، تیمار ۴ (جیره آغازین + ۴۵ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره از طریق سولفات روی و تیمار ۵ (جیره آغازین + ۶۰ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره از طریق سولفات روی)

حروف متفاوت در هر ردیف، نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار (p<۰/۰۵) می باشد.

Treatments included: Treatment 1 (Control, basal diet with 29.68 mg Zn/kg DM), treatment 2 (basal diet + 15 mg Zn/kg DM as a zinc sulphate), treatment 3 (basal diet + 30 mg Zn/kg DM as a zinc sulphate), treatment 4 (basal diet + 45 mg Zn/kg DM as a zinc sulphate) and treatment 5 (basal diet + 60 mg Zn/kg DM as a zinc sulphate).

Means with different superscript letters in rows are significantly different (p<0.05).

گزارش شده است که در اکثر مواقع، غلظت عنصر روی در خون به‌عنوان یک شاخص از وضعیت این عنصر در بدن مورد بررسی قرار می‌گیرد، زیرا افزودن عنصر روی به جیره سبب افزایش سطح آن در خون می‌شود، به‌خصوص در حیواناتی که با جیره دارای کمبود روی تغذیه شده باشند (Suttle, 2010). در آزمایش حاضر، مقدار عنصر روی در خون گوساله‌ها در تیمارهای آزمایشی در محدود ۰/۹۳۱ – ۱/۱۸۴ میلی‌گرم در لیتر بود. لازم به ذکر است که سطح طبیعی آن در خون گوساله‌ها و گاوها در محدوه ۰/۷ – ۱/۳ میلی‌گرم بر لیتر

می‌باشد (NRC, 2001) و این نشان داد که گوساله‌ها از نظر این عنصر دارای کمبود نبودند. همچنین، از آن‌جایی‌که بدن حیوان نمی‌تواند مقدار زیادی از عنصر روی را در خود ذخیره کند، لذا نیاز است که این عنصر به‌طور مداوم از طریق جیره غذایی تأمین شود (Pal *et al.*, 2010).

مطابق جدول ۳، افزودن عنصر روی به جیره اثر معنی‌داری بر مقدار گلوکز، اوره، آلبومین و کل پروتئین خون گوساله‌ها نداشت. در تأیید نتایج ما، سیف‌دواتی و همکاران (Seifdavati *et al.*, 2018) گزارش کردند که استفاده از مقدار ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم نانو اکسید روی به‌ازای هر کیلوگرم از ماده خشک جیره در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین، اثری بر میزان فراسنجه‌های خون نداشت. عزیز زاده و همکاران (Azizzadeh *et al.*, 2005) نیز گزارش کردند که افزودن مقدار ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم عنصر روی به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره در گوساله‌های شیرخوار به‌مدت ۱۴ روز، اثر معنی‌داری بر مقدار گلوکز، آلبومین و کل پروتئین خون آن‌ها نداشت. برخلاف نتایج فوق، فودا و همکاران (Fouda *et al.*, 2011) بیان کردند که افزودن اکسیدروی به جیره گوسفندانی که از قبل دچار علائم کمبود روی بودند، سبب افزایش معنی‌دار مقدار آلبومین و پروتئین کل سرم خون آن‌ها شد. از آن‌جایی‌که ارتباط قوی بین عنصر روی و آلبومین سرم خون وجود دارد و بخش زیادی از عنصر روی در خون از طریق آلبومین جابه‌جا می‌شود، لذا افزایش مصرف عنصر روی در جیره سبب افزایش سطح آلبومین خون می‌شود (Suttle, 2010). همچنین، ارتباط معنی‌داری بین عنصر روی و پروتئین کل سرم خون وجود دارد و در شرایط مواجهه با کمبود روی، سطح پروتئین کل سرم خون کاهش می‌یابد و لذا افزایش سطح روی در جیره سبب افزایش مقدار پروتئین کل سرم خون می‌شود (Choudhary, 2013).

عنصر روی نقش اصلی در کاهش سطح گلوکز سرم خون دارد، زیرا این عنصر اثر مثبت بر ترشح و رهاسازی هورمون انسولین داشته و همچنین بر فعالیت برخی از آنزیم‌های مسیر گلیکولیز نیز تأثیرگذار است (Zaboli, 2013). همچنین، افزایش عنصر روی به جیره، تجزیه پروتئین در شکمبه را کاهش داده و سبب افزایش فرار پروتئین از شکمبه می‌شود، لذا عنصر روی بر متابولیسم پروتئین در بدن اثرگذار است (Kincaid *et al.*, 1997). بررسی میزان اوره و پروتئین‌های سرم خون نیز یکی از راه‌های بررسی متابولیسم روی در بدن می‌باشد. همچنین، ارتباط زیادی بین عنصر روی و آلبومین خون وجود دارد، زیرا ۶۶ درصد جابجایی عنصر روی در خون از طریق آلبومین صورت می‌گیرد. به همین دلیل، بررسی مقدار فراسنجه‌های فوق در خون می‌تواند اثرات احتمالی مصرف عنصر روی در بدن را نشان دهد (Suttle, 2010).

نتایج مربوط به اثر استفاده از سطوح مختلف عنصر روی بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در گوساله‌ها در جدول ۴ ارائه شده است. مطابق جدول ذیل، افزودن عنصر روی به جیره، قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را تحت تأثیر قرار نداد.

**جدول ٤**– اثر سطوح مختلف عنصر روی بر درصد قابلیت هضم در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

**Table 4-** Effect of different levels of zinc on digestibility percentage in Holstein suckling calves

| فراسنجه‌ها<br>Parameters | تیمار ۱<br>Treatment 1 | تیمار ۲<br>Treatment 2 | تیمار ۳<br>Treatment 3 | تیمار۴<br>Treatment 4 | تیمار ۵<br>Treatment 5 | خطای استاندارد میانگین<br>SEM | سطح خطا<br>p-value |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| قابلیت هضم ماده خشک<br>Dry matter digestibility | 76.75 | 75.45 | 76.82 | 77.30 | 77.90 | 4.87 | 0.8103 |
| قابلیت هضم ماده آلی<br>Organic matter digestibility | 76.74 | 78.26 | 77.69 | 77.67 | 78.64 | 5.15 | 0.8863 |

تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار ۱ (شاهد، جیره آغازین حاوی ۲۹/۶۸ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره)، تیمار ۲ (جیره آغازین + ۱۵ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره از طریق سولفات روی، تیمار ۳ (جیره آغازین + ۳۰ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره از طریق سولفات روی)، تیمار ۴ (جیره آغازین + ۴۵ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره از طریق سولفات روی و تیمار ۵ (جیره آغازین + ۶۰ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره از طریق سولفات روی)

حروف متفاوت در هر ردیف، نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار (p<۰/۰۵) می باشد.

Treatments included: Treatment 1 (Control, basal diet with 29.68 mg Zn/kg DM), treatment 2 (basal diet + 15 mg Zn/kg DM as a zinc sulphate), treatment 3 (basal diet + 30 mg Zn/kg DM as a zinc sulphate), treatment 4 (basal diet + 45 mg Zn/kg DM as a zinc sulphate) and treatment 5 (basal diet + 60 mg Zn/kg DM as a zinc sulphate).

Means with different superscript letters in rows are significantly different (p<0.05).

مشابه نتایج ما علی‌محمدی و همکاران (Alimohamady *et al.*, 2019) گزارش کردند که افزودن مقدار ۳۰ میلی‌گرم عنصر روی به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره بره‌های نر پرواری، اثری بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی نداشت. همچنین، ماندال و

همکاران (Mandal *et al.*, 2007) گزارش کردند که افزودن مقدار ۳۵ میلی‌گرم عنصر روی به جیره گوساله‌های در حال رشد، اثری بر قابلیت هضم ماده خشک جیره نداشت. ملاکی و همکاران (Mallaki *et al.*, 2015) نیز نتایج مشابهی را برای قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در بره‌های در حال رشد زندی گزارش کردند. به نظر می‌رسد، باتوجه به اینکه مقدار عنصر روی موجود در جیره پایه تا حدودی نیاز گوساله‌های شیرخوار را تأمین کرده است، لذا افزودن آن به جیره پایه، اثری بر قابلیت هضم نداشت.

نتایج مربوط به تعیین نیاز عنصر روی در گوساله‌های شیرخوار براساس مدل خط شکسته ساده در جدول ۵ ارائه شده است. مطابق جدول فوق، براساس برازش مدل خط شکسته ساده، تابعیت بین نیاز عنصر روی با صفات ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه معنی‌دار نبود، امّا تابعیت نیاز عنصر روی با صفات وزن از شیرگیری و ضریب تبدیل غذایی معنی‌دار بود ($p<$ ۰/۰۵). بر این اساس، میزان عنصر روی مورد نیاز گوساله‌ها برای صفات وزن از شیرگیری و ضریب تبدیل غذایی به‌ترتیب ۷۶/۴۳ و ۷۴/۸۷ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از ماده خشک جیره به‌دست آمد. به عبارت دیگر، براساس نتایج برازش مدل خط شکسته ساده، مصرف عنصر روی تا ۷۶/۴۳ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از ماده خشک جیره، وزن از شیرگیری گوساله‌ها را تا ۹۷/۲۵ کیلوگرم افزایش داد، امّا مصرف بیشتر از مقدار فوق (۷۶/۴۳ میلی‌گرم)، تأثیری بر وزن از شیرگیری آن‌ها نداشت. همچنین، مصرف مقدار ۷۴/۸۷ میلی‌گرم عنصر روی به‌ازای هر کیلوگرم از ماده خشک جیره سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی به ۲/۲۱ شد، امّا مصرف بیشتر از آن، اثری بر ضریب تبدیل غذایی در گوساله‌ها نداشت (شکل ۲ و شکل ۳).

اکثر محققین اعلام کرده‌اند که استفاده از مدل خط شکسته، بهترین روش برای تعیین نیاز مواد مغذی در دام می‌باشد و این روش دارای کمترین خطا بوده و می‌تواند به‌عنوان یک مدل مناسب برای تعیین نیاز مواد مغذی در حیوانات مختلف استفاده شود (Pesti *et al.*, 2009). در یک مطالعه، اثر سطوح مختلف عنصر روی (سطوح ۸ تا ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک جیره) بر عملکرد گوساله‌های شیرخوار براون‌سوئیس که مبتلا به کمبود روی بودند، براساس مدل خط شکسته ساده مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که با افزایش سطح عنصر روی از ۸ تا ۱۰ میلی‌گرم، ماده خشک مصرفی گوساله‌ها از ۱/۶۰ کیلوگرم در روز به ۱/۸۳ کیلوگرم در روز افزایش یافت و پس از آن ثابت ماند. همچنین، با افزایش سطح عنصر روی از ۸ تا ۱۸ میلی‌گرم، مقدار افزایش وزن روزانه گوساله‌ها از ۴۸۷ گرم در روز به ۶۴۰ گرم در روز و ضریب تبدیل غذایی نیز از ۳/۳۷ به ۲/۹۲ تغییر کرد و پس از آن ثابت ماند (Kirchgessner and Heindl, 1993). در یک تحقیق دیگر، با استفاده از مدل خط شکسته ساده مشخص شد که مقدار عنصر مورد نیاز برای صفات افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی در بلدرچین‌های ژاپنی ۲۰- ۱۰ روزه، به‌ترتیب ۸۹/۳۵ و ۶۸/۹۳ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم خوراک بود (Abbasi *et al.*, 2017).

به نظر می‌رسد که پاسخ عملکردی گوساله‌ها به مقدار عنصر روی موجود در جیره، بستگی به سطح عنصر روی موجود در جیره پایه، مقدار سطح روی مکمل شده، تفاوت‌های فردی و نیز صفات اندازه‌گیری شده داشته باشد. براساس نظر محققین، مقدار مصرف خوراک، یک شاخص مهم برای برآورد نیاز عنصر روی در حیوانات می‌باشد، زیرا کمبود عنصر روی در بدن سبب کاهش مصرف خوراک و به دنبال آن کاهش عملکرد در دام می‌گردد (Kirchgessner and Heindl, 1993). همچنین، تأمین نیاز بهینه یک ماده مغذی در دام، زمانی حاصل می‌شود که دام دارای سلامت کامل و حداکثر عملکرد باشد. به عبارت دیگر، سطح ماده مغذی مورد آزمایش در جیره (عنصر روی)، در شرایطی به‌عنوان مقدار بهینه و نیاز تأمین شده در نظر گرفته می‌شود که منجر به حداکثر عملکرد در دام گردد (Kirchgessner and Heindl, 1993).

نتایج مربوط به تعیین نیاز عنصر روی در گوساله‌های شیرخوار براساس مدل خط شکسته درجه دو در جدول ۶ ارائه شده است. مطابق جدول فوق و براساس برازش مدل خط شکسته درجه دو، تابعیت بین نیاز عنصر روی با ماده خشک مصرفی معنی‌دار نبود، امّا تابعیت بین نیاز عنصر روی با سایر صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود ($p<$۰/۰۵). بر این اساس، مقدار عنصر روی مورد نیاز برای صفات افزایش وزن روزانه، وزن از شیرگیری و ضریب تبدیل غذایی، به‌ترتیب ۸۳/۹۶، ۸۹/۱۸ و ۸۹/۵۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک جیره محاسبه شد. به عبارت دیگر، مصرف عنصر روی تا سطح ۸۳/۹۶ میلی‌گرم، افزایش وزن روزانه گوساله‌ها را تا ۷۵۹/۲ گرم در روز و مصرف عنصر روی تا سطح ۸۹/۱۸ میلی‌گرم، وزن از شیرگیری گوساله‌ها را تا ۹۷/۰۱ کیلوگرم افزایش داد. ضریب تبدیل غذایی گوساله‌ها نیز با مصرف ۸۹/۵۳ میلی‌گرم عنصر روی، تا ۲/۲۱ کاهش یافت و مصرف بیشتر از این مقدار، تأثیری بر آن نداشت، لذا براساس مدل خط شکسته درجه دو و با در نظر گرفتن صفات عملکردی اندازه‌گیری شده، مقدار ۸۹/۵۳ – ۸۳/۹۶ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره، به‌عنوان مقدار بهینه و نیاز برآورد شده در گوساله‌های شیرخوار در نظر گرفته شد (شکل‌های ۱، ۲ و ۳).

**جدول ۵**- تعیین نیاز عنصر روی در گوساله‌های شیرخوار و پارامترهای برآورد شده براساس مدل خط شکسته ساده

**Table 5-** Determination of zinc requirement in suckling calves and the estimated parameters based on the straight broken line

| صفات اندازه‌گیری شده<br>Measured traits | نیاز عنصر روی (میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک)<br>Zinc required (mg/kg DM) | پارامترهای برآورد شده توسط مدل*<br>Estimated parameters of the model*<br>R | U | L | سطح خطا<br>p-value |
|---|---|---|---|---|---|
| ماده خشک مصرفی (گرم بر روز)<br>Dry matter intake (g/day) | 78.72 | 78.72 | -2.62 | 1692.40 | 0.1620 |
| افزایش وزن روزانه (گرم بر روز)<br>Average daily gain (g) | 76.01 | 76.01 | -2.60. | 765.00 | 0.0896 |
| وزن از شیرگیری (کیلوگرم)<br>Weaning weight (kg) | 76.43 | 76.43 | -0.19 | 97.25 | 0.0314 |
| ضریب غذایی تبدیل<br>Feed conversion ratio | 74.87 | 74.87 | 0.01 | 2.21 | 0.0385 |

* مدل خط شکسته ساده به‌صورت $Y = L + U(R - X)$ بود که در آن، Y: پارامتر عملکرد مشاهده شده یا پاسخ گوساله، X: غلظت عنصر روی در جیره، R: طول نقطه شکست یا مقدار نیاز برآورد شده گوساله‌ها به عنصر روی، U: شیب خط قبل از نقطه شکست و L: عرض نقطه شکسته منحنی یا حداکثر عملکرد پیش‌بینی شده

* The straight broken line model was $Y = L + U(R - X)$, where Y: observed performance parameter or response of calves, X: the concentration of zinc in the diet, R: the abscissa of the breakpoint in the curve or the estimated zinc requirement of calves, U: the slope of the line before the breakpoint and L: the ordinate of the breakpoint in the curve or the maximum predicted response of calves.

لازم به ذکر است که تنها یک تحقیق در زمینه تعیین نیاز عنصر روی با استفاده از مدل خط شکسته درجه دو که مربوط به مرغ اجداد گوشتی بود، در دسترس ما قرار گرفت (Mayer *et al.*, 2019). ایشان سطوح ۱۸/۷ تا ۷۰/۶ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم از خوراک در مرغ اجداد گوشتی را به‌منظور تعیین نیاز عنصر روی براساس صفات عملکردی مربوط به تخم‌مرغ مورد بررسی قرار دادند. در مطالعه ایشان، مقدار نیاز بهینه عنصر روی براساس صفات اندازه‌گیری شده و با استفاده از مدل خط شکسته درجه دو، به‌طور میانگین ۷۲/۲۸ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم از خوراک به‌دست آمد (Mayer *et al.*, 2019).

**جدول ٦**- تعیین نیاز عنصر روی در گوساله‌های شیرخوار و پارامترهای برآورد شده براساس مدل خط شکسته درجه دو

**Table 6-** Determination of zinc requirement in suckling calves and the estimated parameters based on quadratic broken line model

| صفات اندازه‌گیری شده<br>Measured traits | نیاز عنصر روی (میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک)<br>Zinc required (mg/kg DM) | پارامترهای برآورد شده توسط مدل*<br>Estimated parameters of the model*<br>R | U | L | سطح خطا<br>p-value |
|---|---|---|---|---|---|
| ماده خشک مصرفی (گرم بر روز)<br>Dry matter intake (g/day) | 49.48 | 49.48 | 0.38 | 1665.30 | 0.0896 |
| افزایش وزن روزانه (گرم بر روز)<br>Average daily gain (g) | 83.96 | 83.96 | -0.04 | 759.2 | 0.0070 |
| وزن از شیرگیری (کیلوگرم)<br>Weaning weight (kg) | 89.18 | 89.18 | -0.003 | 97.01 | 0.0261 |
| ضریب غذایی تبدیل<br>Feed conversion ratio | 89.53 | 89.53 | $0.69\times10^{-4}$ | 2.21 | 0.0375 |

* مدل خط شکسته درجه دو به‌صورت $Y = L + U(R - X)^2$ بود که در آن، Y: پارامتر عملکرد مشاهده شده یا پاسخ گوساله، X: غلظت عنصر روی در جیره، R: طول نقطه شکست یا مقدار نیاز برآورد شده گوساله‌ها به عنصر روی، U: شیب خط قبل از نقطه شکست و L: عرض نقطه شکسته منحنی یا حداکثر عملکرد پیش‌بینی شده

* The quadratic broken line model was $Y = L + U(R - X)^2$, where Y = observed performance parameter or response of calves, X= the concentration of zinc in the diet, R= the abscissa of the breakpoint in the curve or the estimated zinc requirement of calves, U= the slope of the line before the breakpoint and L= the ordinate of the breakpoint in the curve or the maximum predicted response of calves.

براساس نظر محققین، مقدار نیاز ماده مغذی برآورد شده براساس مدل خط شکسته درجه دو، دقیق‌تر و مقدار عددی آن هم بیشتر از مقدار برآورد شده براساس مدل خط شکسته ساده می‌باشد (Robbins *et al.*, 2006). در تحقیق حاضر نیز مقدار عددی عنصر روی برآورد شده به‌وسیله خط شکسته درجه دو از مقدار برآورد شده به‌وسیله خط شکسته ساده از نظر عددی بیشتر بود که با نتایج سایر محققین (Pesti *et al.*, 2009; Robbins *et al.*, 2006) مطابقت دارد.

نتایج مربوط به تعیین نیاز عنصر روی در گوساله‌های شیرخوار براساس مدل تابعیت درجه دو در جدول ۷ ارائه شده است. مطابق جدول فوق و براساس برازش مدل تابعیت درجه دو، تابعیت بین نیاز عنصر روی با ماده خشک مصرفی معنی‌دار نبود، امّا تابعیت بین نیاز عنصر روی با سایر صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود ($p< ۰/۰۵$). بر این اساس، مقدار عنصر روی مورد نیاز برای صفات افزایش وزن روزانه، وزن از شیرگیری و ضریب تبدیل غذایی، به‌ترتیب ۸۶/۹۹، ۷۹/۵۰ و ۸۶/۹۹ میلی‌گرم عنصر روی به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره محاسبه شد. به‌عبارت دیگر، مصرف عنصر روی تا سطوح اشاره شده فوق، بیشترین عملکرد را در گوساله‌ها در پی داشت. لذا با در نظر گرفتن صفات عملکردی اندازه‌گیری شده و براساس برازش مدل تابعیت درجه دو، مقدار ۸۶/۹۹–۷۹/۵۰ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره، به‌عنوان مقدار بهینه و نیاز برآورد شده در گوساله‌های شیرخوار در نظر گرفته شد (شکل‌های ۱، ۲ و ۳).

در مطالعه‌ای که با استفاده از سطوح مختلف عنصر روی (سطوح ۲۰ تا ۸۰ میلی‌گرم عنصر روی در هر کیلوگرم ماده خشک جیره) بر عملکرد بره‌های نر مهربان و براساس مدل تابعیت درجه دو انجام شد، مشخص گردید که تابعیت بین نیاز عنصر روی با صفات اندازه‌گیری شده (ماده خشک مصرفی، افزایش وزن روزانه، وزن پایان پروار و ضریب تبدیل غذایی) در بره‌ها معنی‌دار بود (Mehradkia, 2019). براساس نتایج تحقیق فوق، مقدار عنصر روی مورد نیاز بره‌های نر مهربان برای صفات اندازه‌گیری شده فوق به‌ترتیب ۶۸/۶۱، ۸۱/۳۷، ۷۷/۲۵ و ۸۸/۰۵ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از ماده خشک خوراک به‌دست آمد (Mehradkia, 2019). همچنین گزارش شده است که عنصر روی مورد نیاز برای صفات تولید تخم‌مرغ و ضریب تبدیل غذایی در اردک‌های تخم‌گذار ۴۰–۲۱ هفته، با استفاده از مدل تابعیت درجه دو، به‌ترتیب ۶۵/۴ و ۶۸/۶ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم خوراک بود (Zhang *et al.*, 2020). در مطالعه دیگری که به‌منظور تعیین نیاز عنصر روی در جوجه‌های گوشتی در سن صفر تا ۲۱ روزگی انجام گرفت، مشخص شد که مقدار عنصر روی مورد نیاز این جوجه‌ها براساس صفات عملکردی و مدل تابعیت درجه دو، به‌طور میانگین ۸۴ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم خوراک بود (Huang *et al.*, 2007).

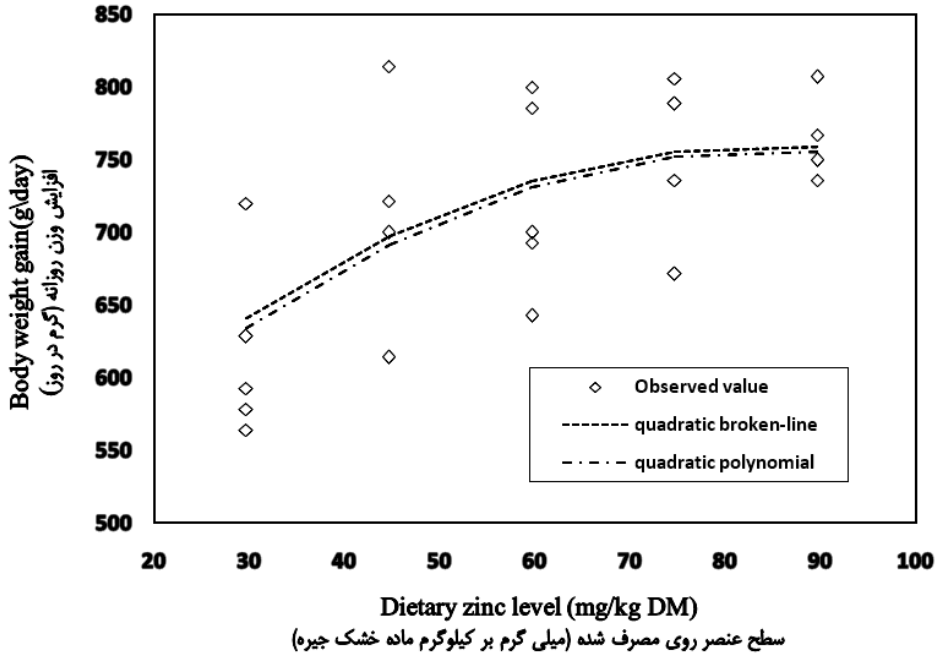
**جدول ۷**- تعیین نیاز عنصر روی در گوساله‌های شیرخوار و پارامترهای برآورد شده براساس مدل تابعیت درجه دو

**Table 7-** Determination of zinc requirement in suckling calves and the estimated parameters based on the quadratic polynomial model

| صفات اندازه‌گیری شده<br>Measured traits | نیاز عنصر روی (میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک)<br>Zinc required (mg/kg DM) | پارامترهای برآورد شده توسط مدل*<br>Estimated parameters of the model* | | | حداکثر عملکرد پیش‌بینی شده<br>Maximum predicted performance | سطح خطا<br>p-value |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | a | b | c | | |
| ماده خشک مصرفی (گرم بر روز)<br>Dry matter intake (g/day) | 79.85 | 1342.80 | 8.46 | -0.05 | 1700.66 | 0.1201 |
| افزایش وزن روزانه (گرم بر روز)<br>Average daily gain (gr) | 86.99 | 468.00 | 6.79 | -0.04 | 756.15 | 0.0070 |
| وزن از شیرگیری (کیلوگرم)<br>Weaning weight (kg) | 79.50 | 75.70 | 0.48 | -0.003 | 94.90 | 0.0261 |
| ضریب غذایی تبدیل<br>Feed conversion ratio | 86.99 | 2.76 | -0.01 | $0.69\times10^{-4}$ | 2.40 | 0.0375 |

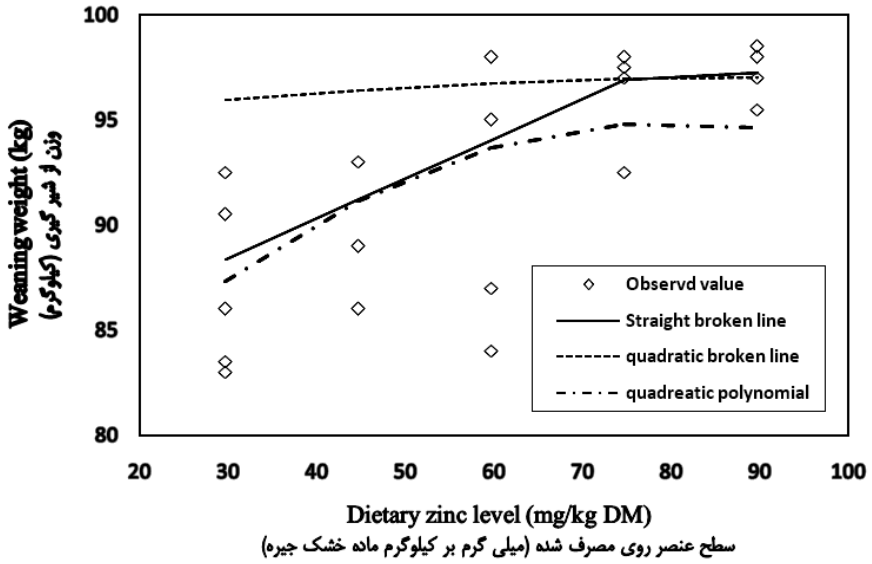
* مدل تابعیت درجه دو به‌صورت $Y = a + bX + cX^2$ بود که در آن Y: متغیر وابسته (پارامتر عملکرد مشاهده شده یا پاسخ گوساله)، X: غلظت عنصر روی در جیره، پارامترهای a، b، c: پارامترهای برآورد شده (ثابت های مدل) بودند.

* The quadratic regression model was $Y = a + bX + cX^2$ , where Y: dependent variable (performance parameter or response of calves), X: zinc concentration in the diet and a, b and c: estimated parameters of the model (constant models).



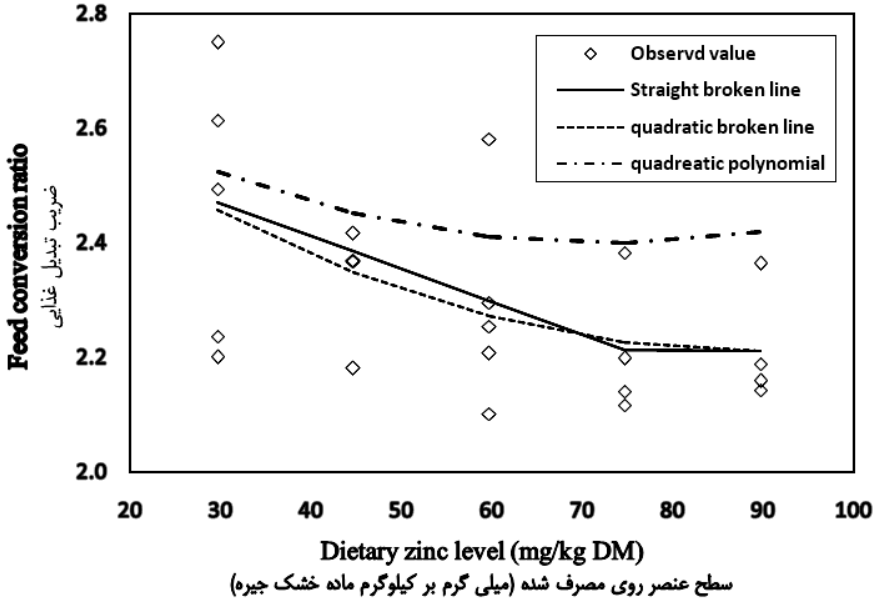

**شکل ۱**– تابعیت سطح عنصر روی مصرف شده و افزایش وزن روزانه در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین براساس برازش مدل‌های خط شکسته درجه دو و تابعیت درجه دو

**Figure 1-** Dependence of dietary zinc level and body weight gain in Holstein suckling calves based on fitting by quadratic broken line and quadratic polynomial models




**شکل ۲**– تابعیت سطح عنصر روی مصرف شده و وزن از شیرگیری گوساله‌های شیرخوار هلشتاین براساس برازش مدل‌های خط شکسته ساده، خط شکسته درجه دو و تابعیت درجه دو

**Figure 2-** Dependence of dietary zinc level and weaning weight in Holstein suckling calves based on fitting by straight broken line, quadratic broken line and quadratic polynomial models




**شکل ۳**- تابعیت سطح عنصر روی مصرف شده و ضریب تبدیل غذایی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین براساس برازش مدل‌های خط شکسته ساده، خط شکسته درجه دو و تابعیت درجه دو

**Figure 3-** Dependence of dietary zinc level and feed conversion ratio in Holstein suckling calves based on fitting by straight broken line, quadratic broken line and quadratic polynomial models

## نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، نتایج نشان داد که افزودن عنصر روی به جیره سبب افزایش وزن و وزن از شیرگیری گوساله‌ها و غلظت عنصر روی در خون آن‌ها شد، امّا اثری بر قابلیت هضم نداشت. براساس نتایج مدل-های برازش شده، مشخص گردید که نیاز عنصر روی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین (مقدار بهینه آن در جیره) در محدوده ۸۹/۵۳-۷۴/۸۷ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک جیره بود و وجود این مقدار روی در جیره سبب بهترین عملکرد در آن‌ها شد.

## سپاسگزاری

این پژوهش در دانشگاه بوعلی سینا انجام شد که بدین‌وسیله، مراتب تشکّر و قدردانی خود را از مسؤولین محترم آن دانشگاه اعلام می‌نماییم.

## References

1. Abbasi, M., Dastar, B., Afzali, N., Shams Shargh, M., & Hashemi, S. R. (2017). Zinc requirements of Japanese quails (*Coturnix coturnix* japonica) by assessing dose- evaluating response of zinc oxide nano-particle supplementation. *Poultry Science Journal*, (2), 131-143. http://dx.doi.org/10.22069/psj.2017.13227.1262
2. Aliarabi, H., Fadayifar, A., Tabatabaei, M. M., Zamani, P., Bahari, A. A., Farahavar, A., & Dezfoulian, A. H. (2015). Effect of Zinc Source on Hematological, Metabolic Parameters and Mineral Balance in Lambs. *Biological Trace Element Research*, 168(1), 82-90.,http://dx.doi.org/10.1007/s12011-015-0345-0
3. Alimohamady, R., Aliarabi, H., Bruckmaier, R. M., & Christensen. R. G. (2019). Effect of different sources of supplemental zinc on performance, nutrient digestibility, and antioxidant enzyme activities in lambs. *Biological Trace Element Research*, 189(1), 75-84. http://dx.doi.org/10.1007/s12011-018-1448-1
4. Arrayet, J. L., Oberbauer, A. M., Famula, T. R., Garnett, I., Oltjen, J. W., Imhoof, J., Kehrli, M. E., & Graham, T. W. (2002). Growth of Holstein calves from birth to 90 days: The influence of dietary zinc and BLAD status. *Journal of Animal Science*, 80, 545-552. http://dx.doi.org/10.2527/2002.803545x .
5. Azizzadeh, M., Mohri, M., & Seifi, H. A. (2005). Effect of oral zinc supplementation on hematology, serum biochemistry, performance, and health in neonatal dairy calves. *Comparative Clinical Pathology*, 14, 67–71. http://dx.doi.org/10.1007/s00580-005-0559-1
6. Choudhary, D. (2013). Influence of dietary zinc deficiency on serum zinc and protein. Indian *Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 3(1), 143–148. CABI Record Number: 20133416914

7. Deters, E. L., Van-Der-Wal, A. J., Van-Valin, K. R., Beenken, A. M., Heiderscheit, K. J., Hochmuth, K. G., Jackson, T. D., Messersmith, E. M., McGill, J. L., & Hansen, S. L. (2021). Effect of bis-glycinate bound zinc or zinc sulfate on zinc metabolism in growing lambs. *Journal of Animal Science*, 99(9), 1–9. https://doi.org/10.1093/jas/skab252
8. Dresler, S., Illek, J., & Zeman, L. (2016). Effects of organic zinc supplementation in weaned calves. *Acta Veterinaria Brno*, 85, 049–054. http://dx.doi.org/10.2754/avb201685010049
9. Fagari-Nobijari, H., Amanlou, H., & Dehghan-Banadaky, M. (2012). Effects of zinc supplementation on growth performance, blood metabolites and lameness in young Holstein bulls. *Journal of Applied Animal Research*, *40*(3), 222-228. http://dx.doi.org/10.1080/09712119.2012.662776
10. Fouda, T. A., Youssef M. A., & El-Deeb, W. M. (2011). Correlation between zinc deficiency and immune status of sheep. *Veterinary Research*, 4(2), 50-55. http://dx.doi.org/10.3923/vr.2011.50.55
11. Huang, Y. L., Lu, L., Luo, X. G., & Liu, B. (2007). An optimal dietary zinc level of broiler chicks fed a corn-soybean meal diet. *Poultry Science*, 86, 2582–2589. http://dx.doi.org/10.3382/ps.2007-00088
12. Kaya, N., Utlu, N., Uyanik, B. S., & Ozcan, A. (1998). The serum zinc and copper values of the Morkaraman and Tuj sheep grown up in the pasture conditions in and around Kars. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 22, 399-402.
13. Kennedy, K. J., Rains, T. M., & Shay, N. F. (1998). Zinc deficiency changes preferred macronutrient intake in subpopulations of Sprague-Dawley outbred rats and reduces hepatic pyruvate kinase gene expression. *Journal of Nutrition*, 128, 43–49. http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1093/jn/128.1.43
14. Kincaid, R. L., Chew, B. P., & Cronrath, J. D. (1997). Zinc oxide and amino acids as sources of dietary zinc for calves: Effects on uptake and immunity. *Journal of Dairy Science*, 80, 1381-1388. http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76067-3
15. Kirchgessner, M., & Heindl, U. (1993). Investigations about the determination of' the zinc requirement of calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 70, 38-52. https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.1993.tb00304.x
16. MacDonald, R. S. (2000). The role of zinc in growth and cell proliferation. *Journal of Nutrition*, 130, 1500-1508. https://doi.org/10.1093/jn/130.5.1500S
17. Malakouti Rad, M. J., Saleh Rastin, N., & Afshari, M. (2002). Forgotten of zinc deficiency within the life cycle of plants, animals and human. Publications Senate, Tehran, Iran. 310 pp. (In Persian).
18. Malcolm-Callis, K. J., Duff, G. C., Gunter, S. A., Kegley, E. B., & Vermeire, D. A. (2000). Effects ofsupplemental zinc concentration and source on performance, carcass characteristics, and serum values infinishing beef steers. *Journal of Animal Science*, 78, 2801-2808. http://dx.doi.org/10.2527/2000.78112801x
19. Mallaki, M., Norouzian, M. A., & Khadem, A. A. (2015). Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization and plasma zinc status in lambs. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39, 75-80. https://doi.org/10.3906/vet-1405-79
20. Mandal, G. P., Dass, R. S., Isore, D. P., Garg, A. K., & Ram, G. C. (2007). Effect of zinc supplementation from two sources on growth, nutrient utilization and immune response in male crossbred cattle (Bos indicus×Bos taurus) bulls. *Animal Feed Science and Thchnology*, 38, 1-12. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.09.014
21. Mayer, A. N., Vieira, S. L., Berwanger, E., Angel, C. R., Kindlein, L., Franca, I., & Noetzold, T. L. (2019). Zinc requirements of broiler breeder hens. *Poultry Science*, *98*, 1288–1301.
22. McDowell, L.R. (1992). Minerals in Animal and Human Nutrition. Academic Press Inc., San Diego, CA, USA, pp. 265–293.
23. Mehradkia, M. (2019). Effect of zinc supplement on performance of Mehraban male lambs and determination of their requirements using regression models. Thesis Submitted in Field of Ruminants Nutrition, Department of Animal Science, Bu-Ali Sina University. (In Persian)
24. National Research Council. (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. The National Academies Press, Washington, D.C., USA.
25. National Research Council. (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants. National Academy Press, Washington, D.C., UAS.
26. National Research Council. (2021). Consensus study report, Nutrient requirements of dairy cattle. Eighth Revised Edition, The National Academies Press, Washington, D.C., USA.
27. Pal, D. T., Gowda, N. K. S., Prasad, C. S., Amarnath, R., Bharadwaj, U., SureshBabu, G., & Sampath, K. T. (2010). Effect of copper and zinc-methionine supplementation on bioavailability, mineral status and tissue concentrations of copper and zinc in ewes. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24, 89–94. http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2009.11.007.
28. Pesti, G. M., Vedenov, D., Cason, J. A., & Billard, L. (2009). A comparison of methods to estimate nutritional requirements from experimental data. *British Poultry Science*, *50*(1), 16-32. http://dx.doi.org/10.1080/00071660802530639
29. Prakash Pal, P., Manl, V., Hassan Mir, S., Sharma, A., & Sarka, R. S. (2021). Comparative effect of zinc supplementation by hydroxy and inorganic sources on nutrient utilisation, mineral balance, growth performance and

growth biomarkers in pre-ruminant calves. *Archives of Animal Nutrition*, *75*(6), 435-449. http://dx.doi.org/10.1080/1745039X.2021.2007692

30. Robbins, K. R., Saxton, A. M., & Southern, L. L. (2006). Estimation of nutrient requirements using broken-line regression analysis. *Journal of Animal Science*, 84, 155-165. http://dx.doi.org/10.2527/2006.8413_supple155x
31. SAS. (1999). Statistical Analysis System, Statistical Methods. SAS Institute Inc., Cary, NC.
32. Seifdavati, J., Jahan-Ara, M., Seyfzadeh, S., Abdi-Benamar, H., Mirzaie-Aghjeh-Gheshlagh, F., Seyedsharifi, R., & Vahedi, V. (2018). The Effects of zinc oxide nano particles on growth performance and blood metabolites and some serum enzymes in Holstein suckling calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *10*(1), 23-33. (In Persian). http://dx.doi.org/10.22067/IJASR.V10I1.62376
33. Suttle, N. F. (2010). Mineral nutrition of livestock. 4th ed. CABI Publishing, New York.
34. Van Keulen, J., & Young, B. A. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44(2), 282-287.
35. Wright, C. L., & Spears, J. W. (2004). Effect of zinc source and dietary level on zinc metabolism in Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 87, 1085–1091. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73254-3
36. Zaboli, K. (2013). Effect of nano zinc oxide and zinc oxid on some blood parameters and performance of Markhoz male kids. Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in Animal Nutrition. Department of Animal Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. (In Persian).
37. Zhang, Y. N., Wang, S., Li, K. C., Ruan, D., Chen, W., Xia, W. G., Wang, S. L., Abouelezz, K. F. M., & Zheng, C. T. (2020). Estimation of dietary zinc requirement for laying duck breeders: Effects on productive and reproductive performance, egg quality, tibial characteristics, plasma biochemical and antioxidant indices, and zinc deposition. *Poultry Science*, 99, 454–462. https://doi.org/10.3382/ps/pez530

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

**Research Article**
**Vol. 16, No.3, 2024, p. 347-365**

# Effect of Chickpea Straw Silage Processing with Urea, Molasses and Cellulase Enzyme on Chemical Composition, Gas Production, Ruminal and intestinal Digestibility

**Zahra Abbasinavand[1], Jamal Seifdavati[3] Mojtaba Alipour Einaldin[2], Hossein Abdi-Benemar[3], Farzad Mirzaei Aghjeh Gheshlagh[3], Reza Seyedsharifi[3]**

1,2– M.Sc. Graduate and Ph.D. Student, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, respectively.
3- Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
*Corresponding Author's Email: jseifdavati@uma.ac.ir

Received: 25-11-2023
Revised: 06-02-2024
Accepted: 26-05-2024
Available Online: 03-12-2024

**How to cite this article:**
Abbasinavand, Z., Seifdavati, J., Alipour Einaldin, M., Abdi-Benemar, H., Mirzaei Aghjeh Gheshlagh, F., & Seyedsharifi, R., (2024). Effect of chickpea straw silage processing with urea, molasses and cellulase enzyme on chemical composition, gas production, ruminal and intestinal digestibility. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16*(3), 347-365. (in Persian with English abstract).
http://doi.org/ 10.22067/ijasr.2024.85302.1182

**Introduction:** The limitation of animal feed resources has increased the tendency to use agricultural residues such as straws in feeding ruminants. It has been reported that livestock production decreases when using low-quality crop residues due to the low palatability, energy level and protein of these feed materials. In other hand, high consumption of straws decreases ruminant's performance because of feed intake restriction, low digestibility and the presence of anti-nutritional factors such as silica, tannin and lignin in straws. The use of fibrolytic enzymes of foreign origin increases the usability of forage, which results in increased production. One of the most important methods of processing wooden materials is the use of chemicals, especially alkaline materials, especially urea. Adding molasses as an energy-generating part and urea as a non-protein nitrogen source simultaneously provides the rumen microorganisms with a source of energy and protein. In general, the addition of enzymes to the diet is used for the purpose of supplementing and compensating the defects of the enzyme system of the ruminant's digestive system, removing anti-nutritional substances and increasing the availability of nutrients in the animal body. The purpose of this research was to investigate the effect of processing chickpea straw with urea, molasses and enzymes on chemical composition, ruminal and intestinal digestibility, gas production and disappearance under laboratory conditions. So that the results of this research can be optimally used in animal nutrition.

**Materials and Methods:** This research was conducted on processed chickpea straw with urea, molasses and, enzyme source of fungal cellulase and rumen liquid. The tested feed material was chickpea straw, which was processed with urea, molasses and enzymes. Enzymes included fungal cellulase and rumen liquid. The tested feed ingredients were ground using a special mill with a sieve with 2 ml pores and then sieved using a 50 micrometer sieve to remove particles smaller than 50 micrometers.

To perform the gas test, first, the sample of the tested feed (chickpea straw enriched with urea, molasses and enzyme) was ground with a 1 mm grid. Measurements of chemical composition and gas production were carried out by standard methods and the determination of the digestibility of samples was done with Daisy[I] device and

©2023 The author(s). This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.
http://doi.org/ 10.22067/ijasr.2024.85302.1182

Gargalo's three-step method. After performing the initial calculations and collecting all the data, statistical analysis of the data was done using the SAS statistical software in the form of a completely random design and a 4x4 factorial experiment with the GLM procedure.

**Results and Discussion:** According to the results, processing chickpea straw with urea, molasses, and enzymes increased the percentage of dry matter and the amount of crude protein in the treatments. However, it decreased the percentage of cell wall and cell wall without hemicellulose. The processing of chickpea straw with urea, rumen liquid and a mixture of two enzymes and the combination of all three enzymes with a level of 4% molasses increases the digestibility of dry matter in the total digestive system, and the addition of molasses and the combination of rumen liquid and a mixture of two enzymes with different levels of molasses were increased the digestibility of crude protein in the rumen ($P<0.05$). Adding all three enzymes to chickpea straw at 2, 4, 6, and 8 hours, but with rumen juice from 12 to 96 hours, has led to an increase in gas production. The combination of molasses levels of 2 and 4% with a mixture of two enzymes increased gas production in all hours of incubation ($P<0.05$). The average constant rate of disappearance and gas production potential of chickpea straw was significantly different among all treatments ($P < 0.05$). The results showed that molasses and enzyme increased the constant rate of disappearance and 4% molasses and enzyme increased the gas production potential. The combination of molasses with fungal cellulase and the mixture of two enzymes decreased the constant rate of disappearance and gas production potential. The average laboratory digestibility of organic matter, metabolizable energy, lactation energy and short chain fatty acids were significant in all chickpea straw treatments ($P < 0.05$).

**Conclusion:** In general, based on the obtained results, the use of urea, molasses, and enzyme sources including fungal cellulase and rumen liquid has successfully increased the nutritional value, gas production parameters, and digestibility of chickpea straw. Among the experimental treatments, processing chickpea straw with 3.5% urea, 4% molasses, and fungal cellulase enzyme improved the nutritional value the most. Further animal experiments are needed to confirm these results. More research is required in the field of using agricultural waste in animal nutrition.

**Keywords:** Digestibility, Metabolizable energy, Nutritional parameters, Nutritional value

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

مقاله پژوهشی
جلد ۱۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۳۶۵-۳۴۷

# اثر فرآوری سیلاژ کاه نخود با اوره، ملاس و آنزیم سلولاز بر ترکیب شیمیایی، تولید گاز، قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای

زهرا عباسی ناوند[۱]، جمال سیف دواتی[۳*]، مجتبی علیپور عین‌الدین[۲]، حسین عبدی بنمار[۳]، فرزاد میرزایی آقجه قشلاق[۳]، رضا سیدشریفی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۰۴
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۱/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۰۶

## چکیده

این پژوهش با هدف بررسی فرآوری سیلاژ کاه نخود با اوره، ملاس و آنزیم سلولاز بر ترکیب شیمیایی، تولید گاز، قابلیت هضم شکمبه‌ای و روده‌ای به‌روش آزمایشگاهی انجام شد. اندازه‌گیری‌های ترکیب شیمیایی و تولید گاز به روش‌های استاندارد و تعیین قابلیت هضم نمونه‌ها با دستگاه دیزی‌تو و به‌روش گارگالو انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، بدون ملاس و بدون آنزیم، ۲- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، بدون ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (۴۰ میکرولیتر به هر گرم کاه)، ۳- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، بدون ملاس و با شیرابه شکمبه (۴۰ میکرولیتر به هر گرم کاه)، ۴- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، بدون ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (۲۰ میکرولیتر از هرکدام به هر گرم کاه)، ۵- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با دو درصد ملاس و بدون آنزیم، ۶- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با دو درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (۴۰ میکرولیتر به هر گرم کاه)، ۷- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با دو درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (۴۰ میکرولیتر به هر گرم کاه)، ۸- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با دو درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (۲۰ میکرولیتر از هرکدام به هر گرم کاه)، ۹- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با چهار درصد ملاس و بدون آنزیم، ۱۰- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با چهار درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (۴۰ میکرولیتر به هر گرم کاه)، ۱۱- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با چهار درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (۴۰ میکرولیتر به هر گرم کاه)، ۱۲- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با چهار درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (۲۰ میکرولیتر از هرکدام به هر گرم کاه)، ۱۳- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با شش درصد ملاس و بدون آنزیم، ۱۴- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با شش درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (۴۰ میکرولیتر به هر گرم کاه)، ۱۵- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با شش درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (۴۰ میکرولیتر به هر گرم کاه)، ۱۶- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با شش درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (۲۰ میکرولیتر از هرکدام به هر گرم کاه)، که به‌صورت فاکتوریل (چهار سطح ملاس و چهار منبع آنزیم) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. افزودن هر سه آنزیم به کاه نخود در ساعات دو، چهار، شش و هشت، همراه با شیرابه شکمبه از ساعت ۱۲ تا ۹۶ منجر به افزایش تولید گاز شد. ترکیب سطوح دو و چهار درصد ملاس با نسبت مساوی دو آنزیم در تمامی ساعات انکوباسیون باعث افزایش تولید گاز شد ($P<۰/۰۵$). نتایج نشان داد که ملاس چهار درصد و آنزیم باعث افزایش پتانسیل تولید گاز شد. ترکیب ملاس با سلولاز قارچی و نسبت مساوی دو آنزیم باعث کاهش نرخ ثابت ناپدید شدن ماده خشک شد. میانگین قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم، انرژی شیردهی و اسیدهای چرب زنجیر کوتاه در همه تیمارها در مقایسه با شاهد معنی‌دار بود ($P< ۰/۰۵$). فرآوری کاه نخود با ملاس و ترکیب شیرابه شکمبه و نسبت مساوی دو آنزیم با سطوح مختلف ملاس باعث افزایش قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام آن و سطح چهار درصد ملاس باعث افزایش قابلیت هضم ماده خشک در کل دستگاه گوارش شد ($P<۰/۰۵$). در مجموع، تیمار کاه نخود با سلولاز قارچی، شیرابه شکمبه و نسبت مساوی آن‌ها همراه با سطوح مختلف ملاس توانست ارزش غذایی آن را بهبود دهد.

**واژه‌های کلیدی:** ارزش غذایی، انرژی قابل متابولیسم، فراسنجه‌های تغذیه‌ای، گوارش‌پذیری

## مقدمه

محدودیت منابع خوراک دام، تمایل به استفاده از پسماندهای کشاورزی مانند کاه‌ها در تغذیه نشخوارکنندگان را افزایش داده است (Tahmasebi *et al.*, 2011). استفاده از کاه بقولات نظیر نخود و ماش به‌دلیل ارزان‌تر بودن و فراوانی آن در فصل‌هایی خاص از سال به‌صورت جایگزینی برای کاه گندم در تغذیه دام توصیه می‌شود (Mehramiri *et al.*, 2017). کاهش تولید دام هنگام مصرف باقی‌مانده‌های زراعی خام و فرآوری نشده با کیفیت پایین به‌علت پایین بودن خوش‌خوراکی، سطح انرژی و پروتئین قابل هضم این مواد خوراکی گزارش شده است (Tengyun, 2000). امّا عملکرد نشخوارکنندگان تغذیه شده با جیره‌های دارای سطوح بالای کاه به‌دلیل ایجاد محدودیت در مصرف ماده خشک، گوارش‌پذیری پایین و وجود عوامل ضدتغذیه‌ای مانند سیلیس، تانن و لیگنین در کاه‌ها پایین می‌باشد (Van Soest, 1994). به‌طوری‌که وقتی جیره نشخوارکنندگان عمدتاً از این مواد تشکیل گردد، نمی‌تواند انرژی مورد نیاز حیوانات را حتی در سطوح نگهداری تأمین نماید (Banchorndhevakul, 2002). بنابراین، بهبود ارزش تغذیه‌ای این علوفه‌ها ضروری می‌باشد. علوفه‌ها مهم‌ترین منبع انرژی در نشخوارکنندگان هستند و محققان علت عمل‌آوری مواد لیگنوسلولزی را با مایع شکمبه استفاده از پتانسیل محتویات آنزیمی مترشحه از ریزجانداران مایع شکمبه می‌دانند (Beauchemin *et al.*, 1991) مواد قابل هضم اصلی هر منبع فیبر علوفه‌ای، سلولز و همی‌سلولز می‌باشد که به‌وسیله آنزیم‌های سلولاز و زایلاناز ترشح شده از باکتری‌ها و پروتوزوئرهای شکمبه هضم می‌شوند و استفاده از آنزیم‌های فیبرولیتیک با منشأ خارجی باعث می‌شود که قابلیت استفاده از این منابع زیاد گردد که نتیجه آن افزایش تولید خواهد بود. این آنزیم‌ها به هضم فیبر اصلی علوفه، سلولز و زایلان کمک می‌کنند. گاهی اوقات، آنزیم‌های دیگر مانند فرولیک اسید استراز، نیز برای کمک به هضم برخی از مواد لیگنوسلولزی نظیر کاه‌ها با قابلیت هضم بسیار ضعیف مورد استفاده قرار می‌گیرند (Beauchemin *et al.*, 1991).

یکی از مهم‌ترین روش‌های فرآوری مواد خشبی استفاده از مواد شیمیایی به‌ویژه مواد قلیایی مخصوصاً اوره می‌باشد (Wang *et al.*, 2004). در جیره‌های کم پروتئین، اوره می‌تواند جایگزین قسمتی از پروتئین جیره گاو یا گوسفند گردد. با همراه کردن ملاس به‌عنوان بخش انرژی‌زا و اوره به‌عنوان منبع نیتروژن غیرپروتئینی، به‌صورت هم‌زمان، منبع انرژی و پروتئین در اختیار ریزجانداران شکمبه قرار می گیرد (Ensminger *et al.*, 1990). عامل مهم تأثیرگذار بر مقدار مصرف اوره در جیره غذایی نشخوارکنندگان، قابلیت و سرعت تخمیر جیره می‌باشد. جیره‌های حاوی انرژی قابل تخمیر بالا نظیر ملاس نتیجه خوبی با مصرف اوره می‌دهند (Stsnton and Whittier, 2007). مطالعات نشان داده است که مصرف ملاس در جیره نشخوارکنندگان در سطوح ۱۰ الی ۱۵ درصد دارای بیشترین راندمان می‌باشد (Ensminger *et al.*, 1990). از طرفی، افزودن آنزیم‌ها به جیره غذایی برای اهداف تکمیل و جبران نقایص سیستم آنزیمی دستگاه گوارشی، حذف مواد ضدتغذیه‌ای و افزایش قابلیت دسترسی مواد مغذی در بدن دام مورد استفاده قرار می‌گیرند (Annison, 1993; Bedfor and Schulz, 1998).

آنزیم‌های اگزوژنوس، ریزجانداران شکمبه و آنزیم‌های خوراکی تجاری سبب تغییر در ساختار فیبرها شده و این امر سبب می‌شود که ارزش غذایی خوراک‌های فیبری افزایش یابد (Newbold, 1997). آنزیم‌های با منشأ خارجی می‌توانند تجزیه الیاف را به‌وسیله ریزجانداران شکمبه در شرایط درون شیشه‌ای (Dong *et al.*, 1999; Hristov *et al.*, 1996) و شرایط *in situ* (Lewis *et al.*, 1996) افزایش دهند. آنزیم‌های با منشأ خارجی نرخ هضم را زیاد می‌کنند، ولی بر میزان هضم بی‌تأثیر هستند (Hristov *et al.*, 1996). افزایش مقدار دانه‌ها در جیره باعث افزایش چسبندگی مواد هضمی دئودنوم می‌شود (Mir and Mir, 1994)، کاهش چسبندگی به‌دلیل افزودن آنزیم می‌تواند جذب مواد مغذی را در روده کوچک گاوهای تغذیه شده با جیره غلات افزایش دهد (Hristov *et al.*, 1998). هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر فرآوری کاه نخود با اوره، ملاس و آنزیم بر ترکیب شیمیایی، قابلیت هضم شکمبه‌ای، روده‌ای، تولید گاز و ناپدید شدن ماده خشک تحت شرایط آزمایشگاهی بود تا از نتایج این تحقیق و پژوهش بتوان به‌صورت بهینه در تغذیه دام استفاده کرد.

## مواد و روش‌ها

### آماده‌سازی و فرآوری مواد خوراکی

مورد آزمایش کاه نخود بود که با اوره (U)، ملاس (M) و آنزیم (E) فرآوری شد. منبع آنزیم‌ها شامل سلولاز قارچی Cellulase EC endo-1-4-beta-D-glucanase *Aspergillus niger* Number: 3.2.1.4, (CAs) محصول کارخانه Sigma-Aldrich خریداری شده از شرکت طب آزما تجهیز تبریز و شیرابه شکمبه (Lr)

۱و ۲- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۳- اساتید گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل ، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: jseifdavati@uma.ac.ir)
http://doi.org/ 10.22067/ijasr.2024.85302.1182

بود. برای تهیه شیرابه شکمبه ابتدا مایع شکمبه دو ساعت پس از وعده خوراک‌دهی صبح، از دو راس گوسفند دارای فیستولای شکمبه‌ای با استفاده از یک پمپ خلاء از نقاط مختلف شکمبه دام‌ها جمع‌آوری شده، به آن مقداری از مواد خوراکی موجود در شکمبه اضافه شده و داخل یک ظرف دارای آب ولرم به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس، مایع شکمبه حاوی مواد هضمی به‌وسیله یک مخلوط‌کن به‌مدت دو دقیقه ضمن تزریق گاز دی‌اکسید کربن مخلوط گردید و با استفاده از یک پارچه توری و یک پارچه کتانی چهار لایه صاف گردید. مایع شکمبه صاف شده به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه به‌منظور جداسازی مواد جامد خوراکی سانتریفیوژ شدند (Storm *et al.*, 1983). بعد از سانتریفیوژ شدن در چهار سیکل ۳۰ ثانیه‌ای به‌منظور تخریب دیواره سلولی ریزجانداران اولتراسونیک شدند (Pan *et al.*, 2003). مواد خوراکی مورد آزمایش با استفاده از آسیاب مخصوص دارای غربال با منافذ دو میلی‌متری آسیاب گردید و سپس با استفاده از الک ۵۰ میکرومتری غربال شدند تا ذرات کوچک‌تر از ۵۰ میکرومتر از آن خارج شود و امکان ریزش و اتلاف ذرات از کیسه نباشد (Nocek, 1988).

ابتدا نمونه خوراک مورد آزمایش (کاه نخود غنی شده با اوره، ملاس و آنزیم) با الک یک میلی‌متری آسیاب گردید. بدین منظور جهت فرآوری کاه نخود با اوره به‌میزان ۳/۵ درصد وزنی کاه نخود (Garcia-Martinez *et al.*, 2009)، مقدار ۷۰ گرم اوره را در ۰/۵ لیتر آب حل کرده و جهت فرآوری اوره با ملاس، مقدار ۷۰ گرم اوره را به همراه ۵۷ گرم ملاس برای سطح دو درصد، ۱۱۴ گرم ملاس برای سطح چهار درصد و ۱۷۱ گرم برای سطح شش درصد ملاس را در ۰/۵ لیتر آب حل کرده و به دو کیلوگرم کاهی که با ۴/۵ لیتر آب مخلوط شده بود، اضافه شده و به‌خوبی مخلوط گردید (Chaudhry, 2000). مخلوط حاصل را در کیسه‌های پلاستیکی دولایه ریخته، هواگیری و فشرده شد و به‌مدت ۲۸ روز در دمای اتاق به‌صورت سیلو شده نگه‌داری شدند. سپس درب آن‌ها باز شده، مقدار ۴۰ میکرولیتر از هر منبع آنزیمی (سلولاز قارچی و شیرابه شکمبه و نسبت مساوی آن‌ها) به‌ازای هر گرم کاه بر روی نمونه‌ها به‌طور متوالی با عمل اسپری افزوده شد. برای نسبت دو آنزیم از هر یک از منبع آنزیم‌ها، ۲۰ میکرولیتر برداشته و پشت‌سرهم روی نمونه اسپری شد و برای یک شب در شرایط آزمایشگاه استراحت داده شد.

### تیمارهای آزمایشی

تیمارهای آزمایشی عبارت بودند: ۱- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، بدون ملاس و بدون آنزیم (UM0E0)، ۲- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، بدون ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM0CAs)، ۳- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، بدون ملاس و با شیرابه شکمبه (UM0Lr)، ۴- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، بدون ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM0Lr + ECAs)، ۵- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با دو درصد ملاس و بدون آنزیم (UM2%E0)، ۶- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با دو درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM2%ECAs)، ۷- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با دو درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM2%ELr)، ۸- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با دو درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM2%Lr + ECAs)، ۹- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با چهار درصد ملاس و بدون آنزیم (UM4%E0)، ۱۰- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با چهار درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM4%ECAs)، ۱۱- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با چهار درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM4%Lr)، ۱۲- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با چهار درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM4%Lr + ECAs)، ۱۳- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با شش درصد ملاس و بدون آنزیم (UM6%E0)، ۱۴- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با شش درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM6%ECAs)، ۱۵- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با شش درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM6%Lr)، ۱۶- کاه نخود حاوی اوره (۳/۵ درصد)، با شش درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM6%Lr + ECAs). آزمایش به‌صورت فاکتوریل فاکتور اول (چهار سطح صفر، دو، چهار و شش درصد ملاس) و فاکتور دوم (چهار منبع آنزیمی صفر آنزیم، آنزیم سلولاز قارچی، آنزیم از منبع شیرابه شکمبه و نسبت یکسان از آن‌ها) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

### اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی و تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای و بعد شکمبه‌ای

اندازه‌گیری‌های شیمیایی به‌روش استاندارد AOAC انجام شد. به‌منظور بررسی اثر غنی‌سازی کاه نخود با اوره و سنجش میزان افزایش و قابلیت هضم پروتئین آن، تعیین قابلیت هضم نمونه‌ها با استفاده از دستگاه (دیزی تو) تعیین قابلیت هضم شکمبه‌ای و بعد شکمبه‌ای و به‌روش سه مرحله‌ای گارگالو و همکاران (Gargallo *et al.*, 1998) انجام شد. مرحله اول، پیش انکوباسیون شکمبه‌ای که در این مرحله تقریباً پنج گرم از نمونه مورد آزمایش (آسیاب شده با غربال دو میلی‌متری)، در داخل کیسه‌های نایلونی با ابعاد ۵ × ۱۰ سانتی‌متر و قطر سوراخ‌های ۵۰ میکرومتر ریخته شد و سپس درب کیسه‌های نایلونی به‌وسیله سیم‌های مخصوص محکم بسته شد. کیسه‌ها شماره‌گذاری شده و از هر ماده خوراکی سه تکرار در نظر گرفته شد. سپس از راه فیستولای شکمبه گوسفند به‌مدت ۱۶ ساعت در داخل شکمبه انکوباسیون گردید. مرحله دوم، هضم شیردانی که در این مرحله حدود ۰/۵ تا یک گرم از باقی‌مانده مواد خوراکی که قبلاً در

شکمبه انکوباسیون شده‌اند را در داخل کیسه‌های نایلونی با منافذ ۵۰ میکرومتر ریخته شده و ۳۰ عدد کیسه‌ها در داخل هر بطری دستگاه هضم بعد شکمبه‌ای قرار گرفت. به هر بطری دو لیتر محلول ۰/۱ نرمال اسید کلریدریک با pH ۹/۱ که شامل یک گرم در لیتر پپسین است، اضافه شد و با دور ثابت چرخش و دمای ۳۹ درجه سلسیوس به‌مدت یک ساعت انکوباسیون شد. بعد از انکوباسیون، تمام مایعات از بطری خارج شده و تا زمانی که آب شفاف از آن‌ها خارج شود، شستشو گردید. مرحله سوم، هضم روده‌ای کیسه‌ها در بطری انکوباسیون دیگری وارد شده و دو لیتر محلول پانکراتین (۰/۵ مولار بافر KH2PO4 در pH ۷/۷۵ استاندارد شده که شامل 50 ppm تیمول و سه گرم در لیتر پانکراتین بود) به بطری‌ها اضافی گردید. کیسه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت با دور ثابت در ۳۹ درجه سلسیوس انکوباسیون شدند. بعد از انکوباسیون مجدداً تمام مایعات تخلیه شده و تا زمانی که آب شفاف از آن‌ها خارج شود، شسته شدند. سپس، کیسه‌ها در داخل آون خشک شد و در محلی مناسب جهت اندازه‌گیری فراسنجه‌های مورد نظر نگه‌داری شدند، مقدار هضم با پپسین و پانکراتین از مقدار نیتروژن نمونه‌ها (بعد از انکوباسیون شکمبه‌ای) منهای نیتروژن باقی‌مانده بعد از انکوباسیون در پپسین- پانکراتین تقسیم بر مقدار نیتروژن نمونه‌ها به‌دست می‌آید (Gargallo *et al.*, 1998).

**اندازه گیری تولید گاز و فراسنجه‌های آن**

اندازه‌گیری تولید گاز به‌روش منک و استینگاس (Menke and Steinggass, 1988) انجام شد. بدین منظور از نمونه آسیاب شده مقدار (±۵) ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه در داخل سرنگ شیشه‌ای مدرج ۱۰۰ میلی‌لیتری با قطر داخلی ۳۲ و طول ۲۰۰ میلی‌متر و با حجم ۱۵۰ میلی‌لیتر قرار داده شده است. سپس با شیرابه، بافر و محلول‌های مربوطه مخلوط گردید و سرنگ‌ها در دستگاه انکوباتور ساخت ایران دارای آون گردونه‌دار با جایگاه مربوطه قرار داده شد و حجم گاز تولیدی در ساعت‌های مختلف پس از خارج کردن از دستگاه قرائت و ثبت شد و در صورت داشتن حجم بیش از ۱۰۰ میلی‌لیتری گاز موجود تخلیه تا سطح ۳۰ میلی‌لیتری سرنگ پیستون آن تنظیم و صفر شد. این آزمایش به‌مدت پنج روز به طول انجامید. جهت تعیین حجم گاز حاصل از تخمیر نمونه‌ها از سرنگ‌ها، حجم گاز تولیدی براساس وزن نمونه خوراک در هر زمان با استفاده از معادله زیر تصحیح گردید.

معادله (۱) $V= (200 \times (Vt-Vb))/W$

که در آن، V: حجم گاز تصحیح‌شده (میلی‌لیتر) به‌ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک نمونه خوراک، Vt: حجم گاز تولیدی در سرنگ‌های فاقد نمونه خوراک، Vb: حجم گاز تولیدی در سرنگ‌های حاوی نمونه خوراک (میلی‌لیتر) و W: وزن ماده خوراک (میلی‌گرم) می‌باشد.

فراسنجه‌های تولید گاز براساس داده‌های حاصل از قرائت گاز با استفاده از مدل فرنس و همکاران (France *et al.*, 1993) با احتساب زمان تأخیر طبق معادله زیر برآورد شد.

معادله (۲) $G = A\,[1-e^{-c\,(t-L)-d\,(\sqrt{t}-\sqrt{L})}]$

که در آن، G: برابر با تجمع گاز تولید شده در واحد زمان است، A: برابر با مقدار کل تولید گاز (میلی‌لیتر)، c: برابر با نرخ ثابت تولید گاز (میلی‌لیتر در ساعت)، d: برابر با یک ثابت نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر در ساعت ۱/۲)، L: برابر با فاز تأخیر، t: زمان و ½ t: زمان برابر نیمی از کل زمان تولید گاز تجمعی است.

پس از اصلاح گاز تولید شده در هر زمان براساس نمونه‌های بلانک، انرژی قابل متابولیسم، انرژی ویژه شیردهی و ماده آلی قابل هضم توسط معادله‌های منک و استنگاس (Menke and Steinggass, 1988) محاسبه گردید. میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر طبق معادله گتاچیو و همکاران (Getachew *et al.*, 2002) به‌صورت زیر برآورد شد:

معادله (۳)

$$SCFA\ (mmol) = -0.00425 + 0.0222 \times GP$$
$$ME\ (MJ/kg\ DM) = 2.20 + 0.136 \times GP + 0.057 \times CP$$
$$OMD\ (\%) = 14.88 + 0.889 \times GP + 0.45 \times CP + 0.0651 \times CA$$

که در آن، ME: انرژی متابولیسمی (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)، GP: گاز تولیدی خالص ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (درصد ماده خشک) و EE چربی خام (درصد ماده خشک)، CA: خاکستر خام (در صد ماده خشک)، DOM: قابلیت هضم ماده آلی (در صد ماده خشک) و SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول) می‌باشد.

## تجزیه و تحلیل آماری

پس از انجام محاسبات اولیه و جمع‌آوری کلیه داده‌ها، جهت تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (SAS, 2003) در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمایش فاکتوریل ۴ × ۴ (چهار سطح ملاس و چهار منبع آنزیم) با رویه GLM طبق مدل و معادله آماری زیر انجام شد:

معادله (۴) $Y_{ijk}=\mu+M_i+E_j+ME_{ij}+e_{ijk}$

که در آن، M: فاکتور اول اثر سطح ملاس، E: فاکتور دوم اثر نوع آنزیم، GF: اثر متقابل سطح ملاس و نوع آنزیم و $e_{ijk}$: اثر اشتباه آزمایشی بود.

## نتایج و بحث

**ترکیبات شیمیایی**

با توجه به نتایج جدول ۱ مشاهده شد که با فرآوری کاه نخود با اوره، ملاس و آنزیم، میزان پروتئین خام تیمارها افزایش یافته است ($P<0/05$). قیاسوند و همکاران (Ghiasvand *et al.*, 2012) گزارش

کردند که کاه کلزای فرآوری شـده بـا اوره و اوره بـه همـراه مـلاس، دارای درصد پروتئین خام بیشتری نسبت به شاهد بودند.

**جدول ۱**- ترکیبات شیمیایی کاه نخود فرآوری شده با اوره، ملاس و آنزیم (درصد در ماده خشک)

**Table 1**- Chemical composition of chickpea straw processed with urea, molasses and enzyme (% in dry matter)

| تیمارها<br>Treatments | ماده خشک<br>DM | پروتئین خام<br>CP | عصاره اتری<br>EE | خاکستر<br>Ash | الیاف نامحلول در شوینده خنثی<br>NDF | الیاف نامحلول در شوینده اسیدی<br>ADF |
|---|---|---|---|---|---|---|
| کاه نخود بدون فراوری<br>Unprocessed chickpea straw | 95.25 | 4.50 | 1.01 | 12.35 | 54.65 | 42.30 |
| ۱<br>UM0E0 | 94.27$^{ab}$ | 12.06$^{k}$ | 1.15$^{h}$ | 15.55$^{defgh}$ | 53.67$^{ab}$ | 32.80 |
| ۲<br>UM0CAs | 95.94$^{ab}$ | 12.63$^{j}$ | 1.13$^{h}$ | 26.78$^{a}$ | 51.20$^{abcd}$ | 36.20 |
| ۳<br>UM0Lr | 96.31$^{ab}$ | 12.63$^{j}$ | 1.28$^{f}$ | 19.89$^{bc}$ | 50.53$^{bcde}$ | 35.13 |
| ۴<br>UM0Lr + ECAs | 95.35$^{ab}$ | 13.12$^{h}$ | 1.20$^{g}$ | 16.26$^{defg}$ | 53.20$^{ab}$ | 31.87 |
| ۵<br>UM2%E0 | 94.83$^{ab}$ | 15.33$^{b}$ | 1.10$^{h}$ | 18.22$^{bcd}$ | 50.47$^{bcde}$ | 34.93 |
| ۶<br>UM2%ECAs | 94.62$^{ab}$ | 13.21$^{h}$ | 1.27$^{fg}$ | 15.49$^{defgh}$ | 47.60$^{e}$ | 31.13 |
| ۷<br>UM2%ELr | 95.74$^{ab}$ | 13.43$^{g}$ | 2.12$^{b}$ | 14.67$^{efgh}$ | 48.67$^{de}$ | 35.27 |
| ۸<br>UM2%Lr + ECAs | 96.50$^{ab}$ | 13.60$^{f}$ | 1.55$^{e}$ | 15.11$^{efgh}$ | 49.40$^{cde}$ | 34.67 |
| ۹<br>UM4%E0 | 94.15$^{b}$ | 14.71$^{d}$ | 2.23$^{a}$ | 20.33$^{b}$ | 50.67$^{bcde}$ | 36.27 |
| ۱۰<br>UM4%ECAs | 95.11$^{ab}$ | 12.95$^{i}$ | 1.95$^{c}$ | 16.44$^{def}$ | 52.00$^{abcd}$ | 36.67 |
| ۱۱<br>UM4%Lr | 96.40$^{ab}$ | 15.87$^{a}$ | 1.92$^{c}$ | 19.78$^{bc}$ | 49.07$^{de}$ | 33.40 |
| ۱۲<br>UM4%Lr + ECAs | 96.30$^{ab}$ | 15.16$^{c}$ | 2.17$^{b}$ | 17.00$^{cde}$ | 52.73$^{abc}$ | 34.40 |
| ۱۳<br>UM6%E0 | 94.29$^{ab}$ | 15.95$^{a}$ | 1.55$^{e}$ | 12.71$^{h}$ | 53.27$^{a}$ | 33.73 |
| ۱۴<br>UM6%ECAs | 95.99$^{ab}$ | 13.51$^{fg}$ | 1.12$^{h}$ | 13.89$^{fgh}$ | 51.60$^{abcd}$ | 33.63 |
| ۱۵<br>UM6%Lr | 96.75$^{a}$ | 13.98$^{e}$ | 1.15$^{h}$ | 13.67$^{fgh}$ | 50.60$^{bcde}$ | 32.67 |
| ۱۶<br>UM6%Lr + ECAs | 96.07$^{ab}$ | 15.95$^{a}$ | 1.65$^{d}$ | 13.22$^{gh}$ | 52.87$^{abc}$ | 31.87 |
| مقدار احتمال معنی‌داری<br>P-value | 0.04 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.01 | 0.39 |
| میانگین خطای استاندارد<br>SEM | 1.43 | 0.043 | 0.019 | 1.30 | 1.17 | 3.84 |

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و بدون آنزیم (UM0E0)، ۲- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM0CAs)، ۳- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با شیرابه شکمبه (UM0Lr)، ۴- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM0Lr + ECAs)، ۵- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و بدون آنزیم (UM2%E0)، ۶- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM2%ECAs)، ۷- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM2%ELr)، ۸- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM2%Lr + ECAs)، ۹- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و بدون آنزیم (UM4%E0)، ۱۰- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM4%ECAs)، ۱۱- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM4%Lr)، ۱۲- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM4%Lr + ECAs)، ۱۳- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و بدون آنزیم (UM6%E0)، ۱۴- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM6%ECAs)، ۱۵- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM6%Lr)، ۱۶- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM6%Lr + ECAs).

- حروف انگلیسی نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده احتمال معنی‌داری در سطح پنج درصد می‌باشد.

−Experimental treatments include: 1- Chickpea straw containing urea, without molasses and without enzyme (UM0E0), 2- Chickpea straw containing urea, without molasses and with fungal cellulase enzyme (UM0CAs), 3- Chickpea straw containing urea, without molasses and with rumen liquid (UM0Lr), 4- Chickpea straw containing urea, without molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM0Lr + ECAs), 5- Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and without enzyme (UM2%E0), 6 - Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM2%ECAs), 7- Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and rumen liquid (UM2%ELr), 8- Chickpea straw containing urea, with Two percent molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM2%Lr + ECAs), 9- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and no enzyme (UM4%E0), 10- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM4%ECAs), 11- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and rumen liquid (UM4%Lr), 12- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and with an equal proportion of cellulase enzyme and rumen liquid (UM4%Lr + ECAs), 13- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and without enzyme (UM6%E0), 14- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM6% ECAs), 15- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and rumen liquid (UM6%Lr), 16- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM6%Lr + ECAs).

$^{a, b}$: English letters in each line indicate a significant difference between the means at the probability level (P<0.05).

بالا بودن درصد پروتئین کاه کلزای فرآوری شده با اوره و اوره با ملاس به‌علت افزودن اوره و ترکیب آمونیاک حاصل از تجزیه اوره و تشکیل کربنات آمونیوم می‌باشد (Van Soest, 2006) این نتایج با یافته‌های قانووم و همکاران (Gunun *et al.*, 2013) در بررسی تأثیر فرآوری اوره بر واریته‌های مختلف برنج مطابقت دارد. نتایج پژوهش مهدیخوانی بازهوز و همکاران (Mehdikhani Bazehoze *et al.*, 2009) نشان داد که عمل‌آوری کاه گندم با اوره و ملاس، محتوی پروتئین خام کاه را از ۳/۴ درصد به ۷/۵ درصد افزایش می‌دهد.

در عمل‌آوری کاه گندم به‌وسیله چلیک و همکاران (Celik *et al.*, 2009) با پنج درصد اوره میزان پروتئین خام کاه از ۴/۰۶ در کاه گندم عمل‌آوری نشده به ۸/۳۸ درصد در کاه گندم عمل‌آوری شده با اوره افزایش پیدا کرد (Celik *et al.*, 2009). خراسانی و همکاران (Khorasani *et al.*, 2014) گزارش کردند که فرآوری برگ خرما با آنزیم، آنزیم به همراه اوره، آنزیم با ملاس و آنزیم با ملاس و اوره باعث افزایش درصد پروتئین خام شد.

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که افزودن ملاس، افزودن آنزیم و ترکیب ملاس با شیرابه شکمبه و نسبت دو آنزیم باعث افزایش درصد ماده خشک کاه نخود شده است (P<۰/۰۵). علیخانی و همکاران (Alikhani *et al.*, 2005) اذعان داشتند که افزودن ملاس تأثیر معنی‌داری در افزایش ماده خشک سیلو داشت. ملاس ۷۵ درصد ماده خشک دارد، با در نظر گرفتن افزودن ملاس به‌مقدار چهار درصد، منطقی است که افزایش ماده خشک سیلوها را بیشتر در نتیجه افزودن ملاس دانست تا بهبود کیفیت تخمیر. هرچند که با بهبود کیفیت تخمیر در اثر اضافه شدن ملاس از اتلاف ماده خشک سیلو هم جلوگیری می‌شود (Mc Donald *et al.*, 1990). در مطالعه دی فیگوردو و ماریس (De Figuerido and Marais, 1994)، ماده خشک سیلاژ گراس کیکویو پس از اضافه شدن ملاس تغییر معنی داری در مقایسه با سیلاژ شاهد نداشت. خراسانی و همکاران (Khorasani *et al.*, 2014) گزارش دادند که افزودن ملاس و ترکیب ملاس با آنزیم به سیلاژ برگ درخت خرما باعث افزایش درصد ماده خشک می‌شود، درحالی‌که افزودن آنزیم به تنهایی به آن باعث کاهش درصد ماده خشک شد.

طبق نتایج به‌دست آمده افزودن ملاس و ترکیب ملاس با آنزیم در کاه نخود باعث کاهش درصد دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی‌سلولز می‌شود (P<۰/۰۵). افزودن نسبت دو آنزیم نیز باعث کاهش دیواره سلولی بدون همی‌سلولز در مقایسه با کاه نخود فرآوری نشده، شد (P<۰/۰۵). علیخانی و همکاران (Alikhani *et al.*, 2005) گزارش دادند که افزودن ملاس به تنهایی بر سیلاژ آفتابگردان کاهش معنی‌داری در دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی‌سلولز داشت و افزود، کاهش دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی‌سلولز در این تیمارها ممکن است در نتیجه فرآیند سیلو کردن و یا افزودن ملاس باشد. احتمال دارد که این کاهش به‌دلیل عمل ریزجانداران سیلو روی کربوهیدرات‌های ساختمانی بوده است که NDF وADF را به مقدار بیشتری هضم و کاهش داده است یا اینکه کاهش دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی‌سلولز در نتیجه اثر رقیق‌کنندگی ملاس باشد. مطالعات دیگر نشان دادند که ترکیب اوره با ملاس، اوره با آنزیم و اوره، ملاس و آنزیم در سیلاژ برگ درخت خرما باعث کاهش NDF و ADF شدند (Khorasani *et al.*, 2014). قیاسوند و همکاران (Ghiasvand *et al.*, 2012) گزارش کردند که در فرآوری کاه کلزا با روش‌های شیمیایی مختلف، دیواره سلولی بدون همی‌سلولز فقط در تیمار اوره به همراه ملاس به‌طور معنی‌دار کاهش یافت.

**نتایج قابلیت هضم شکمبه‌ای و بعد شکمبه‌ای**

**قابلیت هضم شکمبه‌ای و بعد شکمبه‌ای ماده خشک:** در کاه نخود افزودن ملاس در سطح چهار درصد باعث افزایش قابلیت هضم شکمبه‌ای، بعد شکمبه‌ای و قابلیت هضم ماده خشک در کل دستگاه گوارش شده است (جدول ۲) (P<۰/۰۵).

در گزارشی، افزودن ملاس و کاه برنج تیمار شده با اوره به علوفه‌های مختلف باعث کاهش قابلیت هضم ماده خشک شد (Alam *et al.*, 2016) . افزودن آنزیم باعث افزایش قابلیت هضم شکمبه‌ای، بعد شکمبه‌ای و قابلیت هضم ماده خشک در کل دستگاه گوارش شد.

نتایج پژوهش الوارز و همکاران (Alvarez *et al.*, 2009) مبنی بر افزودن آنزیم به جیره با فیبر بالا نشان داد که افزودن فیبروزیم به جیره منجر به افزایش ناپدید شدن شکمبه‌ای ماده خشک می‌شود. چندین مطالعه نشان داده است که افزودن آنزیم هم در شرایط in vitro و in vivo، قابلیت هضم ماده خشک را افزایش دادند (Gado *et al.*, 2009, 2011). افزودن آنزیم سبب بهبود قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی مواد خوراکی شده است (Yu *et al.*, 2005). محققان دیگر گزارش کردند که افزودن آنزیم فیبرولیتیک به جیره بره ها باعث افزایش قابلیت هضم ماده خشک می‌شود (Titi *et al.*, Muwalla *et al.*, 20072004; ). محمودی و عربی (Mahmoodi and Aliarabi, 2012) گزارش کردند که استفاده از سطوح مختلف آنزیم فیبرولیتیک با منشأ خارجی به جیره باعث افزایش قابلیت هضم ماده خشک می‌شود.

کاربرد آنزیم فیبرولیتیک با منشأ خارجی در جیره نشخوارکنندگان باعث افزایش گوارش‌پذیری ماده خشک می‌شود، دلیل این امر را افزایش تعداد میکروب‌های شکمبه و افزایش ظرفیت شکمبه برای

گوارش‌پذیری خوراک ذکر کردند (Beauchemin *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 1999).

**جدول ۲**- قابلیت هضم شکمبه‌ای و بعد شکمبه‌ای ماده خشک کاه نخود فرآوری شده با اوره، ملاس و آنزیم

**Table 2**- Ruminal and post-ruminal digestibility of dry matter of chickpea straw processed with urea, molasses and enzymes

| تیمارها<br>Treatments | قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک<br>RDDM<br>(ruminal) | قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک<br>IDDM<br>(post-ruminal) | قابلیت هضم ماده خشک در کل دستگاه گوارش<br>IDTDM<br>(total tract) |
|---|---|---|---|
| ۱<br>UM0E0 | 32.73$^{cd}$ | 18.86$^{f}$ | 45.41$^{c}$ |
| ۲<br>UM0CAs | 29.53$^{cde}$ | 19.53$^{ef}$ | 43.30$^{cd}$ |
| ۳<br>UM0Lr | 45.20$^{ab}$ | 21$^{de}$ | 56.68$^{a}$ |
| ۴<br>UM0Lr + ECAs | 37.06$^{bc}$ | 16.06$^{gh}$ | 46.56$^{bc}$ |
| ۵<br>UM2%E0 | 26.73$^{de}$ | 19.80$^{ef}$ | 41.24$^{cd}$ |
| ۶<br>UM2%ECAs | 25.93$^{de}$ | 23.06$^{abc}$ | 43.02$^{cd}$ |
| ۷<br>UM2%ELr | 24.53$^{de}$ | 23.80$^{ab}$ | 42.49$^{cd}$ |
| ۸<br>UM2%Lr + ECAs | 26$^{de}$ | 24.40$^{a}$ | 44.06$^{cd}$ |
| ۹<br>UM4%E0 | 43.86$^{ab}$ | 16.26$^{g}$ | 52.99$^{ab}$ |
| ۱۰<br>UM4%ECAs | 50.60$^{a}$ | 13.06$^{i}$ | 55.06$^{a}$ |
| ۱۱<br>UM4%Lr | 41.93$^{ab}$ | 21.60$^{cd}$ | 54.46$^{a}$ |
| ۱۲<br>UM4%Lr + ECAs | 47.80$^{a}$ | 14$^{h}$ | 55.11$^{a}$ |
| ۱۳<br>UM6%E0 | 24.26$^{de}$ | 19.53$^{ef}$ | 39.07$^{cd}$ |
| ۱۴<br>UM6%ECAs | 19.73$^{e}$ | 21.80$^{cd}$ | 37.24$^{d}$ |
| ۱۵<br>UM6%Lr | 26.26$^{de}$ | 18.80$^{f}$ | 40.13$^{cd}$ |
| ۱۶<br>UM6%Lr + ECAs | 27.20$^{de}$ | 22.20$^{bcd}$ | 43.44$^{cd}$ |
| مقدار احتمال معنی‌داری<br>P-value | 0.001 | 0.001 | 0.001 |
| میانگین خطای استاندارد<br>SEM | 2.98 | ۳0.5 | 2.3 |

– تیمارهای آزمایشی شامل: ۱– کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و بدون آنزیم (UM0E0)، ۲– کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM0CAs)، ۳– کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با شیرابه شکمبه (UM0Lr)، ۴– کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM0Lr + ECAs)، ۵– کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و بدون آنزیم (UM2%E0)، ۶– کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM2%ECAs)، ۷– کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM2%ELr)، ۸– کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM2%Lr + ECAs)، ۹– کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و بدون آنزیم (UM4%E0)، ۱۰– کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM4%ECAs)، ۱۱– کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM4%Lr)، ۱۲– کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM4%Lr + ECAs)، ۱۳– کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و بدون آنزیم (UM6%E0)، ۱۴– کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM6%ECAs)، ۱۵– کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM6%Lr)، ۱۶– کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM6%Lr + ECAs).

– حروف انگلیسی نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده احتمال معنی‌داری در سطح پنج درصد می‌باشد.

–Experimental treatments include: 1- Chickpea straw containing urea, without molasses and without enzyme (UM0E0), 2- Chickpea straw containing urea, without molasses and with fungal cellulase enzyme (UM0CAs), 3- Chickpea straw containing urea, without molasses and with rumen liquid (UM0Lr), 4- Chickpea straw containing urea, without molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM0Lr + ECAs), 5- Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and without enzyme (UM2%E0), 6 - Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM2%ECAs), 7- Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and rumen liquid (UM2%ELr), 8- Chickpea straw containing urea, with Two percent molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM2%Lr + ECAs), 9- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and no enzyme (UM4%E0), 10- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM4%ECAs), 11- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and rumen liquid (UM4%Lr), 12- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and with an equal proportion of cellulase enzyme and rumen liquid (UM4%Lr + ECAs), 13- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and without enzyme (UM6%E0), 14- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM6% ECAs), 15- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and rumen liquid (UM6%Lr), 16- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM6%Lr + ECAs).

[a, b]: English letters in each line indicate a significant difference between the means at the probability level (P<0.05).

کانگ و همکاران (Kung *et al.*, 2000a,b) گزارش کردند که با افزودن آنزیم فیبرولیتیک با منشأ خارجی قبل از خوراک‌دهی ممکن

است از طریق سازوکارهای مختلف شامل هیدرولیز مستقیم، افزایش حمله میکروبی، تغییر در مکان گوارش‌پذیری مواد مغذی و اضافه شدن آنزیم‌های داخلی شکمبه باعث افزایش گوارش‌پذیری خوراک شود.

ترکیب سطوح مختلف ملاس با شیرابه شکمبه در کاه نخود باعث کاهش قابلیت هضم ماده خشک در کل دستگاه گوارش شد (P<۰/۰۵).

**قابلیت هضم شکمبه‌ای و بعد شکمبه‌ای پروتئین خام:** در این پژوهش، تأثیر عمل‌آوری کاه نخود با اوره، ملاس و آنزیم بر قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام، قابلیت هضم روده‌ای پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه و قابلیت هضم پروتئین خام در کل دستگاه گوارش مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۳).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزودن ملاس به کاه نخود باعث افزایش در قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام، قابلیت هضم روده‌ای پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه و قابلیت هضم پروتئین خام در کل دستگاه گوارش شد (P<۰/۰۵). آلام و همکاران (Alam *et al.*, 2016) گزارش کردند که افزودن ملاس و کاه برنج تیمار شده با اوره به علوفه‌های مختلف باعث افزایش قابلیت هضم پروتئین خام می‌شود. افزودن آنزیم فیبرولیتیک به جیره با فیبر بالا در گوساله‌ها باعث افزایش قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام شد (Alvarez *et al.*, 2009). زینن و سالیناز (Zinn and Salinas, 1999) گزارش کردند که کاربرد آنزیم فیبرولیتیک با منشأ خارجی در جیره گاوهای شیری، قابلیت هضم شکمبه‌ای نیتروژن را پنج درصد افزایش می‌دهد. یانگ و همکاران (Yang *et al.*, 2000) گزارش دادند که استفاده از آنزیم فیبرولیتیک با منشأ خارجی در جیره گاوهای اوایل شیردهی، افزایش قابلیت هضم پروتئین را در پی داشت که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت. ترکیب آنزیم با سطوح مختلف ملاس باعث افزایش قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام، قابلیت هضم روده‌ای پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه و قابلیت هضم پروتئین خام در کل دستگاه گوارش می‌شود.

### آزمون تولید گاز

در این پژوهش، تأثیر عمل‌آوری کاه نخود با اوره، ملاس، آنزیم (سلولاز قارچی، مایع شکمبه فرآوری شده و ترکیب دو آنزیم) به‌ازای هر گرم ماده خشک در بین تیمارها بر تولید گاز مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۴) و مشاهده شد که افزودن آنزیم باعث افزایش تولید گاز شد (P<۰/۰۵) که با گزارش یو و همکاران (Yu *et al.*, 2005) مبنی بر افزودن آنزیم، تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی را به‌طور مؤثری بهبود می‌بخشد، مطابقت داشت. همچنین در گزارش الگاندور و همکاران (Elghandour *et al.*, 2013) مشاهده شد که افزودن آنزیم بر خوراک میزان تولید گاز در ۲۴ ساعت را به‌صورت خطی افزایش می‌دهد.

با افزودن ملاس، تولید گاز در تمامی ساعات انکوباسیون افزایش یافت، این افزایش در سطح ملاس دو درصد بیشتر بود (P<۰/۰۵) که با نتایج سلطانی ناصری و همکاران (Soltani Naseri *et al.*, 2018) مطابقت داشت. در آزمایشی که شوری‌آبی (Shoryabi, 2014) بر روی کاه کنجد عمل آوری شده با اوره، ملاس و آنزیم انجام داده بود مشاهده کرد که با افزودن ملاس به کاه کنجد تولید گاز افزایش می یابد.

افزودن آنزیم به کاه نخود موجب افزایش تولید گاز همه تیمارها در تمامی ساعات انکوباسیون شد (P<۰/۰۵).

محمد آبادی و چاجی (Mohammadabadi and Chaji, 2011) در پژوهشی که بر روی کاه کنجد عمل آوری شده با آنزیم‌های اگزوژنوس انجام داده بودند مشاهده کردند که افزودن آنزیم باعث افزایش تولید گاز در ساعات مختلف انکوباسیون می‌شود که با نتایج حاضر مطابقت داشت. در آزمایش دیگری که بر روی خوراک‌های با کیفیت پایین انجام گرفته بود دریافتند که افزودن آنزیم سلولاز و زایلاناز به خوراک باعث افزایش تولید گاز تجمعی می‌شود که این افزایش با افزودن بر مقدار آنزیم نیز بیشتر می‌شود (Gemeda *et al.*, 2014) . در مطالعاتی که بر روی تأثیر ۲۶ افزودنی آنزیمی در فرآوری کاه برنج و علوفه یونجه انجام گرفته بود نشان داد که افزودن هریک از آنزیم‌ها موجب افزایش در تولید گاز می‌شود (Yang *et al.*, 2011). نتایج حاصل از تأثیر آنزیم بر تولید گاز کاه نخود فرآوری شده با نتایج سوجانی و همکاران (Sujani *et al.*, 2016) نیز مطابقت داشت. نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که ترکیب آنزیم با ملاس باعث افزایش تولید گاز در ساعات مختلف انکوباسیون شد (P<۰/۰۵) که با نتایج خراسانی و همکاران (Khorasani *et al.*, 2014) مبنی بر افزودن ترکیب اوره به همراه ملاس، اوره با آنزیم و اوره به همراه ملاس و با آنزیم به سیلاژ برگ درخت خرما باعث افزایش تولید گاز در ساعات مختلف انکوباسیون می‌شود مطابقت دارد.

**جدول ۳**- قابلیت هضم شکمبه‌ای و بعد شکمبه‌ای پروتئین خام کاه نخود فرآوری شده با اوره، ملاس و آنزیم (درصد در ماده خشک)

**Table 3**- Ruminal and post-ruminal digestibility of raw chickpea straw protein processed with urea, molasses and enzymes (% in dry matter)

| تیمارها<br>Treatments | قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام<br>RDP<br>(ruminal) | قابلیت هضم روده‌ای پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه<br>IDRUP<br>(post–ruminal) | قابلیت هضم پروتئین خام در کل دستگاه گوارش<br>IDCP<br>(total tract) |
|---|---|---|---|
| ۱<br>UM0E0 | 10.19$^{e}$ | 7.84$^{fg}$ | 17.23$^{j}$ |
| ۲<br>UM0CAs | 5.11$^{g}$ | 7.18$^{g}$ | 10.07$^{k}$ |
| ۳<br>UM0Lr | 5.93$^{g}$ | 13.95$^{e}$ | 19.05$^{j}$ |
| ۴<br>UM0Lr + ECAs | 8.88$^{f}$ | 38.62$^{b}$ | 44.07$^{b}$ |
| ۵<br>UM2%E0 | 12.7$^{d}$ | 12.83$^{e}$ | 25.45$^{h}$ |
| ۶<br>UM2%ECAs | 10.79$^{e}$ | 37.57$^{b}$ | 38.69$^{c}$ |
| ۷<br>UM2%ELr | 9.61$^{e}$ | 44.12$^{a}$ | 47.82$^{a}$ |
| ۸<br>UM2%Lr + ECAs | 12.01$^{d}$ | 28.73$^{c}$ | 34.69$^{d}$ |
| ۹<br>UM4%E0 | 15.89$^{a}$ | 13.96$^{e}$ | 27.63$^{g}$ |
| ۱۰<br>UM4%ECAs | 10.77$^{e}$ | 14.30$^{e}$ | 25.53$^{h}$ |
| ۱۱<br>UM4%Lr | 12.90$^{d}$ | 22.57$^{d}$ | 32.57$^{e}$ |
| ۱۲<br>UM4%Lr + ECAs | 13.28$^{cd}$ | 26.93$^{c}$ | 36.64$^{d}$ |
| ۱۳<br>UM6%E0 | 14.76$^{b}$ | 15.54$^{e}$ | 28.01$^{g}$ |
| ۱۴<br>UM6%ECAs | 10.66$^{e}$ | 7.83$^{fg}$ | 17.66$^{ij}$ |
| ۱۵<br>UM6%Lr | 12.33$^{bc}$ | 28.20$^{c}$ | 29.87$^{h}$ |
| ۱۶<br>UM6%Lr + ECAs | 14.21$^{bc}$ | 27.06$^{c}$ | 21.98$^{h}$ |
| مقدار احتمال معنی‌داری<br>P-value | 0.001 | 0.001 | 0.001 |
| میانگین خطای استاندارد<br>SEM | 0.39 | 0.59 | 0.54 |

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و بدون آنزیم (UM0E0)، ۲- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM0CAs)، ۳- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با شیرابه شکمبه (UM0Lr)، ۴- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM0Lr + ECAs)، ۵- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و بدون آنزیم (UM2%E0)، ۶- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM2%ECAs)، ۷- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM2%ELr)، ۸- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM2%Lr + ECAs)، ۹- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و بدون آنزیم (UM4%E0)، ۱۰- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM4%ECAs)، ۱۱- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM4%Lr)، ۱۲- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه ( UM4%Lr + ECAs)، ۱۳- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و بدون آنزیم (UM6%E0)، ۱۴- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM6%ECAs)، ۱۵- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM6%Lr)، ۱۶- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM6%Lr + ECAs).

حروف انگلیسی نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده احتمال معنی‌داری در سطح پنج درصد می‌باشد.

–Experimental treatments include: 1- Chickpea straw containing urea, without molasses and without enzyme (UM0E0), 2- Chickpea straw containing urea, without molasses and with fungal cellulase enzyme (UM0CAs), 3- Chickpea straw containing urea, without molasses and with rumen liquid (UM0Lr), 4- Chickpea straw containing urea, without molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM0Lr + ECAs), 5- Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and without enzyme (UM2%E0), 6 - Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM2%ECAs), 7- Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and rumen liquid (UM2%ELr), 8- Chickpea straw containing urea, with Two percent molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM2%Lr + ECAs), 9- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and no enzyme (UM4%E0), 10- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM4%ECAs), 11- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and rumen liquid (UM4%Lr), 12- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and with an equal proportion of cellulase enzyme and rumen liquid (UM4%Lr + ECAs), 13- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and without enzyme (UM6%E0), 14- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM6% ECAs), 15- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and rumen liquid (UM6%Lr), 16- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM6%Lr + ECAs).

[a, b]: English letters in each line indicate a significant difference between the means at the probability level (P<0.05).

**جدول ٤**- تأثیر فرآوری کاه نخود با اوره، ملاس و آنزیم بر میزان گاز تولید شده (میلی‌لیتر به‌ازای هر گرم نمونه) در ساعات مختلف انکوباسیون

**Table 4-** The effect of processing chickpea straw with urea, molasses and enzyme on the amount of gas produced (ml/g of sample) at different incubation hours

| تیمارها<br>Treatments | ساعت ۲<br>2 hours | ساعت ٤<br>4 hours | ساعت ٦<br>6 hours | ساعت ۸<br>8 hours | ساعت ۱۲<br>12 hours | ساعت ۲٤<br>24 hours | ساعت ٤۸<br>48 hours | ساعت ۷۲<br>72 hours | ساعت ۹٦<br>96 hours |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۱<br>UM0E0 | 43.33$^{c}$ | 70.02$^{bc}$ | 45.02$^{ef}$ | 83.37$^{cde}$ | 116.70$^{bc}$ | 136.68$^{bc}$ | 141.68$^{bcd}$ | 145.85$^{bcd}$ | 146.37$^{bc}$ |
| ۲<br>UM0CAs | 53.33$^{bc}$ | 71.68$^{bc}$ | 81.68$^{bcd}$ | 91.70$^{bcd}$ | 113.37$^{bc}$ | 128.35$^{bcd}$ | 133.35$^{bcde}$ | 135.85$^{bcde}$ | 136.20$^{bcd}$ |
| ۳<br>UM0Lr | 50$^{bc}$ | 73.35$^{bc}$ | 86.68$^{bcd}$ | 95.03$^{bcd}$ | 125.03$^{bc}$ | 145.02$^{bc}$ | 151.68$^{bc}$ | 155.85$^{bc}$ | 156.20$^{bc}$ |
| ۴<br>UM0Lr + ECAs | 48.33$^{bc}$ | 70.02$^{bc}$ | 78.35$^{bcd}$ | 86.70$^{bcd}$ | 108.37$^{bc}$ | 126.68$^{bcd}$ | 131.68$^{bcde}$ | 133.18$^{bcd}$ | 133.53$^{bcd}$ |
| ۵<br>UM2%E0 | 71.66$^{a}$ | 103.35$^{a}$ | 125.02$^{a}$ | 140.03$^{a}$ | 175.03$^{a}$ | 196.68$^{a}$ | 200.02$^{a}$ | 202.52$^{a}$ | 202.87$^{a}$ |
| ۶<br>UM2%ECAs | 21.66$^{d}$ | 35.02$^{d}$ | 45.02$^{ef}$ | 56.70$^{ef}$ | 73.37$^{de}$ | 86.68$^{ef}$ | 91.68$^{f}$ | 94.18$^{f}$ | 94.53$^{e}$ |
| ۷<br>UM2%ELr | 42.51$^{c}$ | 58.35$^{c}$ | 68.37$^{de}$ | 77.53$^{def}$ | 94.20$^{cd}$ | 114.20$^{cde}$ | 116.70$^{cdef}$ | 118.35$^{cdef}$ | 118.68$^{cde}$ |
| ۸<br>UM2%Lr + ECAs | 49.18$^{bc}$ | 73.35$^{bc}$ | 91.70$^{bcd}$ | 107.53$^{bc}$ | 132.53$^{b}$ | 157.53$^{b}$ | 160.03$^{b}$ | 161.68$^{b}$ | 162.02$^{b}$ |
| ۹<br>UM4%E0 | 45.85$^{bc}$ | 63.35$^{bc}$ | 80.03$^{bcd}$ | 97.53$^{bcd}$ | 122.53$^{bc}$ | 147.53$^{bc}$ | 152.53$^{bc}$ | 155.02$^{bc}$ | 155.52$^{bc}$ |
| ۱۰<br>UM4%ECAs | 50.85$^{bc}$ | 73.35$^{bc}$ | 90.03$^{bcd}$ | 105.87$^{bcd}$ | 130.87$^{b}$ | 160.87$^{b}$ | 165.87$^{ab}$ | 167.52$^{ab}$ | 167.85$^{ab}$ |
| ۱۱<br>UM4%Lr | 52.51$^{bc}$ | 76.68$^{bc}$ | 96.70$^{bc}$ | 114.20$^{ab}$ | 137.53$^{b}$ | 164.20$^{ab}$ | 170.03$^{ab}$ | 172.52$^{ab}$ | 172.85$^{ab}$ |
| ۱۲<br>UM4%Lr + ECAs | 60.85$^{ab}$ | 86.68$^{ab}$ | 105.03$^{ab}$ | 115.87$^{ab}$ | 139.20$^{b}$ | 164.20$^{ab}$ | 168.37$^{ab}$ | 170.02$^{ab}$ | 170.18$^{ab}$ |
| ۱۳<br>UM6%E0 | 50.85$^{bc}$ | 71.68$^{bc}$ | 86.70$^{bcd}$ | 97.53$^{bcd}$ | 120.87$^{bc}$ | 145.87$^{bc}$ | 150.87$^{bc}$ | 152.52$^{bcd}$ | 153.02$^{bc}$ |
| ۱۴<br>UM6%ECAs | 22.51$^{d}$ | 33.35$^{d}$ | 45.03$^{ef}$ | 54.20$^{f}$ | 70.87$^{de}$ | 195.87$^{a}$ | 100.87$^{ef}$ | 102.52$^{ef}$ | 103.02$^{de}$ |
| ۱۵<br>UM6%Lr | 49.18$^{bc}$ | 68.35$^{bc}$ | 81.70$^{bcd}$ | 92.53$^{bcd}$ | 114.20$^{bc}$ | 137.53$^{bc}$ | 142.53$^{bcd}$ | 145.85$^{bcd}$ | 147.68$^{bc}$ |
| ۱۶<br>UM6%Lr + ECAs | 21.66$^{d}$ | 35$^{d}$ | 41.67$^{f}$ | 53.35$^{f}$ | 60.02$^{e}$ | 78.33$^{f}$ | 111.67$^{cdef}$ | 115.83$^{def}$ | 117.48$^{cde}$ |
| مقدار احتمال معنی‌داری<br>P-value | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 |
| میانگین خطای استاندارد<br>SEM | 5.13 | 7.08 | 8.09 | 8.82 | 10.26 | 11.14 | 11.71 | 11.64 | 11.65 |

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و بدون آنزیم (UM0E0)، ۲- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM0CAs)، ۳- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با شیرابه شکمبه (UM0Lr)، ۴- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM0Lr + ECAs)، ۵- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و بدون آنزیم (UM2%E0)، ۶- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM2%ECAs)، ۷- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM2%ELr)، ۸- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM2%Lr + ECAs)، ۹- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و بدون آنزیم (UM4%E0)، ۱۰- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM4%ECAs)، ۱۱- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM4%Lr)، ۱۲- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM4%Lr + ECAs)، ۱۳- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و بدون آنزیم (UM6%E0)، ۱۴- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM6%ECAs)، ۱۵- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM6%Lr)، ۱۶- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM6%Lr + ECAs).

حروف انگلیسی نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد برای هر متغیر می‌باشد.

–Experimental treatments include: 1- Chickpea straw containing urea, without molasses and without enzyme (UM0E0), 2- Chickpea straw containing urea, without molasses and with fungal cellulase enzyme (UM0CAs), 3- Chickpea straw containing urea, without molasses and with rumen liquid (UM0Lr), 4- Chickpea straw containing urea, without molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM0Lr + ECAs), 5- Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and without enzyme (UM2%E0), 6 - Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM2%ECAs), 7- Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and rumen liquid (UM2%ELr), 8- Chickpea straw containing urea, with Two percent molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM2%Lr + ECAs), 9- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and no enzyme (UM4%E0), 10- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM4%ECAs), 11- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and rumen liquid (UM4%Lr), 12- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and with an equal proportion of cellulase enzyme and rumen liquid (UM4%Lr + ECAs), 13- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and without enzyme (UM6%E0), 14- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM6% ECAs), 15- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and rumen liquid (UM6%Lr), 16- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM6%Lr + ECAs).

[a, b]: English letters in each line indicate a significant difference between the means at the probability level (P<0.05).

**پتانسیل تولید گاز و نرخ ثابت ناپدید شدن**

در آزمون گاز تحقیق حاضر برای کاه نخود، بیشترین میزان پتانسیل تولید گاز A یا (a+b) در تیمار UM0CAs ۲۰۰/۵۱ میلی‌لیتر به‌ازای هر گرم ماده خشک و کمترین آن در تیمار UM2%ECAs ۹۳/۴۴ میلی‌لیتر به‌ازای هر گرم ماده خشک مشاهده شد (جدول ۵). مشایخی و همکاران (Mashayekhi *et al.*, 2007) گزارش کردند که کاهش معنی‌دار در پتانسیل تولید گاز در سطوح بالای ملاس احتمالاً به‌دلیل عدم برقراری هم‌زمانی بین منبع کربوهیدرات و منبع نیتروژن برای میکروب‌ها و همچنین با افزایش تولید اسیدهای چرب زنجیرکوتاه SCFA باشد (جدول ۶) . بین منبع کربوهیدرات و منبع نیتروژن برای فراسنجه‌های تولید گاز اثر متقابل وجود دارد و هرچه هم‌زمانی بین این دو منبع در جیره، بیشتر باشد و نسبت نیتروژن به کربوهیدرات برای برآورد نیاز میکروب‌ها، مناسب‌تر باشد، بهبود در فرآیند تخمیر در محیط تولید گاز قابل انتظار خواهد بود (Dryhurst and Wood, 1998). یولیستیانی و همکاران (Yulistiani *et al.*, 2007) در آزمایشی که بر روی توت و کاه برنج فرآوری شده با اوره و ملاس انجام دادند، گزارش کردند که افزودن ملاس تأثیر معنی‌داری بر پتانسیل تولید گاز ندارد. خراسانی و همکاران (Khorasani *et al.*, 2014) گزارش دادند که افزودن ملاس به سیلاژ برگ درخت خرما باعث کاهش پتانسیل تولید گاز می شود.

منک و استینگانس (Menke and Steinggass, 1988) گزارش نمودند، وقتی که از روش تولید گاز برای تعیین خصوصیات هضمی مواد خوراکی استفاده می‌شود، فرض بر این است که گاز تولیدی تحت تأثیر هیچ عامل دیگری جز ترکیبات شیمیایی و خصوصیات فیزیکی خوراک قرار نمی‌گیرد. تولید گاز ناشی از تخمیر پروتئین خام در مقایسه با کربوهیدرات (Wolin, 1960) نسبتاً کم می‌باشد ( Menke and Steinggass, 1988; Getachew *et al.*, 1998). تغییر در فعالیت میکروبی مایع شکمبه ممکن است روی نرخ تخمیر اثر بگذارد.

عواملی مانند منشأ میکروبی مایع شکمبه، گونه و جیره غذایی دام دهنده، زمان جمع‌آوری و حتی مدت نگهداری و نوع مواد نگهدارنده مایع شکمبه می‌توانند روی ماهیت مایع شکمبه و فعالیت میکروبی آن تأثیر بگذارند (Bueno *et al.*, 2005; Mould *et al.*, 2005; Hervas *et al.*, 2005).

میانگین نرخ ثابت ناپدید شدن در واحد زمان (C) در کاه نخود معنی‌دار بود. در کاه نخود افزودن ملاس باعث افزایش نرخ ثابت تجزیه‌پذیری در واحد زمان شد.

امّا بیشترین افزایش مربوط به تیماری بود که سطح ملاس آن دو درصد (UM2%E0) بود (۰/۱۷۵ میلی‌لیتر در ساعت). یولیستیانی و همکارانش (Yulistiani *et al.*, 2007) گزارش کردند که افزودن ملاس تا ۱۰ درصد ماده خشک به توت و کاه برنج باعث افزایش در نرخ ثابت ناپدید شدن در واحد زمان شد.

شوری‌آبی (Shoryabi, 2014) گزارش داد که افزودن ملاس به کاه کنجد باعث کاهش نرخ ثابت تجزیه‌پذیری در واحد زمان می‌شود. در کاه نخود افزودن آنزیم سلولاز قارچی و نسبت مساوی دو منبع آنزیم باعث افزایش نرخ ثابت ناپدید شدن در واحد زمان شد و نیز با افزایش سطح ملاس، تأثیر آنزیم‌های شیرابه شکمبه بر نرخ ثابت تجزیه‌پذیری افزایش یافت.

محمدآبادی و چاجی (Mohammadabadi and Chaji, 2011) نشان دادند که افزودن یک نسبت مساوی آنزیمی در سطوح مختلف به کاه کنجد باعث افزایش در نرخ ثابت ناپدید شدن شد. ترکیب سطوح مختلف ملاس با آنزیم سلولاز قارچی و نسبت مساوی دو آنزیم در کاه نخود باعث کاهش نرخ ثابت ناپدید شدن شد که با نتایج خراسانی و همکاران (Khorasani *et al.*, 2014) مطابقت دارد.

انرژی قابل متابولیسم، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، قابلیت هضم ماده آلی و انرژی ویژه شیردهی

در این پژوهش، تأثیر عمل‌آوری کاه نخود با اوره، ملاس و آنزیم (سلولاز قارچی مایع شکمبه و ترکیب دو آنزیم) در بین تیمارها بر انرژی قابل متابولیسم، قابلیت هضم ماده آلی، انرژی ویژه شیردهی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر مورد مطالعه قرار گرفت. مشاهده شد که افزودن آنزیم باعث افزایش در انرژی قابل متابولیسم، انرژی ویژه شیردهی، قابلیت هضم ماده آلی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می شود که با گزارش الگاندور و همکاران (Elghandour *et al.*, 2013) مبنی بر افزودن آنزیم بر خوراک میزان قابلیت هضم ماده آلی، انرژی متابولیسمی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر افزایش یافت که با نتایج حاضر مطابقت داشت. همچنین در گزارش دیگر نیز مشاهده شده است که افزودن آنزیم بر خوراک نشخوارکنندگان فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای نظیر قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر را به‌طور قابل توجهی بهبود می‌بخشد (Yu *et al.*, 2005). محمد آبادی و چاجی ( Mohammadabadi and Chaji, 2011) گزارش کردند که افزودن آنزیم به کاه کنجد باعث افزایش قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌شود.

**جدول ۵**- میانگین فراسنجه‌های ناپدید شدن ماده خشک برای کاه نخود فرآوری شده با اوره، ملاس و آنزیم

**Table 5**- Average disappearance parameters for chickpea straw processed with urea, molasses and enzyme

| تیمارها<br>Treatments | فراسنجه‌ها<br>Parameters<br>نرخ ثابت ناپدید شدن ماده خشک در طول زمان (میلی‌لیتر در ساعت)<br>C | پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر به‌ازای هر گرم نمونه)<br>A (a+ b) |
|---|---|---|
| ۱<br>UM0E0 | $0.13^{ed}$ | $143.94^{bcd}$ |
| ۲<br>UM0CAs | $0.17^{ab}$ | $200.51^{a}$ |
| ۳<br>UM0Lr | $0.13^{de}$ | $154.12^{bc}$ |
| ۴<br>UM0Lr + ECAs | $0.15^{abcde}$ | $150.90^{bc}$ |
| ۵<br>UM2%E0 | $0.175^{a}$ | $232.78^{a}$ |
| ۶<br>UM2%ECAs | $0.12^{f}$ | $93.44^{f}$ |
| ۷<br>UM2%ELr | $0.14^{cde}$ | $166.61^{b}$ |
| ۸<br>UM2%Lr + ECAs | $0.10^{f}$ | $102.74^{ef}$ |
| ۹<br>UM4%E0 | $0.14^{bcde}$ | $152.87^{bc}$ |
| ۱۰<br>UM4%ECAs | $0.15^{abcd}$ | $116.71^{def}$ |
| ۱۱<br>UM4%Lr | $0.14^{bcde}$ | $170.95^{ab}$ |
| ۱۲<br>UM4%Lr + ECAs | $0.14^{bcde}$ | $143.73^{bcd}$ |
| ۱۳<br>UM6%E0 | $0.16^{abc}$ | $130.83^{cde}$ |
| ۱۴<br>UM6%ECAs | $0.15^{abcde}$ | $161.11^{bc}$ |
| ۱۵<br>UM6%Lr | $0.17^{abc}$ | $167.64^{ab}$ |
| ۱۶<br>UM6%Lr + ECAs | $0.07^{g}$ | $115.03^{def}$ |
| مقدار احتمال معنی‌داری<br>P-value | 0.001 | 0.001 |
| میانگین خطای استاندارد<br>SEM | 0.010 | 11.581 |

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و بدون آنزیم (UM0E0)، ۲- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM0CAs)، ۳- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با شیرابه شکمبه (UM0Lr)، ۴- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM0Lr + ECAs)، ۵- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و بدون آنزیم (UM2%E0)، ۶- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM2%ECAs)، ۷- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM2%ELr)، ۸- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM2%Lr + ECAs)، ۹- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و بدون آنزیم (UM4%E0)، ۱۰- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM4%ECAs)، ۱۱- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM4%Lr)، ۱۲- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه ( UM4%Lr + ECAs)، ۱۳- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و بدون آنزیم (UM6%E0)، ۱۴- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM6%ECAs)، ۱۵- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM6%Lr)، ۱۶- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM6%Lr + ECAs).

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد برای هر متغیر می‌باشد.

–Experimental treatments include: 1- Chickpea straw containing urea, without molasses and without enzyme (UM0E0), 2- Chickpea straw containing urea, without molasses and with fungal cellulase enzyme (UM0CAs), 3- Chickpea straw containing urea, without molasses and with rumen liquid (UM0Lr), 4- Chickpea straw containing urea, without molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM0Lr + ECAs), 5- Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and without enzyme (UM2%E0), 6 - Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM2%ECAs), 7- Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and rumen liquid (UM2%ELr), 8- Chickpea straw containing urea, with Two percent molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM2%Lr + ECAs), 9- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and no enzyme (UM4%E0), 10- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM4%ECAs), 11- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and rumen liquid (UM4%Lr), 12- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and with an equal proportion of cellulase enzyme and rumen liquid (UM4%Lr + ECAs), 13- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and without enzyme (UM6%E0), 14- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM6% ECAs), 15- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and rumen liquid (UM6%Lr), 16- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM6%Lr + ECAs).

[a, b]: English letters in each line indicate a significant difference between the means at the probability level ($P<0.05$).

**جدول ٦**- فراسنجه‌های تغذیه‌ای برای کاه نخود فرآوری شده با اوره، ملاس و آنزیم

**Table 6**- Nutritional parameters for chickpea straw processed with urea, molasses and enzyme

| تیمارها<br>Treatments | انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)<br>ME | ماده آلی قابل هضم (درصد ماده خشک)<br>OMD | انرژی شیردهی (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)<br>NEL | اسیدهای چرب کوتاه (میلی مول)<br>SCFA |
|---|---|---|---|---|
| ۱<br>UM0E0 | 7.01$^{bcd}$ | 48.77$^{bcd}$ | 2.83$^{bcd}$ | 0.61$^{bcd}$ |
| ۲<br>UM0CAs | 6.41$^{def}$ | 45.13$^{def}$ | 2.53$^{cde}$ | 0.57$^{bcde}$ |
| ۳<br>UM0Lr | 6.87$^{cd}$ | 47.64$^{cd}$ | 2.95$^{bcd}$ | 0.65$^{bcd}$ |
| ۴<br>UM0Lr + ECAs | 6.85$^{cd}$ | 47.97$^{cd}$ | 2.59$^{cde}$ | 0.56$^{cde}$ |
| ۵<br>UM2%E0 | 8.43$^{a}$ | 57.94$^{a}$ | 4.17$^{a}$ | 0.87$^{a}$ |
| ۶<br>UM2%ECAs | 5.48$^{f}$ | 38.59$^{g}$ | 1.65$^{f}$ | 0.38fg |
| ۷<br>UM2%ELr | 6.36$^{def}$ | 44.43$^{defg}$ | 2.31$^{def}$ | 0.51$^{def}$ |
| ۸<br>UM2%Lr + ECAs | 7.15$^{abc}$ | 49.09$^{bcd}$ | 3.27$^{bc}$ | 0.7$^{bc}$ |
| ۹<br>UM4%E0 | 7.51$^{abc}$ | 52.65$^{abc}$ | 3.07$^{bcd}$ | 0.66$^{bcd}$ |
| ۱۰<br>UM4%ECAs | 7.60$^{abc}$ | 52.63$^{abc}$ | 3.37$^{bc}$ | 0.72$^{bc}$ |
| ۱۱<br>UM4%Lr | 7.97$^{ab}$ | 55.65$^{a}$ | 3.46$^{ab}$ | 0.73$^{ab}$ |
| ۱۲<br>UM4%Lr + ECAs | 7.93$^{ab}$ | 55.15$^{ab}$ | 3.47$^{ab}$ | 0.73$^{ab}$ |
| ۱۳<br>UM6%E0 | 7.47$^{abc}$ | 51.97$^{abc}$ | 3.07$^{bcd}$ | 0.65$^{bcd}$ |
| ۱۴<br>UM6%ECAs | 5.86$^{ef}$ | 41.16$^{efg}$ | 1.89$^{ef}$ | 0.43$^{efg}$ |
| ۱۵<br>UM6%Lr | 6.74$^{cde}$ | 46.51$^{cde}$ | 2.82$^{bcd}$ | 0.62$^{bcd}$ |
| ۱۶<br>UM6%Lr + ECAs | 5.64$^{f}$ | 39.99$^{fg}$ | 1.51$^{f}$ | 0.35$^{g}$ |
| مقدار احتمال معنی‌داری<br>P-value | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 |
| میانگین خطای استاندارد<br>SEM | 0.30 | 1.98 | 0.25 | 0.05 |

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و بدون آنزیم (UM0E0)، ۲- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM0CAs)، ۳- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با شیرابه شکمبه (UM0Lr)، ۴- کاه نخود حاوی اوره، بدون ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM0Lr + ECAs)، ۵- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و بدون آنزیم (UM2%E0)، ۶- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM2%ECAs)، ۷- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM2%ELr)، ۸- کاه نخود حاوی اوره، با دو درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM2%Lr + ECAs)، ۹- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و بدون آنزیم (UM4%E0)، ۱۰- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM4%ECAs)، ۱۱- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM4%Lr)، ۱۲- کاه نخود حاوی اوره، با چهار درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM4%Lr + ECAs)، ۱۳- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و بدون آنزیم (UM6%E0)، ۱۴- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با آنزیم سلولاز قارچی (UM6%ECAs)، ۱۵- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با شیرابه شکمبه (UM6%Lr)، ۱۶- کاه نخود حاوی اوره، با شش درصد ملاس و با نسبت مساوی آنزیم سلولاز و شیرابه شکمبه (UM6%Lr + ECAs).

حروف انگلیسی نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده احتمال معنی‌داری در سطح پنج درصد می‌باشد.

–Experimental treatments include: 1- Chickpea straw containing urea, without molasses and without enzyme (UM0E0), 2- Chickpea straw containing urea, without molasses and with fungal cellulase enzyme (UM0CAs), 3- Chickpea straw containing urea, without molasses and with rumen liquid (UM0Lr), 4- Chickpea straw containing urea, without molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM0Lr + ECAs), 5- Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and without enzyme (UM2%E0), 6 - Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM2%ECAs), 7- Chickpea straw containing urea, with two percent molasses and rumen liquid (UM2%ELr), 8- Chickpea straw containing urea, with Two percent molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM2%Lr + ECAs), 9- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and no enzyme (UM4%E0), 10- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM4%ECAs), 11- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and rumen liquid (UM4%Lr), 12- Chickpea straw containing urea, with four percent molasses and with an equal proportion of cellulase enzyme and rumen liquid (UM4%Lr + ECAs), 13- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and without enzyme (UM6%E0), 14- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and with fungal cellulase enzyme (UM6% ECAs), 15- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and rumen liquid (UM6%Lr), 16- Chickpea straw containing urea, with six percent molasses and with an equal ratio of cellulase enzyme and rumen liquid (UM6%Lr + ECAs).

[a, b]: English letters in each line indicate a significant difference between the means at the probability level (P<0.05).

افزودن ملاس در سطح دو درصد ماده خشک در کاه نخود باعث افزایش در انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی شد. افزودن ملاس در کاه نخود باعث کاهش انرژی ویژه شیردهی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر شد. در گزارشی مشاهده شد که افزودن ملاس در

سطوح دو، چهار و شش درصد ماده خشک به سیلاژ علوفه ذرت باعث افزایش در انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی شد (Ehsani *et al.*, 2019).

در گزارشی دیگر مشاهده شد که افزودن ملاس به سیلاژ علوفه گراس باعث افزایش انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی شد (Shahraki and Saravani, 2013).

در این پژوهش، ترکیب سطوح مختلف ملاس با هر یک از سه آنزیم (سلولاز قارچی، شیرابه شکمبه و ترکیب این دو) باعث افزایش در انرژی متابولیسمی و قابلیت هضم ماده آلی شد. ترکیب سطوح مختلف ملاس با شیرابه شکمبه و سلولاز قارچی باعث افزایش انرژی ویژه شیردهی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر شد. شوری‌آبی (Shoryabi, 2014) گزارش داد که افزودن ترکیب ملاس با آنزیم باعث افزایش انرژی متابولیسمی و قابلیت هضم ماده آلی کاه کنجد شد که ناشی از شکستن دیواره سلولی توسط آنزیم‌های اگزوژنوس است که با نتایج زینگ و همکاران (Xing *et al.*, 2009) مطابقت دارد.

پذیرفتن مقادیر تخمینی از معادلات رگرسیونی با بهره‌جویی از نتایج تولید گاز بر پایه مایع شکمبه و داده‌های تجزیه تقریبی خوراک‌ها، علی‌رغم شاخص اولیه کمک‌کننده، خالی از اشتباه نخواهد بود، زیرا که این معادله‌ها خواص فیزیکوشیمیایی متفاوت خوراک‌ها در شکمبه (محلول بودن و محتوی مواد ضدتغذیه‌ای) و نیز تفاوت‌های هضمی در بخش‌های پایین‌تر دستگاه گوارش را در نظر نمی‌گیرند (Parand and Taghizadeh, 2011) و در نهایت، خطای موجود در برآورد تجزیه تقریبی خوراک باعث اریبی اعداد از معادله‌های رگرسیونی مذکور می‌شود.

با توجه به کاربرد روش تولید گاز در ارائه اطلاعات اضافی (مثل انرژی قابل متابولیسم، انرژی شیردهی، قابلیت هضم ماده آلی و پروتئین میکروبی)، می‌توان از این روش در برآورد میزان تخمیر و مهارشدگی تخمیر و انتقال آن به بخش‌های پایین‌تر دستگاه گوارش و تخمین ارزش غذایی خوراک‌ها برای تنظیم جیره غذایی نشخوارکنندگان استفاده کرد.

## نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، براساس نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، استفاده از اوره، ملاس و منابع آنزیمی شامل سلولاز قارچی و مایع شکمبه توانسته است موجب افزایش ارزش غذایی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم کاه نخود شود. از بین تیمارهای آزمایشی به‌کار رفته، فرآوری کاه نخود با ۳/۵ درصد اوره به همراه ۴ درصد ملاس و آنزیم سلولاز قارچی توانست باعث بیشترین بهبود ارزش غذایی شود و بررسی نتایج به‌دست آمده در قالب آزمایش‌های حیوانی می‌تواند داده‌های حاصله را تأیید نماید که انجام پژوهش‌های بیشتر در زمینه به‌کارگیری ضایعات کشاورزی در تغذیه دام را می‌طلبد.

## References


1. Alam, M. K., Ogata, Y., Sato, Y., & Sano, H. (2016). Effects of rice straw supplemented with urea and molasses on intermediary metabolism of plasma glucose and leucine in sheep. *Asian-Australas Journal Animal Science, 29*(4), 523–529. https://doi.org/10.5713/ ajas.15.0358.
2. Alikhani, M., Alamooti, A. A., Ghorbani, G., & Sadeghi, N. (2005). Effect of urea, molasses and a bacterial inoculants on chemical composition and dry matter degradability of sunflower silage. *Journal of Crop Production, 9*(3), 171-183.
3. Alvarez, G., Pinos-Rodriguez, J. M., Herrera, J. G., Garcia, J. C., Gonzalez, S. S., & Barcena, R. (2009). Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal digestibility in steers fed high fibre rations. *Livestock Science, 121*, 150-154. https://doi.org/10.1016/j.livs ci.20 08.05.024.
4. Annison, G. (1993). The role of wheat non- starch polysaccharides in broiler nutrition. *Australian Journal of Agricultural Research, 44*, 405-422. https://doi.org/10.1071/AR993 0405
5. Banchorndhevakul, S. (2002). Effect of urea and urea-gamma treatments on cellulose degradation of Thai rice straw and corn stalk. *Radiation Physics and Chemistry, 64*, 417-422. https://doi.org/10.1016/S0969-806 X (01)00678-8
6. Beauchemin, K. A., Colombatto, D., Morgavi, D. P., & Yang, W. Z. (2002). Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *Journal Animal Science, 81*, E37-E47. https://doi.org/10.2527/2003.8114_suppl_2E37x
7. Beauchemin, K. A., Rode, L. M., Maekaw, M., Morgavi, D., & Kampen, R. (2000). Evaluation of a nonstarch polysaccharides feed enzyme in dairy cow diets. *Journal Dairy Science, 83*, 543-553. http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302 (00)74914-9.
8. Bedford, M. R., & Schulze, H. (1998). Exogenous enzymes for pigs and poultry. *Nutrition Research Reviews, 11*(1), 91–114. https://doi.org/10.1079/NRR19980007
9. Bueno, I. C. S., Sergio Calbral Filho, S. L. S., Gobbo, S. P., Louvandini, H., Vitti, D. M. S. S., & Abdalla, A. L. (2005). Influence of inoculum source in a gas production method. *Animal Feed Science and Technology, 124*, 95-

105. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci. 2005 .05.003
10. Celik, K. I., Ersoy, E., & Savran, F. (2003). Feeding of urea treated wheat straw in Saanen goat male kids. *Pakistan Journal of Nutrition, 2*, 258-261. http://dx.doi.org/10.3923/pjn.2003.258.261.
11. Chaudhry, A. S. (2000). Rumen degradation in sacco in sheep of wheat straw treated with calcium oxide, sodium hydroxide and sodium hydroxide plus hydrogen peroxide. *Animal Feed Science and Technology, 83*, 313-323. https://doi.org/10.1016/S0377-8401 (99)00134-0
12. De Figuerido, M., & Marais, J. P. (1994). The effect of bacterial inoculants on kikuyu silage quality. *Journal of Agricultural Science (Cambridge), 122*, 53-60. https://doi.org/10.1017/S0021859600065795
13. Dong, Y., Bae, H. D., McAllister, T. A., Mathison, G. W., & Cheng, K. J. (1999). The effect of exogenous fibrolytic enzymes, α-bromoethanesulfonate and monensin on digestibility of grass hay and methane production in the Rusitec. *Canadian Journal of Animal Science, 79*, 491–498. https://doi.org/10.4141/A99-024
14. Dryhurst, D., & Wood, C. D., (1998). The effect of nitrogen source and concentration on *in vitro* gas production using rumen micro-organisms. *Animal Feed Science and Technology, 71*, 131-143. https://doi.org/10.1016/S0377-8401 (97)00124-7
15. Ehsani, P., Teimouri, Yansari, A. A., Chashnidel, Y., & Ghorbani, G. (2019). The effect of Particle size and harvesting steps of forage corn on silage characteristics, digestibility and Nutrients consumption of Holstein dairy cows. *Journal Animal Environment, 11*(2), 53-62.
16. Elghandour, M. M. Y., Salem, A. Z. M., Gonzalez-Ronquillo, M., Borquez, J. L., Gado, H. M., Odongo, N. E., & Penuelas, C. G. (2013). Effects of exogenous enzymes on *in vitro* gas production kinetics and ruminal fermentation of four fibrous feeds. *Animal Feed Science and Technology, 179*, 46-53. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.11.010
17. Ensminger, M. E., Oldfield, J. E., & Heinemann, W. W. (1990). Feed and Nutrition. Second edition. Ensminger publishing company, p. 388-389.
18. France, J., Dhanoa, M. S., Theodorou, M. K., Lister, S. J., Davies, D. R., & Isac, D. (1993). A model to interpret gas accumulation profiles associated with *in vitro* degradation of ruminant feeds. *Journal of Theoretical Biology, 163*, 99-111. https://doi.org/10.1006/jtbi.1993.1109
19. Gado, H. M., Salem, A. Z. M., Odongo, N. E., & Borhami, B. E. (2011). Influence of exogenous enzymes ensiled with orange pulp on digestion, blood metabolites and growth performance in lambs. *Animal Feed Science and Technology, 165*, 131-136. https://doi.org/10.1016/j. anifeedsci.2011.02.016
20. Gado, H. M., Salem, A. Z. M., Robinson, P. H., & Hasan, M. (2009). Influence of exogenous enzymes on nutrient digestibility, extent of ruminal fermentation as well as milk production and composition in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology, 154*, 36-46. https:// doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.07.006
21. Garcia-Martinez, A., Albarran-Portillo, B., Castelan-Ortega, O. A., Espinoza-Ortega, A., & Arriaga-Jordan, J. M. (2009). Urea treated maize straw for small-scale dairy systems in the highlands of central Mexico. *Tropical Animal Health and Production, 41*(7), 1487–1494. https://doi.org/10.1007/s11250-009-9337-4
22. Gargallo, S., Calsamiglia, S., & Ferret, A. (2006). Technical note: A modified three-step in vitro procedure to determine intestinal digestion of proteins. *Journal of Animal Science, 84*, 2163- 2167. https://doi.org/10.2527/jas.2004-704
23. Gemeda, B. S., Hassen, A., & Odongo, N. E. (2014). Effect of fibrolytic enzyme products at different levels on *in vitro* ruminal fermentation of low quality feeds and total mixed ration. *Journal Animal Plant Science, 24*(5), 1293-1302. http://hdl.handle.net/2263/43587
24. Getachew, G., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (1998). The *in vitro* gas coupled with ammonia measurement for evaluation of nitrogen degradability in low quality roughages using incubation medium of different buffering capacity. *Journal Science Food Agriculture, 77*, 87- 95. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199805)77:1<87::AID-JSFA7>3.0.CO;2-X
25. Ghiasvand, M., Rezayazdi, K., & Dehghan Banadaki, M. (2012). The effects of different processing methods on chemical composition and ruminal degradability of canola straw and its effect on fattening performance of male Holstein calves, *Journal of Animal Science Research, 22*(1), 93. (In Persian)
26. Gunun, P., Wanapat, M., & Anantasook, N. (2013). Effects of physical form and urea treatment of rice straw on rumen fermentation, microbial protein synthesis and nutrient digestibility in dairy steers. *Asian-Australas Journal Animal Science, 26*(12), 1689–1697. https://doi.org/ 10.5713/ajas.2013.13190
27. Hervas, G., Frutusos, P., Giraldez, F. J., Mora, M. J., Fernandez, B., & Mantecon, A. R. (2005). Effect of preservation on fermentative activity of rumen fluid inoculum for *in vitro* gas production techniques. *Animal Feed Science and Technology, 123-124*(1), 107-118. https://doi. org / 10.1016/j.anifeedsci.2005.05.004
28. Hristov, A. N., McAllister, T. A., & Cheng, K. J. (1996). Exogenous enzymes for ruminants. Proceedings of 17th Western Nutrition Conference. Edmonton, Alberta, pp. 51-61.
29. Hristov, A. N., McAllister, T. A., & Cheng, K. J. (1998). Effect of dietary or abomasal supplementation of exogenous polysaccharide-degrading enzyme supplementation on rumen fermentation and nutrient digestibility. *Journal of Animal Science, 76*, 3146–3156. http://dx.doi.org/10.2527/1998.76123146x

30. Khorasani, H., Shojaeian, K., Yousef, M., Lahi, E., & Sharifi M. (2014). Effects of urea, molasses and fibrolytic enzymes on nutritional value of date palm leaves silage. *Annual Research and Review in Biology, 4*(24), 4305-4313. http://dx.doi.org/10.9734/ARRB/2014/7307
31. Kung, L. J. R., Lazartic, J., Wuerfel, R. L., Rode, L. M., Beauchemin, K. A., & Treacher, R. J. (2000a). The effect of various combinations of fibrolytic enzymes on the feeding value of a TMR fed to lactating cows. *Journal Dairy Science, 83*(Suppl. 1), 297.
32. Kung, L. J. R., Treacher, R. J., Nauman, G. A., Smagala, A. M., Endres, K. M., & Cohen, M. A. (2000b). The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. *Journal Dairy Science, 83*, 115-122. http://dx.doi.org/10.3168/jds. S0022-0302(00)74862-4
33. Lewis, G. E., Hunt, C. W., Sanchez, W. K., Treacher, R., Pritchard, G. T., & Feng, P. (1996). Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. *Journal of Animal Science, 74*(12), 3020–3028. https://doi.org/10.2527/1996. 74123020x
34. Mahmoodi, A., & Aliarabi, H. (2012). Effect of using different levels of exogenous fibrolytic enzymes on performance of early lactation Holstein cows. *Animal Science Research, 22*(2), 25-34. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.09.001
35. Mashayekhi, M. R., Fazaeli, H., & Zahedifar, M. (2007). Effect of urea-molasses on the nutritive value of roughage based ration incubated in buffaloe rumen liquor. *Italian Journal of Animal Science, 6*, 454-457. http://dx.doi.org/10.4081/ijas.2007.s2.454
36. Mc Donald, L., Henderson, N., & Heron, S. (1990). The biochemistry of silage. 2nd ed., Chalcombe Pub., UK.
37. Mehdikhani Bazehoze, J., Yazdani, A. R., Torbatinegad, N. M., & Ghorbani, B. (2009). Effect of treating wheat straw with urea and molasses on crude protein and crude fiber of it and blood metabolites of Dalagh lamb. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 16*((Special Issue 2)), 333-337. (In Persian)
38. Mehramiri, I., Chaji, M., Tabatabaei Vakili, S., Mohammadabadi, T., & Sari, M. (2017). The effects of replacement of mung bean (*Vigna radiate*) straw with wheat straw or corn silage on performance, rumen fermentation and blood parameters of finishing male lambs. Iranian *Journal of Animal Science Research, 9*(3), 300-313. http://dx.doi.org/10.22067/ijasr.v9i3.52536
39. Menke, K., & Steinggass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value from chemical analyses and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research Development, 28*, 7-55.
40. Mir, Z., & Mir, P. S. (1994). Effect of the addition of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth and carcass quality of steers fed high-forage or high-grain diets and on feed digestibility and *in situ* degradability, *Journal of Animal Science, 72*, 3, 537–545. https://doi.org/10. 2527/1994.723537x
41. Mohammadabadi, T., & Chaji, M. (2011). Effect of exogenous enzyme on *in vitro* fermentation of sesame straw by rumen bacteria culture. *Journal of Applied Animal Research, 39*, 161-163. https://doi.org/10.1080/09712119.2011.565227
42. Mould, F. L., Kliem, K. E., Morgan, R., & Mauricio, R. M. (2005). *In vitro* microbial inoculum: A review of its function and properties. *Animal Feed Science and Technology, 123-124*(1), 31-50. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.028
43. Muwalla, M. M, Haddad, S. G., & Hijazeen, M. A. (2007). Effect of fibrolytic enzyme inclusion in high concentrate fattening diets on nutrient digestibility and growth performance of Awassi lambs. *Livestock Science, 111*(3), 255–258. https://doi.org/10.1016/j.livsci. 2007.03.003
44. Newbold, J. (1997). Proposed mechanisms for enzymes as modifiers of ruminal fermentation. In: Proceedings of the 8th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, Gainesville, FL, USA, pp. 146–159.
45. Nocek, J. E. (1988). *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility, A Review. *Journal of Dairy Science, 67*, 2599-2612. https://doi.org/10.3168/jds. S0022-0302(88)79781-7
46. Pan, I., Suzuki, T., koike, S., Ueda, K., Kobayashi, Y., Tanaka, K., & Okubo M. (2003). Effects of urea infused into the rumen on liquid and particle associated fibrolytic enzyme activities in steers fed low-quality grass hay. *Animal Feed Science and Technology, 104*, 13-27. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(02)00324-3
47. Parand, E., & Taghizadeh, A. (2011). Examination of digestibility of processed barley grain with different methods, using gas production technique with two sources of inocola. *Animal Science Research, 4*(2), 1-13.
48. SAS / STAT User's Guide. Version 9.1 Edition. 2003. SAS Inst. Cary, NC.
49. Shahraki, E., & Saravani, M. (2013). A study on the effects of urea and molasses on the nutritional value of nutgrass (*Cyperus rotundus*) forage silos of Sistan region. *International Research Journal Applied Basic Science, 6*(12), 1793-1800.
50. Shoryabi, Z., (2014). Study of chemical composition and nutritive value of treated sesame straw by using *in vitro* gas production method. Journal of Novel Applied Sciences. -ISSN 2322-5149.
51. Soltani Naseri, K., Ghanbari, F., Bayat Kouhsar, J., & Taliey, F. (2018). Effect of chemical and biological processing methods on chemical composition, gas production parameters and *in vitro* digestibility of *Cicer arietinum* wastes. *Research on Animal Production, 9*(22), 72-82. http://dx.doi.org/10.29252/rap.9.22.72
52. Storm, E., Orskov, E. R., & Smart, R. (1983). The nutritive value of rumen micro-organisms in ruminants. 2. The

apparent digestibility and net utilization of microbial N for growing lambs. *The British Journal of Nutrition*, *50*(2), 471–478. https://doi.org/10.1079/bjn19830115

53. Stsnton, T. L., & Whittier, J. (2007). Urea and NPN for cattle and sheep. Colorado state university. Extension. Http://www.ext.Colostate.ed/ pubs/livestock/ 01608.htm.No.1. P: 608.
54. Sujani, M., Piyasena, T., Seresinhe, T., Pathirana, I., & Gajaweera, C. (2016). Supplementation of rice straw (*Oryza sativa*) with exogenous fibrolytic enzymes improves *in vitro* rumen fermentation characteristics. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, *41*, 4. https://doi.org/10.3906/vet-1503-8
55. Tahmasebi, R., Dayani, O., & kezre, A. (2011). Determination of physical, chemical and digestibility of some agricultural by-products. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *3*(4), 412-421. http://dx.doi.org/10.22067/ijasr.v3i4.12549
56. Tengyun, G. (2000). Review: Treatment and utilization of crop straw and stover in China. *Livestock Research for Rural Development*, *12*, 1.
57. Titi, H. H., & Lubbadeh, W. F. (2004). Effect of feeding cellulase enzyme on productive responses of pregnant and lactating ewes and goats. *Small Ruminant Research*, *52*, 137–143. https://doi.org/10.1016/S0921-4488 (03)00254-2
58. Van Soest, P. J. (1994). Nutrition ecology in the ruminants. Cornel University Press. Ithaca, New York, Comstock publishing associate. pp. 156-176.
59. Van Soest, P. J. (2006). Rice straw, the role of silica and treatments to improve quality. *Animal Feed Science and Technology*, *130*, (3-4), 137-171. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.20 06.01.023
60. Wang, Y., Spratling, B. M., ZoBell, D. R., Wiedmeier, R. D., & McAllister, T. A. (2004). Effect of alkali pretreatment of wheat straw on the efficacy of exogenous fibrolytic enzymes. *Journal Animal Science*, *82*, 198-208. http://dx.doi.org/10.2527/2004.821198x
61. Wolin, M. J. (1960). A theoretical rumen fermentation balance. *Journal Dairy Science*, *43*, 1452-1459.
62. Xing, L., Chen, L. J., & Han, L. J. (2009). The effect of an inoculants and enzymes on fermentation and nutritive value of sorghum straw silages. *Journal Bio- Resource Technology*, *100*, 488-491. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.017
63. Yang, H. E, Son, Y. S., & Beauchemin, K. A. (2011). Effects of exogenous enzymes on ruminal fermentation and degradability of alfalfa hay and rice straw. *Asian-Australasian Journal Animal Science*, *24*, 56–64. https://doi.org/10.5713/ajas.2011.90369
64. Yang, W. Z., Beauchemin, K. A., & Rode, L. M. (1999). Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *82*, 391-403. http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302 (99)75245-8
65. Yang, W. Z., Beauchemin, K. A., & Rode, L. M., (2000). A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. *Journal Dairy Science*, *83*, 2512-2520. https://doi. org/10.3168/jds.S0022-0302 (00)75143-5
66. Yu, P., Mckinnon, J. J., & Christensen, D. A. (2005). Improving the nutritional value of oat hulls for ruminant animals with pre-treatment of a multi-enzyme cocktail: *In vitro* studies. *Journal of Animal Science*, *83*, 1133-1141. http://dx.doi.org/10.2527/2005.8351133x
67. Yulistiani, D., Jelan, Z. A., Liang, J. B., Yaakub dan, H., & Abdullah, N. (2007). The use of *in vitro* gas production technique to evaluate molasses supplementation to mulberry (*Morus alba*) and rice straw mixed diets. *Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner*, *12*(4), 255-261. http://medpub.litbang.pertanian.go.id/index.php/jitv
68. Zinn, R. A. & Salinas, J. (1999). Influence of fibrozyme on digestive function and growth performance of feedlot steers fed a 78% concentrate growing diet. p. 313–319 in Proc. 15th Annual Symposium Biotechnology in the Feed Industr Loughborough, Leics, UK.

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

**Research Article**
**Vol. 16, No.3, 2024, p. 367-383**

# The Effect of Adding Surfactants on Appearance Specification and Nutrients Content of Processed Corn Grain using Steam-Flaked Technique

**Farzaneh Mohammadi [1], Mohsen Danesh Mesgaran [2*], Alireza Vakili [2], Abdolmansour Tahmasebi [2], Mohammad Reza Hossein Dokht [3]**

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

Received: 01-10-2023
Revised: 10-12-2023
Accepted: 23-12-2023
Available Online: 23-12-2023

**How to cite this article:**
Mohammadi, F., Danesh Mesgaran, M., Vakili, A., Tahmasebi, A., & Hossein Dokht, M. R. (2024). The effect of adding surfactants on appearance specification and nutrients content of processed corn grain using steam-flaked technique. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(4), 475-488. (in Persian with English abstract).
http://doi.org/10.22067/ijasr.2023.84688.1175

**Introduction:** Corn grain is one of the main sources of energy in the dairy cow diets; about 70% of corn's weight is due to starch. The starch granule is the basic unit of starch in corn endosperm and is a part of the starch–protein matrix. Its digestibility is influenced by the starch-protein matrix, granule morphology and size, as well as the degree of granule crystallinity and extent of granule damage. Cereal starch digestibility in ruminants is improved by an average of 10% by the application of heat, moisture and pressure during the steam flaking process. Depending on the processing method, the digestion site shifts from the rumen to the intestine, which is a significant factor in determining the rate of nutrient absorption that influences animal performance. Surface-active, foam-forming properties can increase water penetration and, consequently, the digestibility of processed grain. The most significant physicochemical property of surfactants is their ability to reduce surface tension, which is known as their interface activity. Low surface tension in rumen fluid may expedite food absorption and digestion. The main aim of this study was to evaluate the effect of various surfactants on nutrients content and appearance specification of steam-flacked corn grain.

**Materials and Methods:** In the present study, a steamed-flaked (SF) method was applied to processed corn grains. During the steaming, grains did not treated with the surfactants (CON) or treated with 1% Tween 80 (TW80),1% sodium dodecyl sulfate (SD), 1% Alum (AL), and 1% extract of *Laurus nobilis* (LN) as surfactants. The ethanolic extract of *Laurus nobilis* (Ln) was provided by dissolving 100 g of dried and ground Ln in 500 mL of 96% v/v ethanol/water and shaking for 72 hours, then, the plant extract was prepared using evaporating method. Non-treated or treated corn grains were then steamed for approximately 35 minutes at 96 °C. Scanning electron microscopy (SEM) to achieve the best scanning quality of starch granule structure and surface in processed corn grain with the surfactants through steam-flaked were taken. The samples were assayed at 25 kV accelerating voltage and 2500x magnification. Physical properties (Giger-Reverdin, 2000) and chemical composition (AOAC, 2012) were then examined. The Robertson and Eastwood, (1998) method was used to calculate water holding capacity. According to Aghajani *et al*. (2012), the grain density was calculated as the ratio of the grain's mass to the sample's particle volume. Crude protein and carbohydrate fractionations were carried out (Higgs *et al*., 2015). Protein fractions reported as NH3 (A1), soluble protein (A2), insoluble true

©2023 The author(s). This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.
http://doi.org/10.22067/ijasr.2023.84688.1175

protein (B1), fiber-bound protein (B2) and indigestible protein (C). Carbohydrates were divided into five fractions including A4 (water soluble carbohydrates or sugar), B1 (starch), B2 (soluble fiber), B3 (digestible fiber), and CC (ingestible fiber).

**Results and Discussion:** Scanning electron microscopy (SEM) analysis displayed that the processed corn grain using surfactants had larger surface starch granules than the SFC. All physical properties of the processed corn grain were significantly influenced by the chemically and physically procedures applied ($P< 0.05$). The highest bulk density was shown in LN ($P< 0.05$). Flaked corn grain treated with Tween 80 (TW80) had significantly ($P< 0.05$) higher volume compared with those of the others. The CP content of LN was higher than those of SD, TW80 and AL. Furthermore, the NDF content in SD was higher than that of LN and AL ($P< 0.05$). The total carbohydrates, non-fiber carbohydrates, digestible fiber and Indigestible fiber fractions of the processed corn grain were affected by the surfactant ($P<0.05$). The total carbohydrates and non–fiber carbohydrates fractions in LN were lower than that of the TW80, SD and AL. Digestible fiber and Indigestible fiber fractions were greater ($P< 0.05$) in AL than SD.

**Conclusion:** All processed grains showed a different starch granule structure and surface compared with that of CON. Our findings illustrated that treating corn grain with the surfactants, applied in the present study during the steaming, improved the physically and chemically properties of the grain. Various alterations in carbohydrate fractions were traced in processed corn grain with the surfactants through steam-flaked procedure. The grain treated with extract of *Laurus nobilis* showed a reduction in both non fiber carbohydrates and soluble fiber concentration.

**Keywords**: Bulk density, Carbohydrate, Steamed, Surfactant, Tween 80

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

مقاله پژوهشی
جلد ۱۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۳۸۳-۳۶۷

# اثر مواد فعال سطحی (سورفاکتانت‌ها) بر ویژگی‌های ظاهری و غلظت مواد مغذی دانه ذرت فرآوری شده با روش بخارپز- پولکی

فرزانه محمدی[۱]، محسن دانش مسگران[۲*]، سید علیرضا وکیلی[۲]، عبدالمنصور طهماسبی[۲]، محمدرضا حسین دخت[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۰۹
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۹/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۲

## چکیده

در این آزمایش از روش بخارپز- پولکی (SF) برای فرآوری دانه ذرت با استفاده از بخار اشباع در دمای ۹۶ درجه سلسیوس به‌مدت ۵۰ دقیقه استفاده شد. در مرحله پخت از مواد فعال سطحی (سورفاکتانت‌ها) شیمیایی یا گیاهی استفاده شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: دانه‌های ذرت پولکی خام (CON)، دانه‌های ذرت پولکی عمل‌آوری شده با توئین۸۰ (TW80)، دانه‌های ذرت پولکی عمل‌آوری شده با آلوم (AL)، دانه‌های ذرت پولکی عمل‌آوری شده با سدیم دودسیل سولفات (SD) و دانه‌های ذرت پولکی عمل‌آوری شده با عصاره برگ گیاه برگ بو (LN). با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، شکل ظاهری ریزذرات نشاسته در دانه‌های بخارپز و پخار پز- پولکی شده مورد بررسی قرار گرفت. علاوه‌براین، ویژگی‌های فیزیکی، غلظت مواد مغذی، بخش‌های پروتئین و کربوهیدرات نیز تعیین شد. ویژگی‌های فیزیکی شامل جرم توده‌ای، ظرفیت نگهداری آب، حجم و جرم حجمی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. جرم توده‌ای و ظرفیت نگهداری آب در LN به‌طور معنی‌داری بیشتر از AL و SD بود. دانه‌های فرآوری شده با توئین۸۰ به‌طور معنی‌داری حجم بیشتری در مقایسه با سایر دانه‌های پولکی داشتند. همچنین مقایسات مستقل LN در مقابل SD و AL نشان داد که استفاده از LN باعث کاهش معنی‌داری حجم در دانه‌های ذرت شد. غلظت چربی، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی دانه ذرت پولکی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر استفاده از سورفاکتانت‌ها قرار گرفت. غلظت پروتئین خام در LN به‌طور معنی‌داری بیشتر از AL و SD بود. مقایسه مستقل SD و AL نشان داد که استفاده از AL باعث افزایش معنی‌دار غلظت الیاف نامحلول در شوینده خنثی دانه‌های عمل‌آوری می‌شود. غلظت بخش‌های مجموع کربوهیدارت‌ها، کربوهیدارت‌های غیرالیافی، الیاف قابل هضم و الیاف غیر قابل هضم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. غلظت مجموع کربوهیدرات‌ها و کربوهیدرات‌های غیرالیافی در LN به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر دانه‌های عمل‌آوری شده بود. غلظت الیاف قابل هضم و غیر قابل هضم AL بیشتر از SD بود. به‌طور کلی، نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از سورفاکتانت‌ها در مرحله پخت با بخار در روش فرآوری بخارپز- پولکی موجب تغییر بهینه ویژگی‌های فیزیکی، شکل ظاهری ریزذرات نشاسته و غلظت بخش‌های کربوهیدرات دانه ذرت می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** بخارپز، توئین ۸۰، جرم توده‌ای، سورفاکتانت، کربوهیدرات

## مقدمه

دانه‌های غلات، به‌لحاظ تراکم انرژی قابل استفاده در نشخوارکنندگان، همواره مورد توجه تولیدکنندگان شیر و گوشت بوده است. در بین دانه‌های غلات، دانه ذرت به‌لحاظ تراکم انرژی قابل متابولیسم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Wulff *et al*., 2020). مواد مغذی دانه ذرت با اتصالاتی از نوع فیزیکی یا شیمیایی با هم در ارتباط هستند و میزان دسترسی به این مواد مغذی است که تعیین‌کننده ارزش غذایی دانه در هر گونه حیوانی است (Wulff *et al*., 2020). بنابراین، ساختار نشاسته، به‌عنوان عامل درونی، و فرآوری دانه، به‌عنوان عامل بیرونی، از مهم‌ترین عواملی هستند که قابلیت استفاده از مواد مغذی و انرژی را در دانه ذرت تحت تأثیر قرار می‌دهند (Li *et al*., 2014). به‌عنوان مثال، ماتریکس پروتئینی که در اطراف ریزذرات نشاسته دانه ذرت قرار دارد، فراتر از ویژگی خود نشاسته (اندازه ریزدانه‌ها و ترکیب نشاسته) بر میزان گوارش‌پذیری آن

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- استاد، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: danesh@um.ac.ir)
http://doi.org/10.22067/ijasr.2023.84688.1175

اثرگذار است (Allen *et al.*, 2008). لذا، به‌منظور استفاده بهینه از مواد مغذی دانه ذرت (به‌ویژه نشاسته) در حال حاضر از روش‌های فراوری شیمیایی و فیزیکی متفاوتی استفاده می‌شود (Schiff *et al.*, 2023). یکی از مهم‌ترین روش‌های متداول، استفاده از بخار اشباع برای پخت دانه همراه با پولکی کردن دانه پخت شده است (Steam Flaked). این فرآوری باعث افزایش سطح ریزذرات نشاسته قابل دسترس برای اتصال و تجمع ریزجانداران شکمبه می‌شود، و همچنین نرخ و میزان گوارش‌پذیری نشاسته را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (Xu *et al.*, 2019). تغییر شکل ظاهری ریزذرات نشاسته از دیگر عوامل مهمی است که در نتیجه فرآوری بخارپز- پولکی اتفاق می‌افتد، و می‌تواند محل گوارش نشاسته را از شکمبه به روده تغییر داده و در نتیجه، افزایش هضم روده‌ای را منجر شود. این تغییر در محل هضم موجب افزایش جذب گلوکز از دیواره روده باریک می‌گردد، که این خود می‌تواند بر عملکرد تولیدی حیوان نیز اثر مثبت بگذارد (Safaei and Yang, 2017). امّا در فراوری دانه غلات با روش بخارپز- پولکی نیاز به مصرف انرژی به‌ویژه برای تولید بخار است (Kokić *et al.*, 2022). لذا، کاهش زمان پخت دانه با بخار می‌تواند یکی از عوامل مهم و تأثیرگذار در بهره‌وری از انرژی در این روش فرآوری باشد (Song *et al.*, 2017). بدین منظور، تلاش‌هایی برای افزایش نرخ جذب بخار و کاهش زمان پخت با استفاده از پخت تحت فشار (Xu *et al.*, 2019) و یا استفاده از ترکیبات با ویژگی مواد فعال سطحی (سورفاکتانت‌ها) در مرحله پخت با بخار (Song *et al.*, 2017) صورت گرفته است. سورفاکتانت‌ها مولکول‌های دوگانه با سر آب‌دوست و دم آب‌گریز هستند که در غلظت کم باعث کاهش کشش سطحی (تنش) به‌مقدار چشمگیری می‌شوند (Hristov *et al.*, 2007). گروه‌های آب‌گریز غالباً از یک زنجیره هیدروکربنی طولانی تشکیل شده‌اند و گروه آب‌دوست دارای یک گروه یونی و یا قطبی است (Anvari *et al.*, 2015). سورفاکتانت‌ها به دو گروه سنتزی و زیستی طبقه‌بندی می‌شوند. سورفاکتانت‌های سنتزی بر اساس ساختار مولکولی به چهار دسته غیریونی، آنیونی، کاتیونی و آمفوتری تقسیم می‌شوند، که همگی آن‌ها منجر به کاهش سطحی و نیز بین سطحی می‌گردند. سورفاکتانت‌های زیستی عموماً متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند (0Ingle *et al.*, 202). تاکنون مطالعات محدودی از نظر تأثیر سوفاکتانت‌ها در هنگام فرآوری بخارپز- پولکی دانه غلات انجام شده است (Xu *et al.*, 2019). نتایج این پژوهش‌ها نشان داد که سورفاکتانت‌ها در فرآوری دانه غلات باعث کاهش کشش سطحی آب و نفوذ بهتر آن به درون دانه و در نتیجه، یکنواختی پراکنش رطوبت و همچنین کاهش زمان پخت می‌شوند (Bell and Labuza, 2000). مهم‌ترین تأثیر سورفاکتانت‌ها در روش پخت رطوبتی، افزایش پتانسیل دانه پخت شده به‌لحاظ ظرفیت نگهداری آب است (Hristov *et al.*, 2007). توئین۸۰ از جمله مواد فعال سطحی غیر یونی است که در فرآوری منابع خوراک دام استفاده می‌شود، و منجر به بهبود هضم آن‌ها نیز می‌شود (Goto *et al.*, 2003). علاوه‌براین، سورفاکتانت‌های غیریونی (توئین۸۰) می‌توانند نفوذپذیری سلولی ریزجانداران شکمبه را تغییر داده و به تبع آن تولید آنزیم توسط آن‌ها را نیز تحریک نماید (Lee *et al.*, 2003)، زیرا رشد باکتری‌ها و فعالیت شان در شکمبه به کشش سطحی مایع شکمبه ارتباط دارد (Tang *et al.*, 2021 Liu *et al.*, 2013;). هدف این آزمایش، استفاده از سورفاکتانت‌های شیمیایی و یا آلی قابل دسترس در مقایسه با یک سورفاکتانت سنتتیک (توئین ۸۰ ) به‌منظور افزایش بهره‌وری عمل‌آوری بخارپز- پولکی دانه ذرت (نوع معمولی) از طریق بررسی ویژگی‌های ظاهری ریزذرات نشاسته، ویژگی‌های فیزیکی، غلظت مواد مغذی، بخش‌بندی پروتئین و کربوهیدرات‌های آن بود. اهمیت این بررسی تبیین ایجاد تغییرات فیزیکی در دانه با حفظ ظرفیت مواد مغذی، عدم تغییر در غلظت زیر مجموعه‌های پروتئین‌دار و همچنین افزایش غلظت زیرمجموعه‌های کربوهیدرات‌ها با پتانسیل هضم بهتر در دانه ذرت است.

## مواد و روش‌ها

### دانه ذرت و سورفاکتانت

در این آزمایش، از ذرت نوع معمولی با درصد ماده خشک معادل ۹۳۰ (گرم نسبت به ماده خشک) و پروتئین خام معادل ۸۸/۹، الیاف نامحلول در شوینده خنثی معادل ۱۰۱/۹، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی معادل ۴۳/۷ و نشاسته معادل ۷۰۲/۳ بر اساس گرم در کیلوگرم ماده خشک استفاده گردید. در این پژوهش، از سورفاکتانت متفاوت سنتتیک، شیمیایی و یا آلی استفاده شد. سورفاکتانت سنتتیک توئین۸۰ (Merck KGaA 64271 Darmstadt, TW80)، و سورفاکتانت‌های سدیم دودسیل سولفات (Merck KGaA 64271 Darmstadt, SD) و آلوم یا زاج سفید با فرمول شیمیایی ($KAl(SO_4)_2.12H_2O$, AL) به‌عنوان سورفاکتانت‌های غیر آلی و از عصاره برگ گیاه برگ بو (LN) به‌عنوان سورفاکتانت آلی استفاده شد. برای تهیه عصاره برگ گیاه برگ بو، به ۱۰۰ گرم برگ آسیاب شده مقدار ۵۰۰ میلی‌لیتر محلول حاوی آب دو بار تقطیر و اتانول ۹۶ درصد (نسبت چهار به یک) اضافه شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق بر روی دستگاه همزن (Orbital shaker 3005،GFL) قرار داده شد. سپس با استفاده از کاغذ صافی ( واتمن شماره ۱) بخش محلول از مخلوط تهیه شده، جدا گردید. محلول به‌دست آمده با استفاده از دستگاه چرخنده تبخیر ( Rotary evaporators LABOROTA4000) تغلیظ شد و محصول عاری از الکل به‌عنوان عصاره در فراوری دانه ذرت مورد استفاده قرار گرفت.

**روش عمل‌آوری دانه ذرت**

پس از قرار گرفتن دانه‌های خام ذرت در مخزن پخت با بخار، مرحله پخت بدون استفاده از سورفاکتانت‌ها و یا با استفاده از آن‌ها انجام شد. در این مرحله، از سورفاکتانت‌ها به‌میزان یک درصد وزن دانه استفاده شد. دانه‌های ذرت بدون سورفاکتانت‌ها و یا با مواد فعال سطحی به‌مدت ۵۰ دقیقه مورد پخت با بخار قرار گرفتند (بخار اشباع و دمای ۹۶ درجه ساسیوس، فشار یک اتمسفر). دانه‌ها پس از خروج از محفظه پخت با بخار، بلافاصله به دستگاه فلیکر منتقل و پولکی شدند (SF). تیمارهای آزمایشی شامل: دانه ذرت پولکی خام (CON)، دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با توئین ۸۰ (TW80)، دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با آلوم (AL)، دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با سدیم دودسیل سولفات (SD) و دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با عصاره گیاه برگ بو (LN) بود.

**بررسی ریزذرات نشاسته با میکروسکوپ الکترونی**

تصاویر مربوط به ریزذرات نشاسته و ماتریکس پروتئینی دانه‌های ذرت فرآوری شده در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد و توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی (LEO 1450 VP, USA) تهیه شد. دانه‌ها در بهترین سطح خود با استفاده از نیتروژن مایع به دو قسمت تقسیم و با لایه‌ای از طلا- پالادیوم پوشش داده شدند. تصویربرداری در ولتاژ ۲۵ کیلو ولت و بزرگ‌نمایی ۲۵۰۰ انجام شد. در موارد ارزیابی با میکروسکوپ الکترونی برای رویت بهتر تغییرات استثناء هم پس از مرحله پخت و هم پس از پولکی شدن نمونه‌ها بررسی شدند.

**تعیین ویژگی‌های فیزیکی و ترکیب مواد مغذی**

ویژگی‌های فیزیکی شامل جرم توده‌ای، ظرفیت نگهداری آب، جرم حجمی و حجم دانه خام و یا دانه‌های فراوری شده مورد بررسی قرار گرفت (Reynolds *et al.*, 2000). جرم توده‌ای[1] معادل با وزن نمونه در حجم است. به این منظور، یک استوانه مدرج ۱۰۰ میلی‌لیتری با قطر داخلی ۲/۵ سانتیمتر، تا ۵۰ میلی‌لیتر با نمونه پر و برای ۱۵ ثانیه تکان داده شد. سپس، مقدار نمونه تا پر شدن استوانه و رسیدن به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر اضافه شد. وزن استوانه پرشده از نمونه ثبت و تفاضل آن از استوانه خالی معادل وزن نمونه در نظر گرفته شد (Giger-Reverdin, 2000).

برای تعیین ظرفیت نگهداری آب[2] از روش رابرتسون و ایست وود[3] (۱۹۹۸) استفاده شد. بدین منظور، ۲/۵ گرم نمونه به‌مدت ۲۴ ساعت در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر خیسانیده شد، سپس نمونه‌ها با کروزه مشبک با قطر دو صاف شدند و بعد از ۱۰ دقیقه وزن‌کشی شدند (Robertson and Eastwood, 1981).

برای اندازه‌گیری حجم و جرم حجمی[4] از پیکنومتر و تولوئن استفاده شد (Reynolds *et al.*, 2000). مقدار کافی از نمونه را درون پیکنومتر قرار داده و وزن‌کشی شد ( به‌اندازه یک سوم حجم پیکنومتر). بقیه حجم پیکنومتر با تولوئن پر شد. هوای محبوس شده درون خلل و فرج دانه‌ها داخل پیکنومتر توسط پمپ خلأ خارج شد و پر کردن بخش خالی پیکنومتر با تولوئن انجام شد ( Aghajani *et al.*, 2012).

معادله (۱)

$$V = \frac{Mtd}{\rho td} = \frac{(Mt-Mp)-(Mpts-Mps)}{\rho t}$$ و $$\rho = \frac{Mps-Mp}{Vp}$$

که در آن، Mps: وزن نمونه و پیکنومتر، Mpts: وزن پیکنومتر نمونه و تولوئن، Mp: وزن پیکنومتر خشک خالی، Mt: وزن پیکنومتر پر شده با تولوئن و ρt: دانسیته است.

برای تعیین ماده خشک نمونه‌ها از آون تحت خلأ و دمای ۶۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت استفاده شد. برای تعیین غلظت مواد مغذی میزان پروتئین خام بر اساس انجمن رسمی شیمی‌دانان کشاورزی (۲۰۰۵)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی بر اساس روش ون سوست و همکاران ( Van Soest *et al.*, 1991) و خاکستر بر اساس انجمن رسمی شیمی دانان کشاورزی (AOAC., 2012) انجام شد

برای اندازه‌گیری نشاسته نمونه‌های دانه ذرت بر اساس روش رز و همکاران (Rose *et al.*, 1991) و با استفاده از پرکلریک اسید و معرف انترن استفاده شد. مقدار آمیلوز و آمیلوپکتین نمونه‌های دانه ذرت بر اساس روش هو و همکاران (Hu and Yang, 2010) تعیین شد.

در این پژوهش، بخش‌بندی پروتئین و کربوهیدرات نمونه‌های آزمایشی بر اساس رویه سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل (CNCPS) ویرایش ۶/۵ انجام شد (Higgs *et al.*, 2015 ). مواد آزمایشی و حلال‌های مورد استفاده جهت تعیین بخش‌های محلول و غیر محلول پروتئین و کربوهیدرات‌ها بر اساس دستورالعمل‌های ارائه شده توسط هیگز و همکاران (Higgs *et al.*, 2015) تهیه شد. در این روش، پروتئین خام به پنج بخش تقسیم شد. آمونیاک معادل پروتئین ($A_1$)، پروتئین حقیقی محلول ($A_2$)، پروتئین حقیقی نامحلول ($B_1$)، پروتئین متصل به الیاف ($B_2$) و پروتئین غیر قابل هضم (C) تقسیم شدند. کربوهیدرات‌های موجود در نمونه‌های آزمایشی نیز به بخش‌های کربوهیدرات‌های کل (CHO)، کربوهیدرات‌های غیر

1- Bulk density
2- Water holding capacity
3- Robertson and Eastwood
4- Density

الیافی (NFC)، کربوهیدرات‌های محلول در آب ($A_4$)، نشاسته ($B_1$)، الیاف محلول ($B_2$)، الیاف قابل هضم ($B_3$) و الیاف غیر قابل هضم (CC)، بخش‌بندی شدند. چون نمونه‌های مورد آزمایش فاقد اسیدهای چرب و سایر اسیدهای آلی بودند، لذا در این بخش‌بندی لحاظ نشدند.

## تجزیه آماری:

داده‌های به‌دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با رویه GLM و با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ویرایش 9.4 مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. مدل ریاضی طرح آماری استفاده شده عبارت بودند از: $Yij=\mu + T_i + e_{ij}$ بود. که در آن، $Y_{ij}$: متغیر وابسته، μ: اثر ثابت میانگین، $T_i$: اثر تیمار و $e_{ij}$: خطای آزمایش است. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. تفاوت بین میانگین‌ها در سطح احتمال کمتر از پنج درصد به‌عنوان معنی‌دار گزارش شد. جهت تعیین اثرات مربوط به سورفاکتانت‌های گیاهی و شیمیایی مقایسات مستقل میانگین‌ها بین آن‌ها انجام شد.

## نتایج و بحث

تصاویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) با بزرگ‌نمایی ۲۵۰۰ برای دانه ذرت بخارپز و بخارپز- پولکی شده در شکل ۱ نشان داده شده است. نسبت انواع ریز دانه‌های نشاسته برای دانه ذرت بخارپز و بخارپز- پولکی شده در جدول ۱ آمده است. ریزدانه‌های نشاسته در دانه ذرت خام از ویژگی‌های مورفولوژیکی (شکل و اندازه) منطبق بر تیپ عمده نشاسته دانه ذرت معمولی برخوردار بود (Butrim *et al.*, 2009). ریزذرات نشاسته در دانه‌های بخارپز و یا بخارپز- پولکی شده کاملاً تحت تأثیر روش عمل‌آوری فیزیکی دانه قرار گرفت. تغییرات به‌وجود آمده به‌لحاظ روش انجام شده از یکدیگر متفاوت بود (Kokić *et al.*, 2022). تصاویر نشان داده شده در شکل ۱ به‌وضوح بیانگر ایجاد حفره و زاویه در ریزذرات نشاسته پس از پولکی کردن آن‌ها است (Zinn *et al.*, 2002). از سوی دیگر، این حفره‌ها و زوایای ایجاد شده کاملاً تحت تأثیر نوع سورفاکتانت قرار گرفت. بر اساس اطلاعات نویسندگان این مقاله، این تصاویر در ارتباط با استفاده از سورفاکتانت‌ها در فراوری پخت بخارپز- پولکی دانه ذرت برای اولین بار در منابع علمی منتشر می‌شود، که بدین لحاظ حائز اهمیت است. بر اساس تطبیق تصاویر نسبت به یکدیگر در روش بخارپز اندازه ریزذرات نشاسته به‌طور معمول بیشتر از ذرت بدون فراوری و از سوی دیگر، استفاده از سورفاکتانت‌ها همراه با پولکی کردن موجب درهم‌گسیختگی گرانول‌های نشاسته و همچنین شکل ظاهری آن‌ها گردید و تفاوت بین ریزذرات نشاسته پس از پولکی کردن با ریزذرات بخارپز بیانگر تخریب برخی از ریزذرات و همچنین رشته‌های تنیده شده در بین ریزذرات بود (Azizi and Rao., 2004). کولیک و همکاران (Kokić *et al.*, 2022) نشان دادند که روش پولکی کردن پس از پخت حرارتی باعث درهم‌گسیختگی و تغییر شکل ظاهری و آرایش ریزذرات نشاسته در دانه ذرت می‌شود. هرچند که برخی از دانه‌ها همچنان از پایداری شکلی پس از عمل‌آوری برخوردار بودند. نتایج آزمایش حاضر بیانگر این واقعیت است که در اثر استفاده از سورفاکتانت‌ها حجم ریزدانه‌های نشاسته و فاصله بین آن‌ها نیز افزایش می‌یابد (جدول ۱). هرچند که نیاز به پژوهش‌های بیشتری در خصوص علت این پدیده مورد نیاز است.

ویژگی‌های فیزیکی دانه خام ذرت و دانه‌های فراوری شده با استفاده از سورفاکتانت‌های شیمیایی و یا آلی در روش بخارپز- پولکی در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. نتایج این آزمایش نشان داد که تمامی ویژگی‌های فیزیکی دانه‌های عمل‌آوری شده تحت تأثیر نوع سورفاکتانت به‌کار برده شده قرار گرفت (P<۰/۰۵). کمترین جرم توده‌ای در SD در مقایسه با سایر عمل‌آوری‌ها مشاهده شد. مقایسات مستقل نشان داد که دانه‌های ذرت عمل‌آوری شده با عصاره برگ گیاه برگ بو نسبت به سدیم دودسیل سولفات و آلوم جرم توده‌ای بیشتری داشت (به‌ترتیب افزاش ۲۴/۶۵ و ۸/۸۲ درصدی). بیشترین و کمترین ظرفیت نگهداری آب در دانه‌های بخارپز- پولکی بدون استفاده از سورفاکتانت و دانه‌های فراوری شده با آلوم مشاهده گردید (۱/۶۸ و ۱/۴۷ مترمکعب در تن). عمل‌آوری دانه ذرت با سدیم دودسیل سولفات و آلوم نسبت به عمل‌آوری با عصاره برگ گیاه برگ بو حجم را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (P<۰/۰۵). تیمار LN با ۹۳۲/۰۵ کیلوگرم بر مترمکعب، بیشترین جرم حجمی را در بین تیمارهای آزمایشی داشت. استفاده از توئین۸۰ نسبت به سدیم دودسیل سولفات و آلوم جرم حجمی را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (کاهش به‌ترتیب ۱/۶۲ و ۱/۷۷ درصدی). استفاده از عصاره برگ گیاه برگ بو در مقایسه با سدیم دودسیل سولفات و آلوم جرم حجمی را به‌ترتیب ۸/۶۲ و ۸/۴۵ درصد افزایش داد. یکی از عوامل تأثیرگذار بر هضم نشاسته غلات، ویژگی فیزیکی نشاسته آن است (Kokić *et al.*, 2022). به نظر می‌رسد که قابلیت هضم نشاسته ذرت تحت تأثیر اندازه، درجه کریستالیزه شدن، ترکیبات غیرنشاسته‌ای در بین ریزذرات نشاسته و اثر مشترک آن‌ها با ریزذرات نشاسته در دانه باشد (Gómez *et al.*, 2016). بنابراین، نوع و میزان فرایند انجام شده به‌دلیل تغییر در ویژگی‌های فیزیکی نشاسته دانه می‌تواند باعث تغییر در قابلیت هضم آن شود (Luciano *et al.*, 2020). استفاده از روش‌های بخارپز- حرارتی همراه با پولکی کردن به‌دلیل ایجاد گاز در بین ریزذرات نشاسته موجب افزایش هضم ریزذرات و همچنین حجم بافت نشاسته‌ای به‌دلیل تفاضل بین آن‌ها می‌شود (Schiff *et al.*, 2023). استفاده از سورفاکتانت‌ها باعث افزایش نرخ جذب آب در دانه ذرت

فـراوری در روش بخـارپز می‌گـردد (Hristov *et al.*, 2007). سورفاکتانت‌های شیمیایی تاکنون مورد توجه و استفاده قرار گرفته‌انـد (Lee *et al.*, 2003). مـا در ایـن پـژوهش، ضـمن اسـتفاده از سورفاکتانت‌های شیمیایی از یک سورفاکتانت آلی نیز استفاده کـردیم. سورفاکتانت‌های آلی ضمن ویژگـی طبیعـت دوسـتی، کمتـرین زیـان ممکن در سیستم فراوری مکانیکی را نیز بـه همـراه خواهنـد داشـت (Hristov *et al.*, 2007). نتایج این آزمـایش نشـان داد کـه عصـاره برگ گیاه برگ بـو و آلـوم بـه‌عنوان سـورفاکتانت می‌تواننـد بـه‌لحاظ تغییرات ویژه‌ای که در دانه ذرت ایجاد کرده‌اند، مورد توجه قرار گیرند. به‌طور معمول، ویژگی‌های فیزیکی دانه بخارپز- پولکی با اندازه‌گیری جـرم تـوده‌ای آن تعیـین می‌شـود (Domby *et al.*, 2014). جـرم توده‌ای برای دانه ذرت پـولکی در دامنـه ۲۵۷ تـا ۴۱۲ گـرم در لیتـر گزارش شده است، که نتایج آزمایش حاضر، این نتایج را تأیید می‌کند (Trotta *et al.*, 2022). در دسترس بـودن نشاسـته بـرای دانـه‌های ذرت بخارپز- پولکی کـه جـرم تـوده‌ای در آن‌هـا ۲۷۰ گـرم در لیتـر (۸۳/۷ درصد) در مقایسه با ذرت پولکی (۴۳/۳ درصد) تقریبا دو برابـر بیشـتر اسـت (Trotta *et al.*, 2022). مناسـب‌ترین جـرم تـوده‌ای پیشنهاد شده برای دانه ذرت بخار پز- پـولکی در دامنـه ۳۲۰ تـا ۳۶۰ گرم در لیتر ( میانگین ۳۵۰ گرم در لیتر) است، کـه بهتـرین پاسـخ در تیمار SD در این آزمایش مشاهده شد (Samuelson *et al.*, 2016). با افزایش جرم توده‌ای ذرت بخارپز- پولکی از ۲۵۷ بـه ۴۱۲ گـرم در لیتر بخش محلول دانه از ۴۴/۲ به ۲۵/۹ درصد کاهش یافت. تغییراتی که در بخش‌های محلول و دارای پتانسیل هضم‌پذیری دانـه بخـارپز- پولکی رخ می‌دهد، می‌تواند به‌دلیل افزایش ضـخامت دانـه و کـاهش سطح دانه باشد (Trotta *et al.*, 2022). زین و همکـاران ( Zinn *et al.*, 2002)، جرم توده‌ای در ذرت‌هـای پـولکی شـده را ۳۰۰، ۳۶۰ و ۴۲۰ گرم در لیتر گزارش کردند، که ایـن آزمـایش نتـایج آن را تأییـد می‌کند. در آزمایشی تأثیر جرم توده‌ای مختلـف بـر عملکـرد گاوهـای گوشتی مورد آزمایش قرار گرفت. دامنه جرم توده‌ای ذرت‌های پولکی مابین ۳۱۰ تـا ۳۹۰ گـرم در لیتـر گـزارش شـد ( Gutierrez *et al.*, 2018). آن‌ها گزارش کردند که بـا افـزایش جـرم تـوده‌ای هیـدرولیز آنزیمی نشاسته و مقـدار انـرژی خـام ذرت کـاهش یافـت. رحیمـی و همکاران (Rahimi *et al.*, 2020)، جرم توده‌ای دانـه ذرت بخـارپز- پولکی را ۱۱/۵±۴۰۶ گرم در لیتر گزارش کردند. آن‌ها نشان دادند که ذرت‌های با جرم توده‌ای پایین تر (پهن تر) به‌طور معنـی‌داری ناپدیـد شدن نشاسته را در شرایط درون کیسه‌ای افزایش می‌دهند.

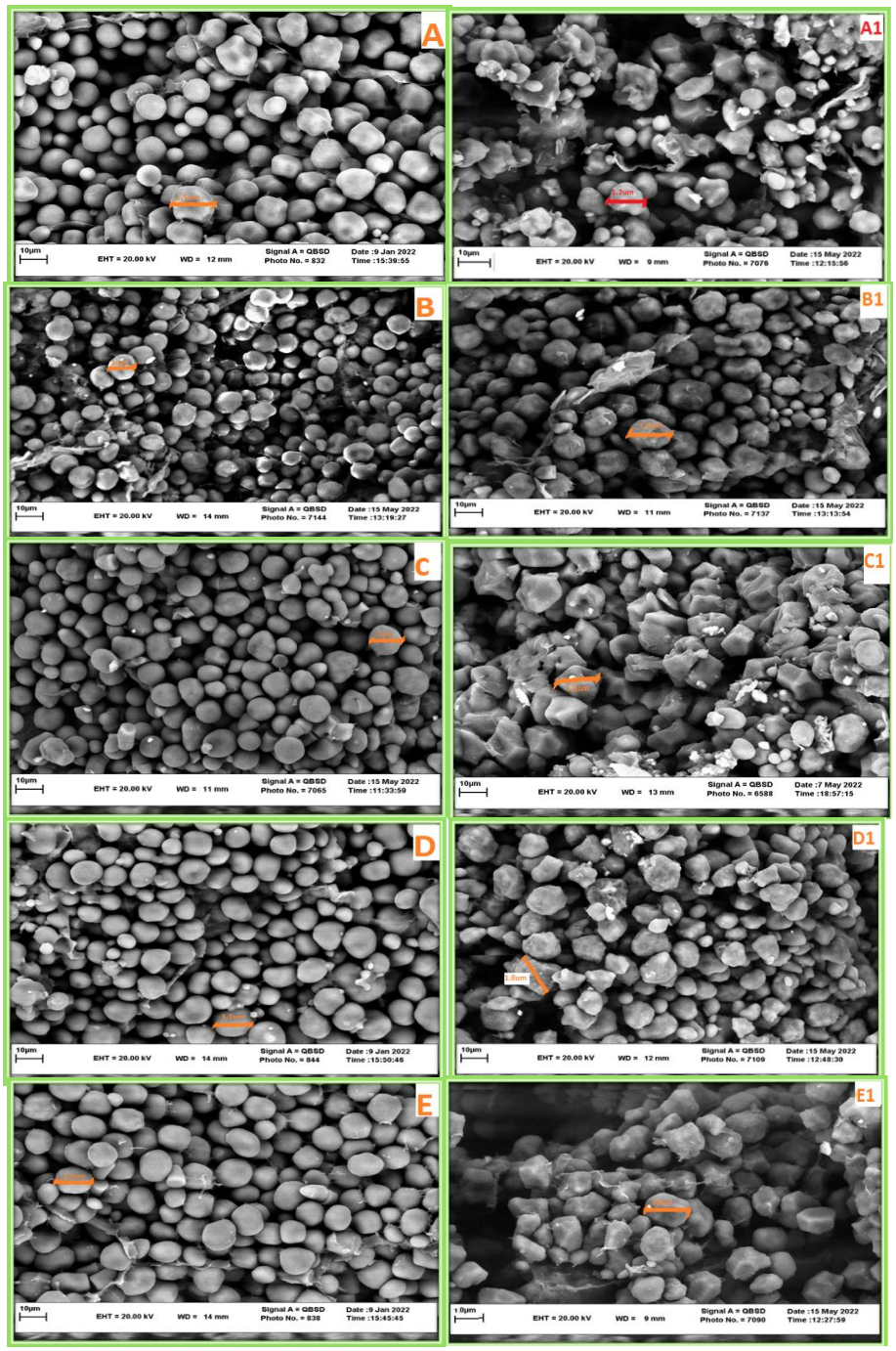
**جدول ۱**- تأثیر مرحله بخارپز و یا بخارپز- پولکی بر درصد انواع ریزدانه‌های نشاسته دانه ذرت فرآوری شده با انواع مواد فعال سطحی (سورفاکتانت‌ها)

**Table 1-** The effect of steamed and/or steamed-flaked on percentage of starch granule types of processed corn grain used various surfactants

| تیمارهای آزمایشی* Experimental treatments | انواع گرانول نشاسته ذرت Type of corn starch granule | | |
|---|---|---|---|
| | ریزذرات نشاسته نوع A A- starch granules (> 15 µm) | ریزذرات نشاسته نوع B B- starch granules (5-15 µm) | ریزذرات نشاسته نوع C C- starch granules (< 5 µm) |
| CON | 8.9 | 90.7 | 0.4 |
| LN | 9.0 | 91.5 | 0.5 |
| TW80 | 8.5 | 91.1 | 0.4 |
| SD | 9.1 | 90.6 | 0.3 |
| AL | 8.8 | 90.9 | 0.3 |
| Steamed CON | 9.3 | 90.4 | 0.3 |
| Steamed LN | 8.7 | 90.6 | 0.7 |
| Steamed TW80 | 8.7 | 90.9 | 0.4 |
| Steamed SD | 8.9 | 90.7 | 0.4 |
| Steamed AL | 8.6 | 91.0 | 0.4 |

*تیمارهای آزمایشی: CON: دانه ذرت پولکی شده خام،LN: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با عصاره برگ بو TW80: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با توئین ۸۰، SD: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با سدیم دودسیل سولفات، AL: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با آلوم، Steamed CON: دانه ذرت پخارپز شده، Steamed LN: دانه ذرت بخارپز شده عمل‌آوری شده با عصاره برگ گیاه برگ بو، Steamed TW80: دانه ذرت بخارپز شده عمل‌آوری شده با توئین۸۰، Steamed SD: دانه ذرت بخارپز شده عمل‌آوری شده با سدیم دودسیل سولفات، Steamed AL: دانه ذرت بخارپز شده عمل‌آوری شده با آلوم.

Experimental treatments were: CON: Steam-flaking of corn grain, LN: Steam-flaking of corn grain treated with extract of *Laurus nobilis*, TW80: Steam-flaking of corn grain treated with Tween80, SD: steam flaking of corn grain treated with sodium dodecyl sulfate, AL: steam flaking of corn grain treated with Alum, Steamed CON: Steamed corn grain, Steamed LN: Steamed corn grain treated with extract of *Laurus nobilis* Steamed TW80: Steamed corn grain treated with Tween 80, Steamed SD: Steamed corn grain treated with sodium dodecyl sulfate, Steamed AL: Steamed corn grain treated with Alum




**شکل ۱**- تأثیر مرحله بخارپز و یا بخارپز- پولکی بر ویژگی‌های ظاهری ریزذرات نشاسته دانه ذرت فرآوری شده با انواع مواد فعال سطحی (سورفاکتانت‌ها)

**Figure 1-** The effect of steamed and/or steamed- flaked on starch granule appearance (SEM images- 5000x) of processed corn grain used various surfactants.

*تیمارهای آزمایشی) A: دانه ذرت پولکی شده خام، B: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با عصاره برگ بو C: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با توئین ۸۰، D: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با سدیم دودسیل سولفات، E: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با آلوم، A1: دانه ذرت پخارپز شده، B1: دانه ذرت بخارپز شده عمل‌آوری شده با عصاره برگ گیاه برگ بو، C1: دانه ذرت بخارپز شده عمل‌آوری شده با توئین۸۰، D1: دانه ذرت بخارپز شده عمل‌آوری شده با سدیم دودسیل سولفات، E1: دانه ذرت بخارپز شده عمل‌آوری شده با آلوم..

Experimental treatments were) A: Steam-flaking of corn grain, B: Steam-flaking of corn grain treated with extract of *Laurus nobilis*, C: Steam-flaking of corn grain treated with Tween80, D: steam flaking of corn grain treated with sodium dodecyl sulfate, E: steam flaking of corn grain treated with Alum, A1: Steamed corn grain, B1: Steamed corn grain treated with extract of *Laurus nobilis* C1: Steamed corn grain treated with Tween 80, D1: Steamed corn grain treated with sodium dodecyl sulfate, E1: Steamed corn grain treated with Alum

**جدول ۲**- ویژگی‌های فیزیکی دانه ذرت عمل‌آوری شده با انواع مواد فعال سطحی همراه با فرآوری بخارپز- پولکی

**Table2**- The effect of various surfactants of steamed-flacked corn grain on physically properties

| خصوصیات فیزیکی Physical properties | تیمارهای آزمایشی* Experimental treatments | | | | | میانگین خطای استاندارد SEM | سطح معنی‌داری P-value | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | مقایسات مستقل Contrasts | | |
| | CON | LN | TW80 | SD | AL | | تیمار Treatment | الف A | ب B | ج C |
| جرم توده‌ای (گرم به‌ازای لیتر) Bulk density (g/L) | 403.86[a] | 408.76[a] | 372.53[b] | 327.92[c] | 375.61[b] | 5.207 | 0<0001 | 0.7749 | 0<0001 | 0<0001 |
| ظرفیت نگهداری آب (مترمکعب در تن) Water holding capacity ($m^3$/ton) | 1.68[a] | 1.66[a] | 1.63[ab] | 1.58[ab] | 1.47[b] | 0.033 | 0.0111 | 0.1688 | 0.0473 | 0.0105 |
| حجم (مترمکعب در تن) Volume($m^3$/ton) | 1.11[c] | 1.07[d] | 1.18[a] | 1.17[ab] | 1.16[b] | 0.042 | 0<0001 | 0<0001 | 0.8203 | 0<0001 |
| جرم حجمی (کیلوگرم در مترمکعب) Density (kg/$m^3$) | 898.6[b] | 932.05[a] | 844.17[d] | 858.07[c] | 859.37[c] | 3.016 | 0<0001 | 0<0001 | 0.7698 | 0<0001 |

میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند (P<0/05)

Means with different superscript letters in each row indicate significant different (P<0.05).

*تیمارهای آزمایشی شامل: CON: دانه ذرت پولکی شده خام، LN: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با عصاره برگ بو، TW80: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با توئین، SD: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با سدیم دودسیل سولفات، AL: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با آلوم

Experimental treatments were: CON: Steam-flaking of corn grain, LN: Steam-flaking of corn grain treated with extract of *Laurus nobilis*, TW80: Steam-flaking of corn grain treated with Tween80, SD: steam flaking of corn grain treated with sodium dodecyl sulfate, AL: steam flaking of corn grain treated with Alum.

مقایسات مستقل: الف: توئین ۸۰ در مقابل دیگر فعال‌کننده‌های سطحی ب: آلوم در مقابل سدیم دودسیل سولفات ج: عصاره برگ بو در مقابل آلوم و سدیم دودسیل سولفات

Contrasts: A: Tween 80 vs other surfactants, B: Alum vs sodium dodecyl sulfate, C: Extract of *Laurus nobilis* vs sodium dodecyl sulfate

داده‌های مربوط به غلظت مواد مغذی دانه‌های ذرت عمل‌آوری شده با سورفاکتانت‌ها در روش بخارپز- پولکی در جدول ۲ گزارش شده است. نتایج این آزمایش نشان داد که غلظت پروتئین خام، چربی خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی تحت تأثیر سورفاکتانت‌ها استفاده شده قرار گرفت (P<۰/۰۵). استفاده از عصاره برگ گیاه برگ بو موجب افزایش غلظت پروتئین خام دانه ذرت عمل‌آوری شده گردید. مقایسه مستقل بین عصاره برگ گیاه برگ بو با آلوم و سدیم دودسیل سولفات تفاوت معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۱). مقایسه مستقل بین آلوم و سدیم دودسیل سولفات نشان داد که استفاده از سدیم دودسیل سولفات باعث کاهش غلظت الیاف نامحلول در شوینده خنثی در دانه ذرت فرآوری شده گردید (P<۰/۰۵). غلظت چربی خام در دانه‌های ذرت عمل‌آوری شده با سدیم دودسیل سولفات (۳۶/۵۹ گرم در کیلوگرم) به‌طور معنی‌داری کمتر از ذرت‌های عمل‌آوری شده با آلوم (۳۹/۳۵ گرم در کیلوگرم) بود (P>۰/۰۵). عمل‌آوری با عصاره برگ گیاه برگ بو در مقایسه با آلوم غلظت NDF را ۲/۱۶ درصد کاهش داد (P>۰/۰۵). همچنین استفاده از سدیم دودسیل سولفات به‌عنوان یک سورفاکتانت باعث کاهش غلظت چربی خام در مقایسه با آلوم در این پژوهش شد. هدف این آزمایش، استفاده از سورفاکتانت‌های با پتانسیل متفاوت به‌منظور بررسی تأثیر آن‌ها بر ویژگی‌های فیزیکی و غلظت مواد مغذی دانه‌های فراوری شده بود. تاکنون پژوهش‌های متفاوتی برای براورد ویژگی‌های فیزیکی دانه ذرت عمل‌آوری شده در روش بخارپز- پولکی انجام شده است (Ahn *et al.*, 2019). امّا بر اساس دانسته‌های نویسندگان این مقاله برای اولین بار است که از آلوم و عصاره برگ گیاه برگ بو به‌عنوان سورفاکتانت در روش بخارپز- پولکی دانه ذرت استفاده شده است. به نظر می‌رسد که تأثیر عصاره برگ گیاه برگ بو بر پروتئین خام، ناشی از وجود ترکیبات نیتروژنه همراه با عصاره این گیاه است که در فراوری دانه ذرت استفاده شده، باشد (Stefanova *et al.*, 2020). از سوی دیگر، استفاده از سدیم دودسیل سولفات و تأثیر آن بر غلظت الیاف نامحلول در شوینده خنثی و چربی خام نیز می‌تواند ناشی از پتانسیل شویندگی این سورفاکتانت باشد (Crison *et al.*, 1997). در آزمایش تروتا و همکاران (Trotta *et al.*, 2022)، غلظت مواد مغذی دانه‌های ذرت پولکی با جرم‌های توده‌ای ۳۰۹ تا ۳۸۶ گرم در لیتر اندازه‌گیری شد. دامنه غلظت مواد مغذی عبارت بودند از: پروتئین خام ۷/۹ تا ۸/۳ درصد، NDF ۶/۷ تا ۸/۲ درصد، ADF ۳/۳ تا ۴/۶ و نشاسته ۷۸/۸ تا ۸۰ درصد ماده خشک. آزمایش حاضر، نتایج گزارش شده توسط این نویسندگان تأیید نمی‌نماید، زیرا که در این آزمایش علاوه‌بر فرآوری فیزیکی، عمل‌آوری شیمیایی با فعال‌کننده‌های سطحی نیز انجام شد. در مطالعه‌ای غلظت مواد مغذی انواع ذرت پولکی با درصدهای مختلف ژلاتیناسیون نشاسته اندازه‌گیری شد. دامنه غلظت پروتئین خام ۸۸ تا ۸۲، چربی خام ۴۹ تا ۲۹، خاکستر ۸ تا ۱۴ و نشاسته ۷۰۴ تا ۷۵۸ گرم در کیلوگرم گزارش شد. نتایج آزمایش حاضر، نتایج غلظت‌های چربی خام، خاکستر و نشاسته را تأیید می‌کند (Kang *et al.*, 2021). آن‌ها گزارش کردند که عواملی مانند دما، رطوبت و فشار، که به‌صورت همزمان اتفاق می‌افتد، می‌تواند منجر به تغییر در ساختار و غلظت مواد مغذی دانه شود. در نتایج پژوهش‌های قبل نشان داده شد که سورفاکتانت‌ها پتانسیل جذب آب توسط دانه در زمان بخارپز شدن را افزایش می‌دهند (Azizi and Rao, 2004). به نظر می‌رسد این افزایش در نرخ جذب آب همراه با تخریب رشته‌های پروتئین در ماتریکس پروتئین- نشاسته و پروتئین- چربی در داخل دانه و در نتیجه، تغییر در غلظت مواد مغذی آن‌ها باشد (Sindt *et al.*, 2006). در آزمایش حاضر، به‌منظور بررسی تأثیر سورفاکتانت‌ها در فراوری بخارپز- پولکی دانه ذرت از روش بخش‌بندی پروتئین استفاده شد (Higgs *et al.*, 2015). در این روش، پروتئین به زیربخش‌های آمونیاک، پروتئین حقیقی محلول و همچنین پروتئین حقیقی نامحلول همراه با پروتئین متصل شده به الیاف و پروتئین غیر قابل هضم تقسیم می‌گردد. به‌منظور بیان اطمینان در روش‌های عمل‌آوری دانه‌ها، در حال حاضر، از بخش‌بندی پروتئین به‌عنوان شاخص بیانگر ماهیت پروتئین استفاده می‌شود (Higgs *et al.*, 2015). نتایج مربوط به بخش‌های پروتئین‌دار دانه‌های فراوری شده بدون استفاده از سورفاکتانت و یا با استفاده از سورفاکتانت در عمل‌آوری بخارپز- پولکی در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج حاضر بیانگر مهم‌ترین ویژگی این بخش‌بندی از نقطه نظر بخش‌های پروتئین حقیقی و پروتئین قابل هضم به‌لحاظ تأثیر سورفاکتانت‌ها و روش عمل‌آوری فیزیکی است. نتایج نشان داد که استفاده از سورفاکتانت‌های آزمایش حاضر موجب تغییر در ماهیت پروتئین خام دانه‌های عمل‌آوری شده در روش بخارپز- پولکی نمی‌شود. این می‌تواند بیانگر اطمینان از عدم تأثیر منفی سورفاکتانت‌ها بر دانه‌های ذرت عمل‌آوری شده باشد (Hristov *et al.*, 2007).

**جدول۳**- ترکیب شیمیایی دانه ذرت عمل‌آوری شده با انواع مواد فعال سطحی همراه با فرآوری بخارپز- پولکی

**Table3**- The effect of various surfactants of steamed-flacked corn grain on chemical composition

| غلظت مواد مغذی(گرم به کیلوگرم) Chemical composition (g/kg) | تیمارهای آزمایشی* Experimental treatments | | | | | میانگین خطای استاندارد SEM | سطح معنی‌داری P-value | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | مقایسات مستقل Contrasts | | |
| | CON | LN | TW80 | SD | AL | | تیمار Treatment | الف A | ب B | ج C |
| چربی Eater extract | 38.29[a] | 38.50[a] | 37.72[ab] | 36.59[b] | 39.35[a] | 0.3631 | 0.0038 | 0.3305 | 0.0003 | 0.2593 |
| خاکستر Ash | 12.11 | 11.89 | 12 | 12.10 | 11.66 | 0.5329 | 0.9724 | 0.8851 | 0.5770 | 0.9942 |
| پروتئین خام Crude protein | 89.99[b] | 101.32[a] | 90.23[b] | 90.23[b] | 86.49[b] | 1.497 | 0.0004 | 0.1865 | 0.1081 | 0<0.0001 |
| نشاسته Starch | 704.43 | 702.66 | 701.8 | 703.88 | 703.95 | 1.68 | 0.7946 | 0.4018 | 0.9760 | 0.5574 |
| الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral Detergent Fiber (NDF) | 100.48[ab] | 99.55[b] | 100.27[ab] | 98.73[b] | 101.75[a] | 0.45 | 0.0088 | 0.6255 | 0.0008 | 0.2378 |
| الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid Detergent Fiber (ADF) | 43.02 | 40.19 | 42.13 | 41.21 | 42.26 | 1.7518 | 0.1547 | 0.3180 | 0.3457 | 0.1238 |
| قندهای محلول Water soluble carbohydrates | 45.82 | 42.11 | 43.85 | 45.09 | 45.26 | 1.763 | 0.6062 | 0.8853 | 0.9490 | 0.1865 |
| آمیلوز (درصد) Amylose (%) | 27.5 | 27.33 | 27.11 | 26.88 | 27.42 | 0.1922 | 0.6232 | 0.7768 | 0.2385 | 0.6442 |
| آمیلوپکتین (درصد) Amylopectin (%) | 72.50 | 72.67 | 72.89 | 73.12 | 72.58 | 0.3089 | 0.6232 | 0.7768 | 0.2385 | 0.6442 |

میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند (P<۰/۰۵)

Means with different superscript letters in each row indicate significant different (P<0.05).

*تیمارهای آزمایشی شامل: CON) دانه ذرت پولکی شده خام، LN: دانه ذرت پولکی شده با عصاره برگ بو، TW80: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با توئین، SD: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با سدیم دودسیل سولفات، AL: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با آلوم

Experimental treatments were: CON) Steam-flaking of corn grain, LN: Steam-flaking of corn grain treated with extract of *Laurus nobilis*, TW80: Steam-flaking of corn grain treated with Tween80, SD: steam flaking of corn grain treated with sodium dodecyl sulfate, AL: steam flaking of corn grain treated with Alum

مقایسات مستقل: الف: توئین ۸۰ در مقابل دیگر فعال‌کننده‌های سطحی ب: آلوم در مقابل سدیم دودسیل سولفات ج: عصاره برگ بو در مقابل آلوم و سدیم دودسیل سولفات

Contrasts: A: Tween 80 vs other surfactants, B: Alum vs sodium dodecyl sulfate, C: Extract of *Laurus nobilis* vs sodium dodecyl sulfate

دانه‌های ذرت بر اساس ماهیت شیمیایی و مقاومت فیزیکی به شش گروه اصلی شامل: ذرت دندان اسبی، ذرت شیرین، ذرت غلاف‌دار، ذرت آردی، ذرت پاپ کورن و ذرت مومی تقسیم می‌شوند (Subaedah *et al.*, 2021) زین و همکاران (Zinn *et al.*, 2002) در یک تقسیم‌بندی ساده‌تر دانه‌های ذرت را به سه دسته معمولی، واکسی و غنی از آمیلوز تقسیم کردند. در ذرت‌های واکسی غلظت آمیلوز کمتر از ذرت‌های معمولی است (Atkin *et al.*, 1998). از سوی دیگر، در این ذرت‌ها ویژگی‌های فیزیکی کربوهیدرات‌ها پس از فراوری با بخار و حرارت کاملاً متفاوت از سایر انواع ذرت است. در آزمایش حاضر، ما از ذرت معمولی استفاده کردیم که این ذرت غنی از نشاسته (حدوداً ۷۰ درصد) و کاملاً مستعد تغییر در بخش‌های کربوهیدراته پس ازفراوری است. هیگز و همکاران ( Higgs *et al.*, 2015) پیشنهاد دادند که می‌توان منابع خوراکی را بر اساس مدل‌های تامین نیاز حیوان به بخش‌های شامل مجموع کربوهیدرات‌ها، کربوهیدرات‌های غیر الیافی، الیاف غیر قابل و قابل هضم و همچنین نشاسته و قندهای محلول تقسیم کرد. بنابراین، برای شناخت بیشتر تأثیر سورفاکتانت‌ها در عمل‌آوری بخارپز- پولکی این بخش‌بندی کربوهیدرات در دانه‌های فراوری شده مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های به‌دست آمده در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بخش‌های کربوهیدراته دانه ذرت تحت تأثیر معنی‌دار نوع سورفاکتانت‌ها در روش بخارپز- پولکی قرار می‌گیرند (P<۰/۰۵). غلظت مجموع کربوهیدرات‌ها (۸۴۸/۲۹ گرم در کیلوگرم) و کربوهیدرات‌های غیر الیافی (۷۵۲/۲۴ گرم در کیلوگرم) در LN نسبت به سایر دانه‌های فراوری شده به‌طور معنی‌داری کمتر بود (P<۰/۰۵). مقایسات مستقل نشان داد که در عمل‌آوری دانه ذرت با عصاره برگ گیاه برگ بو در مقایسه با سدیم دودسیل سولفات و آلوم غلظت مجموع کربوهیدرات‌ها ( به‌ترتیب ۱/۴۸ و ۲/۴۳ درصد) و کربوهیدرات‌های غیر الیافی (به‌ترتیب ۱/۷۶ و ۱/۵۹ درصد) کاهش یافت (P<۰/۰۵). دانه‌های مربوط به گروه AL با ۹۵/۷۵ گرم در کیلوگرم بیشترین غلظت الیاف قابل هضم را در بین تیمارهای آزمایشی داشت (P<۰/۰۵). عمل‌آوری با آلوم نسبت به عمل‌آوری با سدیم دودسیل سولفات غلظت الیاف قابل هضم را افزایش معنی‌دار داد (۵۲/۶۲ درصد، P<۰/۰۵). کمترین غلظت الیاف غیر قابل هضم با ۱/۹۹ گرم در کیلوگرم در SD مشاهده شد. نتایج مقایسات مستقل نشان داد که استفاده از آلوم در مقابل سدیم دودسیل سولفات افزایش معنی‌دار داشت (۱۳/۵۶ درصد، P>۰/۰۵). با توجه به این که غلظت‌های مجموع کربوهیدرات‌ها و کربوهیدرات‌های غیر الیافی از طریق محاسبات ریاضی به‌دست می‌آید (مراجعه به قسمت مواد و روش)، احتمالاً کاهش این بخش‌ها در LN به‌دلیل افزایش غلظت پروتئین خام در این تیمار است. با افزایش مدت زمان فرآیند بخارپز- پولکی، میزان قندهای محلول و الیاف غیر قابل هضم کاهش و غلظت بخش‌های الیاف محلول و کربوهیدرات‌های غیر الیافی نسبت به دانه خام افزایش یافت (Xin *et al.*, 2021). در آزمایش زین و همکاران (Xin *et al.*, 2020)، غلظت مجموع کربوهیدرات‌های ذرت خام را ۸۶۲/۱، کربوهیدرات‌های غیر الیافی ۷۲۸/۸، نشاسته ۶۹۸/۷، قندهای محلول ۱۳/۰۱، الیاف محلول ۲۴/۷۴، الیاف قابل هضم ۱۳۱/۹۸ و الیاف غیر قابل هضم ۲/۱۵ گرم در کیلوگرم گزارش شد و نتایج آزمایش حاضر، نتایج آن‌ها را تأیید نمی‌نماید، زیرا که این نویسندگان فراوری شیمیایی در دانه ذرت انجام ندادند. اسپینوزا و همکاران (Espinosa *et al.*, 2020) بیان کردند که پخت با بخار به همراه امواج مایکروویو منجر به کاهش بخش سریع تجزیه (قندهای محلول) ، افزایش بخش متوسط تجزیه (نشاسته و الیاف محلول) و کاهش بخش غیر قابل تجزیه کربوهیدرات‌ها می‌شود.

## نتیجه‌گیری کلی

در آزمایش حاضر، تأثیر سورفاکتانت‌ها در عمل‌آوری دانه ذرت با روش بخارپز- پولکی بر شکل ظاهری ریزذرات نشاسته، ویژگی‌های فیزیکی، ترکیب مواد مغذی و زیربخش‌های پروتئین و کربوهیدرات مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های این آزمایش نشان داد که استفاده از آلوم و عصاره برگ گیاه برگ بو به‌لحاظ تأثیر بر ویژگی‌های فیزیکی و ترکیب مواد مغذی دانه ذرت پخت شده با روش بخارپز- پولکی می‌تواند به‌عنوان ترکیب مطلوب به‌جای توئین ۸۰ استفاده شوند. عدم تغییر در زیربخش‌های پروتئین‌دار دانه ذرت فرآوری شده، بیانگر آن است که سورفاکتانت‌های مورد استفاده ضمن تغییر در شکل ظاهری ریزذرات نشاسته، تأثیر نامطلوب بر کیفیت پروتئین دانه ذرت عمل‌آوری شده ندارند. سورفاکتانت‌های مورد استفاده در این آزمایش موجب تغییر در زیربخش‌های کربوهیدرات دانه شدند. هرچند که تأثیر آن‌ها از نظر ویژگی‌های مولکول‌های کربوهیدرات نیاز به بررسی بیشتری دارد. به‌طور کلی، نتایج این آزمایش نشان داد که شکل ظاهری دانه ذرت از نظر ریزذرات نشاسته به‌شدت تحت تأثیر سورفاکتانت‌های مورد استفاده در روش عمل‌آوری با بخار و پولکی کردن متعاقب آن قرار می‌گیرد. اگرچه که تأثیر غلظت‌های بیشتر سورفاکتانت‌های مورد استفاده و یا زمان پخت با بخار اشباع می‌تواند در پژوهش‌های آتی مد نظر قرار گیرد.

**جدول ٤**- بخش‌بندی پروتئین دانه ذرت عمل‌آوری شده با انواع مواد فعال سطحی همراه با فرآوری بخارپز- پولکی بر اساس سیستم CNCPS ویرایش ۶/۵

**Table 4**- The effect of various surfactants of steamed-flacked corn grain on protein fractionation (CNCPS- v 6.5)

| بخش‌بندی پروتئین( درصدی از پروتئین خام) Protein fractions (% of CP | تیمارهای آزمایشی* Experimental treatments | | | | | میانگین خطای استاندارد SEM | سطح معنی‌داری P-value | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | تیمار Treatment | مقایسات مستقل Contrasts | | |
| | | | | | | | | الف A | ب B | ج C |
| | CON | LN | TW80 | SD | AL | | | | | |
| آمونیاک (A1) Ammonia | 704.43 | 702.66 | 701.80 | 703.88 | 703.95 | 1.68 | 0.795 | 0.402 | 0.976 | 0.557 |
| پروتئین حقیقی محلول (A2) Soluble true protein | 2.62 | 2.66 | 3.59 | 2.93 | 2.66 | 0.845 | 0.9127 | 0.3993 | 0.8269 | 0.8995 |
| پروتئین حقیقی نامحلول (B1) Insoluble true protein | 88.56 | 88.40 | 88.11 | 88.27 | 88.40 | 0.4668 | 0.9904 | 0.7426 | 0.8853 | 0.9336 |
| پروتئین متصل شده به الیاف (B2) Fiber-bound protein | 2.98 | 3.38 | 3.22 | 3.22 | 3.38 | 0.1905 | 0.5670 | 0.6372 | 0.5642 | 0.7383 |
| پروتئین غیر قابل هضم ( C Indigestible protein | 5.84 | 5.55 | 5.06 | 5.57 | 5.55 | 0.2673 | 0.3964 | 0.1326 | 0.9437 | 0.9675 |

میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند (P<۰/۰۵)

Means with different superscript letters in each row indicate significant different (P<0.05).

*تیمارهای آزمایشی شامل: CON: دانه ذرت پولکی شده خام، LN: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با عصاره برگ بو، TW80: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با توئین، SD: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با سدیم دودسیل سولفات، AL: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با آلوم

Experimental treatments were: CON: Steam-flaking of corn grain, LN: Steam-flaking of corn grain treated with extract of *Laurus nobilis*, TW80: Steam-flaking of corn grain treated with Tween80, SD: steam flaking of corn grain treated with sodium dodecyl sulfate, AL: steam flaking of corn grain treated with Alum

مقایسات مستقل: الف: توئین ۸۰ در مقابل دیگر فعال‌کننده‌های سطحی ب: آلوم در مقابل سدیم دودسیل سولفات ج: عصاره برگ بو در مقابل آلوم و سدیم دودسیل سولفات

Contrasts: A: Tween 80 vs other surfactants, B: Alum vs sodium dodecyl sulfate, C: Extract of *Laurus nobilis* vs sodium dodecyl sulfate

**جدول۵- بخش‌بندی کربوهیدرات دانه ذرت عمل‌آوری شده با انواع مواد فعال سطحی همراه با فرآوری بخارپز- پولکی بر اساس سیستم CNCPS ویرایش ۶/۵**

**Table5**- The effect of various surfactants of steamed-flacked corn grain on carbohydrate fractionation (CNCPS- v 6.5)

| بخش‌بندی کربوهیدرات( گرم در کیلوگرم) Carbohydrate fractions(g/kg) | تیمارهای آزمایشی* Experimental treatments | | | | | میانگین خطای استاندارد SEM | سطح معنی‌داری P-value | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | مقایسات مستقل Contrasts | | |
| | CON | LN | TW80 | SD | AL | | تیمار Treatment | الف A | ب B | ج C |
| نشاسته (B1) Starch | 704.43 | 702.66 | 701.80 | 703.88 | 703.95 | 1.68 | 0.795 | 0.402 | 0.976 | 0.557 |
| قندهای محلول (A4) Water soluble carbohydrates | 45.82 | 42.11 | 43.85 | 45.09 | 45.26 | 1.763 | 0.6062 | 0.8853 | 0.9490 | 0.1865 |
| مجموع کربوهیدرات Carbohydrates | 859.59[a] | 848.29[b] | 860.05[a] | 861.07[a] | 869.49[a] | 1.92 | 0.0026 | 0.2406 | 0.6129 | 0.0002 |
| کربوهیدرات‌های غیر الیافی Non fiber carbohydrates | 762.92[a] | 752.24[b] | 763.28[a] | 765.77[a] | 764.47[a] | 1.91 | 0.0036 | 0.2491 | 0.6408 | 0.0003 |
| الیاف محلول (B2) Soluble fiber | 13.99 | 11.46 | 14.29 | 16.80 | 15.26 | 3.79 | 0.6945 | 0.9435 | 0.6852 | 0.1826 |
| الیاف قابل هضم (B3) Digestible fiber | 94.44[ab] | 93.87[ab] | 94.52[ab] | 93.30[b] | 95.75[a] | 0.44 | 0.0299 | 0.6926 | 0.003 | 0.2529 |
| الیاف غیر قابل هضم (CC) Indigestible fiber | 2.23[a] | 2.18[ab] | 2.25[a] | 1.99[b] | 2.26[a] | 0.049 | 0.0161 | 0.0866 | 0.0031 | 0.4199 |

میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند (P<۰/۰۵)

Means with different superscript letters in each row indicate significant different (P<0.05).

*تیمارهای آزمایشی شامل: CON: دانه ذرت پولکی شده خام، LN: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با عصاره برگ بو، TW80: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با توئین، SD: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با سدیم دودسیل سولفات، AL: دانه ذرت پولکی عمل‌آوری شده با آلوم

Experimental treatments were: CON: Steam-flaking of corn grain, LN: Steam-flaking of corn grain treated with extract of *Laurus nobilis*, TW80: Steam-flaking of corn grain treated with Tween80, SD: steam flaking of corn grain treated with sodium dodecyl sulfate, AL: steam flaking of corn grain treated with Alum

مقایسات مستقل: الف: توئین ۸۰ در مقابل دیگر فعال‌کننده‌های سطحی ب: آلوم در مقابل سدیم دودسیل سولفات ج: عصاره برگ بو در مقابل آلوم و سدیم دودسیل سولفات

Contrasts: A: Tween 80 vs other surfactants, B: Alum vs sodium dodecyl sulfate, C: Extract of *Laurus nobilis* vs sodium dodecyl sulfate

**References**


1. Aghajani, N., Ansaripour, E., & Kashaninejad, M. (2012). Effect of moisture content on physical properties of barley seeds. Journal of Agricultural Science and Technology, 14(1), 161-172. https://jast.modares.ac.ir/browse.php?a_code=A-10-1000-8472&slc_lang=en&sid=23
2. Ahn, J. S., Shin, J. S., Kim, M. J., Son, G. H., Kwon, E. G., Shim, J. Y., Kim, I. Y., Cho, S. M., Cho, S. R., & Park, B. K. (2019). A study on comparative feeding value of corn flakes according to temperature and retention time in the pressurized steam chamber. *Journal of Animal Science and Technology*, *61*(3), 170. 10.5187/jast.2019.61.3.170
3. Allen, M. S., Longuski, R. A., & Ying, Y. (2008). Endosperm type of dry ground corn grain affects ruminal and total tract digestion of starch in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* , *91*(Suppl 1), 529.
4. Anvari, S., Hajfarajollah, H., Mokhtarani, B., & Noghabi, K. A. (2015). Physiochemical and thermodynamic characterization of lipopeptide biosurfactant secreted by *Bacillus tequilensis* HK01. *RSC Advances*, *5*(111), 91836-91845. 10.1039/C5RA17275F
5. AOAC, (2012). Official Methods of Analysis, 19th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, 121-130. . 9780935584837, 0935584838
6. Atkin, N. J., Abeysekera, R. M., & Robards, A. W. (1998). The events leading to the formation of ghost remnants from the starch granule surface and the contribution of the granule surface to the gelatinization endotherm. *Carbohydrate Polymers*, *36*(2-3), 193-204. https://doi.org/10.1016/S0144-8617(98)00002-2
7. Azizi, M. H., & Rao, G. V. (2005). Effect of surfactant in pasting characteristics of various starches. *Food Hydrocolloids*, *19*(4), 739-743. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.08.003
8. Beauchemin, K. A., Yang, W. Z., & Rode, L. M. (2001). Effects of barley grain processing on the site and extent of digestion of beef feedlot finishing diets. *Journal of Animal Science*, *79*(7), 1925-1936. https://doi.org/10.2527/2001.7971925x
9. Bell, L. N., & Labuza, T. P. (2000). Pratical Aspects of Moisture Sorption Isotherm Measurement and Use, 2nd Edition. 9781891127182, 1891127187
10. Bengochea, W. L., Lardy, G. P., Bauer, M. L., & Soto-Navarro, S. A. (2005). Effect of grain processing degree on intake, digestion, ruminal fermentation, and performance characteristics of steers fed medium-concentrate growing diets. *Journal of Animal Science*, *83*(12), 2815-2825. https://doi.org/10.2527/2005.83122815x
11. Butrim, S. M., Litvyak, V. V., & Moskva, V. V. (2009). A study of physicochemical properties of extruded starches of varied biological origin. *Russian Journal of Applied Chemistry*, *82*, 1195-1199. 10.1134/S1070427209070076
12. Crison, J. R., Weiner, N. D., & Amidon, G. L. (1997). Dissolution media for *in vitro* testing of water-insoluble drugs: Effect of surfactant purity and electrolyte on *in vitro* dissolution of carbamazepine in aqueous solutions of sodium lauryl sulfate. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *86*(3), 384-388. https://doi.org/10.1021/js960105t
13. Crocker, L. M., DePeters, E. J., Fadel, J. G., Perez-Monti, H., Taylor, S. J., Wyckoff, J. A., & Zinn, R. A. (1998). Influence of processed corn grain in diets of dairy cows on digestion of nutrients and milk composition. *Journal of Dairy Science*, *81*(9), 2394-2407. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)70131-6
14. Domby, E. M., Anele, U. Y., Gautam, K. K., Hergenreder, J. E., Pepper-Yowell, A. R., & Galyean, M. L. (2014). Interactive effects of bulk density of steam-flaked corn and concentration of Sweet Bran on feedlot cattle performance, carcass characteristics, and apparent total tract nutrient digestibility. *Journal of Animal Science*, *92*(3), 1133-1143. https://doi.org/10.2527/jas.2013-7038
15. Espinosa, M. E. R., Guevara-Oquendo, V. H., Newkirk, R. W., & Yu, P. (2020). Effect of heat processing methods on the protein molecular structure, physicochemical, and nutritional characteristics of faba bean (low and normal tannin) grown in western Canada. *Animal Feed Science and Technology*, *269*, 114681. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114681
16. Giger-Reverdin, S. (2000). Characterisation of feedstuffs for ruminants using some physical parameters. *Animal Feed Science and Technology*, *86*(1-2), 53-69. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00159-0
17. Gómez, L. M., Posada, S. L., & Olivera, M. (2016). Starch in ruminant diets: a review. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, *29*(2), 77-90.
18. Goto, M., Bae, H., Lee, S. S., Yahaya, M. S., Karita, S., Wanjae, K., & Cheng, K. J. (2003). Effects of surfactant Tween 80 on forage degradability and microbial growth on the *in vitro* rumen mixed and pure cultures. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *16*(5), 672-676. doi.org/10.5713/ajas.2003.672
19. Gutierrez, B. H., Alvarez, E. G., Montano, M. F., Salinas-Chavira, J., Torrentera, N. G., & Zinn, R. A. (2018). Influence of flake density and tempering on the feeding value of steam-flaked corn for feedlot cattle. *Journal of Applied Animal Research*, *46*(1), 155-158. https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1278699
20. Higgs, R. J., Chase, L. E., Ross, D. A., & Van Amburgh, M. E. (2015). Updating the cornell net carbohydrate and protein system feed library and analyzing model sensitivity to feed inputs. *Journal of Dairy Science*, *98*(9), 6340-

6360. https://doi.org/10.3168/jds.2015-9379
21. Hristov, A. N., Zaman, S., VanderPol, M., Szasz, P., Huber, K., & Greer, D. (2007). Effect of a saponin-based surfactant and aging time on ruminal degradability of flaked corn grain dry matter and starch. *Journal of animal science*, *85*(6), 1459-1466. https://doi.org/10.2527/jas.2006-467
22. Hu, G., Burton, C., & Yang, C. (2010). Efficient measurement of amylose content in cereal grains. *Journal of Cereal Science*, *51*(1), 35-40. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.08.007
23. Ingle, A. P., Chandel, A. K., & da Silva, S. S. (Eds.). (2020). *Lignocellulosic Biorefining Technologies*. Wiley-Blackwell. 10.1002/9781119568858
24. Kang, H., Lee, M., Jeon, S., Lee, S. M., Lee, J. H., & Seo, S. (2021). Effect of flaking on the digestibility of corn in ruminants. *Journal of Animal Science and Technology*, *63*(5), 1018. 10.5187/jast.2021.e91
25. Kim, W., Gamo, Y., Sani, Y. M., Wusiman, Y., Ogawa, S., Karita, S., & Goto, M. (2006). Effect of Tween 80 on hydrolytic activity and substrate accessibility of carbohydrolase I (CBH I) from *Trichoderma viride*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *19*(5), 684-689. doi.org/10.5713/ajas.2006.684
26. Kokić, B., Dokić, L., Pezo, L., Jovanović, R., Spasevski, N., Kojić, J., & Hadnađev, M. (2022). Physicochemical changes of heat-treated corn grain used in ruminant nutrition. *Animals*, *12*(17), 2234. https://doi.org/10.1016/0377-8401(93)90061-N
27. Kokić, B., Dokić, L., Pezo, L., Jovanović, R., Spasevski, N., Kojić, J., & Hadnađev, M. (2022). Physicochemical changes of heat-treated corn grain used in ruminant nutrition. *Animals*, *12*(17), 2234. https://doi.org/10.3390/ani12172234
28. Lee, S. S., & Ha, J. K. (2003). Influences of surfactant Tween 80 on the gas production, cellulose digestion and enzyme activities by mixed rumen microorganisms. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *16*(8), 1151-1157. doi:10.5713/ajas.2003.1151.
29. Li, Q., Shi, M., Shi, C., Liu, D., Piao, X., Li, D., & Lai, C. (2014). Effect of variety and drying method on the nutritive value of corn for growing pigs. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *5*, 1-7. https://link.springer.com/article/10.1186/2049-1891-5-18#citeas
30. Liu, Y., Ran, T., Tan, Z., Tang, S., & Wang, P. (2013). Effects of surface tension and specific surface areas on *in vitro* fermentation of fiber. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, *44*, 901-910. 10.11843/j.issn.0366-6964.2013.06.011
31. Luciano, A., Tretola, M., Ottoboni, M., Baldi, A., Cattaneo, D., & Pinotti, L. (2020). Potentials and challenges of former food products (food leftover) as alternative feed ingredients. *Animals*, *10*(1), 125. https://doi.org/10.3390/ani10010125
32. McAllister, T. A., & Cheng, K. J. (1996). Microbial strategies in the ruminal digestion of cereal grains. *Animal Feed Science and Technology*, *62*(1), 29-36. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(96)01003-6
33. Rahimi, A., Naserian, A. A., Valizadeh, R., Tahmasebi, A. M., Dehghani, H., Sung, K. I., & Nejad, J. G. (2020). Effect of different corn processing methods on starch gelatinization, granule structure alternation, rumen kinetic dynamics and starch digestion. *Animal Feed Science and Technology*, *268*, 114572. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114572
34. Reynolds, W. K., Hunt, C. W., Eckert, J. W., & Hall, M. H. (1992). Evaluation of the feeding value of barley as affected by variety and location using near infrared reflectance spectroscopy. In *Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci*, *43*, 498-501., *43*, 498-501. 19941407132
35. Robertson, J. A., & Eastwood, M. A. (1981). An investigation of the experimental conditions which could affect water-holding capacity of dietary fibre. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *32*(8), 819-825. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740320811
36. Rose, R., Rose, C. L., Omi, S. K., Forry, K. R., Durall, D. M., & Bigg, W. L. (1991). Starch determination by perchloric acid vs enzymes: Evaluating the accuracy and precision of six colorimetric methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *39*(1), 2-11. https://doi.org/10.1021/jf00001a001
37. Safaei, K., & Yang, W. (2017). Effects of grain processing with focus on grinding and steam-flaking on dairy cow performance. In *Herbivores*. IntechOpen. https://doi.org/10.1111/jpn.12565
38. Samuelson, K. L., Hubbert, M. E., Galyean, M. L., & Löest, C. A. (2016). Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: the 2015 New Mexico State and Texas Tech University survey. *Journal of Animal Science*, *94*(6), 2648-2663. https://doi.org/10.2527/jas.2016-0282
39. Schiff, A. P., Trotta, R. J., Holder, V., Kreikemeier, K. K., & Harmon, D. L. (2023). *In vitro* gas production kinetics are influenced by grain processing, flake density, starch retrogradation, and *Aspergillus oryzae* fermentation extract containing α-amylase activity. *Journal of Animal Science*, *101*, skad031. https://doi.org/10.1093/jas/skad031
40. Sindt, J. J., Drouillard, J. S., Titgemeyer, E. C., Montgomery, S. P., Loe, E. R., Depenbusch, B. E., & Walz, P. H. (2006). Influence of steam-flaked corn moisture level and density on the site and extent of digestibility and feeding value for finishing cattle. *Journal of Animal Science*, *84*(2), 424-432. https://doi.org/10.2527/2006.842424x
41. Song, X., Zuo, G., & Chen, F. (2018). Effect of essential oil and surfactant on the physical and antimicrobial

properties of corn and wheat starch films. *International Journal of Biological Macromolecules*, *107*, 1302-1309. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.114

42. Stefanova, G., Girova, T., Gochev, V., Stoyanova, M., Petkova, Z., Stoyanova, A., & Zheljazkov, V. D. (2020). Comparative study on the chemical composition of laurel (*Laurus nobilis* L.) leaves from Greece and Georgia and the antibacterial activity of their essential oil. *Heliyon*, *6*(12). 10.1016/j.heliyon.2020.e05491
43. Subaedah, S. T., Edy, E., & Mariana, K. (2021). Growth, yield, and sugar content of different varieties of sweet corn and harvest time. *International Journal of Agronomy*, *2021*, 1-7. https://doi.org/10.1155/2021/8882140
44. Tang, S. X., Dang, T., Tan, Z. L., Wu, D. Q., Yan, Q. X., & Kang, J. H. (2021). Effects of nonionic surfactant source and surface tension on *in vitro* fermentation characteristics of cereal straws. *Animal Feed Science and Technology*, *276*, 114912. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114912
45. Trotta, R. J., Kreikemeier, K. K., Royle, R. F., Milton, T., & Harmon, D. L. (2022). Corn processing, flake density, and starch retrogradation influence ruminal solubility of starch, fiber, protein, and minerals. *Journal of Animal Science*, *100*(6), skac149. . https://doi.org/10.1093/jas/skab298
46. Van Amburgh, M. E., Collao-Saenz, E. A., Higgs, R. J., Ross, D. A., Recktenwald, E. B., Raffrenato, E., Chase, LE., Overton, TR., Mills, JK & Foskolos, A. (2015). The Cornell Net Carbohydrate and Protein System: Updates to the model and evaluation of version 6.5. *Journal of Dairy Science*, *98*(9), 6361-6380. https://doi.org/10.3168/jds.2015-9378
47. 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
48. Wulff, D., Chan, A., Liu, Q., Gu, F. X., & Aucoin, M. G. (2020). Characterizing internal cavity modulation of corn starch microcapsules. *Heliyon*, *6*(10). 10.1016/j.heliyon.2020.e04831
49. Xin, H., Khan, N. A., & Yu, P. (2021). Steam pressure induced changes in carbohydrate molecular structures, chemical profile and *in vitro* fermentation characteristics of seeds from new *Brassica carinata* lines. *Animal Feed Science and Technology*, *276*, 114903. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114903
50. Xin, H., Sun, F., Sun, K., Fu, Q., Li, Y., Zhang, Y., Rahman, S. U., & Khan, N. A. (2020). Batch-to-batch variation in carbohydrates molecular structures, nutritive value and biodegradation characteristics in corn coproducts. *Animal Feed Science and Technology*, *263*, 114458. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114458
51. Xu, N., Wang, D., & Liu, J. (2019). Variance of zein protein and starch granule morphology between corn and steam flaked products determined starch ruminal degradability through altering starch hydrolyzing bacteria attachment. *Animals*, *9*(9), 626. https://doi.org/10.3390/ani9090626
52. Zhong, R. Z., Li, J. G., Gao, Y. X., Tan, Z. L., & Ren, G. P. (2008). Effects of substitution of different levels of steam-flaked corn for finely ground corn on lactation and digestion in early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *91*(10), 3931-3937. https://doi.org/10.3168/jds.2007-0957
53. Zinn, R. A., F. N. Owens, & R. A. Ware. (2002). Flaking corn: Processing mechanics, quality standards, and impacts on energy availability and performance of feedlot cattle. *Journal of Animal Science* . *80*, 1145–1156. https://doi.org/10.2527/2002.8051145x.

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

**Research Article**
**Vol. 16, No.3, 2024, p. 385-400**

# Effect of Autolyzed Yeast on Performance and Physiological Indices of Broiler Chickens Reared at High Stock Density

**Samaneh Ghaseminejad[1], Somayeh Salari[2*]**

1- M.Sc. Graduated Student of Animal Science Department, Animal Science and Food Technology Faculty, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
2- Professor of Animal Science Department, Animal Science and Food Technology Faculty, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
*Corresponding Author's Email: S.Salari@asnrukh.ac.ir

Received: 21-09-2023
Revised: 26-11-2023
Accepted: 23-12-2023
Available Online: 23-12-2023

**How to cite this article:**
Ghaseminejad, S., & Salari, S. (2024). Effect of autolyzed yeast on performance and physiological indices of broiler chickens reared at high stock density. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16*(3), 385-400. (In Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/ijasr.2023.84556.1171

**Introduction:** Exposure of poultry to various environmental stressors, such as vaccination, heat stress, high stocking density, and direct contact with excrement in the litter, can stimulate the stress response, disrupt the body's immunity, and external pathogenic factors introduce to a healthy animal. Therefore, they affect natural growth and production. High stocking density can be stressful and have harmful effects on the performance and safety of broiler chickens. Among the environmental factors, stocking density is an important factor in the production of broiler chickens due to its effects on health, well-being, and performance. Stocking density is defined based on the number of birds per surface unit or the amount of surface for each bird and based on the kilogram of poultry weight per surface unit. Yeasts and yeast products can act as an alternative to antibiotics to promote growth and disease resistance in poultry. Autolyzed yeast consists of ruptured or lysed cells and includes both intracellular and cell wall parts. Autolyzed yeast is usually concentrated or dried by liquid fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*, and after autolysis or hydrolysis catalyzed by exogenous enzymes. In broiler chickens, the effects of prebiotics are partially dependent on the blocking of pathogen-adherent receptor sites, regulation of the immune system, production of antimicrobial molecules by the intestinal microbial community, and changes in the intestinal microbial structure.

**Materials and Methods:** This experiment was carried for 37 days in 3 periods including starter (1-10 days old), grower (11-24 days old) and finisher (37-25 days old) using 520 one-day-old broiler chickens of Ross 308 commercial strain in a completely randomized design based on factorial arrangement 4 x 2 with 5 replicates. Experimental treatments included different levels of autolyzed yeast (0, 0.1, 0.2 and 0.3%) and 2 density levels (10 (normal density) and 16 (high density) bird per square meter). The basal diet used was adjusted based on the requirements of broiler chickens (Ross, 2019). Food and water were provided ad-libitum. Feed intake (FI) and body weight gain (BWG) of birds were recorded and feed conversion ratio (FCR) was calculated. On the 37$^{th}$ day of the experiment, two birds from each replicate were randomly selected and the weight of different parts of the carcass including the weight of gastrointestinal tract, breast, thigh, gizzard, liver, pancreas, and spleen (as a percentage of live body weight) were recorded. Also, at this time, caecal digesta (1 g) from each bird were aseptically transferred into 9 ml of sterile saline solution and serially diluted. *Lactobacilli*, *Coliforms*, and *E.Coli* were grown on Rogosa–Sharpe agar, MacConkey Agar, and Eosin Methylene Blue Agar, respectively. Plates for *Lactobacillus* were incubated anaerobically for 48 h at 37 °C. Microbial populations for *E. coli* and *Coliforms* were counted after aerobic incubation at 37°C for 24 hours. All samples were plated in duplicate. The obtained data were statistically analyzed using SAS statistical software, GLM procedure. Also, comparison of averages

©2023 The author(s). This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

was done by Duncan's multi-range test at 5% probability level.

**Results and Discussion:** The results of the experiment showed that feed intake, body weight gain and feed conversion ratio were not affected by the interaction of yeast and density (P>0.05). However, the use of autolyzed yeast significantly reduced the feed intake in the finisher period as well as the whole period of the experiment (P<0.05). Also, birds reared in high density showed significantly less feed intake and weight gain compared to birds reared in normal density in the finisher period and the whole period of the experiment (P<0.05). The feed conversion ratio in birds fed with autolyzed yeast improved significantly compared to the control treatment in the starter period as well as the entire experimental period (P<0.05). Carcass components and cecum microbial population of broilers were not affected by the interaction of yeast and density (P>0.05). Also, birds reared in high density showed less *Lactobacillus* population in cecum compared to birds reared in normal density (P<0.05). Using levels of 0.2 and 0.3% of autolyzed yeast in the diet caused a significant decrease in the cecum *E. coli* population compared to the control treatment.

**Conclusion:** The results of the present study showed that although the use of autolyzed yeast in high density conditions could not affect the functional and physiological parameters of the animal, the use of autolyzed yeast improved the feed conversion ratio and reduced the population of *E. coli* of cecum.

**Keywords:** Carcass parts, Cecum, Feed intake, Physiological parameters, Stock density

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

مقاله پژوهشی
جلد ۱۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۴۰۰-۳۸۵

# تأثیر مخمر اتولیزشده بر شاخص‌های عملکرد رشد و فیزیولوژیکی جوجه‌های گوشتی پرورش یافته در تراکم بالا

سمانه قاسمی نژاد[۱]، سمیه سالاری[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۳۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۹/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۲

## چکیده

به‌منظور مطالعه تأثیر مخمر اتولیزشده و تراکم بالا بر عملکرد و جمعیت میکروبی روده کور جوجه‌های گوشتی، آزمایشی به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۴×۲ اجرا شد. سطوح مختلف مخمر اتولیزشده (۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ درصد) و تراکم (۱۰ و ۱۶ قطعه پرنده در مترمربع) در سه مرحله آغازین، رشد و پایانی با استفاده از ۵۲۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ مورد بررسی قرار گرفتند. استفاده از مخمر اتولیزشده باعث کاهش معنی‌دار مصرف خوراک در دوره پایانی آزمایش شد. پرورش جوجه‌ها در تراکم بالا، باعث کاهش مصرف خوراک و افزایش وزن در مقایسه با شرایط تراکم نرمال، در دوره پایانی آزمایش شد. ضریب تبدیل خوراک در پرندگان تغذیه شده با مخمر اتولیزشده به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد در دوره آغازین بهبود یافت. صفات مرتبط با عملکرد و فراسنجه‌های فیزیولوژیکی جوجه‌های گوشتی، تحت تأثیر اثر متقابل مخمر و تراکم قرار نگرفتند. همچنین، پرندگان پرورش یافته در تراکم بالا جمعیت *لاکتوباسیل* روده کور کمتری در مقایسه با پرندگان پرورش یافته در تراکم نرمال نشان دادند. سطوح ۰/۲ و ۰/۳ درصد مخمر اتولیزشده باعث کاهش معنی‌دار جمعیت *ای‌کلای* روده کور در مقایسه با شاهد شد. نتایج نشان داد که اگرچه استفاده از مخمر اتولیزشده در شرایط پرورشی متراکم نتوانست فراسنجه‌های عملکردی و فیزیولوژیکی حیوان را تحت تأثیر قرار دهد، امّا استفاده از سطوح ۰/۲ و ۰/۳ درصد مخمر اتولیزشده در جیره باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک و کاهش جمعیت *ای‌کلای* روده کور شد.

**واژه‌های کلیدی:** تراکم، اجزای لاشه، روده کور، فراسنجه‌های فیزیولوژیکی، مصرف خوراک

## مقدمه

امروزه همراه با توسعه مزارع پرورش طیور، روش‌های جدید و صنعتی پرورش نظیر افزایش تراکم، باعث قرارگرفتن طیور در معرض عوامل تنش‌زای محیطی مختلف ازجمله واکسیناسیون، تنش گرمایی، تراکم بالای گله و تماس مستقیم با فضولات در بستر شده است. این عوامل می‌تواند پاسخ تنش را تحریک، ایمنی بدن را مختل کرده، و عوامل بیماری‌زای خارجی را به یک حیوان سالم انتقال دهد. تراکم گله به روش‌های مختلفی بیان می‌شود؛ روش اول بر اساس تعداد طیور به‌ازای واحد سطح یا میزان سطح برای هر پرنده است. روش دوم بر مبنای کیلوگرم وزن طیور در واحد سطح (مجموع وزن زنده در هر مترمربع) است (Hassanabadi and Mahdipour Rabori, 2009). در کشورهای مختلف، سطح تراکم گله بسته به شرایط بازار و روش پرورش می‌تواند متغیر باشد (Abbasi *et al.*, 2019). تراکم بالای گله می‌تواند تنش‌زا باشد و تأثیرات مضری بر عملکرد و ایمنی جوجه‌های گوشتی داشته باشد (Houshmand *et al.*, 2012). در پژوهشی، با تراکم ۱۳ پرنده در مترمربع در مقایسه با تراکم شش پرنده در مترمربع، پرندگان در پایان دوره وزن نهایی و مصرف خوراک روزانه کمتری داشتند. همچنین، وزن کبد و بورس فابریسیوس با افزایش تراکم (۱۳ پرنده در مترمربع) کاهش معنی‌داری داشت (Simitzis *et al.*, 2012). یافته‌های ابودابوس و همکاران (Abudabos *et al.*, 2013) نشان داد که ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی با کاهش تراکم، در طول دوره رشد بهبود یافته است. کریدتایوپاس و همکاران (Kridtayopas *et al.*, 2019) بیان

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.
۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: S.Salari@asnrukh.ac.ir)
http://doi.org/10.22067/ijasr.2023.84556.1171

نمودند که جوجه‌های گوشتی نگهداری شده در تراکم بالا در مقایسه با تراکم نرمال، جمعیت *لاکتوباسیلوس* کمتر و *ای‌کلای* بیشتری در ژژنوم، ایلئوم و روده کور داشتند. افزایش جمعیت میکروبی مفید دستگاه گوارش می‌تواند با جلوگیری از اتصال باکتری‌های بیماری‌زا به لایه اپیتلیال دستگاه گوارش، از رشد و تکثیر این باکتری‌ها جلوگیری کند (Loh and Blaut, 2012). بنابراین، بهبود عملکرد و جمعیت میکروبی دستگاه گوارش با استفاده از افزودنی‌های مختلف شاید بتواند مفید باشد. مخمرها و محصولات مخمر می‌توانند به‌عنوان جایگزین برای آنتی‌بیوتیک‌ها برای تقویت رشد و مقاومت در برابر بیماری در طیور عمل کنند (Yalçın *et al.*, 2010).

مخمر اتولیزشده، محصول تخریب سلولی است که توسط آنزیم خاص خودش فعال می‌شود و باعث حل شدن اجزای سلولی می‌شود و می‌تواند در تغذیه حیوانات نیز مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین، استفاده از مخمر اتولیزشده در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی می‌تواند اجزای سلولی و کربوهیدرات‌های دیواره سلولی را تأمین کند (Ahiwe *et al.*, 2019b). محصولات دیواره سلولی مخمر بر غنای گونه‌ها و تنوع باکتریایی روده تأثیر می‌گذارد (Roto *et al.*, 2015). اخیراً، وو و همکاران (Wu *et al.*, 2018) دریافتند که تغذیه جوجه‌های عاری از پاتوژن با نوکلئوتیدهای مخمر جیره، باعث افزایش تنوع جمعیت میکروبی روده و فراوانی *لاکتوباسیلوس* می‌شود. در مطالعه آهیو و همکاران (Ahiwe *et al.*, 2019a) گزارش شد که مخمر کامل و مشتقات آن می‌توانند عملکرد جوجه‌های گوشتی را بهبود بخشند و از طریق تأثیر آن بر تعداد گلبول‌های سفید، لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها، ممکن است با بهبود تنش ناشی از لیپوپلی‌ساکارید *سالمونلا* در جوجه‌های گوشتی مرتبط باشند. آن‌ها همچنین خاطر نشان کردند که مخمر اتولیزشده، دیواره سلولی مخمر و اجزای آنزیمی هیدرولیز شده آن زمانی که به جیره به‌مقدار دو گرم در کیلوگرم افزوده شوند، می‌توانند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در تولید جوجه‌های گوشتی عمل کنند.

بنابراین، با توجه به مطالب بیان شده، هدف از این تحقیق، بررسی سطوح مختلف مخمر اتولیزشده در جیره بر عملکرد و جمعیت میکروبی روده کور جوجه‌های گوشتی در شرایط متراکم می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌مدت ۳۷ روز در سه مرحله آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۳۷-۲۵ روزگی) با استفاده از ۵۲۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه تجاری راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۴ × ۲ با پنج تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح مختلف مخمر اتولیزشده ۰، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد جیره و در دو سطح تراکم (۱۰ (تراکم نرمال) و ۱۶ (تراکم بالا) قطعه پرنده در هر مترمربع بودند. جیره پایه مورد استفاده مطابق نیازهای ذکر شده در راهنمای پرورش جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸، تنظیم و به‌صورت آردی در اختیار پرندگان قرار گرفت (جدول ۱). مخمر اتولیز شده مورد استفاده از شرکت کاوشگر سپهر جوان (خوزستان، ایران) تهیه شد که آنالیز آن در جدول ۲ ذکر شده است. مخمر مورد نظر در مقادیر مشخص به جیره‌ها اضافه و سپس در میکسر به‌طور کامل با جیره مخلوط شد. تغذیه جوجه‌ها به‌صورت دستی و آزاد انجام شد. دمای سالن پرورش در روز اول حدود ۳۳-۳۲ درجه سانتی‌گراد بود. در طول دوره پرورش با افزایش سن جوجه، به‌ازاء هر هفته به اندازه دو درجه سانتی‌گراد دما کاهش داده شد. رطوبت استاندارد دوره پرورش ۶۰-۵۵ درصد برای جوجه‌های گوشتی در نظر گرفته شد. در سه روز اول دوره پرورش، روشنایی به‌مدت ۲۴ ساعت در نظر گرفته شد و در ادامه به‌صورت ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی اعمال شد.

فراسنجه‌های عملکردی شامل مصرف خوراک و افزایش وزن بدن به‌صورت دوره‌ای اندازه‌گیری و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد. در روز پایانی پرورش (روز ۳۷) از هر واحد آزمایشی، دو قطعه پرنده نزدیک به میانگین هر پن توزین و کشتار شد. بعد از کشتار، وزن دستگاه گوارش، سنگدان، ران، سینه، طحال، کبد، و پانکراس اندازه‌گیری و به‌صورت درصدی از وزن زنده تعیین شد.

جهت بررسی جمعیت میکروبی روده کور جوجه‌های گوشتی، در سن ۳۷ روزگی دو پرنده از هر تکرار انتخاب و کشتار شد، و روده کور جدا و در شرایط استریل و در کنار یخ به آزمایشگاه میکروبیولوژی منتقل شدند. به‌منظور شمارش *لاکتوباسیل*‌ها از محیط کشت ام آر اس آگار، برای شمارش *کلی فرم*‌ها از محیط کشت مک کانکی آگار و برای شمارش *ای‌کولای* از محیط کشت ای ام بی آگار استفاده شد. محیط کشت‌های حاوی باکتری‌های *لاکتوباسیل* در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط بی‌هوازی به‌مدت ۴۸ ساعت در انکوباسیون قرار گرفتند. باکتری‌های *ای‌کلای* و *کلی فرم* در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط هوازی به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباسیون نگهداری شدند. در پایان، تعداد کلنی باکتری‌های هر پتری دیش شمارش شد و تعداد واحدهای تشکیل‌دهنده پرگنه‌های میکروبی به‌صورت لگاریتمی به‌ازای هر گرم محتویات روده کور بیان شد.

**جدول ۱**- اجزای خوراک و ترکیب مواد مغذی جیره پایه مورد استفاده در دوره‌های مختلف آزمایش

**Table 1-** Diet ingredients and nutrient composition of basal diet at different period of experiment

| اجزای جیره (٪)<br>Ingredients (%) | آغازین<br>Starter | رشد<br>Grower | پایانی<br>Finisher |
|---|---|---|---|
| ذرت<br>Corn | 46.83 | 51.46 | 55.50 |
| کنجاله سویا (۴۴٪ پروتئین خام)<br>Soybean meal (44% CP) | 39.06 | 35.00 | 31.56 |
| کنجاله گلوتن ذرت (۶۰٪ پروتئین خام)<br>Corn gluten meal (60% CP) | 5.00 | 4.00 | 2.50 |
| روغن آفتابگردان<br>Sunflower oil | 4.50 | 5.30 | 6.50 |
| سنگ آهک<br>Limestone | 1.17 | 1.12 | 1.00 |
| دی کلسیم فسفات<br>Dicalcium phosphate | 1.85 | 1.60 | 1.48 |
| سدیم کلراید<br>Sodium chloride | 0.30 | 0.30 | 0.30 |
| جوش شیرین<br>Sodium bicarbonate | 0.18 | 0.18 | 0.18 |
| مکمل ویتامینه و مواد معدنی [۱و۲]<br>Mineral and vitamin premix[1,2] | 0.50 | 0.50 | 0.50 |
| دی ال- متیونین<br>DL-methionine | 0.31 | 0.28 | 0.28 |
| ال-لیزین هیدروکلراید<br>L-lysin HCl | 0.30 | 0.26 | 0.20 |
| آنالیز محاسبه شده (٪)<br>Calculated analysis (%) | | | |
| انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری (کیلوکالری بر کیلوگرم)<br>$AME_n$ (kcal/ kg) | 3011 | 3100 | 3200 |
| پروتئین خام<br>Crude protein | 23.07 | 21.50 | 19.51 |
| کلسیم<br>Calcium | 0.95 | 0.87 | 0.79 |
| فسفر قابل دسترس<br>Available phosphorus | 0.48 | 0.43 | 0.40 |
| سدیم<br>Sodium | 0.20 | 0.16 | 0.16 |
| لیزین<br>Lysine | 1.44 | 1.30 | 1.16 |
| متیونین<br>Methionine | 0.70 | 0.64 | 0.61 |
| متیونین + سیستئین<br>Methionine + cysteine | 1.08 | 0.99 | 0.91 |

[۱و۲] مکمل مواد معدنی و ویتامینی مقادیر زیر را به‌ازای هر کیلوگرم جیره تأمین نمودند: Mn، ۳۹۶۸۰ میلی‌گرم؛ Fe، ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم؛ Zn، ۳۳۸۸۰ میلی‌گرم؛ Cu، ۴۰۰۰ میلی‌گرم؛ I، ۳۹۷ میلی-گرم؛ Se، ۸۰ میلی‌گرم، ویتامین A، ۳۶۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین $D_3$، ۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، ۱۴۴۰۰ میلی‌گرم؛ ویتامین $K_3$، ۸۰۰ میلی‌گرم؛ ویتامین $B_1$، ۷۰۰ میلی‌گرم؛ ویتامین $B_2$، ۲۶۴۰ میلی‌گرم؛ ویتامین $B_6$، ۱۱۷۶ میلی‌گرم؛ ویتامین $B_9$، ۴۰۰ میلی‌گرم؛ ویتامین $B_{12}$، شش میلی‌گرم؛ نیاسین، ۱۱۸۸۰ میلی‌گرم؛ کلسیم پنتوتنات، ۳۹۲۰ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۴۰ میلی‌گرم و کولین کلراید، ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم.

[1,2] Provided the following (per kg of diet): Mn: 39,680 mg; Fe: 20,000 mg; Zn: 33,880 mg; Cu: 4,000 mg; I: 397 mg; Se: 80 mg, 3,600,000 IU Vitamin A; 800,000 IU Vitamin $D_3$; 14,400 mg Vitamin E; 700 mg vitamin $B_1$; 800 mg vitamin $K_3$; 2,640 mg vitamin $B_2$; 1,176 mg vitamin $B_6$; 400 mg vitamin $B_9$; 6 mg vitamin $B_{12}$; 11,880 mg Niacin; 3,920 mg Calcium pantothenate; 40 mg Biotin; Choline chloride: 100,000 mg.

**جدول ۲**- آنالیز مخمر اتولیزشده مورد استفاده در آزمایش (ارائه شده توسط شرکت سازنده)

**Table 2-** Analysis of autolyzed yeast used in the experiment (Provided by the manufacturer)

| اجزاء تشکیل‌دهنده<br>Components | واحد<br>Unit | مقدار<br>Amount |
|---|---|---|
| ماده خشک<br>Dry matter | % | 95 |
| پروتئین کل<br>Total protein | % | 48 |
| کربوهیدرات کل<br>Total carbohydrates | % | 39 |
| مانان الیگوساکارید<br>Mannan oligosaccharides | % | 10 |
| بتاگلوکان<br>β-glucans | % | 15 |
| نوکلئوتید<br>Nucleotide | % | 5 |
| ویتامین $B_1$<br>Vitamin $B_1$ | mg/100g | 6 |
| ویتامین $B_2$<br>Vitamin $B_2$ | mg/100g | 8 |
| ویتامین $B_3$<br>Vitamin $B_3$ | mg/100g | 30 |
| ویتامین $B_5$<br>Vitamin $B_5$ | mg/100g | 55 |

داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (۱۹۹۹)، رویه GLM و در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۳ با شش تیمار و پنج تکرار مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. همچنین، مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت. مدل آماری طرح مطابق معادله زیر بود:

$$Yijk = \mu + Ai + Bj + (AB)ij + eijk \quad \text{معادله (۱)}$$

که در آن، Yijk: مقدار هر مشاهده، μ: میانگین مشاهدات، Ai: اثر سطح i از عامل A (اثر سطوح مختلف مخمر اتولیزشده)، Bj: اثر سطح j از عامل B (اثر سطح تراکم)، (AB)ij: اثر متقابل دو فاکتور A وB (اثر متقابل بین مخمر اتولیزشده و سطح تراکم)، eijk: اثر خطای آزمایش، i: سطوح فاکتور اول (۴ سطح)، j: سطوح فاکتور دوم (دو سطح) و k: تعداد تکرار (پنج تکرار) است.

## نتایج و بحث

تأثیر سطوح مختلف مخمر و تراکم بر میزان خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی به‌ترتیب در جداول ۳، ۴ و ۵ نشان داده شده است. با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، اثرات متقابل بین مخمر و تراکم، بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های مختلف تحت تأثیر قرار نگرفت. در دوره پایانی (۲۵ تا ۳۷ روزگی) و کل دوره (۱ تا ۳۷ روزگی) بین سطوح مخمر تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P \leq ۰/۰۵$). به‌طوری‌که پرندگان تغذیه شده با جیره حاوی مخمر اتولیزشده مصرف خوراک کمتری در مقایسه با جیره بدون مخمر داشتند. در دوره پایانی و کل دوره نیز، تفاوت معنی‌داری بین تراکم نرمال و بالا در مصرف خوراک و افزایش وزن مشاهده شد ($P \leq ۰/۰۵$). به‌طوری‌که پرندگان پرورش یافته در تراکم بالا به‌طور معنی‌داری مصرف خوراک و افزایش وزن کمتری در مقایسه با پرندگان پرورش یافته در تراکم نرمال نشان دادند. در دوره آغازین، پرندگان تغذیه شده با مخمر اتولیزشده، ضریب تبدیل خوراک بهتری در مقایسه با پرندگان تغذیه شده با جیره بدون مخمر داشتند ($P \leq ۰/۰۵$). همچنین در کل دوره پرورش، جیره‌های حاوی ۰/۲ و ۰/۳ درصد مخمر اتولیزشده در مقایسه با شاهد، ضریب تبدیل خوراک بهتری نشان دادند ($P \leq ۰/۰۵$).

در توافق با یافته‌های این پژوهش، هوشمند و همکاران (Houshmand *et al.*, 2012)، دو سطح پری‌بیوتیک (با یا بدون پری‌بیوتیک) و تراکم‌های ۱۰ و ۱۶ پرنده در مترمربع را مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند که اثر متقابل پری‌بیوتیک و تراکم نگهداری تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک، اضافه وزن و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی نداشته است. در تضاد با یافته‌های این پژوهش، کرار و همکاران (Karar *et al.*, 2023) با بررسی سه سطح تراکم (۱۰، ۱۳ و ۱۵ پرنده در مترمربع) و دو سطح پری‌بیوتیک (سطح

اول: بدون پری‌بیوتیک و سطح دوم: ۶۲/۵ گرم مانان الیگوساکارید و ۶۲/۵ گرم بتاگلوکان در هر لیتر آب)، بیان کردند که اثر متقابل تراکم و پری‌بیوتیک به‌طور معنی‌داری مصرف خوراک و افزایش وزن پرندگان را در طول دوره آزمایش بهبود داده است. همچنین، این محققین بیان کردند که تیمار با تراکم پایین و حاوی پری‌بیوتیک، بهترین ضریب تبدیل خوراک را نشان داده است.

در تضاد با یافته‌های پژوهش حاضر، وارگاس رودریگوئیز و همکاران (Vargas-Rodríguez *et al.*, 2013) تراکم‌های ۱۰ و ۱۶ پرنده در مترمربع را مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند که افزایش تراکم تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی ندارد. در توافق با پژوهش حاضر، توماس و همکاران (Thomas *et al.*, 2004) نیز گزارش دادند که جوجه‌های گوشتی با تراکم پنج پرنده در مترمربع رشد سریع‌تری دارند و نسبت به جوجه‌های گوشتی با تراکم ۱۰، ۱۵ یا ۲۰ پرنده در مترمربع، خوراک بیشتری مصرف می‌کنند. در مطالعه حاضر در تراکم بالا، مصرف خوراک در دوره پایانی و کل دوره نسبت به تراکم نرمال به‌ترتیب ۲۳۱/۱۳ گرم و ۲۴۵/۰۶ گرم کاهش یافت. نشان داده شده است که تراکم بالا باعث نگهداری دمای بدن پرنده و در نتیجه، منجر به کاهش مصرف خوراک می‌شود (Emmans and Charles, 1977). از طرفی، کاهش مصرف خوراک در پی افزایش تراکم جوجه‌ریزی به کاهش میزان دسترسی پرنده‌ها به فضای دانخوری نسبت داده شده است (Nahashon *et al.*, 2011). در توافق با یافته‌های پژوهش حاضر، در مطالعه سیمیتزیس و همکاران (Simitzis *et al.*, 2012)، جوجه‌های گوشتی در تراکم‌های بالاتر نسبت به تراکم‌های کمتر وزن نهایی بدن کمتری داشتند، به‌طوری‌که میانگین کاهش تقریباً ۲۰۰ گرم در وزن نهایی بدن در تراکم بالاتر نسبت به تراکم کمتر مشاهده شد. در پژوهش کریزیو و همکاران (Kryeziu *et al.*, 2018)، نیز با افزایش تعداد پرندگان در مترمربع، وزن زنده نهایی پرندگان کاهش یافت. افزایش تراکم ممکن است منجر به محدودیت حرکتی شود که در نتیجه، مصرف خوراک را کاهش می‌دهد و به دنبال آن، وزن بدن کاهش می‌یابد (Kryeziu *et al.*, 2018). در مطالعه حاضر، در دوره پایانی و نیز کل دوره کاهش وزن حدوداً ۹۶ گرمی در تراکم بالا نسبت به تراکم پایین مشاهده شد. دلیل کاهش وزن در پرندگان تحت تنش تراکم می‌تواند به‌دلیل کاهش مصرف خوراک باشد.

در پژوهش حاضر، افزودن مخمر اتولیزشده به جیره باعث کاهش مصرف خوراک و بهبود ضریب تبدیل خوراک در مقایسه با تیمار بدون مخمر شد، امّا بر داده‌های افزایش وزن تأثیری نداشت. در توافق با این یافته‌ها، سالیانه و همکاران (Salianeh *et al.*, 2011) گزارش نمودند که افزودن پری‌بیوتیک به جیره، به‌طور معنی‌داری، مصرف خوراک را در مقایسه با تیمار کنترل در جوجه‌های گوشتی کاهش داد. شاید بتوان دلیل کاهش مصرف خوراک در اثر استفاده از مخمر اتولیزشده را به بهبود قابلیت هضم مواد مغذی و دسترسی بهتر آن‌ها درجوجه‌های گوشتی نسبت داد. در توافق با یافته‌های این پژوهش، در مطالعه مورالس لوپز و همکاران (Morales-López *et al.*, 2009)، افزودن مخمر به جیره تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن جوجه‌های گوشتی نداشت. ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2005) افزایش وزن بیشتری را در پرندگان تغذیه شده با دیواره سلولی مخمر در مقایسه با گروه شاهد از هفته ۰ تا ۵ گزارش کردند، اگرچه تفاوت معنی‌داری در مصرف خوراک مشاهده نشد. ریزینگر و همکاران (Reisinger *et al.*, 2012) نشان دادند که وزن بدن و افزایش وزن روزانه در پرندگان دریافت‌کننده ۰/۱ درصد مشتقات مخمر در مقایسه با گروه شاهد در روزهای ۱۴ تا ۳۵ و روزهای ۱ تا ۳۵ بیشتر بود. در توافق با یافته‌های این پژوهش، یالسین و همکاران (Yalçın *et al.*, 2013)، بیان کردند که ضریب تبدیل خوراک در ۱ تا ۲۱ روزگی با استفاده از مخمر اتولیزشده در سطوح ۱، ۲، ۳ و ۴ گرم بر کیلوگرم در جوجه‌های گوشتی بهبود یافت. این محققین بهبود ضریب تبدیل خوراک را به‌دلیل کاهش بار باکتریایی بیماری‌زا در روده توسط مخمر اتولیزشده گزارش کردند. در مطالعه حاضر، ضریب تبدیل خوراک در شرایط بدون مخمر بیشتر بود، هرچند در بین تیمارهای مخمر یعنی ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد نیز بیشترین میزان ضریب تبدیل خوراک مربوط به تیمار ۰/۱ درصد و کمترین آن مربوط به تیمار ۰/۳ درصد بود. از آنجا که ضریب تبدیل خوراک شاخصی است که از تقسیم مصرف خوراک به اضافه وزن پرندگان به‌دست می‌آید، شاید بتوان دلیل بهبود ضریب تبدیل خوراک در پرندگان تغذیه شده با مخمر اتولیزشده را به کاهش مصرف خوراک و افزایش وزن این پرندگان نسبت داد.

جدول ۶ تأثیر تراکم و سطوح مختلف مخمر اتولیزشده را بر وزن نسبی اجزای لاشه جوجه‌های گوشتی در سن ۳۷ روزگی نشان می‌دهد. اثر متقابل مخمر اتولیزشده و تراکم بر وزن نسبی اجزای لاشه معنی‌دار نشده است. همچنین وزن نسبی اجزای لاشه جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر اثرات اصلی تراکم و نیز مخمر اتولیزشده قرار نگرفت.

در توافق با یافته‌های این پژوهش، کرار و همکاران (Karar *et al.*, 2023) نیز با بررسی سه سطح تراکم (۱۰، ۱۳ و ۱۵ پرنده در مترمربع) و دو سطح پری‌بیوتیک (سطح اول: بدون پری‌بیوتیک و سطح دوم: ۶۲/۵ گرم مانان الیگوساکارید و ۶۲/۵ گرم بتاگلوکان در هر لیتر آب)، بیان کردند که اثر متقابل تراکم و پری‌بیوتیک تأثیر معنی‌داری بر اجزای لاشه جوجه‌ها نداشته است.

**جدول ۳**- تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیزشده و سطح تراکم بر مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی در طول دوره آزمایش (گرم به‌ازای پرنده)

**Table 3-** The effect of different levels of autolyzed yeast and density level on feed intake of broilers during the experimental period (g/b)

| تیمار Treatment | | دوره آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی) Starter period (1-7 d) | دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) Grower period (11-24 d) | دوره پایانی ( ۲۵ تا ۳۷ روزگی) Finisher period (25-37 d) | کل دوره (۱ تا ۳۷ روزگی) Whole period (1-37 d) |
|---|---|---|---|---|---|
| تراکم Density | مخمر (٪) Yeast (%) | | | | |
| نرمال Normal | 0 | 230.300 | 1077.20 | 2126.46 | 3434.0 |
| | 0.1 | 210.60 | 1079.40 | 1986.49 | 3276.4 |
| | 0.2 | 211.56 | 1045.98 | 1986.59 | 3244.1 |
| | 0.3 | 219.77 | 1075.13 | 1932.52 | 3227.4 |
| بالا High | 0 | 217.36 | 1080.17 | 1918.48 | 3216.0 |
| | 0.1 | 216.24 | 1035.25 | 1723.94 | 2975.4 |
| | 0.2 | 220.22 | 1064.37 | 1732.18 | 3016.8 |
| | 0.3 | 223.43 | 1037.19 | 1731.83 | 2993.5 |
| خطای استاندارد میانگین‌ها SEM | | 5.92 | 35.47 | 64.10 | 86.84 |
| مخمر (٪) Yeast (%) | | | | | |
| 0 | | 223.83 | 1078.68 | 2022.47 [a] | 3324.98 [a] |
| 0.1 | | 213.42 | 1057.33 | 1855.17 [b] | 3125.91 [b] |
| 0.2 | | 215.89 | 1055.18 | 1859.38 [b] | 3130.46 [b] |
| 0.3 | | 221.60 | 1056.16 | 1832.67 [b] | 3110.44 [b] |
| خطای استاندارد میانگین‌ها SEM | | 4.18 | 25.08 | 45.33 | 61.40 |
| تراکم Density | | | | | |
| نرمال Normal | | 218.06 | 1069.43 | 2007.99 [a] | 3295.48 [a] |
| بالا high | | 219.31 | 1054.25 | 1776.86 [b] | 3050.42 [b] |
| خطای استاندارد میانگین‌ها SEM | | 2.96 | 17.73 | 32.05 | 43.42 |
| P-value | | | | | |
| مخمر Yeast | | 0.278 | 0.894 | 0.021 | 0.059 |
| تراکم Density | | 0.766 | 0.549 | < 0.001 | < 0.0001 |
| اثر متقابل مخمر و تراکم Yeast × density | | 0.280 | 0.773 | 0.945 | 0.962 |

[a-b] در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم دارند ($P \leq ۰/۰۵$)

[a-b] In each column, the means with different superscripts have a significant difference ($P \leq 0.05$)

**جدول ٤**- تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیزشده و سطح تراکم بر افزایش وزن جوجه‌های گوشتی در طول دوره آزمایش (گرم به‌ازای پرنده)

**Table 4-** The effect of different levels of autolyzed yeast and density level on weight gain of broilers during the experimental period (g/b)

| تیمار Treatment | | دوره آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی) Starter period (1-7 d) | دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) Grower period (11-24 d) | دوره پایانی (۲۵ تا ۳۷ روزگی) Finisher period (25-37 d) | کل دوره (۱ تا ۳۷ روزگی) Whole period (1-37 d) |
|---|---|---|---|---|---|
| تراکم Density | مخمر(٪) Yeast (%) | | | | |
| نرمال Normal | 0 | 179.80 | 721.00 | 1262.40 | 2163.20 |
| | 0.1 | 172.60 | 746.20 | 1228.30 | 2147.10 |
| | 0.2 | 175.90 | 730.91 | 1237.27 | 2144.08 |
| | 0.3 | 190.16 | 757.93 | 1235.62 | 2183.71 |
| بالا High | 0 | 174.05 | 719.17 | 1174.92 | 2068.14 |
| | 0.1 | 182.72 | 708.78 | 1101.53 | 1993.03 |
| | 0.2 | 194.78 | 754.27 | 1167.50 | 2116.56 |
| | 0.3 | 194.80 | 739.70 | 1141.70 | 2076.20 |
| خطای استاندارد میانگین‌ها SEM | | 6.99 | 23.08 | 46.55 | 52.39 |
| مخمر(٪) Yeast (%) | | | | | |
| 0 | | 176.92 | 720.08 | 1218.66 | 2115.67 |
| 0.1 | | 177.66 | 727.49 | 1164.92 | 2070.07 |
| 0.2 | | 185.34 | 742.59 | 1202.39 | 2130.32 |
| 0.3 | | 192.48 | 748.81 | 1188.66 | 2129.95 |
| خطای استاندارد میانگین‌ها SEM | | 4.94 | 16.32 | 32.91 | 37.05 |
| تراکم Density | | | | | |
| نرمال Normal | | 179.61 | 739.01 | 1240.90 [a] | 2159.52 [a] |
| بالا High | | 186.58 | 730.48 | 1146.41 [b] | 2063.48 [b] |
| خطای استاندارد میانگین‌ها SEM | | 3.49 | 11.54 | 23.27 | 26.19 |
| P-value | | | | | |
| مخمر Yeast | | 0.108 | 0.583 | 0.700 | 0.626 |
| تراکم Density | | 0.168 | 0.604 | 0.007 | 0.014 |
| اثر متقابل مخمر و تراکم Yeast × density | | 0.369 | 0.605 | 0.941 | 0.686 |

[a-b] در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم دارند ($P \leq ۰/۰۵$)

[a-b] In each column, the means with different superscripts have a significant difference ($P \leq 0.05$)

**جدول ۵**- تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیزشده و سطح تراکم بر ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی در طول دوره آزمایش

**Table 5-** The effect of different levels of autolyzed yeast and density level on feed conversion ratio of broilers during the experimental period

| تیمار<br>Treatment | | دوره آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)<br>Starter period<br>(1-7 d) | دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)<br>Grower period<br>(11-24 d) | دوره پایانی (۲۵ تا ۳۷ روزگی)<br>Finisher period<br>(25-37 d) | کل دوره (۱ تا ۳۷ روزگی)<br>Whole period (1-37 d) |
|---|---|---|---|---|---|
| تراکم<br>Density | مخمر(٪)<br>Yeast (%) | | | | |
| نرمال<br>Normal | 0 | 1.28 | 1.49 | 1.69 | 1.59 |
| | 0.1 | 1.22 | 1.44 | 1.61 | 1.52 |
| | 0.2 | 1.20 | 1.43 | 1.60 | 1.51 |
| | 0.3 | 1.16 | 1.42 | 1.56 | 1.47 |
| بالا<br>High | 0 | 1.25 | 1.50 | 1.64 | 1.56 |
| | 0.1 | 1.18 | 1.46 | 1.56 | 1.49 |
| | 0.2 | 1.13 | 1.41 | 1.49 | 1.42 |
| | 0.3 | 1.14 | 1.40 | 1.54 | 1.44 |
| خطای استاندارد میانگین‌ها<br>SEM | | 0.031 | 0.041 | 0.070 | 0.040 |
| مخمر(٪)<br>Yeast (%) | | | | | |
| 0 | | 1.27 [a] | 1.49 | 1.67 | 1.57 [a] |
| 0.1 | | 1.20 [b] | 1.45 | 1.59 | 1.50 [ab] |
| 0.2 | | 1.16 [b] | 1.42 | 1.55 | 1.47 [b] |
| 0.3 | | 1.15 [b] | 1.41 | 1.55 | 1.46 [b] |
| خطای استاندارد میانگین‌ها<br>SEM | | 0.022 | 0.029 | 0.049 | 0.028 |
| تراکم<br>Density | | | | | |
| نرمال<br>Normal | | 1.21 | 1.45 | 1.62 | 1.52 |
| بالا<br>High | | 1.18 | 1.44 | 1.56 | 1.48 |
| خطای استاندارد میانگین‌ها<br>SEM | | 0.015 | 0.020 | 0.035 | 0.020 |
| P-value | | | | | |
| مخمر<br>Yeast | | 0.0041 | 0.177 | 0.290 | 0.031 |
| تراکم<br>Density | | 0.107 | 0.919 | 0.248 | 0.134 |
| اثر متقابل مخمر و تراکم<br>Yeast × density | | 0.830 | 0.962 | 0.931 | 0.876 |

[a-b] در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم دارند (P ≤ ۰/۰۵)

[a-b] In each column, the means with different superscripts have a significant difference (P≤0.05)

**جدول ٦**- تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیزشده و سطح تراکم بر وزن نسبی اجزای لاشه جوجه‌های گوشتی در سن ۳۷ روزگی (درصدی از وزن زنده بدن)

**Table 6-** The effect of different levels of autolyzed yeast and density level on the relative weight of the carcass characteristics of broiler chickens at the age of 37 days (percentage of live body weight)

| تیمار Treatment | | پانکراس Pancreas | سنگدان Gizzard | کل دستگاه گوارش Gastrointestinal tract | طحال Spleen | کبد Liver | ران Thigh | سینه Breast |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تراکم Density | مخمر (٪) Yeast (%) | | | | | | | |
| نرمال Normal | 0 | 0.27 | 2.52 | 12.56 | 0.07 | 2.06 | 19.24 | 25.93 |
| | 0.1 | 0.26 | 2.59 | 12.80 | 0.06 | 2.04 | 19.22 | 25.63 |
| | 0.2 | 0.25 | 2.32 | 12.14 | 0.07 | 2.02 | 19.04 | 26.17 |
| | 0.3 | 0.25 | 2.39 | 12.62 | 0.06 | 2.11 | 19.23 | 25.64 |
| بالا High | 0 | 0.27 | 2.46 | 12.27 | 0.06 | 2.13 | 19.25 | 26.15 |
| | 0.1 | 0.24 | 2.37 | 12.34 | 0.06 | 2.01 | 19.01 | 25.66 |
| | 0.2 | 0.25 | 2.53 | 12.56 | 0.06 | 2.09 | 19.24 | 25.92 |
| | 0.3 | 0.26 | 2.49 | 12.14 | 0.06 | 1.97 | 19.16 | 25.33 |
| خطای استاندارد میانگین‌ها SEM | | 0.0108 | 0.05 | 0.24 | 0.005 | 0.06 | 0.11 | 0.08 |
| مخمر(٪) Yeast (%) | | | | | | | | |
| 0 | | 0.26 | 2.56 | 12.68 | 0.06 | 2.07 | 19.23 | 25.78 |
| 0.1 | | 0.25 | 2.35 | 12.38 | 0.06 | 2.05 | 19.13 | 25.91 |
| 0.2 | | 0.25 | 2.41 | 12.31 | 0.05 | 2.06 | 19.13 | 25.90 |
| 0.3 | | 0.25 | 2.51 | 12.38 | 0.06 | 2.07 | 19.20 | 25.62 |
| خطای استاندارد میانگین‌ها SEM | | 0.0076 | 0.04 | 0.17 | 0.0035 | 0.03 | 0.07 | 0.06 |
| تراکم Density | | | | | | | | |
| نرمال Normal | | 0.26 | 2.46 | 12.49 | 0.065 | 2.07 | 19.13 | 26.04 |
| بالا High | | 0.25 | 2.46 | 12.38 | 0.059 | 2.03 | 19.21 | 25.56 |
| خطای استاندارد میانگین‌ها SEM | | 0.0054 | 0.02 | 0.12 | 0.0025 | 0.03 | 0.05 | 0.04 |
| P-value | | | | | | | | |
| مخمر Yeast | | 0.837 | 0.303 | 0.808 | 0.560 | 0.943 | 0.983 | 0.873 |
| تراکم Density | | 0.615 | 0.980 | 0.695 | 0.169 | 0.416 | 0.718 | 0.093 |
| اثر متقابل مخمر و تراکم Yeast × density | | 0.532 | 0.856 | 0.779 | 0.617 | 0.433 | 0.946 | 0.985 |

جدول ۷ اثر تیمارهای تراکم، مخمر اتولیزشده و اثر متقابل آن‌ها بر جمعیت میکروبی روده کور (*کلی‌فرم*، *لاکتوباسیل* و *ای‌کلای*) جوجه‌های گوشتی در سن ۳۷ روزگی را نشان می‌دهد. اثر متقابل تراکم و مخمر اتولیزشده تأثیر معنی‌داری بر جمعیت میکروبی روده کور نداشت (P>۰/۰۵). استفاده از سطوح ۰/۲ و ۰/۳ درصد مخمر اتولیزشده تنها توانست باعث کاهش معنی‌دار جمعیت *ای‌کلای* روده کور در مقایسه با سطح ۰/۱ درصد و تیمار بدون مخمر شود (P≤۰/۰۵)، همچنین در بررسی اثرات اصلی، تراکم بالا باعث کاهش معنی‌دار جمعیت *لاکتوباسیل* روده کور در مقایسه با تراکم نرمال شد (P≤۰/۰۵).

در توافق با یافته‌های این پژوهش، چنگیز و همکاران (Cengiz *et al.*, 2015) دو سطح پروبیوتیک ۰/۵ و ۱ گرم در هر کیلوگرم جیره پایه و تراکم‌های ۱۰ و ۲۰ پرنده در متربع را مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند که اثر متقابل پروبیوتیک و تراکم تأثیر معنی‌داری بر تعداد کل باکتری‌های هوازی، *سالمونلا* و *لاکتوباسیل* روده جوجه‌های گوشتی نداشته است.

در پژوهش حاضر، تغذیه جوجه‌های گوشتی با مخمر اتولیزشده جمعیت باکتری‌های *ای‌کلای* را در روده کور کاهش داد. در توافق با یافته‌های این پژوهش، یالسین و همکاران (Yalçın *et al.*, 2013) گزارش نمودند که جمعیت *ای‌کلای* تحت تأثیر مخمر اتولیزشده کاهش یافت، امّا تعداد کل باکتری‌های هوازی در ایلئوم و ژژنوم تحت تأثیر مخمر اتولیزشده قرار نگرفت. سالاری و جاویدانه (Salari and Javidaneh, 2023) نشان دادند که افزودن مخمر اتولیزشده در سطوح ۵۰۰ و ۷۰۰ سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب به‌طور معنی‌داری، جمعیت *لاکتوباسیل* را افزایش و جمعیت *کلی‌فرم‌*های روده کور را در مرغان تخم‌گذار کاهش داد. همچنین افزودن مخمر اتولیزشده در سطح ۷۵۰ سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب به‌طور معنی‌داری جمعیت *ای‌کلای* روده کور را در مقایسه با سایر تیمارها کاهش داد. یانگ و همکاران (Yang *et al.*, 2008) نشان دادند که جمعیت *کلی‌فرم* ایلئوم در جوجه‌های گوشتی که با مکمل مانان الیگوساکاریدهای خوراکی تغذیه شده بودند، کاهش یافت. پری‌بیوتیک‌ها توسط دستگاه گوارش هضم و جذب نمی‌شوند و به‌عنوان منبع غذایی برای باکتری‌های مفیدی مثل *لاکتوباسیل‌ها* و *بیفیدوباکترها* در قسمت پایینی روده استفاده می‌شوند (Adhikari and Kim, 2017). به‌لحاظ ساختار شیمیایی، پری‌بیوتیک‌هایی مثل فروکتوالیگوساکاریدها توسط باکتری‌های روده تخمیر می‌شوند درحالی‌که مانان الیگوساکاریدها با اتصال به باکتری‌های مضری مثل *ای‌کلای* و *سالمونلا* باعث کاهش کلنی شدن آن‌ها می‌شوند. این عمل باعث کاهش اتصال ریزجانداران مضر به سلول‌های اپیتلیوم روده و درنهایت، باعث دفع آن‌ها ازطریق فضولات می‌شود (Adhikari *et al.*, 2018). شاید دلیل کاهش جمعیت روده کور ی *ای‌کلای* و *کلی‌فرم* در سطح بالای مخمر اتولیزشده به همین علت باشد.

در پژوهش حاضر، با افزایش تراکم، میزان باکتری *لاکتوباسیلوس* روده کور کاهش یافت. در تضاد با این یافته‌ها، در پژوهش کریدتایوپاس و همکاران (Kridtayopas *et al.*, 2019)، تعداد باکتری *ای‌کلای* در جوجه‌های تحت تراکم بالا افزایش یافت و گونه‌های *سالمونلا* نیز در ژژنوم و روده کور تشخیص داده شد. بنابراین، واضح است که تنش ناشی از تراکم بالا جمعیت میکروبی روده را مختل می‌کند. میمندی پور و همکاران (Meimandipour *et al.*, 2010) گزارش دادند که تنش منجر به رشد بیش از حد باکتری‌های بیماری‌زا و کاهش جمعیت باکتری‌های مفید می‌شود، که داده‌های پژوهش حاضر در مورد کاهش جمعیت *لاکتوباسیل* روده کور در پرندگان پرورش یافته در تراکم بالا را تأیید می‌کند. در توافق با یافته‌های این پژوهش، چنگیز و همکاران (Cengiz *et al.*, 2015)، نیز گزارش کردند که تعداد باکتری *لاکتوباسیل* در تراکم بالا (۲۰ پرنده در مترمربع) کاهش یافته است.

جدول ۸ تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیزشده در شرایط پرورش متراکم را نشان می‌دهد. هزینه خوراک، درآمد فروش و سود خالص حاصل از آن تحت تأثیر اثر متقابل تراکم و مخمر اتولیزشده قرار نگرفت. با افزایش سطح مخمر در جیره، هزینه خوراک به‌طور معنی داری کاهش یافت (P<۰/۰۵) درحالی‌که درآمد فروش و سود خالص تحت تأثیر قرار نگرفت. همچنین شاخص‌های مورد بررسی تحت تأثیر تراکم قرار نگرفتند. در پژوهشی گزارش شد که با افزایش تراکم جوجه‌های گوشتی، مقدار تولید در هر مترمربع افزایش و هزینه تولید به‌ازای هر کیلوگرم وزن زنده بدن پرنده، کاهش می‌یابد (Hassanabadi and Mahdipour Rabori, 2009). مانان الیگوساکاریدها به باکتری‌های بیماریزا متصل می‌شوند و از اتصال آن‌ها به دیواره روده جلوگیری کرده و باعث دفع باکتری‌های بیماریزا می‌شوند و به‌عنوان یک ماده مغذی برای باکتری‌های مفید عمل می کنند (Firon *et al.*, 1983). مخمر اتولیزشده باعث کاهش جمعیت باکتریایی مضر و بهبود سلامت روده می‌شود (Salari and Javidaneh, 2023). در واقع، شاید بتوان دلیل کاهش هزینه خوراک تحت تأثیر مخمر را به کاهش مصرف خوراک نسبت داد. در پژوهشی با استفاده از سطوح ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد مخمر اتولیزشده در شرایط تنش تراکم در مرغ‌های تخم‌گذار گزارش شد که هزینه خوراک، درآمد فروش و سود خالص حاصل از آن تحت تأثیر تراکم و اثر متقابل تراکم و مخمر اتولیزشده قرار نگرفت. امّا با افزودن مخمر اتولیزشده به جیره، هزینه بیشتری صرف تهیه جیره گردید و هر چه سطح مخمر اتولیزشده در جیره بیشتر شد، جیره گران‌تر شد. به‌گونه‌ای که اختلاف معنی‌داری بین شاهد و سطح ۰/۶ درصد مخمر مشاهده شد، امّا تفاوت معنی‌داری بین سایر تیمارها مشاهده نشد (Molaei and Salari, 2023).

## نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد، اگر چه استفاده از مخمر اتولیزشده در شرایط تنش تراکم نتوانست فراسنجه‌های عملکردی و فیزیولوژیکی پرندگان را تحت تأثیر قرار دهد، امّا استفاده از سطوح ۰/۲ و ۰/۳ درصد مخمر اتولیزشده در جیره با توجه به بهبود ضریب تبدیل خوراک و کاهش جمعیت *ای‌کلای* روده کور در تغذیه جوجه‌های گوشتی توصیه می‌شود.

## تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به‌خاطر حمایت‌های مالی از پژوهش و از شرکت کاوشگر سپهر جوان نیز به‌خاطر تامین مخمر اتولیز شده، قدردانی می‌شود.

**جدول ۷**- تأثیر سطوح مختلف مخمر اتولیزشده و سطح تراکم بر جمعیت میکروبی روده کور جوجه‌های گوشتی در سن ۳۷ روزگی (لگاریتم تشکیل کلونی به‌ازای گرم محتویات)

**Table 7-** The effect of different levels of autolyzed yeast and density level on the microbial population of the cecum of broiler chickens at the age of 37 days (Log CFU.g$^{-1}$)

| تیمار<br>Treatment | | *ای‌کولای*<br>*E. coli* | *لاکتوباسیل*<br>*Lactobacillus* | *کلی‌فرم*<br>*Coliform* |
|---|---|---|---|---|
| تراکم<br>Density | مخمر(٪)<br>Yeast (%) | | | |
| نرمال<br>Normal | 0 | 8.84 | 8.97 | 8.74 |
| | 0.1 | 8.87 | 9.03 | 8.65 |
| | 0.2 | 8.74 | 9.12 | 8.54 |
| | 0.3 | 8.68 | 9.15 | 8.58 |
| بالا<br>High | 0 | 9.10 | 8.78 | 8.84 |
| | 0.1 | 8.84 | 8.87 | 8.68 |
| | 0.2 | 8.76 | 8.91 | 8.66 |
| | 0.3 | 8.73 | 8.94 | 8.61 |
| خطای استاندارد میانگین‌ها<br>SEM | | 0.06 | 0.014 | 0.02 |
| مخمر(٪)<br>Yeast (%) | | | | |
| 0 | | 8.97 [a] | 8.88 | 8.79 |
| 0.1 | | 8.81 [ab] | 8.95 | 8.67 |
| 0.2 | | 8.74 [b] | 9.02 | 8.60 |
| 0.3 | | 8.70 [b] | 9.05 | 8.60 |
| خطای استاندارد میانگین‌ها<br>SEM | | 0.043 | 0.01 | 0.018 |
| تراکم<br>Density | | | | |
| نرمال<br>Normal | | 8.75 | 9.01 [a] | 8.63 |
| بالا<br>High | | 8.86 | 8.88 [b] | 8.70 |
| خطای استاندارد میانگین‌ها<br>SEM | | 0.03 | 0.007 | 0.013 |
| P-value | | | | |
| مخمر<br>Yeast | | 0.0416 | 0.1426 | 0.1926 |
| تراکم<br>Density | | 0.1396 | 0.0013 | 0.318 |
| اثر متقابل مخمر و تراکم<br>Yeast × density | | 0.5787 | 0.9808 | 0.9521 |

[a-b] در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم دارند (P≤ ۰/۰۵)

[a-b] In each column, the means with different superscripts have a significant difference ($P \leq 0.05$)

**جدول ۸**- برآورد اقتصادی تیمارهای آزمایشی در کل دوره پرورش (تومان)

**Table 8-** Economic estimation of experimental treatments in the entire period (Toman)

| تیمار<br>Treatment | | هزینه خوراک<br>Feed cost | درآمد فروش<br>Income | سود خالص<br>Net profit |
|---|---|---|---|---|
| تراکم<br>Density | مخمر(٪)<br>Yeast (%) | | | |
| نرمال<br>Normal | 0 | 41208 | 75712 | 34504 |
| | 0.1 | 39086 | 75043 | 35957 |
| | 0.2 | 38901 | 72385 | 33484 |
| | 0.3 | 36636 | 74078 | 37442 |
| بالا<br>High | 0 | 39317 | 75150 | 35833 |
| | 0.1 | 35823 | 76430 | 37545 |
| | 0.2 | 35991 | 69756 | 33765 |
| | 0.3 | 36354 | 72667 | 36313 |
| خطای استاندارد میانگین‌ها<br>SEM | | 415 | 534 | 309 |
| مخمر(٪)<br>Yeast (%) | | | | |
| 0 | | 40262[a] | 75431 | 35169 |
| 0.1 | | 38985[ab] | 75736 | 36751 |
| 0.2 | | 37446[bc] | 71070 | 33624 |
| 0.3 | | 36495[c] | 73373 | 36878 |
| خطای استاندارد میانگین‌ها<br>SEM | | 207 | 267 | 195 |
| تراکم<br>Density | | | | |
| نرمال<br>Normal | | 38975 | 74304 | 35347 |
| بالا<br>High | | 37636 | 73501 | 35864 |
| خطای استاندارد میانگین‌ها<br>SEM | | 103 | 133 | 97 |
| P-value | | | | |
| مخمر<br>Yeast | | 0.0109 | 0.0759 | 0.2340 |
| تراکم<br>Density | | 0.1068 | 0.5593 | 0.6823 |
| اثر متقابل مخمر و تراکم<br>Yeast × density | | 0.5701 | 0.7650 | 0.8658 |

[a-c] در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم دارند (P≤ ۰/۰۵)

[a-c] In each column, the means with different superscripts have a significant difference (P ≤ 0.05)

## References


1. Abbasi, M., Abedini, M. R., & Mousavi, S. N. (2019). Evaluating the economic impact of stocking density and bedding material on productive performance in broiler chickens. *Animal Production*, *21*(1), 61-71. (In Persian with English Summary). https://doi.org/10.22059/jap.2019.263375.623307.
2. Abudabos, A. M., Samara, E. M., Hussein, E. O. S., Al-Ghadi, M. Q., & Al-Atiyat, R. M. (2013). Impacts of stocking density on the performance and welfare of broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*, *12*, 66-71. https://doi.org/10.4081/ijas.2013.e11
3. Adhikari, P. A., Cosby, D. E., Cox, N. A., Franca, M. S. S., Williams, M., Gogal Jr, R. M., Ritz, C. W., & Kim, W. K. (2018). Effect of dietary fructooligosaccharides supplementation on internal organs *Salmonella* colonization, immune response, ileal morphology, and ileal immunohistochemistry in laying hens challenged with *Salmonella enteritidis*. *Poultry Science*, *97*, 2525-2533. http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey101.
4. Adhikari, P. A., & Kim, W. K. (2017). Overview of prebiotics and probiotics: Focus on performance, gut health

and immunity - A review. *Annals of Animal Science*, *4*, 949-966. http://dx.doi.org/10.1515/aoas-2016-0092.

5. Ahiwe, E. U., Abdallh, M. E., Chang'a, E. P., Al-Qahtani, M., Omede, A. A., Graham, H., & Iji, P. A. (2019a). Influence of autolyzed whole yeast and yeast components on broiler chickens challenged with *Salmonella* lipopolysaccharide. *Poultry Science*, *98*, 7129-7138. http://dx.doi.org/10.3382/ps/pez452.
6. Ahiwe, E. U., Omede, A. A., Abdallh, M. E., Chang'a, E. P., Al-Qahtani, M., Gausi, H., Graham, H., & Iji, P. A. (2019b). Response of broiler chickens to dietary supplementation of enzymatically hydrolyzed glucan or mannan yeast products. *Journal of Applied Poultry Research*, *28*, 892-901. http://dx.doi.org/10.3382/japr/pfz047.
7. Cengiz, Ö., Köksal, B. H., Tatlı, O. Sevim, Ö., Ahsan, U., Üner, A. G., Uluta, P. A., Beyaz, D., Büyükyörük, S., Yakan, A., & Önol, A. G. (2015). Effect of dietary probiotic and high stocking density on the performance, carcass yield, gut microflora, and stress indicators of broilers. *Poultry Science*, *94*, 2395-2403. http://dx.doi.org/10.3382/ps/pev194
8. Emmans, G. C., & Charles, D. R. (1977). Climatic environment and poultry feeding in practice. pp. 31-49 in Nutrition and the Climatic Environment. W. Haresign, H. Swan, and D. Lewis, ed. Butterworths, London, UK.
9. Firon, N., Ofek, I., & Sharon, N. (1983). Carbohydrate specificity of the surface lectins of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Salmonella typhimurium*. *Carbohydrate Research*, *120*, 235-249. https://doi.org/10.1016/0008-6215(83)88019-7.
10. Hassanabadi, A., & Mahdipour Rabori, M. (2009). Effects of stocking density on growth performance, blood metabolites and carcass characteristics of male broiler chickens. *Journal of Animal Science Research*, *19/1*(2), 138-155. (In Persian with English Summary). https://www.sid.ir/paper/450894/fa.
11. Houshmand, M., Azhar, K., Zulkifli, I., Bejo, M. H., & Kamyab, A. (2012). Effects of prebiotic, protein level, and stocking density on performance, immunity, and stress indicators of broilers. *Poultry Science*, *91*, 393-401. https://doi.org/10.3382/ps.2010-01050
12. Karar, E. M. H., Atta, A. M. M., Gharib, H. B. A., & El-Menawey, M. A. A. (2023). Impact of prebiotic supplementation on productive performance, carcass traits, and physiological parameters of broiler chickens under high stocking density condition. *Journal of World's Poultry Research*, *13*(1), 48-60. https://dx.doi.org/10.36380/jwpr.2023.5
13. Kridtayopas, C., Rakangtong, C., Bunchasak, C., & Loongyai, W. (2019). Effect of prebiotic and synbiotic supplementation in diet on growth performance, small intestinal morphology, stress, and bacterial population under high stocking density condition of broiler chickens. *Poultry Science*, *98*, 4595-4605. https://doi.org/10.3382/ps/pez152
14. Kryeziu, A. J., Kamberi, M., Muji, S., Mestani, N., & Berisha, S. (2018). Carcass traits of broilers as affected by different stocking density and sex. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, *24*(6), 1097-1103.
15. Loh, G., & Blaut, M. (2012). Role of commensal gut bacteria in inflammatory bowel diseases. *Gut Microbes*, *3*, 544-555. http://dx.doi.org/10.4161/gmic.22156
16. Meimandipour, A., Shuhaimi, M., Soleimani, A. F., Azhar, K., Hair-Bejo, M., Kabeir, B. M., Javanmard, A., Muhammad Anas, O., & Yazid, A. M. (2010). Selected microbial groups and short-chain fatty acids profile in a simulated chicken cecum supplemented with two strains of *Lactobacillus*. *Poultry Science*, *89*, 470-476. http://dx.doi.org/10.3382/ps.2009-00495.
17. Molaei, F., & Salari, S. (2023). Effect of different levels of autolyzed yeast on performance and egg quality traits in laying hens reared under high stocking density. *Iranian Journal of Animal Science*, *54*(3), 317-336. (In Persian with English Summary). https://doi.org/10.22059/ijas.2023.351584.653920.
18. Morales-López, R., Auclair, E., Garcia, F., Esteve-Garcia, E., & Brufau, J. (2009). Use of yeast cell walls; β-1, 3/1, 6-glucans; and mannoproteins in broiler chicken diets. *Poultry Science*, *88*, 601-607. http://dx.doi.org/10.3382/ps.2008-00298
19. Nahashon, S. N., Adefope, N., & Wright, D. (2011). Effect of floor density on growth performance of Pearl Grey guinea fowl replacement pullets. *Poultry Science*, *90*, 1371-1378. https://doi.org/10.3382/ps.2010-01216
20. Reisinger, N., Ganner, A., Masching, S., Schatzmayr, G., & Applegate, T. J. (2012). Efficacy of a yeast derivative on broiler performance, intestinal morphology and blood profile. *Livestock Science*, *143*, 195-200. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.09.013
21. Roto, S. M., Rubinelli, P. M., & Ricke, S. C. (2015). An introduction to the avian gut microbiota and the effects of yeast-based prebiotic-type compounds as potential feed additives. *Frontiers in Veterinary Science*, *2*, 28. http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2015.00028
22. Salari, S., & Javidaneh, K. (2023). Effect of autolyzed yeast on performance, egg quality, microbial population and intestinal morphology of laying hens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 93-106. (In Persian with English Summary). http://dx.doi.org/10.22067/ijasr.2022.73976.1056.
23. Salianeh, N., Shirzad, M. R., & Seifi, S. (2011). Performance and antibody response of broiler chickens fed diets containing probiotic and prebiotic. *Journal of Applied Animal Research*, *39*, 65-67. https://doi.org/10.1080/09712119.2011.565222
24. Simitzis, P. E., Kalogeraki, E., Goliomytis, M., Charismiadou, M. A., Triantaphyllopoulos, K., Ayoutanti, A.,

Niforou, K., Hager-Theodorides, A. L., & Deligeorgis, S. G. (2012). Impact of stocking density on broiler growth performance, meat characteristics, behavioural components and indicators of physiological and oxidative stress. *British Poultry Science*, *53*(6), 721-730. http://dx.doi.org/10.1080/00071668.2012.745930

25. Thomas, D. G., Ravindran, V., Thomas, D. V., Camden, B. J., Cottam, Y. H., Morel, P. C. H., & Cook, C. J. (2004). Influence of stocking density on the performance, carcass characteristics and selected welfare indicators of broiler chickens. *New Zealand Veterinary Journal*, *52*, 76-81. http://dx.doi.org/10.1080/00480169.2004.36408
26. Vargas-Rodríguez, L. M., Durán-Meléndez, L. A., García-Masías, J. L., Arcos-García, J. L., Joaquín-Torres, B. M., & Ruelas-Inzunza, M. G. (2013). Effect of probiotic and population density on the growth performance and carcass characteristics in broiler chickens. *Internathional Journal of Poultry Science*, *12*(7), 390-395. http://dx.doi.org/10.3923/ijps.2013.390.395
27. Wu, C., Yang, Z., Song, C., Liang, C., Li, H., Chen, W., Lin, W., & Xie, Q. (2018). Effects of dietary yeast nucleotides supplementation on intestinal barrier function, intestinal microbiota, and humoral immunity in specific pathogen free chickens. *Poultry Science*, *97*, 3837-3846. http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey268
28. Yalçın, S., Yalçın, S., Çakın, K., Eltanc, Ö., & Dağaşan, L. (2010). Effects of dietary yeast autolysate (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance, egg traits, egg cholesterol content, egg yolk fatty acid composition and humoral immune response of laying hens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *90*, 1695-1701. http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.4004
29. Yalçın, S., Eser, H., Yalçın, S., Cengiz, S., & Eltan, Ö. (2013). Effects of dietary yeast autolysate (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance, carcass and gut characteristics, blood profile, and antibody production to sheep red blood cells in broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, *22*, 55-61. https://doi.org/10.3382/japr.2012-00577
30. Yang, Y., Iji, P. A., Kocher, A., Mikkelsen, L. L., & Choct, M. (2008). Effects of mannanoligosaccharide and fructooligosaccharide on the response of broilers to pathogenic *Escherichia coli* challenge. *British Poultry Science*, *49*, 550-559. http://dx.doi.org/10.1080/00071660802290408
31. Zhang, A. W., Lee, B. D., Lee, S. K., Lee, K. W., An, G. H., Song, K. B., & Lee, C. H. (2005). Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell components on growth performance, meat quality, and ileal mucosa development of broiler chicks. *Poultry Science*, *84*, 1015-1021. http://dx.doi.org/10.1093/ps/84.7.1015

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

**Research Article**
**Vol. 16, No.3, 2024, p. 401-414**

# Evaluation of the Chemical Properties and Absorption Capacity of Different Manganese Sources using Everted Gut Sacs Technique and Their Effects on the Performance and Immune Response of Broiler Chickens

**Farogh Kargar[1], Hassan Kermanshahi[2*], Ali Javadmanesh[3], Reza Majidzade Heravi[3]**

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- Asociate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
*Corresponding Author's Email: kermansh@um.ac.ir

Received: 17-10-2023
Revised: 25-12-2023
Accepted: 26-12-2023
Available Online: 26-12-2023

**How to cite this article:**
Kargar, F., Kermanshahi, H., Javadmanesh, A., & Majidzade Heravi, R. (2024). Evaluation of the chemical properties and absorption capacity of different manganese sources using Everted Gut Sacs technique and their effects on the performance and immune response of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16*(3), 401-414. (in Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/ijasr.2023.84906.1177

**Introduction:** Manganese is an essential trace element that acts as an activating component of many crucial enzymes such as alginase and pyruvate carboxylase. It is involved in carbohydrate, lipid, and protein metabolism, as well as in vital biochemical reactions (Hassan et al., 2020). Additionally, manganese serves as a cofactor in the synthesis of chondroitin sulfate and plays a significant role in bone formation in broiler chickens (Mwangi et al., 2019). Moreover, manganese is vital for the antioxidant and immune systems of animals (Patra and Lalhriatpuii, 2020; Wang et al., 2018). In the production of broiler chickens, manganese sources commonly used include inorganic Mn (Mn sulfate, Mn carbonate and Mn oxide) and organic Mn (Mn chelated with amino acid and protein). Inorganic sources of manganese are cheaper, although they have low digestibility (Tufarelli and Laudadio, 2017; Yenice *et al*., 2015). Organic sources have excellent chemical stability and high absorption efficiency. They have not been widely used in poultry diet due to different quality levels of manufactured products, unpredictable effects and high cost (Tufarelli and Laudadio, 2017; Brooks *et al*., 2012). Therefore, it is important to assess new sources of manganese that have higher digestibility and lower cost. Manganese hydroxychloride is a group of minerals which solubility in water is minimal, but it becomes more soluble in acidic conditions in intestine (Wang *et al*., 2011). The purpose of this experiment was to investigate the different levels and sources of manganese in the diet of broiler chickens by investigating their effects on growth performance, immunity, the digestibility of different sources in different solvents, and the digestibility using the technique of Everted Gut Sacs.

**Materials and Methods:** Manganese sulfate, organic manganese, and manganese Hydroxychloride were obtained from Ariana company. In order to measurement of the amount of dry matter and ash, one gram in four repetitions was sampled from each of the sources. They were dried at 105°C for 12 hours and dry matter was calculated through subtraction. Then samples were transferred to the oven at 550°C for 16 hours and their ash content was determined. Finally, they were digested in hydrochloric acid and passed through Whatman filter paper No. 42. After making up to volume with mili-Q water, they were read by an atomic absorption device at a wavelength of 520 to 560 nm (AOAC, 1995; Williams, 1972). In order to evaluate the solubility, three samples (0.1 g) were prepared and dissolved in 100 ml

©2023 The author(s). This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.
http://doi.org/10.22067/ijasr.2023.84906.1177

of 2% citric acid, 0.4% hydrochloric acid and deionized water (Watson *et al*., 1970). For assessment ability to absorb minerals by the technique of Everted Gut Sacs, 180 one-day-old broilers of the Ross 308 commercial strain were fed from one to twenty-one days old with corn and soybean based (2018). On the 22nd day to the 28th day, they were fed with a diet free of manganese and on 29th day, they were starved for one day and night. Chickens were grouped into three treatments with Hydroxychloride, organic and manganese sulfate sources with 6 replications and 10 pieces per replication. Three parts were selected from each replication for the test steps (Feng *et al*., 2006). Samples prepared from jejunum and ileum in two buffers, Mis-Krebs and Tris-Krebs. In order to determine the relative bioavailability of different manganese sources, an experiment was conducted with 12 treatments included four different levels of manganese (35, 70, 105 and 140 mg/kg) with three different sources including Hydroxychloride, organic and sulfate.

**Results and Discussion:** The highest amount of dry matter of manganese was related to manganese sulfate (99.23%). The lowest was manganese hydroxychloride (92.58%). The highest ash percentage was related to manganese hydroxychloride with 86.14% and the lowest was related to organic manganese with 21.56%. The amount of manganese calculated after testing organic sources, hydroxychloride and sulfate was 5.64, 34.64 and 34.47% respectively. The organic form of manganese had the highest solubility in 2% citric acid and the lowest in deionized water with 96.12 and 34.14%, respectively. Manganese hydroxychloride also had the highest solubility in 2% citric acid solution. Manganese sulfate had the highest solubility in hydrochloric acid and the lowest solubility in deionized water. In general, manganese sulfate had the highest solubility in deionized water compared to the other two sources. Also, the highest solubility of organic manganese in 2% citric acid was 96.12% in the whole experiment. It has been reported in studies that binding minerals with proteins will be a weak chelate and when they are placed in solvents, their chelate breaks easily and dissolve (Cao *et al*., 2000). The results related to performance traits and primary and secondary response of antibody titer against sheep red blood cells (SRBC) showed that experimental treatments had no significant effect on them.

**Conclusion:** The results showed that the highest solubility of the organic form of manganese was in citric acid (96.12%) and the lowest was in deionized water (34.13%). Manganese hydroxychloride had the highest solubility in 2% citric acid, while manganese sulfate had the highest solubility in 0.4% hydrochloric acid. Overall, manganese exhibited the highest solubility in hydrochloric acid and the lowest in deionized water. The results of the technique of inverted intestinal segments showed that the most absorption of manganese occurs in the ileum, and these results were in line with the results of other researchers who had performed this experiment *in vitro* and *in vivo* Among the experimental treatments, the highest absorption in the technique of inverted intestinal segments was related to the organic source of manganese, and the lowest was related to the form of sulfate, 3.25% and 1.99%, respectively. At the end, the use of organic manganese in broiler diet is recommended due to its high absorption level.

**Keywords**: Bioavailability, Broiler chicken, Everted Gut Sacs, Organic manganese, Performance traits

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

مقاله پژوهشی
جلد ۱۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۴۱۴-۴۰۱

# ارزیابی خصوصیات شیمیایی و قابلیت جذب منابع مختلف منگنز با استفاده از تکنیک قطعات وارونه روده و بررسی اثر سطوح و منابع مختلف منگنز بر عملکرد و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی

فاروق کارگر[۱]، حسن کرمانشاهی[۲*]، علی جوادمنش[۳]، رضا مجیدزاده هروی[۳]

تاریخ دریافت:۱۴۰۲/۰۷/۲۵
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۰/۰۴
تاریخ پذیرش:۱۴۰۲/۱۰/۰۵

## چکیده

آزمایشی با هدف تخمین زیست‌فراهمی و ارزیابی خصوصیات شیمیایی منابع آلی و معدنی منگنز شامل منگنز آلی، هیدروکسی کلراید منگنز و سولفات منگنز در جوجه‌های گوشتی با استفاده از تکنیک قطعات وارونه روده اجرا شد. در ابتدا، به‌منظور ارزیابی حلالیت و خصوصیات شیمیایی منابع منگنز در حلال‌های مختلف، از هرکدام از نمونه‌ها ۰/۱ گرم با سه تکرار نمونه‌برداری شد. در ادامه به‌منظور تعیین قابلیت جذب منابع منگنز از تکنیک قطعات وارونه روده استفاده شد. به این منظور، از جوجه خروس‌های ۲۹ روزه که به‌مدت یک هفته (۲۹-۲۳روزگی) از جیره فاقد مکمل منگنز تغذیه شده بودند، استفاده شد و بعد از کشتار از ژژنوم و ایلئوم آن‌ها نمونه‌برداری شد. در ادامه، به‌منظور بررسی اثر سطوح و منابع مختلف منگنز بر صفات عملکردی و ایمنی جوجه‌های گوشتی از ۶۰۰ قطعه جوجه خروس راس ۳۰۸ در ۱۲ تیمار شامل چهار سطح (۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سه منبع (هیدروکسی کلراید، آلی و سولفات) منگنز استفاده شد. نتایج نشان داد که بیشترین حلالیت را منگنز آلی در سیتریک اسید ۲ درصد (۹۶/۱۲ درصد) داشت و کمترین حلالیت منابع منگنز در آب دیونیزه بود. منبع هیدروکسی کلراید بیشترین حلالیت خود را در سیتریک اسید دو درصد با ۸۳/۰۲ درصد نشان داد. همچنین، بیشترین ابقای منگنز در ایلئوم (۳/۲۵ درصد) بود. منگنز آلی با ۳/۲۵ درصد به‌طور معنی‌داری قابلیت جذب بالاتری نسبت به منابع سولفات (۱/۹۹ درصد) و هیدروکسی کلراید (۲/۳۰ درصد) داشت. منابع منگنز اثر معنی‌داری بر صفات عملکردی نداشتند. ضریب تبدیل غذایی در سن ۲۳-۱۱ روزگی در تیمار دارای ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم منبع هیدروکسی کلراید به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در خصوص ایمنی، تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر پاسخ اولیه و ثانویه نداشتند. بنابراین، استفاده از منگنز آلی به‌دلیل ارزش جذب بالاتر توصیه می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** تکنیک قطعات وارونه روده، جوجه گوشتی، زیست‌فراهمی، صفات عملکردی، منگنز آلی

## مقدمه

منگنز به‌عنوان یک عنصر کمیاب ضروری، به‌عنوان کوآنزیم یا در ساختار بسیاری از آنزیم‌های ضروری مانند آرژیناز، پیروات کربوکسیلاز، هیدرولازها و غیره است که در متابولیسم کربوهیدرات، لیپید و پروتئین و بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی حیاتی نقش دارد (Hassan *et al*., 2020 Spears, 2019). همچنین، یک کوفاکتور ضروری در سنتز کوندریوتین سولفات است که ارتباط نزدیکی با استخوان‌سازی جوجه‌های گوشتی دارد (Mwangi *et al*., 2019). از سویی دیگر، منگنز نقش حیاتی در سیستم آنتی‌اکسیدانی و ایمنی حیوانات دارد (Wang *et al*., Patra and Lalhriatpuii, 2020 2018; Pan *et al*., 2018). میزان مصرف منگنز توسط شورای تحقیقات ملی (NRC,1994) در جیره جوجه‌های گوشتی حداقل ۶۰

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)
http://doi.org/10.22067/ijasr.2023.84906.1177

میلی‌گرم بر کیلوگرم توصیه می‌شود. با این حال، محتوای منگنز فقط در حدود ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در جیره غذایی می‌باشد که عمدتاً از ذرت و کنجاله سویا تأمین می‌شود و میزان منگنز در دسترس و قابل ابقای آن بسیار پایین است (Halpin *et al.*, 1986). به‌منظور تأمین نیاز منگنز در پرورش جوجه‌های گوشتی، معمولاً افزودنی‌های منابع منگنز به جیره جوجه‌های گوشتی اضافه می‌شود. در حال حاضر، منابع منگنز که معمولاً در جیره جوجه‌های گوشتی استفاده می‌شود، شامل منگنز معدنی (مانند سولفات منگنز، کربنات منگنز و اکسید منگنز) و منگنز آلی (مانند منگنز کلات شده با اسید آمینه و پروتئین) است. منابع غیر آلی منگنز قابلیت هضم نسبتاً پایینی دارند، اگرچه ارزان‌تر هستند (Yenice *et al.*, 2015;Tufarelli and Laudadio, 2017). منابع آلی منگنز پایداری شیمیایی مناسب و راندمان جذب بالایی از خود نشان داده‌اند، امّا به‌دلیل کیفیت‌های مختلف محصولات تولیدی، اثرات غیر قابل پیش‌بینی و گران قیمت بودن، به‌طور گسترده در تولید استفاده نشده‌اند (Wang *et al.*, Tufarelli and Laudadio, 2017; Brooks *et al.*, 2012). بنابراین، توسعه منابع جدید منگنز با قابلیت هضم بهتر و هزینه نسبتاً کم بسیار مهم است. هیدروکسی کلرید منگنز (MHC)، همچنین به‌عنوان کلرید منگنز پایه یا کلرید منگنز سه ظرفیتی شناخته می‌شود، یک دسته از مواد معدنی هیدروکسی است. حلالیت آن در آب حداقل است، امّا در شرایط اسیدی در روده محلول‌تر می‌شود (Wang *et al.*, 2011). هیدروکسی کلراید منگنز حاوی پیوندهای کووالانسی قوی است که شبیه به مواد معدنی آلی است و ساختار کریستالی خاصی دارد که ممکن است برای ثبات در جیره غذایی و جذب بهتر در روده مفید باشد. هیدروکسی کلراید منگنز به‌عنوان یک افزودنی خوراک توسط سازمان ایمنی غذای اروپا (EFSA, 2016) تأیید شده است. مطالعات قبلی نشان داد که هیدروکسی کلراید منگنز می‌تواند سطح زرده و منگنز پوسته تخم مرغ‌های مرغ‌های تخم‌گذار را افزایش دهد و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی را بهبود بخشد (Jasek *et al.*, 2019; Jasek *et al.*, 2020). در مطالعه‌ای که روی خوک‌ها انجام شد، همچنین نشان داده شده است که گنجاندن هیدروکسی کلراید منگنز در جیره غذایی باعث بهبود سرعت رشد و مصرف خوراک در مقایسه با سولفات منگنز می‌شود (Kerkaert *et al.*, 2020). با این حال، اطلاعات محدودی در مورد سطح افزودن مناسب هیدروکسی کلراید منگنز و منگنز آلی در جوجه‌های گوشتی وجود دارد و اثر نسبی آن در مقایسه با منگنز غیرآلی گزارش نشده است. بنابراین، هدف اصلی این مطالعه، بررسی قابلیت هضم با استفاده از تکنیک قطعات وارونه روده و همچنین بررسی منابع و سطوح مناسب منگنز در جیره جوجه‌های گوشتی با بررسی اثرات آن‌ها بر عملکرد رشد و ایمنی، قابلیت هضم منابع مختلف در حلال‌های متفاوت بود.

## مواد و روش‌ها

کلیه مراحل انجام این مطالعه در مزرعه تحقیقاتی و مجموعه آزمایشگاه‌های دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد.

### تعیین ترکیبات شیمیایی و حلالیت منابع مختلف منگنز استفاده شده در آزمایش

منابع منگنز مورد استفاده در این آزمایش شامل سولفات منگنز، منگنز آلی و هیدروکسی کلراید منگنز بود که از شرکت دانش بنیان توسعه مکمل زیست‌فناور آریانا تهیه گردید.

### تعیین ترکیبات شیمیایی

به‌منظور اندازه‌گیری مقدار ماده خشک و خاکستر، از هرکدام از منابع مورد استفاده یک گرم در چهار تکرار نمونه‌برداری شد و سپس در ابتدا در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۲ ساعت خشک گردید و میزان ماده خشک از تفاضل اعداد به‌دست آمده محاسبه گردید. و سپس نمونه‌ها به داخل کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۶ ساعت منتقل شد و میزان خاکستر آن‌ها نیز تعیین گردید و در انتها به‌منظور اندازه‌گیری مقدار منگنز نمونه‌ها در هیدروکلریک اسید حل شدند و از کاغذ صافی بدون خاکستر واتمن شماره ۴۲ عبور داده شد، بعد از رساندن به حجم با آب مقطر دو بار تقطیر در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد با استفاده از دستگاه جذب اتمی شیماتزو در طول موج ۵۲۰ تا ۵۶۰ نانومتر قرائت شد (AOAC, 1995; Williams, 1972).

### بررسی حلالیت منابع سولفات، آلی و هیدروکسی کلراید منگنز در اسید سیتریک، اسید کلریدریک و آب دو بار تقطیر

انجام این آزمایش با استفاده از دستورالعمل واتسون و همکاران بود (Watson *et al.*,1970). برای انجام این آزمایش ابتدا از هرکدام از منابع، سه نمونه ۰/۱ گرمی توزین شد و در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سیتریک دو درصد و اسید هیدروکلریک ۰/۴ درصد حل شد. به‌مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوباسیون صورت گرفت، سپس با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۴۲ بدون خاکستر صاف گردید. به‌منظور رقیق سازی با استفاده از آب دو بار تقطیر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید و با استفاده از دستگاه جذب اتمی میزان منگنز آن قرائت گردید. میزان منگنز محلول و نامحلول در آب دیونیزه نیز از روش لیچ و پاتون تعیین گردید (Leach and Patton, 1997). بدین منظور، ابتدا از هرکدام از منابع چهار نمونه ۰/۵ گرمی درون بالن ژوژه ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و به آن ۱۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد و به‌مدت نیم ساعت در دمای ۲۵ درجه در بن‌ماری شیک شد و سپس از کاغذ صافی شماره ۴۲ بدون خاکستر عبور داده شد و به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر با استفاده از آب دیونیزه رسید و در دستگاه جذب

اتمی در طول موج ۵۲۰-۵۶۰ نانومتر قرائت شد. کاغذ واتمن به‌دست آمده نیز به درون کوره با دمای ۵۵۰ درجه به‌مدت ۱۶ ساعت منتقل گردید. پس از به‌دست آمدن خاکستر به آن پنج میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید اضافه شد و میزان منگنز نامحلول با استفاده از دستگاه جذب اتمی قرائت گردید. از اعداد به‌دست آمده (غلظت منگنز در نمونه اولیه، نمونه فیلتر شده و مقدار باقی ماده روی کاغذ صافی) میزان حلالیت منگنز در آب دیونیزه نیز محاسبه گردید.

**تعیین قابلیت جذب اشکال مختلف مواد معدنی با استفاده از تکنیک قطعات وارونه روده (Everted Gut Sacs)**

۱۸۰ قطعه جوجه خروس یک روزه سویه تجاری راس ۳۰۸ از یک روزگی تا ۲۱ روزگی با جیره بر پایه ذرت و سویا و بر اساس احتیاجات توصیه شده راس ۳۰۸ (2018) تغذیه شدند. در روز ۲۲ تا روز ۲۸، جیره‌ای عاری از منگنز به آن‌ها داده شد. سپس در روز ۲۹، به‌مدت یک شبانه روز به آن‌ها گرسنگی جهت خالی کردن دستگاه گوارش داده شد. جوجه‌ها به سه تیمار با منابع هیدروکسی کلراید، آلی و سولفات منگنز با شش تکرار و ۱۰ قطعه در هر تکرار دسته‌بندی شدند. سپس از هر تکرار سه قطعه به‌صورت تصادفی انتخاب شد و مراحل زیر انجام گردید (Feng *et al*., 2006).

۱- ضدعفونی کردن تمامی وسایل استفاده شده در طی انجام آزمایش با آب دو بار تقطیر و اسید نیتریک
۲- بیهوش کردن کامل پرنده با استفاده از تزریق ۱-۱/۵ میلی‌لیتر کتامین از طریق ورید بال
۳- خارج کردن دستگاه گوارش
۴- استخراج و جداسازی روده پرنده و شستشوی آن با آب دو بار تقطیر با دمای ۴۰-۳۹ درجه
۵- جداسازی ۱۰ سانتی‌متر از هرکدام از قسمت‌های ایلئوم و ژژنوم و وارونه کردن آن با استفاده از میله‌ای پلاستیکی
۶- شستشوی دوباره قطعات وارونه شده با سرم فیزیولوژیک با دمای ۴۰-۳۹ درجه
۷- وزن کردن قطعات بخش‌های مختلف جدا شده با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۱ گرم
۸- بستن یک طرف قطعات جدا شده از نقاط مختلف روده و پرکردن آن با بافر میس-کربس بدون عنصر منگنز با اسیدیته شش برای ژژنوم و بافر تریس-کربس با اسیدیته هفت برای ایلئوم به‌میزان دو میلی‌لیتر برای هرکدام و بستن طرف دیگر آن با نخ کتانی.
۹- پر کردن ظروف کوچک کدگذاری شده از بافر میس-کربسی (اسیدیته شش جهت قرار دادن ژژنوم) که در آن ۱۰۰ میلی‌گرم از منابع مختلف منگنز (آلی، سولفات و هیدروکسی کلراید) حل شده باشد و همچنین آماده سازی بافر تریس-کربس (اسیدیته هفت برای ایلئوم) که در آن ۱۰۰ میلی‌گرم منگنز با منابع مختلف (آلی، سولفات و هیدروکسی کلراید) حل شده بود.
۱۰- انکوباسیون ظروف در بن‌ماری شیکردار در دمای ۴۰ درجه به‌مدت ۴۵ دقیقه با میزان ۹۰ حرکت در دقیقه.
۱۱- تخلیه کامل قطعات مختلف درون ظروف کوچک شیشه‌ای و کدگذاری آن‌ها و نگهداری در دمای منفی ۲۰ درجه تا زمان آنالیز
۱۲- تعیین غلظت عنصر منگنز در مایعات سروزی موجود در شیشه با استفاده از دستگاه جذب اتمی شیماتزو در طول موج ۵۲۰ تا ۵۶۰ نانومتر (Williams, 1972).

سپس با استفاده از فرمول‌های مناسب ریاضی درصد جذب هرکدام از منابع منگنز در ایلئوم و ژژنوم مورد ارزیابی قرار گرفت.

**تعیین زیست‌فراهمی نسبی اشکال مختلف مواد معدنی با سطوح مختلف با استفاده از آزمایش رشد**

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار که شامل چهار سطح متفاوت از منگنز (۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با سه منبع مختلف (هیدروکسی کلراید، آلی و سولفات) انجام شد (جدول ۲ تیمارهای آزمایشی). آزمایش دارای پنج تکرار و ۱۰ قطعه جوجه گوشتی در هر تکرار بود که به‌طور کلی، ۶۰۰ قطعه جوجه خروس راس ۳۰۸ در این آزمایش قرار گرفت. جیره‌ها به‌صورت آردی تهیه شد و جوجه‌ها در کل دوره آزمایش دسترسی آزاد به آب و خوراک را خواهند داشت. جیره‌های آزمایشی بر اساس احتیاجات جوجه گوشتی راس ۳۰۸ (2018) در سه دوره ابتدایی، رشد و پایانی تنظیم شد. میزان غلظت منگنز هرکدام از جیره‌ها قبل و بعد از افزودن سطوح مختلف این عنصر اندازه‌گیری شد و در جدول۳ نشان داده شده است.

**صفات عملکردی**

افزایش وزن روزانه، میزان خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی در دوره‌های سنی ۱۰-۱ روزگی، ۲۳-۱۱ روزگی و ۳۷-۲۴روزگی با استفاده از رکوردبرداری‌های انجام شده هر پن به‌کمک ترازوی دیجیتال با دقت یک گرم در پایان هر دوره محاسبه گردید.

**سنجش سیستم ایمنی**

از روش سنجش مستقیم هموآگلوتیناسیون، برای اندازه گرفتن پاسخ ایمنی (یعنی آنتی‌بادی تولید شده) بر علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی (SRBC) استفاده گردید (Van and Leenstra, 1980). بدین منظور، از یک گوسفند سالم خون تهیه گردید و پس از سانتریفیوژ کردن آن و شستشوی گلبول‌های قرمز با بافر سالین فسفات، گلبول‌های قرمز حاصله با استفاده از بافر سالین فسفات به

نسبت پنج درصد رقیق شد.

**جدول ۱**- اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره پایه جوجه‌های گوشتی (1-37 روزگی)

**Table 1-** The ingredient and nutrient composition of basal diet to broiler chickens(1-37 days)

| اقلام خوراکی (درصد)<br>Ingredients (Percentage) | آغازین<br>۱۰-۱ روزگی<br>Starter 1-10 days | رشد<br>۲۴-۱۱روزگی<br>Grower 11-24 days | پایانی<br>۳۷-۲۵روزگی<br>Finisher 25-37 days |
|---|---|---|---|
| ذرت<br>Corn | 53.20 | 55.88 | 57.25 |
| کنجاله سویا (پروتئین خام ۴۴٪)<br>Soybean meal (CP 44%) | 38.41 | 34.90 | 33.31 |
| گندم<br>Wheat | 2.02 | 2.02 | 2.02 |
| روغن آفتابگردان<br>Vegetable oil | 2.08 | 3.60 | 4.10 |
| کربنات کلسیم<br>Calcium carbonate | 1.30 | 1.10 | 1.04 |
| دی کلسیم فسفات<br>Di-calcium phosphate | 1.65 | 1.40 | 1.31 |
| نمک طعام<br>Common salt | 0.42 | 0.42 | 0.40 |
| DL- متیونین<br>DL-methionine | 0.15 | 0.10 | 0.07 |
| L- لایزین<br>L-lysine | 0.21 | 0.08 | 0.00 |
| ترئونین<br>Threonine | 0.06 | 0.00 | 0.00 |
| مکمل ویتامینه[1]<br>[1]Vitamin- premix | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| مکمل معدنی بدون منگنز[2]<br>Mineral- premix without manganese | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| ترکیبات شیمیایی جیره<br>Chemical compounds of the diet | | | |
| انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری بر کیلوگرم)<br>ME (kcal/kg) | 2850 | 2970 | 3020 |
| پروتئین خام (درصد)<br>CP (%) | 22.1 | 20.7 | 19.8 |
| کلسیم<br>Ca (%) | 1.00 | 0.85 | 0.80 |
| فسفر قابل دسترس<br>Available P (%) | 0.47 | 0.42 | 0.39 |
| لایزین قابل هضم (درصد)<br>Digestible Lys (%) | 1.35 | 1.17 | 1.03 |
| متیونین قابل هضم (درصد)<br>Digestible Met (%) | 0.48 | 0.42 | 0.39 |
| متیونین + سیستین قابل هضم (درصد)<br>Digestible Met + Cyc (%) | 1.01 | 0.90 | 0.81 |
| ترئونین قابل هضم (درصد)<br>Digestible Thr (%) | 0.89 | 0.78 | 0.70 |

[1] هر کیلوگرم مکمل ویتامینه شامل: ۱۱۰۲۵ واحد بین المللی ویتامین A، ۳۵۲۸ واحد بین المللی ویتامین $D_3$، ۳۳ واحد بین المللی ویتامین E، ۰/۹۱ میلی‌گرم ویتامین $K_3$، ۰/۱۸ گرم ویتامین $B_1$، ۰/۸۲۵ گرم ویتامین $B_2$، ۱ گرم ویتامین $B_3$، ۳ گرم ویتامین $B_5$، ۰/۳ گرم ویتامین $B_6$، ۰/۱۲۵ گرم ویتامین $B_9$، ۰/۱۵ گرم ویتامین $B_{12}$ و ۵۰ گرم کولین کلراید است.

[2] هر کیلوگرم مکمل معدنی شامل: ۵۰ گرم آهن، ۱۱ گرم روی، ۶ گرم مس، ۱ گرم ید و ۰/۲گرم سلنیوم و بدون منگنز بود.

[1]Vitamin permix Supplied the following, per kilogram of diet: vitamin A, 11025 IU; vitamin $D_3$, 3528 IU; vitamin E, 33 mg; vitamin $K_3$, 0.91 mg; Vitamin $B_1$, 0.18 g; Vitamin $B_2$, 0.825 g; Vitamin $B_3$, 1.00g; Vitamin $B_5$, 3.00g; Vitamin $B_6$, 0.30g; Vitamin $B_9$, 0.125g; Vitamin $B_{12}$, 0.15g; choline chloride, 50g;

[2] Mineral permix Supplied the following per kilogram of diet: Fe (Fe-sulfate), 50g; Zn (Zn-sulfate), 11g; 110 mg; Cu (Cu-sulfate), 6g; I (calcum iodate), 1g; Se (sodum selenite), 0.2 g.without Mn.

**جدول ۲**- ترتیب تیمارهای آزمایشی

**Table 2-** The order of the experimental treatments

| تیمار<br>Treatment | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| منبع<br>Source | منگنز آلی<br>Organic manganese | | | | هیدروکسی کلراید منگنز<br>Manganese hydroxychloride | | | | سولفات منگنز<br>Manganese sulfate | | | |
| میلی‌گرم بر کیلوگرم<br>mg/kg | 35 | 70 | 105 | 140 | 35 | 70 | 105 | 140 | 35 | 70 | 105 | 140 |

**جدول ۳**- میزان منگنز اضافه شده و آنالیز شده در جیره‌های ابتدایی، رشد و پایانی (میلی‌گرم در کیلوگرم)

**Table 3-** The amount of manganese added and analyzed in the starter, grower and finisher diets (mg/kg)

| منابع منگنز<br>Source manganese | اضافه شده<br>Added | ابتدایی<br>Starter<br>آنالیز شده<br>Analyzed | رشد<br>Grower<br>آنالیز شده<br>Analyzed | پایانی<br>Finisher<br>آنالیز شده<br>Analyzed |
|---|---|---|---|---|
| منگنز آلی<br>Organic manganese | 35 | 59.14 | 58.63 | 58.91 |
| | 70 | 82.43 | 80.14 | 78.69 |
| | 105 | 124.72 | 123.68 | 116.38 |
| | 140 | 153.66 | 150.29 | 149.62 |
| هیدروکسی کلراید منگنز<br>Manganese hydroxychloride | 35 | 48.41 | 47.58 | 48.96 |
| | 70 | 78.63 | 79.36 | 83.15 |
| | 105 | 119.16 | 121.20 | 120.28 |
| | 140 | 148.36 | 147.92 | 151.28 |
| سولفات منگنز<br>Manganese sulfate | 35 | 37.65 | 39.63 | 38.91 |
| | 70 | 79.61 | 81.21 | 80.28 |
| | 105 | 121.13 | 118.63 | 120.25 |
| | 140 | 147.71 | 151.27 | 150.28 |

در سن ۲۲ روزگی از هر تکرار دو پرنده انتخاب شد و مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون SRBC به سینه آن تزریق شد و در سن ۲۹ روزگی پس از هفت روز اولین خون‌گیری انجام شد و مجدداً ۰/۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون SRBC به سینه مرغ‌ها تزریق شد و نهایتاً در ۳۷ روزگی خون‌گیری نهایی صورت گرفت. خون‌های جمع‌آوری شده پس از سانتریفیوژ و جداسازی سرم برای تعیین ایمونوگلوبولین‌های M و G و کل به آزمایشگاه منتقل گردید (Allahdo *et al*., 2018).

## نتایج و بحث

ارزیابی ویژگی‌های شیمیایی مواد مورد آزمایش می‌تواند کمک بسیاری در زمینه پیش‌بینی ارزش بیولوژیک مواد معدنی مختلف داشته باشد. درصد ماده خشک، درصد خاکستر و درصد منگنز منابع آلی، سولفات و هیدروکسی کلراید منگنز در جدول چهار گزارش شده است. بیشترین مقدار ماده خشک منگنز مربوط به سولفات منگنز (۹۹/۲۳ درصد) و کمترین مربوط به هیدروکسی کلراید منگنز (۹۲/۵۸ درصد) بود. همچنین، بیشترین درصد خاکستر مربوط به هیدروکسی کلراید منگنز با ۸۶/۱۴ درصد و کمترین مربوط به منگنز آلی با ۲۱/۵۶ درصد بود. میزان منگنز محاسبه شده پس از آزمایش هرکدام از منابع آلی، هیدروکسی کلراید و سولفات به‌ترتیب برابر با ۵/۶۴، ۳۴/۶۴ و ۳۴/۴۷ درصد بود.

بررسی حلالیت مواد معدنی در حلال‌های مختلف یک روش مناسب آزمایشگاهی برای پیش‌بینی زیست‌فراهمی این منابع در بدن حیوانات است و بر اساس حلالیت نسبی نیز زیست‌فراهمی نسبی منابع منگنز قابل پیش‌بینی است (Ledoux *et al*., 1991). درصد حلالیت هرکدام از منابع مختلف منگنز در حلال‌های مختلف (آب دیونیزه، سیتریک اسید دو درصد و هیدروکلریک اسید ۰/۴ درصد) در جدول ۵ نشان داده شده است. شکل آلی منگنز بیشترین حلالیت را در سیتریک اسید دو درصد و کمترین را در آب دیونیزه به‌ترتیب با ۹۶/۱۲ و ۳۴/۱۴ درصد داشت. هیدروکسی کلراید منگنز نیز بیشترین حلالیت را در محلول دو درصد سیتریک اسید داشت، امّا سولفات منگنز بیشترین حلالیت را در هیدروکلریک اسید داشت و کمترین آن نیز در آب دیونیزه بود. به‌طور کلی، سولفات منگنز بیشترین حلالیت را در آب دیونیزه نسبت به دو منبع دیگر داشت. همچنین، بیشترین حلالیت در کل آزمایش مربوط به منگنز آلی در سیتریک اسید ۲ درصد با ۹۶/۱۲ درصد بود. در مطالعات گزارش شده است که باند شدن مواد معدنی با پروتئین‌ها، کلات ضعیفی خواهد بود و زمانی که

در حلال‌ها قرار می‌گیرند به‌راحتی کلات آن‌ها می‌شکند و در حلال حل می‌شوند (Cao *et al*.,2000). در مطالعه‌ای که بلک و همکاران (Black *et al*., 1984) انجام دادند، نشان دادند که بین حلالیت مواد معدنی و زیست‌فراهمی آن‌ها در جوجه‌ها و گوسفندها رابطه وجود دارد، امّا در مطالعه حاضر، هیچگونه ارتباطی ما بین حلالیت منبع منگنز و زیست‌فراهمی آن مشاهده نشد. در خصوص منابع آلی، حلالیت تابعی از نوع باندهای تشکیل شده است، بنابراین نتایج حلالیت می‌تواند گمراه‌کننده باشد (Li *et al*., 2011).

**جدول ٤**- ترکیبات شیمیایی منابع مختلف منگنز

**Table 4**- Chemical compositions of different manganese sources

| ترکیبات شیمیایی<br>Chemical compositions | منابع مختلف منگنز<br>Different Manganese Sources | | |
|---|---|---|---|
| | منگنز آلی<br>Organic manganese | هیدروکسی کلراید منگنز<br>Manganese hydroxychloride | سولفات منگنز<br>Manganese sulfate |
| درصد ماده خشک<br>Dry matter (%) | 95.06 | 92.58 | 99.23 |
| درصد خاکستر<br>Ash (%) | 21.56 | 86.14 | 82.88 |
| درصد منگنز<br>Manganese (%) | 5.64 | 34.63 | 34.47 |

**جدول ٥**- درصد حلالیت منابع مختلف منگنز در آب دیونیزه، سیتریک اسید (دو درصد) و هیدرو کلریدریک اسید (۰/۴ درصد)

**Table 5**- Solubility percentage (%) of different sources of manganese in deionized water, 2% citric acid and 0.4% hydrochloric acid

| منابع مختلف منگنز<br>Different Manganese Sources | درصد حلالیت<br>Solubility percentage (%) | | |
|---|---|---|---|
| | هیدروکلریک اسید ۰/۴ درصد<br>0.4% hydrochloric acid | سیتریک اسید دو درصد<br>2% citric acid | آب دیونیزه<br>Deionized water |
| منگنز آلی<br>Organic manganese | 85.82 | 96.12 | 34.13 |
| هیدروکسی کلراید منگنز<br>Manganese hydroxychloride | 64.35 | 83.02 | 34.07 |
| سولفات منگنز<br>Manganese sulfate | 82.46 | 74.99 | 39.31 |

نتایج حاصل از تکنیک قطعات وارونه روده در جدول ۶ گزارش شده است. نتایج نشان داد که بیشترین جذب منگنز در ایلئوم اتفاق می‌افتد و این نتایج همسو با نتایج سایر محققان بود که در شرایط برون تنی و درون تنی این آزمایش را انجام داده بودند (Bai *et al*., 2008). در مطالعه‌ای که مشتاقی و همکاران در سال 2006 بر روی موش‌ها انجام دادند، گزارش دادند که بیشترین جذب منگنز در دوازدهه اتفاق می‌افتد، آن‌ها گزارش کردند که جذب منگنز در دوازدهه موش‌ها به‌ترتیب ۱۲ و ۱۴ درصد بیشتر از ژژنوم و ایلئوم است (Moshtaghie *et al*., 2006). تفاوت بین گزارش‌های تحقیقاتی را می‌توان به‌دلیل سن حیوانات مورد استفاده، نوع، سویه و طول دوره آزمایش ارتباط داد. به نظر می‌رسد که محل اصلی جذب مواد معدنی ایلئوم باشد. در مطالعه‌ای که یو و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام دادند، نشان دادند که جذب روی توسط ایلئوم یک تا پنج برابر بیشتر از جذب آن در دئودنوم و ژژنوم است (Yu *et al*., 2008). در مطالعه حاضر، نتایج نشان داد که قابلیت جذب منابع مختلف منگنز در ژژنوم معنی‌دار نبود، امّا در ایلئوم معنی‌دار بود. به‌طوری‌که بیشترین قابلیت جذب مربوط به منبع آلی منگنز بود که اختلاف معنی‌داری با دو منبع هیدروکسی کلراید و سولفات داشت و اختلاف معنی‌داری بین قابلیت جذب منگنز در دو منبع هیدروکسی کلراید و سولفات وجود نداشت. جی و همکاران گزارش کردند که منابع آلی منگنز (متیونین-منگنز و آمینو اسید- منگنز) قابلیت جذب بالاتری از منبع غیر آلی در سه قسمت روده جوجه‌های گوشتی داراست (Ji *et al*., 2006). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که مواد معدنی به‌شکل آلی که با اسیدهای آمینه، پپتیدها و پروتئین‌ها پیوند تشکیل داده‌اند، قابلیت هضم بالاتری نسبت به اشکال معدنی دارند (Li *et al*., 2005)، زیرا کیلات تشکیل شده آن‌ها مانع از تشکیل کمپلکس‌های نامحلول مواد معدنی با سایر عناصر میکرو می‌گردد (Nollet *et al*., 2007; Rubio Zapata, 2016).

**جدول ٦**- درصد جذب منابع مختلف منگنز در ژژنوم و ایلئوم در جوجه‌های گوشتی 29 روزه با استفاده از قطعات وارونه روده مدت ۴۵ دقیقه

**Table 6-** Uptake percentage (%) of Mn as each source in the everted sacs of jejunum and ileum of broilers at 29 days of age in 45 minutes

| منابع مختلف منگنز<br>Different Manganese Sources | درصد جذب<br>Uptake percentage (%) | |
|---|---|---|
| | ایلئوم (درصد)<br>Ileum (%) | ژژنوم (درصد)<br>Jejunum (%) |
| منگنز آلی<br>Organic manganese | 3.25 [a] | 0.702 |
| هیدروکسی کلراید منگنز<br>Manganese hydroxychloride | 2.30 [b] | 0.665 |
| سولفات منگنز<br>Manganese sulfate | 1.99 [b] | 0.560 |
| خطای استاندارد<br>SEM | 0.1514 | 0.0526 |
| سطح احتمال معنی داری<br>P-value | 0.0001 | 0.1754 |

[a-b] میانگین‌هایی با حروف متفاوت در یک ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد هستند.

[a-b] Means within a row with different superscripts are significantly different at the p-value indicated for ANOVA.

در جدول ۷ اثر منابع و سطوح مختلف عنصر منگنز بر صفات عملکردی در سنین مختلف جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ نشان داده شده است. میزان مصرف خوراک روزانه و افزایش وزن روزانه در هیچکدام از بازه‌های زمانی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. ضریب تبدیل غذایی در سن ۲۳-۱۱ روزگی در گروه تغذیه شده با ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع هیدروکسی کلراید به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در سنین دیگر، اثر معنی‌داری از ضریب تبدیل غذایی مشاهده نشد. گزارش‌های مربوط به اثرات منگنز بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی متناقض است. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که مکمل‌های غذایی با اشکال مختلف منگنز مانند منگنز پروپیونات (Brooks *et al.*, 201)، منگنز کلات شده با پروتئین (Li *et al.*, 2004)، اکسید منگنز (Olgun, 2017)، سولفات منگنز (Lu *et al.*, 2006)، فومارات منگنز (Berta *et al.*, 2004)، یا کیلات اسید آمینه- منگنز (Pacheco *et al.*, 2017) به‌طور قابل توجهی بر میزان مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی تأثیری نداشت. با این حال، منگ و همکاران (Meng *et al.*, 2021) گزارش کردند که گنجاندن ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز در رژیم غذایی به‌عنوان کیلات آنالوگ متیونین هیدروکسیل منگنز می‌تواند افزایش وزن روزانه و میزان خوراک مصرفی روزانه جوجه‌های گوشتی را بهبود بخشد. از طرفی، اوگنیک و همکاران گزارش دادند که رژیم غذایی حاوی ۵۰ یا ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز به‌شکل نانوذرات اکسید منگنز باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی در بوقلمون‌ها شد (Ognik *et al.*, 2019). در حال حاضر، مطالعات کمی در مورد اثر هیدروکسی کلراید منگنز بر جوجه‌های گوشتی انجام شده است که نتایج آن متناقض است. کانلی و همکاران نشان داد که جیره (۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز) همراه با ۳۰ تا ۱۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز به‌شکل گزارش‌های مربوط به اثرات منگنز بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی متناقض بود (Conly *et al.*, 2012). در مطالعه‌ای که سان و همکاران در سال ۲۰۲۱ انجام دادند، نشان دادند که افزودن سطوح مختلف هیدروکسی کلراید منگنز اثر معنی‌داری بر صفات عملکردی ندارد (Sun *et al.*, 2021).

جدول ۸ نشان‌دهنده اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ اولیه و ثانویه تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی (SRBC) است. نتایج نشان داد که منابع مختلف منگنز و سطوح متنوع آن نتوانست اثر معنی‌داری بر پاسخ اولیه و ثانویه تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی داشته باشند. در مطالعه‌ای که ساندر و همکاران (Sunder *et al.*, 2006) انجام دادند، اثر سطوح مختلف منگنز را بر پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که سطوح ۱۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز اثر معنی‌داری بر پاسخ ایمنی هومورال ندارد، امّا سطوح ۱۶۰ و ۳۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در جیره به‌طور معنی‌داری باعث کاهش تیتر آنتی‌بادی در جوجه‌های گوشتی شد. بر اساس گزارشات، عملکرد سیستم ایمنی تابعی از اثرات ژنتیک، تغذیه و محیط است که بر همین اساس تغییر در هرکدام از آن‌ها می‌تواند بر فیزیولوژی و سیستم ایمنی اثرگذار باشد. عدم تعادل در مواد مغذی و یا انحرافات شدید در تغذیه می‌تواند ایمنی حیوان را مختل کند.

**جدول ۷**- اثر منابع و سطوح مختلف منگنز بر صفات عملکردی در جوجه‌های گوشتی سویه راس 308

**Table 7-** Effect of different sources and levels of manganese on performance traits in Ross 308 broilers

| تیمار treatment | صفات عملکردی Performance traits | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | مصرف خوراک روزانه Daily feed intake | | | | افزایش وزن روزانه Daily weight gain | | | | ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio | | | |
| | 1-10 روزگی starter | 11-23 روزگی grower | 24-35 روزگی finisher | 1-35 روزگی total | 1-10 روزگی starter | 11-23 روزگی grower | 24-35 روزگی finisher | 1-35 روزگی Total | 1-10 روزگی starter | 11-23 روزگی grower | 24-35 روزگی Finisher | 1-35 روزگی Total |
| 1 | 26.07 | 81.36 | 132.47 | 83.62 | 24.70 | 48.88 | 70.60 | 48.55 | 1.06 | 1.66[ab] | 1.88 | 1.73 |
| 2 | 25.95 | 81.97 | 142.00 | 87.88 | 25.76 | 48.58 | 80.50 | 53.77 | 1.01 | 1.69[ab] | 1.76 | 1.63 |
| 3 | 26.29 | 84.14 | 139.51 | 86.96 | 25.19 | 52.80 | 75.59 | 51.88 | 1.04 | 1.59[b] | 1.85 | 1.68 |
| 4 | 26.41 | 83.76 | 133.46 | 86.61 | 25.84 | 50.29 | 74.33 | 50.04 | 1.02 | 1.67[b] | 1.80 | 1.73 |
| 5 | 26.47 | 86.88 | 132.39 | 84.79 | 26.79 | 45.93 | 69.77 | 48.94 | 0.99 | 1.89[a] | 1.90 | 1.73 |
| 6 | 27.80 | 85.21 | 137.43 | 88.14 | 27.60 | 52.54 | 72.58 | 52.85 | 1.01 | 1.62[b] | 1.89 | 1.67 |
| 7 | 26.89 | 81.50 | 137.82 | 85.34 | 27.04 | 50.34 | 70.66 | 49.82 | 0.99 | 1.62[b] | 1.95 | 1.71 |
| 8 | 26.94 | 84.89 | 135.48 | 86.97 | 25.60 | 46.84 | 76.37 | 51.69 | 1.05 | 1.81[ab] | 1.77 | 1.68 |
| 9 | 26.17 | 82.19 | 139.84 | 87.92 | 26.41 | 46.13 | 78.07 | 51.74 | 0.99 | 1.78[ab] | 1.79 | 1.70 |
| 10 | 24.99 | 81.90 | 134.92 | 85.76 | 25.91 | 47.52 | 66.03 | 47.96 | 0.96 | 1.72[ab] | 2.04 | 1.79 |
| 11 | 27.80 | 84.45 | 133.38 | 84.52 | 25.82 | 47.24 | 70.58 | 48.23 | 1.08 | 1.79[ab] | 1.89 | 1.75 |
| 12 | 25.21 | 81.15 | 131.46 | 84.83 | 26.03 | 49.19 | 78.03 | 51.95 | 0.97 | 1.65[ab] | 1.68 | 1.63 |
| خطای استاندارد SEM | 0.749 | 1.541 | 2.830 | 1.001 | 0.639 | 1.645 | 3.308 | 1.856 | 0.015 | 0.027 | 0.042 | 0.027 |
| | سطح احتمال معنی‌داری P-value | | | | | | | | | | | |
| کل Total | 0.2362 | 0.1827 | 0.1765 | 0.6779 | 0.2307 | 0.0559 | 0.1137 | 0.3853 | 0.1545 | 0.0057 | 0.1722 | 0.6345 |
| منبع Source | 0.1443 | 0.1090 | 0.6212 | 0.8830 | 0.1870 | 0.0895 | 0.4463 | 0.6855 | 0.9313 | 0.0590 | 0.5988 | 0.7399 |
| سطح Level | 0.5048 | 0.9863 | 0.2012 | 0.5729 | 0.2463 | 0.1161 | 0.4561 | 0.5653 | 0.0870 | 0.0461 | 0.0798 | 0.7378 |
| منبع×سطح Level×source | 0.2435 | 0.1075 | 0.1359 | 0.4282 | 0.3375 | 0.1438 | 0.0480 | 0.1861 | 0.1657 | 0.0195 | 0.2607 | 0.3412 |
| خطی Linear | 0.7632 | 0.9422 | 0.4541 | 0.9251 | 0.0461 | 0.1679 | 0.2702 | 0.5490 | 0.0462 | 0.1117 | 0.1519 | 0.4278 |
| درجه دوم Quadratic | 0.3495 | 0.8431 | 0.0473 | 0.5251 | 0.7905 | 0.0445 | 0.3319 | 0.8040 | 0.2910 | 0.0191 | 0.0332 | 0.8580 |
| درجه سوم Cubic | 0.2444 | 0.7573 | 0.7636 | 0.2121 | 0.8908 | 0.9921 | 0.5070 | 0.2079 | 0.2071 | 0.7614 | 0.6154 | 0.4443 |

[a-b] میانگین‌هایی با حروف متفاوت در یک ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد هستند.

تیمار ۱تا ۴ : به‌ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع آلی

تیمار ۵ تا ۸: به‌ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع هیدروکسی کلراید

تیمار ۹ تا ۱۲: به‌ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع سولفات

[a-b]Means within a row with different superscripts are significantly different at the p-value indicated for ANOVA.

Treatments 1 to 4: containing 35, 70, 105 and 140 mg/kg of manganese with an organic source, respectively.

Treatment 5 to 8: including 35, 70, 105 and 140 mg/1 manganese with hydroxy chloride source, respectively.

Treatment 9 to 12: including 35, 70, 105 and 140 mg of manganese oil with sulfate source, respectively.

**جدول ۸**- تأثیر منابع و سطوح مختلف منگنز بر پاسخ اولیه و ثانویه تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی (SRBC) جوجه‌های گوشتی (سن 29 و 35 روزگی)

**Table 8**- The effect of different sources and levels of manganese on the primary and secondary response of antibody titers against sheep red blood cells (SRBC) of broilers (29 and35 days age)

| تیمار Treatment | منابع و سطوح مختلف منگنز Different sources and levels of manganese | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | تزریق اول First injection (mg/dl) | | | تزریق دوم Second injection (mg/dl) | | |
| | IgM1 | IgG1 | Total Ig1 | IgM2 | IgG2 | Total Ig2 |
| 1 | 3.6 | 3.4 | 7.0 | 3.4 | 3.6 | 7.0 |
| 2 | 3.2 | 4.0 | 7.2 | 2.8 | 3.2 | 6.0 |
| 3 | 4.6 | 4.0 | 8.6 | 3.0 | 2.2 | 5.2 |
| 4 | 4.0 | 4.4 | 8.4 | 2.8 | 4.0 | 6.8 |
| 5 | 2.6 | 5.2 | 7.8 | 4.0 | 2.6 | 6.6 |
| 6 | 4.0 | 3.6 | 7.6 | 2.2 | 2.2 | 4.4 |
| 7 | 4.4 | 5.0 | 9.4 | 1.8 | 3.4 | 5.2 |
| 8 | 3.8 | 4.2 | 8.0 | 2.4 | 2.4 | 4.8 |
| 9 | 3.4 | 5.2 | 8.6 | 2.8 | 3.0 | 5.8 |
| 10 | 3.8 | 4.6 | 8.4 | 2.4 | 3.8 | 6.2 |
| 11 | 3.6 | 3.8 | 7.4 | 2.0 | 2.0 | 4.0 |
| 12 | 3.6 | 3.8 | 7.4 | 2.6 | 2.2 | 4.8 |
| خطای استاندارد SEM | 0.7036 | 0.8236 | 0.551 | 0.6610 | 0.8631 | 0.8935 |
| | احتمال سطح معنی‌داری P-value | | | | | |
| کل Total | 0.8472 | 0.8502 | 0.2821 | 0.6017 | 0.7607 | 0.3322 |
| منبع Source | 0.8802 | 0.6238 | 0.2160 | 0.4823 | 0.5778 | 0.6859 |
| سطح level | 0.3876 | 0.8617 | 0.6779 | 0.1801 | 0.8574 | 0.0468 |
| سطح×منبع Source×level | 0.8213 | 0.6160 | 0.1954 | 0.8447 | 0.4940 | 0.7354 |
| خطی Liner | 0.2051 | 0.5752 | 0.6750 | 0.1341 | 0.6134 | 0.1269 |
| درجه دوم Quadratic | 0.2914 | 0.6759 | 0.2546 | 0.1034 | 0.7395 | 0.2255 |
| درجه سوم Cubic | 0.5745 | 0.6182 | 0.8887 | 0.9072 | 0.5329 | 0.1808 |

تیمار ۱تا ۴ : به‌ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع آلی

تیمار ۵ تا ۸: به‌ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع هیدروکسی کلراید

تیمار ۹ تا ۱۲: به‌ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع سولفات

Treatments 1 to 4: containing 35, 70, 105 and 140 mg/kg of manganese with an organic source, respectively.

Treatment 5 to 8: including 35, 70, 105 and 40 mg/1 manganese with hydroxy chloride source, respectively.

Treatment 9 to 12: including 35, 70, 105 and 140 mg of manganese oil with sulfate source, respectively.

## نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بیشترین حلالیت فرم آلی منگنز در سیتریک اسید دو درصد و کمترین آن در آب دیونیزه با ۹۶/۱۲ و ۳۴/۱۳ بود. منبع هیدروکسی کلراید منگنز نیز بیشترین حلالیت را در سیتریک اسید دو درصد داشت و سولفات منگنز بیشترین حلالیت آن در هیدروکلریک اسید ۰/۴ درصد بود. به‌طور کلی، بیشترین حلالیت منگنز در هیدروکلریک اسید و کمترین در آب دیونیزه بود. با توجه به اعداد به‌دست آمده در تکنیک قطعات وارونه روده مشخص گردید که بیشترین جذب منگنز در ایلئوم می‌باشد. در بین تیمارهای آزمایشی، بیشترین جذب روده‌ای مربوط به منبع آلی منگنز و کمترین آن مربوط به‌شکل سولفات به‌ترتیب ۳/۲۵ و ۱/۹۹ درصد بود. تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر صفات عملکردی (افزایش وزن روزانه، خوراک مصرفی روزانه و ضریب تبدیل غذایی)

در کل دوره آزمایش نداشت. همچنین منابع و سطوح مختلف منگنز اثری بر پاسخ اولیه و ثانویه تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی (SRBC) نشان نداد. باتوجه به داده‌های به‌دست آمده از حلالیت منگنز در حلال‌های مختلف و قطعات وارونه روده استفاده از منگنز آلی (۱۰۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) به‌دلیل ارزش جذب بالا در جوجه‌های گوشتی توصیه می‌شود.

## سپاسگزاری

از هیأت مدیره و بخش تحقیق و توسعه شرکت دانش‌بنیان توسعه مکمل زیست‌فناور آریانا که در انجام این پژوهش مواد اولیه آزمایشی را تأمین کردند تشکر و قدردانی می‌گردد.

## References

1. Allahdo, P., Ghodraty, J., Zarghi, H., Saadatfar, Z., Kermanshahi, H., & Edalatian Dovom, M. R. (2018). Effect of probiotic and vinegar on growth performance, meat yields, immune responses, and small intestine morphology of broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*, *17*(3), 675-685. https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1424570
2. AOAC. (1995). Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA. Bai, S. P., Lu, L., Luo, X. G., & Liu, B. (2008). Kinetics of manganese absorption in ligated small intestinal segments of broilers. *Poultry Science*, *87*(12), 2596-2604. https://doi.org/10.3382/ps.2008-00117.
3. Berta, E., Andrásofszky, E., Bersényi, A., Glávits, R., Gáspárdy, A., & Fekete, S. G. (2004). Effect of inorganic and organic manganese supplementation on the performance and tissue manganese content of broiler chicks. *Acta Veterinaria Hungarica*, *52*(2), 199-209. https://doi.org/10.1556/avet.52.2004.2.8.
4. Black, J. R., Ammerman, C. B., Henry, P. R., & Miles, R. D. (1984). Biological availability of manganese sources and effects of high dietary manganese on tissue mineral composition of broiler-type chicks. *Poultry Science*, *63*(10), 1999-2006. https://doi.org/10.3382/ps.0631999 .
5. Brooks, M. A., Grimes, J. L., Lloyd, K. E., Valdez, F., & Spears, J. W. (2012). Relative bioavailability in chicks of manganese from manganese propionate. *Journal of Applied Poultry Research*, *21*(1), 126-130. https://doi.org/10.3382/japr.2011-00331.
6. Cao, J., Henry, P. R., Guo, R., Holwerda, R. A., Toth, J. P., Littell, R. C., & Ammerman, C. B. (2000). Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. *Journal of Animal Science*, *78*(8), 2039-2054. https://doi.org/10.2527/2000.7882039x .
7. Conly, A. K., Poureslami, R., Koutsos, E. A., Batal, A. B., Jung, B., Beckstead, R., & Peterson, D. G. (2012). Tolerance and efficacy of tribasic manganese chloride in growing broiler chickens. *Poultry Science*, *91*(7), 1633-1640. https://doi.org/10.3382/ps.2011-02056.
8. EFSA panel on additives and products or substances used in animal feed (FEEDAP). (2016). Safety and efficacy of manganese hydroxychloride as feed additive for all animal species. *EFSA Journal*, *14*(5), e04474. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4474.
9. Feng, Ji, Luo, X.G. Lu, L., Liu, B., & Yu, S.X. (2006). Effects of manganese source and calcium on manganese uptake by *in vitro* everted gut sacs of broiler's intestinal segments. *Poultry Science*, *85*, 1217–1225. https://doi.org/10.1093/ps/85.7.1217.
10. Halpin, K. M., Chausow, D. G., & Baker, D. H. (1986). Efficiency of manganese absorption in chicks fed corn-soy and casein diets. *The Journal of Nutrition*, *116*(9), 1747-1751. https://doi.org/10.1093/jn/116.9.1747.
11. Hassan, S., Hassan, F. U., & Rehman, M. S. U. (2020). Nano-particles of trace minerals in poultry nutrition: Potential applications and future prospects. *Biological Trace Element Research*, *195*, 591-612. https://doi.org/10.1007/s12011-019-01862-9.
12. Jasek, A., Coufal, C. D., Parr, T. M., & Lee, J. T. (2019). Evaluation of increasing manganese hydroxychloride level on male broiler growth performance and tibia strength. *Journal of Applied Poultry Research*, *28*(4), 1039-1047. https://doi.org/10.3382/japr/pfz065.
13. Jasek, A., Parr, T., Coufal, C. D., & Lee, J. T. (2020). Research note: Evaluation of manganese hydroxychloride in 45-wk-old white leghorn layers using yolk and shell manganese content. *Poultry Science*, *99*(2), 1084-1087. https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.022.
14. Ji, F., Luo, X. G., Lu, L., Liu, B., & Yu, S. Y. (2006). Effects of manganese source on manganese absorption by the intestine of broilers. *Poultry Science*, *85*, 1947-1952. https://doi.org/10.1093/ps/85.11.1947.
15. Kerkaert, H. R., Woodworth, J. C., DeRouchey, J. M., Dritz, S. S., Tokach, M. D., Goodband, R. D., & Manzke, N. E. (2020). Determining the effects of manganese source and level in diets containing high levels of copper on growth performance of growing-finishing pigs. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, *6*(10), 19. https://doi.org/10.4148/2378-5977.8000.
16. Leach, G. A., & Patton R.S. (1997). Analysis techniques for chelated minerals evaluated. *Feedstuffs*. 69, 13-15.
17. Ledoux, D. R., Henry, P. R., Ammerman, C. B., Rao, P. V., & Miles, R. D. (1991). Estimation of the relative bioavailability of inorganic copper sources for chicks using tissue uptake of copper. *Journal of Animal*

*Science*, *69*(1), 215-222. https://doi.org/10.2527/1991.691215x.
18. Li, S., Luo, X. G., Lu, L., Crenshaw, T. D., Bu, Y. Q., Liu, B., Kuang, X., Shao, G. Z. & Yu, S. X. (2005). Bioavailability of organic manganese sources in broilers fed high dietary calcium. *Animal Feed Science Technology*, *123*, 703-715. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.052..
19. Li, S., Lu, L., Hao, S., Wang, Y., Zhang, L., Liu, S., & Luo, X. (2011). Dietary manganese modulates expression of the manganese-containing superoxide dismutase gene in chickens. *The Journal of Nutrition*, *141*(2), 189-194. https://doi.org/10.3945/jn.110.126680.
20. Li, S., Luo, X., Liu, B., Crenshaw, T. D., Kuang, X., Shao, G., & Yu, S. (2004). Use of chemical characteristics to predict the relative bioavailability of supplemental organic manganese sources for broilers. *Journal of Animal Science*, *82*(8), 2352-2363. https://doi.org/10.2527/2004.8282352x.
21. Lu, L., Ji, C., Luo, X. G., Liu, B., & Yu, S. X. (2006). The effect of supplemental manganese in broiler diets on abdominal fat deposition and meat quality. *Animal Feed Science and Technology*, *129*(1-2), 49-59. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.12.005.
22. Meng, T., Gao, L., Xie, C., Xiang, Y., Huang, Y., Zhang, Y., & Wu, X. (2021). Manganese methionine hydroxy analog chelated affects growth performance, trace element deposition and expression of related transporters of broilers. *Animal Nutrition*, *7*(2), 481-487. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.09.005.
23. Moshtaghie, A. A., Badii, A. A., & Hassanzadeh, T. (2006). Investigation of manganese and iron absorption by rat everted gut sac. *Pakistan Journal Biological Science*. *9*, 1346-1349. https://doi: 10.3923/pjbs.2006.1346.1349.
24. Mwangi, S., Timmons, J., Ao, T., Paul, M., Macalintal, L., Pescatore, A., & Dawson, K. A. (2019). Effect of manganese preconditioning and replacing inorganic manganese with organic manganese on performance of male broiler chicks. *Poultry science*, *98*(5), 2105-2113. https://doi.org/10.3382/ps/pey564.
25. National Research Council. (1994). Nutrient requirements of poultry. National Academies Press.
26. Nollet, L., Van der klis, J., Lensing, M., & Spring P. (2007). The effect of replacing inorganic with organic trace minerals in broiler diets on productive performance and mineral excretion. *Journal Apply Poultry Research*, *16*, 592-597. https://doi.org/10.3382/japr.2006-00115.
27. Ognik, K., Kozłowski, K., Stępniowska, A., Szlązak, R., Tutaj, K., Zduńczyk, Z., & Jankowski, J. (2019). The effect of manganese nanoparticles on performance, redox reactions and epigenetic changes in turkey tissues. *Animal*, *13*(6), 1137-1144. https://doi.org/10.1017/S1751731118002653.
28. Olgun, O. (2017). Manganese in poultry nutrition and its effect on performance and eggshell quality. *World's Poultry Science Journal*, *73*(1), 45-56. https://doi.org/10.1017/S0043933916000891.
29. Pacheco, B. H. C., Nakagi, V. D. S., Kobashigawa, E. H., Caniatto, A. R. D. M., & Faria, D. E. D. (2017). Dietary levels of zinc and manganese on the performance of broilers between 1 to 42 days of age. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *19*, 171-178. https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0323.
30. Pan, S., Zhang, K., Ding, X., Wang, J., Peng, H., Zeng, Q., & Bai, S. (2018). Effect of high dietary manganese on the immune responses of broilers following oral *Salmonella typhimurium* inoculation. *Biological Trace Element Research*, *181*, 347-360. https://doi.org/10.1007/s12011-017-1060-9.
31. Patra, A., & Lalhriatpuii, M. (2020). Progress and prospect of essential mineral nanoparticles in poultry nutrition and feeding—A review. *Biological Trace Element Research*, *197*(1), 233-253. https://doi.org/10.1007/s12011-019-01959-1.
32. Rubio Zapata, N. K. (2016). Effect of increasing levels of dietary zinc (Zn), manganese (Mn), and copper (Cu) from organic and inorganic sources on egg quality and egg Zn, Mn, and Cu content in laying hens. M.Sc., Louisiana State Univ. Zamorano.
33. Spears, J. W. (2019). Boron, chromium, manganese, and nickel in agricultural animal production. *Biological Trace Element Research*, *188*(1), 35-44. https://doi.org/10.1007/s12011-018-1529-1.
34. Sun, Y., Geng, S., Yuan, T., Liu, Y., Zhang, Y., Di, Y., & Zhang, L. (2021). Effects of manganese hydroxychloride on growth performance, antioxidant capacity, Tibia parameters and manganese deposition of broilers. *Animals*, *11*(12), 3470. https://doi.org/10.3390/ani11123470.
35. Sunder, G. S., Panda, A. K., Gopinath, N. C., Raju, M. V., Rao, S. V. R., & Kumar, C. V. (2006). Effect of supplemental manganese on mineral uptake by tissues and immune response in broiler chickens. *The Journal of Poultry Science*, *43*(4), 371-377. https://doi.org/10.2141/jpsa.43.371.
36. Tufarelli, V., & Laudadio, V. (2017). Manganese and its role in poultry nutrition: an overview. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, *5*(6), 749-754. https://doi: 10.18006/2017.5(6).749.754.
37. Van der Zijpp, A., & Leenstra, F. (1980). Genetic analysis of the humoral immune response of White Leghorn chicks. *Poultry Science 59*(7): 1363-1369. https://doi.org/10.3382/ps.0591363.
38. Wang, C., Guan, Y., Lv, M., Zhang, R., Guo, Z., Wei, X., & Jiang, Z. (2018). Manganese increases the sensitivity of the cGAS-STING pathway for double-stranded DNA and is required for the host defense against DNA viruses. *Immunity*, *48*(4), 675-687.
39. Wang, F., Lu, L., Li, S., Liu, S., Zhang, L., Yao, J., & Luo, X. (2012). Relative bioavailability of manganese proteinate for broilers fed a conventional corn–soybean meal diet. *Biological Trace Element Research*, *146*, 181-

186. https://doi.org/10.1007/s12011-011-9238-z.
40. Wang, Y. S., Zhang, J. P., & Gang, Y. (2011). Solubility and phase diagrams of hydroxyl manganese chloride. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, *21*(5), 1136-1140. https://doi.org/10.1016/S1003-6326(11)60833-9.
41. Watson, L. T., Ammerman, C. B., Miller, S. M., & Harms, R. H. (1970). Biological assay of inorganic manganese for chicks. *Poultry Science*, *49*(6), 1548-1554. https://doi.org/10.3382/ps.0491548.
42. Williams, T. R. (1972). Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry (Perkin-Elmer Corp).
43. Yenice, E., Mızrak, C., Gültekin, M., Atik, Z., & Tunca, M. (2015). Effects of organic and inorganic forms of manganese, zinc, copper, and chromium on bioavailability of these minerals and calcium in late-phase laying hens. *Biological Trace Element Research*, *167*, 300-307. https://doi.org/10.1007/s12011-015-0313-8.
44. Yu, Y., Lu, L., Luo, X. G. & Liu, B. (2008). Kinetics of zinc absorption by *in situ* ligated intestinal loops of broilers involved in zinc transporters. *Poultry Science*, *87*, 1146-1155. https://doi.org/10.3382/ps.2007-00430.

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

**Research Article**
**Vol. 16, No.3, 2024, p. 415-432**

# Investigating the Effect of Different Levels of Butyric Acid Glycerides and Clove Oil on Growth Performance, Blood Parameters and Tibia Bone Characteristics of Broiler Chickens

**Seyyedeh Azam Khatami[1]*, Mir Daryoush Shakouri[2], Nemat Hedayat Evrigh[3]**

1, 2 and 3- Ph.D. Student, Associate Professor and Professor., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, respectively.
*Corresponding Author's Email: mdshakouri@uma.ac.ir

Received: 22-10-2023
Revised: 14-01-2024
Accepted: 05-02-2024
Available Online: 03-12-2024

**How to cite this article:**
Khatami, S. A., Shakouri, M. D., & Hedayat Evrigh, N. (2024). Investigating the Effect of Different Levels of Butyric Acid Glycerides and Clove Oil on Growth Performance, Blood Parameters and Tibia Bone Characteristics of Broiler Chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16*(3),415-432. (in Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.84978.1178

**Introduction:** Today, livestock and poultry health in the advanced production system is the main challenge affecting human health and the global economy. For years, antibiotics have been widely used as growth promoters to stabilize the microbial population of the digestive tract and improve performance. However, scientific evidence suggests that the massive use of these compounds has led to increased problem of antibiotic resistance and presence of antibiotics residues in feed and compromises human and animal health. Hence, there is a growing need to find effective alternatives to control infectious diseases and limit the spread of resistant bacteria.

Organic acids are an alternative to antibiotics in poultry diets. These are improving the immune system of broilers by acidifying the gastrointestinal tract and improving the intestinal microflora. Coating of organic acids prevents their dissociation and digestion in the stomach so that the biological effect of organic acids reaches the distal parts of the gastrointestinal tract and is effective in intestinal microflora and mucosal morphology. Also, Essential oils are volatile oil compounds that are produced as secondary metabolites by plants. Essential oils extracted from plants have anti-bacterial, anti-viral, anti-fungal, antioxidant activities as well as immune-modulating effects, reducing blood fat and stimulating the digestive system of poultry. Organic acids can complete the effect of essential oils through synergism antibacterial and bactericidal activities. Therefore, the present study was designed to investigate the effect of different levels of butyric acid glycerides and clove oil on growth performance, blood parameters and tibia bone characteristics of broiler chickens.

**Material and Methods:** A total of 300 male and female broilers (Ross 308) with a completely randomized design with a 2 × 3 factorial arrangement, two levels of butyric acid glycerides (0 and 0.2 %) and three levels of clove oil (0, 500 and 1000 mg/kg) were used. Each of the six dietary treatments was fed to five replicate pens of 10 birds each from 0 to 42 days of age. Body weight gain, feed intake, feed conversion ratio, weights of immune organs, plasma lipids and physical and mineral characteristics of the tibia were recorded. The collected data were analyzed using SAS software (2003) and using the general linear model (GLM) procedure. The equation of the statistical model of the experiment was according to the relation Yijk = μ + Ai + Bj + (AB)ij + eijk, where Yijk represents the numerical value of each observation, μ is the population mean, Ai is the effect of butyric acid glycerides (0 and 0.2%), Bj was the effect of clove oil (0, 500 and 1000 mg/kg), ij (AB) was the interaction effect of butyric acid glycerides and clove oil, and eijk was the experimental error.

©2023 The author(s). This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.
http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.84978.1178

**Results and Discussion:** The results showed that the addition of 0.2% butyric acid glycerides in the diet of broiler chickens reduced feed intake, body weight and daily weight gain compared to the control group (P<0.05). Addition of 1000 mg/kg of clove oil in the diet reduced feed intake, body weight, daily weight gain and european production index compared to the control group (P<0.05). Body weight, feed efeciency, european efficiency factor and feed conversion ratio of broiler chickens were affected by the interaction effect of butyric acid glycerides and clove oil (P<0.05). The addition of different levels of clove oil with and without butyric acid glycerides in the broiler diet reduced cholesterol and LDL concentration compared to the control group (P<0.05). But the concentration of triglyceride, HDL and VLDL were not affected by the experimental treatments. The interaction effect of clove oil and butyric acid glycerides did not affect the weight of bursa of fabricius, thymus and spleen of broiler chickens. The amount of calcium, phosphorus and ash of tibia bone was significantly affected by butyric acid glycerides. Also, the length of the tibia of broiler chickens was affected by the clove oil and the interaction effect of butyric acid glycerides and clove oil (p<0.05).

**Conclusion:** In general, no synergistic effect was observed between butyric acid glycerides and clove oil on growth performance of chickens. Although the use of 0.2% butyric acid glycerides and 1000 mg/kg clove oil led to a decrease in the weight gain of chickens by reducing feed intake, but the addition of butyric acid glycerides caused an increase in the concentration of phosphorus, calcium and ash in the tibia bone of broiler chickens.

**Keywords:** Butyric acid glycerides, Broilers, Clove oil, Tibia bone

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

مقاله پژوهشی
جلد ۱۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۴۳۲-۴۱۵

# بررسی اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و خصوصیات استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی

سیده اعظم خاتمی[۱]، میرداریوش شکوری[۲*]، نعمت هدایت ایوریق[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۳۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۰/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۶

## چکیده

هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات استفاده از سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی، وزن اندام‌های لنفاوی و خصوصیات استخوان درشت نی در جوجه‌های گوشتی بود. بدین منظور، تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر و ماده سویه راس ۳۰۸ با آرایش فاکتوریل (۳ × ۲) در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو سطح گلیسریدهای اسید بوتیریک (صفر و ۰/۲ درصد) و سه سطح روغن میخک (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) با شش تیمار، پنج تکرار و ۱۰ قطعه پرنده در هر تکرار استفاده شد. نتایج نشان داد که افزودن ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک در جیره جوجه‌های گوشتی، مصرف خوراک، وزن بدن و افزایش وزن روزانه را نسبت به گروه شاهد کاهش داد (P<۰/۰۵). مکمل کردن جیره جوجه‌های گوشتی با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک مصرف خوراک، وزن بدن و افزایش وزن روزانه و شاخص تولید اروپایی را نسبت به گروه شاهد کاهش داد (P<۰/۰۵). وزن بدن، بازده خوراک، شاخص تولید اروپایی و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر اثر متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک قرار گرفت (P<۰/۰۵). افزودن سطوح مختلف روغن میخک با و بدون گلیسریدهای اسید بوتیریک در جیره جوجه‌های گوشتی، غلظت کلسترول و LDL را در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد (P<۰/۰۵). امّا غلظت تری‌گلیسرید، HDL و VLDL تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. اثر متقابل روغن میخک و گلیسریدهای اسید بوتیریک وزن بورس فابریسیوس، تیموس و طحال جوجه‌های گوشتی را تحت تأثیر قرار نداد. افزودن ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک، میزان کلسیم، فسفر و خاکستر استخوان درشت نی را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (P< ۰/۰۵). همچنین، طول استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر روغن میخک و اثر متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک قرار گرفت (P< ۰/۰۵)، به‌طوری‌که استفاده از ۵۰۰ میلی‌گرم روغن میخک به تنهایی و همراه با ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک در جیره، طول استخوان درشت نی را کاهش داد. به‌طور کلی، نتیجه‌گیری می‌شود که علی‌رغم مشاهده اثر هم‌کوشی بین گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک بر صفات عملکرد رشد جوجه‌ها و کاهش مصرف خوراک و در پی آن، کاهش افزایش وزن جوجه‌ها، استفاده از ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک سبب افزایش غلظت فسفر، کلسیم و خاکستر استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی شد. همچنین، استفاده از روغن میخک با و بدون گلیسریدهای اسید بوتیریک سبب کاهش غلظت خونی کلسترول و LDL گردید.

**واژه‌های کلیدی:** استخوان درشت نی، جوجه گوشتی، روغن میخک، گلیسریدهای اسید بوتیریک

## مقدمه

امروزه سلامت دام و طیور در سیستم تولید پیشرفته، چالش اصلی تأثیرگذار بر سلامت انسانی و اقتصاد جهانی است. آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان محرک رشد، سال‌های زیادی به‌طور گسترده برای ایجاد ثبات در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش و بهبود عملکرد به‌کار رفته است (Paul *et al.*, 2022). در نتیجه افزایش نگرانی‌ها در مورد ایجاد سویه مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین به‌واسطه باقی‌مانده دارویی در بافت‌های حیوانی، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در اتحادیه اروپا (۲۰۰۶) ممنوع اعلام شد. ازاین‌رو، محققان ترکیباتی نظیر اسیدهای آلی، روغن‌های فرار، پروبیوتیک‌ها و ... را به‌عنوان جایگزینی بی‌خطر در تغذیه طیور مورد بررسی قرار داده‌اند.

۱، ۲ و ۳ – به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
(*– نویسنده مسئول: Email: mdshakouri@uma.ac.ir)
http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.84978.1178

اسید بوتیریک یک اسیدآلی زنجیر کوتاه چهار کربنه بوده که با تأثیر مستقیم بر تحریک رشد آنتروسیت‌ها سبب افزایش چگالی، بهبود یکپارچگی روده، مهار رشد عوامل بیماری‌زا، افزایش طول پرز و در نتیجه، افزایش سطح جذب مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی شده است (Bortoluzzi *et al*., 2017). اسید بوتیریک به دو فرم آزاد و پوشش‌دار وجود دارد (Amiri Andi and Mansouri, 2018). گزارش شده است که اسید بوتیریک به‌فرم آزاد دارای بوی نامطبوع بوده و ۶۰ درصد از آن در چینه‌دان جذب شده و کمتر از یک درصد از این اسید به قسمت‌های پایینی روده کوچک می‌رسد (Wu *et al*., Antongiovanni, 20072018; ). با توجه به اینکه قسمت عمده‌ای از کلنی‌های باکتریایی در بخش‌های پایینی دستگاه گوارش (روده) تشکیل می‌شوند، لذا برای از بین بردن آن‌ها، فرم‌های آزاد اسیدآلی مؤثر نبوده و نیاز به پوشش‌دار کردن آن‌ها می‌باشد. پوشش اسیدهای آلی محافظت شده که معمولاً مونو، دی و تری‌گلیسریدها می‌باشد، دارای بوی نامطبوع نبوده و سطوح پایین‌تری از آن نسبت به فرم آزاد برای بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی نیاز است (Gheisari *et al*., 2007). اسیدهای آلی به‌صورت مونو، دی و تری گلیسرید در اثر ترشح آنزیم‌های صفراوی و پانکراس از هم جدا شده و به‌صورت تجزیه نشده به روده انتقال می‌یابند (Leeson *et al*., 2005). گزارش شده است که گلیسریدهای اسید بوتیریک به‌طور مستقیم وارد روده شده و از نمک‌های اسید بوتیریک آزاد کارآمدتر هستند و با کاهش pHسبب بهبود جمعیت میکروبی جوجه‌های گوشتی می‌شوند (Van Immerseel *et al*., 2009).

اسانس‌ها ترکیبات روغنی فراری هستند که به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه به‌واسطه گیاهان تولید می‌شوند. اسانس‌های استخراج شده از گیاهان دارای فعالیت‌های ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدانی و همچنین اثرات تعدیل‌کننده ایمنی، کاهش چربی خون و تحریک دستگاه گوارشی طیور هستند (Gopi *et al*., 2014; Bouhaddouda *et al*., 2016; Micciche *et al*., 2018). اسانس‌های گیاهی همچنین سبب بهبود فرآیند هضم و افزایش عملکرد رشد طیور می‌شوند (Torki *et al*., 2021Abu Isha *et al*., 2018; ). سازوکار ضدمیکروبی اسانس‌ها تا حد زیادی به خاصیت آبگریزی آن‌ها بستگی دارد که ساختار و نفوذپذیری سلول‌ها را مختل می‌کند (Brenes and Roura, 2010). اسانس‌ها از ایجاد مقاومت ضدمیکروبی جلوگیری نموده و از طریق تنظیم ژن‌های مرتبط با سازوکارهای مقاومت، به مهار باکتری‌های مقاوم کمک می‌کنند (Evangelista *et al*., 2021). اوژنول یک کمپلکس پلی‌فنولی به‌عنوان ماده فعال ضدمیکروبی اولیه موجود در اسانس میخک (*Syzgium aromaticum*) می‌باشد که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدباکتریایی است. علاوه‌براین، اوژنول به‌عنوان محرک اشتها و هضم عمل کرده و همچنین بر جمعیت میکروبی و یکپارچگی سد مخاطی روده و عملکرد سیستم ایمنی در طیور تأثیر مثبت دارد (Zhao *et al*., 2022).

در سال‌های اخیر، ترکیب اسیدهای آلی و اسانس‌های گیاهی به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته و اثرات قابل توجهی را به همراه داشته است (Vinolya *et al*., 2021Iqbal *et al*., 2021; ). اسیدهای آلی می‌توانند اثر اسانس‌ها را از طریق هم‌افزایی به‌واسطه فعالیت‌های ضدباکتریایی و باکتری‌کشی، تکمیل کنند (Pham *et al*., 2020). ازاین‌رو، با توجه به اثرات مثبت اسانس‌های گیاهی و اسیدهای آلی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی، مطالعه‌ای تحت عنوان اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و خصوصیات استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی طراحی و انجام شد.

## مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در سالن مرغداری گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی واقع در شهر اردبیل اجرا گردید. بدین منظور، تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸ (نر و ماده) با آرایش فاکتوریل (۳ × ۲) در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو سطح گلیسریدهای اسید بوتیریک (صفر و ۰/۲ درصد) و سه سطح روغن میخک (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) با شش تیمار، پنج تکرار و ۱۰ قطعه پرنده در هر تکرار انتخاب شدند. اجزا و ترکیب شیمیایی جیره‌ها براساس جدول احتیاجات غذایی سویه راس ۳۰۸ به‌صورت آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) تنظیم شدند (Aviagen, 2019) (جدول ۱). گلیسریدهای اسید بوتیریک استفاده شده در این آزمایش از شرکت سنا دام پارس که محصول شرکت سیلو (Additives Ind Co, Italy SILO) است، تهیه گردید. نام تجاری محصول مورد نظر BaBy-$C_4$ بوده و حاوی مونوگلیسرید اسید بوتیریک (۳۰ درصد)، دی‌گلیسرید اسید بوتیریک (۵۰ درصد) و تری‌گلیسرید اسید بوتیریک (۲۰ درصد) می‌باشد. روغن میخک مورد استفاده نیز از شرکت دارویی و بازرگانی آباتاژ (آیت اسانس) تهیه شد. آنالیز روغن میخک توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی با طیف‌سنج جرمی در دانشکده شیمی دانشگاه محقق اردبیلی انجام گرفت. ترکیبات شیمیایی روغن میخک حاوی ۸۶/۰۲ درصد اوژنول، ۱/۲۶ درصد بتا کاریوفیلین، ۵/۸۸ درصد سیکلوآندکاترین، ۴/۶۲ درصد اوژنول استات و ۲/۲۲ درصد سایر ترکیبات بودند. شرایط محیطی شامل دما، رطوبت و نور براساس توصیه کاتالوگ سویه راس رعایت شد. واکسیناسیون طبق برنامه اداره کل دامپزشکی استان اردبیل انجام گرفت. دسترسی به آب و دان از یک روزگی تا پایان دوره آزمایشی به‌صورت آزاد بود.

**جدول ۱**- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در دوره‌های مختلف

**Table 1-** The ingredients and chemical composition of experimental diets during different periods

| اجزای خوراک (درصد)<br>Diet ingredients (percent) | دوره‌های پرورش<br>Breeding periods | | |
|---|---|---|---|
| | آغازین (۱-۱۰ روزگی)<br>Starter (1-10 d) | رشد (۱۱-۲۴ روزگی)<br>Grower (11-24 d) | پایانی (۲۵-۴۲ روزگی)<br>Finisher (25-42 d) |
| ذرت<br>corn | 52.83 | 56.40 | 60.28 |
| کنجاله سویا<br>Soybean meal | 39.02 | 35.54 | 31.67 |
| روغن گیاهی<br>Vegetable oil | 3.46 | 3.88 | 3.98 |
| پودر صدف<br>Oyster powder | 1.27 | 1.06 | 1.07 |
| دی کلسیم فسفات<br>Dicalcium phosphate | 1.87 | 1.69 | 1.68 |
| نمک<br>salt | 0.41 | 0.41 | 0.38 |
| مکمل ویتامینی[۱]<br>Vitamin premix[1] | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| مکمل مواد معدنی[۲]<br>Mineral premix[2] | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| دی ال- متیونین<br>D, L-methionine | 0.36 | 0.27 | 0.25 |
| ال- لیزین هیدروکلرید<br>L- lysine HCl | 0.28 | 0.25 | 0.19 |
| | ترکیب موادمغذی<br>Nutrient composition | | |
| انرژی متابولیسمی (کیلوکالری/کیلوگرم)<br>ME (kcal/kg) | 2975 | 3050 | 3100 |
| پروتئین خام (درصد)<br>CP (%) | 22.12 | 20.81 | 19.37 |
| لیزین (٪)<br>Lysine (%) | 1.41 | 1.30 | 1.16 |
| متیونین (٪)<br>Methionine (%) | 0.69 | 0.59 | 0.55 |
| متیونین+ سیستین (٪)<br>Methionine + cysteine (%) | 1.05 | 0.93 | 0.87 |
| آرژنین (٪)<br>Arginine (%) | 1.42 | 0.32 | 1.22 |
| کلسیم (٪)<br>Calcium (%) | 1.04 | 0.91 | 0.90 |
| فسفر در دسترس (٪)<br>Available P (%) | 0.49 | 0.45 | 0.44 |
| سدیم (٪)<br>Sodium (%) | 0.18 | 0.18 | 0.17 |

[۱] مقادیر به‌ازای هر کیلوگرم جیره: ویتامین A: (۹۰۰۰ واحد بین‌المللی)، ویتامین $D_3$ : (۲۰۰۰ واحد بین‌المللی)، ویتامین E: ۳۶ میلی‌گرم، ویتامین $K_3$: دو میلی‌گرم، ویتامین $B_1$: ۱/۷۵ میلی‌گرم، ویتامین $B_2$: ۶/۶ میلی‌گرم، پانتوتنات کلسیم: ۹/۸ میلی‌گرم، نیاسین: ۲۹/۶۵ میلی‌گرم، ویتامین $B_6$: ۲/۹۴ میلی‌گرم، ویتامین $B_9$: یک میلی‌گرم، ویتامین $B_{12}$: ۰/۰۱۵ میلی‌گرم، کلریدکولین:۲۵۰ میلی‌گرم و آنتی‌اکسیدان یک میلی‌گرم

[۲] مقادیر به‌ازای هر کیلوگرم جیره: Mn ۹۹/۲ میلی‌گرم، Zn : ۸۴/۷ میلی‌گرم، Fe: ۵۰ میلی‌گرم، Cu: ۱۰ میلی‌گرم، I: ۰/۹۹ میلی‌گرم و Se: ۰/۲ میلی‌گرم

[1] Supplied per kg of diet: vitamin A (9000 IU), vitamin $D_3$ (2000 IU), vitamin E (36 mg), vitamin $K_3$ (2 mg), vitamin $B_1$ (1.75 mg), vitamin $B_2$ (6.6 mg), calcium pantothenate (9.8 mg), niacin 29.65 mg; vitamin $B_6$ (2.94 mg), vitamin $B_9$ (1 mg), vitamin $B_{12}$ (0.015 mg), choline chloride (250 mg) and antioxidant (1 mg)

[2] Supplied per kg of diet: Mn (manganese, 99.2 mg), Zn (zinc, 84.7 mg), Fe (iron, 50 mg), Cu (copper, 10 mg), (iodate, 0.99 mg), Se (selenium 0.2 mg)

**صفات مورد مطالعه**

**عملکرد رشد**

میانگین مصرف خوراک و وزن بدن در ۴۲ روزگی و همچنین میانگین افزایش وزن روزانه، بازده مصرف خوراک و شاخص تولید اروپایی طبق روش مارکو و همکاران (Marcu *et al.*, 2013) (معادله ۱) محاسبه گردید. مصرف خوراک و وزن بدن نیز به‌صورت هفتگی براساس معادله ۲ محاسبه شد.

معادله (۱)

شاخص تولید اروپایی= وزن بدن (کیلوگرم) × درصد زنده‌مانی/مدت آزمایش (روز) × ضریب تبدیل خوراک × ۱۰۰

معادله (۲)

روز مرغ= (تعداد مرغ‌های زنده در آخر هر دوره × تعداد روزهای آن دوره) + (تعداد روزهایی که مرغ‌های تلف شده زنده بودند)

**فراسنجه‌های خونی**

در روز ۴۲، پس از چهار ساعت گرسنگی تحمیلی، دو پرنده از هر قفس انتخاب و از ورید بال خون‌گیری انجام شد. نمونه‌های خون سه ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند تا امکان لخته شدن فراهم شود. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل شده توسط دستگاه سانتریفیوژ (VISION Model VS-15000 CFN II، ساخت کره جنوبی) با ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۱۵ دقیقه سرم از پلاسما جداسازی شد. غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول و HDL-c با استفاده از کیت‌های تجاری پارس آزمون تحت لیسانس کمپانی دیاکنوستیک و به‌واسطه دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO 2100، ساخت آمریکا) اندازه‌گیری شدند. غلظت LDL-c و VLDL-c طبق معادله‌های زیر براساس روش فریدوالد و همکاران (Friedewald *et al.*, 1972) محاسبه شدند.

معادله (۳) LDL-c = TCHO – HDL-c - TG/5

معادله (۴) VLDL-c= TG /5

که در آن‌ها، TCHO: کلسترول کل و TG: تری‌گلیسرید کل می‌باشد.

**خصوصیات فیزیکی و مواد معدنی استخوان درشت نی**

جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و مواد معدنی استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی، در روز ۴۲ آزمایش و پس از کشتار، دو قطعه جوجه از هر تکرار که وزن آن‌ها نزدیک به میانگین بود، انتخاب و درشت نی چپ به‌دقت جدا شد و درون کیسه‌های پلاستیکی در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از یخ‌گشایی نمونه‌ها، گوشت و کلاهک غضروفی جدا گردید. در مرحله بعد، به‌وسیله تیغه‌ای مخصوص، شکافی در امتداد استخوان درشت نی ایجاد شد و به‌منظور چربی‌زدایی به‌مدت ۴۸ ساعت با دی اتیل اتر (حلال چربی) عصاره‌گیری شد. پس از طی این مدت، استخوان درشت نی از حلال چربی خارج شده و در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در آون به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. وزن ماده خشک بدون چربی استخوان با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم و طول استخوان با کولیس اندازه‌گیری شد. سپس برای تعیین درصد خاکستر، استخوان‌ها به‌مدت ۲۹ ساعت در داخل بوته چینی در کوره با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، قرار داده شده و درصد خاکستر محاسبه گردید (Zhang and Coon, 1997). مقادیر فسفر نمونه‌ها با استفاده از روش رنگ‌سنجی با معرف مولیبدات– وانادات و در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) و میزان کلسیم استخوان نیز به‌روش عیارسنجی (تیتراسیون) اندازه‌گیری شد (Gordon and Roland, 1998).

**اندام‌های لنفاوی**

در روز ۴۲ دوره پرورشی، دو قطعه پرنده از هر تکرار (یک نر و یک ماده) کشتار شد و اوزان اندام‌های لنفاوی (بورس فابریسیوس، طحال و تیموس) محاسبه و بر مقدار وزن زنده پرنده تقسیم شده و بر حسب درصد وزن زنده گزارش گردید.

## تجزیه آماری

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SAS (2003) و با استفاده از رویه مدل خط عمومی (GLM) تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش LSMEANS صورت گرفت و سطح احتمال پنج درصد به‌عنوان سطح معنی‌داری منظور گردید. معادله مدل آماری آزمایش مطابق معادله $Yijk = \mu + Ai + Bj + (AB)ij + eijk$ بود که در آن، $Y_{ijk}$: بیانگر مقدار عددی هر مشاهده، μ: میانگین جمعیت، $A_i$: اثر گلیسریدهای اسید بوتیریک (صفر و ۰/۲ درصد)، $B_j$: اثر روغن میخک (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، $(AB)_{ij}$: اثر متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک و $e_{ijk}$: خطای آزمایشی بود.

## نتایج و بحث

**عملکرد رشد**

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، استفاده از ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک در جیره جوجه‌های

گوشتی، مصرف خوراک، وزن بدن و افزایش وزن روزانه را نسبت به گروه بدون گلیسریدهای اسید بوتیریک کاهش داد (P<۰/۰۵)، امّا اثر معنی‌داری بر بازده خوراک و شاخص تولید اروپایی نداشت. افزودن ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک در جیره نیز مصرف خوراک، وزن بدن و افزایش وزن روزانه و شاخص تولید اروپایی را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش داد (P<۰/۰۵)، درحالی که سطح ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. افزایش وزن بدن روزانه، وزن بدن و شاخص تولید اروپایی جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر اثر متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک قرار گرفت (P<۰/۰۵)، امّا مصرف خوراک تحت تأثیر اثر متقابل قرار نگرفت. اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک روی ضریب تبدیل غذایی معنی‌دار نبود، امّا تحت تأثیر اثر متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک قرار گرفت (P<۰/۰۵).

صادقیان و همکاران (Sadeghiyan *et al.*, 2023) گزارش کردند که افزودن اسیدآلی کپسوله شده و کپسوله نشده وزن بدن جوجه‌های گوشتی را افزایش داد، امّا میزان مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی در اثر استفاده از اسیدهای آلی کپسوله شده و نشده کاهش یافت. در مطالعه دیگری گزارش شده است که گنجاندن اسیدآلی در جیره باعث اختلال در عملکرد و کاهش وزن جوجه‌های گوشتی می‌گردد (Biggs and Parsons, 2008Fascina *et al.*, 2017; ). همچنین گزارش شده است که مصرف ۰/۳ درصد اسید بوتیریک به‌شکل روغنی در مقایسه با شکل پودری آن و گروه شاهد موجب کاهش خوراک مصرفی جوجه‌های گوشتی شد (Nezhady *et al.*, 2011). با مطالعه اثر سه اسیدآلی شامل اسید بوتیریک، اسید فوماریک و اسید لاکتیک در سطوح ۰/۲ و ۰/۳ درصد بهبود وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌ها مشاهده گردید (Adil *et al.*, 2010). در مطالعه دیگری، سطوح بالای اسید بوتیریک اثر منفی بر راندمان خوراک داشت، امّا گنجاندن اسید بوتیریک در سطوح پایین اثرات مفیدی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی گذاشت (Aghazadeh and Yazdi, 2012). در سطوح بالاتر (دو گرم بر کیلوگرم بوتیرین) اثر کاهش‌دهنده اشتها در جوجه‌های گوشتی گزارش شده است (Leeson *et al.*, 2005). امّا در مطالعه‌ای توسط موکوئت و همکاران (Moquet *et al.*, 2018) که از سطوح پایین (یک گرم بر کیلوگرم) از بوتیرات در یک جیره غذایی دارای منبع پروتئینی با هضم ضعیف استفاده کرده بودند نیز کاهش مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی مشاهده شد. در مقابل گزارش شده است که افزودن سطوح ۰/۴ و ۰/۶ درصد اسید بوتیریک در جیره وزن بدن جوجه‌های گوشتی را در بازه زمانی ۱ تا ۲۱ روزگی افزایش و ضریب تبدیل غذایی را کاهش داد (Panda *et al.*, 2009). نشان داده شده است که استفاده از ۲۰۰ میلی‌گرم اسید بوتیریک سبب افزایش ضریب تبدیل غذایی گردید (Hu and Guo, 2007). در پستانداران اثر بی اشتهایی ناشی از بوتیرات و سایر اسیدهای چرب زنجیر کوتاه توسط سلول‌های L کولون تعدیل می‌شود که پپتید ۱ شبه گلوکاگون (GLP-1) و پپتید YY (PYY) تولید می‌کنند (Chambers *et al.*, 2015). پپتید ۱ شبه گلوکاگون در حضور پروتئین هضم شده و اسیدهای چرب آزاد تولید می‌شود. PYY مستقیماً روی هیپوتالاموس عمل کرده و کوله سیستوکینین (CCK) را تحریک می‌کند که باعث افزایش اثر سیری از طریق عصب واگ شده و اشتها را کاهش می‌دهد (Furness *et al.*, 2013). هر چند که چنین سازوکاری در گونه‌های پرندگان مورد مطالعه قرار نگرفته است، امّا لازم به ذکر است که سلول‌های L در امتداد روده کوچک جوجه‌ها توزیع می‌شوند (Monir *et al.*, 2014). بنابراین، می‌توان احتمال داد که اسید بوتیریک مورد استفاده در مطالعه حاضر با کاهش اشتها سبب کاهش مصرف خوراک گردیده و در پی آن، وزن جوجه‌ها را کاهش داده است. همچنین از دلایل اختلاف نتایج می‌توان به تفاوت در وضعیت سلامتی، قابلیت هضم خوراک، شرایط نگهداری، مدل‌های عفونت تجربی و غلظت بوتیرات در خوراک اشاره کرد (Ogwuegbu *et al.*, 2021).

نوری و همکاران (Nouri *et al.*, 2018) با بررسی اثرات نانوامولسیون میخک (اوژنول) بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی نشان دادند که افزودن ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوامولسیون میخک، وزن بدن و افزایش وزن روزانه را نسبت به گروه شاهد کاهش داد. درحالی‌که استفاده از ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوامولسیون میخک سبب بهبود ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی گردید. همچنین آزادگان مهر و همکاران (Azadegan Mehr *et al.*, 2014) بیان کردند که استفاده از اوژنول در دوره پایانی سبب بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی گردید. در مطالعه دیگری گزارش شده است که مخلوط اسانس‌های گیاهی (شامل تیمول، اوژنول و پیپرین) و اسیدهای آلی (اسید بنزوئیک) عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی را بهبود می‌بخشد (Weber *et al.*, 2012). گزارش شده است که پاسخ عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی به دز مصرفی اوژنول وابسته بوده و با سه سطح ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک در جیره جوجه‌های گوشتی، کاهش مصرف خوراک در سطوح ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم میخک به‌دلیل تأثیر آن روی خوش‌خوراکی جیره مشاهده گردید، زیرا اوژنول به‌عنوان مسکن عمل کرده و حرکات روده را آهسته می‌کند (Daniel *et al.*, 2009). غلظت اثربخش میخک زمانی است که در مقادیر کمتر از ۱/۵ گرم در کیلوگرم استفاده شود (Cortés-Rojas *et al.*, 2014). برخی از اسانس‌ها ممکن است برای پوشش مخاطی روده تحریک‌کننده بوده و در نتیجه، باعث التهاب روده و کاهش عملکرد جوجه‌های گوشتی

می‌گردند (Su *et al.*, 2021). جوآنی و موراوی (Jouany and Moravi, 2007) گزارش کردند که دوز بیش از حد اسانس‌ها برای حیوانات سمی بوده یا باعث ایجاد واکنش منفی می‌شود. این محققان بیان کردند، زمانی که اوژنول و سینامالدئید با غلظت‌های ۸۵۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به جیره اضافه شد، جذب آلانین از روده موش به‌میزان قابل‌توجهی کاهش یافت. همچنین طغیانی و همکاران (Toghyani *et al.*, 2010) دریافتند که دوز بالاتر اسانس‌های گیاهی در جیره غذایی ممکن است تأثیر نامطلوبی روی برخی از جمعیت‌های میکروبی مفید مانند *لاکتوباسیلوس* داشته باشد و از نشان دادن تأثیر مثبت گیاه بر عملکرد رشد جلوگیری کند. در مطالعه محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2014) نیز اسانس میخک در سطح ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، عملکرد رشد را در مقایسه با سطوح ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن میخک کاهش داد. بنابراین، در مطالعه حاضر، احتمالاً کاهش عملکرد جوجه‌های گوشتی در سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن میخک ناشی از دوز بالاتر آن در جیره جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

**جدول ۲**– اثرات سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک (درصد جیره) و روغن میخک (میلی‌گرم در کیلوگرم) بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی

**Table 2**– Effect of different levels of butyric acid glycerides (%) and clove oil (mg/kg) on growth performance of broiler chickens

| تیمارها<br>Treatments | مصرف خوراک (گرم/روز/پرنده)<br>Feed intake (g/day/bird) | افزایش وزن روزانه (گرم/ روز/پرنده)<br>Daily weight gain (g/day/bird) | وزن بدن (گرم)<br>Body weight (g) | بازده خوراک (گرم/گرم)<br>Feed efeciency (g/g) | شاخص اروپایی<br>European efficiency factor | ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم)<br>Feed conversion ratio (g/g) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | گلیسریدهای اسید بوتیریک<br>Butyric acid glycerides | | | | |
| BAG0 | 82.362[a] | 45.2607[a] | 1946.08[a] | 0.549 | 245.221 | 1.82 |
| BAG0.2 | 78.474[b] | 43.3107[b] | 1864.09[b] | 0.550 | 235.283 | 1.81 |
| SEM | 0.7340 | 0.4561 | 19.1730 | 0.0049 | 5.7240 | 0.015 |
| | | روغن میخک<br>Clove oil | | | | |
| CO0 | 81.120[a] | 44.7180[a] | 1923.25[a] | 0.551 | 240.544[ab] | 1.81 |
| CO500 | 82.504[a] | 46.1430[a] | 1983.25[a] | 0.559 | 253.685[a] | 1.79 |
| CO1000 | 77.630[b] | 41.9960[b] | 1808.76[b] | 0.540 | 226.527[b] | 1.85 |
| SEM | 0.8989 | 0.5586 | 23.4826 | 0.0060 | 7.0105 | 0.018 |
| | | روغن میخک × گلیسریدهای اسید بوتیریک<br>Butyric acid glycerides × clove oil | | | | |
| BAG0 × CO0 | 82.468 | 43.404 | 1868.18[bc] | 0.526[b] | 225.14[b] | 1.90[a] |
| BAG0 × CO500 | 85.086 | 48.820 | 2095.73[a] | 0.574[a] | 274.97[a] | 1.74[b] |
| BAG0 × CO1000 | 79.532 | 43.558 | 1874.33[bc] | 0.548[ab] | 235.55[ab] | 1.82[ab] |
| BAG0.2 × CO0 | 79.772 | 46.032 | 1978.31[ab] | 0.576[a] | 255.95[ab] | 1.73[b] |
| BAG0.2 × CO500 | 79.922 | 43.466 | 1870.78[bc] | 0.544[ab] | 232.40[ab] | 1.83[ab] |
| BAG0.2 × CO1000 | 75.728 | 40.434 | 1743.18[c] | 0.532[b] | 217.50[b] | 1.87[a] |
| SEM | 1.2713 | 0.7900 | 33.2095 | 0.0085 | 9.9143 | 0.026 |
| | | سطح معنی‌داری<br>P-value | | | | |
| BAG | 0.0010 | 0.0059 | 0.0059 | 0.8507 | 0.2315 | 0.6644 |
| CO | 0.0024 | <.0001 | <.0001 | 0.1058 | 0.0382 | 0.0841 |
| BAG × CO | 0.6290 | 0.0001 | 0.0001 | 0.0002 | 0.0038 | 0.0001 |

حروف متفاوت در ستون‌ها نشان از معنی‌داری در سطح پنج درصد می‌باشد.

Different letters in the columns indicate significance at the 5% level

میانگین خطای استاندارد

SEM: Standard Error of Mean

گلیسریدهای اسید بوتیریک، روغن میخک

BAG = Butyric acid glycerides, CO= Clove oil

**فراسنجه‌های خونی**

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی در جدول ۳ نشان داده است. نتایج نشان داد که افزودن گلیسریدهای اسید بوتیریک و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک، غلظت کلسترول و LDL را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه بدون افزودنی کاهش داد. غلظت HDL در اثر تغذیه جوجه‌های گوشتی با گلیسریدهای اسید بوتیریک و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک افزایش یافت، درحالی‌که غلظت تری‌گلیسرید و VLDL تحت تأثیر گلیسریدهای اسید بوتیریک قرار نگرفت. نتایج نشان داد که اثر متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک، غلظت کلسترول و LDL را به‌طور معنی‌داری کاهش دادند، به‌طوری‌که کمترین میزان LDL و کلسترول مربوط به جوجه‌های تغذیه شده با ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک مشاهده شد (P<۰/۰۵).

صادقیان و همکاران (Sadeghiyan *et al.*, 2023) نشان دادند که غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL و HDL تحت تأثیر اسیدهای آلی کپسوله شده و بدون کپسول قرار نگرفت. کمال و راگا (Kamal and Ragaa, 2014) و دیپا و همکاران (Deepa *et al.*, 2017) گزارش کردند که تغذیه جوجه‌های گوشتی با اشکال مختلف اسید بوتیریک، غلظت کلسترول و LDL را کاهش داد، امّا تأثیر معنی‌داری بر غلظت HDL نداشت. در مطالعه دیگری، مکمل کردن جیره جوجه‌های گوشتی با ۰/۲ و ۰/۲۵ درصد اسید بوتیریک، غلظت تری‌گلیسرید خون را کاهش داد. در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با گلیسریدهای اسید بوتیریک، رسوب چربی کاهش می‌یابد که در ارتباط با تغییرات ایجاد شده در ساختار لیپید سرم و همچنین سطوح برخی آنزیم‌های وابسته به متابولیسم لیپید است (Yin *et al.*, 2016). مشخص شده است که اسیدهای آلی، سلامتی دستگاه گوارش را با تحریک رشد باکتری‌های سودمند بهبود می‌بخشند، درحالی‌که باکتری‌های بیماری‌زا را مهار می‌کنند. اسیدهای صفراوی دکونژوگه کمتر محلول بوده است، لذا در روده کمتر جذب می‌شوند و به احتمال زیاد کلسترول را دفع کرده و سبب کاهش تجمع کلسترول در بدن می‌شوند (Taherpour *et al.*, 2010). ازاین‌رو، کاهش غلظت کلسترول سرم را می‌توان به تخریب و تبدیل کلسترول توسط لاکتوباسیل‌ها و سایر جمعیت‌های میکروبی مجرای روده نسبت داد. جمعیت میکروبی قسمت انتهایی روده توانایی سنتز هیدرولازهای نمک صفراوی را دارند که سبب جدا کردن نمک‌های صفراوی می‌گردند (آن‌ها را کمتر جذب می‌کند) و از آنجایی که کلسترول پیش‌ساز اسیدهای صفراوی است، کلسترول بیشتری از گردش خون برای سنتز نمک‌های صفراوی حرکت می‌کند (Caspary, 1992).

نوری و همکاران (Nouri *et al.*, 2018) گزارش کردند که استفاده از ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوامولسیون میخک تأثیر معنی‌داری بر غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL و HDL نداشت. استفاده از سطوح ۰/۵، ۱، ۱/۵ گرم در کیلوگرم روغن میخک در جیره، غلظت کلسترول جوجه‌های گوشتی افزایش داد (Mahrous *et al.*, 2014). امّا مطابق نتایج این پژوهش، افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک در جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش کلسترول و افزایش کلسترول HDL شد (Moustafa *et al.*, 2020). همچنین در مطالعه دیگری، کاهش قابل توجهی در غلظت کلسترول جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با روغن میخک گزارش شده است (Azadegan Mehr *et al.*, 2014). گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد اسانس‌های گیاهی، غلظت LDL سرم را کاهش می‌دهند (Yildirim *et al.*, 2018). هارب و همکاران (Harb *et al.*, 2019) پیشنهاد کردند که نانوامولسیون اوژنول LDL را با مهار آنزیم‌های خاص مانند پراکسیداز و دهیدروژناز کاهش می‌دهد. سازوکار احتمالی کاهش ساخت کلسترول توسط محصولات گیاهی (اسانس‌های آویشن، میخک و دارچین) ممکن است به‌دلیل اثرات بازدارنده ترکیبات فعال آن بر آنزیم ردوکتاز ۳- هیدروکسی ۳- متیل گلوتاریل CoA یا افزایش تجزیه باشد، زیرا آنزیم اصلی برای تولید کلسترول است (Chowdhury *et al.*, 2018). همچنین ممکن است که تغییر در سطح متابولیسم لیپید ناشی از اثر آنتی اکسیدان‌های اسانس و آنتی‌پراکسیدها بر فعالیت کبد باشد که بر بیوسنتز کلسترول تأثیر می‌گذارد (Elbaz *et al.*, 2022). در ارتباط با اثرات استفاده همزمان اسیدآلی و روغن فرار روی فراسنجه‌های خونی سرم جوجه‌های گوشتی، اقبال و همکاران (Iqbal *et al.*, 2021) با استفاده همزمان ۰/۱ گرم بر کیلوگرم اسیدآلی و یک گرم بر کیلوگرم روغن فرار مشاهده کردند که کلسترول کل و HDL سرم جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر قرار نگرفت. بااین‌حال، افزایش سطح گلوکز خون و کاهش غلظت LDL به‌طور قابل توجهی مشاهده شد. کروزو و همکاران (Krauze *et al.*, 2021) نیز از یک افزودنی تجاری فیتوبیوتیک (حاوی ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر روغن دارچین و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سیتریک) در سطوح ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌لیتر در لیتر آب آشامیدنی استفاده کرده و مشاهده نمودند که کلسترول کل و تری‌گلیسرید سرم جوجه‌های گوشتی کاهش نشان داد. این محققان بیان کردند که اجزای روغن باعث استفاده شدید از گلیسرول جهت سنتز مجدد گلوکز در فرآیند گلوکونئوژنز شده و بنابراین، سنتز چربی را محدود می‌کند.

**جدول ۳**- اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک (درصد جیره) و روغن میخک (میلی‌گرم در کیلوگرم) بر برخی فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در روز ۴۲ دوره پرورشی

**Table 3**- Effect of different levels of butyric acid glycerides (%) and clove oil (mg/kg) on some blood parameter of broiler chickens on day 42

| تیمارها Treatments | کلسترول کل (میلی‌گرم/دسی-لیتر) TCHO (mg/dl) | تری‌گلیسرید (میلی‌گرم/دسی-لیتر) TG (mg/dl) | کلسترول لیپوپروتئین با دانسیته بالا (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) HDL-c (mg/dl) | کلسترول لیپوپروتئین با دانسیته خیلی پایین (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) VLDL-c (mg/dl) | کلسترول لیپوپروتئین با دانسیته پایین (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) LDL-c (mg/dl) |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | گلیسریدهای اسید بوتیریک Butyric acid glycerides | | |
| BAG0 | 111.44[a] | 62.186 | 59.922[b] | 12.437 | 39.083[a] |
| BAG0.2 | 108.114[b] | 60.765 | 64.922[a] | 12.153 | 31.036[b] |
| SEM | 1.1647 | 1.5104 | 1.0013 | 0.3021 | 1.1351 |
| | | | روغن میخک Clove oil | | |
| CO0 | 114.713[a] | 63.721 | 60.126[b] | 12.744 | 41.840[a] |
| CO500 | 106.902[b] | 60.195 | 62.228[ab] | 12.038 | 32.632[b] |
| CO1000 | 107.722[b] | 60.511 | 64.911[a] | 12.103 | 30.707[b] |
| SEM | 1.4265 | 1.8499 | 1.2264 | 0.3700 | 1.3903 |
| | | | روغن میخک× گلیسریدهای اسید بوتیریک Butyric acid glycerides× clove oil | | |
| BAG0 × CO0 | 119.422[a] | 64.353 | 57.674 | 11.871 | 48.875[a] |
| BAG0 × CO500 | 106.046[b] | 60.511 | 58.995 | 12.101 | 34.947[b] |
| BAG0 × CO1000 | 108.863[b] | 61.694 | 63.096 | 12.340 | 33.427[b] |
| BAG0.2 × CO0 | 110.003[b] | 63.088 | 62.578 | 12.617 | 34.805[b] |
| BAG0.2 × CO500 | 107.757[b] | 59.880 | 65.461 | 11.975 | 30.318[b] |
| BAG0.2 × CO1000 | 105.581[b] | 59.323 | 66.726 | 11.867 | 27.986[b] |
| SEM | 2.0174 | 2.6161 | 1.7344 | 0.5233 | 1.9662 |
| | | | سطح معنی‌داری P-value | | |
| BAG | 0.0482 | 0.747 | 0.0009 | 0.5086 | 0.0001 |
| CO | 0.0004 | 0.208 | 0.0280 | 0.3366 | 0.0001 |
| BAG × CO | 0.0261 | 0.770 | 0.7166 | 0.9454 | 0.0359 |

حروف متفاوت در ستون‌ها نشان از معنی‌داری در سطح پنج درصد می‌باشد.

Different letters in the columns indicate significance at the 5% level

میانگین خطای استاندارد

SEM: Standard Error of Mean

گلیسریدهای اسید بوتیریک، روغن میخک، کلسترول کل، تری‌گلیسرید

BAG= Butyric acid glycerides, CO=Clove oil, TCHO= Total Cholesterol, TG= Triglyceride

**وزن اندام‌های لنفاوی**

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر اوزان نسبی اندام‌های لنفاوی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ نشان داده شده است. افزودن ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک، وزن بورس فابرسیوس را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (P<۰/۰۵)؛ امّا تأثیری بر وزن طحال و تیموس نداشت. مکمل کردن جیره جوجه‌های گوشتی با ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک، وزن تیموس را نسبت به گروه شاهد و جوجه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک به‌طور معنی‌داری افزایش داد. استفاده از روغن میخک تأثیری بر وزن بورس فابرسیوس و طحال ایجاد نکرد. اثرات متقابل روغن میخک و گلیسریدهای اسید بوتیریک، وزن اندام‌های لنفاوی مورد بررسی را تحت تأثیر قرار نداد.

طحال، بورس و تیموس به‌عنوان شاخصی از پاسخ ایمنی در مطالعات علمی در نظر گرفته می‌شوند. وزن بیشتر این اندام‌ها با عملکردهای ایمنی قوی مرتبط است. بورس فابرسیوس و تیموس مسئول تولید سلول‌هایی جهت محافظت پرندگان در برابر ریزجانداران

مهاجم می‌باشند و همچنین طحال، محل اصلی شکل‌گیری پاسخ ایمونولوژیکی نسبت به پادتن‌های موجود در جریان خون به شمار می‌رود. این عضو جایگاه اصلی بیگانه‌خواری میکروب‌های پوشیده از پادتن می‌باشد (Casteleyn *et al.*, 2010). امران و همکاران (Imran *et al.*, 2018) گزارش کردند که استفاده از سطوح مختلف اسید بوتیریک میکرو کپسوله شده (۰/۰۲۵، ۰/۰۳۵ و ۰/۰۴۵ درصد) اثری بر وزن اندام‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی نداشت. امّا در مقابل گزارش شده است که گنجاندن سدیم بوتیرات در جیره جوجه‌های گوشتی وزن نسبی تیموس را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (Lan *et al.*, 2020). در مطالعه دیگری، محمدباقری و نجفی (Mohammadbagheri and Najafi, 2014) نشان دادند که استفاده از اسیدآلی در جیره جوجه‌های گوشتی، وزن بورس فابرسیوس را افزایش داد، امّا تأثیر معنی‌داری بر وزن تیموس و طحال نداشت. سیکندر و همکاران (Sikandar *et al.*, 2017) گزارش کردند که استفاده از سطوح ۰/۵ و ۱ گرم در کیلوگرم اسید بوتیریک، وزن بورس فابرسیوس جوجه‌های گوشتی را در سن ۲۱ روزگی افزایش داد. پارک و همکاران (Park *et al.*, 2015) بیان کردند که اسیدهای چرب زنجیر کوتاه از جمله بوتیرات‌ها معمولاً در روده سنتز می‌شوند و از رشد سلول‌های T تنظیم‌کننده اینترلوکین-۱۰ حمایت می‌کنند که این سلول‌ها چارچوب سیستم ایمنی را حفظ می‌کنند. ژو و همکاران (Zhou *et al.*, 2014) نشان دادند که بوتیرات تولید اکسید نیتریک را مهار می‌کند و بیان سیتوکین‌ها از جمله اینترلوکین-۶، اینترلوکین-۱۰ و اینترفرون گاما را کاهش داده و با کنترل التهاب سبب حفظ ایمنی می‌شود. در مطالعه حاضر، وزن بورس فابرسیوس در نتیجه مصرف گلیسریدهای اسید بوتیریک افزایش یافت که احتمالاً ناشی از بهبود وضعیت ایمنی می‌باشد.

استفاده از سطوح مختلف روغن میخک در جیره جوجه‌های گوشتی تأثیری بر وزن نسبی بورس فابریسیوس و طحال در ۴۲ روزگی نداشت (Azadegan Mehr *et al.*, 2014). سلیمیان و همکاران (Salimian *et al.*, 2016) با استفاده از دو گرم در کیلوگرم پودر میخک در جیره، تأثیر معنی‌داری در وزن طحال و بورس فابریسیوس جوجه‌های گوشتی مشاهده نکردند. نوری و همکاران (Nouri *et al.*, 2018) گزارش کردند که وزن نسبی بورس فابریسیوس در اثر استفاده از ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو امولسیون روغن میخک در جیره جوجه‌های گوشتی افزایش یافت. همچنین در مطالعه دیگری، گاندومانی و همکاران (Gandomani *et al.*, 2014) نشان دادند که افزودن پودر میخک به جیره‌های غذایی مرغ‌ها باعث افزایش وزن نسبی طحال می‌شود. این محققان بیان کردند که اختلاف در نتایج ممکن است به‌علت تفاوت در منابع میخک، سطوح میخک، ترکیب جیره غذایی یا شرایط محیطی باشد. در مورد اثرات استفاده همزمان از اسیدآلی و روغن فرار روی وزن اندام‌های لنفاوی جوجه‌های گوشتی، آدول و همکاران (Adewole *et al.*, 2021) گزارش کردند که استفاده از اسیدهای آلی محافظت شده در ترکیب با اسانس در سطح ۳۰۰ گرم در کیلوگرم خوراک روی وزن نسبی اندام‌های لنفاوی (بورس فابریسیوس و طحال) اثری نداشت.

**خصوصیات فیزیکی و مواد معدنی استخوان درشت نی**

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر ویژگی‌های فیزیکی و مواد معدنی استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که افزودن ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک در جیره جوجه‌های گوشتی، میزان خاکستر، فسفر و کلسیم را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (P<۰/۰۵)، امّا اختلاف معنی‌داری بر میزان قطر، طول و وزن استخوان درشت نی مشاهده نشد. افزودن ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک، طول استخوان درشت نی را نسبت به گروه شاهد افزایش داد (P<۰/۰۵). قطر، وزن، فسفر، کلسیم و خاکستر استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر سطوح مختلف روغن میخک قرار نگرفت. اثر متقابل معنی‌داری بین دو عامل گلیسریدهای اسید بوتیریک و اوژنول بر صفات مورد مطالعه مشاهده نشد. محمدی پور و همکاران (Mohammadpour *et al.*, 2014) گزارش کردند که تراکم و درصد خاکستر استخوان درشت نی در جوجه‌های گوشتی ۲۱ روزه با افزودن اسیدآلی افزایش یافت، امّا وزن، حجم و طول استخوان درشت نی تحت تأثیر قرار نگرفتند. در مطالعه دیگری گزارش شده است که اسیدهای آلی هیچ اثر قابل توجهی بر شاخص‌های هندسی استخوان ران و درشت نی مرغ‌های تخم‌گذار نداشتند (Świątkiewicz *et al.*, 2010). هرناندز و همکاران (Hernandez *et al.*, 2006) نشان دادند که افزودن اسید فرمیک در سطوح ۰/۵ یا ۱ درصد در جیره جوجه‌های گوشتی، تأثیری بر کلسیم و فسفر استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی ندارد. مشاهده شده است که مکمل‌سازی جیره جوجه‌های گوشتی با مخلوط اسیدهای آلی در سطح ۰/۲ درصد باعث افزایش محتوای خاکستر استخوان درشت نی می‌گردد (Emami *et al.*, 2013). خاکستر استخوان به‌عنوان یکی از حساس‌ترین معیارها برای تشخیص پاسخ به مواد معدنی جیره در طیور مطرح است (Onyango *et al.*, 2003). افزایش خاکستر استخوان اشاره به بهبود معدنی شدن استخوان دارد. تأثیر اسیدهای آلی در بهبود قابلیت دسترسی کلسیم و فسفر را می‌توان به کاهش pH روده مرتبط دانست که احتمالاً از طریق تحریک افزایش طول پرزهای روده و ایجاد کیلات کلسیم و در نتیجه، کاهش تولید کمپلکس فیتات – کلسیم انجام می‌پذیرد.

**جدول ٤**– اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک (درصد جیره) و روغن میخک (میلی‌گرم در کیلوگرم) بر وزن نسبی اندام‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی (بر حسب درصد وزن بدن) در روز ۴۲ پرورشی

**Table 4**– Effect of different levels of butyric acid glycerides (%) and clove oil (mg/kg) on weights of immune organs (% BW) of broiler chickens on day 42

| تیمارها<br>Treatments | بورس فابریسیوس (درصد)<br>Bursa of fabricius | تیموس (درصد)<br>Thymus | طحال (درصد)<br>spleen |
|---|---|---|---|
| | گلیسریدهای اسید بوتیریک<br>Butyric acid glycerides | | |
| BAG0 | 0.137[b] | 0.551 | 1.146 |
| BAG0.2 | 0.157[a] | 0.601 | 1.263 |
| SEM | 0.0058 | 0.0238 | 0.0460 |
| | روغن میخک<br>Clove oil | | |
| CO0 | 0.143 | 0.456[c] | 1.193 |
| CO500 | 0.153 | 0.703[a] | 1.244 |
| CO1000 | 0.146 | 0.568[b] | 1.175 |
| SEM | 0.0072 | 0.0292 | 0.0563 |
| | روغن میخک × گلیسریدهای اسید بوتیریک<br>Butyric acid glycerides× clove oil | | |
| BAG0 × CO0 | 0.123 | 0.403 | 1.055 |
| BAG0 × CO500 | 0.149 | 0.733 | 1.232 |
| BAG0 × CO1000 | 0.139 | 0.516 | 1.150 |
| BAG0.2 × CO0 | 0.162 | 0.510 | 1.331 |
| BAG0.2 × CO500 | 0.156 | 0.674 | 1.257 |
| BAG0.2 × CO1000 | 0.153 | 0.620 | 1.200 |
| SEM | 0.102 | 0.0413 | 0.0796 |
| | سطح معنی‌داری<br>P-value | | |
| BAG | 0.0171 | 0.1105 | 0.0833 |
| COO | 0.5527 | 0.0001 | 0.6346 |
| BAG × CO | 0.2240 | 0.1013 | 0.2181 |

حروف متفاوت در ستون‌ها نشان از معنی‌داری در سطح پنج درصد می‌باشد.

Different letters in the columns indicate significance at the 5% level

میانگین خطای استاندارد

SEM: Standard Error of Mean

گلیسریدهای اسید بوتیریک، روغن میخک

BAG= Butyric acid glycerides, CO= Clove oil

گزارش شده است که استفاده از گلیسریدهای اسید بوتیریک (۰ و ۰/۳ درصد جیره) در جیره جوجه‌های گوشتی باعث افزایش خاکستر، کلسیم و فسفر در استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی شد، امّا این افزایش معنی‌دار نبود (Irani *et al.*, 2011). اختلاف در نتایج مطالعات را می‌توان تا حدی با شکل و سطح اسیدی‌کننده و شرایط غیر بهینه مواد مغذی مانند سطح فسفر جیره غذایی توضیح داد (Esmaeilipour *et al.*, 2011).

اسانس‌ها دارای خواص چربی دوستی هستند، به‌راحتی از غشای سلولی عبور کرده و با تحریک یا مهار مسیرهای متابولیکی خاص بر عملکرد سلول‌های استخوانی تأثیر می‌گذارند (Sabbieti *et al.*, 2011). علاوه‌براین، اسانس‌ها با تکثیر استئوبلاست‌ها و تراکم مواد معدنی، استحکام استخوان را افزایش می‌دهند (Olgun, 2016).

گزارش شده است که جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس پرتقال در مقایسه با پرندگانی که اسانس دریافت نکرده بودند، وزن و تراکم خشک بیشتری در استخوان درشت نی داشتند (Souza *et al.*, 2021). سویم و کوفادار (Sevim and Cufadar, 2021) گزارش کردند که غلظت کلسیم، فسفر و منیزیم استخوان درشت نی در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با اسانس آویشن به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود. چنگیز و همکاران (Cengiz *et al.*, 2016) اثرات اسانس آویشن، رزماری و رازیانه را بر خصوصیات استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی بررسی کرده و گزارش کردند که مصرف مکمل اسانس رازیانه و مخلوط آویشن + رزماری + رازیانه در سطوح ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش معنی‌دار محتوای کلسیم استخوان نسبت به گروه شاهد شد.

این محققان گزارش کردند که اسانس‌ها با تحریک فعالیت استروژن که رابطه مستقیمی با کلسیم دارد به محافظت از ساختار اسکلتی کمک می‌کنند (Cengiz *et al.*, 2016). اثرات اسانس‌ها و ترکیبات آن‌ها در جیره طیور بر غلظت‌های کلسیم، منیزیم و فسفر استخوان بسته به سطوح اسانس مورد استفاده یا شرایط محیطی متفاوت می‌باشد (Sevim and Cufadar, 2021).

**جدول ۵**- اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک (درصد جیره) و روغن میخک (میلی‌گرم در کیلوگرم) بر خصوصیات فیزیکی و مواد معدنی استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی در روز ۴۲ پرورشی

**Table 5-** Effect of different levels of butyric acid glycerides (%) and clove oil (mg/kg) on physical and chemical characteristics of the tibia of broiler chickens on day 42

| تیمارها Treatments | وزن (گرم) Weight (g) | طول (میلی‌متر) Length (mm) | قطر (میلی‌متر) Diameter (mm) | خاکستر (درصد) Ash (%) | فسفر (درصد) Phosphorus (%) | کلسیم (درصد) Calcium (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| BAG0 | 5.325 | 128.546 | 7.496 | 42.660[b] | 5.729[b] | 20.192[b] |
| BAG0.2 | 5.954 | 129.564 | 7.488 | 45.331[a] | 7.072[a] | 21.691[a] |
| SEM | 0.2259 | 0.7405 | 0.2399 | 0.6476 | 0.1920 | 0.3585 |
| روغن میخک Clove oil | | | | | | |
| CO0 | 6.106 | 130.255[a] | 7.862 | 43.518 | 6.355 | 20.291 |
| CO500 | 5.289 | 125.148[b] | 7.364 | 43.595 | 6.309 | 21.047 |
| CO1000 | 5.525 | 131.762[a] | 7.251 | 44.875 | 6.538 | 21.487 |
| SEM | 0.2767 | 0.9069 | 0.2938 | 0.7932 | 0.2352 | 0.4391 |
| روغن میخک × گلیسریدهای اسید بوتیریک Butyric acid glycerides × clove oil | | | | | | |
| BAG0 × CO0 | 5.544 | 127.940 | 7.862 | 41.378 | 5.626 | 19.290 |
| BAG0 × CO500 | 4.848 | 124.948 | 7.292 | 42.654 | 5.594 | 20.662 |
| BAG0 × CO1000 | 5.584 | 132.750 | 7.336 | 43.950 | 5.968 | 20.624 |
| BAG0.2 × CO0 | 6.668 | 132.570 | 7.862 | 45.658 | 7.084 | 21.292 |
| BAG0.2 × CO500 | 5.730 | 125.348 | 7.436 | 44.536 | 7.024 | 21.432 |
| BAG0.2 × CO1000 | 5.466 | 130.774 | 7.166 | 45.800 | 7.108 | 22.350 |
| SEM | 0.3914 | 1.2826 | 0.4156 | 1.121 | 0.3327 | 0.6210 |
| سطح معنی‌داری P-value | | | | | | |
| BAG | 0.0606 | 0.3407 | 0.9798 | 0.0076 | 0.0001 | 0.0069 |
| CO | 0.1212 | 0.0001 | 0.3119 | 0.4109 | 0.7693 | 0.1718 |
| BAG × CO | 0.2625 | 0.0500 | 0.9312 | 0.4733 | 0.8700 | 0.5886 |

حروف متفاوت در ستون‌ها نشان از معنی‌داری در سطح پنج درصد می‌باشد.

Different letters in the columns indicate significance at the 5% level

میانگین خطای استاندارد

SEM: Standard Error of Mean

گلیسریدهای اسید بوتیریک، روغن میخک

BAG= Butyric acid glycerides, CO= Clove oil

## نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، بین گروه‌های دریافت‌کننده گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک اثر هم‌کوشی بر عملکرد رشد جوجه‌ها مشاهده نشد. هر چند استفاده از ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک با کاهش مصرف خوراک به کاهش افزایش وزن جوجه‌ها منجر شد، امّا افزودن گلیسریدهای اسید بوتیریک در جیره سبب افزایش غلظت فسفر، کلسیم و خاکستر استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی گردید.

## References


1. Abu Isha, A. A., Abd El-Hamid, A. E., Ziena, H. M., & Ahmed, H. A. (2018). Effect of spearmint (*Mentha spicata*) on productive and physiological parameters of broiler chicks. *Egyptian Poultry Science Journal*, *38*(3), 815-829. http://dx.doi.org/10.21608/EPSJ.2018.17106.
2. Adewole, D. I., Oladokun, S., & Santin, E. (2021). Effect of organic acids–essential oils blend and oat fiber combination on broiler chicken growth performance, blood parameters, and intestinal health. *Animal*

*Nutrition*, *7*(4), 1039-1051. http://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2021.02.001
3. Adil, S., Banday, T., Bhat, G. A., Mir, M. S., & Rehman, M. (2010). Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. *Veterinary Medicine International*, 479485. http://dx.doi.org/10.4061/2010/479485
4. Aghazadeh, A. M., & TahaYazdi, M. (2012). Effect of butyric acid supplementation and whole wheat inclusion on the performance and carcass traits of broilers. South African *Journal of Animal Science*, *42*(3), 241-248. http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v42i3.5
5. Amiri Andi, M., & Mansouri, H. (2018). Effect of different levels of dietary protected butyric acid on growth performance, blood metabolites and minerals of tibiainbroiler chicken. *Research on Animal Production*, *8*(18), 10-19. (In Persian). http://dx.doi.org/10.29252/rap.8.18.10
6. Antongiovanni, M., Buccioni, A., Petacchi, F., 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), 19-25. http://dx.doi.org/10.4081/ijas.2007.19
7. Aviagen. (2019). Ross 308 Broiler Nutrition Specifications. Aviagen Ltd, Newbridge, UK.
8. Azadegan Mehr, M., Hassanabadi, A., Nassiri Moghaddam, H., & Kermanshah, H. (2014). Supplementation of clove essential oils and probiotic on blood components, lymphoid organs and immune response in broiler chickens. *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences*, *4*(4), 218-223.
9. Biggs, P., & Parsons, C. M. (2008). The effects of several organic acids on growth performance, nutrient digestibilities, and cecal microbial populations in young chicks. *Poultry Science*, *87*(12), 2581-2589. http://dx.doi.org/org/10.3382/ps.2008-00080
10. Bortoluzzi, C., Pedroso, A. A., Mallo, J. J., Puyalto, M., Kim, W. K., & Applegate, T. J. (2017). Sodium butyrate improved performance while modulating the cecal microbiota and regulating the expression of intestinal immune-related genes of broiler chickens. *Poultry Science*, *96*(11), 3981-3993. http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex218
11. Bouhaddouda, N., Aouadi, S., & Labiod, R. (2016). Evaluation of chemical composition and biological activities of essential oil and methanolic extract of Origanum vulgare L. ssp. glandulosum (DESF.) Ietswaart from Algeria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, *8*(1), 104-112. http://dx.doi.org/10.26502/jppr.0003
12. Brenes, A., & Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, *158*(1-2), 1-14. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.03.007
13. Caspary, W. F. (1992). Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. The *American journal of clinical nutrition*, *55*(1), 299-308. http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/55.1.299s
14. Casteleyn, C., Doom, M., Lambrechts, E., Van Den Broeck, W., Simoens, P., & Cornillie, P. (2010). Locations of gut-associated lymphoid tissue in the 3-month-old chicken: A review. *Avian Pathology*, *39*(3), 143-150. http://dx.doi.org/10.1080/03079451003786105
15. Cengiz, S. S., Yesilbag, D., Eren, M., Cetin, I., Meral, Y., & Biricik, H. A. K. A. N. (2016). Effects of volatile oil additives on growth, carcass performances, and calcium and phosphorus concentrations in serum and bone of broilers. Revue de Medecine Veterinaire, *167*(7), 230-239.
16. Chambers, E. S., Morrison, D. J., & Frost, G. (2015). Control of appetite and energy intake by SCFA: what are the potential underlying mechanisms?.R *Proceedings of the Nutrition Society*, *74*(3), 328-336. http://dx.doi.org/10.1017/S0029665114001657
17. Chowdhury, S., Mandal, G. P., Patra, A. K., Kumar, P., Samanta, I., Pradhan, S., & Samanta, A. K. (2018). Different essential oils in diets of broiler chickens: 2. Gut microbes and morphology, immune response, and some blood profile and antioxidant enzymes. *Animal Feed Science and Technology*, *1* (236), 39-47. http://dx.doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2017.12.003
18. Cortés-Rojas, D. F., de Souza, C. R. F., & Oliveira, W. P. (2014). Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *4*(2), 90-96. http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60215-X
19. Daniel, A. N., Sartoretto, S. M., Schmidt, G., Caparroz-Assef, S. M., Bersani-Amado, C. A., & Cuman, R. K. N. (2009). Anti-inflammatory and antinociceptive activities A of eugenol essential oil in experimental animal models. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *19*(1), 212-217. http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2009000200006
20. Deepa, K., Purushothaman, M. R., Vasanthakumar, P., & Sivakumar, K. (2017). Serum biochemical parameters and meat quality influenced due to supplementation of sodium butyrate in broiler chicken. *International Journal of Livestock Research*, *7*(8), 108-116. http://dx.doi.org/10.5455/IJLR.20170610051212
21. Elbaz, A. M., Ashmawy, E. S., Salama, A. A., Abdel-Moneim, A. M. E., Badri, F. B., & Thabet, H. A. (2022). Effects of garlic and lemon essential oils on performance, digestibility, plasma metabolite, and intestinal health in broilers under environmental heat stress. *BMC Veterinary Research*, *18*(1), 1-12. http://dx.doi.org/10.1186/s12917-022-03530-y.
22. Emami, N. K., Naeini, S. Z., & Ruiz-Feria, C. A. (2013). Growth performance, digestibility, immune response and

intestinal morphology of male broilers fed phosphorus deficient diets supplemented with microbial phytase and organic acids. *Livestock Science*, *157*(2-3), 506-513. http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2013.08.014

23. Esmaeilipour, O., Shivazad, M., Moravej, H., Aminzadeh, S., Rezaian, M., & Van Krimpen, M. M. (2011). Effects of xylanase and citric acid on the performance, nutrient retention, and characteristics of gastrointestinal tract of broilers fed low-phosphorus wheat-based diets. *Poultry Science*, *90*(9), 1975-1982. http://dx.doi.org/10.3382/ps.2010-01264
24. Evangelista, A. G., Corrêa, J. A. F., Pinto, A. C. S. M., & Luciano, F. B. (2022). The impact of essential oils on antibiotic use in animal production regarding antimicrobial resistance–a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *62*(19), 5267-5283. http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2021.1883548
25. Fascina, V. B., Pasquali, G. A. M., Carvalho, F. B., Muro, E. M., Vercese, F., Aoyagi, M. M., & Sartori, J. R. (2017). Effects of phytogenic additives and organic acids, alone or in combination, on the performance, intestinal quality and immune responses of broiler chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *19*(3), 497-508. http://dx.doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0422
26. Friedewald, W. T., Levy, R. I., & Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, *18*(6), 499-502.
27. Furness, J. B., Rivera, L. R., Cho, H. J., Bravo, D. M., & Callaghan, B. (2013). The gut as a sensory organ. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, *10*(12), 729-740. http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2013.18 .
28. Gandomani, V. T., Mahdavi, A. H., Rahmani, H. R., Riasi, A., & Jahanian, E. (2014). Effects of different levels of clove bud (*Syzygium aromaticum*) on performance, intestinal microbial colonization, jejunal morphology, and immunocompetence of laying hens fed different n-6 to n-3 ratios. *Livestock Science*, *167*(1), 236-248. http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2014.05.006
29. Gheisari, A. A., Heidari, M., Kermanshahi, R. K., Togani, M., & Saraeian, S. (2007). Effect of dietary supplementation of protected organic acids on ileal microflora and protein digestibility in broiler chickens. In Proceedings of the 16th European Symposium on Poultry Nutrition. Strasbourg, France (pp. 519-522).
30. Gopi, M., Karthik, K., Manjunathachar, H. V., Tamilmahan, P., Kesavan, M., Dashprakash, M., Balaraju, B. L., & Purushothaman, M. R. (2014). Essential oils as a feed additive in poultry nutrition. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, *2*(1), 1-7. http://dx.doi.org/10.14737/journal.aavs/2014.2.1.1.7
31. Gordon, R. W., & Roland Sr, D. A. (1998). Influence of supplemental phytase on calcium and phosphorus utilization in laying hens. *Poultry Science*, *77*(2), 290-294. http://dx.doi.org/10.1093/ps/77.2.290
32. Harb, A. A., Bustanji, Y. K., Almasri, I. M., & Abdalla, S. S. (2019). Eugenol reduces LDL cholesterol and hepatic steatosis in hypercholesterolemic rats by modulating TRPV1 receptor. *Scientific Reports*, *9*(1), 1-10. http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-50352-4
33. Hernandez, F., Garcia, V., Madrid, J., Orengo, J., Catalá, P., & Megias, M. D. (2006). Effect of formic acid on performance, digestibility, intestinal histomorphology and plasma metabolite levels of broiler chickens. *British Poultry Science*, *47*(1), 50-56. http://dx.doi.org/10.1080/00071660500475574
34. Hu, Z., & Guo, Y. (2007). Effects of dietary sodium butyrate supplementation on the intestinal morphological structure, absorptive function and gut flora in chickens. *Animal Feed Science and Technology*, *132*(3-4), 240-249. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.03.017
35. Ibrahim, D., Eldemery, F., Metwally, A. S., Abd-Allah, E. M., Mohamed, D. T., Ismail, T. A., Hamed, T. A., Al Sadik, G.M., Neamat-Allah, A.N., & Abd El-Hamid, M.I. (2022). Dietary eugenol nanoemulsion potentiated performance of broiler chickens: Orchestration of digestive enzymes, intestinal barrier functions and cytokines related gene expression with a consequence of attenuating the severity of E. coli O78 infection. *Frontiers in Veterinary Science*, *23*(9), 1-17. http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2022.847580
36. Imran, M., Ahmed, S., Ditta, Y. A., Mehmood, S., Khan, M. I., Gillani, S. S., Rasool, Z., Sohail, M. L., Mushtaq, A., & Umar, S. (2018). Effect of microencapsulated butyric acid supplementation on growth performance, ileal digestibility of protein, duodenal morphology and immunity in broilers. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *69*(3), 1109-1116.
37. Iqbal, H., Rahman, A., Khanum, S., Arshad, M., Badar, I. H., Asif, A. R., Hayat, Z. & Iqbal, M. A. (2021). Effect of essential oil and organic acid on performance, gut health, bacterial count and serological parameters in broiler. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *23*(3), 1-10. http://dx.doi.org/10.1590/1806-9061-2021-1443
38. Irani, M., Gharahveysi, S., Zamani, M., & Rahmatian, R. (2011). The effect of butyric acid glycerides on performance and some bone parameters of broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, *10*(59), 12782-12788. http://dx.doi.org/10.5897/AJB11.1148
39. Jouany, J. P., & Morgavi, D. P. (2007). Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Animal*, *1*(10), 1443-1466. http://dx.doi.org/10.1017/S1751731107000742
40. Kamal, A. M., & Ragaa, N. M. (2014). Effect of dietary supplementation of organic acids on performance and serum biochemistry of broiler chicken. *Nature and Science*, *12*(2), 38-45. http://dx.doi.org/10.4061/2010/479485
41. Krauze, M., Cendrowska-Pinkosz, M., Matusevičius, P., Stępniowska, A., Jurczak, P., & Ognik, K. (2021). The

effect of administration of a phytobiotic containing cinnamon oil and citric acid on the metabolism, immunity, and growth performance of broiler chickens. *Animals*, *11*(2), 399. http://dx.doi.org/10.3390/ani11020399

42. Lan, R. X., Li, S. Q., Zhao, Z., & An, L. L. (2020). Sodium butyrate as an effective feed additive to improve growth performance and gastrointestinal development in broilers. *Veterinary Medicine and Science*, *6*(3), 491-499. http://dx.doi.org/10.1002/vms3.250
43. Leeson, S., Namkung, H., Antongiovanni, M., & Lee, E. H. (2005). Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens. *Poultry science*, *84*(9), 1418-1422. http://dx.doi.org/10.1093/ps/84.9.1418
44. Mahdavi, R., & Torki, M. (2009). Study on usage period of dietary protected butyric acid on performance. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, *8*(9), 1702-1709.
45. Mahrous, H. S., El-Far, A. H., Sadek, K. M., & Abdel-Latif, M. A. (2017). Effects of different levels of clove bud (*Syzygium aromaticum*) dietary supplementation on immunity, antioxidant status, and performance in broiler chickens. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, *54*(2): 29-32. http://dx.doi.org/10.5455/ajvs.272231
46. Marcu, A., Vacaru-Opriş, I., Dumitrescu, G., Ciochină, L. P., Marcu, A., Nicula, M., Peţ, I., Dronca, D., Kelciov, B., & Mariş, C. (2013). The influence of genetics on economic efficiency of broiler chicken's growth. *Animal Science and Biotechnologies*, *46*(2), 339-346.
47. Micciche, A. C., Foley, S. L., Pavlidis, H. O., McIntyre, D. R., & Ricke, S. C. (2018). A review of prebiotics against *Salmonella* in poultry: current and future potential for microbiome research applications. *Frontiers in Veterinary Science*, *5*(191), 1-11. http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2018.00191
48. Mohammadbagheri, N., & Najafi, R. (2014). 'The effect of citric acid and phytase on performance, blood lipid profile, immune system and some carcass characteristics of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 6(2), 131-139. (In Persian). http://dx.doi.org/10.22067/ijasr.v6i2.27800
49. Mohammadi, Z., Ghazanfari, S., & Moradi, M. A. (2014). Effect of supplementing clove essential oil to the diet on microflora population, intestinal morphology, blood parameters and performance of broilers. *European Poultry Science*, 78, 51-59. http://dx.doi.org/10.1399/eps.2014.51
50. Mohammadpour, A. A., Kermanshahi, H., Golian, A., Gholizadeh, M., & Gilani, A. (2014). Evaluation of varying levels of acid-binding capacity of diets formulated with various acidifiers on physical and histological characteristics of leg bones in broiler chickens. *Comparative Clinical Pathology*, *23*(5), 1409-1420. http://dx.doi.org/10.1007/ s00580-013-1798-1
51. Monir, M. M., Hiramatsu, K., Nishimura, K., Takemoto, C., & Watanabe, T. (2014). Distribution of glucagon-like peptide (GLP)-2-immunoreactive cells in the chicken small intestine: antigen retrieval immunohistochemistry. *Journal of Veterinary Medical Science*, *76*(4), 565-568. http://dx.doi.org/10.1292/jvms.13-0513
52. Moquet, P. C. A., Salami, S. A., Onrust, L., Hendriks, W. H., & Kwakkel, R. P. (2018). Butyrate presence in distinct gastrointestinal tract segments modifies differentially digestive processes and amino acid bioavailability in young broiler chickens. *Poultry Science*, *97*(1), 167-176. http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex279
53. Moustafa, N., Aziza, A., Orma, O., & Ibrahim, T. (2020). Effect of supplementation of broiler diets with essential oils on growth performance, antioxidant status, and general health. *Mansoura Veterinary Medical Journal*, *21*(1), 14-20. http://dx.doi.org/10.21608/MVMJ.2020.21.103
54. Nezhady, M. A. M., Zabihi, S. L., & Kalhori, M. M. (2011). Effect of different level of butyric acid glycerides on performance and serum composition of broiler chickens. *World Journal of Zoology*, *6*(2), 179-182.
55. Nouri, M., Ghorbani, M. R., Tatar, A., & Mehrnia, M. A. (2018). Effect of clove essential oil nanoemulsion on performance of broiler chickens fed diet based on wheat. *Animal Production*, *20*(2), 315-327. http://dx.doi.org/10.22059/jap.2018.254359.623268
56. Ogwuegbu, M., Oyeagu, C., Edeh, H., Dim, C., Ani, A., & Lewu, F. (2021). Effects of sodium butyrate and rosemary leaf meal on general performance, carcass traits, organ sizes and nutrient digestibility of broiler chickens. *IRANIAN JOURNAL OF APPLIED ANIMAL* Sciences, *11*(2), 365-379. http://dx.doi.org/20.1001.1.2251628.2021.11.2.18.2
57. Olgun, O. (2016). The effect of dietary essential oil mixture supplementation on performance, egg quality and bone characteristics in laying hens. *Annals of Animal Science*, *16*(4), 1115-1125. http://dx.doi.org/10.1515/aoas-2016-0038
58. Onyango, E. M., Hester, P. Y., Stroshine, R., & Adeola, O. (2003). Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. *Poultry Science*, *82*(11), 1787-1791. http://dx.doi.org/10.1093/ps/82.11.1787
59. Panda, A. K., Rao, S. V., Raju, M. V. L. N., & Sunder, G. S. (2009). Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *22*(7), 1026-1031. http://dx.doi.org/10.5713/AJAS.2009.80298
60. Park, J., Kim, M., Kang, S. G., Jannasch, A. H., Cooper, B., Patterson, J., & Kim, C. H. (2015). Short-chain fatty acids induce both effector and regulatory T cells by suppression of histone deacetylases and regulation of the mTOR–S6K pathway. *Mucosal Immunology*, *8*(1), 80-93. http://dx.doi.org/10.1038/mi.2014.44

61. Paul, S. S., Rama Rao, S. V., Hegde, N., Williams, N. J., Chatterjee, R. N., Raju, M. V. L. N., Reddy, G. N., Kumar, V., Phani Kumar, P. S., Mallick, S., & Gargi, M. (2022). Effects of dietary antimicrobial growth promoters on performance parameters and abundance and diversity of broiler chicken gut microbiome and selection of antibiotic resistance genes. *Frontiers in Microbiology*, *16*(13), 1-19. http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.905050
62. Pham, V. H., Kan, L., Huang, J., Geng, Y., Zhen, W., Guo, Y., Abbas, W., & Wang, Z. (2020). Dietary encapsulated essential oils and organic acids mixture improves gut health in broiler chickens challenged with necrotic enteritis. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *11*(1), 1-18. http://dx.doi.org/10.1186/s40104-019-0421-y
63. Sabbieti, M. G., Agas, D., Maggi, F., Vittori, S., & Marchetti, L. (2011). Molecular mediators involved in Ferulago campestris essential oil effects on osteoblast metabolism. *Journal of Cellular Biochemistry*, *112*(12), 3742-3754. http://dx.doi.org/10.1002/jcb.23306
64. Sadeghiyan, Z., Kazemi fard, M., Rezaei, M., Jafarpour, S. A. (2023). Effect of encapsulated organic acids on intestinal microbial population, blood parameters, digestibility of nutrients, carcass characteristics and performance of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 77-92. http://dx.doi.org/10.22067/ijasr.2022.75043.1065
65. Salimian, A. M., Tabeidian, S. A., & Irandoust, H. (2016). Dietary effects of cinnamon, turmeric and carnation powders on performance, morphological changes of intestine and blood serum oxidation status of broilers. ANIMAL PRODUCTION, *18*(1), 141-150. http://dx.doi.org/10.22059/jap.2016.55235
66. SAS Institute. (2003). SAS user's guide: statistics. Version 7.0. Cary (NC): SAS Institute.
67. Sevim, B., & Cufadar, Y. (2021). Effects of essential oils and their combinations added to broiler diets on the mineral contents of some tissues and bone breaking strength. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, *17*(2), 1-12. http://dx.doi.org/10.5604/01.3001.0015.3121
68. Sikandar, A., Zaneb, H., Younus, M., Masood, S., Aslam, A., Khattak, F., Ashraf, S., Yousaf, M. SH., & Rehman, H. (2017). Effect of sodium butyrate on performance, immune status, microarchitecture of small intestinal mucosa and lymphoid organs in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *30*(5), 690-699. http://dx.doi.org/10.5713/ajas.16.0824 .
69. Souza, C. S., Vieites, F. M., Justino, L. R., Lima, M. F. D., Chaves, A. S., Minafra, C. S., & Lima, C. A. R. D. (2021). Orange essential oil in the diet of broilers: performance, organ biometrics, bone characteristics, and intestinal morphometry. *Revista Brasileira de Zootecnia*, *50*(78), 1-11. http://dx.doi.org/10.37496/rbz5020200097
70. Su, G., Wang, L., Zhou, X., Wu, X., Chen, D., Yu, B., Huang, Z., Luo, Y., Mao, X., Zheng, P., Yu, J., Luo, J., & He, J. (2021). Effects of essential oil on growth performance, digestibility, immunity, and intestinal health in broilers. *Poultry Science*, *100*(8), 101242- 101242. http://dx.doi.org/10.1016/j.psj.2021.101242
71. Świątkiewicz, S., Koreleski, J., & Arczewska, A. (2010). Effect of organic acids and prebiotics on bone quality in laying hens fed diets with two levels of calcium and phosphorus. *Acta Veterinaria Brno*, *79*(2), 185-193. http://dx.doi.org/10.2754/avb201079020185
72. Taherpour, K., Moravej, H., Shivazad, M., Adibmoradi, M., & 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), 2329-2334. http://dx.doi.org/10.2141/jpsa.011031
73. Toghyani, M., Toghyani, M., Gheisari, A., Ghalamkari, G., & Mohammadrezaei, M. (2010). Growth performance, serum biochemistry and blood hematology of broiler chicks fed different levels of black seed (*Nigella sativa*) and peppermint (*Mentha piperita*). *Livestock science*, *129*(1-3), 173-178. http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2010.01.021
74. Torki, M., Mohebbifar, A., & Mohammadi, H. (2021). Effects of supplementing hen diet with *Lavandula angustifolia* and/or *Mentha spicata* essential oils on production performance, egg quality and blood variables of laying hens. *Veterinary Medicine and Science*, *7*(1), 184-193. http://dx.doi.org/10.1002/vms3.343
75. Van Immerseel, F., De Zutter, L., Houf, K., Pasmans, F., Haesebrouck, F., & Ducatelle, R. (2009). Strategies to control Salmonella in the broiler production chain. *World's Poultry Science Journal*, *65*(3), 367-392. http://dx.doi.org/10.1017/S004393390900027.
76. Vinolya, R. E., Balakrishnan, U., Yasir, B., & Chandrasekar, S. (2021). Effect of dietary supplementation of acidifiers and essential oils on growth performance and intestinal health of broiler. *Journal of Applied Poultry Research*, *30*(3), 100179. http://dx.doi.org/10.1016/j.japr.2021.100179
77. Weber, G. M., Michalczuk, M., Huyghebaert, G., Juin, H., Kwakernaak, C., & Gracia, M. I. (2012). Effects of a blend of essential oil compounds and benzoic acid on performance of broiler chickens as revealed by a meta-analysis of 4 growth trials in various locations. *Poultry Science*, *91*(11), 2820-2828. http://dx.doi.org//10.3382/ps.2012-02243
78. Wu, W., Xiao, Z., An, W., Dong, Y., & Zhang, B. (2018). Dietary sodium butyrate improves intestinal development and function by modulating the microbial community in broilers. *PLOS One*, *13*(5), e0197762. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0197762
79. Yildirim, B. A., Tunc, M. A., Gül, M., Yildirim, F., & Yıldız, A. (2018). The effect of Rosemary (*Rosmarinus*

*officinalis* L.) extract supplemented into broiler diets, on performance and blood parameters. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, *2*(3), 001-009. http://dx.doi.org/10.30574/gscbps.2018.2.3.0057

80. Yin, F., Yu, H., Lepp, D., Shi, X., Yang, X., Hu, J., & Gong, J. (2016). Transcriptome analysis reveals regulation of gene expression for lipid catabolism in young broilers by butyrate glycerides. *PLOS One*, *11*(8), e0160751. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0160751
81. Zhang, B., & Coon, C. N. (1997). The relationship of various tibia bone measurements in hens. *Poultry Science*, *76*(12),1698-1701. http://dx.doi.org/10.1093/ps/76.12.1698
82. Zhao, X., Zheng, S., Wei, S., Tian, Q., Tao, Y., Bo, R., & Li, J. (2022). The protective effect and potential mechanisms of eugenol against Salmonella *in vivo* and *in vitro*. *Poultry Science*, *101*(5), 101801. http://dx.doi.org/10.1016/j.psj.2022.101801
83. Zhou, Z. Y., Packialakshmi, B., Makkar, S. K., Dridi, S., & Rath, N. C. (2014). Effect of butyrate on immune response of a chicken macrophage cell line. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *162*(1-2), 24-32. http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.09.002

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

**Research Article**
**Vol. 16, No.3, 2024, p. 433-445**

# Improving Growth Performance and Reducing Mortality by Supplementing the Ethanolic Extract of Grape Leaves (*Vinifera Vitis*) in Broilers under Induced Ascites

**Mokhtar Fathi[1], Taimor Tanha[2], Raza Taherkhani[2], Vahid Razaee Komasi[3]**

1, 2 and 3- Associate Professor, Assistant Professor and Former M.Sc. Student, Department of Animal Sciences, Payam Noor University, Tehran, Iran, respectively.
*Corresponding Author's Email: Mokhtarfathi@pnu.ac.ir

Received: 13-11-2023
Revised: 14-04-2024
Accepted: 14-04-2024
Available Online: 03-12-2024

**How to cite this article:**
Fathi, M., Tanha, T., Raza Taherkhani, & Vahid Razaee Komasi (2023). Improving growth performance and reducing mortality by supplementing the ethanolic extract of grape leaves (*Vinifera Vitis. L*) in broilers under induced ascites. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16* (3), 433-445. (in Persian with English abstract).
http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.85319.1179

**Introduction:** Ascites is one of the most common metabolic syndromes in today's fast-growing broilers and is associated with rapidly growing and characterized by accumulation of fluid in the abdominal spaces. Effective factors in the occurrence of ascites syndrome, can mention free radicals in the body such as superoxide, hydroxide and hydrogen peroxide. By reducing the capacity of the body's antioxidant systems, free radicals make the bird susceptible to various diseases. Free radicals produced in the body by damaging the cell membrane lead to cell death and ultimately tissue damage. Therefore, by increasing cell protection from such injuries, one of the common causes of ascites and heart failure abnormalities can be prevented. In addition, free radicals from oxygen derivatives reduce the half-life of nitric oxide (vasodilating agent), causing a decrease in the ability of vasodilation and providing the basis for the occurrence of ascites. Therefore, it is suggested that antioxidants can prevent ascites and improve performance in broilers. Medicinal plants are among the rich sources of natural antioxidants that do not have the harmful effects of antibiotics and synthetic antioxidants. For this reason, the use of medicinal plant extracts is an important step in animal nutrition to increase the immunity of poultry. The mentioned extracts have strong antioxidant, antibacterial and digestive properties. Probably, the positive effects of medicinal plants are due to the active compounds found in plant extracts such as menthol, thymol, carvacrol. In order to investigate the effects of aqueous ethanol extract of Vinifera Vitis (V.V) on the performance, antioxidant status and blood parameters of broiler chickens under induced ascites.

**Materials and Methods:** A total 300 one-day-old chickens (Ross, 308) were done in the form of a completely randomized design with 4 treatments and 5 replications (15 chickens in each replication). Experimental treatments include: 1- positive control group (without inducing ascites and fed with basal diet), 2- negative control group (inducing ascites and fed with basal diet), 3 and 4- Vinifera Vitis groups (ascites induction with 1000 and 2000 ppm of Vinifera Vitis extract). To induce ascites, water containing 1200 mg of sodium (3 grams per liter of salt) was provided to the chickens from the 15th day of the experiment. Growth performance parameters including feed intake, weight gain and feed conversion ratio were calculated for the

©2023 The author(s). This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.
http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.85319.1179

total period. On the last day of the experiment (42 d), two birds were randomly selected from each cage and after sampling from the wing vein, killed and the ascites index was calculated as the ratio of the weight of the right ventricle to the total ventricles. The mortalities were collected as soon as they were observed and after weighing to correct the feed conversion ratio, were necropsied to investigate the cause of death. Serum triglyceride and cholesterol levels, as well as serum antioxidant parameters including the level of malondialdehyde and the activity of antioxidant enzymes including glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase. In addition, liver enzymes present in the serum including alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and gamma-glutamyl transferase (GGT), and alkaline phosphatase (ALP) were also measured.

**Results and Discussion:** The results showed that induction of ascites increased the ratio of right ventricle to total ventricles, mortalities due to ascites, feed intake, feed conversion ratio and body weight (P <0.05). The administration of Vinifera Vitis extract improved the growth performance index and reduced the ratio of the right ventricle to the total ventricles and mortalities (P <0.05). *Vinifera Vitis* extract moderated the increasing effects of ascites induction on triglyceride and cholesterol compared to the negative control treatment (P <0.05). In addition, the induction of ascites caused a decrease in the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase enzymes and an increase in serum malondialdehyde, the experimental treatments improved the antioxidant status compared to the negative control treatment (P <0.05). Also, induction of ascites increased the serum levels of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, gammaglutaryl transferase and alkaline phosphatase enzymes. The supplementation of the experimental supplements decreased the serum level of the mentioned enzymes (P <0.05). The results of this research showed that the use of ethanolic extract of *Vinifera Vitis* has positive results on the performance and stress reduction of broiler chickens affected by ascites and it can be effectively used from the level of 2000 ppm of the ethanol extract *Vinifera Vitis* was used in the diet of broiler chickens to reduce stress and improve performance.

**Keywords:** Antioxidant, Broiler chickens, *Vinifera Viti* extract, Performance, Pulmonary hypertension syndrome

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

مقاله پژوهشی
جلد ۱۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۴۴۵-۴۳۳

# بهبود عملکرد رشد و کاهش تلفات با مکمل سازی عصاره اتانولی برگ مو ( *Vinifera Vitis*) در جوجه‌های گوشتی تحت آسیت القایی

مختار فتحی[1*]، تیمور تنها[2]، رضا طاهرخانی[2]، وحید رضایی کماسی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۲۲
تاریخ بازنگری:۱۴۰۳/۰۱/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۲۷

## چکیده

به‌منظور بررسی اثرات عصاره اتانولی برگ مو بر عملکرد رشد، وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم، فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم و تلفات جوجه‌های گوشتی تحت آسیت القایی، آزمایشی با استفاده از تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه یک روزه گوشتی نر (راس، ۳۰۸) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و پنج تکرار (۱۵ جوجه در هر تکرار) انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد مثبت (بدون القای آسیت و تغذیه شده با جیره پایه)، ۲- گروه شاهد منفی (القای آسیت و تغذیه شده با جیره پایه)، ۳ و ۴- گروه برگ مو (القای آسیت همراه با ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره برگ مو) بود. برای القای آسیت از روز ۱۵ آزمایش، آب حاوی ۱۲۰۰ میلی‌گرم سدیم (سه گرم در لیتر نمک طعام) استفاده شد. نتایج نشان داد که القای آسیت سبب افزایش نسبت بطن راست به کل بطن‌ها، افزایش تلفات ناشی از آسیت، افزایش خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک و کاهش وزن بدن شد ($P<0.05$). تجویز عصاره برگ مو سبب افزایش وزن بدن، کاهش ضریب تبدیل خوراک، کاهش نسبت بطن راست به کل بطن‌ها و تلفات ناشی از آسیت شد ($P<0.05$). عصاره برگ مو به طور معنی‌داری سطح تری‌اسیل‌گلیسرول و کلسترول را کاهش داد ($P<0.05$). علاوه براین، القای آسیت سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و افزایش مالون‌دی‌آلدئید سرم شد، عصاره برگ مو سبب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با شاهد منفی شد ($P<0.05$). همچنین القای آسیت سبب افزایش سطح سرمی آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، گاماگلوتاریل ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز شد. عصاره برگ مو سبب کاهش سطح سرمی آنزیم‌های مذکور شد ($P<0.05$). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از عصاره اتانولی برگ مو نتایج مثبتی بر عملکرد رشد و کاهش تنش جوجه‌های گوشتی درگیر با آسیت دارد و به‌طور مؤثری می‌توان از سطح ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی برگ مو در جیره جوجه‌های گوشتی در جهت بهبود عملکرد استفاده نمود.

**واژه‌های کلیدی:** افزایش فشار خون ریوی، آنتی‌اکسیدان، جوجه‌های گوشتی، عصاره *Vinifera Viti*، عملکرد

## مقدمه

عارضه آسیت یا سندرم افزایش فشار خون ریوی (PHS[4]) یکی از بیماری‌های غیرعفونی مهم در صنعت پرورش جوجه‌های گوشتی می‌باشد که سالانه ضرر و زیان زیادی را به این صنعت وارد می‌کند. آسیت اساساً به‌وسیله تجمع مایعات در ناحیه حفره شکمی و پری-کاردیوم قلب ظاهر شده و در نهایت، به‌دلیل هایپرتروفی بطن راست و ناکارآمدی قلب، منجر به مرگ پرنده می‌شود (Daneshyar *et al.*, 2009). از جمله عوامل مؤثر در وقوع سندرم آسیت، می‌توان به عوامل محیطی مختلفی از قبیل ارتفاع، سرما، محیط انکوباسیون، کیفیت هوا، تهویه، نوردهی و تراکم فضای پرورشی اشاره نمود. علاوه‌براین، تنش اکسیداتیو ناشی از تجمع رادیکال‌های آزاد در بروز آسیب‌های ناشی از آسیت نقش مهمی دارد (Fathi *et al.*, 2022). رادیکال‌های آزاد با کاهش ظرفیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی بدن، پرنده را در مقابل بیماری‌های مختلف مستعد می‌نمایند. رادیکال‌های آزاد تولید شده در بدن با آسیب به غشاء سلول منجر به آسیب‌های بافتی می‌شود، به‌طوری‌که یکی از دلایل عمده سندرم آسیت، وقوع

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشیار، استادیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: Mokhtarfathi@pnu.ac.ir)
http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.85319.1179
٤- Pulmonary hypertension syndrome

آسیب به سلول‌های شش خواهد بود (Fathi *et al.*, 2022). علاوه‌براین، رادیکال‌های آزاد مشتق شده از اکسیژن از طریق کاهش نیمه عمر نیتریک اکساید (عامل گشادکننده عروق)، سبب کاهش توانایی انبساط‌پذیری عروق شده و زمینه را برای بروز آسیت فراهم می‌کند (Lorenzoni and Ruiz-Feria, 2006). موجودات زنده برای محافظت در مقابل رادیکال‌های آزاد دارای یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی ترکیبی شامل سیستم آنزیمی (شامل آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز در سیتوزول و ساختمان غشاء سلولی) و سیستم غیر آنزیمی (شامل گلوتاتیون، پلی-فنل‌ها، کارتنوئیدها، دی‌پپتیدهای ویژه، پروتئین‌های حاوی گروه تیول، پلی‌آمین‌ها، ابی‌کینول، فلاونوئیدها، بیلی‌روبین، اسید اوریک، ویتامین E همراه با سلنیوم و ویتامین C در سرم و بافت‌ها) هستند (Nemati *et al.*, 2022). گیاهان دارویی از جمله منابع غنی از آنتی-اکسیدان‌های طبیعی هستند که فاقد اثرات سوء آنتی‌بیوتیک‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی می‌باشند. به همین دلیل، امروزه استفاده از عصاره گیاهان دارویی یک گام مهم در تغذیه حیوانات اهلی برای افزایش ایمنی بدن طیور می‌باشد. عصاره‌های مذکور اثرات آنتی-اکسیدانی، ضدباکتریایی و خواص هضمی قوی دارند. احتمالاً اثرات مثبت گیاهان دارویی ناشی از ترکیبات فعال موجود در عصاره‌های گیاهی مانند منتول ( Menthol)، تیمول (Thymol) و کارواکرول (Carvacrol) باشد (Al-Kassi, Asgharian *et al.*, 2020 ; 2009).

برگ مو با نام علمی *Vinifera Vitis* و نام انگلیسی Grape leaf گیاهی از خانواده Vitaceae است. ترکیب شیمیایی برگ مو دارای ساکارز، اینوزیت (inosit)، مواد نشاسته‌ای و تعدادی اسیدهای آلی است. انگور سبز یا زرد دارای فلاونوئیدی از خانواده تانن‌ها به‌نام کاتچین ( Catechin) می‌باشد. کاتچین از ابتلا به پوکی استخوان جلوگیری می‌کند، زیرا به‌علت خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی که دارد از تنش اکسیداتیو و التهاب جلوگیری کرده و روند تخریب بافت-های استخوانی را به تأخیر می‌اندازد (Jalili Marandi, 2007). از برگ مو برای درمان فشار خون بالا، اسهال، خونریزی، رفع اختلالات التهابی و کاهش غلظت گلوکز خون در بیماران دیابتی استفاده می-شود (Orhan *et al.*, 2007). از جمله ترکیبات مهم شناخته شده در دانه انگور، پروسیانیدین‌ها از گروه پلی‌فنل‌ها می‌باشند که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی بالایی است. برگ مو دارای ساکاروز، لوولز، اینوزیت، کوئرستین، کاروتن، اسید تارتاریک، اسید مالیک، اسید آسکوربیک، پتاسیم، آهن و سیلیکون می‌باشد (Kaousar *et al.*, 1991). فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ انگور نیز گزارش شده است ( Monagas *et al.*, 2005).

تاکنون مطالعه‌ای در مورد اثرات عصاره اتانولی برگ مو در جوجه‌های گوشتی درگیر با آسیت صورت نگرفته است. بنابراین، تحقیق حاضر با هدف ارزیابی عملکرد رشد، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و وضعیت برخی از فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده عصاره اتانولی برگ مو در شرایط سندرم آسیت القایی طراحی شد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی وابسته به گروه زنجیره‌ای بهشاد آفرین در شهر گرگان با موقعیت جغرافیایی در طول جغرافیایی ۲۶/۵۴ و عرض جغرافیایی ۳۶/۵۰ و ارتفاع شهر از سطح دریا ۱۶۰ متر در دی ماه ۱۴۰۰ انجام شد. تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه جنس نر ( ۱/۲ ± ۴۵ گرم) از سویه تجاری راس ( ۳۰۸) در چهار تیمار آزمایشی (پنج تکرار و ۱۵ جوجه در هر واحد آزمایشی) توزیع گردید. پرنده‌ها در پن‌هایی با ابعاد ۱۵۰ × ۱۴۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر تا سن ۴۲ روزگی روی بستر پرورش یافته و در طول آزمایش از سه جیره آغازین (۱۰- ۰ روزگی)، جیره رشد (۲۴- ۱۱ روزگی) و جیره پایانی (۴۲- ۲۵ روزگی) براساس احتیاجات غذایی سویه راس ۳۰۸ تغذیه شدند، (جدول ۲). تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد مثبت (بدون القای آسیت و تغذیه شده با جیره پایه)، ۲- گروه شاهد منفی (القای آسیت و تغذیه شده با جیره پایه)، ۳ و ۴- گروه برگ مو (القای آسیت همراه با ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره برگ مو درکیلوگرم خوراک) بود. سطوح مورد نظر عصاره برگ مو استفاده شده در این طرح به‌صورت اسپری روی خوراک مصرفی و به‌صورت روزانه انجام گرفت. برنامه نوری به‌صورت یک ساعت تاریکی و ۲۳ ساعت روشنایی بود. در طول دوره آزمایش، پرندگان دارای دسترسی آزاد به آب و خوراک (پلت) بودند. برای القای آسیت از روز ۱۵ آزمایش، پرندگان آب آشامیدنی حاوی ۱۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سدیم (سه گرم در لیتر نمک طعام) دریافت کردند ( Nemati *et al.*, 2022). برنامه دمایی، تهویه و رطوبت برای تمام تیمارهای آزمایشی یکسان و مطابق پیشنهادات سویه راس ۳۰۸ برای دوره‌های زمانی مختلف تنظیم گردید. برنامه واکسیناسیون بیماری نیوکاسل در روزهای ۷، ۱۷ و ۲۸ روزگی و واکسیناسیون بیماری گامبورو در ۱۴ روزگی در آب آشامیدنی انجام شد.

عصاره اتانولی برگ مو از شرکت گیاهان دارویی آشا ارگانیک سبزوار تهیه شد. طرز تهیه عصاره به‌روش خیساندن با اتانول انجام گرفت. به‌طور خلاصه، به این ترتیب که مقدار ۱۰۰ گرم پودر برگ انگور سفید به ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد اضافه و جهت استخراج عصاره به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای محیط روی همزن قرار گرفت. در مرحله بعد محلول تولیدی از کاغذ صافی عبور داده شده و محلول به‌دست آمده سانتریفیوژ (۱۰۱ جی) گردید بعداً نیز حلال اضافی

به‌مدت یک ساعت در دستگاه تقطیر تحت خلأ تبخیر و عصاره تغلیظ گردید. در نهایت، عصاره تولیدی در ظروف استریل در دمای یخچال نگهداری شد.

**جدول ۱**- ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره اتانولی برگ مو

**Table 1-** The chemical of ethanolic extract of grape leaves (*Vinifera Vitis*)

| ترکیبات شیمیایی<br>Chemical constituents | محتویات<br>Contents<br>(mg/g extract) |
|---|---|
| p -هیدروکسی بنزوئیک اسید<br>*p*-Hydroxybenzoic acid | 0.130 |
| کاتچین<br>Catechin | 4.20 |
| سیناپیک اسید<br>Sinapic acid | 0.031 |
| اسید فرولیک(µg/g)<br>Ferulic acid (µg/g) | 0.071 |
| میریستین<br>Myricetin | 0.365 |
| کوئرستین<br>Quercetin | 0.364 |
| کامپفرول<br>Kaempferol | 0.081 |
| فنل کل (mg GAE/g)<br>Total phenols (mg GAE/g) | 116.5 |
| کل فلاونوئیدها (mg CE/g))<br>Total flavonoids (mg CE/g) | 102.14 |

برای اندازه‌گیری میزان فنول کل از روش سلمانیان و همکاران (Salmanian *et al.*, 2013) استفاده گردید به‌طور خلاصه، ۰/۵میلی‌لیتر عصاره به ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین- سیوکالچو (۰/۲ نرمال) اضافه و به‌مدت پنج دقیقه ،۰/۳ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات (۷۵ گرم بر لیتر) به آن اضافه شد. بعد از دو ساعت ماندن در دمای اتاق، جذب نور نمونه در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. از غلظت‌های ۰ تا ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسید گالیک به‌عنوان استاندارد استفاده شده و در نهایت، میزان فنول کل براساس میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره گزارش گردید. میزان فنول کل برابر ۱۱۶/۵ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بود. دراین آزمایش، تعیین ترکیبات فلاوونوئید بر پایه رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید بود که براساس واکنش بین عصاره‌ها، استاندارد کوئرستین با معرف آلومینیوم کلرید و کاهش رنگ آن، پس از نیم ساعت جذب نوری درطول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. به‌طورخلاصه، ۰/۵میلی‌لیتر عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول مخلوط کرده و سپس با ۰/۱میلی‌لیتر محلول آلومینیوم کلراید (۱۰ درصد)، ۰/۱میلی‌لیتر پتاسیم استات (یک مولار) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و بعد از ماندن ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب نور نمونه در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت، میزان فلانوئید کل براساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش گردید (Barzegar *et al.*, 2021). میزان فلانوئید کل برابر ۱۰۲/۱۴ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره بود. ترکیبات و مواد مؤثره عصاره اتانولی برگ مو در جدول ۱ نشان داده شده است (ارائه شده توسط شرکت تولیدکننده عصاره اتانولی برگ مو).

مقدار خوراک مصرفی و وزن بدن پرندگان هر واحد آزمایشی در سن ۴۲ روزگی اندازه‌گیری و شاخص‌های عملکرد (خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل) برای سن یک تا ۴۲ روزگی محاسبه گردید. در ۴۲ روزگی، از هر قفس دو جوجه به‌طور تصادفی انتخاب و از سیاهرگ بال توسط سرنگ‌های مخصوص خون‌گیری و یک نمونه دو میلی‌لیتری برای تهیه سرم برای اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی خون استفاده شد. نمونه‌های سرم در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان تعیین فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم نگهداری شد.

سنجش فراسنجه‌های بیوشیمیایی در این آزمایش براساس دستورالعمل‌های دامپزشکی توسط آزمایشگاه دامپزشکی رادین مهر گرگان انجام شد. اندازه‌گیری آنزیم‌های سرم شامل آسپارتات آمینوترانسفراز (AST[1])، آلانین آمینوترانسفراز (ALT[1])، آلکالین

1- Aspartate transaminase

فسفاتاز (ALP[2]) و گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT[3]) با استفاده از کیت‌های برند Padco و دستگاه اسپکتوفتومتر i3 UV-VIS (Spectrophotometer-Hanon) انجام شد. شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون شامل تری‌گلیسرید، کلسترول با استفاده از کیت‌های برند پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتر Hanan اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی سرم شامل آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (GPx[4])، سوپراکسیددیسموتاز (SOD[5])، کاتالاز (CAT[6]) نیز با استفاده از کیت‌های برند نوند سلامت به‌کمک دستگاه الایزا ریدر (BIOTEK ELx800, US) صورت پذیرفت. برای تعیین میزان غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA[7]) سرم، میزان جذب نوری در نمونه‌ها با روش رنگ‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV 1600 PC, Shimadzu, Japan) در طول موج ۴۸۵ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت مالون‌دی‌آلدئید نمونه‌ها محاسبه شد (Fathi *et al.*, 2016). تلفات به‌محض مشاهده جمع‌آوری، ثبت و برای تشخیص دلیل مرگ کالبدگشایی شد. با مشاهده وجود آب در محوطه شکمی و پری‌کاردیوم قلب، تلفات در دسته تلفات ناشی از آسیت ثبت گردید. در پایان آزمایش نیز از هر قفس دو قطعه جوجه کشتار و نسبت وزن بطن راست به کل بطن‌ها که به‌عنوان شاخص (RV/TV[8]) آسیت محسوب می شود، اندازه‌گیری شد (Fathi et al., 2022).

تجزیه و تحلیل آماری به‌کار گرفته شده در این تحقیق به‌صورت طرح کاملاً تصادفی و براساس مدل آماری زیر بود: $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ که در آن، $Y_{ij}$: مشاهده مربوط به تکرار j از تیمار iم، μ: میانگین مشاهدات کل آزمایش، $T_i$: اثر تیمار iم و $e_{ij}$: خطای آزمایش مربوط به تکرار j از تیمار iم است. داده‌های جمع‌آوری شده بعد از آزمون نرمالیته با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ (SAS.2003) رویه GLM (تعداد متفاوت جوجه به دلیل تلفات) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها هم از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری پنج درصد استفاده شد. همچنین از روش مقایسه‌های مستقل برای مقایسه (Orthogonal) بین گروه‌های تیماری استفاده شد.

## نتایج و بحث

**عملکرد رشد، شاخص آسیتی و تلفات ناشی از آسیت**

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های عملکردی، تلفات ناشی از آسیت و شاخص آسیتی (RV/TV) در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که القای آسیت به‌طور معنی‌داری سبب افزایش نسبت بطن راست به کل بطن‌ها (۰/۳۰ در مقابل ۰/۲۲)، تلفات ناشی از آسیت (۱۴/۶۶ درصد در مقابل ۲/۶۶ درصد) شد (P<۰/۰۵). همچنین، القای آسیت سبب کاهش وزن حاصله در سن ۴۲ روزگی (۲۱۰۰ گرم در مقابل ۲۴۸۶ گرم) و افزایش ضریب تبدیل خوراک (۱/۵۶ در مقابل ۱/۸۵) در ۴۲ روزگی شد (P<۰/۰۵). استفاده از عصاره برگ مو سبب کاهش شاخص آسیتی و تلفات ناشی از آسیت شد (P<۰/۰۵). نتایج حاصل از تأثیر مکمل‌های خوراکی نشان داد که عصاره برگ مو در هر دو سطح (VV-1 و VV-2) به‌طور معنی‌داری سبب کاهش خوراک مصرفی و کاهش ضریب تبدیل خوراک در پرندگان تحت آسیت القایی شد. هیچ‌کدام از مکمل‌های خوراکی تأثیر معنی‌داری بر وزن حاصله در پایان دوره آزمایشی نداشتند (P>۰/۰۵).

افزایش شاخص آسیتی به بالاتر از ۰/۲۵ نشان از بروز آسیت دارد. این افزایش نسبی وزن بطن راست نشان از هایپرتروفی قلب در اثر افزایش فعالیت قلب در جهت تأمین اکسیژن مورد نیاز در شرایط دمای هوای سرد و افزایش فشار خون ریوی ناشی از مصرف سدیم بالا است (Fathi *et al.*, 2016, Daneshyar *et al.*, 2009; 2022). گزارش‌های متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند با کاهش رادیکال‌های آزاد و متعاقباً کاهش اکسیداسیون لیپیدهای دیواره مویرگی، با حفظ ساختار مویرگ و حفاظت از اکسیداسیون بافت قلب و بافت کبد کمک کرده و بروز آسیت را کاهش دهد (Bautista-Ortega and Ruiz-Feria, 2011; Rajani *et al.*, 2011; Fathi *et al.*, 2016, 20222010).

اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ مو در تحقیقات متعددی گزارش شده است. پیشنهاد شده است که اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ مو به‌واسطه دارا بودن ترکیبات فلانوئیدی و فنلی مانند اسید گالیک، کاتچین، رسوراترول و طیف گسترده‌ای از پروسیانیدین‌هاست که می‌توانند اثر رادیکال‌های آزاد را خنثی کرده و سبب افزایش توان آنتی‌اکسیدانی بدن شوند. علاوه بر عصاره برگ مو با اثرات شبه آنتی‌هیستامینی، ضد حساسیتی و ضدالتهابی، موجب تقویت سیستم ایمنی بدن می‌شود (Amarowics *et al.*, 2009; Chois *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2012). همچنین در مطالعه‌ای استفاده از عصاره برگ مو در موش‌های صحرایی سبب افزایش نیمه عمر نیتریک اکسید و کاهش فشار خون ریوی و بهبود شده و نهایتاً مشکلات قلبی- عروقی را کاهش داد (Gharib Naseri *et al.*, 2004). همچنین تأثیر مثبت عصاره برگ انگور در درمان بیماری‌های عروقی در انسان (Kiesewetter *et al.*, 2000) و در موش‌های

2- Alanine transaminase
3- Alkaline phosphatase
4- *Gamma-glutamyl transferase*
1- Glutathione peroxidase
2- Superoxide dismutase
3- Catalase
4- Malondialdehyde
5- Right ventricle/total ventricle

آزمایشگاهی (Bilgrami *et al.*, 1993) گزارش شده است.

**جدول ۲**- اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی

**Table 2-** Ingredients and chemical compositions of experimental diets

| اجزاء جیره (درصد)<br>Ingredients (%) | آغازین<br>(۱-۱۰ روزگی)<br>Starter<br>(0-10 d) | رشد<br>(۱۱-۲۴ روزگی)<br>Grower<br>(11-24 d) | پایانی<br>(۲۵-۴۲ روزگی)<br>Finisher<br>(25-42 d) |
|---|---|---|---|
| ذرت (هشت درصد پروتئین خام)<br>Corn 8% CP | 47.53 | 51.63 | 57.56 |
| کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین)<br>Soybean meal, 44% CP | 42.35 | 37.99 | 32.35 |
| روغن سویا<br>Soybean oil | 5.54 | 6.24 | 6.29 |
| سنگ آهک (۳۸ درصد کلسیم)<br>Limestone, 38% Ca | 1.20 | 1.12 | 1.05 |
| دی کلسیم فسفات ( ۲۱ درصد کلسیم)<br>Di-calcium phosphate, 21% Ca | 1.79 | 1.56 | 1.34 |
| مکمل ویتامینه<br>Vitamin premix[a] | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| مکمل معدنی<br>Mineral premix[b] | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| کلراید سدیم<br>NaCl | 0.40 | 0.40 | 0.40 |
| دی ال- متیونین ( ۹۹ درصد)<br>DL- methionine, 99% | 0.37 | 0.32 | 0.28 |
| ال- لیزین هیدروکلراید (۷۸ درصد)<br>L- lysine HCL, 78% | 0.28 | 0.22 | 0.22 |
| تروئونین (۹۸/۵ درصد)<br>Threonine, 98.5% | 0.05 | 0.02 | 0.00 |
| ترکیب مواد مغذی محاسبه شده<br>Nutrient composition (calculated) | | | |
| انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم)<br>Metabolizable energy (kcal/kg) | 2990 | 3082 | 3218 |
| پروتئین خام (درصد)<br>Crude protein, % | 23 | 21.3 | 19.3 |
| کلسیم (درصد)<br>Calcium (Ca), % | 0.96 | 0.87 | 0.79 |
| فسفر قابل دسترس (درصد)<br>Available phosphorus, % | 0.456 | 0.409 | 0.361 |
| سدیم (درصد)<br>Sodium (Na), % | 0.16 | 0.16 | 0.16 |
| متیونین (درصد)<br>Methionine, % | 0.71 | 0.64 | 0.58 |
| متیونین+سیستئین (درصد)<br>Methionine + cysteine, % | 1.07 | 0.89 | 0.89 |
| لیزین (درصد)<br>Lysine, % | 1.46 | 1.30 | 1.17 |
| آرژنین (درصد)<br>Arginine, % | 1.56 | 1.45 | 1.30 |
| ترئونین (درصد)<br>Threonine, % | 0.96 | 0.87 | 0.78 |
| تریپتوفان (درصد)<br>Tryptophan, % | 0.35 | 0.32 | 0.29 |

[a] غلظت ویتامین در هر کیلوگرم جیره: رتینول، ۱۳/۵۰ میلی‌گرم؛ کوله کلسیفرول، ۴/۱۵ میلی‌گرم؛ توکوفرول استات، ۳۲/۰۰ میلی‌گرم؛ ویتامین $K_3$، ۲/۰۰ میلی‌گرم؛ تیامین، ۲/۰۰ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین، ۶/۰۰ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۱ میلی‌گرم؛ کوبالامین، ۰/۰۱۵ میلی‌گرم؛ پیراکسیدین، ۳/۰۰ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۱۱/۰۰میلی‌گرم؛ دی پانتوتنیک اسید، ۲۵،۰؛ منادیون سدیم بی سولفات، ۱/۱۰؛ اسید فولیک، ۱/۰۲؛ کولین کلرید، ۲۵۰ میلی‌گرم؛ نیکوتین آمید، ۵/۰۰ میلی‌گرم.

[b] غلظت مواد معدنی در هر کیلوگرم جیره: پانتوتنات کلسیم، ۲۵/۰۰ میلی‌گرم. آهن (از سولفات آهن)، ۳۵/۰۰ میلی‌گرم؛ مس (از سولفات مس)، ۳/۵میلی‌گرم؛ منگنز (از سولفات منگنز)، ۶۰/۰۰ میلی‌گرم؛ روی (از سولفات روی)، ۳۵/۰۰ میلی‌گرم؛ I (از یدات کلسیم)، ۰/۶ میلی‌گرم؛ Se (از سلنیت سدیم)، ۰/۳ میلی‌گرم.

[a] Vitamin concentration per kilogram of diet: retinol, 13.50 mg; cholecalciferol, 4.15 mg; tocopherol acetate, 32.00 mg; vitamin $K_3$, 2.00 mg; thiamin, 2 mg; riboflavin, 6.00 mg; biotin, 0.1 mg; cobalamin, 0.015 mg; pyroxidine, 3.00 mg; niacin, 11.00 mg; d-pantothenic acid, 25.00; menadione sodium bisulphate, 1.10; folic acid, 1.02; choline chloride, 250 mg; nicotinamide, 5 mg.

[b] Mineral concentrations per kilogram of diet: calcium pantothenate, 25.00 mg; Fe (from ferrous sulphate), 35.00 mg; Cu (from copper sulphate), 3.50 mg; Mn (from manganese sulphate), 60 mg; Zn (from zinc sulphate), 35.00 mg; I (from calcium iodate), 0.60 mg; Se (from sodium selenite), 0.30 mg.

**جدول ۳**- اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر عملکرد و شاخص آسیتی جوجه‌های گوشتی

**Table 3**- The effect of different experimental treatments on the performance and ascites index of broiler chickens

| تیمارها<br>Treatments | وزن بدن (گرم)<br>BWG [1](g) | خوراک مصرفی (گرم)<br>FI [2](g) | ضریب تبدیل خوراک<br>FCR[3] | نسبت بطن راست به کل بطن‌ها<br>RV/TV[4] | تلفات ناشی از آسیت (درصد)<br>Mortality due to ascites (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| شاهد مثبت<br>PC | 2486[a] | 3878[ab] | 1.56[b] | 0.22[c] | 2.66[c] |
| شاهد منفی<br>NC | 2100[b] | 3885[ab] | 1.85[a] | 0.30[a] | 14.66[a] |
| مو عصاره برگ ۱۰۰۰ppm<br>VV-1 | 2170[b] | 3450[c] | 1.59[b] | 0.21[c] | 4.00[c] |
| مو عصاره برگ ۲۰۰۰ppm<br>VV-2 | 2190[b] | 3460[c] | 1.58[b] | 0.21[c] | 4.00[c] |
| خطای استاندارد میانگین<br>SEM | 95 | 189 | 0.07 | 0.03 | 2.05 |
| سطح احتمال<br>P-value | < 0.02 | < 0.03 | < 0.01 | < 0.01 | < 0.01 |
| Orthogonal contrasts | | | P-value | | |
| VV *vs.* NC | 0.37 | 0.04 | 0.01 | 0.01 | 0.01 |

در هر ستون، میانگی اعدادی که حروف نامشابه دارند از نظر آماری با هم تفاوت معنی داری دارند (P<0.05).

وزن بدن (BWG)، مصرف خوراک (FI)، ضریب تبدیل خوراک (FCR)، نسبت وزن بطن راست به کل بطن‌ها (RV/TV ).

شاهد مثبت، بدون آسیت القایی و تغذیه با رژیم غذایی پایه (PC)، شاهد منفی، با آسیت القایی و رژیم غذایی پایه تغذیه شده (NC) و سطوح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی برگ مو به‌ترتیب ( VV-1 وVV-2 )

In each column, mean of non-identical alphanumeric characters are statistically significant (P <0.05).

PC: Positive control (without induction ascites and fed basal diet); NC: Negative control (with induction ascites and fed basal diet); VV-1 and VV-2: indicate the supplementation *Vinifera Vitis* ethanolic extract at the rate of 1000 and 2000 ppm, respectively.

1:BWG: body weight; 2:FI: feed intake; 3:FCR: feed conversion ratio; 4:RV/TV: right ventricle/total ventricle.

علاوه‌براین، عصاره‌های گیاهی منبع غنی از پروتئین، ویتامین و مواد محرک رشد بوده و سبب افزایش هضم و جذب و بهبود ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های گوشتی می‌شود (Kakengi *et al.*, 2007; Leusink *et al.*, 2010). برگ انگور دارای ساکاروز، لوولز (levulose)، اینوزیت (Inosite)، کوئرستین (Quercetin)، کاروتن، اسید تارتاریک، اسید مالیک، اسید آسکوربیک، پتاسیم، آهن و سیلیکون می‌باشد و در مورد عفونتهای روده ضدعفونی‌کننده بسیار خوبی محسوب می‌گردد (Kaousar *et al.*, 1991).

**فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون**

تأثیر تیمارهای آزمایشی مختلف بر فراسنجه‌های غلظت تری-گلیسرید و کلسترول سرم در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد که القای آسیت به‌طور معنی‌داری سبب افزایش تری‌گلیسرید و کلسترول خون پرندگان شد (P<۰/۰۵). مکمل‌سازی عصاره برگ مو در هر دو سطح به‌طور معنی‌داری سبب کاهش غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول سرم شد (P<۰/۰۵).

استفاده از گیاهان دارویی سبب کاهش غلظت کلسترول، تری-گلیسرید خون و لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین در جوجه‌های گوشتی بدون تنش (Rasouli *et al.*, 2020; Farhadi *et al.*, 2020; Christensen *et al.*, 2010) و تحت تنش اکسیداتیو القایی (Mortezayi *et al.*, 2020) شد. کاهش میزان چربی‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با عصاره‌های گیاهی می‌تواند حاصل تعامل و اثر هم‌کنش‌افزایی (سینرژیستیک) چند ماده مؤثر نظیر فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و آلکامیدها موجود در آن‌ها باشد. علاوه‌براین، ترپنوییدهای موجود در گیاهان دارویی با مهار آنزیم COA-HMG باعث کاهش غلظت کلسترول و لیپوپروتئین‌ها با چگالی خیلی پایین می‌شوند (Nasiroleslami and Torki, 2010). علاوه‌براین، به نظر می‌رسد که استفاده از عصاره گیاهان دارویی با خاصیتی شبه انسولین، مانع تجزیه چربی‌های ذخیره‌ای و در نتیجه، مانع آزاد شدن آن در خون گردیده‌اند. نقش تیمول و کارواکرول در کاهش لیپیدهای خون ممکن است از طریق تأثیرشان در ممانعت از فعالیت آنزیم‌های کبدی دخیل در ساخت کلسترول و اسیدهای چرب باشد (Pascariu *et al.*,

.(; Rowghani *et al*., 2007; Al-Kassi, 20092017

**جدول ٤**- اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم

**Table 4**- The effect of different experimental treatments on serum biochemical parameters

| تیمارها<br>Treatments | تری‌اسیل‌گلیسرول<br>(میلی‌گرم در دسی لیتر)<br>Triglyceride (mg/dl) | کلسترول<br>(میلی‌گرم در دسی لیتر)<br>Cholesterol (mg/dl) |
|---|---|---|
| شاهد مثبت<br>PC | 31.73[c] | 79.20[e] |
| شاهد منفی<br>NC | 62.78[a] | 153.5[a] |
| عصاره برگ مو ۱۰۰۰ ppm<br>VV-1 | 36.81[b] | 97.50[d] |
| عصاره برگ مو ۲۰۰۰ ppm<br>VV-2 | 31.72[c] | 80.72[e] |
| خطای استاندارد میانگین<br>SEM | 4.20 | 7.21 |
| سطح احتمال<br>P-value | 0.02 | < 0.01 |
| Orthogonal contrasts | P-value | |
| VV *vs*. NC | 0.01 | 0.03 |

در هر ستون، میانگی اعدادی که حروف نامشابه دارند از نظر آماری با هم تفاوت معنی داری دارند (P<0.05).

[1]شاهد مثبت، بدون آسیت القایی و تغذیه با رژیم غذایی پایه (PC)، شاهد منفی، با آسیت القایی و رژیم غذایی پایه تغذیه شده (NC)، و سطوح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی برگ مو به‌ترتیب ( VV-1 و VV-2)

In each column, mean of non-identical alphanumeric characters are statistically significant (P<0.05).

[1]PC: Positive control (without induction ascites and fed basal diet); NC: Negative control (with induction ascites and fed basal diet); VV-1 and VV-2: indicate the supplementation *Vinifera vitis* ethanolic extract at the rate of 1000 and 2000 ppm, respectively.

**فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی سرم**

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های آنتی-اکسیدانی سرمی جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی در جدول ۵ آورده شده است. نتایج نشان داد که القای آسیت به‌طورمعنی‌داری سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی GPx، SOD، CAT و افزایش سطح پروکسیداسیون لیپید (MDA) در سرم جوجه‌های گوشتی شد (P<۰/۰۵)، درحالی‌که هر دو سطح عصاره برگ مو در مقایسه با شاهد منفی، سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش غلظت MDA در سرم پرندگان شدند (P<۰/۰۵). افزایش توان آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی با افزودن مکمل آنتی‌اکسیدان طبیعی از جمله ویتامین C قبلاً گزارش شده است ( Jena et al., ; Zhu et al., 20192013). همسو با نتایج این تحقیق، قبلاً هم اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های برگ مو (آبی، اتانولی و هیدروالکلی) در شرایط آزمایشگاهی گزارش شده است. این محققان پیشنهاد کردند که اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی برگ مو به مراتب بیشتر از عصاره آبی و هیدروالکلی آن است ( Sadeghi Afrakati and Kamkar, 2018). احتمالاً اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ مو به‌دلیل داشتن ترکیبات فنولی و فلانوئیدی است (Gharib Naseri *et* ; Jalili Marandi, 2007; Sadeghi Afrakati and *al*., 2004 Kamkar, 2018). در عصاره برگ مو، ترکیبات فنلی و فلانوئیدی بالایی وجود دارد که قدرت آنتی‌اکسیدانی زیادی دارند و این خاصیت برگ مو سبب شده است تا به‌عنوان یکی از مؤثرترین مواد آنتی-اکسیدان قوی و ارزان پیشنهاد شود که به نظر می‌رسد، عصاره اتانولی برگ مو بسیار قدرتمندتر از اشکال آبی و متانولی آن باشد ( Sadeghi Afrakati and Kamkar, 2018). علاوه‌براین، گزارش شده است که تأثیر تفاله انگور علاوه‌بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز پلاسما، سبب کاهش غلظت مالون دی آلدئید گوشت ران و سینه جوجه‌های گوشتی در نگهداری طولانی‌مدت شد (Brenes *et al*., 2016).

**جدول ۵**- تأثیر تیمارهای مختلف آزمایشی بر عملکرد آنتی‌اکسیدانی سرم جوجه‌های گوشتی

**Table 5-** The effect of different experimental treatments on serum antioxidant function of broiler chickens

| تیمارها Treatments | | گلوتاتیون پراکسیداز (واحد در میلی‌لیتر) GPx[1] (U/ml) | سوپراکسید دیسموتاز (واحد در میلی‌لیتر) SOD[2] (U/ml) | کاتالاز (نانومول در دقیقه در میلی‌لیتر) CAT[3] nmol/min/ml | مالون دی آلدئید (نانومول در میلی‌لیتر) MDA[4] (n mol/ml) |
|---|---|---|---|---|---|
| شاهد مثبت PC | | 1490.0[a] | 301.70[a] | 71.80[a] | 10.44[b] |
| شاهد منفی NC | | 1121.9[c] | 270.50[c] | 26.60[c] | 14.85[a] |
| عصاره برگ مو ۱۰۰۰ ppm | VV-1 | 1110.9[c] | 276.28[c] | 43.61[b] | 11.10[b] |
| عصاره برگ مو ۲۰۰۰ ppm | VV-2 | 1298.3[b] | 285.14[b] | 42.63[b] | 11.81[b] |
| خطای استاندارد میانگین | SEM | 98.6 | 9.20 | 7.3 | 1.12 |
| سطح احتمال P-value | | 0.03 | 0.02 | 0.04 | 0.01 |
| Orthogonal contrasts | | | | P-value | |
| VV *vs.* NC | | 0.04 | 0.04 | 0.01 | 0.01 |

[a,b,] در هر ستون، میانگین اعدادی که حروف نامشابه دارند از نظر آماری با هم تفاوت معنی داری دارند (P<0.05)

شاهد مثبت، بدون آسیت القایی و تغذیه با رژیم غذایی پایه (PC)، شاهد منفی، با آسیت القایی و رژیم غذایی پایه تغذیه شده (NC)، و سطوح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی برگ مو به‌ترتیب (VV-1 و VV-2)

In each column, mean of non-identical alphanumeric characters are statistically significant (P<0.05).
PC: Positive control (without induction ascites and fed basal diet); NC: Negative control (with induction ascites and fed basal diet); VV-1 and VV-2: indicate the supplementation *Vinifera vitis* ethanolic extract at the rate of 1000 and 2000 ppm respectively; 1:GPx: Glutathione peroxidase; 2:SOD: Superoxide dismutase; 3:CAT: Catalase; 4:MDA: Malondialdehyde.

**فعالیت آنزیم‌های کبدی**

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های کبدی موجود در سرم در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد که القای آسیت به‌طور معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) شد (P<۰/۰۵). عصاره برگ مو در هر دو سطح (VV-1 و VV-2) به‌طور معنی‌داری سبب کاهش سطوح سرمی آنزیم‌های ALT، AST و ALP شد (P<۰/۰۵). سطح سرمی آنزیم GGT به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر مکمل‌های تجویزی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). در جوجه‌های تحت تنش، سطح سرمی آنزیم‌های ALT و AST افزایش می‌یابد (Arab *et al.*, 2006; Fathi *et al.*, 2016, 2022). قبلاً هم کاهش معنی‌دار سطوح ALT و AST در اثر تجویز عصاره مریم گلی در جوجه‌ها گوشتی تحت تنش گزارش شده است (Nabi *et al.*, 2018).

همچنین کاهش سطح سرمی آنزیم‌های AST، ALT و ALP در اثر استفاده از پودر خارمریم در جوجه‌های گوشتی قبلاً گزارش شده است (Gharahveysi, 2018). این محققان پیشنهاد کردند که احتمالاً عصاره‌های گیاهی با اثرات حفاظت‌کنندگی خود مانع از پراکسیداسیون غشای لیپیدی سلول‌های کبدی شده و به این ترتیب مانع از جریان آنزیم‌های کبدی به جریان عمومی خون شده‌اند. کاهش سطح پلاسمایی آنزیم‌های ALP،AST وALT توسط مصرف عصاره هسته انگور (Kumanda *et al.*, 2019; Adel-Wahab *et al.*, 2018)، عصاره برگ پسته (Ordouny *et al.*, 2017) و عصاره برگ زیتون (Agah *et al.*, 2019) در جوجه‌های گوشتی گزارش شده است. این محققان پیشنهاد کردند که احتمالاً عصاره‌های گیاهی با اثرات آنتی‌اکسیدانی خود مانع از پراکسیداسیون غشای لیپیدی سلول‌های کبدی شده و به این ترتیب مانع از سرازیری آنزیم‌های کبدی به جریان عمومی خون شده‌اند.

**جدول ٦**- تأثیر تیمارهای آزمایشی مختلف بر فعالیت آنزیم‌های کبدی موجود در سرم

**Table 6-** The effect of different experimental treatments on the activity of liver enzymes in serum

| تیمارها Treatments | آلانین آمینوترانسفراز (واحد در لیتر) ALT[1] (U/L) | آسپارتات آمینوترانسفراز (واحد در لیتر) AST [2](U/L) | گاماگلوتامیل ترانسفراز (واحد در لیتر) GGT [3](U/L) | آلکالین فسفاتاز (واحد در لیتر) ALP [4](U/L) |
|---|---|---|---|---|
| شاهد مثبت PC | 4.10[c] | 151.0[bc] | 14.87[c] | 354.7[d] |
| شاهد منفی NC | 7.80[a] | 195.9[a] | 23.50[a] | 708.6[a] |
| عصاره برگ مو ۱۰۰۰ ppm VV-1 | 5.21[c] | 163.72[b] | 18.26[ab] | 431.9[c] |
| عصاره برگ مو ۲۰۰۰ ppm VV-2 | 6.35[b] | 173.12[b] | 19.02[ab] | 569.3[b] |
| خطای استاندارد میانگین SEM | 0.79 | 19.1 | 1.41 | 29.2 |
| سطح احتمال P-value | 0.02 | 0.04 | 0.03 | 0.01 |
| Orthogonal contrasts | | P-value | | |
| VV *vs.* NC | 0.01 | 0.01 | 0.06 | 0.02 |

در هر ستون، میانگین اعدادی که حروف نامشابه دارند از نظر آماری با هم تفاوت معنی داری دارند (P<0.05)

شاهد مثبت، بدون آسیت القایی و تغذیه با رژیم غذایی پایه (PC)، شاهد منفی، با آسیت القایی و رژیم غذایی پایه تغذیه شده (NC) و سطوح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی برگ مو به‌ترتیب (VV-1 و VV-2)

In each column, mean of non-identical alphanumeric characters are statistically significant (P<0.05).
PC: Positive control (without induction ascites and fed basal diet); NC: Negative control (with induction ascites and fed basal diet); VV-1 and VV-2: indicate the supplementation *Vinifera vitis* ethanolic extract at the rate of 1000 and 2000 ppm respectively;
1: ALT: Alanine transaminase; 2:AST: Aspartate transaminase; 3:GGT: Gamma-glutamyl transferase; 4:ALP: Alkaline phosphatase.

## نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از عصاره اتانولی برگ مو در جوجه‌های گوشتی درگیر با آسیت سبب کاهش تلفات (از ۱۴/۶۶ درصد به ۴ درصد) می شود. احتمالاً اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی دلیل اصلی اثرات مثبت آن باشد. بنابراین، پیشنهاد می‌شود که سطح ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی برگ مو در جهت کاهش تلفات در جیره جوجه‌های گوشتی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

## References


1. Adel-Wahab, A. A., Adel-Kader, I. A., & Ahmad, E. M. (2018). Effect of dietary Grape seed supplumental as a natrual growth promoter on the growth performance of Japanese quall. *Egyptian Journal Nutrition and Feeds*, *21*, 537-548. http://dx.doi.org/10.21608/EJNF.2018.75746.
2. Al-Kassi, G.A.M. (2009). Influence of two plant extracts derived from thyme and cinnamon on broiler performance. *Pakistan Veterinary Journal*, *29*, 169-173.
3. Asgharian, N., Najafi Gharajeh, R., & Abtahi Froushani, M. (2020). Effect of spearmint and eucalyptus essential oils on performance, carcass characteristics and immune system of broiler chickens under thermal stress conditions. *Animal Production Research*, *9*(3), 17-30. http://dx.doi.org/10.22124/AR.2019.9963.1296 .(In Persian with English abstract)
4. Amarowics, R., & Weidner, S. (2009). Biological activity of grapevine phenolic compounds. *Grapevine Molecular Physiology and Biotechnology*, *12*, 389-405. http://dx.doi.org/10.1007/978-90-481-2305-6_14
5. Agah, M. J., Mirkazehi, M. T., & Saleh, H. (2019). Effect of olive leaf extract on growth performance, blood metabolites and antioxidant activates in broiler chickens under heat stress. *Journal of Animal and Plant Sciences*, *29*, 657-666.
6. Arab, H., Jamshidi, A., Rassuli, R., Shams, G., & Hassanzadeh, M. H. (2006). Generation of hydroxyl radicals during ascites experimentally induced in broilers. *British Poultry Science*, *47*, 216-222. http://dx.doi.org/10.1080/00071660600611102 .

7. Brenes, A., Viveros, A., Saura, C., & Arija. I. (2016). Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, *1*, 1-17. http://dx.doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2015.09.016
8. Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad M. (2021). Evaluation of total phenol and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* aqueous extract against some gram-positive and gram-negative bacteria. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, *16*(18), 327-335. http://dx.doi.org/10.52547/fsct.18.116.327. (In Persian with English abstract)
9. Bautista-Ortega, J., & Ruiz-Feria, C. A. (2010). L-Arginine and antioxidant vitamins E and C improve the cardiovascular performance of broiler chickens grown under chronic hypobaric hypoxia. *Poultry Science*, *89*, 2141-2146. http://dx.doi.org/10.3382/ps.2010-00764.
10. Bilgrami, K. S., & Jeswal, P. (1993). Control of citrinin caused nephrotoxicosis through aqueous leaf extract of *Vitis vinifera* L., mercurious corrossivus and cortisone. *The* Indian Journal of Experimental Biology, *31*, 482-4.
11. Chois, K., Zhang, X. H., & Seo, J. S. (2012). Suppression of oxidative stress by grape seed supplementation in rats. *Nutrition Research and Practice*, *6*, 3-8. http://dx.doi.org/10.4162/nrp.2012.6.1.3
12. Christensen, K. B., Jørgensen, M., Kotowska, D., Petersen, R. K., Kristiansen, K., & Christensen, L. P. (2010). Activation of thenuclear receptor PPARcby metabolites isolated from sage (*Salvia officinalis* L.). *The Journal of Ethno* Pharmacology, *132*, 127–133. http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.054
13. Daneshyar, M., Kermanshahi, H., & Golian, A. (2009). Changes of biochemical parameters and enzyme activities in broiler chickens with cold-induced ascites. *Poultry Science*, *88*, 108-110. http://dx.doi.org/10.3382/ps.2008-00170 .
14. Daneshyar, A. A., Nancy, N., & Kamel, M. (2018). Effect of feed restriction and vitamin C supplementation on growth performance, carcass characteristics and some blood parameters of broiler reared under heat stress. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, *21*(2), 823-832.
15. Fathi, M., Tanha, T., & Saeedyan, S. (2022). Influence of dietary lycopene on growth performance, antioxidant status, blood parameters and mortality in broiler chicken with cold-induced ascites. *Archive Animal Nutrition*, *8*, 1-11. http://dx.doi.org/10.1080/1745039X.2022.2046451 .
16. Fathi, M., Haydari, M., & Tanah, T. (2016). Influence of dietary aspirin on growth performance, antioxidant status, and mortality due to ascites in broiler chickens. *Poultry Science Journal*, *4* (2), 139-146. http://dx.doi.org/10.22069/PSJ.2016.10701.1178.
17. Farhadi, M., Hedayati, M., Manafi, M., & Khalaji, S. (2020). Influence of using Sage powder on performance, blood cells, immunity titers, biochemical parameters and small intestine morphology in broiler chickens. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, *10*, 509-516. http://dx.doi.org/20.1001.1.2251628.2020.10.3.15.4
18. Gharahveysi, S. H. (2018). Effects of milk thistle powder on performance, blood parameters and liver enzymes of broilers. ***J**ournal of **A**nimal **P**roduction*, *19*(4), 879-889. http://dx.doi.org/10.22059/jap.2018.225325.623153 .(In Persian)
19. Gharib Naseri, M., Navid Hamidi, M., & Heidari, A. (2004). Vasorelaxant effects of *Vitis vinifera* L. leaf extract on isolated rat aorta. *Journal of Medical Plants*, *3*(9), 43-54. http://dx.doi.org/20.1001.1.2717204.2004.3.9.5.1
20. Jena, B.P., Panda, N., Patra, R.C., Mishra, P.K., Behura, N.C., & Panigrahi, B. (2013). Supplementation of vitamin E and C reduces oxidative stress in broiler breeder hens during summer. *Food and Nutrition Sciences*, *4*, 33-37
21. Kakengi, A. M. V., Kaijage, J. T., Sarwatt, S. V., Mutayoba, S. K., Shem, M. N., & Fujihara T. (2007). The effect of *Moringa olifera* leaf meal as a substitute for sunflower seed meal on performance of laying hens in Tanzania. *Livestock Research for Rural Development*, *19*(8), 1-120.
22. Leusink, G., Rempel H., Skura, B., Berkyto, M., White, W., Yang, Y., Rhee J. Y., Xuan S.Y., Chiu S., Silversid F., Fitzpatrik S., & Diarra M. S. (2010). Growth performance, meat quality, and gut microflora of broiler chickens fed with cranberry extract. *Poultry Science*, *89*, 1514-1523. http://dx.doi.org/10.3382/ps.2009-00364
23. Lorenzoni, A. G., & Ruiz-Feria, C. A. (2006). Effects of vitamin E and l-arginine on Cardiopulmonary function and ascites parameters in broilers chickens reared under sub-normal temperatures. *Poultry Science*, *85*, 2241–2250. http://dx.doi.org/10.1093/ps/85.12.2241.
24. Monagas, M., Hernández-Ledesma, B., Garrido, I., Pedro, J., Alvarez, M., Gómez, C., & Bartolomé, B. (2005). Quality assessment of commercial dietary antioxidant products from *Vitis vinifera* L. grape seeds. *Nutrition Cancer*, *53*(2), 244-54. http://dx.doi.org/10.1207/s15327914nc530213.
25. Nabi, F., Zhang, H., Iqbal, M. K., Rehman, M. U., Shahzad, M., Mehmood, K. H., & Li, J. (2018). *Salvia miltiorrhiza* reinstates growth plate width, reduces liver oxidative stress and toxicity in Avian Tibial Dyschondroplasia. *Pakistan Journal Zoology*, *50*, 1-4.
26. Nasiroleslami, M., & Torki, M. (2010). Including essential oils of fennel (*Foeniculum vulgare*) and ginger (*Zingiber Officinale*) to diet and evaluating performance of laying hens, white blood cell count and egg quality characteristics. *Journal of Advances in Environmental Biology*, *4*(3), 341-345.
27. Nemati, M. H., Amanlou. F., & Shahir. M. A. (2022). Effect of adding *Mentha piperita* powder on performance, immune system, and blood parameters of broilers under ascites induction conditions. *Animal Production Research*,

*11*(1), 27-38. http://dx.doi.org/10.22124/AR.2022.19209.1603 .(In Persian with English abstract)

28. Kim, Y., Choi, Y., Ham H., Jeong, H. S., & Lee, J. (2012). Antioxidant and cytoprotective effects of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from defatted grape seed in pc12 cells. Journal *of Medicinal* Food, *15*, 490-94. http://dx.doi.org/10.1089/jmf.2011.1963.
29. Kaousar, A. H., Hebash, H. M., Fadel Mervat., & Soliman. M. A. (1991). Volatile components of grape leaves. *Journal of Islamic Academy of Sciences*, *4*, 26-28.
30. Kumanda, C., Mlambo, V., & Mnisi, C. (2019). From landfills to the dinner table: Red grape pomace waste as a nutraceutical for broiler chickens. *Sustainability*, *11*, 1931. http://dx.doi.org/10.3390/su11071931.
31. Mortezayi, A., Mamouei, M., Majd, N.E., & Ghorbani, M.R. (2020). Effect of using sage extract after experimental copper poisoning on performance and blood metabolites of Japanese quail. ***J****ournal of Animal Production*, *22*(1), 143-151. http://dx.doi.org/10.22059/jap.2019.276784.623373. **(**In Persian with English abstract)
32. Ordouny, P., khalil, M., mohammadabadi, T., & bojarpoor, M. (2017). Effect of different levels of wild pistachio leaves (*Pistacia atlantica*), on liver enzymes, blood parameters and performance indicators of broiler chickens. *Journal of Animal Production*, *19*(3), 601-612. http://dx.doi.org/10.22059/jap.2017.229504.623171 .( In Persian with English abstract)
33. Orhan, D. D., Orhan, N., & Ergun, F. (2007). Hepatoprotective effect of *Vitis vinifera* L. leaves on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats. *The Journal of thnopharmacology*, *12*, 145-151. http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2007.02.013.
34. Pascariu, S. M., Pop, I. M., Simeanu, D., Pavel, G., & Solcan, C. (2017). Effects of wine by-products on growth performance, complete blood count and total antioxidant status in broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *19*, 191-202. http://dx.doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0305 .
35. Rajani, J., Karimi Torshizi, M.A., & Rahimi, S.H. (2011). Control of ascites mortality and improved performance and meat shelf-life in broilers using feed adjuncts with presumed antioxidant activity. *Animal Feed Science and Technology*, *170*, 239–245. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.09.001
36. Rasouli, B., Movahhedkhah, S., Seidavi, A., Haq, Q. M. I., Kadim, I., Laudadio, V., Mazzei, D., & Tufarelli, V. (2020). Effect of sage (*Salvia officinalis* L.) aqueous leaf extract on performance, blood constituents, immunity response and ileal microflora of broiler chickens. Agroforestry Systems, 94(4), 1179-1187. http://dx.doi.org/10.1007/s10457-019-00401-8
37. Rowghani, E., Arab, M., Nazifi, S., & Bakhtiari, Z. (2007). Effect of canola oil on cholesterol and fatty acid composition of egg-yolk of laying hens. *International Journal of Poultry Science*, *6*, 77-84. http://dx.doi.org/10.3923/ijps.2007.111.114
38. Sadeghi Afrakati, M., & Kamkar, A. (2018). Study of antioxidant and antiradical activity of alcoholic and aqueous extract of grape leaves *in vitro*. *Journal of Veterinary Research*, *73*(2), 165-171.
39. Jalili Marandi, R. (2007). Small fruits, iran-Orumieh, Publishing Jahad daneshgahi Orumieh, Iran. (1st Ed.). Orumieh, Iran. p. 111.
40. Salmanian, S. H., Sadeghi Mahoonak, A. R., Alami, M., & Ghorbani, M. (2013). Evaluate the anti-radical, antioxidant activity and flavonoid composition of *Crataegus elburensis*. *Journal of Nutrition Science*, *1*, 177-185.
41. Kiesewetter, H., Koscielncy, J., Kalus, U., Vix, J. M., Peil, H., Petrini, O., van Toor, B. S., & deMey, C. (2000). Efficacy of orally administered extract of red vine leaves AS 195 *(folia vitis vinifera)* in chronic venous insufficiency (stages I- II). A randomized, double-blind-placebo-controlled trial. *Arzneimittelforschung*, *50*, 109-17. http://dx.doi.org/10.1055/s-0031-1300174.
42. Zhu, Y.F., Li, S.Z., Sun, Q.Z., X. & Yang. X.J. (2019). Effect of in ovo feeding of vitamin C on antioxidation and immune function of broiler chickens. *Animal*, *13*(9), 1927-1933.

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

**Research Article**
**Vol. 16, No.3, 2024, p. 447-460**

# Genetic Analysis of Reciprocal Crosses of Silkworm in New Iranian Lines and Hybrids

**Shahla Nematollahian[1], Seyed Hossein Hosseini Moghaddam[2*], Babak Rabiei[4], Seyed Ziaeddin Mirhosseini[3]**

1 –Ph.D. Candidate, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
2 and 3- Associate Professor and Professor, Department of Animal Science and Department of Sericulture, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran, respectively.
4- Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Guilan, Faculty of Agricultural Sciences, Rasht, Iran.
*Corresponding Author's Email: hosseini@guilan.ac.ir

Received: 04-12-2023
Revised: 20-01-2024
Accepted: 30-01-2024
Available Online: 03-12-2024

**How to cite this article:**
Nematollahian, S., Hosseini Moghaddam, S. H., Rabiei, B., & Mirhosseini, S. Z. (2024). Genetic analysis of reciprocal crosses of silkworm in new Iranian lines and hybrids. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16*(3), 447-460. (in Persian with English abstract)
http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.85613.1183

**Introduction:** Commercial silkworm hybrids result from the controlled crossing of the Japanese-shaped parent with the Chinese-shaped parent (direct cross) and vice versa (reverse cross). Suppose the silkworm hybrids resulting from direct and reverse crossing have a large difference in the performance of the important productive, reproductive, and viability characteristics. In that case, they are not suitable for supply to the farmers. In this research, to identify the hybrid pairs with the least differences, the traits of 72 reciprocal hybrids (36 mating pairs) were tested by statistical methods. These results will be used for the final selection of commercial hybrids. Also, the genetic analysis of reciprocal hybrids and the estimation of genetic parameters in each of the mating programs were done separately using line × tester analysis.

**Materials and Methods:** The current research was done at the Iran Silk Research Center by carrying out two mating programs in the form of line-tester crosses between six Chinese lines (IRA2, IRA4, IRA6, IRA8, IRA10, and IRA12) with six Japanese lines (IRA1, IRA3, IRA5, IRA7, IRA9, and IRA11). Six lines with dumbbell-shaped cocoons (Japanese) and six lines with oval-shaped cocoons (Chinese) were crossed bilaterally. All lines (12 genotypes) and 72 hybrids (36+36) were reared in a completely randomized design with 4 replications. All stages of hatching and rearing of silkworm lines and hybrids in this project were done in the same way based on standard methods. The studied traits including the number of cocoons per liter, cocoon weight per liter, best cocoons percentage, middle cocoons percentage, cocoon weight per 10,000 larvae, hatchability percentage, cocoon weight, cocoon shell weight, cocoon shell percentage, and pupation rate were recorded and analyzed by applying of GLM procedure of SAS software. Line×tester analysis was applied to study the reciprocal crossing effect and estimate genetic parameters. Gene effects, heritability, $\sigma^2$gca/$\sigma^2$sca, and Baker's ratio were investigated by applying of IML procedure of SAS software.

**Results and Discussion:** The results of the comparison of reciprocal hybrids based on the total difference (∑D) showed that this parameter was more than the total average in 14 pairs of hybrids. Therefore they could not be selected for commercial level. In the other 22 pairs, either none of the traits or at most one trait had a significant difference ($P<0.05$). The results showed that the characteristics of cocoon weight and cocoon shell weight were more affected by reciprocal crossing. On the other hand, the number of cocoons per liter, the

©2023 The author(s). This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.
http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.85613.1183

hatchability percentage and the middle cocoon percentage were higher in Chinese mother hybrids than in Japanese mothers. For other traits (weight per liter, cocoon weight per 10,000 larvae, pupation percentage, good cocoon percentage and pupation percentage), Japanese mother hybrids were almost superior. The comparison of crosses effect in Japanese-shape lines and Chinese-shape testers with Chinese-shape lines and Japanese-shape testers showed that four traits (cocoon weight, cocoon shell weight, cocoon shell percentage and cocoon weight per 10 thousand larvae) and for the interaction effect (line × tester), three Traits (cocoon weight, cocoon shell percentage and pupation rate) were most affected by the substitution of parents. The values of additive genetic variance, Baker's coefficient, ratio σ2gca/σ2sca and heritability in four studied traits including cocoon weight, cocoon shell weight, cocoon shell percentage and number of cocoons per liter showed that these traits are under additive genetic effect. Moreover, they had a higher value in Chinese mothers than the Japanese mother crosses. The trait of cocoon weight per 10,000 larvae was also controlled by non-additive genetic effects, and the substitution of parents did not affect their genetic parameters. The pupation rate in the direct crosses was due to additive genetic effects, but in the reverse crosses was affected by non-additive genetic effects. In general, the narrow sense heritability for all traits was higher in Chinese-shape than in Japanese-shape mothers.

**Conclusions:** In the present study, similar and close performances of the Chinese mother and Japanese mother hybrids were determined except for cocoon weight and cocoon shell weight which was different in almost 33% of reciprocal hybrids. The crosses effect in the line × tester ANOVA supported the result of mean comparison for reciprocal hybrids evaluation. Further field investigations can be carried out to select the hybrids suitable for different geographical conditions.

**Keywords:** Heritability, Hybrid selection, Line × tester analysis, Reciprocal crossing, Silkworm

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

مقاله پژوهشی
جلد ۱۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۴۶۰-۴۴۷

# واکاوی ژنتیکی تلاقی‌های دوطرفه کرم ابریشم در لاین‌ها و آمیخته‌های جدید ایرانی

شهلا نعمت اللهیان[۱]، سید حسین حسینی مقدم[۲*]، بابک ربیعی[۴]، سید ضیاالدین میرحسینی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۰/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۰

## چکیده

کرم ابریشم آمیخته تجاری حاصل آمیزش‌های دوطرفه لاین‌های والدینی است. چنانچه جفت آمیخته حاصل از تلاقی مستقیم و معکوس عملکرد بسیار متفاوتی داشته باشند، برای عرضه به کشاورزان مناسب نیستند. در این تحقیق، تفاوت‌ها برای ۱۰ صفت مهم در هر جفت آمیخته محاسبه و سپس ۳۶ جفت آمیخته جدید کرم ابریشم برای تفاوت کل مقایسه شدند. دلایل ژنتیکی این تفاوت‌ها با برآورد اثرات ژنی، $\sigma^2$gca /$\sigma^2$sca، ضریب بیکر و وراثت‌پذیری عام و خاص با استفاده از تجزیه لاین × تستر به‌طور جداگانه برای آمیخته‌های مادر ژاپنی و مادر چینی بررسی شدند. نتایج مقایسه آمیخته‌های متقابل بر مبنای تفاوت کل نشان داد که این پارامتر در ۱۴ جفت آمیخته بیش از متوسط کل بود. لذا این‌ها نمی‌توانند در سطح تجاری توزیع شوند. در ۲۲ جفت آمیخته با تفاوت کل کمتر یا هیچ‌کدام از صفات و یا حداکثر یک صفت اختلاف معنی‌دار داشتند. ارزیابی آمیخته‌ها مشخص کرد که صفات وزن پیله و وزن قشر پیله بیش از سایرین تحت تأثیر آمیزش‌های متقابل قرار گرفتند. اثر آمیخته در جدول تجزیه واریانس لاین × تستر نیز نشان داد که بین تلاقی مستقیم و معکوس برای صفات وزن پیله و وزن قشر پیله و صفات مرتبط با آن یعنی وزن پیله ۱۰ هزار لارو و درصد قشر پیله، تفاوت آشکاری وجود دارد. نسبت $\sigma^2_{gca}$ /$\sigma^2_{sca}$، ضریب بیکر و مقادیر وراثت‌پذیری عام و خاص نشان داد که اثرات ژنتیکی افزایشی برای وزن پیله، وزن قشر پیله و درصد قشر پیله در آمیخته‌های مادر چینی بیشتر از مادر ژاپنی بود.

**واژه‌های کلیدی:** انتخاب هیبرید، آمیخته دوطرفه، تجزیه لاین × تستر، کرم ابریشم، وراثت‌پذیری

## مقدمه

کرم ابریشم آمیخته تجاری حاصل تلاقی والد ژاپنی‌شکل با والد چینی‌شکل (آمیخته مستقیم) و بالعکس آن است (Hosseini Moghaddam, 2013). فناوری اصلاح نژاد و تولید تخم نوغان آمیخته تجاری بسیار پیچیده بوده و جوانب متعددی دارد که چنانچه به آن توجه نشود، بعد از عرضه تخم نوغان مورد استقبال پرورش‌دهندگان قرار نخواهد گرفت. یکی از نکات مهم در معرفی آمیخته برتر، یکنواختی عملکرد مشابه آمیخته‌های متقابل است. چنانچه آمیخته‌های حاصل از آمیخته مستقیم و معکوس تفاوت خیلی زیادی در عملکرد صفات مهم تولیدی و ماندگاری داشته باشند، در عمل مناسب برای توزیع بین نوغانداران نیستند (Khordadi *et al.*, 2021). زیرا برخی از آنان تولید پیله مطلوب و برخی تولید ضعیفی خواهند داشت. لذا، پس از جداسازی لاین‌های کرم ابریشم و تولید آمیخته‌های مختلف از آن‌ها، برای انتخاب آمیخته کرم ابریشم برتر و معرفی آن به نوغانداران، بررسی جفت آمیخته‌های حاصل از آمیزش‌های دو طرفه و مقایسه آن ضروری است.

در بررسی عملکرد آمیخته‌های وارداتی کرم ابریشم مشخص شد که آمیخته‌های B × Q و Q × B دارای تفاوت عملکرد زیادی بین دو آمیخته بودند. بنابراین، باتوجه به این تفاوت و همچنین وزن پیله کمتر نسبت به برخی آمیخته‌های دیگر، سهم آمیخته‌های B × Q و Q × B در سبد تخم نوغان وارداتی کشور کاهش پیدا کرد (Khordadi *et al.*, 2023). با ارزیابی عملکرد ۱۴ آمیخته وارداتی مشتمل بر هفت جفت آمیخته مستقیم و معکوس برای صفت تولید پیله به‌ازاء ۲۵۰۰۰ لارو مشخص شد که تنها یک جفت آمیخته تفاوت

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
۲ و ۳- به‌ترتیب دانشیار و استاد، گروه علوم دامی و گروه پژوهشی ابریشم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
۴- استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: hosseini@guilan.ac.ir)
http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.85613.1183

قابل توجه و معنی‌داری ($P< 0.05$) نسبت به یکدیگر داشتند (Nematollahian and Alipanah, 2022). همچنین اثر آمیخته دوطرفه در آمیخته‌های متقابل بین ماده NB4D2 با نرهای Pure Mysore و Nistari، در صفاتی نظیر وزن پیله، وزن قشر پیله و طول الیاف، بهبود قابل ملاحظه‌ای یافت، امّا تفاوت معنی‌داری بین آمیخته متقابل ماده C108 با نرهای Pure Mysore و Nistari مشاهده نشد (Talebi *et al.*, 2011).

در بیومتری با استفاده از روش‌هایی نظیر دی‌آلل[1] و لاین × تستر[2] پارامترهای ژنتیکی مانند واریانس ژنتیکی افزایشی، واریانس غالبیت، ضریب بیکر، نسبت واریانس ترکیب‌پذیری عمومی به واریانس ترکیب‌پذیری اختصاصی ($\sigma^2gca/\sigma^2sca$)، درجه غالبیت و وراثت‌پذیری عام[3] ($h^2_B$) و خاص[4] ($h^2_N$) برآورد می‌شود. در تجزیه لاین × تستر اثرات آمیخته‌ها به اجزای آن شامل اثر لاین، تستر و برهم‌کنش لاین × تستر تفکیک می‌شود تا بتوان این اثر را با توجه به نقش والدین شرکت‌کننده در آمیخته‌ها تجزیه و تحلیل نمود. تفاوت‌ها حسب اینکه کدام یک از آن‌ها به‌عنوان والد مادری یا پدری در نظر گرفته شده باشند، منعکس‌کننده تفاوت بین والدین مادری یا پدری بوده و در نتیجه، برهم‌کنش لاین × تستر همان برهم‌کنش نر×ماده خواهد بود (Choukan, 2008). باتوجه به تلاقی دوطرفه در کرم ابریشم اثرات لاین × تستر نشان‌دهنده متفاوت بودن واکنش پایه‌های مادری با پایه‌های پدری مختلف و بالعکس است. تحقیقات معدودی با استفاده از تجزیه لاین × تستر در کرم ابریشم انجام شده است. لیکن تجزیه به‌روش دی‌آلل به دفعات انجام شده است (Asadpour *et al.*, 2023). اخیراً به دنبال اجرای یک پروژه اصلاح نژادی در ترکیه، چهار آمیخته حاصل با استفاده از تجزیه لاین × تستر ارزیابی شدند (Sahan, 2020).

در طی یک برنامه به‌نژادی کرم ابریشم که اخیراً در کشور انجام شد، تعدادی لاین ژاپنی‌شکل و چینی‌شکل طی یک برنامه آمیخته‌گری درون‌نژادی تولید و معرفی شدند (Mavvajpoor *et al.*, 2021; Mirhoseini *et al.*, 2021). در مرحله بعد (تحقیق حاضر) آمیخته‌گری به‌صورت دو برنامه آمیزشی مستقل شامل آمیخته‌های مستقیم و معکوس لاین‌های والدینی کرم ابریشم اجرا شد. در این تحقیق، عملکرد صفات ۷۲ آمیخته دوطرفه[5] (۳۶ جفت آمیزش) با هدف بررسی تفاوت‌ها در جفت آمیخته‌ها آزمون شدند تا جفت آمیخته‌هایی با کمترین تفاوت مشخص شوند. از این نتایج برای انتخاب و معرفی نهایی آمیخته‌های تجاری استفاده خواهد شد. همچنین واکاوی ژنتیکی آمیخته‌های متقابل (دوطرفه) و برآورد پارامترهای ژنتیکی در هر یک از برنامه‌های آمیزشی با استفاده از تجزیه لاین × تستر به‌طور جداگانه انجام شد تا تفاوت‌های دو برنامه آمیزشی از نظر ژنتیکی نیز مشخص شود.

1- Diallel
2- Line × tester
3- $h^2B$: Broad sense heritability
4- $h^2N$: Narrow sense heritability
5- Reciprocal crossing

## مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در مرکز تحقیقات ابریشم کشور با اجرای دو طرح آمیزشی لاین × تستر بین شش لاین چینی (IRA2، IRA4، IRA6، IRA8، IRA10 و IRA12) با شش لاین ژاپنی (IRA1، IRA3، IRA5، IRA7، IRA9 و IRA11) انجام شد. به عبارتی، در یک برنامه آمیزشی ۶ × ۶ لاین‌های ژاپنی به‌عنوان والد مادری با تسترهای چینی به‌عنوان والد پدری تلاقی داده شدند و در یک برنامه آمیزشی مجزای دیگر، لاین‌های چینی (والد مادری) با تسترهای ژاپنی (والد پدری) جفت داده شدند. ۳۶ آمیخته از هر برنامه تولید شد که در مجموع، ۷۲ آمیخته به همراه والدین مربوطه (۱۲ والد) و در مجموع، ۸۴ ژنوتیپ در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار پرورش داده شدند. به‌دلیل یکسان بودن شرایط محیطی (پرورش در یک مکان پرورشی با دما و رطوبت استاندارد) و استفاده از یک رقم برگ توت (رقم کن موچی) تنها عامل یا فاکتور متفاوت برای بررسی، ژنوتیپ‌ها بودند. کلیه مراحل تفریخ و پرورش کرم ابریشم به‌طور یکسان و طبق دستورالعمل‌های استاندارد برای پرورش کرم ابریشم انجام شد (ESCAP, 1993;Hosseini Moghaddam, 2013).

صفات مورد بررسی شامل درصد ماندگاری شفیره‌ها (درصد شفیرگی[6])، درصد پیله‌های خوب[7]، درصد پیله‌های متوسط[8]، متوسط وزن پیله[9] (۲۵ پیله نر و ۲۵ پیله ماده)، متوسط وزن قشر ابریشمی[10] (۲۵ پیله نر و ۲۵ پیله ماده)، درصد قشر ابریشمی[11] (نسبت وزن قشر یک پیله به وزن یک پیله)، تعداد پیله در یک لیتر[12]، وزن یک لیتر پیله[13]، وزن پیله حاصل از ده هزار لارو[14] و درصد تفریخ[15] بود. تمام اندازه گیری‌ها و رکوردگیری‌ها بر مبنای دستورالعمل سازمان FAO انجام شد (ESCAP, 1993). برای توزین وزن پیله و قشر آن از ترازوی دیجیتالی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم استفاده شد. صفت تعداد پیله در لیتر، شاخص اندازه پیله است و رابطه معکوس با اندازه پیله

6- Pupation rate (%)
7- Good cocoon percentage (%)
8- Middle cocoon percentage (%)
9- Cocoon weight (g)
10- Cocoon shell weight (g)
11- Cocoon shell percentage (%)
12- Cocoon number/liter
13- Cocoon weight/liter
14- Cocoon Yeild/10000 larvae (kg)
15- Hatchability (%)

دارد، به‌طوری‌که مقادیر بیشتر نشان‌دهنده ریز بودن پیله بوده و مطلوب نیست، همچنین صفت درصد پیله‌های متوسط، هرچه کمتر باشد، بازارپسندی پیله بهتر است.

برای بررسی هیبریدها و اثر آمیزش دوطرفه و مقایسه آمیخته‌های متقابل، داده‌های آزمایش با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS نسخه ۹ تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین صفات در آمیخته‌های حاصل از آمیزش متقابل و مقایسه دوبه‌دوی آن‌ها با آزمون توکی انجام شد. به‌منظور مقایسه ۳۶ جفت آمیخته و امتیازدهی به آن‌ها بر مبنای تفاوت آمیخته مستقیم و معکوس، فاصله اقلیدسی آمیخته مستقیم از معکوس در رتبه‌بندی آمیخته‌ها از بیشتر به کمتر به‌عنوان پارامتر D تعریف شد.

با هدف برآورد پارامترهای ژنتیکی حاصل از تجزیه لاین × تستر و واکاوی ژنتیکی آمیزش‌های دوطرفه، کل داده‌های طرح مشتمل بر داده‌های ۷۲ هیبرید و همچنین ۱۲ والد مربوطه با استفاده از رویه IML نرم‌افزار SAS نسخه ۹ تجزیه و تحلیل شدند. آمیخته‌ها مشتمل بر ۳۶ آمیخته کرم ابریشم (۶ × ۶) حاصل از تلاقی والدین مادر ژاپنی (لاین) با پدر چینی (تستر) و ۳۶ آمیخته (۶ × ۶) حاصل از آمیخته معکوس از والدین مادر چینی (لاین) با پدر ژاپنی (تستر) بودند. مدل خطی برای تجزیه آماری ژنتیکی نتاج حاصل از طرح لاین × تستر به‌شکل زیر می‌باشد (Choukan, 2008):

$$Y_{ijk} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + r_k + e_{ijk}$$

که در آن، $Y_{ijkl}$: ارزش فنوتیپی مشاهده شده در i×j امین آمیخته در k امین تکرار، μ: میانگین جمعیت، $g_i$: اثر gca مربوط به i امین والد، $g_j$: اثر gca مربوط به j امین والد، $s_{ij}$: اثر sca مربوط به i×j امین آمیخته، $r_k$: اثر k امین تکرار و $e_{ijk}$: اثر ijk امین خطای محیطی است.

در این تجزیه واریانس، واریانس ترکیب‌پذیری عمومی ($\sigma^2_{gca}$) لاین‌ها و تسترها به‌ترتیب با استفاده از امیدریاضی میانگین مربعات لاین‌ها ($MS_L$) و تسترها ($MS_T$) و واریانس ترکیب‌پذیری اختصاصی آمیخته‌ها ($\sigma^2_{sca}$) با استفاده از میانگین مربعات برهم‌کنش لاین × تستر ($MS_{L\times T}$) محاسبه و سپس واریانس‌های افزایشی ($\sigma^2_A = 2\sigma^2_{gca}$) و غالبیت ($\sigma^2_D = \sigma^2_{sca}$) برآورد شد. متوسط درجه غالبیت ژن‌های کنترل‌کننده هر یک از صفات مورد مطالعه، وراثت‌پذیری عام و خاص و نسبت بیکر (Baker, 1978) نیز به‌ترتیب براساس معادله‌های ۱ تا ۴ برآورد شدند:

معادله (۱)

$$\bar{a} = \sqrt{\frac{2\sigma^2_D}{\sigma^2_A}}$$

معادله (۲)

$$h^2_b = \frac{\sigma^2_A + \sigma^2_D}{\sigma^2_A + \sigma^2_D + \frac{\sigma^2_e}{r}}$$

معادله (۳)

$$h^2_n = \frac{\sigma^2_A}{\sigma^2_A + \sigma^2_D + \frac{\sigma^2_e}{r}}$$

معادله (۴)

$$BR = \frac{2MSgca}{2MSgca + 2MSsca}$$

که در آن، : $\bar{a}$متوسط اثر غالبیت ژن، $h^2_b$: وراثت‌پذیری عام، $h^2_n$ : وراثت‌پذیری خاص و BR: نسبت بیکر است.

همچنین سهم نسبی لاین‌ها، تسترها و اثرات متقابل آن‌ها از واریانس کل فنوتیپی نتاج (آمیخته‌ها) براساس معادله‌های ۵، ۶ و ۷ برآورد شد (Kempthorne, 1957):

معادله (۵)

$$\text{سهم لاینها} = \frac{SS_l \times 100}{SS_C}$$

معادله (۶)

$$\text{سهم تسترها} = \frac{SS_t \times 100}{SS_C}$$

معادله (۷)

$$\text{سهم اثر متقابل لاین در تستر} = \frac{SS_{lt} \times 100}{SS_C}$$

که در آن، $SS_l$: مجموع مربعات اثر لاین، $SS_t$: مجموع مربعات اثر تستر و $SS_C$: مجموع مربعات اثر آمیخته‌ها (crosses) است.

## نتایج و بحث

### بررسی اثر تلاقی دو طرفه

نتایج تجزیه واریانس ۱۰ صفت رکوردگیری شده در ۷۲ آمیخته جدید کرم ابریشم در قالب طرح کاملاً تصادفی بر مبنای نوع تلاقی (مستقیم و معکوس) به‌علاوه ضریب تغییرات (CV) و متوسط عملکرد هر صفت در جدول ۱ ارائه شده است. هدف از این جدول، مقایسه میانگین آمیخته‌های مادر ژاپنی با مادر چینی کرم ابریشم است. نتایج نشان داد که تفاوت‌ها در بین برخی آمیخته‌ها برای تمام صفات مورد بررسی معنی‌دار است ($P< 0.05$). از سوی دیگر، با مرتب کردن آمیخته‌های مادر ژاپنی با مادر چینی در کنار یکدیگر، عملکرد آمیخته‌های مستقیم و معکوس نسبت به یکدیگر آزمون شدند. همان‌طور که در جدول ۲ مشخص شده است (اعداد پررنگ)، برای برخی جفت آمیخته‌ها این تفاوت معنی‌دار شده است ($P< 0.05$).

### تفاوت میانگین آمیخته‌های حاصل از تلاقی دوطرفه

برای ارزیابی دقیق‌تر عملکرد آمیخته‌های کرم ابریشم و بررسی تفاوت در میانگین صفات در آمیخته‌های حاصل از آمیزش مستقیم و معکوس، علاوه‌بر آزمون مقایسه میانگین (جدول ۱)، از دو شیوه دیگر نیز برای معرفی تفاوت‌های آمیخته‌های متقابل استفاده شد که در جدول ۲ ارائه شده است.

در جدول ۲، اعداد سطر اول که برخی مثبت و برخی منفی هستند، تفاضل میانگین آمیخته‌های مادر ژاپنی (مستقیم) از مادر

چینی (معکوس) هستند.

**جدول ۱**- مقایسه میانگین‌های بین آمیخته‌های کرم ابریشم مادر ژاپنی و مادر چینی برای صفات مهم اقتصادی

**Table 1**- Mean comparisons between Japanese mother and Chinese mother silkworm hybrids for economic important traits

| | آمیخته‌ها Hybrids | تعداد پیله در لیتر Cocoon number /liter | وزن پیله در لیتر(گرم) Cocoon weight /liter (g) | درصد شفیرگی Pupation rate (%) | تولید پیله (۱۰۰۰۰ لارو) Yeild/ 10,000 Larvae (Kg) | درصد پیله‌های خوب Best cocoon percentage (%) | درصد پیله‌های متوسط Middle cocoon percentage (%) | درصد تفریخ Hatchability (%) | وزن پیله (گرم) Cocoon weight (g) | وزن قشر پیله(گرم) Cocoon shell weight (g) | درصد قشر پیله Cocoon shell percentage (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | IRA1×IRA2 | 102.5 a-m | 181.225 a-j | 91.00 c-g | 16.480 a-c | 89.727 a-i | 4.612 e-h | 93.172 abc | 1.779 a-l | 0.337 b-k | 19.23 fq |
| | IRA2×IRA1 | 105.3 a-k | 188.757 a-c | 92.452 c-e | 16.637 a-c | 90.677 a-g | 4.645 e-h | 96.805 ab | 1.688 h-v | 0.336 b-l | 19.82 a-m |
| 2 | IRA1×IRA4 | 105.5 a-k | 178.595 a-l | 90.620 d-g | 15.272 b-d | 89.907 a-h | 2.475 f-h | 95.557 abc | 1.747 c-q | 0.342 a-j | 19.77 a-n |
| | IRA4×IRA1 | 103.5 a-l | 175.017 a-p | 91.855 c-f | 16.122 a-d | 85.442 e-k | 11.175 a-e | 97.070 ab | 1.684 h-v | 0.342 a-j | 20.36 a-c |
| 3 | IRA1×IRA6 | 100.8 c-m | 173.210 b-p | 80.970 h-k | 16.792 a-c | 90.387 a-g | 4.075 e-h | 93.658 abc | 1.784 a-k | 0.342 a-j | 19.58 b-o |
| | IRA6×IRA1 | 110.8 a-e | 173.862 b-p | 88.642 e-i | 15.752 a-d | 93.115 a-g | 4.062 e-h | **98.373 a** | 1.638 q-y | 0.318 g-n | 19.65 a-o |
| 4 | IRA1×IRA8 | 108.3 a-h | 191.985 ab | 92.600 c-e | 16.542 a-c | 93.597 a-f | 2.732 f-h | 97.310 ab | 1.828 a-g | 0.350 a-f | 19.36 d-q |
| | IRA8×IRA1 | 103.5 a-l | 170.427 c-p | 80.047 i-k | 15.772 a-d | **78.525 k** | **16.292 a** | 95.152 abc | 1.656 m-v | 0.329 d-n | 20.01 a-i |
| 5 | IRA1×IRA10 | 107 a-i | 185.895 a-e | 79.865 jk | 15.245 b-d | 89.855 a-h | 5.032 e-h | 93.775 abc | 1.748 c-q | 0.337 b-k | 19.62 a-o |
| | IRA10×IRA1 | 105 a-k | 173.712 b-p | 93.525 b-d | 16.180 a-d | 85.865 d-k | 9.230 a-g | 97.740 ab | 1.629 q-y | 0.316 h-n | 19.50 c-p |
| 6 | IRA1×IRA12 | 93.8 h-n | 174.467 a-p | 86.627 f-k | 16.822 a-c | 90.270 a-h | 4.027 e-h | 96.270 ab | 1.869 ab | 0.311 i-n | 20.06 a-h |
| | IRA12×IRA1 | 103.3 a-m | 168.505 d-p | 94.505 a-c | 16.465 a-c | 87.960 a-j | 8.487 b-h | 95.535 abc | 1.656 m-v | 0.322 f-n | 19.77 a-n |
| 7 | IRA3×IRA2 | 90.8 k-m | 161.352 k-p | 95.095 a-c | 17.205 a-c | 90.185 a-h | 6.042 d-h | 93.442 abc | 1.771 a-m | 0.346 a-g | 19.69 a-o |
| | IRA2×IRA3 | 102.5 a-k | 164.040 i-p | 94.342 a-c | 16.395 a-c | 89.185 a-i | 6.412 d-h | 94.880 abc | 1.656 m-w | 0.312 i-n | 19.22 f-q |
| 8 | IRA3×IRA4 | 92 k-m | 166.330 g-p | 95.717 ab | 17.242 ab | 91.530 a-g | 5.070 e-h | 94.002 abc | 1.771 a-m | 0.346 a-g | 19.78 a-n |
| | IRA4×IRA3 | 100.3 c-m | 167.522 e-p | 93.192 b-e | 14.920 cd | 86.050 c-k | 8.775 a-h | 94.135 abc | 1.656 m-w | 0.325 e-n | 19.99 a-j |
| 9 | IRA3×IRA6 | 105.3 a-k | 179.107 a-l | 93.085 b-e | 16.687 a-c | 93.492 a-f | 4.320 e-h | 92.252 abc | 1.728 e-u | 0.342 a-j | 20.02 a-i |
| | IRA6×IRA3 | 110.5 a-e | 168.170 e-p | 82.167 h-k | 14.965 cd | 90.300 a-h | 6.830 c-h | **98.430 a** | **1.519 y** | 0.289 mn | 19.16 h-q |
| 10 | IRA3×IRA8 | 103.8 a-l | 178.917 a-l | 95.137 a-c | 16.912 a-c | 93.185 a-g | 4.717 e-h | 95.022 abc | 1.744 c-r | 0.344 a-i | 20.13 a-g |
| | IRA8×IRA3 | 99.3 d-m | 164.677 h-p | 89.717 e-h | 15.800 a-d | 90.462 a-g | 6.332 d-h | 97.180 ab | 1.564 v-y | 0.343 a-j | 20.05 a-h |
| 11 | IRA3×IRA10 | 103.8 a-l | 178.707 a-l | 95.085 ab | 16.730 a-c | 94.630 a-d | 3.417 e-h | 92.147 abc | 1.734 d-t | 0.319 a-g | 20.24 a-e |
| | IRA10×IRA3 | 99.8 d-m | 162.730 j-p | 92.495 c-e | 15.827 a-d | 86.657 a-k | 9.517 a-g | **98.300 a** | 1.648 o-x | 0.350 a-f | 19.27 e-q |
| 12 | IRA3×IRA12 | **88.8 m** | 157.240 n-p | 90.997 c-g | 16.220 a-d | 93.465 a-f | 4.127 d-h | 97.505 ab | 1.724 e-u | 0.331 c-n | 20.49 ab |
| | IRA12×IRA3 | 95.8 f-m | 156.745 op | 88.437 e-i | 16.260 a-d | 88.610 a-j | 8.155 b-h | 97.585 ab | 1.635 q-y | 0.332 c-m | **20.50 a** |
| 13 | IRA5×IRA2 | 92.3 j-m | **156.342 p** | 93.380 b-e | 16.035 a-d | 94.895 ab | 2.085 gh | 95.652 abc | 1.704 i-v | 0.337 b-k | 20.06 a-h |
| | IRA2×IRA5 | 102.5 c-m | 167.437 e-p | 95.560 ab | 16.360 a-d | 89.437 a-i | 7.607 c-h | 96.410 ab | 1.657 m-w | 0.321 f-n | 19.51 c-p |
| 14 | IRA5×IRA4 | 98.8 d-m | 169.060 d-p | **96.947 a** | 17.415 ab | 91.877 a-g | 4.622 e-h | 94.257 abc | 1.708 g-v | 0.331 c-n | 19.85 a-l |
| | IRA4×IRA5 | 95.3 f-m | 171.582 c-p | 94.262 a-d | 16.790 a-c | 87.162 b-k | 8.025 b-h | 97.272 ab | 1.735 d-t | 0.331 c-n | 19.21 g-q |
| 15 | IRA5×IRA6 | 100.8 c-m | 174.585 a-p | 93.830 b-d | 16.462 a-c | 93.902 a-f | 4.745 e-h | 92.415 abc | 1.690 i-v | 0.305 k-n | 19.10 i-q |
| | IRA6×IRA5 | 111.8 a-e | 172.405 c-p | 92.100 c-e | 15.280 b-d | 94.717 a-c | 3.965 e-h | 97.907 ab | 1.565 v-y | 0.333 c-m | 19.60 a-o |
| 16 | IRA5×IRA8 | 103.3 a-l | 172.530 c-p | 90.100 d-g | 15.785 a-d | 93.502 a-f | 3.005 e-h | 94.867 abc | 1.684 i-w | 0.333 c-m | 19.99 a-j |
| | IRA8×IRA5 | 100.3 c-m | 166.882 f-p | 90.885 c-g | 16.017 a-d | 90.747 a-g | 5.930 d-h | 96.170 ab | 1.668 k-w | 0.337 b-k | 20.34 a-d |
| 17 | IRA5×IRA10 | 99.8 c-m | 170.820 c-p | **96.610 a** | 16.932 a-c | 90.932 a-g | 6.480 d-h | 97.650 ab | 1.740 c-s | 0.332 a-f | 19.24 f-q |
| | IRA10×IRA5 | 105.3 a-k | 168.300 e-p | 89.155 e-i | 16.090 a-d | 84.562 g-k | 12.907 a-d | 97.835 ab | 1.656 m-w | 0.312 i-n | 18.96 k-r |
| 18 | IRA5×IRA12 | 98.3 d-m | 170.780 c-p | 95.015 a-c | 16.465 a-d | 93.867 a-e | 3.815 e-h | **98.017 a** | 1.714 g-v | 0.341 a-k | 19.93 a-k |
| | IRA12×IRA5 | 101 c-m | 168.700 d-o | 82.352 h-k | 15.285 b-d | 80.555 jk | 14.425 a-c | 97.522 ab | 1.618 t-y | 0.306 j-n | 19.13 h-q |
| 19 | IRA7×IRA2 | 99.3 d-m | 178.065 a-l | 92.827 b-e | 17.630 ab | 95.272 ab | **1.417 h** | 90.617bc | 1.790 a-i | 0.345 a-h | 19.42 d-q |
| | IRA2×IRA7 | 109.8 a-f | 175.262 a-o | 91.585 c-f | 15.755 ab | 89.220 a-j | 4.855 e-h | 98.067 a | 1.664 l-w | 0.318 g-n | 19.35 e-q |
| 20 | IRA7×IRA4 | 98.3 d-m | 176.54 a-m | 94.120 a-d | 17.107 a-c | 93.547 a-f | 4.380 e-h | 96.950 ab | 1.873 ab | **0.372 a** | 20.20 a-f |
| | IRA4×IRA7 | 99 d-m | 165.800 g-p | 90.432 d-g | 16.055 a-d | 80.947 i-k | **15.540 a** | 96.702 ab | 1.656 m-v | 0.326 e-n | 19.78 a-n |
| 21 | IRA7×IRA6 | 92.8 j-m | 185.172 a-f | 91.452 c-f | **17.895 a** | **96.135 a** | 2.867 f-h | **98.002 a** | 1.857 a-c | 0.310 i-n | 19.38 d-q |
| | IRA6×IRA7 | 116.5 a | 180.087 a-k | 89.610 e-h | 14.095 d | 94.277 a-e | 3.832 e-h | 97.095 ab | 1.621 s-y | 0.356 a-d | 19.20 g-q |
| 22 | IRA7×IRA8 | 94.3 g-m | 183.867 a-g | 92.262 c-e | 17.390 ab | 93.902 a-e | 3.762 e-h | 91.337 abc | 1.849 a-d | 0.333 c-m | 19.44d-q |
| | IRA8×IRA7 | 101.5 b-m | 168.925 d-o | 90.570 d-g | 16.295 a-d | 88.540 a-j | 5.582 d-h | 94.375 abc | 1.671 i-w | 0.333 c-m | 20.15 a-g |
| 23 | IRA7×IRA10 | 95.3 f-m | 177.150 a-l | 94.405 a-c | 17.285 a-c | 90.217 a-h | 6.715 d-h | 94.057 abc | **1.887 a** | 0.369 a-d | 19.70 a-o |
| | IRA10×IRA7 | 105.8 a-l | 176.385 a-m | 92.485 b-e | 16.487 a-d | 90.657 a-g | 6.105 d-h | 97.737 ab | 1.694 i-v | 0.329 d-n | 19.60 a-o |
| 24 | IRA7×IRA12 | 90.5 lm | 177.302 a-l | 90.122 d-h | 16.272 a-d | 92.492 a-g | 3.470 e-h | 97.315 ab | 1.847 a-e | 0.369 a-c | 20.36 a-c |
| | IRA12×IRA7 | 113 a-e | 170.620 c-p | 81.407 h-k | 14.885 cd | 87.522 a-j | 9.022 a-g | **98.280 a** | 1.659 l-y | 0.316 h-n | 19.35 e-q |
| 25 | IRA9×IRA2 | 95.8 f-m | 177.887 a-l | 96.602 a | 17.412 ab | 90.767 a-g | 6.117 d-h | 95.697 abc | 1.824 a-h | 0.354 a-e | 19.70 a-o |
| | IRA2×IRA9 | 100.3c-m | 167.290 e-p | 90.975 c-g | 15.510 b-d | 91.752 a-g | 4.387 e-h | 97.427 ab | 1.672 i-w | 0.325 e-n | 19.81 a-m |
| 26 | IRA9×IRA4 | 98.3 d-m | 175.407 a-o | 96.662 a | 17.560 ab | 90.005 a-h | 6.085 b-h | 97.270 ab | 1.789 a-h | 0.345 a-h | 19.70 a-o |
| | IRA4×IRA9 | 103.3 a-l | 170.522 c-p | 89.882 e-h | 14.562 cd | 86.905 a-k | 8.755 a-h | 96.910 ab | 1.623 r-w | 0.310 i-n | 19.25 f-q |
| 27 | IRA9×IRA6 | 114.3 a-c | 184.247 a-g | 94.145 a-d | 17.022 a-c | 88.390 a-j | 8.937 a-h | 96.342 ab | 1.638 q-y | 0.308 j-n | 19.04 i-q |
| | IRA6×IRA9 | 110.8 a-e | 166.795 f-p | 89.195 e-i | 14.737 cd | 94.957 ab | 3.967 e-h | 96.902 ab | 1.528 xy | **0.283 n** | 18.56 qr |
| 28 | IRA9×IRA8 | 100 c-m | 166.550 f-p | 96.050 a | 16.285 a-d | 92.520 a-g | 4.152 e-h | 91.540 abc | 1.699 i-v | 0.317 g-n | 19.88 a-l |
| | IRA8×IRA9 | 100.3 c-m | 161.115 l-p | 88.507 e-i | 16.010 b-d | 89.222 a-j | 5.175 d-h | 96.552 ab | 1.607 u-y | 0.331 c-n | 19.96 a-j |
| 29 | IRA9×IRA10 | 104.8 a-k | 187.052 a-d | 94.815 a-c | 17.085 a-c | 89.192 a-j | 7.722 a-f | 93.775 abc | 1.767b-l | 0.345 a-h | 19.82 a-l |
| | IRA10×IRA9 | 108 a-h | 172.157 c-p | 92.385 c-e | 15.980 b-d | 85.722 e-k | 10.070 a-f | **98.427 a** | 1.629 q-y | 0.308 j-n | 19.04 j-q |
| 30 | IRA9×IRA12 | 101.8 b-m | 181.050 a-j | 92.992 b-d | 16.830 a-c | 87.892 a-j | 8.730 a-h | 92.530 abc | 1.761b-o | 0.341 a-k | 19.47 c-p |
| | IRA12×IRA9 | 101.5 b-m | 157.997 m-p | 90.800 c-g | 15.952 b-d | 93.527 a-f | 4.057 e-h | 97.672 ab | 1.770 a-n | 0.315 h-n | 19.92 a-k |
| 31 | IRA11×IRA2 | 98.5 h-m | 179.647 al | 93.930 b-d | 17.392 ab | 95.075 ab | 4.027 e-h | 94.462 abc | 1.788 a-j | 0.371 ab | 19.79 a-n |
| | IRA2×IRA11 | 100.8 c-m | 169.790 d-p | 92.965 b-d | 16.410 a-d | 90.790 a-g | 6.385 d-h | 97.165 ab | 1.686 i-v | 0.316 h-n | 19.01 j-r |
| 32 | IRA11×IRA4 | 101.3 c-m | 193.082 a | 94.760 a-c | 17.762 ab | 91.772 a-g | 5.707 d-h | **88.667c** | 1.836 a-f | 0.340 a-k | 18.51 qr |
| | IRA4×IRA11 | 101 c-m | 183.920 a-g | 91.045 c-g | 16.617 a-c | 87.807 a-j | 7.170 c-h | 97.070 ab | 1.771 a-m | 0.329 d-n | 18.83 n-r |
| 33 | IRA11×IRA6 | 100.8 c-m | 174.952 a-p | 87.305 f-j | 17.552 ab | 95.297 ab | 2.345 gh | 97.022 ab | 1.762 b-o | 0.329 d-n | 18.90 l-r |
| | IRA6×IRA11 | 110.8 a-e | 174.610 a-p | 63.482 k | 15.215 b-e | 89.737 a-i | 8.462 b-h | 97.360 ab | 1.640 q-y | 0.296 l-n | **18.39 r** |
| 34 | IRA11×IRA8 | 98.3 e-m | 180.007 a-k | 92.342 c-e | **17.947 a** | 94.465 a-e | 3.922 e-h | 95.682 abc | 1.760 b-p | 0.332 c-n | 18.97 k-r |
| | IRA8×IRA11 | 108.5 e-k | 182.007 a-i | 88.532 e-i | **17.635 a** | 92.700 a-g | 4.075 e-h | 96.460 ab | 1.709 g-v | 0.326 e-n | 19.25 f-q |
| 35 | IRA11×IRA10 | 106 a-j | 181.782 a-i | 94.812 a-c | 16.280 a-d | 93.120 a-g | 2.140 gh | 96.040 abc | 1.728 d-t | 0.329 d-n | 19.26 f-q |
| | IRA10×IRA11 | 116 ab | 183.345 a-h | 83.020 g-k | 15.065 b-e | 86.780 a-k | 8.087 b-h | 98.515a | 1.650 n-w | 0.305 k-n | 18.81 o-r |
| 36 | IRA11×IRA12 | 93.3 i-m | 169.137 d-p | **96.300 a** | 16.570 a-c | 93.560 a-f | 4.107 e-h | 95.407 abc | 1.788 a-j | 0.331 c-n | 18.77 p-r |
| | IRA12×IRA11 | 105.5 a-k | 175.67 a-n | 90.452 d-g | 16.855 a-c | 81.547 i-k | **15.402 a** | 97.482 ab | 1.636 q-y | 0.311 i-n | 19.20 g-q |
| | Mean | 101.99 | 173.64 | 90.99 | 16.35 | 90.35 | 6.18 | 95.9 | 1.71 | 0.33 | 19.56 |
| | C.V | 4.785 | 3.622 | 7.452 | 6.692 | 3.252 | 41.135 | 2.594 | 2.367 | 1.608 | 1.69 |

در جدول ۲، پارامتر D که توصیف آن در بخش مواد و روش‌ها بیان شد، در سطر دوم ارائه شد. مجموع مقادیر D یا تفاوت کل برای ۱۰ صفت مورد بررسی (ستون آخر) بیانگر وضعیت جفت آمیخته‌ها در مقایسه با یکدیگر است. هر چقدر این پارامتر بیشتر باشد، نشان‌دهنده تفاوت بیشتر بین آمیخته مستقیم و معکوس می‌باشد. متوسط تفاوت کل ($\sum D/36$) برای ۳۶ جفت آمیخته، ۲۴۶ بود که برای ۲۲ جفت آمیخته کرم ابریشم مقدار $\sum D$ کمتر از متوسط و برای ۱۴ مورد، بیشتر بود. بنابراین، می‌توان این ۱۴ مورد را از فرآیند انتخاب آمیخته‌های برتر کنار گذاشت. بدیهی است از میان ۲۲ جفت آمیخته باقی مانده که تفاوت کلی آمیخته‌های مستقیم و معکوس آن‌ها کمتر از متوسط است، براساس شاخص‌های تولیدی و ماندگاری می‌توان آمیخته‌های شایسته‌تر را انتخاب و به نوغانداران معرفی نمود. اعداد تفاوت کل نشان داد که پنج جفت آمیخته در دامنه بالایی (بیش از یک انحراف معیار) و پنج جفت آمیخته در دامنه پایینی (کمتر از یک انحراف معیار) قرار گرفتند که این موضوع حاکی از دامنه بسیار زیاد مجموع عملکرد صفات مختلف در آمیخته‌های دوطرفه است که با توجه به اهمیت مشابهت عملکرد آمیخته‌ها لازم است که این تفاوت‌ها در انتخاب آمیخته‌های تجاری مورد توجه قرار گیرد.

ارزیابی آزمایشگاهی عملکرد ۱۴ آمیخته وارداتی مشتمل بر هفت جفت آمیخته مستقیم و معکوس برای تولید پیله به‌ازاء ۲۵۰۰۰ لارو بر مبنای متوسط دو منطقه گیلان و خراسان مشخص کرد که تنها یک جفت آمیخته ($H \times J$[1] و $J \times H$) تفاوت قابل توجه و معنی‌داری ($P< 0.05$) نسبت به یکدیگر داشتند (Nematollahian and Alipanah, 2022). لازم به ذکر است که این آمیخته کرم ابریشم وارداتی تاکنون جهت توزیع در بین نوغانداران انتخاب نشده است. در بررسی عملکرد شش جفت آمیخته تجاری کرم ابریشم وارداتی در شرایط روستایی و تلمبارهای سنتی، آمیخته‌های $B \times Q$[2] و $Q \times B$ بیشترین تفاوت در عملکرد را نشان دادند، به‌طوری‌که برای صفات درصد پیله‌های خوب، تعداد در لیتر، وزن پیله و درصد قشر پیله این تفاوت معنی‌دار بود ($P< 0.05$). لیکن برای جفت آمیخته‌های $M \times S$[3] و $S \times M$ و همچنین $BB \times QA$[4] و $QA \times BB$ بین آمیخته‌های مستقیم و معکوس برای تمامی صفات مورد بررسی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (Khordadi *et al.*, 2023). بنابراین، چنین آمیخته‌هایی قابل توصیه برای نوغانداران هستند. در بررسی آمیخته‌های کرم ابریشم داخلی (Alipanah *et al.*, 2020)، چهار آمیخته مشتمل بر آمیخته‌های دوطرفه بودند. مقایسه میانگین صفات مورد بررسی نشان داد که تفاوت‌ها در این دو جفت آمیخته برای هیچ صفتی معنی‌دار نیست ($P< 0.05$). اثرات مادری و لینکاژ جنسی باعث ایجاد تفاوت بین آمیخته‌های دوطرفه می‌شود (Crusio, 1987). همچنین وراثت سیتوپلاسمی نقش مهمی در توسعه ابتدایی جنینی و اثرات مادری در کرم ابریشم دارد (Zhang *et al.*, 2018). در تحقیق دیگری معنی‌دار شدن اثر متقابل در آمیخته‌های حاصل از والدین کرم ابریشم با فاصله ژنتیکی زیاد را به‌دلیل وجود لینکاژ جنسی و اثرات مادری دانستند (Singh *et al.*, 2006).

در ستون آخر جدول ۲، آمیخته‌های برتر (۲۲ آمیخته) که تفاوت کل کمتری دارند، به‌شکل پررنگ شده معرفی شده‌اند. وضعیت صفات برای هر یک از آمیخته‌های پررنگ شده نشان داد که برای نیمی از موارد، هیچ صفتی و برای بقیه، حداکثر یک صفت اختلاف معنی‌دار داشتند ($P< 0.05$). همچنین مقایسه صفات بر مبنای عملکرد کلی تمام آمیخته‌ها (سطر انتهایی جدول ۲) نشان داد که صفات وزن پیله و وزن قشر پیله بیشتر از سایرین و صفات تعداد پیله در لیتر و درصد تفریخ با دو مورد تفاوت معنی‌دار ($P< 0.05$) کمتر از سایر صفات تحت تأثیر آمیزش‌های متقابل قرار می‌گیرد. به‌طور کلی، باتوجه به اینکه تنها برخی صفات تحت تأثیر آمیزش‌های دو طرفه قرار گرفته و این تأثیر حداکثر در ۳۳ درصد جفت آمیخته‌ها بود، می‌توان استنباط نمود که اثر آمیزش‌های متقابل در آمیخته‌گری کرم ابریشم فراگیر نبوده و لازم است برای والدین مختلف بررسی و ارزیابی شود.

مقادیر ضریب تغییرات (C.V) در جدول ۲ برای ۱۰ صفت مورد بررسی نشان داد که به‌جز درصد پیله‌های متوسط، سایر صفات تغییرپذیری کمی داشته‌اند. این موضوع کنترل مؤثر و یکنواختی عوامل محیطی را در محیط آزمایشی، به‌علاوه دقت در رکوردگیری‌ها را نشان می‌دهد. در مورد صفت درصد پیله‌های متوسط که یک صفت نامطلوب در انتخاب اصلاح نژادی کرم ابریشم است، ضریب تغییرات بالایی داشت که نشان‌دهنده تغییرپذیری زیاد آن است. این می‌تواند به‌دلیل تأثیرپذیری زیاد این صفت از شرایط محیطی (اعم از پرورشی، خطای رکوردگیری و غیره) و همچنین ناهمگن بودن واریانس (با توجه به منفی بودن واریانس افزایشی در جدول ۴) باشد. این ویژگی سبب می‌شود که از این صفت کمتر در ارزیابی و مقایسه آمیخته‌ها استفاده شود (Khordadi *et al.*, 2023; Alipanah *et al.*, 2020).

## تجزیه واریانس صفات در تجزیه لاین× تستر

باتوجه به مشخص شدن تفاوت‌ها در آمیخته‌های دوطرفه کرم ابریشم، شایسته است که منشأ این تفاوت مشخص شود. لذا، تجزیه واریانس مربوط به تجزیه لاین × تستر برای هر برنامه آمیزشی به‌صورت مجزا انجام شد که نتایج آن در جدول ۳ به‌ترتیب برای آمیخته‌های مادر ژاپنی (آمیزش مستقیم) و مادر چینی (آمیزش معکوس) ارائه شده است. اثر ژنوتیپ برای تمامی صفات در هر دو برنامه آمیزشی معنی‌دار است که از این نظر تفاوتی وجود ندارد. وجود تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها برای همه صفات مورد بررسی امکان تفکیک اثر ژنوتیپ به اجزای

1- H: Haoyue لاین نژاد ژاپنی, J: Jingsong لاین نژاد چینی
2- B: Baiyue لاین نژاد ژاپنی, Q: Qiufeng لاین نژاد چینی
3- S: Suju لاین نژاد ژاپنی, M: Minghu لاین نژاد چینی
4- BB: Baiyue B لاین نژاد ژاپنی, QA: Qiufeng A لاین نژاد چینی

تشکیل‌دهنده آن شامل اثر والـدین (Parents)، اثـر والـدین در مقابـل آمیخته‌ها (Parents vs. crosses) و اثر آمیخته‌هـا (Crosses) را فراهم کرد.

**جدول ۲**- مقایسه ۳۶ جفت آمیخته جدید کرم ابریشم ایران بر مبنای تفاوت تلاقی‌های متقابل

**Table 2**- Comparison of 36 pairs of new hybrids of Iranian silkworms based on the differences of reciprocal hybrids

| | آمیخته‌ها Hybrids | تعداد پیله در لیتر Cocoon number /liter | وزن پیله در لیتر (گرم) Cocoon weight /liter (g) | درصد شفیرگی Pupation rate (%) | تولید پیله (۱۰۰۰۰ لارو) Yeild/ 10,000 Larvae (kg) | درصد پیله‌های خوب Best cocoon percentage (%) | درصد پیله‌های متوسط Middle cocoon percentage (%) | درصد تفریخ Hatcha-bility (%) | وزن پیله (گرم) Cocoon weight (g) | وزن قشر پیله (گرم) Cocoon shell weight (g) | درصد قشر پیله Cocoon shell percentage (%) | تفاوت کل ∑D |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | IRA1×IRA2 | -2.75 ns | -7.53 ns | -1.45 ns | -0.15 ns | -0.95 ns | -0.03 ns | -3.63 ns | 0.09 ns | 0.00 ns | -0.60 ns | |
| | IRA2×IRA1 | D=12 | D=10 | D=5 | D=5 | D=6 | D=4 | D=27 | D=29 | D=4 | D=28 | **130** |
| 2 | IRA1×IRA4 | 2.00 ns | 3.58 ns | -1.23 ns | -0.85 ns | 4.47 ns | -8.70 ns | -1.51 ns | 0.06 ns | 0.00 ns | -0.59 ns | |
| | IRA4×IRA1 | D=9 | D=10 | D=4 | D=14 | D=22 | D=62 | D=11 | D=19 | D=2 | D=24 | **177** |
| 3 | IRA1×IRA6 | -10.00 ns | -0.65 ns | -7.67 ns | 1.04 ns | -2.73 ns | 0.01 ns | -5.71 ns | 0.15 ns | 0.02 ns | -0.07 ns | |
| | IRA6×IRA1 | D=33 | D=2 | D=12 | D=17 | D=10 | D=2 | D=59 | D=35 | D=21 | D=3 | **194** |
| 4 | IRA1×IRA8 | 4.75 ns | **21.56*** | **12.55*** | 0.77 ns | **15.07*** | **-13.56*** | 2.16 ns | **0.18*** | 0.02 ns | -0.64 ns | |
| | IRA8×IRA1 | D=25 | D=45 | D=41 | D=16 | D=58 | D=63 | D=57 | D=46 | D=31 | D=31 | 413 |
| 5 | IRA1×IRA10 | 2.00 ns | 12.18 ns | **-13.66*** | -0.94 ns | 3.99 ns | -4.20 ns | -3.96 ns | 0.12 ns | 0.02 ns | 0.12 ns | |
| | IRA10×IRA1 | D=8 | D=48 | D=46 | D=12 | D=18 | D=30 | D=28 | D=33 | D=30 | D=5 | 258 |
| 6 | IRA1×IRA12 | -10.00 ns | 5.96 ns | -7.88 ns | 0.36 ns | 2.31 ns | -4.46 ns | 0.73 ns | **0.21*** | 0.01 ns | 0.29 ns | |
| | IRA12×IRA1 | D=36 | D=19 | D=23 | D=12 | D=15 | D=31 | D=6 | D=48 | D=9 | D=17 | **216** |
| 7 | IRA3×IRA2 | -11.75 ns | -2.69 ns | 0.75 ns | 0.81 ns | 1.00 ns | -0.37 ns | -1.44 ns | 0.12 ns | **0.03*** | 0.47 ns | |
| | IRA2×IRA3 | D=38 | D=2 | D=2 | D=14 | D=8 | D=8 | D=10 | D=32 | D=45 | D=21 | **180** |
| 8 | IRA3×IRA4 | -8.25 ns | -1.19 ns | 2.52 ns | **2.32*** | 5.48 ns | -3.71 ns | -0.13 ns | 0.12 ns | 0.02 ns | -0.22 ns | |
| | IRA4×IRA3 | D=26 | D=14 | D=11 | D=55 | D=26 | D=27 | D=2 | D=31 | D=29 | D=12 | **233** |
| 9 | IRA3×IRA6 | -5.25 ns | 10.94 ns | **10.92*** | 1.72 ns | 3.20 ns | -2.51 ns | -6.18 ns | **0.21*** | **0.05*** | **0.86*** | |
| | IRA6×IRA3 | D=22 | D=36 | D=50 | D=41 | D=49 | D=17 | D=65 | D=52 | D=49 | D=41 | 422 |
| 10 | IRA3×IRA8 | 4.50 ns | **14.24*** | 5.42 ns | 1.12 ns | 2.72 ns | -1.62 ns | -2.16 ns | 0.18* | 0.01 ns | 0.08 ns | |
| | IRA8×IRA3 | D=17 | D=61 | D=19 | D=17 | D=17 | D=11 | D=16 | D=45 | D=10 | D=3 | **216** |
| 11 | IRA3×IRA10 | 4.00 ns | **15.98*** | 2.59 ns | 0.90 ns | 7.98 ns | **-6.10*** | -6.16 ns | 0.09 ns | **0.03*** | **0.97*** | |
| | IRA10×IRA3 | D=24 | D=63 | D=13 | D=25 | D=49 | D=55 | D=63 | D=26 | D=39 | D=43 | 400 |
| 12 | IRA3×IRA12 | -7.00 ns | 0.50 ns | 2.56 ns | -0.04 ns | 4.85 ns | -4.03 ns | -0.08 ns | 0.09 ns | 0.02 ns | -0.01 ns | |
| | IRA12×IRA3 | D=12 | D=1 | D=15 | D=4 | D=26 | D=30 | D=1 | D=28 | D=23 | D=2 | **142** |
| 13 | IRA5×IRA2 | -8.00 ns | -11.10 ns | -2.18 ns | -0.32 ns | 5.46 ns | -5.52 ns | -0.76 ns | 0.05 ns | 0.02 ns | 0.56 ns | |
| | IRA2×IRA5 | D=21 | D=16 | D=12 | D=3 | D=32 | D=26 | D=6 | D=17 | D=26 | D=27 | **186** |
| 14 | IRA5×IRA4 | 3.50 ns | -2.52 ns | 2.68 ns | 0.62 ns | 4.71 ns | -3.40 ns | -3.02 ns | -0.03 ns | 0.00 ns | 0.64 ns | |
| | IRA4×IRA5 | D=8 | D=13 | D=10 | D=10 | D=24 | D=21 | D=23 | D=7 | D=1 | D=30 | **147** |
| 15 | IRA5×IRA6 | -11.00 ns | 2.18 ns | 1.73 ns | 1.18 ns | -0.82 ns | 0.78 ns | -5.49 ns | 0.13 ns | 0.01 ns | -0.50 ns | |
| | IRA6×IRA5 | D=34 | D=6 | D=8 | D=19 | D=6 | D=7 | D=55 | D=31 | D=3 | D=21 | **190** |
| 16 | IRA5×IRA8 | 3.00 ns | 5.65 ns | -0.78 ns | -0.23 ns | 2.75 ns | -2.92 ns | -1.30 ns | 0.02 ns | 0.00 | -0.35 ns | |
| | IRA8×IRA5 | D=16 | D=18 | D=3 | D=8 | D=15 | D=24 | D=14 | D=12 | D=5 | D=11 | **126** |
| 17 | IRA5×IRA10 | -5.50 ns | 2.52 ns | 7.46 ns | 0.84 ns | 6.37 ns | -6.43 ns | -0.18 ns | 0.09 ns | 0.02 ns | 0.29 ns | |
| | IRA10×IRA5 | D=47 | D=9 | D=23 | D=15 | D=37 | D=20 | D=3 | D=25 | D=28 | D=16 | **233** |
| 18 | IRA5×IRA12 | -2.25 ns | 2.08 ns | **12.66*** | 1.18 ns | **13.31*** | **-10.61*** | 0.50 ns | 0.10 ns | **0.03*** | **0.81*** | |
| | IRA12×IRA5 | D=10 | D=8 | D=54 | D=19 | D=58 | D=54 | D=19 | D=32 | D=32 | D=56 | 342 |
| 19 | IRA7×IRA2 | -10.50 ns | 2.80 ns | 1.24 ns | **1.88*** | 6.06 ns | -3.44 ns | **-7.45*** | 0.13 ns | **0.03*** | 0.07 ns | |
| | IRA2×IRA7 | D=19 | D=8 | D=18 | D=53 | D=35 | D=36 | D=64 | D=36 | D=27 | D=3 | 299 |
| 20 | IRA7×IRA4 | -0.75 ns | 10.74 ns | 3.69 ns | 1.05 ns | **12.60*** | **-11.16*** | 0.25 ns | **0.22*** | **0.05*** | 0.42 ns | |
| | IRA4×IRA7 | D=16 | D=35 | D=18 | D=17 | D=54 | D=45 | D=5 | D=48 | D=40 | D=19 | 297 |
| 21 | IRA7×IRA6 | **-23.75*** | 5.09 ns | 1.84 ns | **3.80*** | 1.86 ns | -0.97 ns | 0.91 ns | **0.24*** | **0.05*** | 0.18 ns | |
| | IRA6×IRA7 | D=66 | D=9 | D=9 | D=70 | D=13 | D=19 | D=13 | D=59 | D=57 | D=10 | 325 |
| 22 | IRA7×IRA8 | -7.25 ns | 14.94 ns | 1.69 ns | 1.10 ns | 5.37 ns | -1.82 ns | -3.04 ns | **0.18*** | 0.02 ns | **-0.71*** | |
| | IRA8×IRA7 | D=28 | D=43 | D=14 | D=21 | D=34 | D=15 | D=25 | D=39 | D=31 | D=34 | 284 |
| 23 | IRA7×IRA10 | -10.50 ns | 0.76 ns | 1.92 ns | 0.80 ns | -0.44 ns | 0.61 ns | -3.68 ns | **0.19*** | **0.04*** | 0.10 ns | |
| | IRA10×IRA7 | D=45 | D=2 | D=11 | D=16 | D=5 | D=6 | D=30 | D=46 | D=40 | D=5 | **206** |
| 24 | IRA7×IRA12 | **-22.50*** | 6.68 ns | 8.72 ns | 1.39 ns | 4.97 ns | **-5.55*** | -0.97 ns | **0.19*** | **0.05*** | **1.01*** | |
| | IRA12×IRA7 | D=67 | D=21 | D=25 | D=26 | D=32 | D=51 | D=17 | D=40 | D=51 | D=43 | 373 |
| 25 | IRA9×IRA2 | -4.50 ns | 10.60 ns | 5.63 ns | **1.90*** | -0.98 ns | 1.73 ns | -1.85 ns | 0.15 ns | 0.02 ns | -0.12 ns | |
| | IRA2×IRA9 | D=14 | D=24 | D=21 | D=50 | D=7 | D=12 | D=18 | D=30 | D=16 | D=4 | **196** |
| 26 | IRA9×IRA4 | -5.00 ns | 4.89 ns | 6.78 ns | **3.00*** | 3.10 ns | -2.67 ns | 0.36 ns | **0.17*** | **0.03*** | 0.46 ns | |
| | IRA4×IRA9 | D=29 | D=18 | D=24 | D=65 | D=19 | D=23 | D=4 | D=42 | D=47 | D=20 | 291 |
| 27 | IRA9×IRA6 | 3.50 ns | 17.45 ns | 4.95 ns | **2.28*** | -6.57 ns | 4.97 ns | -0.56 ns | 0.11 ns | 0.02 ns | 0.48 ns | |
| | IRA6×IRA9 | D=3 | D=42 | D=18 | D=53 | D=40 | D=41 | D=6 | D=15 | D=7 | D=22 | **233** |
| 28 | IRA9×IRA8 | -0.25 ns | 5.44 ns | 7.55 ns | 0.27 ns | 3.30 ns | -1.02 ns | -5.01 ns | 0.09 ns | 0.02 ns | -0.08 ns | |
| | IRA8×IRA9 | D=4 | D=8 | D=24 | D=5 | D=22 | D=12 | D=31 | D=27 | D=17 | D=15 | **165** |
| 29 | IRA9×IRA10 | -3.25 ns | 14.90 ns | 2.43 ns | 1.10 ns | 3.47 ns | -2.35 ns | -5.78 ns | **0.14*** | **0.04*** | 0.78 ns | |
| | IRA10×IRA9 | D=10 | D=38 | D=17 | D=18 | D=20 | D=22 | D=52 | D=42 | D=59 | D=38 | 316 |
| 30 | IRA9×IRA12 | 0.25 ns | **23.05*** | 2.19 ns | 0.88 ns | -5.64 ns | 4.67 ns | -5.14 ns | 0.01 ns | 0.01 ns | -0.45 ns | |
| | IRA12×IRA9 | D=1 | D=56 | D=19 | D=13 | D=34 | D=38 | D=49 | D=4 | D=12 | D=16 | **242** |
| 31 | IRA11×IRA2 | -2.25 ns | 9.86 ns | 0.97 ns | 0.98 ns | 4.28 ns | -2.91 ns | -2.70 ns | 0.08 ns | **0.05*** | **0.78*** | |
| | IRA2×IRA11 | D=13 | D=27 | D=10 | D=15 | D=27 | D=20 | D=16 | D=27 | D=53 | D=37 | **245** |
| 32 | IRA11×IRA4 | 0.25 ns | 9.16 ns | 3.72 ns | 1.14 ns | 3.97 ns | -1.46 ns | **-8.40*** | 0.07 ns | 0.01 ns | -0.33 ns | |
| | IRA4×IRA11 | D=2 | D=25 | D=16 | D=21 | D=21 | D=19 | D=43 | D=24 | D=15 | D=10 | **196** |
| 33 | IRA11×IRA6 | -10.00 ns | 0.34 ns | 13.82 ns | 2.34 ns | 5.56 ns | **-6.12*** | -0.33 ns | **0.12*** | 0.03 ns | 0.51 ns | |
| | IRA6×IRA11 | D=54 | D=1 | D=10 | D=57 | D=33 | D=53 | D=13 | D=38 | D=33 | D=6 | 295 |
| 34 | IRA11×IRA8 | -10.25 ns | -2.00 ns | 3.81 ns | 0.32 ns | 1.77 ns | -0.15 ns | -0.78 ns | 0.05 ns | 0.01 ns | -0.29 ns | |
| | IRA8×IRA11 | D=46 | D=3 | D=14 | D=9 | D=13 | D=4 | D=8 | D=20 | D=14 | D=19 | **140** |
| 35 | IRA11×IRA10 | -10.00 ns | -1.56 ns | 1.79 ns | 1.21 ns | 6.34 ns | **-5.95*** | -2.47 ns | 0.08 ns | 0.02 ns | 0.46 ns | |
| | IRA10×IRA11 | D=13 | D=5 | D=6 | D=24 | D=39 | D=52 | D=15 | D=28 | D=25 | D=21 | **228** |
| 36 | IRA11×IRA12 | -12.25 ns | -6.54 ns | 5.85 ns | 0.29 ns | **12.02*** | **-11.30*** | -2.08 ns | **0.15*** | 0.02 ns | -0.43 ns | |
| | IRA12×IRA11 | D=47 | D=9 | D=33 | D=6 | D=54 | D=50 | D=13 | D=46 | D=31 | D=17 | 308 |
| | مادر چینی > مادر ژاپنی Chinese mother> Japanese mother | 26 | 8 | 7 | 6 | 7 | 30 | 30 | 1 | 0 | 15 | |
| | موارد با اختلاف معنی‌دار statistically significant cases | 2 | 4 | 4 | 6 | 4 | 8 | 2 | 12 | 12 | 6 | |

* تفاوت معنی‌دار آماری در سطح پنج درصد؛ **: تفاوت معنی‌دار آماری در سطح یک درصد؛ ns: تفاوت غیر معنی‌دار آماری

ns: not-significant; * (P< 0.05); ** (P< 0.01)

**جدول ۳**- میانگین مربعات صفات مختلف در تجزیه لاین × تستر دو برنامه آمیزشی در کرم ابریشم

**Table 3-** Mean squares of different traits in the line × tester analysis of the two mating plans in the silkworm

| منبع تغییرات S.O.V. | نوع آمیخته Cross type | تعداد پیله در لیتر Cocoon number /liter | وزن پیله در لیتر (گرم) Cocoon weight /liter (g) | درصد شفیرگی Pupation rate (%) | تولید پیله برای ۱۰۰۰۰ لارو (کیلو گرم) Coocon Yeild/ 10,000 Larvae (kg) | درصد پیله‌های خوب Best cocoon percentage (%) | درصد پیله‌های متوسط Middle cocoon percentage (%) | درصد تفریخ Hatchability (%) | وزن پیله (گرم) Cocoon weight (g) | وزن قشر پیله (گرم) Cocoon shell weight (g) | درصد قشر پیله Cocoon shell percentage (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ژنوتیپ | J × C | 580.75** | 497.75** | 102.40** | 7.478** | 61.80** | 56.440** | 18.301** | 0.151** | 0.006** | 1.460** |
| Genotype | C × J | 407.473** | 426.85** | 129.228** | 5.3065** | 70.290** | 61.274** | 7.823** | 0.074** | 0.003** | 1.643** |
| والدین | J × C | 310.112** | 1206.41** | 74.173** | 12.051** | 88.47** | 84.023** | 9.376 ns | 0.054** | 0.003** | 1.619** |
| Parents | C × J | 310.112** | 1190.335** | 74.173** | 12.051** | 88.471** | 84.023** | 9.376 ns | 0.054** | 0.003** | 1.619** |
| والدین در مقابل آمیخته‌ها | J × C | 19378.96** | 534.19** | 1846.47** | 157.293** | 1271.07** | 1289.827** | 20.502 ns | 5.623** | 0.222** | 0.643 ns |
| Parents vs. crosses | C × J | 17561.63** | 623.153** | 732.434* | 143.632** | 1342.121** | 11360.43** | 18.334 ns | 2.284** | 0.082 ** | 0.159 ns |
| آمیخته‌ها | J × C | 128.847** | 279.50** | 61.443** | 1.760** | 18.866** | 12.531** | 21.044** | 0.089** | 0.0006 ns | 3.856** |
| Crosses | C × J | 115.686** | 196.072** | 136.34** | 2.1192 ns | 62.270** | 48.9748** | 5.001** | 0.007 ns | 0.0042** | 0.014 ns |
| لاین (والد ماده) | J × C | 217.994** | 670.10** | 213.74** | 4.5562** | 68.200** | 38.207** | 5.2410 ns | 0.015* | 0.001 ns | 1.523** |
| Line (female) | C × J | 402.1** | 164.72** | 242.108** | 4.7610* | 173.698** | 109.067** | 14.631** | 0.050 ** | 0.0003 ns | 4.171** |
| تستر (والد نر) | J × C | 273.078** | 308.333** | 61.801* | 1.2699 ns | 18.571** | 7.527* | 15.324 ns | 0.015* | 0.002* | 0.931** |
| Tester (male) | C × J | 152.6166** | 717.87** | 112.971* | 2.4533 ns | 30.274* | 27.378* | 1.605 ns | 0.030** | 0.002* | 4.038** |
| برهم‌کنش لاین در تستر | J × C | 82.171** | 195.61** | 30.913 ns | 1.299 ns | 9.058** | 8.397** | 25.342 ns | 0.02* | 0.0006 ns | 0.055 ns |
| Line × tester | C × J | 51.0166* | 97.983** | 119.86* | 1.52407 ns | 46.383** | 41.276** | 3.754ns | 0.007 ns | 0.001 ns | 0.730* |
| خطا | J × C | 20.7586 | 45.8449 | 21.77 | 1.2773 | 6.3823 | 4.5971 | 9.0200 | 0.0016 | 0.0001 | 0.1296 |
| Error | C × J | 33.252 | 44.053 | 56.189 | 1.8396 | 12.734 | 10.722 | 3.195 | 0.0018 | 0.0001 | 0.1362 |

J × C: آمیزش لاین‌های ژاپنی‌شکل با تسترهای چینی‌شکل (مستقیم)

C × J: آمیزش لاین‌های چینی‌شکل با تسترهای ژاپنی‌شکل (معکوس)

J × C: Japanese-shape lines and Chinese-shape testers mating (Direct)

C × J: Chinese-shape lines and Japanese-shape testers (Reverse)

* تفاوت معنی‌دار آماری در سطح پنج درصد؛ **: تفاوت معنی‌دار آماری در سطح یک درصد؛ ns: تفاوت غیر معنی‌دار آماری

ns: Not-significant; * (P< 0.05); ** (P< 0.01)

با مقایسه منابع مختلف تنوع در جدول ۳ بین گروه آمیزش‌های مستقیم و معکوس مشخص شد که برای چهار صفت (تعداد پیله در لیتر، وزن پیله در لیتر، درصد پیله‌های خوب و درصد پیله‌های متوسط)، برای همه اجزای تجزیه لاین × تستر، تفاوت‌ها معنی‌دار و برای شش صفت (درصد شفیرگی، درصد تفریخ، وزن پیله به‌ازاء ۱۰۰۰۰ لارو، وزن پیله، وزن قشر پیله و درصد قشر پیله) تنها برخی معنی‌دار بودند ($P< 0.01, P< 0.05$).

اثر والدین در همه صفات به‌جز صفت درصد تفریخ در هر دو نوع تلاقی مستقیم و معکوس معنی‌دار بود ($P< 0.01$). مقایسه اثر والدین در مقابل آمیخته‌ها که نشانه متوسط هتروزیس در کل تلاقی‌ها می‌باشد، نشان داد که اثر کلیه صفات به‌جز صفات درصد قشر پیله و درصد تفریخ در مادر ژاپنی‌ها و مادر چینی‌ها بسیار معنی‌دار بود ($P< 0.01$). اثر آمیخته (نتاج) هم نشان داد که در آمیخته‌های مستقیم، تفاوت برای صفت وزن قشر پیله معنی‌دار نبود و در آمیخته‌های معکوس برای سه صفت وزن پیله تولیدی ۱۰۰۰۰ لارو، وزن پیله و درصد قشر پیله معنی‌دار نبود (جدول ۳). نتایج اثر آمیخته نیز نشان داد که بین تلاقی مستقیم و معکوس برای صفات وزن پیله و وزن قشر پیله و صفات مرتبط با آن یعنی وزن پیله ۱۰ هزار لارو و درصد قشر پیله تفاوت وجود دارد و این موضوع نتایج حاصل از بررسی تفاوت‌های آمیخته‌های متقابل (جدول ۲) را تأیید کرد.

مقایسه دو برنامه آمیزشی برای اثر برهم‌کنش لاین × تستر نشان داد که این اثر در دو برنامه آمیزشی یکسان نیست. برای آمیخته‌های با پایه مادری ژاپنی در پنج صفت (درصد شفیرگی، وزن پیله تولیدی ۱۰۰۰۰ لارو، وزن قشر پیله، درصد قشر پیله و درصد تفریخ) این اثر غیرمعنی‌دار بود ($P< 0.05$)، لیکن برای آمیخته‌های با پایه مادری چینی برای چهار صفت (وزن پیله ۱۰۰۰۰ لارو، وزن قشر پیله، وزن پیله و درصد تفریخ) معنی‌دار نبود. دلیل تفاوت بین آمیخته‌ها برای این سه اثر در دو سیستم آمیخته مستقیم و معکوس را می‌توان به اثر والد مادری نسبت داد، به این معنی که اثر سیتوپلاسمی مادری ممکن است منجر به ایجاد این تفاوت شده باشد. بنابراین، نتایج نشان داد که جنسیت والدین در آمیخته‌گری دو والدی کرم ابریشم در برخی صفات تأثیر زیادی بر نتاج دارد که این موضوع در تحقیقات دیگر نیز گزارش شده است. در تحقیقی اثر آمیخته، به‌جز صفت درصد ماندگاری شفیره غیر معنی‌دار بود؛ اثر لاین برای همه صفات به‌جز دو صفت درصد شفیرگی و طول تار ابریشمی غیر معنی‌دار بود و برای اثر تستر نیز، به‌جز سه صفت درصد تفریخ، باروری و طول تار، برای بقیه صفات غیرمعنی‌دار بود (Sahan, 2020). در گزارشی، بیشترین سهم اثر متقابل لاین × تستر برای صفت عملکرد پیله بود (Ravindra-Singh *et al.*, 2003). تجزیه ترکیب‌پذیری شش صفت کمّی نشان داد که اثر آمیخته متقابل برای صفات وزن پیله و وزن قشرپیله معنی‌دار است (Talebi and Kamjoo., 2013).

در تحقیق دیگری، اثر آمیخته دوطرفه، برای شش صفت درصد تفریخ، راندمان پرورش، وزن پیله، وزن قشر پیله، درصد قشر پیله و تولید پیله معنی‌دار و برای دو صفت باروری و وزن لاروی غیر معنی‌دار بود (Luikham *et al.*, 2022). همچنین اثر تلاقی دوطرفه در آمیخته‌های نسل اول روی صفات وزن پیله، وزن قشر پیله، درصد قشر پیله، طول الیاف، نسبت پیله به ابریشم خام و شاخص قطر در دو نژاد چندنسله Pure Mysore و Nistari و دو نژاد دونسله $C_{108}$ و $NB_4D_2$ بررسی شد. نتایج نشان داد که در آمیخته‌های متقابل[1] حاصل از ماده $NB_4D_2$ با نرهای Pure Mysore و Nistari، صفاتی نظیر وزن پیله، وزن قشر پیله و طول الیاف بهبود یافت، امّا تفاوت معنی‌داری بین آمیخته متقابل ماده $C_{108}$ با نرهای Pure Mysore و Nistari مشاهده نشد (Talebi *et al.*, 2011). همچنین بررسی هشت لاین دونسله اینبرد کرم ابریشم و آمیخته‌های تجاری مستقیم و معکوس آن‌ها در یک آنالیز دی‌آلل کامل نشان داد که اثر متقابل در تمامی صفات مورد بررسی معنی‌دار است (Goel *et al.*, 2010).

### برآورد پارامترهای ژنتیکی

مقایسه پارامترهای ژنتیکی در دو جمعیت (جدول ۴) نیز می‌تواند اطلاعات ارزشمندی از ابعاد ژنتیکی تفاوت‌ها در آمیزش‌های متقابل کرم ابریشم آمیخته تجاری ارائه نماید. این پارامترها در هر جمعیت به‌طور جداگانه برآورد شدند. مقایسه پارامترهای ژنتیکی در دو جمعیت به‌وضوح تفاوت‌های زیادی را در بیشتر آن‌ها نشان داد که می‌تواند دلیلی بر اختلاف عملکرد صفات مختلف در آمیخته‌های متقابل باشد.

نسبت $\sigma^2_{gca}$ / $\sigma^2_{sca}$ برای سه صفت وزن پیله، وزن قشر پیله و درصد قشر پیله (صفات مهم در ارزیابی پیله) در آمیخته‌های مادر ژاپنی بین ۰/۵ تا یک بوده، لیکن در آمیخته‌های مادر چینی بیش از یک است. ضریب بیکر و مقادیر وراثت‌پذیری عام و خاص نیز نشان داد که اثرات ژنتیکی افزایشی برای این سه صفت در آمیخته‌های مادر چینی بیشتر از مادر ژاپنی است.

صفت تعداد پیله در لیتر به‌عنوان شاخص اندازه پیله نیز همانند سه صفت وزن پیله، وزن قشر پیله و درصد قشر پیله در آمیخته‌های مادر چینی بیشتر تحت تأثیر اثرات ژنی افزایشی بود، لیکن در آمیخته‌های مادر ژاپنی تقریباً اثرات ژنی افزایشی و غیر افزایشی برابر است. برای صفت وزن پیله در لیتر نیز وضعیت مشابه است، ولی نقش اثرات ژنی غیر افزایشی در هر دو گروه بیشتر است. به عبارتی، ضمن اینکه اثرات ژنی افزایشی در مادر چینی‌ها بیشتر از مادر ژاپنی‌ها بود، لیکن نسبت $\sigma^2_{gca}/\sigma^2_{sca}$ کمتر از یک است. در صورتی که نسبت $\sigma^2_{gca}/\sigma^2_{sca}$ بزرگ‌تر از یک باشد، نشان‌دهنده واریانس ژنتیکی افزایشی و در صورتی که کمتر از یک باشد، نشان‌دهنده اهمیت واریانس ژنتیکی غیر افزایشی است (Choukan, 2008).

1- Reciprocal hybrids

**جدول ٤**- اثرات ژنی و پارامترهای ژنتیکی صفات حاصل از تجزیه لاین × تستر دو برنامه آمیزشی در کرم ابریشم

**Table 4-** The genetic effects and genetic parameters of traits derived from in the line × tester analysis of the two mating plans in the silkworm

| پارامترهای ژنتیکی Genetic parameters | نوع آمیخته Cross type | تعداد پیله در لیتر Cocoon number /liter | وزن پیله در لیتر (گرم) Cocoon weight/liter (g) | درصد شفیرگی Pupation rate (%) | تولید پیله برای ۱۰۰۰۰ لارو (کیلو گرم) Coocon Yeild/ 10,000 Larvae (kg) | درصد پیله‌های خوب Best cocoon percentage (%) | درصد پیله‌های متوسط Middle cocoon percentage (%) | درصد تفریخ Hatchability (%) | وزن پیله (گرم) Cocoon weight (g) | وزن قشر پیله (گرم) Cocoon shell weight (g) | درصد قشر پیله Cocoon shell Percentage (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| واریانس افزایشی | J × C | 21.959 | 43.191 | 11.056 | 0.132 | 3.541 | -0.198 | -0.099 | 0.007 | 0.0001 | 0.330 |
| Additive variance | C × J | 23.579 | 38.623 | 10.730 | 0.131 | -0.078 | 5.482 | 0.412 | 0.005 | 0.0004 | 0.517 |
| واریانس غالبیت | J × C | 19.245 | 46.038 | 6.368 | 0.245 | 1.866 | 1.812 | 5.773 | 0.005 | 0.0005 | 0.296 |
| Dominant variance | C × J | 10.676 | 21.743 | 26.453 | 0.266 | 10.800 | 9.649 | 0.739 | 0.003 | 0.0002 | 0.228 |
| واریانس ترکیب‌پذیری خصوصی/واریانس ترکیب‌پذیری عمومی | J × C | 0.570 | 0.469 | 0.868 | 0.269 | 0.949 | - | – | 0.681 | 0.876 | 0.557 |
| $\delta^2$sca/ $\delta^2$gca | C × J | 1.104 | 0.888 | 0.203 | 0.246 | – | 0.284 | 0.279 | 1.001 | 1.236 | 1.132 |
| ضریب بیکر | J × C | 0.533 | 0.484 | 0.635 | 0.350 | 0.655 | - | - | 0.577 | 0.637 | 0.527 |
| Baker ratio | C × J | 0.688 | 0.640 | 0.289 | 0.330 | - | 0.362 | 0.358 | 0.658 | 0.712 | 0.694 |
| درجه غالبیت | J × C | 1.324 | 1.460 | 1.073 | 1.929 | 1.027 | - | - | 1.211 | 1.068 | 1.340 |
| Degree of dominance | C × J | 0.952 | 1.061 | 2.220 | 2.017 | – | 1.876 | 1.893 | 0.995 | 0.900 | 0.940 |
| وراثت‌پذیری عام | J × C | 0.888 | 0.886 | 0.762 | 0.541 | 0.772 | - | - | 0.95 | 0.940 | 0.935 |
| Broad sense heritability | C × J | 0.805 | 0.846 | 0.726 | 0.463 | - | 0.850 | 0.590 | 0.929 | 0.942 | 0.943 |
| وراثت‌پذیری خاص | J × C | 0.377 | 0.406 | 0.189 | 0.154 | 0.186 | - | - | 0.497 | 0.416 | 0.501 |
| Narrow sense heritability | C × J | 0.554 | 0.541 | 0.209 | 0.153 | - | 0.308 | 0.212 | 0.611 | 0.671 | 0.654 |
| سهم لاین‌ها از واریانس | J × C | 24.17 | 34.25 | 49.69 | 36.98 | 51.64 | 43.56 | 3.56 | 55.36 | 44.82 | 38.99 |
| Contribution of lines | C × J | 49.65 | 12.00 | 25.37 | 32.09 | 39.85 | 31.82 | 41.79 | 44.45 | 42.53 | 35.34 |
| سهم تسترها از واریانس | J × C | 30.28 | 15.76 | 14.37 | 10.31 | 14.06 | 8.58 | 10.40 | 9.21 | 22.26 | 15.10 |
| Contribution of testers | C × J | 18.85 | 52.30 | 11.84 | 16.54 | 6.95 | 7.99 | 4.59 | 23.03 | 24.56 | 34.22 |
| سهم اثر متقابل لاین‌ها و تسترها از واریانس | J × C | 45.55 | 49.99 | 35.94 | 52.71 | 34.30 | 47.86 | 86.04 | 46.43 | 43.02 | 47.01 |
| Contribution of line × tester | C × J | 31.50 | 35.70 | 62.79 | 51.37 | 53.21 | 60.21 | 53.62 | 33.62 | 34.01 | 30.54 |

J × C: آمیزش لاین‌های ژاپنی‌شکل با تسترهای چینی‌شکل (مستقیم)

C × J: آمیزش لاین‌های چینی‌شکل با تسترهای ژاپنی‌شکل (معکوس)

-: به‌دلیل منفی بودن واریانس اثر افزایشی در برخی صفات، مقادیر پارامترهای ژنتیکی در برخی صفات قابل تخمین نبود و با علامت (-) نشان داده شد.

J × C: Japanese-shape lines and Chinese-shape testers mating (Direct)

C × J: Chinese-shape lines and Japanese-shape testers (Reverse)

-: Due to the negative value of the variance of the additive effect in some traits, the values of the genetic parameters in some traits could not be estimated and they are shown with a (-).

در این تحقیق، صفات درصد تفریخ، درصد پیله‌های متوسط و درصد پیله‌های خوب دارای برآورد منفی برای واریانس‌های افزایشی و غالبیت بودند که خود باعث منفی شدن نسبت $\sigma^2_{gca}/\sigma^2_{sca}$ شد. برآورد منفی برای $\sigma^2_A$ و $\sigma^2_D$ براساس نظر ماتر و جینکز می‌تواند ناشی از عدم کفایت مدل آماری تجزیه ژنتیکی، عدم کفایت نمونه‌برداری از جمعیت مرجع، خطای نمونه‌برداری در برآوردها یا ضعف طرح آزمایشی باشد (Roy, 2000).

در جدول ۴، مقایسه پارامترهای ژنتیکی صفت تولید پیله به‌ازای ۱۰۰۰۰ لارو به‌عنوان یک شاخص مهم در ارزیابی عملکرد یک واحد نوغانداری، نشان داد که آمیخته‌های مستقیم و معکوس به عبارتی، جایگزینی لاین و تستر بر پارامترها تأثیری نداشته و برای هر دو گروه، تحت اثرات ژنی غیر افزایشی است. به عبارتی، واریانس غالبیت نقش پررنگ‌تری در بروز ژنتیکی این صفت دارد. برعکس صفات مرتبط با پیله، درصد شفیرگی به‌عنوان شاخص ماندگاری در مادر ژاپنی‌ها بیشتر از مادر چینی‌ها بود. این صفت براساس مقادیر پارامترهای ژنتیکی، در آمیخته‌های مادر ژاپنی تحت تأثیر اثرات ژنی افزایشی بود، لیکن در آمیخته‌های مادر چینی متأثر از اثرات ژنی غیر افزایشی بوده و واریانس غالبیت تقریباً ۲/۵ برابر واریانس افزایشی بود. در پژوهشی، نسبت $\sigma^2_{gca}/\sigma^2_{sca}$ برای صفاتی نظیر وزن پیله، وزن قشر پیله و طول فیلامنت بیشتر از یک و برای صفات درصد قشر پیله، قطر تار و نسبت پیله به ابریشم خام کمتر از یک بود. تجزیه دی آلل نشان داد که وزن پیله، وزن قشر پیله و طول تار ابریشمی تحت کنترل ژن‌های افزایشی و صفات درصد قشر پیله و قطر تار ابریشمی توسط اثرات غیر افزایشی کنترل می‌شوند (Talebi *et al*., 2009). همچنین برای صفات طول دوره لاروی، طول دوره پیله تنی و طول دوره شفیرگی ژن‌های غیر افزایشی نقش اساسی دارند (Satenahalli *et al*., 2001). البته نتایج متناقض در مورد اهمیت نسبی عمل افزایشی و غیر افزایشی ژن‌ها در صفات مختلف، ممکن است به‌دلیل تنوع ژنتیکی نژادهای مختلف کرم ابریشم در مطالعات مختلف باشد.

اگر درجه غالبیت مساوی صفر باشد روابط آللی، بدون غالبیت؛ برابر یک، غالبیت کامل؛ بزرگ‌تر از یک، فوق‌غالبیت؛ بین صفر و یک، غالبیت ناقص و بین ۰ تا ۰/۵-، غالبیت سرگردان می‌باشد (Hassanpanah *et al*., 2013). برآورد متوسط درجه غالبیت صفات مورد مطالعه (جدول ۴) برای سیستم آمیزشی مبتنی بر مادر ژاپنی نشان داد که برای تمامی صفات روابط آللی از نوع غالبیت کامل و فوق غالبیت بود. لیکن برای مادر چینی‌ها صفات انفرادی پیله و تعداد پیله در لیتر دارای غالبیت نزدیک به کامل بودند، ولی نوع غالبیت برای دو صفت درصد شفیرگی و تولید پیله به‌ازای ۱۰۰۰۰ لارو فوق غالبیت بود.

مقادیر $h^2_B$ و $h^2_N$ (جدول ۴) نشان داد که نوع سیستم آمیزشی تأثیری بر وراثت‌پذیری عام ندارد؛ لیکن وراثت‌پذیری خاص در آمیخته‌های مادر چینی بیشتر از مادر ژاپنی بود. صفات انفرادی پیله، تعداد پیله در لیتر و وزن پیله در لیتر، وراثت‌پذیری متوسط به بالا داشتند، لیکن صفات پیله تولیدی به‌ازاء ۱۰۰۰۰ لارو و درصد شفیرگی، وراثت‌پذیری متوسط به پایین نشان دادند. این نتایج با گزارش‌های محققین دیگر درخصوص وراثت‌پذیری صفات مطابقت دارد (Zambrano-Gonzalez *et al*., Asadpour *et al*., 2023 ; 2021; Singh, *et al*., 2011). مقدار پایین برآوردهای وراثت‌پذیری عمومی در صفت پیله تولیدی به‌ازاء ۱۰ هزار لارو، ناشی از اهمیت اثرات محیطی و اثر متقابل ژنوتیپ در محیط در بروز صفات است. وجود اختلاف زیاد بین وراثت‌پذیری عام و خاص در همه صفات نشان‌دهنده سهم بیشتر اثرات غیر افزایشی ژن‌ها و وجود اثر فوق غالبیت در کنترل ژنتیکی این صفات می‌باشد که با مقادیر درجه غالبیت مطابقت دارد. وراثت‌پذیری خصوصی پایین در صفات درصد شفیرگی، درصد پیله‌های خوب، تولید پیله به‌ازای ده هزار لارو درصد تفریخ در این تحقیق نشان می‌دهد که انتخاب اصلاح نژادی به‌منظور بهبود این صفات ،بازده ژنتیکی مطلوبی نداشته و بهتر است از طریق آمیخته‌گری بهبود یابد.

## نتیجه گیری کلی

تحقیق حاضر با بررسی تفاوت عملکرد صفات در آمیخته‌های حاصل از آمیزش‌های دوطرفه به‌خوبی توانست اثر والد مادری و به‌طور کلی، تلاقی‌های متقابل را بر صفات مهم اقتصادی کرم ابریشم نشان دهد. به‌طور کلی، باتوجه به اینکه تنها برخی صفات تحت تأثیر آمیزش‌های دو طرفه قرار گرفته و این تأثیر حداکثر در ۳۳ درصد جفت آمیخته‌ها بود، می‌توان استنباط نمود که اثر آمیزش‌های متقابل در آمیخته‌گری کرم ابریشم فراگیر نبوده و لازم است برای والدین مختلف بررسی و ارزیابی شود. به‌علاوه، چون با احتمال زیاد لاین مادری ژاپنی‌شکل حداقل بر وزن پیله و وزن قشر پیله آمیخته حاصل اثر معنی‌داری دارد، امکان ایجاد اختلاف عملکرد در آمیخته‌های متقابل زیاد است. مقایسه آمیخته مستقیم و معکوس بر مبنای مجموع تفاوت‌ها در صفات مختلف مورد بررسی توانست شیوه‌ای مطمئن برای حذف جفت آمیخته‌های نامطلوب ارائه نماید. این تحقیق در استان گیلان انجام شد، لیکن چنانچه لازم باشد که آمیخته‌های برتر در اقلیم‌های مختلف استفاده شود، لازم است که این ارزیابی و مقایسه، حداقل در اقلیم گرم و خشک نیز انجام و نتایج آن با تحقیق حاضر مقایسه شود.

**References**


1. Alipanah, M., Abedian, Z., Nasiri, A., & Sarjamei, F. (2020). Performance of seven silkworm varieties in Torbat Heydarieh. *Iranian Journal of Animal Science Research, 12*(3), 399-409. (In Persian). https://doi.org/10.22067/ijasr.v12i3.75418
2. Asadpour A. A., Hosseini Moghaddam, S. H., Rabiei, B., Zarbafi S. S., Mirhoseini, S. Z., & Nematollahian, S. H. (2023). The effect of temperature on combining ability and genetic parameters of parental silkworm Lines (*Bombyx mori L.*). *Ecological Genetics and Genomics, 26,* 100161. https://doi.org/10.1016/j.egg.2023.100161
3. Baker, R. J. (1978). Issues in diallel analysis, *Crop Science, 18,* 533-537.
4. Choukan, R. (2008). Methodes of genetical analysis of quantitative traits in plant breeding. AEERO. *Seed and plant improvement institute 1th Edition.* 83-96. (In Persian)
5. Crusio, W. E. (1987). A note on the analysis of reciprocal effects in diallel crosses, *Journal of Genetics, 66(3),* 177-185.
6. ESCAP (1993). Principle and Techniques of Silkworm Breeding. United Nations, New York.
7. Goel, A. K., Chandrashekharaiah, H., & Maheshwar-Rao, Y. U. (2010). Evaluation of general and specific combining ability in newly synthesized inbred lines of bivoltine silkworm (*Bombyx mori L.*). *International Journal of Industrial Entomology, 20,* 79-85.
8. Hassanpanah, D. (2013). The comparative observation of quantitative characteristics, heterosis and dominance degree in hybrids derived from breeding populations of true potato seed. *Journal of Crop Ecophysiology, 3*(27), 276-259. (In Persian with English abstract)
9. Hosseini Moghaddam, S. H .(2013) Principles of silkworm rearing. University of Guilan Press. Second Edition, Iran.(In Persian)
10. Khordadi, M. R., Hosseini Moghaddam, S. H., Sabouri, A., & Mahfoozi, K. (2023). Commercial silkworm hybrids comparison based on cocoons and silk thread performance of Guilan sericulturists. *Animal Production Research, 12(4),* 89-103. (In Persian with English abstract)
11. Kempthorne, O. (1957). An introduction of genetic statistics, John Willey & Sons Inc. New York, USA, 468-473.
12. Khordadi, M. R., Hosseini Moghaddam, S. H., Sabouri, A., & Mahfoozi, K. (2021). Introducing superior silkworm hybrids for different geographical regions of Guilan province. *Animal production Research, 10,* 25-38. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22124/ar.2021.17506.1556
13. Luikham, R., Gogoi, K., Aftab, A. Shabnam, A., & Vijayakumari, K. M. (2022). Combining ability analysis of four ecoraces and C2 breed of Eri silkworm, Samia ricini Donovan. *Plant Archives, 22, Special Issue (VSOG),* 56-60. https://doi.org/10.51470/2022.v22.012
14. Mavvajpoor, M., Mirhosseini, S. Z., Hosseini Moghaddam, S. H., Nematollahian, S., Rafiee, F., Ghavi Hossein-Zadeh, N., &Kheirkhah Rahimabad, Y. (2021). Rejuvenation and multiple-trait selection in the five chinese-shape of parental silkworms. *Iranian Journal of Animal Science Research, 13*(3), 463-474. (In Persian with English abstract) https://doi.org/10.22067/ijasr.2021.38311.0
15. Mohamed-Farouk, M., & El-Kader, A. B. D. (2021). Line x Tester analysis economic traits in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under high-temperature of Al-Kharj, Saudi Arabia conditions. *Journal of Sohag Agriscience (JSAS), 6*(2), 111-122.
16. Mirhoseini, S. Z., Mawajpoor, M., Nematollahian, S., Hosseini Moghaddam, S. H., Rafeie, F., Ghavi Hossein-Zadeh, N., &Kheirkhah, Y .(2021) Study of multiple-trait selection in new Iranian silkworm genotypes- Chinese-shape parents. *Animal Production Research*, 10(1), 1-11. (In Persian with English abstract). https://doi.org/ 10.22124/ar.2021.15342.1487
17. Nematollahian, S., & Alipanah, M. (2022). Some production traits performance of Iranian and Chinese silkworm hybrids in two regions of Iran. *Animal Production, 24*(2), 139-149. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/jap.2022.332425.623648
18. Rao, D. R., Ravindra-Singh, P. V., Kariappa, B. K., Rekha, M., & Jayaswal, K. P. (2002). Manifestation of hybrid vigour and combining ability in polyvoltine × bivoltine hybrids of silkworm, *Bombyx mori* (L). *International Journal of Industrial Entomology, 4,* 23–30.
19. Ravindra-Singh, P. V., Rao, D. R, Kariappa, B. K., Premalatha, V., & Dandin, S. B. (2003). Studies on the analysis of combining ability in mulberry silkworm, *Bombyx mori* (L). *International Journal of Industrial Entomology, 6,* 107–113.
20. Roy, D. (2000). Plant breeding analysis and exploitation of variation. NAROSA Pub. House, New Delhi.
21. Sahan, U. (2020). Identifying parents and generating hybrids with high combining ability for yielding fresh cocoon and raw silk in silkworm (*Bombxy mori* L.). *Brazilian Journal of Animal Science, 49,* 1-8. https://doi.org/10.37496/rbz4920180278
22. Satenahalli, S. B., Govindan, R., & Goud, J. V. (2001). Genetic analysis of some quantitative traits by diallel cross in silkworm, *Bombyx mori* (L). *Sericoiogia, 29,* 333-342.
23. Singh, R., Raghavendra, R., Kariappa, D., Premalatha, B. K., & Dandin, V. (2003). Studies on analysis of combining ability in the mulbery silkworm. *International Journal of Industrial Entomology, 6*(2), 103-107.

24. Singh, R., Basavaraja, H. K., Kariappa, B. K., Rao, D. R., Premalatha, V. & Gangopadhyay, D. (2006). Reciprocal effects in F1 hybrids between multivoltine and bivoltine breeds of the silkworm, *Bombyx mori* L. *Indian Journal of Sericulture, 45*(2), 176-180.
25. Singh, T., Mohan-Bhat, M., & Ashraf-Khan, M. (2011). Critical analysis of correlation and heritability phenomenon in the silkworm, *Bombyx mori* (L), (Lepidoptera: bombycidae). *Advances in Bioscience and Biotechnology, 2*(5), 347-353. https://doi.org/10.4236/abb.2011.25051
26. Talebi, E., & Kamjoo B. (2013). A study on combining ability for six quantitative traits in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Journal of Animal Research, 26*, 326-332. (In Persian with English abstract). https://doi.org/ 26312
27. Talebi, E., & Subramanya, G. (2009). Diallel analysis of bivoltine and multivoltin races for six quantitative traits races for six quantitative traits. *Journal of Applied Sciences, 2*(3), 331-339.
28. Talebi, E., Khademi, M., Subramanya, G., & Mahesha, H. B. (2011). A study on straight and reciprocal crossing in F1 hybrids using bivoltine and multivoltine silkworm, *Bombyx mori* L. (Lep., Bombycidae) races. *Journal of Entomological Research, 3*(1), 43-49.
29. Zhang, M., Qin, S., Xu, P., & Zhang, G. (2018). Identifying potential maternal genes of *Bombyx mori* using digital gene expression profiling. *PLOS ONE, 13*(2), e0192745. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192745
30. Zambrano-Gonzalez, G. Almanza-Pinzon, M., & Vélez, M. (2021). Genetic parameters in traits of productive importance in lines of *Bombyx mori* L. *Animal Breeding and Genetic, 139*, 136–144. https://doi.org/10.1111/jbg.12647

## Contents

**Ruminant Nutrition**

**The Effect of Different Ratio of Methionine-Zinc and Zinc Oxide on Performance Indicators and Diarrhea in Suckling Holstein Calves** **317**
Morteza Rezapour, Yadollah Chashnidel, Asadollah Teimouri Yansari, Essa Dirandeh

**Determination of Zinc Requirement in Suckling Calves using Some Non-Linear Models** **331**
Mohammad Javad Elyasi, Khalil Zaboli

**Effect of Chickpea Straw Silage Processing with Urea, Molasses and Cellulase Enzyme on Chemical Composition, Gas Production, Ruminal and intestinal Digestibility** **347**
Zahra Abbasinavand, Jamal Seifdavati, Mojtaba Alipour Einaldin, Hossein Abdi-Benemar, Farzad Mirzaei Aghjeh Gheshlagh, Reza Seyedsharifi

**The Effect of Adding Surfactants on Appearance Specification and Nutrients Content of Processed Corn Grain using Steam-Flaked Technique** **367**
Farzaneh Mohammadi, Mohsen Danesh Mesgaran, Alireza Vakili, Abdolmansour Tahmasebi, Mohammad Reza Hossein Dokht

**Poultry Nutrition**

**Effect of Autolyzed Yeast on Performance and Physiological Indices of Broiler Chickens Reared at High Stock Density** **385**
Samaneh Ghaseminejad, Somayyeh Salari

**Evaluation of the Chemical Properties and Absorption Capacity of Different Manganese Sources using Everted Gut Sacs Technique and Their Effects on the Performance and Immune Response of Broiler Chickens** **401**
Farogh Kargar, Hassan Kermanshahi, Ali Javadmanesh, Reza Majidzade Heravi

**Investigating the Effect of Different Levels of Butyric Acid Glycerides and Clove Oil on Growth Performance, Blood Parameters and Tibia Bone Characteristics of Broiler Chickens** **415**
Seyyedeh Azam Khatami, Mir Daryoush Shakouri, Nemat Hedayat Evrigh

**Improving Growth Performance and Reducing Mortality by Supplementing the Ethanolic Extract of Grape Leaves (*Vinifera Vitis*) in Broilers under Induced Ascites** **433**
Mokhtar Fathi, Taimor Tanha, Raza Taherkhani, Vahid Razaee Komasi

**Genetic**

**Genetic Analysis of Reciprocal Crosses of Silkworm in New Iranian Lines and Hybrids** **447**
Shahla Nematollahian, Seyed Hossein Hosseini Moghaddam, Babak Rabiei , Seyed Ziaeddin Mirhosseini

« Scientific Journal»

# Iranian Journal of Animal Science Research

**Vol. 16** **No. 3** **2024**

**Publisher:** Ferdowsi University of Mashhad (F.U.M.)
**Responsible Manager:** H. Nassiri Moghaddam (Prof.)
**Editor-in-Chief:** R. Valizadeh (Prof.)

**Editorial Board:**

| | | | |
|---|---|---|---|
| Valizade, R | Ruminant Nutrition | (Prof.) | (F.U.M.) |
| Danesh Mesgaran, M | Ruminant Nutrition | (Prof.) | (F.U.M) |
| Chaji, M | Ruminant Nutrition | (Prof.) | Agricultural Science and Natural Resourses University Of Khuzestan |
| Aliarabi, H | Ruminant Nutrition | (Prof.) | Bo Ali Sina University, Hamadan |
| Seifdavati, J | Ruminant Nutrition | (Prof.) | Mohaghegh Ardabili University |
| Nassiri-Moghaddam, H | Poultry Nutrition | (Prof.) | (F.U.M.) |
| Golian, A | Poultry Nutrition | (Prof.) | (F.U.M.) |
| Hassanabadi, A | Poultry Nutrition | (Prof.) | (F.U.M.) |
| Dastar, B | Poultry Nutrition | (Prof.) | Gorgan Agricultural and Natural Resources University |
| Janmohammadi, H | Poultry Nutrition | (Prof.) | Tabriz University |
| Khajali, F | Poultry Nutrition | (Prof.) | Shahre kord University |
| Pirani, N | Genetics & breeding | (Asso. Prof.) | Shahre kord University |
| Nassiri, M. R | Genetics & breeding | (Prof.) | (F.U.M.) |
| Tahmoores pour, M | Genetics & breeding | (Prof.) | (F.U.M.) |
| Zerehdaran, S | Genetics & breeding | (Prof.) | (F.U.M.) |
| Pakdel, H | Genetics & breeding | (Prof.) | Isfahan University of Technology |
| Doosti, H | Statistics | (Prof.) | Macqurie, Sydney, Australia |
| Sargolzaei, M | Genetics | (Asso. Prof.) | University of Guelph, Canada |

**Printed by:** Ferdowsi University of Mashhad, Press.

**Address:** P.O. Box 91775-1163, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

**Phone:** +98-51-38804656

**Fax:** +98-51-38787430

**E-Mail:** ijasr@ferdowsi.um.ac.ir

**Web Site:** https://ijasr.um.ac.ir

Ferdowsi University of Mashhad

Vol. 16 No. 3

2024

# Iranian Journal of Animal Science Research

ISSN:2008-3106

## Contents

**Ruminant Nutrition**

**The Effect of Different Ratio of Methionine-Zinc and Zinc Oxide on Performance Indicators and Diarrhea in Suckling Holstein Calves** ..... 317
Morteza Rezapour, Yadollah Chashnidel, Asadollah Teimouri Yansari, Essa Dirandeh

**Determination of Zinc Requirement in Suckling Calves using Some Non-Linear Models** ..... 331
Mohammad Javad Elyasi, Khalil Zaboli

**Effect of Chickpea Straw Silage Processing with Urea, Molasses and Cellulase Enzyme on Chemical Composition, Gas Production, Ruminal and intestinal Digestibility** ..... 347
Zahra Abbasinavand, Jamal Seifdavati, Mojtaba Alipour Einaldin, Hossein Abdi-Benemar, Farzad Mirzaei Aghjeh Gheshlagh, Reza Seyedsharifi

**The Effect of Adding Surfactants on Appearance Specification and Nutrients Content of Processed Corn Grain using Steam-Flaked Technique** ..... 367
Farzaneh Mohammadi, Mohsen Danesh Mesgaran, Alireza Vakili, Abdolmansour Tahmasebi, Mohammad Reza Hossein Dokht

**Poultry Nutrition**

**Effect of Autolyzed Yeast on Performance and Physiological Indices of Broiler Chickens Reared at High Stock Density** ..... 385
Samaneh Ghaseminejad, Somayyeh Salari

**Evaluation of the Chemical Properties and Absorption Capacity of Different Manganese Sources using Everted Gut Sacs Technique and Their Effects on the Performance and Immune Response of Broiler Chickens** ..... 401
Farogh Kargar, Hassan Kermanshahi, Ali Javadmanesh, Reza Majidzade Heravi

**Investigating the Effect of Different Levels of Butyric Acid Glycerides and Clove Oil on Growth Performance, Blood Parameters and Tibia Bone Characteristics of Broiler Chickens** ..... 415
Seyyedeh Azam Khatami, Mir Daryoush Shakouri, Nemat Hedayat Evrigh

**Improving Growth Performance and Reducing Mortality by Supplementing the Ethanolic Extract of Grape Leaves (*Vinifera Vitis*) in Broilers under Induced Ascites** ..... 433
Mokhtar Fathi, Taimor Tanha, Raza Taherkhani, Vahid Razaee Komasi

**Genetic**

**Genetic Analysis of Reciprocal Crosses of Silkworm in New Iranian Lines and Hybrids** ..... 447
Shahla Nematollahian, Seyed Hossein Hosseini Moghaddam, Babak Rabiei , Seyed Ziaeddin Mirhosseini